

Kombinierte Trocknungsverfahren und ihr Einfluss auf ausgewählte Inhaltsstoffe und Zellwandpolysaccharide von Obst und Gemüse

Zur Erlangung des akademischen Grades eines

DOKTORS DER NATURWISSENSCHAFTEN

(Dr. rer. nat.)

von der KIT-Fakultät für Chemie und Biowissenschaften

des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)

genehmigte

DISSERTATION

von

staatlich geprüfter Lebensmittelchemiker

Andreas Becker

1. Referent: Prof. Dr. Mirko Bunzel

2. Referent: Prof. Dr. Sabine Kulling

Tag der mündlichen Prüfung: 15.10.2019

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Verfahren zur Trocknung von Lebensmitteln	1
1.1.1	Heißlufttrocknung	2
1.1.2	Gefriertrocknung	3
1.1.3	Mikrowellenvakuumtrocknung	3
1.1.4	Kombinationstrocknungsverfahren.....	4
1.2	Polysaccharide der pflanzlichen Zellwand	6
1.2.1	Cellulose	6
1.2.2	Hemicellulosen	6
1.2.2.1	Xyloglucane	7
1.2.2.2	Xylane	7
1.2.2.3	Mixed-linked- β -Glucane	8
1.2.2.4	Mannane	8
1.2.3	Pektin.....	8
1.2.3.1	Homogalacturonan.....	9
1.2.3.2	Xylogalacturonan.....	10
1.2.3.3	Rhamnogalacturonan-II.....	10
1.2.3.4	Rhamnogalacturonan-I.....	10
1.2.3.5	Arabinane und Galactane.....	11
1.2.3.6	Pektin-Modell	11
1.3	Zellwandbestandteile als Ballaststoffe	12
1.4	Zellwandpolymere und ihr Einfluss auf die Textur von Lebensmitteln	13
1.5	Veränderungen von ausgewählten Lebensmittelinhaltsstoffen während der Trocknung	15
1.5.1	Ascorbinsäure	15
1.5.2	Carotinoide	17
1.5.3	(Poly)-phenolische Verbindungen	18
1.5.3.1	Anthocyane	19

1.5.3.2	Flavonole und Flavanole.....	20
1.5.3.3	Hydroxyzimtsäurederivate und Phlorizin.....	21
1.5.3.4	Enzymatische Bräunung.....	22
1.5.4	Entstehung und Reaktivität von 1,2-Dicarbonylverbindungen.....	22
1.5.4.1	Bildung während Karamellisierungsreaktionen.....	23
1.5.4.2	Bildung während der Maillard-Reaktion.....	24
1.5.4.3	Relevanz für Lebensmittel.....	25
1.5.5	Veränderungen von Zellwandpolysacchariden während der Trocknung von pflanzlichen Lebensmitteln.....	26
2	Zielsetzung.....	27
3	Material und Methoden.....	29
3.1	Trocknungsanlage.....	29
3.2	Pflanzenmaterial und Probenvorbereitung.....	30
3.2.1	Rotfleischiger Apfel Baya Marisa®.....	30
3.2.2	Erdbeere.....	31
3.2.3	Karotte.....	31
3.3	Trocknung der Produkte.....	31
3.3.1	Einzelverfahren.....	31
3.3.2	Kombinationsverfahren.....	32
3.3.3	Scale-Up und Blanchiersversuche.....	34
3.4	Analyse der chemischen Qualitätsparameter.....	35
3.4.1	Ascorbinsäure.....	35
3.4.2	Carotinoide.....	36
3.4.3	Phenolische Verbindungen.....	37
3.4.4	3-Desoxyglucoson.....	38
3.5	Isolierung der Zellwandpolysaccharide und analytische Ballaststoffbestimmung.....	39
3.6	Charakterisierung der Zellwandpolysaccharide.....	41
3.6.1	Monosaccharidzusammensetzung.....	41
3.6.2	Bestimmung der Bindungsverhältnisse.....	42
3.6.3	Bestimmung des Veresterungsgrades von Galacturonsäure.....	43
3.6.3.1	Methanol- und Essigsäuregehalt.....	44
3.6.3.2	Bestimmung des Galacturonsäuregehaltes.....	44

4	Ergebnisse und Diskussion	47
4.1	Methodenetablierung und –validierung.....	47
4.1.1	Ascorbinsäure	47
4.1.1.1	Extraktion der Ascorbinsäure	47
4.1.1.2	Chromatographische Vorversuche und Bestimmung der Ascorbinsäure mittels HILIC-DAD	47
4.1.1.3	Bestimmung der Ascorbinsäure als Dehydroascorbinsäure mittels RP-HPLC nach Derivatisierung.....	50
4.1.2	Carotinoide	52
4.1.2.1	Chromatographische Trennung und Kalibrierung.....	52
4.1.2.2	Extraktion	53
4.1.2.3	Validierungsparameter.....	56
4.1.3	Phenolische Verbindungen.....	57
4.1.3.1	Extraktion	57
4.1.3.2	Identifizierung der Hauptverbindungen mittels LC-DAD-MS.....	58
4.1.3.3	Präparative Isolierung und Charakterisierung von Standardsubstanzen aus Erdbeeren.....	60
4.1.3.4	Bestimmung der Konzentration der isolierten Verbindungen.....	64
4.1.3.5	Chromatographische Trennung der polyphenolischen Verbindungen aus rotfleischigen Äpfeln	64
4.1.3.6	Chromatographische Trennung der polyphenolischen Verbindungen aus Erdbeeren.....	66
4.1.3.7	Quantifizierung und Validierungsparameter.....	67
4.1.4	3-Desoxyglucoson.....	68
4.1.4.1	Synthese von 3-Desoxyglucoson	68
4.1.4.2	Extraktion und Chromatographische Trennung.....	69
4.1.4.3	Validierung	71
4.1.5	Methanol- und Essigsäuregehalte in Ballaststoffpräparaten.....	72
4.1.5.1	Bestimmung von Methanol und Essigsäure mittels HPLC.....	72
4.1.5.2	Bestimmung von Methanol und Essigsäure mittels GC	73
4.1.5.3	Bestimmung von Methanol und Essigsäure mittels ¹ H-NMR-Spektroskopie..	73
4.2	Untersuchung des Erhalts relevanter Inhaltsstoffe und der Bildung von 3-Desoxyglucoson während unterschiedlicher Trocknungsverfahren.....	77

4.2.1 Einzel Trocknungsverfahren.....	77
4.2.1.1 Erhalt der Carotinoide in Karotten	78
4.2.1.2 Die Bildung von 3-Desoxyglucoson	78
4.2.1.3 Erhalt von Ascorbinsäure in rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren	81
4.2.1.4 Erhalt an polyphenolischen Verbindungen in rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren.....	83
4.2.1.5 Zusammenfassung Einzelverfahren	88
4.2.2 Kombinationsverfahren.....	89
4.2.2.1 Apfel	90
4.2.2.2 Erdbeere	94
4.2.2.3 Karotte.....	96
4.2.2.4 3-Desoxyglucoson.....	100
4.2.2.5 Zusammenfassung Kombinationsverfahren.....	101
4.2.3 Scale-Up- und Blanchier-Versuche zur Trocknung von Karotten	102
4.3 Untersuchung der Zellwandpolysaccharide von mit verschiedenen Verfahren getrockneten Äpfeln	106
4.3.1 Analytischer Ballaststoffgehalt.....	106
4.3.2 Untersuchung der Monosaccharidzusammensetzung.....	108
4.3.3 Analyse der Polysaccharidbindungsverhältnisse (Methylierungsanalyse).....	111
4.3.4 Weitergehende Analyse der Arabinane (Arabinan-Screening)	113
4.3.5 Veresterungsgrad der Galacturonsäure aus Pektinen	116
4.3.6 Zusammenfassung.....	118
4.4 Sensorische Untersuchungen	119
4.5 Zusammenfassende Diskussion	123
5 Zusammenfassung.....	131
6 Literaturverzeichnis.....	135
7 Chemikalien und Instrumente.....	157
7.1 Chemikalien.....	157
7.2 Enzyme	163
7.3 Instrumente	164
8 Arbeitsvorschriften.....	167
8.1 Synthese von 3-Desoxyglucoson-Chinoxalin.....	167
8.2 Isolierung von phenolischen Verbindungen aus Erdbeeren	169

8.3	Bestimmung der Konzentration der isolierten Verbindungen aus Erdbeeren mittels $^1\text{H-NMR}$..	171
8.4	Identifizierung der phenolischen Verbindungen mittels LC-DAD-MS.....	172
8.5	Analyse der chemischen Qualitätsparameter	173
8.5.1	Analyse von Ascorbinsäure.....	173
8.5.1.1	HILIC-Methode Apfel und Erdbeere	174
8.5.1.2	Fluoreszenz-Methode Karotten	175
8.5.2	Analyse von 3-Desoxyglucoson	176
8.5.2.1	Karotte.....	177
8.5.2.2	Apfel und Erdbeere	178
8.5.3	Analyse von Carotinoiden.....	179
8.5.4	Analyse von phenolischen Verbindungen	180
8.5.4.1	Extraktion für Polyphenole aus rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren.....	180
8.5.4.2	Apfel	181
8.5.4.3	Erdbeere	182
8.6	Charakterisierung der Zusammensetzung der Zellwandpolymere.....	184
8.6.1	Isolierung der Nicht-Stärke-Polysaccharide	184
8.6.2	Analytische Bestimmung der Ballaststoffgehalte.....	185
8.6.2.1	Isolierung der Ballaststoffe.....	185
8.6.2.2	Proteinkorrektur.....	187
8.6.2.3	Aschekorrektur	187
8.6.3	Analyse der Monosaccharidzusammensetzung	188
8.6.3.1	Schwefelsäurehydrolyse.....	188
8.6.3.2	Methanolyse.....	188
8.6.3.3	HPAEC-PAD Bedingungen.....	188
8.6.4	Analyse der Polysaccharidbindungsverhältnisse (Methylierungsanalyse).....	190
8.6.5	Weitergehende Analyse der Arabinane (Arabinan-Screening)	192
8.6.5.1	Enzymatische Umsetzung.....	192
8.6.5.2	HPAEC-Bedingungen und Auswertung.....	192
8.6.6	Bestimmung des Veresterungsgrades von Galacturonsäure mit Methanol und Essigsäure	193
8.6.6.1	Photometrische Galacturonsäurebestimmung.....	193

8.6.6.2	Bestimmung der longitudinalen Relaxationszeit.....	194
8.6.6.3	Bestimmung des Methanol- und Essigsäuregehaltes mittels ¹ H-NMR-Spektroskopie.....	194
9	Anhang	197
9.1	Chromatogramme der Trennung von Carotinoiden	197
9.2	Bestimmung der Reinheit von 3-Desoxyglucoson-Chinoxalin mittels ¹ H-NMR-Spektroskopie...	198
9.3	Isolierung von phenolischen Verbindungen aus Erdbeeren	199
9.3.1	Identifizierung der Hauptverbindungen in rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren	199
9.3.2	Semipräparative Isolierung von Verbindungen aus Erdbeeren	203
9.3.3	Chemische Verschiebungen der isolierten Verbindungen aus Erdbeeren.....	205
9.3.4	Bestimmung der Konzentration der isolierten Verbindungen aus Erdbeeren.....	208
9.4	Kalibrierungen.....	208
9.4.1	Ascorbinsäure	208
9.4.2	3-Desoxyglucoson.....	210
9.4.3	Carotinoide	210
9.4.4	Polyphenole.....	211
9.5	Einfluss der Temperatur auf die chromatographische Trennung der phenolischen Verbindungen in Erdbeeren.....	212
9.6	Inhaltsstoffgehalte in frischen Vergleichsproben von rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren	213
9.7	Trocknungsparameter.....	214
9.7.1	Trocknungskurven Einzelverfahren	214
9.7.2	Oberflächentemperaturen während der Einzeltrocknungsverfahren	216
9.7.3	Temperaturverlauf Kombinationsverfahren	218
9.7.4	Trocknungsdauer Kombinationsverfahren.....	219
9.8	Farbwerte der Einzelverfahren in Erdbeeren und Äpfeln.....	220
9.9	Ballaststoffgehalte in mit verschiedenen Verfahren getrockneten rotfleischigen Äpfeln	222
9.10	Strukturen der untersuchten Arabinan-Oligosaccharide.....	223
9.11	Bestimmung des Veresterungsgrades Galacturonsäure in Nicht-Stärke-Polysacchariden von mit verschiedenen Verfahren getrockneten rotfleischigen Äpfeln	224
9.12	Sensorische Untersuchungen von mit verschiedenen Verfahren getrockneten Apfelstücken und Karottenscheiben.....	226
10	Publikationsliste	227

Abkürzungsverzeichnis

1,2-DV	1,2-Dicarbonylverbindungen
1-DG	1-Desoxyglucoson
3-DG	3-Desoxyglucoson
3-DGQ	3-Desoxyglucoson-Chinoxalin (2-(2'(S),3'(R),4'-Trihydroxybutyl)chinoxalin)
ACN	Acetonitril
AG	Arabinogalactan
AS	Ascorbinsäure
AX	Arabinoxylane
BG	Bestimmungsgrenze
BHT	Butylhydroxytoluol
BS	Ballaststoff
CA	(+)-Catechin
CGal	Cyanidin-3- <i>O</i> -Galactopyranosid
CS	Chlorogensäure (5- <i>O</i> -Caffeoyl-Chinasäure)
DA	Grad der Acetylveresterung (<i>degree of acetylation</i>)
DAD	Dioden-Array-Detektor
DCM	Dichlormethan
DETAPAC	Diethylentriaminpentaessigsäure
DHAS	Dehydroascorbinsäure
DM	Grad der Methylveresterung (<i>Degree of methylation</i>)
DMSO	Dimethylsulfoxid
DP	Polymerisationsgrad (<i>Degree of polymerization</i>)

DTT	Dithiothreitol
EA	Ethylacetat
EC	(-)-Epicatechin
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EtOH	Ethanol
FID	Flammenionisationsdetektor
FLD	Fluoreszenz-Detektor
GAX	Glucuronoarabinoxylan
GC	Gaschromatographie
GO	Glyoxal
GT	Gefriertrocknung
GT-HT	Gefriertrocknung mit anschließender Heißlufttrocknung
GT-MWVT	Gefriertrocknung mit anschließender Mikrowellenvakuumtrocknung
H₂SO₄	Schwefelsäure
HCl	Salzsäure
HG	Homogalacturonan
HILIC	Hydrophile Interaktionschromatographie <i>(hydrophilic liquid interaction chromatography)</i>
HMF	Hydroxymethylfurfural
HPAEC	Hochleistungsflüssigkeitsanionenaustauschchromatographie <i>(high performance anion exchange chromatography)</i>
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie <i>(High Performance Liquid Chromatography)</i>
HS	Headspace
HT	Heißlufttrocknung
HT-GT	Heißlufttrocknung mit anschließender Gefriertrocknung
HT-MWVT	Heißlufttrocknung mit anschließender Mikrowellenvakuumtrocknung
KA	Kontrollierte Atmosphäre
KG	Kämpferol-3-O-β-D-Glucopyranosid

KGluA	Kämpferol-3- <i>O</i> - β -D-Glucuronopyranosid
LBS	Lösliche Ballaststoffe
LC	Flüssigkeits-Chromatographie (<i>liquid chromatography</i>)
LC-MS	Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie
MeOH	Methanol
MGO	Methylglyoxal
MLG	Mixed-linked- β -Glucane
MPS	<i>meta</i> -Phosphorsäure
MR	Maillard-Reaktion
MS	Massenspektrometrie
MSZ	Monosaccharidzusammensetzung
MTBE	Methyl- <i>tert</i> -butyl-Ether
MW	Molekulargewicht
MWVT	Mikrowellenvakuumtrocknung
MWVT-GT	Mikrowellenvakuumtrocknung mit anschließender Gefriertrocknung
MWVT-HT	Mikrowellenvakuumtrocknung mit anschließender Heißlufttrocknung
NaBD₄	Natriumbordeuterid
NG	Nachweisgrenze
NLBS	Niedermolekulare lösliche Ballaststoffe
NMR	Kernspinresonanz (<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>)
NSPS	Nicht-Stärke-Polysaccharide
OD	Osmotische Dehydration
OPDA	<i>ortho</i> -Phenylendiamin
OS	Oligosaccharide
PAD	Gepulst amperometrische Detektion (<i>pulsed amperometric detection</i>)
PCG	1- <i>O-trans-p</i> -Cumarsäure- β -D-Glucoopyranosid

PG	Pelargonidin-3- <i>O</i> - β -D-Glucopyranosid
PGA	Polygalacturonanase
PME	Pektinmethylesterase
PMG	Pelargonidin-3- <i>O</i> -[6- <i>O</i> -Malonyl]- β -D-Glucopyranosid
PP	Polyphenol
PPO	Polyphenoloxidase
PS	Polysaccharid
PZ	Phlorizin
QA	Quercetin-3- <i>O</i> - α -L-Arabinofuranosid
QG	Quercetin-3- <i>O</i> - β -D-Glucopyranosid
QGal	Quercetin-3- <i>O</i> - β -D-Galactopyranosid
QGluA	Quercetin-3- <i>O</i> - β -D-Glucuronopyranosid
RG-I	Rhamnogalacturonan-I
RG-II	Rhamnogalacturonan-II
RI	Brechungsindex (<i>refraction index</i>)
RP	Umkehrphase (<i>reversed phase</i>)
SPME	Festphasenmikroextraktion (<i>solid phase microextraction</i>)
TA	Trocknungsabschnitt
TCE	Trichloressigsäure
TFE	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TSP	3-(Trimethylsilyl)propion-2,2,3,3-d ₄ -säure
UBS	Unlösliche Ballaststoffe
UV	Ultraviolett
WF	Wiederfindung
WP	Wechselzeitpunkt

XG	Xyloglucan
XGA	Xylogalacturonan
ZG	1- <i>O-trans</i> -Zimtsäure- β -D-Glucopyranosid

1 Einleitung

Die Trocknung von Lebensmitteln ist ein gängiges Verfahren bei der Lebensmittelverarbeitung und dient vor allem der Haltbarmachung der Lebensmittel durch Wasserentzug und der damit verbundenen Reduktion der Wasseraktivität. Die mit dem Wasserentzug einhergehende Gewichtsminderung ist zudem bei Transportprozessen vorteilhaft. Jeder Trocknungsprozess führt allerdings zu nachteiligen Veränderungen im Produkt, die es zu minimieren gilt. Neben dem Abbau von qualitätsrelevanten Lebensmittelinhaltsstoffen, wie Vitaminen oder Farbstoffen, kommt es zu Veränderungen der Textur und zur Schrumpfung der Produkte.

Die zur industriellen Trocknung von Lebensmitteln häufig eingesetzten Verfahren, weisen jeweils unterschiedliche Vor- und Nachteile auf. Die Heißlufttrocknung (HT) ist das einfachste und kostengünstigste Verfahren, führt allerdings zu starken Produktveränderungen, wie beispielsweise Schrumpfung, Bräunung und dem Verlust von Inhaltsstoffen. Die Gefriertrocknung (GT) gilt aufgrund der niedrigen Temperaturen als das schonendste Verfahren bezüglich der Inhaltsstoffe, nachteilig sind die hohen Energiekosten und die langen Trocknungszeiten. Weiterhin können fragile Produktstrukturen entstehen und unerwünschte Farbveränderungen auftreten. Eine Vakuumtrocknung hat den Vorteil von niedrigen Produkttemperaturen während der Trocknung. Die Erwärmung kann dabei beispielsweise per Strahlungs-, Platten- oder Mikrowellenbeheizung erfolgen, wobei die Mikrowellenvakuumtrocknung (MWVT) das schnellste Verfahren ist.

Eine serielle Kombination von Trocknungsverfahren kann eingesetzt werden, um die jeweiligen Nachteile der Verfahren zu minimieren und/oder Produkte zu erhalten die Eigenschaften aufweisen, welche mit einem einzelnen Trocknungsverfahren nicht erreicht werden können. Entscheidend für die Qualität der Endprodukte ist dabei der Zeitpunkt des Wechsels auf das zweite Verfahren. Bei den in der Literatur beschriebenen Kombinationsverfahren wird der Wechselzeitpunkt (WP) meist nach dem trial-and-error-Prinzip ausgewählt. Eine umfassende Kenntnis des Verlaufs des Erhalts von Inhaltsstoffen während der jeweiligen Einzeltrocknungsverfahren würde es ermöglichen Vorhersagen über den Verlauf des Erhalts der Inhaltsstoffe zu treffen und damit gezielt Kombinationsverfahren zu entwickeln. Damit könnten wiederum Produkte erhalten werden, die hinsichtlich des Erhalts von relevanten Inhaltsstoffen und für den jeweiligen Anwendungszweck optimiert sind.

1.1 Verfahren zur Trocknung von Lebensmitteln

Trocknung kann definiert werden als „die Anwendung von Hitze (bzw. Energieeintrag) unter kontrollierten Bedingungen um den Hauptteil des gewöhnlich in einem Lebensmittel vorhandenen Wassers durch Verdampfen (oder Sublimation bei der GT) zu entfernen“ (FELLOWS 2009). Industriell kommt dabei eine Vielzahl von Verfahren für unterschiedliche Produkte und Produktformen zum Einsatz. Die häufig eingesetzten Verfahren HT und GT sowie die MWVT sollen im Folgenden näher betrachtet werden.

1.1 Verfahren zur Trocknung von Lebensmitteln

1.1.1 Heißlufttrocknung

Die HT ist das am häufigsten angewandte Trocknungsverfahren in der Lebensmittelindustrie, da es einfach zu handhaben und kostengünstig ist. Hierbei wird das zu trocknende Gut mit heißer Luft über- bzw. durchströmt, wobei durch die übertragene Energie das im Produkt vorhandene Wasser in die Gasphase überführt und mit dem heißen Luftstrom abtransportiert wird. Die Trocknung lässt sich formell in drei Abschnitte einteilen. Im 1. Trocknungsabschnitt (TA) wird das ungebundene Wasser an der Produktoberfläche entfernt. Die Trocknungsgeschwindigkeit bleibt konstant und ist abhängig von der zugeführten Wärmeenergie (siehe Abbildung 1). Die Temperatur des Produkts bleibt durch das Verdampfen des Wassers, während des 1. TA relativ niedrig. Ist das Wasser an der Produktoberfläche vollständig entfernt, schließt sich der 2.TA an, bei dem das Wasser aus dem Inneren des Produkts entfernt wird. Hier findet zum einen Wärmeübertragung in das Innere des Produkts statt, zum anderen wird gasförmiges Wasser aus dem Produkt heraustransportiert. Die Trocknungsgeschwindigkeit nimmt im Verlauf des 2.TA stetig ab, da die Wege für den Wärme- und Stofftransport länger werden. Zudem findet eine Erwärmung der schon trockenen, äußeren Schichten des Produkts statt. Im 3. TA erfolgt schlussendlich die Entfernung von sorptiv gebundenem Wasser (GEHRMANN et al. 2009).

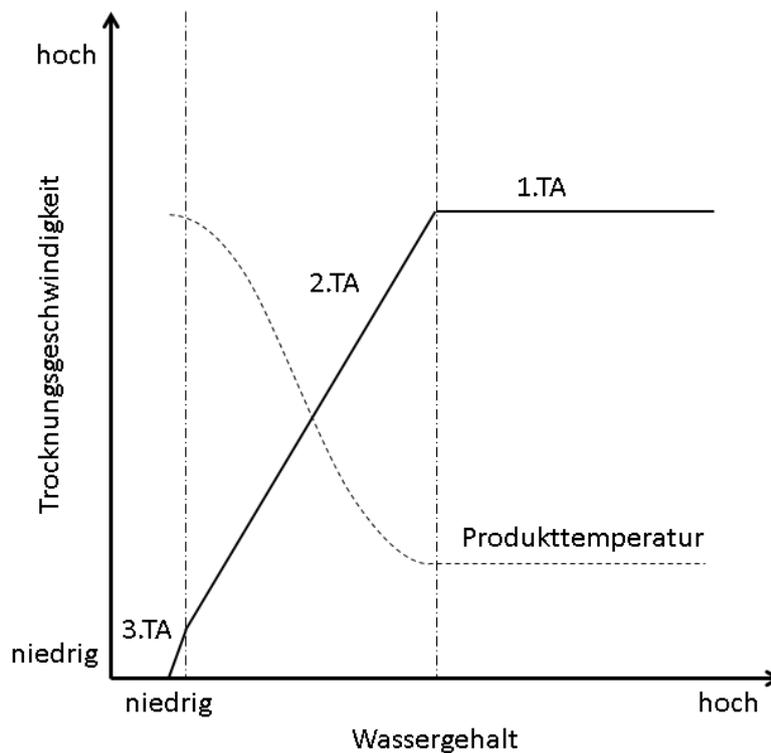


Abbildung 1: Schematische Darstellung einer Trocknungskurve einer Heißlufttrocknung. TA: Trocknungsabschnitt

Problematisch bei der HT von pflanzlichen Lebensmitteln sind eine starke Bräunung des Produkts, die Krustenbildung und damit einhergehende schlechte Rehydratationseigenschaften, Schrumpfung und Abbau von wertgebenden Inhaltsstoffen (SAGAR and SURESH KUMAR 2010). Die Kruste die während der HT gebildet werden kann, kann als Diffusionsbarriere wirken, und wiederum zu einer Verringerung

der Trocknungsgeschwindigkeit führen. Der Abbau von Inhaltsstoffen wird vor allem durch die hohen Temperaturen im letzten TA und den gleichzeitig anwesenden Sauerstoff verursacht. Eine Erniedrigung der Temperatur könnte teilweise Abhilfe verschaffen, führt aber zu deutlich längeren Prozesszeiten und damit verbunden höheren Kosten.

1.1.2 Gefriertrocknung

Die GT wird als das schonendste Trocknungsverfahren bezeichnet, da die Produkte im gefrorenen Zustand und unter Vakuum (< 1 mbar) getrocknet werden, wobei das Wasser sublimiert. Die erhaltenen Produkte sind qualitativ sehr hochwertig, weshalb die GT oft als Referenzverfahren für andere Trocknungen verwendet wird (CUI et al. 2008a, ROTHER et al. 2011, WOJDYŁO et al. 2014). Durch die vielen Phasenübergänge des Wassers (1. Gefrieren, 2. Sublimieren, 3. Kondensieren und Ausfrieren), der langsamen Trocknung und dem niedrigen Druck während der Trocknung, ist die GT ein sehr energieintensives und damit teures Verfahren. Daher wird die GT vor allem für hochwertige Produkte und die Verwendung anderer Verfahren nicht möglich ist, eingesetzt. Die Produkte, die dabei erhalten werden, zeichnen sich durch einen sehr guten Erhalt der relevanten Inhaltsstoffe und des Volumens aus. Bei stückigen Produkten entstehen schwammartige, teilweise fragile Strukturen. Diese lassen sich gut rehydrieren, sind allerdings leicht zerbrechlich.

Im Verlauf der GT wird zuerst das gefrorene Wasser durch Sublimation entfernt. Die gefrorenen Partikel trocknen dabei gleichmäßig von außen nach innen. Etwa 10 % des Wassers liegt nicht gefroren als gebundenes Wasser vor, welches am Ende der Trocknung meist durch eine Erhöhung der Temperatur entfernt wird (SCHUCHMANN and SCHUCHMANN 2005).

1.1.3 Mikrowellenvakuumtrocknung

Als Mikrowellen werden elektromagnetische Wellen bezeichnet, deren Frequenz im Bereich zwischen 300 MHz und 300 GHz liegen. Mikrowellen werden typischerweise mit einer Frequenz von 2,45 GHz erzeugt, was einer Wellenlänge von 12,23 cm entspricht (GEHRMANN et al. 2009). Diese dringen in das Lebensmittel ein und regen die Wassermoleküle aufgrund des permanenten Dipols zur Schwingung an, was zur Erwärmung der Produkte führt. Die Eindringtiefe der Mikrowellenstrahlung liegt bei Lebensmitteln typischerweise bei etwa 1 cm (WRAY and RAMASWAMY 2015), was bedeutet, dass stückige Lebensmittel gleichmäßig und von innen heraus erhitzt werden können.

Bei der MWVT werden die Produkte im Vakuum mit Mikrowellen erhitzt. Die Vakuumtrocknung hat den Vorteil einer schnellen Verdampfung des Wassers bei vergleichsweise niedrigen Produkttemperaturen, was positiv für den Inhaltsstoffgehalt ist. Außerdem werden oxidative Schäden durch den niedrigen Sauerstoffgehalt minimiert. Die Wärmeübertragung durch Mikrowellen ist dabei sehr effizient, da sie fast verlustfrei auf das Trocknungsgut übertragen wird. Somit stellt die MWVT eine sehr schnelle Trocknungsmethode für Lebensmittel dar. Weitere Vorteile sind die gleichmäßige Erhitzung des Produktes durch den sog. Levelling-Effekt, da Bereiche mit hohem Wassergehalt durch Mikrowellen stärker erhitzt werden als schon trockene Bereiche. Voraussetzung für eine

1.1 Verfahren zur Trocknung von Lebensmitteln

gleichmäßige Erhitzung ist allerdings eine genaue Abstimmung der Anlagen auf die jeweiligen Produkte. Durch die Produktgeometrie kann es zudem zu einer Fokussierung der Mikrowellenstrahlung kommen, was zur Bildung von sog. „hot-spots“ oder „cold-spots“ führt. Das kann zur Folge haben, dass die Produkte entweder teilweise verbrannt sind oder nicht vollständig getrocknet.

Die MWVT wurde bereits auf eine Vielzahl von Produkten angewendet, unter anderem Sauerkirschen (WOJDYŁO et al. 2014), Erdbeeren (WOJDYŁO et al. 2009), Karotten (CUI et al. 2004), Bananenchips (MOUSA and FARID 2002), Honig (CUI et al. 2008b) und Pilze (GIRI and PRASAD 2007). Im Hinblick auf den Inhaltsstoffgehalt war die MWVT oft vergleichbar mit der reinen GT, bei gleichzeitig deutlich kürzeren Prozesszeiten (WRAY and RAMASWAMY 2015).

1.1.4 Kombinationstrocknungsverfahren

Trocknungsverfahren können auf unterschiedliche Weise kombiniert werden. Die Kombination wird vor allem dazu genutzt, die Produktqualität zu verbessern, die Energieeffizienz zu steigern und/oder die Trocknungszeit zu verkürzen (ZHANG et al. 2006). Eine Möglichkeit ist die simultane Anwendung von zwei Trocknungsverfahren, wie beispielsweise eine mikrowellenunterstützte GT, bei der die gefrorenen Produkte zusätzlich mit Mikrowellen erwärmt werden, um die Trocknung zu beschleunigen (CHANDRASEKARAN et al. 2013). Auch eine Beschleunigung der MWVT durch den zusätzlichen Einsatz von Heißluft wurde beschrieben (HORUZ et al. 2017, PAENGGANYA et al. 2015).

Bei der seriellen Kombination von Trocknungsverfahren, die im Rahmen dieser Arbeit untersucht wurde, werden zwei bis drei unterschiedliche Verfahren nacheinander angewendet. In der Literatur sind viele Kombinationen für die Trocknung von Lebensmitteln beschrieben, da eine Vielzahl derer denkbar ist. Der Einsatz beispielsweise der osmotischen Dehydration (OD), bei der bis zu 50 % des Wassers durch Eintauchen des Produkts in eine hypertone Lösung entzogen werden kann, erfordert eine Nachtrocknung mit anderen Verfahren. Für Apfelwürfel ist beispielsweise eine Kombination aus OD und mikrowellenunterstützter HT beschrieben (PROTHON et al. 2001), für Erdbeeren finden sich Kombinationen aus OD und MWVT (DE BRUIJN and BÓRQUEZ 2014) und aus OD und GT bzw. HT (PROSAPIO and NORTON 2017). Durch die Kombination der Verfahren ergeben sich vor allem eine Reduktion der Prozesszeit des zweiten Verfahrens und eine teilweise verbesserte Textur.

Verfahren, die aus der zweistufigen Kombination einer GT und einer Nachtrocknung mit einem anderen, schnelleren Verfahren (z.B. HT oder MWVT) bestehen, sind generell vorteilhaft, da die Trocknungszeiten im Vergleich zur reinen GT verkürzt werden können. Vor allem die zeitintensive Entfernung des gebundenen Wassers am Ende der Trocknung kann beispielsweise durch eine MWVT sehr effizient und schnell realisiert werden. Bei der GT von Erdbeeren mit einer anschließenden HT konnte je nach WP die Trocknungsdauer um bis zu 50 % verringert werden. Die erhaltenen Produkte unterschieden sich hinsichtlich der Farbe und des Volumens nur geringfügig von denen der reinen GT (XU et al. 2006). Bei der Trocknung von Karotten und Kürbis mit einer Kombination aus GT und HT konnten Produkte erhalten werden, die einen ähnlichen Erhalt der Carotinoide und des Volumens zeigten wie die reine GT bei gleichzeitiger Energie- und Zeitersparnis (KUMAR et al. 2001). Die

Kombination einer GT mit einer anschließenden MWVT bei Karottenwürfeln führte zu Produkten, die vergleichbare Eigenschaften hinsichtlich Farbe, Volumenerhalt, Rehydratation und Form wie die reine GT aufwiesen (ROTHER et al. 2011). In der gleichen Studie mit Karottenwürfeln wurde an eine HT bzw. MWVT, eine GT angeschlossen. Es stellte sich heraus, dass keine oder nur eine geringfügige Zeitersparnis im Vergleich zur reinen GT erreicht werden konnte. Auch der Volumenerhalt der Produkte war deutlich geringer. Die Anwendung einer MWVT mit anschließender GT auf Apfel- und Karottenscheiben ergab Produkte, die sich mit Ausnahme des Volumenerhalts, nicht von den Produkten einer reinen GT unterschieden (CUI et al. 2008a). Hier konnte zudem eine Zeitersparnis von etwa 40 % erreicht werden.

Die Kombination aus einer HT mit anschließender MWVT ist ein weiteres häufig untersuchtes Verfahren und wurde beispielsweise auf Erdbeeren (DE BRUIJN and BÓRQUEZ 2014), Kiwi (MASKAN 2001), Rote Beete (FIGIEL 2010), Bananen (MASKAN 2000) und Blaubeeren (ZIELINSKA and MICHALSKA 2016) angewendet. Da die Trocknungsgeschwindigkeit bei der HT im Verlauf der Trocknung immer weiter abnimmt, ist es günstig mit einer MWVT zu Ende zu trocknen, da hierbei das Wasser effektiver entfernt wird. Bei Bananenscheiben konnte bei der Kombination ein besserer Farberhalt im Vergleich zur HT und MWVT allein festgestellt werden (MASKAN 2000). Bei Erdbeeren war der Volumenerhalt bei Anwendung beschriebener Kombination im Vergleich zur reinen HT um etwa 25 % besser. Ebenso konnten deutlich bessere Rehydratationseigenschaften im Vergleich zur reinen HT festgestellt werden (DE BRUIJN and BÓRQUEZ 2014).

Eine dreistufige Kombination wurde bei Karotten untersucht (LITVIN et al. 1998). Nach einer zweistündigen GT, bei der der Wassergehalt auf 40 % reduziert wurde, erfolgte für 50 Sekunden eine Trocknung mit Mikrowellen. Das restliche Wasser wurde dann entweder mit HT oder Kontaktvakuumtrocknung entfernt. Die Prozesszeit im Gefriertrockner konnte durch dieses Verfahren verringert werden. Für Erdbeeren wurde ein dreistufiger Prozess aus einer HT, MWVT und nochmaliger HT untersucht (BÖHM et al. 2006). Die Erdbeeren wurden zuerst für 100 Minuten bei 60 °C heißluftgetrocknet. Daran anschließend wurden 55 Minuten mit einer MWVT (40 mbar, 55 °C) getrocknet, gefolgt von einer HT für 130 Minuten bei 55 °C. Die Prozesszeit war zwar kürzer als bei einer reinen GT, jedoch konnte bezüglich des Erhalts wertvoller Inhaltsstoffe keine Verbesserung im Vergleich zu einer reinen HT festgestellt werden.

Es wurde bereits eine Vielzahl an möglichen Kombinationen von verschiedenen Trocknungsverfahren untersucht, durch deren Anwendung entweder Zeit- und Energieersparnis resultiert und/oder Produkte höherer Qualität erhalten werden. Manche Untersuchungen zeigen außerdem, dass der Zeitpunkt des Wechsels auf das zweite Verfahren von großer Bedeutung für die Qualität der Endprodukte ist und auch die Reihenfolge der Prozesse einen bedeutenden Einfluss hat (HUANG et al. 2009). Eine Kenntnis des Verlaufs der Qualitätsparameter während der Einzelverfahren und der Beeinflussung des zweiten Verfahrens durch die Vortrocknung würde eine gezielte Entwicklung von seriellen Trocknungsverfahren ermöglichen, womit Endprodukte mit der gewünschten Qualität für die jeweilige Anwendung erhalten werden können.

1.2 Polysaccharide der pflanzlichen Zellwand

Die pflanzliche Zellwand ist hauptsächlich aus Polysacchariden (PS) aufgebaut, deren Art und Zusammensetzung sich von Pflanze zu Pflanze unterscheiden. Sie kann in drei Bereiche unterteilt werden: Mittellamelle, Primärwand und Sekundärwand. Die Mittellamelle besteht hauptsächlich aus Pektinen, befindet sich im Zwischenraum zweier benachbarter Zellen und ist vor allem für die Zell-Zell-Adhäsion verantwortlich. Auf die Mittellamelle aufgelagert ist die Primärwand, welche aus Cellulose-Mikrofibrillen besteht die in eine Matrix eingebettet sind. Diese Matrix besteht hauptsächlich aus weiteren PS und kann auch Strukturproteine und phenolische Verbindungen enthalten (HARRIS and SMITH 2006). Zwischen den verschiedenen Pflanzen bestehen große Unterschiede im Aufbau der Primärwand. Bei monokotylen Pflanzen innerhalb der Gruppe der Commeliniden befinden sich neben Cellulose hauptsächlich Xylane und nur geringe Mengen anderer PS in der Primärwand. Bei den anderen monokotylen sowie den dikotylen Pflanzen, sind Pektine und Xyloglucane (XG) die hauptsächlich neben Cellulose vorkommenden PS der Primärwand (VOGEL 2008). Primärwände werden während des Zellwachstums ausgebildet. Die darin enthaltenen Matrix-PS können sowohl modifiziert als auch auf- und abgebaut werden und geben damit der Zellwand die nötige Flexibilität. Bei ausdifferenzierten Zellen, die das Wachstum eingestellt haben, wird zur Stabilisierung zum Zellinneren hin die Sekundärwand aufgelagert. Diese besteht hauptsächlich aus Cellulose und Xylanen und kann wiederum lignifiziert oder nicht-lignifiziert sein (HARRIS and SMITH 2006).

1.2.1 Cellulose

Cellulose ist das stabilste aller Zellwand-PS und ubiquitär in allen Pflanzen vorhanden. Primärwände enthalten zwischen 20 und 30 % Cellulose, während Sekundärwände bis zu 50 % Cellulose enthalten können. Es ist ein lineares Polymer, das aus β -(1 \rightarrow 4)-verknüpften D-Glucose-Einheiten aufgebaut ist. In Sekundärwänden beträgt der Polymerisationsgrad (DP) 10.000 bis 15.000 D-Glucose-Einheiten, während Cellulose aus Primärwänden zwei DP-Fraktionen von 2500 bis 4000 und 250 bis 500 Einheiten enthält (BLASCHEK et al. 1982). Die Celluloseketten können sich über Wasserstoffbrückenbindung zusammenlagern, wodurch dann aus bis zu 100 Ketten die sogenannten Cellulose-Mikrofibrillen gebildet werden (MCDUGALL et al. 1996). Diese Mikrofibrillen bilden das Grundgerüst der Zellwände, da sie chemisch extrem stabil und wasserunlöslich sind. In Sekundärwänden liegen die Mikrofibrillen hauptsächlich in kristalliner Form vor, während in Primärwänden auch amorphe Formen zu finden sind (MCNEIL et al. 1984).

1.2.2 Hemicellulosen

Der Begriff Hemicellulosen beschreibt eine heterogene Gruppe von PS. Diese verknüpfen die Cellulosemikrofibrillen durch nicht-kovalente Wechselwirkungen, wobei die Hemicellulosenzusammensetzung je nach Pflanze und Zellschicht variiert (CARPITA and GIBEAUT 1993). In den primären Zellwänden monokotyle Pflanzen der Familie Poaceae liegen hauptsächlich

substituierte Xylane und mixed-linked- β -Glucane vor, während in den sekundären Zellwänden Xylane zu finden sind. Bei dikotylen und nicht commeliniden Pflanzen enthalten die primären Zellwände XG und Mannane, die sekundären Zellwände wiederum überwiegend Xylane (VOGEL 2008).

1.2.2.1 Xyloglucane

XG sind die hauptsächlich vorkommenden Hemicellulosen in Primärwänden von dikotylen Pflanzen und bilden das Netzwerk, welches die Cellulosemikrofibrillen zusammenhält (CARPITA and GIBEAUT 1993). Sie bestehen aus einem Rückgrat aus β -(1 \rightarrow 4)-glykosidisch verknüpften D-Glucopyranoseeinheiten, an die in Position O-6 α -D-Xylopyranoseeinheiten gebunden sind. Häufig sind drei aufeinanderfolgende Glucoseeinheiten mit Xylose substituiert, gefolgt von einer nicht substituierten Glucoseeinheit (FRY 1989, SCHELLER and ULVSKOV 2010). Die Xylose-Einheit kann zudem β -(1 \rightarrow 2)-glykosidisch mit D-Galactopyranose verknüpft sein, an welche wiederum α -(1 \rightarrow 2)-glykosidisch D-Fucopyranose gebunden sein kann (PARK and COSGROVE 2015). Es werden also Seitenketten gebildet, die aus bis zu 4 Monosaccharideinheiten bestehen und für die eine eigene Nomenklatur entwickelt wurde (FRY et al. 1993, TUOMIVAARA et al. 2015). Die Substitution der Glucoseeinheiten und die Verteilung und Art der Seitenketten variiert je nach Pflanze und Gewebe. Zusätzlich kann in dikotylen Pflanzen eine Acetylierung der Galactoseeinheiten an Position O-2 und O-3 vorliegen (PARK and COSGROVE 2015).

1.2.2.2 Xylane

Xylane sind PS, die grundsätzlich aus einem Rückgrat aus β -(1 \rightarrow 4)-glykosidisch verknüpften D-Xylopyranoseeinheiten aufgebaut sind. In dikotylen Pflanzen liegen diese meist als Glucuronoarabinoxylane (GAX) vor, bei denen einzelne α -L-Arabinofuranose- und α -D-Glucuronsäure-Einheiten (und deren 4-O-Methylester) an Position O-3 bzw. O-2 der Xylopyranoseeinheiten gebunden sind (VOGEL 2008). In Getreiden werden sie üblicherweise als Arabinoxylane (AX) bezeichnet, da sie nur geringe Mengen an Glucuronsäure enthalten (HARRIS and SMITH 2006). In AX ist α -L-Arabinofuranose an Position O-2 oder O-3 der Xylose des Rückgrats gebunden, wobei diese auch doppelt substituiert sein kann. Zudem liegen vor allem in dikotylen Pflanzen die Position O-3 und in geringerem Ausmaß die Position O-2 des Rückgrats acetyliert vor (SCHELLER and ULVSKOV 2010). Die Verteilung und Anzahl der Substituenten variiert stark und bestimmt wesentlich die Eigenschaften der (Hetero)-Xylane. Ein hoher Substitutionsgrad resultiert in einer besseren Wasserlöslichkeit des PS, durch die sterische Hinderung können aber weniger Wasserstoffbrücken mit Cellulose ausgebildet werden (CARPITA and GIBEAUT 1993). Eine weitere Besonderheit der AX in commeliniden monokotylen Pflanzen ist die Bindung von phenolischen Säuren, wie Ferulasäure und *p*-Cumarsäure, an Position O-5 der Arabinoseseitenketten (ISHII 1997). Durch radikalische Dimerisierung zweier estergebundener Ferulasäure-Monomere, kann es zu einer Verknüpfung von zwei AX-PS kommen, was zur Verfestigung der Zellwand beiträgt und vermutlich die enzymatische Abbaubarkeit der

1.2 Polysaccharide der pflanzlichen Zellwand

Zellwände beeinflusst (SCHELLER and ULVSKOV 2010). Auch eine Verknüpfung der PS mit Lignin ist über die an AX gebundenen phenolischen Säuren möglich (RALPH et al. 1995).

1.2.2.3 Mixed-linked- β -Glucane

Mixed-linked- β -Glucane (MLG) sind unverzweigte PS, die aus β -(1 \rightarrow 4)- und β -(1 \rightarrow 3)-verknüpften D-Glucopyranoseeinheiten zusammengesetzt sind und deren Vorkommen auf die Primärzellwände von monokotylen Pflanzen beschränkt ist. Die Gehalte an MLG sind variabel und beispielsweise im Endosperm von Hafer und Gerste in größeren Mengen vorhanden, wo sie als Speicher-PS fungieren (VOGEL 2008). Typischerweise enthalten MLG 30 % (1 \rightarrow 3)- und 70 % (1 \rightarrow 4)-Verknüpfungen (HARRIS and SMITH 2006). Die PS-Kette besteht dabei meist aus zwei bis drei aufeinanderfolgenden (1 \rightarrow 4)-gebundenen Glucoseeinheiten, gefolgt von einer (1 \rightarrow 3)-gebundenen Glucose (MCNEIL et al. 1984). Diese Verteilung der glykosidischen Bindungen führt zu einer Verdrehung der PS-Kette. Während des Wachstums von Pflanzen ist eine starke Veränderung der Gehalte an MLG zu beobachten (GIBEAUT et al. 2005, OBEL et al. 2002). In Zellen, die sich verlängern, steigen die Gehalte auf ein Maximum an. Nach Beendigung des Längenwachstums werden die MLG wieder abgebaut und sind in ausgereiften Zellen nur in sehr kleinen Mengen vorhanden (BUCKERIDGE et al. 2004).

1.2.2.4 Mannane

Mannane sind PS, die aus einem Rückgrat aus β -(1 \rightarrow 4)-glykosidisch verknüpften D-Mannopyranoseeinheiten zusammengesetzt sind. Sind diese an Position O-6 mit Galactose substituiert, werden sie als Galactomannane bezeichnet. Sind zusätzlich Glucoseeinheiten in das Rückgrat integriert, werden sie als Glucomannane bzw. Galactoglucomannane bezeichnet (SCHELLER and ULVSKOV 2010). Mannane kommen mit Gehalten von etwa 5 % in Zellwänden von dikotylen Pflanzen vor und dienen oft als Speicher-PS, wobei hier besonders die Leguminosen zu nennen sind (BUCKERIDGE 2010).

1.2.3 Pektin

Als Pektine werden Hetero-PS bezeichnet, welche zu einem großen Anteil aus Galacturonsäureeinheiten in Pyranoseform bestehen und eine sehr komplexe Struktur besitzen. In Pektinen sind verschiedene Polymere kovalent gekoppelt. Die mengenmäßig bedeutendsten Polymere sind Homogalacturonan (HG) und Rhamnogalacturonan-I (RG-I), an welches Seitenketten aus Neutralzuckern gebunden sind (Arabinane und Galactane). Quantitativ weniger bedeutend sind die substituierten Galacturonane Rhamnogalacturonan-II (RG-II), mit einer stark konservierten Struktur, und Xylogalacturonan (XGA) (VORAGEN et al. 2009).

1.2.3.1 Homogalacturonan

HG ist ein PS, das aus einer Kette aus α -(1 \rightarrow 4)-glykosidisch verknüpften D-Galacturonsäureeinheiten in Pyranoseform besteht. Die Kettenlänge von HG aus Apfel-, Citrus- und Zuckerrübenpektin beträgt dabei mindestens 72-100 Galacturonsäureeinheiten (THIBAUT et al. 1993). Die Säuregruppe an Position C-6 kann weiterhin methylverestert sein, während die Positionen O-2 und oder O-3 zudem acetyliert vorliegen können. Der Grad der Methylveresterung (DM) hat einen großen Einfluss auf die gelbildenden Eigenschaften von HG (THAKUR et al. 1997). Bei einem niedrigen DM von 25-50 % bildet HG in der Anwesenheit von Ca^{2+} -Ionen Gele aus, was durch das sogenannte „Eggbox-Modell“ beschreibbar ist (siehe Abbildung 2) (GRANT et al. 1973). Nach der Zusammenlagerung von größeren

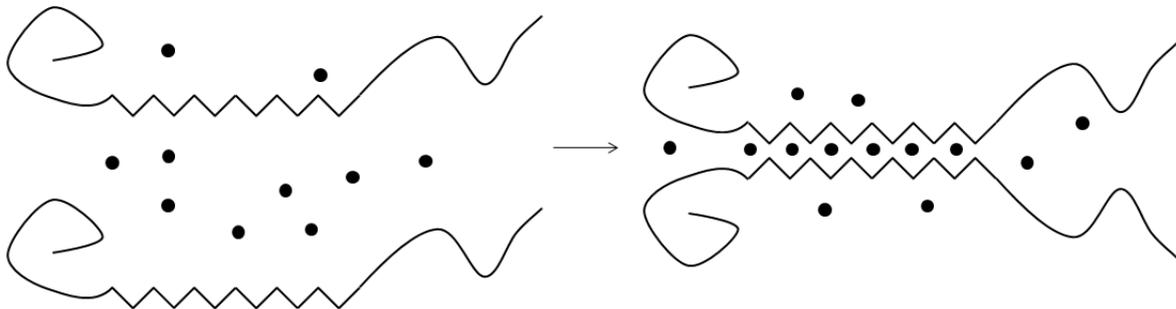


Abbildung 2: Schematische Darstellung der nicht-kovalenten Verknüpfung von zwei Homogalacturonan-Ketten durch Ca^{2+} -Ionen im sogenannten „Eggbox-Modell“. Die gewinkelten Bereiche in den Homogalacturonan-Ketten stehen für Bereiche ohne Methylveresterung. Die schwarzen Punkte stellen Ca^{2+} -Ionen dar

Bereichen, die nicht methylverestert sind, können Ca^{2+} -Ionen die HG-Ketten durch Komplexbildung nicht-kovalent miteinander verknüpfen, was zur Ausbildung des Gels führt. HG mit einem hohen DM bildet Gele in der Anwesenheit von Säure ($\text{pH} < 3,6$) und Zucker (mehr als 50 %) (SILA et al. 2009). Hierbei lagern sich längere Bereiche, die methylverestert vorliegen, durch hydrophobe Wechselwirkungen und über Wasserstoffbrückenbindungen zusammen. Der hohe Zuckergehalt führt zu einer zusätzlichen Bindung von Wassermolekülen, was die hydrophoben Wechselwirkungen verstärkt und die Gelstärke erhöht (THAKUR et al. 1997). Bei neutralem oder basischem pH-Wert und erhöhten Temperaturen ($< 80\text{ }^\circ\text{C}$) kann eine Spaltung von HG erfolgen. Der zugrundeliegende Mechanismus ist eine β -Eliminierung, die in Abbildung 3 dargestellt ist (ALBERSHEIM et al. 1960). Entscheidend für diese Reaktion ist die Anwesenheit von Methylgruppen an der Säuregruppe der Galacturonsäure, sodass hoch methylierte Bereiche schneller depolymerisiert werden (KRALL and McFEETERS 1998, ROMBOUTS and THIBAUT 1986, SILA et al. 2006b). Neben dem pH-Wert, der Temperatur und dem DM wird die Geschwindigkeit zudem durch die Anwesenheit von Kationen, Anionen und Puffersalzen beeinflusst (KEIJBETS and PILNIK 1974, KRAVTCHENKO et al. 1992).

1.2 Polysaccharide der pflanzlichen Zellwand

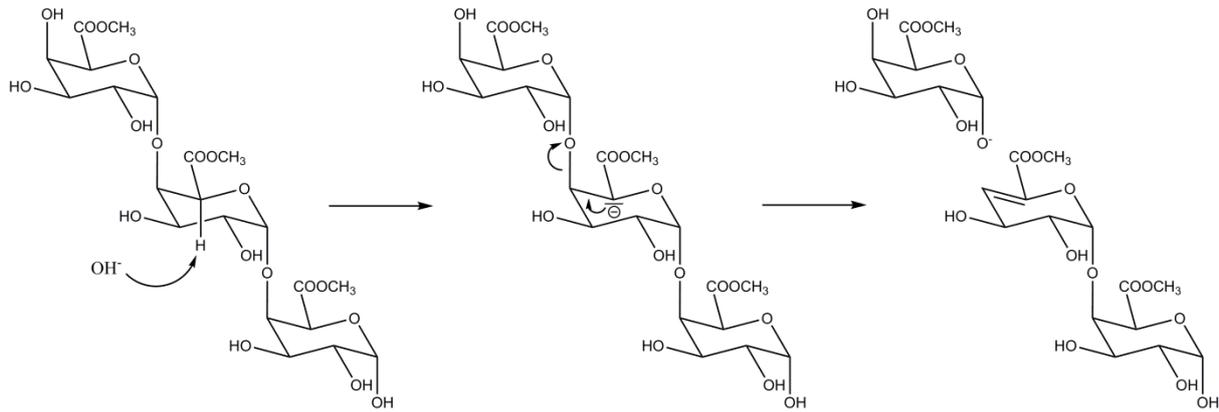


Abbildung 3: Mechanismus der β -Eliminierung von Homogalacturonan nach Albersheim et al., (1960)

1.2.3.2 Xylogalacturonan

Ist HG mit einzelnen β -D-Xylopyranoseeinheiten an Position O-3 substituiert, wird es als XGA bezeichnet. Diese PS wurden beispielsweise in Apfel und Erbsen gefunden (LE GOFF et al. 2001, SCHOLS et al. 1995). Die Säuregruppen der Galacturonsäure können auch hier methylverestert vorliegen, wobei sie sich gleichmäßig auf die mit Xylose substituierten und unsubstituierten Galacturonsäureeinheiten verteilen (CAFFALL and MOHNEN 2009).

1.2.3.3 Rhamnogalacturonan-II

RG-II wird ebenso wie XGA zu den substituierten Galacturonanen gezählt. An das Rückgrat aus α -(1 \rightarrow 4)-verknüpften Galacturonsäureeinheiten sind 12 unterschiedliche Monosaccharide mit über 20 verschiedenen Verknüpfungsarten gebunden. Manche der vorkommenden Monosaccharide, wie beispielsweise D-Apiose oder Acerinsäure, werden sonst sehr selten gefunden. Die Struktur von RG-II ist über viele Pflanzenfamilien hinweg stark konserviert und wurde in dikotylen und monokotylen Pflanzen sowie Gymnospermen nachgewiesen. RG-II kann durch die Ausbildung eines Borat-di-esters mit zwei Apiose-Resten dimerisiert werden, was eine wichtige Rolle bei der Festigung der Zellwand spielt. Ein Boratmangel oder eine minimale Modifikation der Struktur von RG-II durch eine Mutation, führt zu Kleinwüchsigkeit von Pflanzen, was die Bedeutung der Dimerisierung von RG-II für das normale Wachstum von Pflanzen verdeutlicht (O'NEILL et al. 2004).

1.2.3.4 Rhamnogalacturonan-I

Das Rückgrat von RG-I besteht aus sich wiederholenden α -(1 \rightarrow 2)-verknüpften L-Rhamnopyranose- und α -(1 \rightarrow 4)-verknüpften D-Galacturonsäureeinheiten (MOHNEN 2008). Diese können an Position O-2 und O-3 der Galacturonsäure zusätzlich acetyliert sein (RIDLEY et al. 2001). Eine Methylveresterung der Säuregruppen ist nicht eindeutig nachgewiesen, allerdings wurde aus Flachs eine Fraktion mit RG-I isoliert, die einen hohen Veresterungsgrad mit Methanol (MeOH) aufweist (RIHOUEY et al. 1995). An die Position O-4 der Rhamnoseinheit sind die neutralen Arabinan- und Galactan-Seitenketten gebunden (CAFFALL and MOHNEN 2009), deren Struktur im folgenden Kapitel näher erläutert wird.

1.2.3.5 Arabinane und Galactane

Arabinane und Galactane sind die neutralen Seitenketten von RG-I. Die Arabinane besitzen ein Rückgrat aus α -(1→5)-verknüpften L-Arabinofuranoseeinheiten, welche weiter an Position O-3 und/oder O-2 mit Arabinofuranose oder mit Seitenketten aus α -(1→3)-verknüpfter Arabinofuranose substituiert sein können. Art und Ausmaß der Verzweigungen des Arabinan-Rückgrats variieren je nach Pflanzenart. Bei Zuckerrüben (WESTPHAL et al. 2010), Äpfeln (WEFERS and BUNZEL 2016a) und Amaranth (WEFERS et al. 2015b) ist hauptsächlich die Position O-3 substituiert, während bei Raps die Substitution an Position O-2 dominiert (PUSTJENS et al. 2013). Bereiche mit Substitution an benachbarten Arabinoseeinheiten wurden für Zuckerrüben (WESTPHAL et al. 2010), Amaranth (WEFERS et al. 2015b) und Buchweizen (WEFERS and BUNZEL 2015) nachgewiesen.

Die Galactan-PS können in drei unterschiedliche Arten eingeteilt werden: Galactane sowie Typ-I und Typ-II Arabinogalactane (AG) (CAFFALL and MOHNEN 2009). Galactane bestehen aus β -(1→4)-verknüpften D-Galactopyranoseeinheiten, die eine Kettenlänge von bis zu 47 Einheiten aufweisen können (NAKAMURA et al. 2002). Typ-I AG besteht ebenfalls aus einem Rückgrat aus β -(1→4)-verknüpften D-Galactopyranoseeinheiten mit vereinzelt α -(1→5)-verknüpften L-Arabinofuranoseeinheiten. Arabinopyranose kann sowohl am Ende als auch in der Kette gebunden sein (WEFERS et al. 2014), und auch Seitenketten aus einer oder mehreren Arabinofuranoseeinheiten sind möglich (HUISMAN et al. 2001). Typ-II AG unterscheiden sich in ihrer Grundstruktur von den anderen Galactanen, da sie ein Rückgrat aus β -(1→3)-verknüpften D-Galactopyranoseeinheiten besitzen. Dieses Rückgrat kann an Position O-6 verzweigt sein, wobei Ketten aus β -D-Galactopyranoseeinheiten aus ein bis drei Monosacchariden vorhanden sein können. Am Ende dieser Ketten kann zudem β -Arabinopyranose gebunden sein (CAFFALL and MOHNEN 2009).

In dikotylen Pflanzen, insbesondere in der Familie der Amaranthaceen, können die Arabinane und Galactane zusätzlich mit Hydroxyzimtsäuren verestert vorliegen, wobei Ferulasäure am häufigsten und *p*-Cumarsäure weniger zu finden ist. Diese können durch oxidative Kopplung zwei Pektin-Polymere vernetzen oder an Lignin binden, was einen beträchtlichen Einfluss auf die Eigenschaften der pflanzlichen Zellwand hat (ISHII 1997). Diese Verknüpfung von Pektinmolekülen wurde beispielsweise durch Isolierung eines Diferulasäure-Oligosaccharids (OS) aus Quinoa gezeigt (WEFERS et al. 2015a). Die Hydroxyzimtsäuren sind bei Arabinanen an Position O-2 oder O-5 der Arabinose gebunden, bei Galactanen an Position O-6 der Galactose (BUNZEL et al. 2005). Bei Arabinanen wurde durch Isolierung der entsprechenden Ferulasäure-OS gezeigt, dass benachbarte Arabinoseeinheiten mit Ferulasäure verestert vorliegen können (LEVIGNE et al. 2004, WEFERS et al. 2014).

1.2.3.6 Pektin-Modell

Die Struktur der verschiedenen Pektin-Polymere wurde bisher gut erforscht. Deren Verknüpfung, die zur Bildung des Pektin Makromoleküls führt, ist allerdings nicht abschließend geklärt. Es wurden verschiedene Modelle entwickelt, wobei das Modell der „hairy- und smooth-regions“ am bekanntesten ist (DE VRIES et al. 1982). Dieses basiert auf der Beobachtung, dass ein Großteil der

1.3 Zellwandbestandteile als Ballaststoffe

Neutralzucker an kleine Abschnitte des Pektinmoleküls gebunden ist. Es wird angenommen, dass HG und RG-I ein lineares Rückgrat bilden, wobei Bereiche von RG-I mit einer hohen Dichte an neutralen Seitenketten als „hairy-region“ bezeichnet werden. Lange Abschnitte von HG ohne Seitenketten werden entsprechend als „smooth-region“ bezeichnet (siehe Abbildung 4). RG-II ist vermutlich in die HG-Kette eingebaut, da dies mit *endo*- und *exo*- Polygalacturonanase (*endo*- bzw. *exo*-PGA) aus HG freigesetzt werden kann (ISHII and MATSUNAGA 2001).

Andere Modelle schlagen RG-I als Rückgrat vor, an das HG, RG-II und XGA sowie die neutralen Seitenketten gebunden sind (VINCKEN et al. 2003). Auch eine Kombination aus dem Modell der „hairy- und smooth-regions“ und dem RG-I-Modell wurde vorgeschlagen, bei dem zwei lineare HG-Ketten an ein RG-I im Kern gebunden sind und an RG-I wiederum die neutralen Seitenketten und XGA gebunden sind (YAPO 2011).

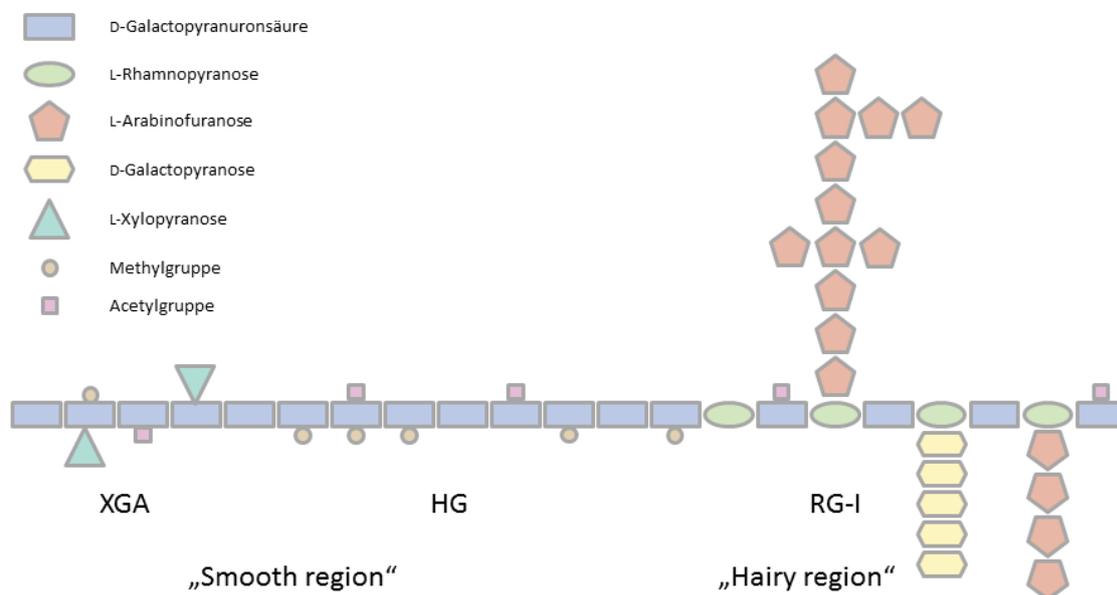


Abbildung 4: Schematische und vereinfachte Struktur von Pektin. XGA: Xylogalacturonan. HG: Homogalacturonan. RG-I: Rhamnogalacturonan-I

1.3 Zellwandbestandteile als Ballaststoffe

Zellwandbestandteile sind Teil der menschlichen Ernährung und fungieren als Ballaststoffe (BS). BS sind definiert als der essbare Teil von Pflanzen oder analoge Kohlenhydrate, die gegenüber der Verdauung und Resorption im menschlichen Dünndarm resistent sind und teilweise oder ganz im Dickdarm fermentiert werden. Dazu zählen PS, OS, Lignin und assoziierte pflanzliche Substanzen, die einen gesundheitlichen Nutzen aufweisen und beispielsweise abführend wirken und/oder den Blutglucose- und/oder Cholesterinspiegel senken (AACC 2001). Laut der internationalen Konsensdefinition des Codex Alimentarius sind BS Kohlenhydratpolymere mit zehn oder mehr monomeren Einheiten, die nicht durch die endogenen Enzyme des menschlichen Dünndarms hydrolysiert werden. Zu diesen zählen neben den natürlich vorkommenden, essbaren Kohlenhydratpolymeren (sowie Lignin und anderen assoziierten Substanzen) auch synthetisch

hergestellte und durch physikalische, enzymatische oder chemische Methoden gewonnene, sofern sie einen gesundheitlichen Nutzen aufweisen (CODEX ALIMENTARIUS 2010).

Die Aufnahme von BS mit der Nahrung ist mit verschiedenen gesundheitsfördernden Effekten, wie einem geringeren Risiko für Herz-Kreislauferkrankungen (ESHAK et al. 2010, STREPPPEL et al. 2008) und einer Senkung des Diabetes- und Krebsrisikos (bestimmte Tumore z.B. Darmkrebs) (LIPKIN et al. 1999, MEYER et al. 2000, SLAVIN 2013), verknüpft. Die Mechanismen sind teilweise unklar, und die Effekte stark abhängig von der Struktur der aufgenommenen BS. Bestimmte lösliche Ballaststoffe (LBS) können beispielsweise durch die Ausbildung einer viskosen Lösung im Dünndarm die Aufnahme von Glucose verlangsamen (BRENNAN 2005). Die damit verbundene Abschwächung des Anstiegs des Blutglucosespiegels nach einer Mahlzeit kann das Risiko verringern, an Diabetes Typ-2 zu erkranken. BS bewirken zudem eine vermehrte Ausschleusung von Gallensäuren, da diese an die BS „binden“ können und damit die Rückresorption am Ende des Dünndarms verringert wird. Dies führt wiederum zu einer Reduktion des Cholesterinspiegels, da Gallensäuren aus Cholesterin synthetisiert werden (STORY and KRITCHEVSKY 1976). Die Reduktion des Cholesterinspiegels wird als primäre Ursache für die Verringerung des Risikos für Herz-Kreislauferkrankungen durch BS angesehen (SLAVIN 2013). Durch die Fermentation der BS im Dickdarm entstehen kurzkettige Fettsäuren (Butyrat, Propionat und Acetat). In Zellkulturversuchen wurde gezeigt, dass Butyrat in der Lage ist, das Wachstum von Krebszellen zu hemmen und deren Apoptose zu fördern (LIPKIN et al. 1999). Die Produktion der kurzkettigen Fettsäuren führt außerdem zu einer Absenkung des pH-Wertes im Dickdarm, was wiederum das Wachstum von pathogenen Bakterien inhibieren und das Wachstum von förderlichen Bakterien stimulieren kann (SLAVIN 2013). Unlösliche Ballaststoffe (UBS) sind teilweise in der Lage kanzerogene Verbindungen zu adsorbieren und tragen damit vermutlich zur krebsprotektiven Wirkung bei. Besonders Lignin kann hydrophobe Kanzerogene, wie beispielsweise heterocyclische aromatische Amine, teilweise adsorbieren, wodurch die Exposition der Darmmukosa gegenüber diesen verringert wird (FERGUSON and HARRIS 1996, HARRIS and FERGUSON 1993).

1.4 Zellwandpolymere und ihr Einfluss auf die Textur von Lebensmitteln

Die Textur von pflanzlichen Lebensmitteln ist von großer Bedeutung für die Qualität und wird beträchtlich von der Zusammensetzung der pflanzlichen Primärwand beeinflusst (VAN BUREN 1979). Diese verändert sich während des Wachstums der Pflanzen sowie der Lagerung und der Verarbeitung von pflanzlichen Produkten. Die Textur von Gemüse wird beispielsweise bei zu langer Kultivierung als „faserig“ und „holzige“ bezeichnet und wird fester, die Lagerung und Reifung von Obst geht mit einer Erweichung der Textur einher (BRADY 1987).

Bei gelagertem Spargel, der mit der Zeit faserig wird, konnte gezeigt werden, dass die Veränderungen in der Textur mit erhöhten Mengen zellwandgebundener Ferulasäure und Ferulasäuredimeren, die Zellwand-PS vernetzen können, einhergehen (JARAMILLO et al. 2007, RODRÍGUEZ-ARCOS et al. 2004, SCHÄFER et al. 2016b). Es wird vermutet, dass diese Prozesse eine

1.4 Zellwandpolymere und ihr Einfluss auf die Textur von Lebensmitteln

Reaktion auf die Verwundung bei der Ernte darstellen und keine Nachreifung stattfindet. Zudem konnte eine vermehrte Ligninbildung beobachtet werden, die zusätzlich mit einer qualitativen Änderung im Ligninpolymer einherging (SCHÄFER et al. 2016b). Bei Radieschen entwickelt sich im Laufe der Reifung eine holzige und faserige Textur. Hier konnte gezeigt werden, dass diese Veränderung der Textur unter anderem mit einem Anstieg der Ligninmenge korreliert (SCHÄFER et al. 2016a). Bei Obst spielt Lignin eine weniger bedeutende Rolle als bei Gemüse, kommt aber beispielsweise in den Steinzellen von Birnen vor. Diese befinden sich im Fruchtfleisch und werden durch Auflagerung einer Sekundärwand aus Cellulose und Lignin gebildet. Deren Bildung und Vorkommen geht dabei mit einer sandigen Textur einher, die vor allem von der Menge der gebildeten Steinzellen abhängig ist (YAN et al. 2014).

Die Textur von Früchten hängt überwiegend von der Beschaffenheit der Primärwand und Mittellamelle, dem Turgordruck und der Einlagerung von Speicher-PS ab. Die Reifung und Lagerung von Früchten wird von einer Erweichung der Textur begleitet, welche aus einem enzymatischen Abbau von Struktur- und Speicher-PS resultiert und relativ gut untersucht ist (BARTLEY and KNEE 1982, PRASANNA et al. 2007). Auf molekularer Ebene findet vor allem eine Solubilisierung von Pektinen, Verlust von Neutralzuckern und Depolymerisierung weiterer Zellwand-PS statt (BROWNLEADER et al. 1999). An diesen Prozessen ist eine Reihe von Enzymen beteiligt, deren Aktivitäten teilweise mit den Veränderungen der Zellwand-PS korrelieren. Wichtige Enzyme hierbei sind unter anderem β -D-Galactosidase, α -L-Arabinofuranosidase, *endo*- bzw. *exo*-PGA, Pektatlyase und Pektinmethylesterase (PME) (FISCHER and BENNETT 1991).

Bei Äpfeln wird während der Reifung ein Abbau von Galactanen beobachtet, während bei der anschließenden Lagerung spezifisch zuerst hoch verzweigte Arabinane abgebaut werden und anschließend weitere Seitenketten von RG-I abgebaut werden. Der Verlust der Festigkeit ist dabei mit der Abnahme des Verzweigungsgrad von RG-I korreliert (PEÑA and CARPITA 2004, WEFERS et al. 2018). In anderen Studien wurde gezeigt, dass dieser Verlust von Galactanen durch eine hohe Aktivität von β -Galactosidase verursacht wird (GWANPUA et al. 2014, NG et al. 2015). Eine verzögerte Auflösung der Mittellamelle während der Lagerung von Äpfeln durch langsame Pektin-Depolymerisation und Solubilisierung war mit einem besseren Erhalt der Festigkeit korreliert (GWANPUA et al. 2016). Transgene Erdbeer-Kultivare, bei denen die Bildung des Enzyms *endo*-Polygalacturonanase bzw. Pektatlyase unterdrückt wurde, waren im Vergleich zu einer nicht veränderten Kontrolle fester. Der Effekt war auf längere HG-Ketten in den transgenen Erdbeeren im Vergleich zur Kontrolle zurückzuführen (POSÉ et al. 2015). Auch der Grad der Methylveresterung von HG spielt eine Rolle, da Bereiche in denen die Säuregruppen frei vorliegen mit Ca^{2+} -Ionen Crosslinks ausbilden können, was zu einer erhöhten Festigkeit führt (siehe Kapitel 1.2.3.1). Entscheidend ist hierbei das Enzym Pektinmethylesterase, da dieses MeOH-Gruppen von HG abspaltet, was die Bildung der Ca^{2+} -Crosslinks ermöglicht (FRAEYE et al. 2009). Weiterhin kann die Mikrostruktur der Zellwand-PS einen Einfluss auf die Textur haben. So wurde gezeigt, dass in Äpfeln die Dicke der Cellulose-Mikrofibrillen mit einer knusprigen und harten Textur korreliert (CYBULSKA et al. 2013). In mit verschiedenen Verfahren getrockneten Apfelscheiben konnte zudem eine Korrelation der

Knusprigkeit mit dem Gehalt an wasserlöslichen Pektinen nachgewiesen werden (CONTRERAS et al. 2005, HUANG et al. 2012)

Auch XG wird eine Rolle bei den reifebedingten Texturveränderungen zugeschrieben, da vor allem zu Beginn der Reifung ein Abbau und Depolymerisierung von XG stattfindet. In dikotylen Pflanzen bildet XG das Netzwerk, in welches die Cellulose-Mikrofibrillen eingelagert sind. Durch die Depolymerisierung und den Abbau von XG kommt es zu einer Auflockerung der Zellwand, was die Zugänglichkeit für Zellwand-Hydrolasen erhöht. Da der Abbau von XG vor allem zu Beginn der Reifung stattfindet, könnte schlussendlich der Abbau der Pektine initiiert werden (WAKABAYASHI 2000).

1.5 Veränderungen von ausgewählten Lebensmittelinhaltsstoffen während der Trocknung

Die Trocknung von Lebensmitteln führt immer zu nachteiligen Veränderungen im Produkt, die es zu minimieren gilt. Neben der Veränderung von physikalischen Parametern, wie der Härte, der Rehydratationseigenschaften, des Volumens und der Farbe, ist der Erhalt von Lebensmittelinhaltsstoffen von großem Interesse. Aufgrund ihres essentiellen Charakters sind Vitamine relevante Inhaltsstoffe, die daher möglichst gut erhalten werden sollen. Daneben sind Farbstoffe von großer Bedeutung, da die Farbe eines Produktes maßgeblich die Kaufentscheidung der Konsumenten beeinflusst. Während der Trocknung kann es neben dem Abbau von Farbstoffen im Verlauf der Maillard-Reaktion (MR) zur Bildung von braun gefärbten Verbindungen kommen, die die Farbe des Produkts verändern. Polyphenole (PP) sind aufgrund ihrer potentiell gesundheitsfördernden Wirkungen zunächst positiv zu bewerten, andererseits können sie durch das Enzym Polyphenoloxidase (PPO) zu braun gefärbten Produkten umgesetzt werden und so die Farbe des Produkts negativ beeinflussen. Zellwand-PS sind aufgrund ihrer gesundheitsfördernden Wirkungen als Ballaststoffe von Bedeutung und beeinflussen die Textur der Lebensmittel maßgeblich (siehe Kapitel 1.3), weshalb auch deren Veränderungen während der Trocknung von Interesse sind.

Bei den meisten Trocknungsverfahren wird der Erhalt der Inhaltsstoffe am Ende der Trocknung bestimmt, was keine Aussage über den zeitlichen Verlauf des Inhaltsstoffverlustes erlaubt. Für die Entwicklung von Kombinationsverfahren ist die Kenntnis des Verlaufs von großer Bedeutung, da dadurch nachteilige Stadien der Trocknungsverfahren durch entsprechende Kombinationen gezielt umgangen werden können.

1.5.1 Ascorbinsäure

AS ist ein wasserlösliches Antioxidans, das ubiquitär in allen pflanzlichen Lebensmitteln vorhanden ist und Vitamin C-Aktivität aufweist. Dehydroascorbinsäure (DHAS) kann leicht durch eine reversible Oxidation von AS gebildet werden (siehe Abbildung 5) und besitzt ebenso Vitamin C-Aktivität, weshalb DHAS von analytischer Relevanz ist. Insgesamt können bei der Verarbeitung und Lagerung

1.5 Veränderungen von ausgewählten Lebensmittelinhaltsstoffen während der Trocknung

produktabhängig große Verluste an den beiden Vitaminen auftreten. Aufgrund der sehr guten Wasserlöslichkeit von AS können zudem Verluste durch Auslaugen, beispielsweise beim Schneiden oder Waschen auftreten. Chemisch bedingter Verlust der Vitamin C-Aktivität tritt auf, wenn das Lacton von DHAS hydrolysiert wird, wobei Diketogulonsäure entsteht (siehe Abbildung 5). Diese wiederum kann weiter zu Carbonsäuren, Reduktonen und braun gefärbten Pigmenten abgebaut werden (DAMODARAN et al. 2008). Der Abbau ist dabei von vielen verschiedenen Faktoren, wie pH-Wert, Anwesenheit von Licht, Sauerstoff und Metallionen, Wasseraktivität und Temperatur abhängig. Deshalb eignet sich die Bestimmung des Erhalts an Vitamin C (Summe von AS und DHAS) zur Beurteilung des allgemeinen Inhaltsstoffgehalts des Produktes, da andere Vitamine meist auch gut erhalten werden wenn Vitamin C gut erhalten wird (SANTOS and SILVA 2008).

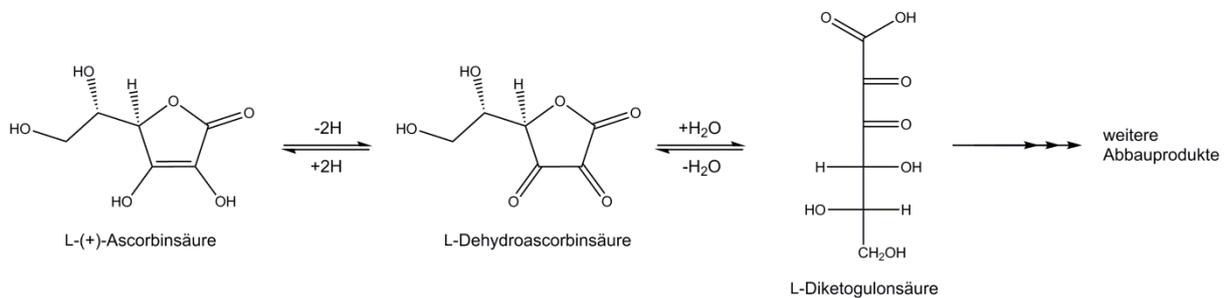


Abbildung 5: Strukturformeln von L-(+)-Ascorbinsäure, L-Dehydroascorbinsäure und L-Diketogulonsäure

Im Allgemeinen wird für den Abbau von AS in Lebensmitteln eine Reaktionskinetik 1. Ordnung angenommen. So konnte z.B. in Tomatenhälften die einer HT bei 80 bzw. 110 °C unterzogen wurden, ein gleichmäßiger Abbau von AS über das gesamte Verfahren festgestellt werden, wobei bei 110 °C ein deutlich schnellerer und stärkerer Abbau stattfand (ZANONI et al. 1998). Bei der Trocknung von Kartoffeln (zylindrische Form) hingegen, fand zu Beginn der Trocknung ein langsamer Abbau von AS statt, der dann bei niedrigeren Wassergehalten leicht beschleunigt wurde (KHRAISHEH et al. 2004). Neben dem Trocknungsverfahren, den angewendeten Parametern und dem Produkt hat auch die Vorbehandlung einen Einfluss auf die Geschwindigkeit des Abbaus von AS. Bei geschälten Tomaten, die einer osmotischen Vorbehandlung unterzogen wurden, wurde ein langsamerer Abbau von AS bei der anschließenden HT im Vergleich zu nicht vorbehandelten Tomaten festgestellt (MARFIL et al. 2008).

Bei der GT wird aufgrund der niedrigen Temperaturen und dem niedrigen Druck meist ein sehr guter Erhalt von AS erreicht, weshalb sie oft als Referenzverfahren eingesetzt wird. Bei Apfelstücken wurden 97 % (CUI et al. 2008a), bei Erdbeerhälften 98 % (WOJDYŁO et al. 2009) und bei Karottenscheiben 100 % (LIN et al. 1998) der ursprünglich enthaltenen AS erhalten. Die Verwendung von hohen Temperaturen und die Anwesenheit von Sauerstoff führen bei der HT zu einem schlechten Erhalt an AS. Hier bleiben bei den oben genannten Apfelstücken, Erdbeerhälften und Karottenscheiben 64 %, 28 % bzw. 38 % der AS am Ende der Trocknung erhalten. Da alle Trocknungen bei einer Lufttemperatur von 70 °C durchgeführt wurden, sind die Unterschiede im Erhalt von AS produktabhängig. Die MWVT zeichnet sich durch einen guten Erhalt von AS im Vergleich zur HT aus. Es werden 89 % der AS in den Apfelstücken, 64 – 88 % in den Erdbeerhälften (je

nach Mikrowellenleistung) und 79 % bei den Karottenscheiben erhalten. Dies ist vor allem in der kürzeren Trocknung und den aufgrund des erniedrigten Drucks verringerten Produkttemperaturen begründet.

Die Anwendung von Kombinationsverfahren kann einen verbesserten Erhalt von AS zur Folge haben, die Wahl der Prozessparameter, der WP und Reihenfolge der Verfahren ist dabei allerdings von Bedeutung. Bei einer dreistufigen Kombination (HT-MWVT-HT) zur Trocknung von Erdbeeren konnte eine verbesserte Retention von AS im Vergleich zur reinen HT beobachtet werden (BÖHM et al. 2006). Die Kombination aus einer GT mit anschließender MWVT zur Trocknung von Apfelscheiben führte zu Produkten, die eine gleiche Retention von AS wie die reine GT aufwiesen. Wurde die Reihenfolge der Verfahren vertauscht, wurde etwa 30% mehr AS abgebaut, was die Relevanz der Reihenfolge der Verfahren zeigt (HUANG et al. 2009, ROTHER et al. 2011). Es wurden noch einige weitere Kombinationsverfahren untersucht, bei denen lediglich physikalische Parameter, wie beispielsweise Rehydratationseigenschaften und Dichte, zur Beurteilung der Qualität herangezogen wurden (KUMAR et al. 2001, LITVIN et al. 1998, XU et al. 2006). Da auch der Erhalt der wertgebenden Inhaltsstoffe ein entscheidendes Qualitätsmerkmal ist, sollten diese ebenso zur Bewertung der Qualität der Endprodukte herangezogen werden.

1.5.2 Carotinoide

Carotinoide sind eine weitverbreitete Gruppe von fettlöslichen Verbindungen, die in Pflanzen als Pigment dienen und teilweise Provitamin A-Aktivität aufweisen. Sie kommen hauptsächlich in gelb-orangen Früchten und Gemüsen (z.B. Mango, Papaya, Tomate, Paprika, Karotte) und grünen Blattgemüsen (z.B. Spinat, Grünkohl, Salat) vor. Dort liegen sie in Plastiden vor und spielen eine wichtige Rolle im Lichtsammelkomplex der Chloroplasten und beim Schutz vor photooxidativen Schäden. Charakteristisch für Carotinoide ist das ausgedehnte konjugierte Doppelbindungssystem, was für die Lichtabsorption und die antioxidativen Eigenschaften verantwortlich ist (BRITTON 1995). Chemisch gesehen sind Carotinoide isoprenoide Verbindungen, die typischerweise 40 C-Atome enthalten und die in zwei Hauptgruppen eingeteilt werden können: Carotine (nicht-sauerstoffhaltig) und Xanthophylle (sauerstoffhaltig). Die wichtigsten Vertreter der Carotine sind α - und β -Carotin und Lycopin, bedeutende Xanthophylle sind Zeaxanthin, Lutein und β -Cryptoxanthin (siehe Abbildung 6). α -Carotin ist nur in Karotten in großen Mengen enthalten, während β -Carotin in sehr vielen Pflanzen vorkommt, mit hohen Gehalten in beispielsweise Karotten, roten Chilis und grünem Blattgemüse. Lycopin ist hauptsächlich in Tomaten und Wassermelonen vorhanden, Lutein in Kohl und grünem Blattgemüse, Zeaxanthin in Mais und rotem Paprika und β -Cryptoxanthin in Papaya und roter Paprika (MAIANI et al. 2009).

Das konjugierte Doppelbindungssystem macht die Carotinoide anfällig für Oxidationen und Isomerisierungen. In den Pflanzen liegen die Carotinoide fast ausschließlich in der energetisch günstigsten all-E-Konfiguration vor, lediglich in chlorophyllhaltigen Geweben und manchen Früchten kommen geringe Mengen an Z-Isomeren vor. Die Bildung von Isomeren während der Verarbeitung und Lagerung von Lebensmitteln erfolgt durch thermische Behandlung oder Lichteinfluss und hat

1.5 Veränderungen von ausgewählten Lebensmittelinhaltsstoffen während der Trocknung

eine verringerte Provitamin A-Aktivität und geringere Farbtintensität zur Folge (SCHIEBER and CARLE 2005). Während all-E- β -Carotin 100 % Provitamin A-Aktivität besitzt, sind es beim 13-Z- und 9-Z- β -Carotin noch 53 bzw. 38 % (SAINI et al. 2015). Die Oxidation der Carotinoide stellt den Hauptabbauweg dar und erfolgt hauptsächlich durch radikalische Oxidation. Der Abbau führt zu niedermolekularen Verbindungen und wird durch Hitze, Enzyme, Metallionen und Licht stimuliert (BOON et al. 2010).

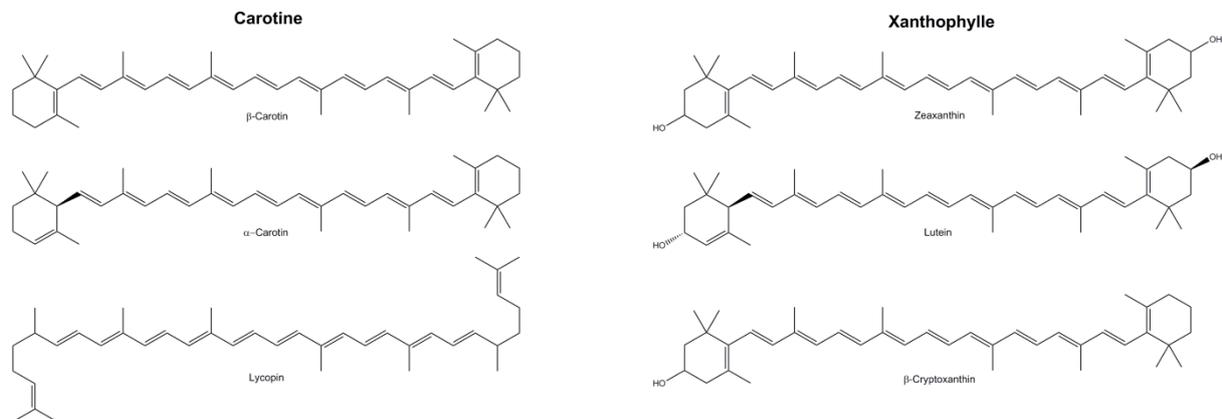


Abbildung 6: Chemische Strukturen der Carotinoide mit der größten Bedeutung für die menschliche Ernährung

Bei der Trocknung von Karotten zeigte sich eine relativ gute Stabilität der Carotinoide. Der Erhalt lag bei einer GT, MWVT und MWVT mit anschließender GT bei etwa 95 %. Bei einer HT mit 65 °C wurden hingegen etwa 30 % der Carotinoide abgebaut (CUI et al. 2008a). In einer anderen Studie wurde bei der HT bei Temperaturen von 70 °C oder darunter kein Abbau von β -Carotin festgestellt. Erst bei Temperaturen von 90 °C wurden 20 % des ursprünglich enthaltenen β -Carotins abgebaut. Bei der GT und MWVT blieben die Carotinoid-Gehalte stabil. Eine Entstehung von Carotinoid-Isomeren konnte bei keinem Verfahren festgestellt werden (REGIER et al. 2005).

1.5.3 (Poly)-phenolische Verbindungen

PP sind sekundäre Pflanzenstoffe, denen positive ernährungsphysiologische Eigenschaften zugesprochen werden und die möglicherweise das Risiko für zum Beispiel kardiovaskuläre Erkrankungen und Krebs senken könnten (BOYER and LIU 2004, PANDEY and RIZVI 2009). Nach Quideau „sollte der Begriff Polyphenole zur Definition von pflanzlichen Sekundärmetaboliten verwendet werden, die ausschließlich aus dem Shikimat-Phenylpropanoid und/oder dem Polyketid-Syntheseweg abgeleitet sind, mehr als einen phenolischen Ring enthalten und keine stickstoff-basierten funktionellen Gruppen in ihrer Grundstruktur tragen“ (QUIDEAU et al. 2011). Die Hauptgruppen der PP stellen die Lignane, Polyhydroxystilbene, Proanthocyanidine (kondensierte Tannine) sowie Gallo- und Ellagitannine (hydrolysierbare Tannine) dar. Phenolcarbonsäuren, wie Ferulasäure, p-Cumarsäure oder Kaffeesäure und deren Derivate, werden oft zu den PP gezählt, sind aber laut der Definition von Quideau keine PP, da sie nur einen phenolischen Ring besitzen. Die bei Erdbeeren und Äpfeln relevanten PP-Gruppen der Anthocyane, Flavonole, Flavanole und Hydroxyzimtsäuren sowie die

enzymatische Bräunung, bei der die PP als Substrat fungieren, sollen im Folgenden näher betrachtet werden.

1.5.3.1 Anthocyane

Anthocyane sind wasserlösliche Pigmente, die in vielen Früchten und Gemüsen für die rote, blaue oder violette Färbung verantwortlich sind. Chemisch gesehen bestehen sie aus zwei aromatischen (A und B) und einem heterozyklischen Ring (C) mit unterschiedlicher Substitution am A- und B-Ring (siehe Abbildung 7). Die Farbe ist abhängig vom pH-Wert und variiert von rot über blau/violett zu farblos zu gelb mit steigendem pH-Wert (STINTZING and CARLE 2004). Neben den färbenden Eigenschaften von Anthocyanen sind vor allem die antioxidativen Eigenschaften von Bedeutung, da sie allgemein mit positiven gesundheitlichen Wirkungen in Verbindung gebracht werden (KONG et al. 2003). In den Pflanzen liegen die Anthocyane meist als Glycoside vor, wobei die Monoglycosylierung an Position O-3 gegenüber doppelter Substitution und Substitution mit Disacchariden überwiegt (CASTAÑEDA-OVANDO et al. 2009). Die hauptsächlich vorkommenden Anthocyane im Fruchtfleisch von Erdbeeren sind Pelargonidin-3-O-Glucopyranosid (PG), Pelargonidin-3-O-[6-O-Malonyl]-Glucopyranosid (PMG), Pelargonidin-3-O-Rutinosid und Cyanidin-3-O-Glucopyranosid (AABY et al.

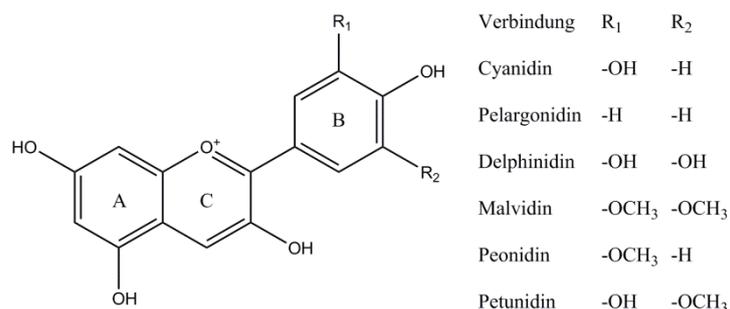


Abbildung 7: Allgemeine chemische Struktur von Anthocyanen

2012, DA SILVA et al. 2007). Bei Äpfeln sind die Anthocyane in der Schale lokalisiert, Ausnahmen bilden rotfleischige Äpfel, deren hoher Anthocyan-Gehalt im Fruchtfleisch zu der markanten Farbe führt, wobei Cyanidin-3-O-Galactopyranosid (CGal) das Hauptanthocyan darstellt (MALEC et al. 2014, MAZZA and VELIOGLU 1992, SUN-WATERHOUSE et al. 2013, WANG et al. 2015).

Während der Verarbeitung von Lebensmitteln kann es zu Verlusten der Anthocyane kommen, was mit einer verringerten Farbintensität einhergehen kann. Wichtige Faktoren, die den Abbau beeinflussen, sind der pH-Wert, Temperatur, Licht, Anwesenheit von Sauerstoff und Enzyme (enzymatischer Verlust siehe Kapitel 1.5.3.4) (PATRAS et al. 2010). Beim thermischen Abbau von Anthocyanen erfolgt zuerst eine Spaltung der glycosidischen Bindungen, bis nur noch die Aglycone vorliegen. Diese werden dann unter Öffnung des C-Rings weiter gespalten (PATRAS et al. 2010). Eine Acylierung der Anthocyane und höhere Glycosylierung gehen dabei mit einer verbesserten thermischen Stabilität einher (SADILOVA et al. 2006b).

1.5 Veränderungen von ausgewählten Lebensmittelinhaltsstoffen während der Trocknung

Bei der HT von Erdbeeren bei 70 °C wurde ein starker Abbau der Anthocyane festgestellt (37 % Erhalt). Hingegen waren sie bei einer MWVT deutlich stabiler, da je nach eingestrahelter Leistung und Sorte 71 – 87 % der Anthocyane am Ende der Trocknung erhalten blieben. Wie zu erwarten, konnten bei der GT keine Verluste festgestellt werden (WOJDYŁO et al. 2009). Die HT von rotfleischigen Äpfeln bei 70 °C führte wie bei Erdbeeren zu großen Verlusten des Hauptanthocyanins CGal (35 % Erhalt) (JOSHI et al. 2011). Eine Untersuchung zur Abbaukinetik der Anthocyane in Erdbeeren während einer HT deutet an, dass der Abbau nicht gleichmäßig verläuft. Da hier allerdings lediglich der photometrische Gesamt-Anthocyanengehalt und nicht die Einzelsubstanzen untersucht wurden, sollten hinsichtlich der Abbau-Kinetik weitere Untersuchungen angestellt werden (MÉNDEZ-LAGUNAS et al. 2017). Vor allem im Hinblick auf die Wahl des WP bei der Entwicklung von Kombinationsverfahren ist eine Untersuchung der Abbaukinetik hilfreich.

1.5.3.2 Flavonole und Flavanole

Weitere bedeutsame polyphenolische Verbindungen sind die Flavonole, deren wichtigste Vertreter in Obst und Gemüse Quercetin und Kämpferol sind (siehe Abbildung 8). In Pflanzen liegen diese hauptsächlich glycosidisch gebunden vor, in Erdbeeren vor allem als Quercetin-3-O-β-D-Glucuronopyranosid (QGU) und Quercetin-β-D-Glucopyranosid (QG) und Kämpferol-3-O-β-D-Glucopyranosid (KG) (AABY et al. 2007). In Äpfeln ist Kämpferol nur in geringen Mengen in der Schale zu finden, im Gegensatz zu Quercetin das mit Galactose, Glucose, Rutinose, Rhamnose, Xylose und Arabinose verknüpft vorliegen kann (CEYMANN et al. 2012, WANG et al. 2015, WOJDYŁO et al. 2008).

Flavanole zeichnen sich dadurch aus, dass sie im Gegensatz zu den meisten Flavonoiden keine Doppelbindung zwischen C2 und C3 und keine Carbonylfunktion an C4 des C-Rings aufweisen (siehe Abbildung 8) (TSAO 2010). Sie besitzen damit zwei Stereozentren an Position C2 und C3 des C-Rings. Bei Catechin liegt die *trans*-Konfiguration vor, bei Epicatechin *cis*-Konfiguration. Die hauptsächlich in Pflanzen vorhandenen Stereoisomere sind das (+)-Catechin (CA) und das (-)-Epicatechin (EC). EC und CA können oligo- und polymere Verbindungen bilden die als Proanthocyanidine bezeichnet werden.

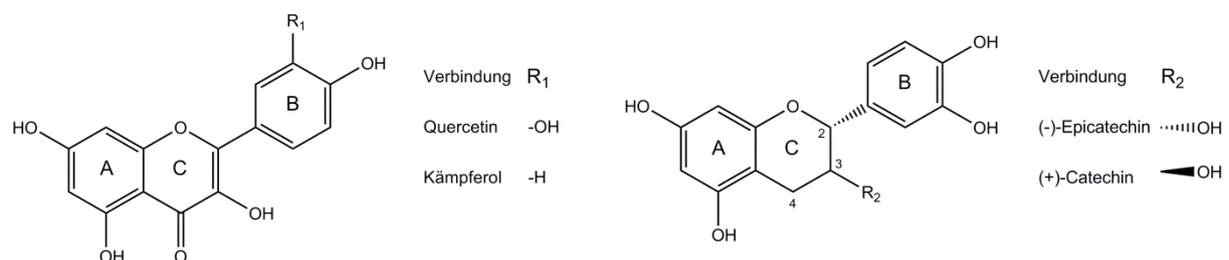


Abbildung 8: Chemische Strukturen der untersuchten Flavonole und Flavanole

Die Flavonole und Flavanole werden während der Trocknung unterschiedlich stark abgebaut. Bei Erdbeeren bleibt QG und KG während einer HT bei 70 °C, MWVT und GT gut erhalten, während CA vor allem bei der HT stark abgebaut wird (WOJDYŁO et al. 2009). Bei einer HT von Äpfeln bei 70 °C bleiben CA und EC bei einer Retention von 78 und 83 % gut erhalten, während die Quercetin-Glycoside (Galactosid, Glucosid, Rhamnosid und Rutinosid) unterschiedlich stark abgebaut werden

bzw. im Fall des Rutinosids sogar in größeren Mengen nach der Trocknung vorhanden sind (JOSHI et al. 2011). Bei einer Kombination einer kurzen Vortrocknung mit Mikrowellen (150 W für 15 Minuten, 300 W für 15 Minuten, 600 W für 5 Minuten) und anschließender HT bei 90 °C von Äpfeln konnte eine Verbesserung der Retention von EC im Vergleich zur reinen HT beobachtet werden (63 – 89 % bzw. 54 %). Für CA konnten nach der Trocknung mit dem Kombinationsverfahren sogar höhere Gehalt festgestellt werden. Im Falle der Quercetin-Glycoside (Galactosid, Glucosid, Arabinosid, Xylosid, Rhamnosid und Rutinosid) konnte durch das Kombinationsverfahren der Erhalt leicht verbessert werden (TARKO et al. 2009).

1.5.3.3 Hydroxyzimtsäurederivate und Phlorizin

Weitere für die hier vorgestellten Untersuchungen relevante (poly)-phenolische Verbindungen sind Chlorogensäuren (hier insbesondere 5-*O*-Caffeoyl-Chinasäure, CS), Phlorizin (PZ) (für Strukturen siehe Abbildung 9) und Phloretin-Xyloglucosid in Äpfeln (CEYMANN et al. 2012, DE PAEPE et al. 2015, WANG et al. 2015) sowie ein *p*-Cumaryl-Hexosid, welches in Erdbeeren zu finden ist (AABY et al. 2007, WOJDYŁO

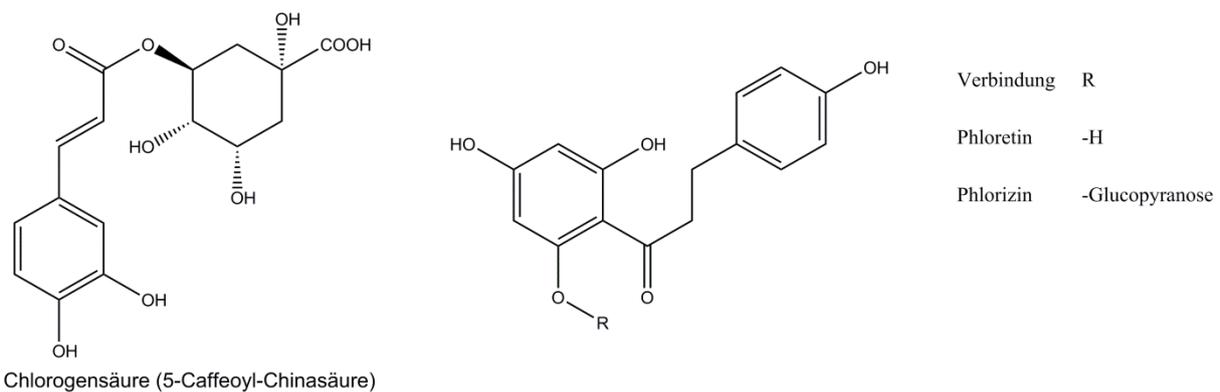


Abbildung 9: Chemische Struktur von Chlorogensäure und der Dihydrochalkone Phlorizin und Phloretin

et al. 2009). Der Begriff Chlorogensäuren umfasst eine große Gruppe von Verbindungen, bei denen Hydroxyzimtsäuren wie *p*-Cumarsäure, Ferulasäure, Kaffeesäure und Sinapinsäure mit Chinasäure (1L(-)-Chinasäure) verestert vorliegen (CLIFFORD et al. 2017). CS ist dabei der wichtigste Vertreter in Äpfeln. PZ kommt in Lebensmitteln in größeren Mengen nur in Äpfeln vor. PZ ist von Interesse, da es die Fähigkeit besitzt den Glucosespiegel im Blut nach einer Mahlzeit unabhängig von Insulin zu senken (EHRENKRANZ et al. 2005).

PZ und CS zeigten bei Apfelscheiben, die mit einer HT oder einer Kombination von Mikrowellenbehandlung mit anschließender HT getrocknet (siehe Kapitel 1.5.3.2) wurden, einen Erhalt von über 90 % bei allen Verfahren (TARKO et al. 2009). Hingegen war der Erhalt von PZ bei einer HT mit 70 °C von Apfelscheiben mit 57 % deutlich schlechter (JOSHI et al. 2011). Die Unterschiede könnten abhängig von der Sorte, der Trocknungsgeschwindigkeit, der Scheibendicke oder der Art der Vorbehandlung sein, weshalb es teilweise schwierig ist die verschiedenen Studien zu vergleichen. Wurden Erdbeeren mit einer HT mit 70 °C, GT oder MWVT (240 W, 360 W, 480 W) getrocknet,

1.5 Veränderungen von ausgewählten Lebensmittelinhaltsstoffen während der Trocknung

konnte *p*-Cumaryl-Glycosid bei allen Verfahren gut erhalten werden, was die Stabilität der Verbindung während einer Trocknung verdeutlicht (WOJDYŁO et al. 2009).

1.5.3.4 Enzymatische Bräunung

Die enzymatische Bräunung wird durch das Enzym PPO katalysiert und ist bei der Verarbeitung und Lagerung von Obst und Gemüse von großer Relevanz, da es dadurch zu unerwünschten Farbänderungen und Verlust von relevanten Inhaltsstoffen kommen kann. PPO katalysiert grundsätzlich die Oxidation von Monophenolen oder *ortho*-Phenolen zu *ortho*-Chinonen, welche in einem weiteren Schritt durch Kondensation oder Polymerisation die typisch braun gefärbten Produkte ergeben (YORUK and MARSHALL 2003). Je nach Pflanze weist das Enzym unterschiedliche Aktivitäten auf. Bei Äpfeln war die Aktivität von PPO gegenüber CS größer als gegenüber CA (JANOVITZ-KLAPP et al. 1989, ROCHA et al. 1998), während in Erdbeeren CA das beste Substrat darstellt (WESCHE-EBELING and MONTGOMERY 1990). Die Bräunung kann entweder durch Inaktivierung der PPO (thermisch oder durch Chelatoren), Entzug von Sauerstoff oder des Substrates erfolgen (QUEIROZ et al. 2008). Neben AS, organischen Säuren, β -Cyclodextrinen und schwefelhaltigen Verbindungen können auch Produkte der MR (BILLAUD et al. 2003, TAN and HARRIS 1995) und beispielsweise unreifer Traubenmost die enzymatische Bräunung verhindern (TINELLO et al. 2018).

Im Verlauf einer HT konnte bei unterschiedlichen Temperaturen (60, 70 und 80 °C) eine schnelle Abnahme der PPO-Aktivität beobachtet werden, sodass am Ende der Trocknung maximal 2 % der Ausgangsaktivität vorhanden war (AKYILDIZ and ÖCAL 2006). In einer anderen Studie hingegen konnte keine Abnahme der PPO-Aktivität nach einer HT von Äpfeln bei 45 oder 60 °C festgestellt werden. Eine Korrelation der PPO-Aktivität mit einer Abnahme im PP-Gehalt wäre naheliegend, konnte in dieser Studie aber nicht hergestellt werden (RODRIGUES et al. 2017).

1.5.4 **Entstehung und Reaktivität von 1,2-Dicarbonylverbindungen**

Die 1,2-Dicarbonylverbindungen (1,2-DV) stellen wichtige Intermediate der MR und bei Karamellisierungsreaktionen dar. Sie werden bei der Erhitzung und Lagerung von Lebensmitteln aus Kohlenhydraten gebildet und sind unter anderem Vorstufen von den sogenannten „Advanced Glycation Endproducts“ (AGEs) (SINGH et al. 2001). Die wichtigsten Vertreter der 1,2-DV, die aus Hexosen gebildet werden, sind Glucoson, 3-Desoxyglucoson (3-DG), 3-Desoxygalactoson (entsteht entweder aus Galactose oder durch Umlagerung von Glucose (HELLWIG et al. 2010)), 3-Desoxypentoson (entsteht bevorzugt aus 1-4-verknüpften Di- und Oligosacchariden (HOLLNAGEL and KROH 2002)) sowie Glyoxal (GO) und Methylglyoxal (MGO) (GOBERT and GLOMB 2009). 1,2-DV wurden in einer Reihe von Lebensmitteln, wie beispielsweise Bier, Wein, Weinessig, Sojasauce, Konfitüren, Honig, Keksen, Brot, Babynahrung und Süßwaren, quantitativ bestimmt, wobei 3-DG in den größten Mengen zu finden ist (DEGEN et al. 2012, KOCADAĞLI and GÖKMEN 2014).

1.5.4.1 Bildung während Karamellisierungsreaktionen

Karamellisierungsreaktionen treten bei Temperaturen von 120 °C und mehr in einem pH-Bereich zwischen 3 und 9 auf, womit sie besonders beim Backen und Rösten relevant sind (KROH 1994). Zu Beginn erfolgt eine Enolisierung der Kohlenhydrate, wobei Glucose (**1**) mit Fructose (**3**) und Mannose über die sog. *Lobry-de-Bruyn-van-Ekenstein-Umlagerung* im Gleichgewicht steht (siehe Abbildung 10). Aus dem 1,2-Endiol (**2**) bzw. 2,3-Endiol (**4**) kann durch Wasserabspaltung entsprechend 3-DG (**5**) bzw. 1-Desoxyglucoson (**7**, 1-DG) gebildet werden (KROH 1994). Die Bildung von Glucoson (**6**) erfolgt

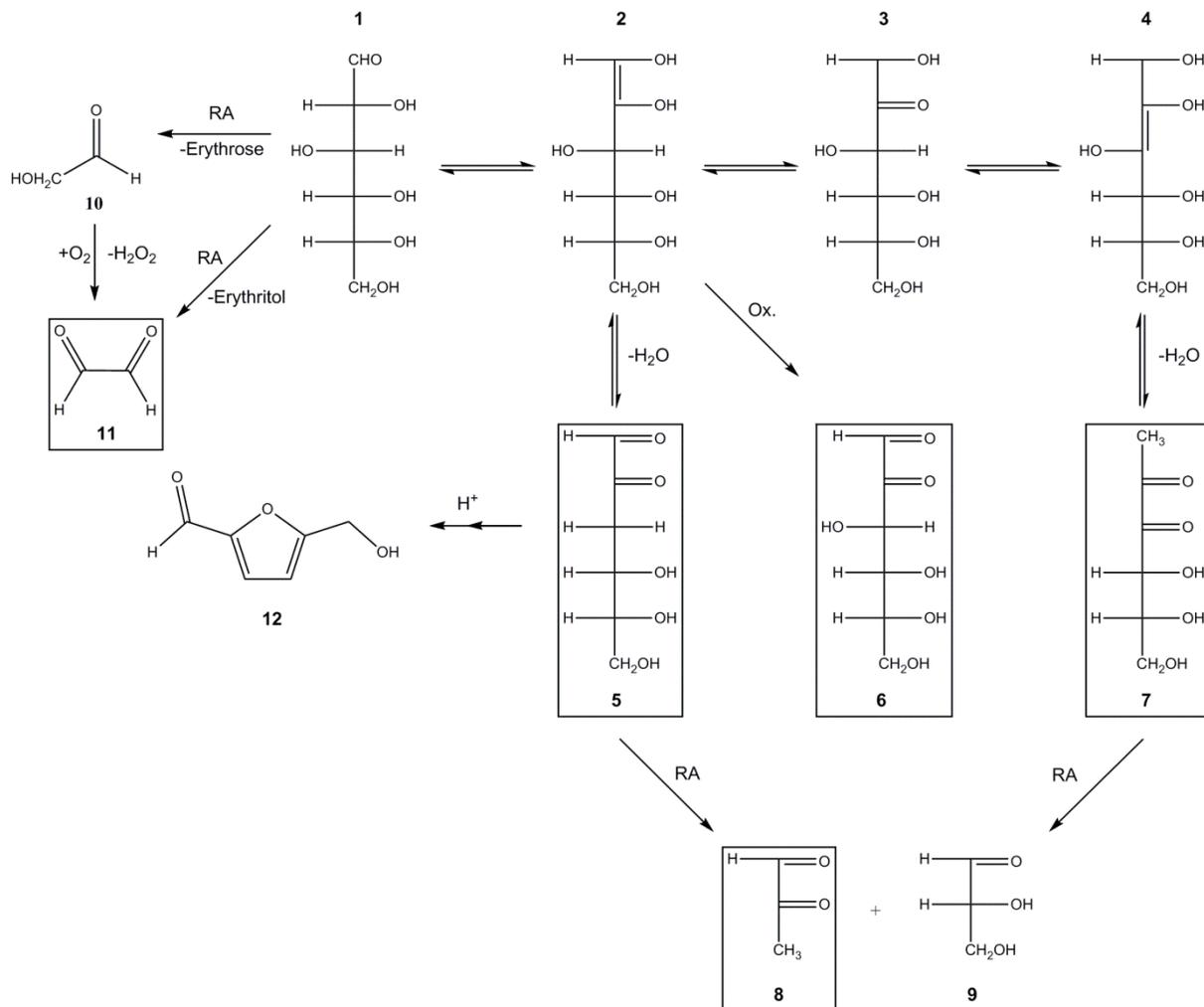


Abbildung 10: Bildung von 1,2-Dicarbonylverbindungen während der Karamellisierung am Beispiel von D-Glucose. **1**: D-Glucose. **2**: 1,2-Endiol. **3**: D-Fructose. **4**: 2,3-Endiol. **5**: 3-Desoxyglucoson. **6**: Glucoson. **7**: 1-Desoxyglucoson. **8**: Methylglyoxal. **9**: Glyceraldehyd. **10**: Glycoaldehyd. **11**: Glyoxal. **12**: Hydroxymethylfurfural. RA: Retro-Aldol-Reaktion. Mechanismus nach (KROH 1994, LEDL and SCHLEICHER 1990, THORNALLEY et al. 1999, WEENEN 1998)

durch Autoxidation des 1,2-Endiols (**2**) (THORNALLEY et al. 1999). Aus 3-DG (**5**) kann durch mehrfache Wasserabspaltung Hydroxymethylfurfural (**12**, HMF) gebildet werden (KROH 1994). 3-DG (**5**) und 1-DG (**7**) wiederum können durch eine Retro-Aldol-Reaktion weiter zu MGO (**8**) und Glycoaldehyd (**9**) fragmentieren (WEENEN 1998). Zuletzt kann die Bildung von GO (**11**) direkt aus beispielsweise Glucose (**1**) über eine Retro-Aldol-Reaktion und unter Abspaltung von Erythritol erfolgen. Ein weiterer

1.5 Veränderungen von ausgewählten Lebensmittelinhaltsstoffen während der Trocknung

diskutierter Weg ist die Retro-Aldol-Spaltung von Glucose zu Glycoaldehyd (**10**) und Erythrose mit nachfolgender durch Metallionen katalysierte Autoxidation von Glycoaldehyd (**10**) zu GO (**11**).

1.5.4.2 Bildung während der Maillard-Reaktion

Bei der MR werden reduzierende Kohlenhydrate in der Gegenwart von Aminen umgesetzt, wobei sehr viele Verbindungen in unterschiedlichen Mengen gebildet werden können. Die MR läuft im Vergleich zu Karamellisierungsreaktionen schon bei deutlich niedrigeren Temperaturen ab und 1,2-DV können auf vielen Wegen gebildet werden (siehe Abbildung 11). Zu Beginn der MR findet eine nukleophile Addition der Aminoverbindungen an die Carbonylfunktion der Aldose (**1**) statt, wobei eine Schiffsche Base (**13**, Imin) gebildet wird. Durch Enolisierung wird über das 1,2-Enaminol (**14**) das Amadori-Produkt (**15**) gebildet. Durch Enolisierung des Amadori-Produkts (**15**) zum 1,2-Enaminol bzw. 2,3-Enaminol, Wasserabspaltung und Hydrolyse des Imins entsteht 3-DG (**5**) bzw. 1-DG (**7**) (LEDL and SCHLEICHER 1990). Daraus kann wie bei der Karamellisierung (siehe Kapitel 1.5.4.1) MGO (**8**) über eine Retro-Aldol-Reaktion gebildet werden (WEENEN 1998). MGO (**8**) kann zudem durch die Spaltung eines aminierten Amadori-Produkts (**20**) gebildet werden. Aus dem entstehenden MGO-Diimin (**21**) wird nach β -Spaltung (**22**) und Hydrolyse schlussendlich MGO (**8**) gebildet (HAYASHI et al. 1986). In Anwesenheit von Cu^{2+} -Ionen wird aus der Amadori-Verbindung (**15**) über das 1,2-Enaminol (**14**) Glucoson (**6**) gebildet (KAWAKISHI et al. 1991). Durch eine sauerstoffabhängige Reaktion kann das 1,2-Enaminol (**14**) zudem zum entsprechenden Glucoson-Imin (**19**) oxidiert werden, woraus durch Hydrolyse wiederum Glucoson (**6**) entsteht. Durch eine weitere Spaltung kann zwischen C2 und C3 von Glucoson (**6**) entsteht zuletzt GO (**11**) (HOFMANN et al. 1999). GO (**11**) kann auch durch eine basenkatalysierte Retro-Aldol-Spaltung der Schiffschen Base (**13**) über mehrere Intermediate (**16** und **17**) gebildet werden (GLOMB and MONNIER 1995, HAYASHI et al. 1985).

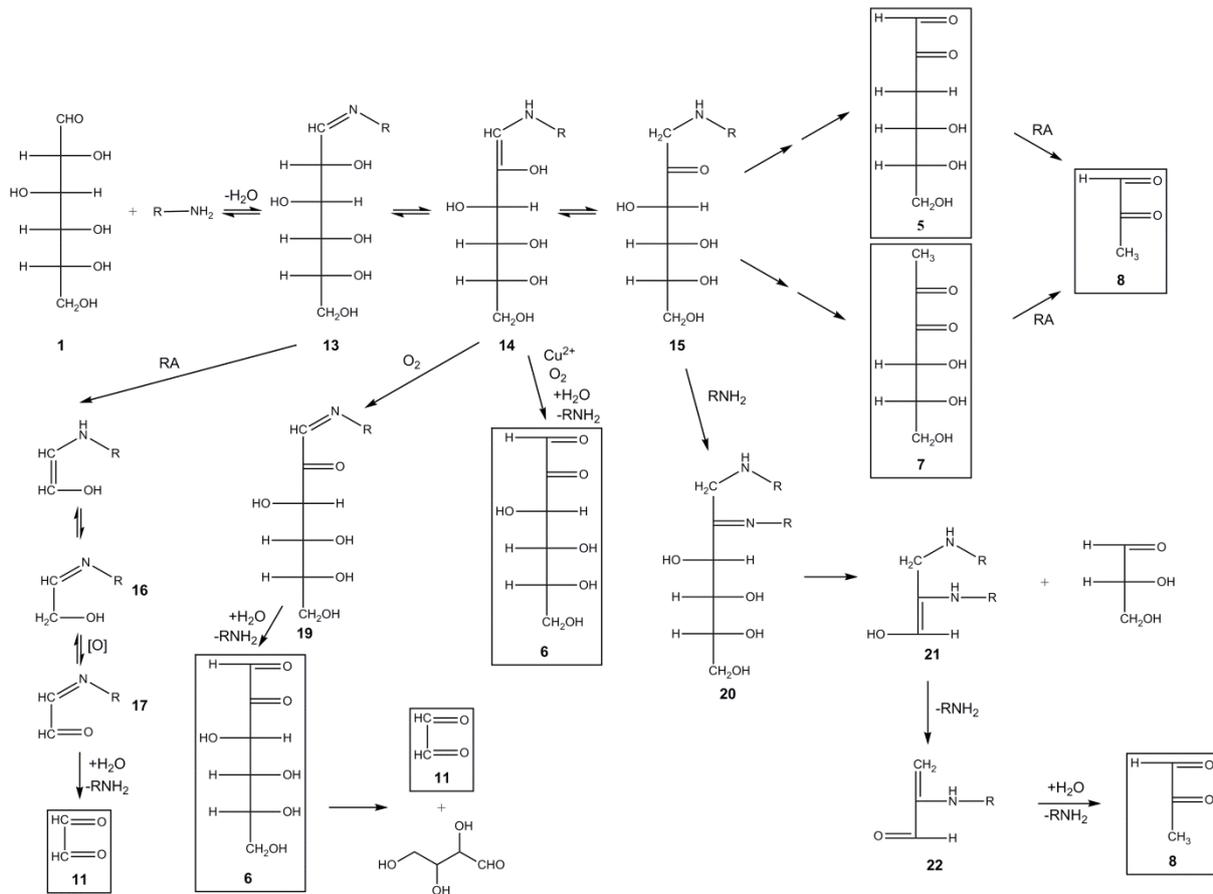


Abbildung 11: Bildung von 1,2-Dicarbonylverbindungen während der Maillard-Reaktion am Beispiel von D-Glucose. **1**: D-Glucose. **5**: 3-Desoxyglucoson. **6**: Glucoson. **7**: 1-Desoxyglucoson. **8**: Methylglyoxal. **11**: Glyoxal. **13**: Schiffsche Base (Imin). **14**: 1,2-Enaminol. **15**: Amadori-Verbindung. **16**: Glycoaldehyd-Imine. **17**: Glyoxal-Monoamin. **19**: Glucoson-Imine. **20**: Aminiertes Amadori-Produkt. **21**: Methylglyoxal-Diimin. **22**: Methylglyoxal-Imine. RA: Retro-Aldol-Reaktion. Mechanismus nach (CHENG and KAWAKISHI 1994, GLOMB and MONNIER 1995, HAYASHI et al. 1985, HAYASHI et al. 1986, HOFMANN et al. 1999, KAWAKISHI et al. 1991, LEDL and SCHLEICHER 1990)

1.5.4.3 Relevanz für Lebensmittel

1,2-DV und im Besonderen 3-DG werden als wichtige Intermediate bei der Bildung von gefärbten Verbindungen und Aroma im Zuge der nicht-enzymatischen Bräunung angesehen (HELLWIG et al. 2018, HOFMANN 1999, TRESSL et al. 1995). Daher könnte eine Bildung von 3-DG im Verlauf einer Trocknung eine mögliche Braunfärbung im Voraus anzeigen. Weiterhin können 1,2-DV mit N-terminalen Aminosäuren oder Seitenketten von Lysin und Arginin reagieren, was zur Bildung von AGEs führt (LEDL and SCHLEICHER 1990). Dies kann mit dem Verlust von essentiellen Aminosäuren, schlechterer Proteinverdaubarkeit oder Vernetzung von Proteinen einhergehen (MARTINS et al. 2001).

1.5.5 Veränderungen von Zellwandpolysacchariden während der Trocknung von pflanzlichen Lebensmitteln

Während der Trocknung von pflanzlichen Lebensmitteln unterliegen die Zellwand-PS Veränderungen, die mit Veränderungen in der Textur einhergehen können. Diese können entweder thermisch, beispielsweise durch Spaltung von HG via β -Eliminierung (siehe Abbildung 3) bedingt sein, oder katalytisch durch die Aktivität von pflanzeigenen Enzymen begünstigt sein, deren Aktivität (je nach Temperaturoptimum und Inaktivierungstemperatur) durch die Temperaturerhöhung bei der Trocknung erhöht wird.

Bei der HT wird üblicherweise mit steigender Temperatur eine verstärkte Abnahme der Gesamtmenge an Zellwandmaterial festgestellt. Dabei wurde eine Abnahme des Anteils an Galacturonsäure und in geringerem Maße an Arabinose und Galactose beobachtet, was auf einen Abbau bzw. Solubilisierung von Pektinen hindeutet (FEMENIA et al. 2009, FEMENIA et al. 2007). Weiterhin kann eine Verschiebung von Pektin-Fraktionen stattfinden, wobei der Anteil an wasserlöslichen Pektinen zunimmt (CONTRERAS et al. 2007, PLAT et al. 1991). Außerdem konnte gezeigt werden, dass das Molekulargewicht (MW) von Pektin während der Trocknung abnimmt, wobei hier ein enzymkatalysierter Abbau vermutet wurde (BEN-SHALOM et al. 1992).

Zudem kann eine Abnahme des DM von HG im Vergleich zur frischen Probe stattfinden, der wiederum bei höheren Temperaturen stärker ausgeprägt ist (FEMENIA et al. 1998, FEMENIA et al. 2007, PLAT et al. 1991). Dieser Effekt ist wahrscheinlich auf eine Erhöhung der Aktivität des Enzyms PME zurückzuführen, welches die Hydrolyse der Methyl ester in Position O-6 der Galacturonsäure von HG katalysiert. Das Temperaturoptimum von PME aus verschiedenen Pflanzen liegt zwischen 55 und 75 °C, weshalb das Enzym auch bei höheren Trocknungstemperaturen länger aktiv bleibt (DUVETTER et al. 2009) und nach Beendigung der Trocknung, abhängig von der Wasseraktivität, noch aktiv sein kann (RODRIGUES et al. 2017). Jedoch konnte für Kiwis gezeigt werden, dass der DM von HG nach der Trocknung höher ist, was auf eine größere Stabilität der methylveresterten Bereiche während der Trocknung schließen lässt, da gleichzeitig ein starker Abbau von Pektinen zu beobachten war (FEMENIA et al. 2009).

2 Zielsetzung

Die Trocknung von Lebensmitteln ist ein wichtiges Verfahren der Lebensmittelverarbeitung, bei dem leicht verderbliche Produkte durch Wasserentzug und der damit einhergehenden Absenkung des a_w -Wertes haltbar gemacht werden. Die Minimierung der durch die Trocknung verursachten nachteiligen Veränderungen im Produkt, durch eine Optimierung der bestehenden Prozesse oder Entwicklung von neuen Trocknungsverfahren ist daher von großer Bedeutung. Ein vielversprechender Ansatz ist die serielle Kombination von zwei oder mehr Trocknungsverfahren. Dadurch ist es möglich die Vorteile von Trocknungsverfahren zu vereinen und für Inhaltsstoffe schädliche Abschnitte der Trocknung zu umgehen, wodurch Produkte höherer Qualität hergestellt werden können. Die Eigenschaften der Produkte werden maßgeblich vom Zeitpunkt des Wechsels vom ersten auf das zweite Verfahren und der Reihenfolge der Verfahren bestimmt. Hier besteht ein erhebliches Verbesserungspotential, da in den bisher entwickelten Kombinationsverfahren die Festlegung des WP entweder nach dem trial-and-error-Prinzip oder zufällig erfolgte. Vor allem liegen meist keine Informationen über den Verlauf des Abbaus der Inhaltsstoffe während der Trocknung vor. Diese Informationen würden es ermöglichen, WP gezielt auszuwählen um Produkte zu erhalten, die hinsichtlich des Erhalts von relevanten Inhaltsstoffen optimiert sind.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es daher, seriell kombinierte Trocknungsverfahren zu entwickeln, die hinsichtlich des Erhalts von relevanten Inhaltsstoffen in Karotten, rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren optimiert sind. Die Kombinationsverfahren sollen aus den Einzelverfahren HT, GT und MWVT entwickelt werden. Zudem soll eine wissenschaftliche Grundlage geschaffen werden, die eine gezielte Entwicklung und Optimierung von Kombinationsverfahren ermöglicht, mit denen Produkte mit einem möglichst hohen Gehalt an wertgebenden Inhaltsstoffen hergestellt werden können.

Um eine gezielte Entwicklung der Kombinationsverfahren zu ermöglichen, soll zuerst der Erhalt der Inhaltsstoffe im zeitlichen Verlauf während der Einzelverfahren HT, GT und MWVT untersucht werden. Die HT und MWVT sollen dabei bei unterschiedlichen Temperaturen bzw. Leistungseinträgen erfolgen, um den Einfluss der Prozessparameter beurteilen zu können. Aus den gewonnenen Erkenntnissen können im Anschluss für Inhaltsstoffe nachteilige Stadien der Trocknung identifiziert werden. Anhand der Daten der Einzelverfahren sollen zudem Voraussagen über den Erhalt der Inhaltsstoffe während der Kombinationsverfahren getroffen werden, die im Zuge der Entwicklung der Kombinationsverfahren überprüft werden sollen. Die anschließende Entwicklung der zweistufigen Kombinationsverfahren soll zu Produkten führen, die hinsichtlich des Erhalts der Inhaltsstoffe optimiert sind. Durch die Überprüfung der Qualitätsvoraussagen, die anhand der Ergebnisse der Einzelverfahren getroffen wurden, können Beeinflussungen im Inhaltsstoffgehalt während des zweiten Verfahrens, die durch Veränderungen im Produkt während des ersten Verfahrens ausgelöst wurden, identifiziert werden. Nach Entwicklung der Kombinationsverfahren soll mithilfe von Scale-Up-Versuchen die Übertragbarkeit der Versuche vom Labormaßstab auf industrielle Maßstäbe untersucht werden. Durch die größeren Verfahrensräume können Unterschiede in den Verweilzeiten und Temperaturverteilungen im Vergleich zum modularen Trocknungsprozessor auftreten, die den Erhalt der Inhaltsstoffe beeinflussen können. Um die

1.5 Veränderungen von ausgewählten Lebensmittelinhaltsstoffen während der Trocknung

industrielle Verarbeitung weiter zu simulieren, sollte zusätzlich der Einfluss von weiteren Probenvorbereitungsschritten, wie z.B. Blanchieren, auf den Erhalt der Inhaltsstoffe untersucht werden. Mit einer sensorischen Untersuchung soll festgestellt werden, ob Produkte, die mit den entwickelten Kombinationsverfahren hergestellt wurden, von den mit Einzelverfahren hergestellten Produkten unterscheidbar sind.

Zur Beurteilung der Qualität der mit den verschiedenen Verfahren hergestellten Produkte sollen die Inhaltsstoffe AS, Anthocyane, PP, Carotinoide und 3-DG untersucht werden, um den allgemeinen Erhalt von Vitaminen, Farbstoffen und relevanter sekundärer Inhaltsstoffe zu beurteilen. Dafür sollen Methoden etabliert werden, die, aufgrund der großen zu erwartenden Anzahl der zu analysierenden Proben, bei gegebener Genauigkeit in möglichst kurzer Zeit durchgeführt werden können. Zur Analyse der Inhaltsstoffe sollen daher HPLC-Methoden zum Einsatz kommen, da diese im Gegensatz zu üblichen Methoden, die lediglich Summenparameter bestimmen, selektiver sind und zugleich einen hohen Probendurchsatz ermöglichen.

Eine umfassende Untersuchung der Zusammensetzung der Zellwand-PS von ausgewählten Produkten ist von Interesse, um mögliche Veränderungen in den Zellwand-PS während der Trocknung festzustellen. In der Literatur wurde dieser Aspekt unzureichend bzw. im Fall der MWVT nicht betrachtet. Da in vielen Studien gezeigt werden konnte, dass die Zellwand-PS die sensorischen Eigenschaften beeinflussen, soll untersucht werden, ob eine Korrelation zwischen sensorischen Attributen und der Zellwandzusammensetzung feststellbar ist.

3 Material und Methoden

3.1 Trocknungsanlage

Zur Trocknung der Produkte wurde ein modularer Trocknungsprozessor (siehe Abbildung 12) verwendet, der es erlaubt, verschiedene Trocknungsarten parallel oder seriell zu kombinieren (KRAUS et al. 2011). Mit dem Prozessor ist es möglich, ohne Unterbrechung HT-, MWVT- und GT-Prozesse seriell zu kombinieren. Für die Mikrowellenerzeugung wird ein wassergekühltes Magnetron verwendet, das eine maximale Leistung von 820 W bei einer Frequenz von 2,45 GHz liefert. Mit dem Lufterhitzer können Temperaturen von bis zu 200 °C erzeugt werden. Die Oberflächentemperatur des Produktes kann durch ein integriertes Infrarot-Thermometer in einem Bereich zwischen 0 und 200 °C im Verlauf der Trocknung gemessen werden. Für Vakuum- oder Gefrierdrying kann der Trocknungsraum bis auf einen minimalen Druck von 0,05 mbar evakuiert werden. Je nach Anwendung können die Produkte auf einem Drehteller oder in einer Trommel, die beide komplett aus Teflon gefertigt sind, getrocknet werden. Der Drehteller kann zudem auf Temperaturen zwischen -20 und +150 °C temperiert werden. Durch eine integrierte Wägeeinheit kann das Gewicht ohne Unterbrechung des Prozesses auf 0,1 g genau bestimmt werden. Mit der Anlage ist es möglich im kg-Maßstab zu trocknen, jedoch wurden für diese Arbeit im Tellermodus (GT) etwa 160 g und im Trommelmodus (HT und MWVT) etwa 250 g frisches Produkt eingesetzt. Die Beschaffung und Vorbereitung der Proben und alle Trocknungsversuche wurden am Institut für Lebensmittelverfahrenstechnik durchgeführt.

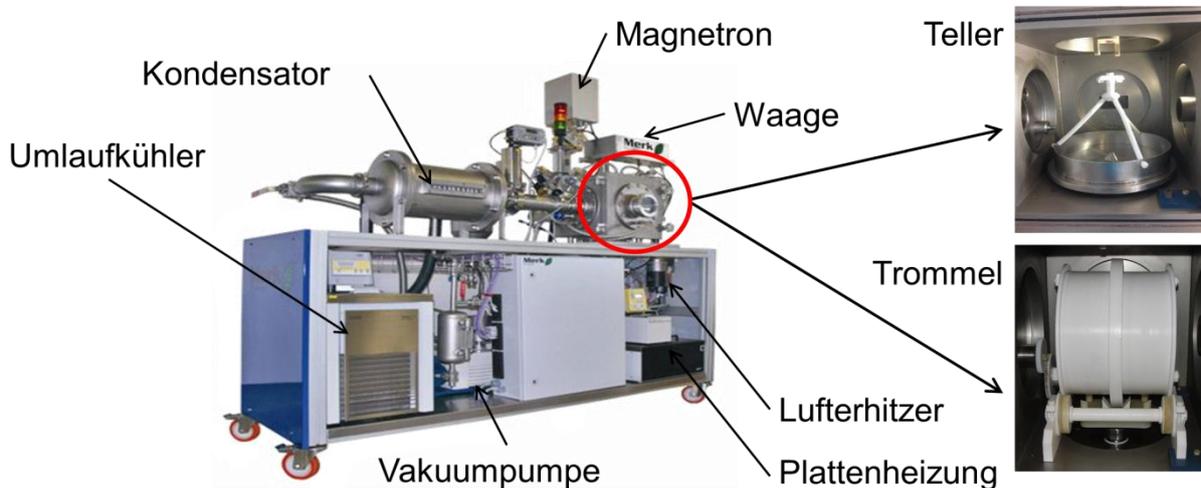


Abbildung 12: Modularer Trocknungsprozessor nach Kraus et al. (2011)

3.2 Pflanzenmaterial und Probenvorbereitung

3.2.1 Rotfleischiger Apfel Baya Marisa®

Zur Trocknung wurden rotfleischige Äpfel der Sorte Baya Marisa® eingesetzt, da sie im Vergleich zu herkömmlichen Äpfeln im Fruchtfleisch Anthocyane enthalten, die die typische Rotfärbung bedingen. Diese Äpfel können beispielsweise für die Herstellung von innovativen Produkten wie rotgefärbten Apfelingeln eingesetzt werden. Darüber hinaus ermöglicht der Einsatz dieser Äpfel den Abbau von Anthocyanen unter den jeweiligen Trocknungsbedingungen zu untersuchen. Bei der Sorte handelt es sich um eine Kreuzung aus der Sorte „Weirouge“ mit einem Zuchtklon, die im Bayrischen Obstzentrum (Hallbergmoos, Deutschland) gezüchtet wurde. Die Ernte des Jahres 2016 wurde Mitte September reif geerntet, beim Hersteller unter kontrollierter Atmosphäre (KA) gelagert und Anfang November geliefert. Die Lagerung vor Ort erfolgte ebenso unter KA, die aus 1 % O₂, 2,5 % CO₂ und 96,5 % N₂ bestand. Trotzdem wurden schon Anfang Dezember große Lagerschäden festgestellt, weshalb mit dieser Charge nur die HT-Versuche durchgeführt werden konnten. Im Jahr 2017 wurden die Äpfel 3 Tage nach Ernte erhalten und unter KA gelagert. Mit diesen Äpfeln wurden die GT, MWVT und Kombinationstrocknungen durchgeführt (siehe Kapitel 4.2.1 und 4.2.2).

Vor der Trocknung wurden die Äpfel mit einem Apfelschneider verarbeitet, der die Äpfel gleichzeitig schält, spiralförmig schneidet (Dicke 5 mm) und das Kernhaus entfernt (siehe Abbildung 13 links). Der geschnittene Apfel wurde anschließend mit einem weiteren Schneider in 10 Teile unterteilt (siehe Abbildung 13 rechts). Alle Stücke, die eine radiale Länge von weniger als 15 mm hatten, wurden aussortiert. Die erhaltenen Stücke wurden vor der Trocknung kurz in Wasser getaucht, anschließend für 60 Sekunden abgetropft und mit Druckluft für 50 Sekunden getrocknet. Für die Versuche der GT und die Kombinationsverfahren, die mit einer GT beginnen, wurden die Äpfel direkt nach Erhalt wie beschrieben vorbereitet, in Plastikbeuteln vakuumverpackt und bei -80 °C bis zur Verwendung gelagert.

Da die Inhaltsstoffe in Äpfeln ungleichmäßig verteilt sind (CEBUL et al. 2017) und beispielsweise die Sonnenseite mehr AS im Vergleich zur Schattenseite enthält (FELICETTI and MATTHEIS 2010, LI et al. 2008), wurde darauf geachtet, von jeder Seite des Apfels Stücke zu entnehmen, um repräsentative, homogene Proben für jeden Versuch zu erhalten.

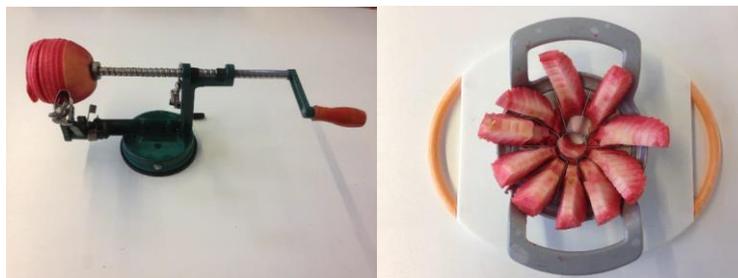


Abbildung 13: Verarbeitung der Äpfel vor der Trocknung. Links: Apfelschneider der gleichzeitig die Schale und das Kernhaus entfernt und schneidet. Rechts: Schneiden des Apfels in zehn Teile

3.2.2 Erdbeere

Die in den Untersuchungen verwendeten Erdbeeren (Sorte Clery) wurden im Zeitraum der Ernte von Ende April bis Juni 2017 von einem lokalen Erzeuger bezogen (Erdbeer- und Spargelhof Markus Leicht, Eggenstein) und bis zur Verwendung im Kühlschrank bei 4 °C gelagert. Durch die Verwendung einer weiteren Sorte hätte das Zeitfenster für Versuche zwar verlängert werden können, es wurde jedoch davon abgesehen, da gezeigt wurde, dass der Erhalt von Inhaltsstoffen während der Trocknung in Erdbeeren auch von der Sorte abhängig ist (WOJDYŁO et al. 2009). Unterschiede gab es allerdings in der Kultivierungsform (Gewächshaus, Folientunnel, Folie und Freiland), die sich in den Gehalten der Inhaltsstoffe der frischen Erdbeeren niederschlugen (siehe Abbildung 43, Seite 213).

Vor der Trocknung wurden die Erdbeeren in Wasser getaucht, um äußeren Schmutz zu entfernen, und mit einem Tuch vorsichtig getrocknet. Nach Entfernung des Strunks wurden die Erdbeeren von Hand mit einem speziellen Messer, welches einen Abstandshalter enthält, in 6 mm dicke Scheiben geschnitten. Alle Scheiben mit einem Durchmesser < 15 mm wurden verworfen. Im Vergleich zum Apfel und zur Karotte wurden dickere Scheiben verwendet, da die Erdbeeren im Trommelbetrieb mit 5 mm Dicke nicht stabil genug waren. Wie beim Apfel wurden die Produkte für die GT und Kombinationsverfahren, die mit einer GT beginnen, wie beschrieben vorbereitet, in Plastikbeuteln vakuumverpackt und bei -80 °C gelagert.

3.2.3 Karotte

Die Karotten wurden versuchstüchtig bei einem lokalen Händler bezogen, wobei darauf geachtet wurde, dass diese immer vom gleichen Erzeuger stammen. Die Lagerung bis zur Trocknung erfolgte im Kühlschrank bei 1 °C. Die Karotten wurden vor der Trocknung geschält und in 5 mm dicke Scheiben geschnitten, wobei Scheiben mit einem Durchmesser von < 20 mm verworfen wurden.

3.3 Trocknung der Produkte

3.3.1 Einzelverfahren

Als Einzelverfahren wurden die HT, MWVT und GT untersucht. Die dabei verwendeten Parameter sind in Tabelle 1 ersichtlich. Um Aussagen über das Verhalten der Inhaltsstoffe während der Trocknung zu machen, wurden die Trocknungen bei unterschiedlichen Produktfeuchten abgebrochen und analysiert. Als Endpunkt der Trocknung wurde die relative Restfeuchte $X_{db}/X_{0,db}$ von 0,01 (siehe Formel (2)) festgelegt. Bei Untersuchung der Karotten wurden bei der HT und MWVT drei Temperaturen bzw. Leistungen verwendet (siehe Tabelle 1). Die MWVT wurde bei einem Energieeintrag von 500 W (2 W/g) zudem bei Drücken von 10, 50 und 100 mbar durchgeführt. Allerdings wurde, im weiteren Verlauf der MWVT-Versuche (750 W, 50 mbar) aufgrund von Reflektion der Mikrowellenstrahlung, eine schlechte Energieübertragung und damit ein geringerer Energieeintrag von ca. 250 W festgestellt. Das Problem konnte durch Reduktion des Drucks auf 15 mbar behoben werden, weshalb alle weiteren MWVT-Versuche für Äpfel und Erdbeeren bei

3.3 Trocknung der Produkte

diesem Druck durchgeführt wurden. Aus Zeitgründen (kurze saisonale Verfügbarkeit bei Erdbeeren) und aufgrund des begrenzten Ausgangsmaterials (Apfel) wurden bei der Trocknung von Äpfeln und Erdbeeren nur zwei Temperaturen bei der HT bzw. Leistungsstufen bei der MWVT untersucht. Die GT wurde bei Drücken von weniger als 2 mbar und einer Teller temperatur von 30 °C durchgeführt.

Tabelle 1: Verwendete Parameter zur Heißluft, Mikrowellenvakuum- und Gefriertrocknung.

	HT	MWVT	GT
Energieeintrag/Temperatur	70 °C (90 °C) ^a 105 °C	250 W (500 W) ^a 750 W	30 °C
Druck	---	15 mbar	< 2mbar
Strömungsgeschwindigkeit	10 m/s	---	---
Modus	Trommel	Trommel	Teller
Wägeintervall	15 Minuten	3 Minuten	30 Minuten

HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung. GT: Gefriertrocknung
^a: nur bei Einzeltrocknungsverfahren von Karotten durchgeführt

3.3.2 Kombinationsverfahren

Bei den Kombinationsverfahren wurden bei Karotten und Äpfeln alle möglichen Kombinationen der Einzelverfahren (HT, MWVT und GT) untersucht, mit Ausnahme der Kombination aus einer MWVT mit einer anschließenden HT (MWVT-HT). Diese Kombination bietet wirtschaftlich gesehen keinen Vorteil gegenüber dem Einzelverfahren, da die HT bei niedrigen Wassergehalten immer ineffizienter wird und somit als Nachrocknung nach einer MWVT keinen Sinn macht. Die Gefriervortrocknung (GT-MWVT und GT-HT) ist aus technologischer Sicht von Interesse, da es bei der GT zur Bildung der typischen Struktur kommen kann, die im nachfolgenden Prozess nicht mehr verändert wird. Das würde zu Produkten führen, die gleiche oder ähnliche Eigenschaften wie rein gefriergetrocknete Produkte aufweisen, bei gleichzeitiger Zeit- und Energieeinsparung. Für die Kombination GT-MWVT wurden im Falle der Karotte die WP bei einer relativen Restfeuchte $X_{db}/X_{0,db}$ (siehe Formel (1) und (2)) von 0,2, 0,3, 0,5 und 0,7 gewählt:

$$X_{db} = \frac{m_W}{m_{TM}} \quad (1)$$

$$X_{db}/X_{0,db} = \frac{X_{db}(\text{getrocknete Probe})}{X_{db}(\text{entsprechende frische Probe})} \quad (2)$$

X_{db} : Wassergehalt bezogen auf Trockenmasse

m_W : Gewicht Wasser in g

m_{TM} : Gewicht Trockenmasse in g

Der Wert von 0,2 bedeutet beispielsweise, dass nach der Gefriervortrocknung noch 20 % des ursprünglich enthaltenen Wassers vorhanden sind, welches im Anschluss mit einem anderen Verfahren entfernt wird. Für die Kombination GT-HT wurde ein WP bei 0,5 untersucht, da ähnliche Ergebnisse wie bei der Kombination GT-MWVT erwartet wurden. Beim Apfel wurden dann für beide

Kombinationen GT-HT und GT-MWVT jeweils die WP bei 0,5, 0,7 und 0,9 untersucht. Die Gefriernachtrocknung (MWVT-GT und HT-GT) bietet den Vorteil, dass mit einem schnellen und kostengünstigen Verfahren das oberflächennahe Wasser entfernt wird, ohne das Produkt zu schädigen. Mit der anschließenden GT muss dann weniger Wasser entfernt werden, was wiederum Kosten im Vergleich zur reinen GT einsparen würde. Hier wurden bei der Karotte die Kombination HT-GT bei den WP 0,3, 0,5 und 0,7 und die Kombination MWVT-GT beim WP von 0,5 untersucht. Beim Apfel wurde bei beiden Kombinationen MWVT-GT und HT-GT jeweils der WP von 0,5 untersucht. Die Kombination aus HT mit einer anschließenden MWVT ist interessant, da durch die Krustenbildung während der HT ein verstärktes Puffing bei der MWVT möglich wäre. Damit könnten Produkte mit einer knusprigen Textur hergestellt werden. Da die HT zudem im 1. TA effizient und produktschonend und mit der MWVT auch am Ende der Trocknung das Wasser effizient entfernt werden kann, erscheint diese Kombination sinnvoll. Bei der Karotte wurde diese Kombination bei WP von 0,1, 0,2, 0,3 und 0,5 untersucht, im Falle des Apfels bei einem WP von 0,5. Bei Erdbeeren wurden die Kombinationen MWVT-GT und HT-GT nicht untersucht, da die Erdbeeren nach der Vortrocknung an der Trommel anhafteten und bei der Entfernung von der Wand beschädigt bzw. zerstört wurden. Die Kombination HT-MWVT konnte durchgeführt werden, da beide Verfahren im Trommelmodus arbeiten. Da in diesem Fall die frischen Vergleichsproben verloren gingen, war keine Auswertung hinsichtlich des Erhalts der Inhaltsstoffe möglich. Die Kombination GT-HT führte dazu, dass die Produkte bei der HT verklebten und verklumpten. Dadurch wurden sie schlecht getrocknet, was dazu führte, dass die Produkte teilweise verbrannten. Bei der Kombination GT-MWVT kam es nicht zur Bildung von Klumpen, weshalb einzig dieser Versuch bei Erdbeeren erfolgreich durchgeführt werden konnte (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Durchgeführte Kombinationstrocknungsverfahren der Produkte Karotte, Apfel und Erdbeere. Die Wechselzeitpunkte sind als relative Restfeuchte $X_{db}/X_{0,db}$ angegeben.

Produkt	Verfahren	Wechselzeitpunkt (relative Feuchte $X_{db}/X_{0,db}$)
Karotte	GT-MWVT	0,2, 0,3, 0,5, 0,7
	GT-HT	0,5
	MWVT-GT	0,5
	HT-GT	0,3, 0,5, 0,7
	HT-MWVT	0,1, 0,2, 0,3, 0,5
Apfel	GT-MWVT	0,5, 0,7, 0,9
	GT-HT	0,5, 0,7, 0,9
	MWVT-GT	0,5
	HT-GT	0,5
	HT-MWVT	0,5
Erdbeere	GT-MWVT	0,2, 0,3, 0,5
	GT-HT	0,5

HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung. GT: Gefriertrocknung. X_{db} : siehe Formel (1)

3.3 Trocknung der Produkte

Die verwendeten Parameter für alle Kombinationstrocknungen waren im Falle des Einsatzes einer GT dieselben wie bei den Einzelverfahren (siehe Tabelle 1). Kamen HT oder MWVT bei den Kombinationsverfahren zum Einsatz, wurde eine Temperatur von 90 °C bzw. Mikrowellenleistung von 500 W (2 W/g) bei einem Druck von 15 mbar verwendet.

3.3.3 Scale-Up und Blanchiersversuche

Zur Überprüfung der Übertragbarkeit der Ergebnisse der Versuche im Labormaßstab auf industrielle Maßstäbe, wurden Scale-Up- und Blanchiersversuche mit Karotten durchgeführt. Für die Scale-Up-Versuche standen ein Gefriertrockner (Becker Technology) und ein Heißluft-Bandrockner (Sandvik Process Systems) zur Verfügung, weshalb lediglich die Kombinationen aus den Verfahren GT und HT untersucht wurden (siehe Tabelle 3). Der verwendete Heißlufttrockner besitzt zwei Sektionen, die separat temperiert werden können. Die Trocknung erfolgt im Kreuzstromverfahren, was bedeutet, dass die heiße Luft von unten durch die Produkte geleitet wird. Mit den beiden Trocknern war es möglich bis zu 10 kg Karotten zu trocknen.

Für das Verfahren HT-GT wurden drei WP bei 0,3, 0,5 und 0,7 relativer Restfeuchte untersucht, für die Kombination GT-HT der WP bei 0,5. Zur besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse wurden die Trocknungen im Labormaßstab wiederholt und die Scale-Up-Versuche sowohl mit blanchierten als auch mit nicht-blanchierten Karotten durchgeführt. Hier kam es bei den Scale-Up-Versuchen mit den nicht-blanchierten Karotten zum Verlust der Proben HT-0,3-GT und GT-0,5-HT, weshalb keine Ergebnisse für diese Versuche vorliegen.

Die Blanchiersversuche wurden im Labormaßstab für die Kombination GT-MWVT bei verschiedenen Wechselzeitpunkten (0,3, 0,5 und 0,7) durchgeführt, da diese als besonders relevant angesehen wird. Für diese Kombination konnte gezeigt werden, dass in deutlich kürzerer Zeit Produkte hergestellt werden können, die vergleichbare Eigenschaften wie rein gefriergetrocknete Produkte haben (ROTHER et al. 2011). Das Blanchieren der Karotten wurde durchgeführt, indem die wie oben beschrieben, vorbereiteten Proben für fünf Minuten in Wasser bei 95 °C getaucht wurden.

Tabelle 3: Durchgeführte Kombinationstrocknungsverfahren mit Blanchieren und Scale-Up-Versuche.

Produkt	Verfahren	Wechselzeitpunkt (relative Feuchte $X_{db}/X_{0,db}$)
Karotte blanchiert	GT-MWVT (500 W bzw. 250 W, 15 mbar)	0,3, 0,5, 0,7
Karotte	HT-GT	0,3, 0,5, 0,7
	GT-HT	0,5
Karotte Scale-Up	HT-GT	0,5, 0,7
Karotte Scale-Up blanchiert	HT-GT	0,3, 0,5, 0,7
	GT-HT	0,5

HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung. GT: Gefriertrocknung

3.4 Analyse der chemischen Qualitätsparameter

Nach den jeweiligen Trocknungsversuchen wurden die erhaltenen Proben in einem Plastikbeutel vakuumverpackt und bei -80 °C bis zur Verwendung gelagert. Zur Homogenisierung wurden die Proben in flüssigen Stickstoff getaucht und für maximal eine Minute in einer Bechermühle (IKA Tube Mill) zerkleinert. Das Probenmaterial blieb dabei gefroren, was notwendig war, um enzymatische oder temperaturbedingte Veränderungen im Produkt zu minimieren. Bis zur Analyse wurden die zerkleinerten Proben wiederum bei -80 °C gelagert. Um den Erhalt der Inhaltsstoffe der getrockneten Probe im Vergleich zur frischen zu berechnen, wurde mit Formel (3) das entsprechende Frischgewicht der (teilweise) getrockneten Proben berechnet. Dafür wurde vorausgesetzt, dass der Anteil der Trockenmasse während der Trocknung konstant bleibt. Um gleiche Extraktionsbedingungen zu gewährleisten, wurde die Einwaage der (teilweise) getrockneten Proben so gewählt, dass sie ein entsprechendes Frischgewicht von etwa 1 g aufwiesen (siehe Kapitel 8.2).

$$\text{Entsprechendes Frischgewicht [g]} = m * \frac{1 - X_{wb} (\text{getrocknete Probe})}{1 - X_{wb} (\text{frische Probe})} \quad (3)$$

$$X_{wb} = \frac{m_W}{m_W + m_{TM}} \quad (4)$$

m: Einwaage der (teilweise) getrockneten Probe in g

X_{wb} : Wassergehalt bezogen auf Feuchtmasse in g/g

m_W : Gewicht Wasser in g

m_{TM} : Gewicht Trockenmasse in g

Die Untersuchung der Einzelverfahren mit Karotten wurde zu Beginn durchgeführt, wobei alle zwei Wochen frische Vergleichsproben zurückgelegt wurden. Es zeigte sich allerdings, dass die Ausgangsgehalte starken Schwankungen unterlegen waren (siehe Kapitel 4.2.1.1, Seite 78) und somit keine Berechnung des Erhalts der Inhaltsstoffe möglich war. Daher wurde das Protokoll geändert und für jeden Versuch eine frische Vergleichsprobe zurückgelegt und analysiert.

3.4.1 Ascorbinsäure

Die Methoden zur Analyse von AS können unterschieden werden, je nachdem ob AS und DHAS als Summe (Gehalt an Vitamin C) oder einzeln bestimmt werden. Bei der einzelnen Bestimmung von AS und DHAS können diese entweder gleichzeitig (FENOLL et al. 2011, NOVÁKOVÁ et al. 2009) oder indirekt durch die Subtraktion des anfänglichen Gehalts an AS vom Gesamt-Gehalt an AS nach Reduktion bestimmt werden (GÖKMEN et al. 2000, HERNÁNDEZ et al. 2006, ODRIOZOLA-SERRANO et al. 2007, SPEEK et al. 1984). Die Bestimmung der Summe aus AS und DHAS erfolgt nach Reduktion zu AS bzw. Oxidation zu DHAS und kann unter anderem per Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC), spektrophotometrisch, enzymatisch oder titrimetrisch erfolgen (ARYA et al. 1998, ARYA et al. 2000). Da AS in wässrigen Lösungen instabil ist und abhängig von Temperatur, Licht, Sauerstoff und pH-Wert abgebaut wird, spielen die Extraktionsbedingungen und Extraktstabilisierung eine wichtige Rolle bei der Methodenentwicklung (NOVÁKOVÁ et al. 2008a).

3.4 Analyse der chemischen Qualitätsparameter

Die Extraktion wurde mit einer Lösung von *meta*-Phosphorsäure (MPS) und Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) in Wasser durchgeführt. Da AS im Sauren stabil ist und durch Metallionen abgebaut werden kann (IWASE 2000) ist MPS in Kombination mit EDTA ein häufig verwendetes Extraktionsmittel (BURINI 2007, FENOLL et al. 2011, ODRIOZOLA-SERRANO et al. 2007, SÁNCHEZ-MATA et al. 2000). Zudem wurden die Proben während der gesamten Analyse auf Eis gekühlt und in Braunglas gelagert, um einen thermischen und lichtinduzierten Abbau zu verhindern (Extraktion siehe Kapitel 8.5.1). Da die chromatographische Analyse, aufgrund der Auftrennung der Komponenten, eine höhere Selektivität als z.B. photometrische Methoden hat, wurden zwei HPLC-Methoden etabliert. Bei der ersten Methode wurde zur Bestimmung von Gesamt-AS eine zweistündige Reduktion mit einer hohen Konzentration an Dithiothreitol (DTT) durchgeführt (GÖKMEK and ACAR 1996, SÁNCHEZ-MATA et al. 2000). Da die Reduktion bei niedrigen pH-Werten langsam verläuft, war ein großer Überschuss an DTT nötig (LYKKESFELDT 2000, WECHTERSBUCH and CIGIĆ 2007). Zur chromatographischen Trennung von AS wurde die hydrophile Interaktionschromatographie (HILIC) verwendet, da diese besonders für polare Analyten geeignet und die Retentionszeit von AS im Vergleich zu einer C18 Umkehrphase (RP) deutlich größer ist (NOVÁKOVÁ et al. 2008b, SAPERS et al. 1990, TAI and GOHDA 2007). Als stationäre Phasen kommen bei der HILIC meist Silica-Phasen zum Einsatz die unterschiedlich z.B. mit Amid-, Aminoropyl, Sulfobetain- und Diolen modifiziert werden. Der Trennmechanismus bei der HILIC beruht vermutlich überwiegend auf einer Verteilung der Analyten zwischen dem Eluenten und einer wässrigen Phase, die sich an der hydrophilen stationären Phase anreichert (HEMSTRÖM and IRGUM 2006). Die Detektion erfolgte dabei mit einem Diodenarraydetektor (DAD), mit dem das Spektrum der jeweiligen Verbindung im Ultravioletten (UV) Bereich aufgenommen werden kann (Methode siehe Kapitel 8.5.1.1). Das Absorptionsmaximum von AS von 268 nm wurde als Messwellenlänge verwendet. Die zweite Methode basierte auf der enzymatischen Oxidation von AS zu DHAS mit Ascorbat Oxidase und anschließender Derivatisierung mit *ortho*-Phenylendiamin (OPDA). Das dabei entstehende fluoreszierende Chinoxalin-Derivat wurde auf einer C-18-RP-HPLC-Säule chromatographisch getrennt und mit einem Fluoreszenzdetektor (FLD) bestimmt (Methode siehe Kapitel 8.5.1.2) (SPEEK et al. 1984). Der Vorteil der Fluoreszenzmethode liegt in der besseren Empfindlichkeit im Vergleich zur HILIC-Methode mit UV-Detektion. Zur Bestimmung der gesamten AS in Karotten mit niedrigen AS-Gehalten wurde die Fluoreszenzmethode verwendet, für Äpfel und Erdbeeren die HILIC-Methode.

3.4.2 Carotinoide

Zur Analytik von Carotinoiden in Obst und Gemüse existiert eine Vielzahl von Methoden, die meistens auf einer fest-flüssig Extraktion mit einer anschließenden chromatographischen oder photometrischen Bestimmung beruhen. Aufgrund der Unterschiede in den Matrices und der Carotinoidezusammensetzung von Obst und Gemüse muss die verwendete Methode immer auf das zu analysierende Produkt angepasst werden (RIVERA and CANELA 2012, RODRIGUEZ-AMAYA 2010). Entscheidend ist dabei vor allem die Freisetzung der Carotinoide aus der Matrix, da diese normalerweise an Membranen und Zellwände gebunden vorliegen. Die Extraktion der Carotinoide erfolgt mit organischen Lösungsmitteln (einzeln oder in Mischungen), wobei häufig Aceton, Hexan,

Dichlormethan (DCM), Tetrahydrofuran (THF), Ethanol (EtOH) sowie MeOH (BURKHARDT and BÖHM 2007, MARX et al. 2000, MECH-NOWAK et al. 2012, RIVERA and CANELA 2012, TAUNGBODHITHAM et al. 1998) und weniger häufig Methyl-*tert*-butyl-ether (MTBE), Cyclohexan, Ethylacetat (EA) und 1-Butanol eingesetzt werden (ABDEL-AAL et al. 2007, CALVO et al. 2007, LUCINI et al. 2012). Da in Karotten die stark unpolaren Carotine α - und β -Carotin hauptsächlich vorkommen, wurde EA als mittelpolares und wenig toxisches Lösungsmittel gewählt und eine zweifache Extraktion durchgeführt (MAIANI et al. 2009). Da Karotten nur sehr wenig Lipide und quasi keine Carotinoidester enthalten, wurde auf eine Verseifung der Proben verzichtet (NIIZU and RODRIGUEZ-AMAYA 2005). Die komplette Aufarbeitung der Proben wurde in braunen Gefäßen durchgeführt, um lichtinduzierte Isomerisierungen zu vermeiden. Zur Stabilisierung des Extraktes wurde das sehr häufig eingesetzte Butylhydroxytoluol (BHT) verwendet (AMORIM-CARRILHO et al. 2014). Dadurch wird eine Oxidation der Carotinoide in der Extraktionslösung verhindert. Da Carotinoide teilweise membrangebunden vorliegen, wurden die Proben zudem mit einem Präparat aus zellwandspaltenden Enzymen (Driselase®) vorbehandelt, da somit eine verbesserte Extrahierbarkeit der Carotinoide erreicht wird (RANVEER et al. 2013). Auf eine zusätzliche Probenbehandlung mit einem Ultra-Turrax-Mixer wurde aufgrund der hohen Probenzahl verzichtet (BURKHARDT and BÖHM 2007, HART and SCOTT 1995). Die chromatographische Trennung der extrahierten Verbindungen wird entweder mit einer RP-C18 oder mit den speziell für die Carotinoide-Analytik entwickelten RP-C30-Phasen durchgeführt (SANDER et al. 1994). Es wurde eine C30-Phase ausgewählt, da sie eine bessere Trennung der Z-Isomere im Vergleich zur C18-Phase ermöglicht (SANDER et al. 2000). Da die Bildung der Z-Isomere bei der Trocknung von Karotten wahrscheinlich ist, sollten diese zur korrekten Quantifizierung von α - und β -Carotin abgetrennt werden. Als Eluent wurde die oft für die Chromatographie an C30-Phasen verwendete Kombination aus MeOH, MTBE und Wasser eingesetzt (Methode siehe Kapitel 8.5.3) (ABDEL-AAL et al. 2007, CALVO et al. 2007, LESSIN and SCHWARTZ 1997, LIM et al. 2009, MARX et al. 2000).

3.4.3 Phenolische Verbindungen

Die Analyse von PP kann in der Form der Bestimmung eines Summenparameters (Gesamt-PP) oder durch die Bestimmung der einzelnen Verbindungen erfolgen. Zur Bestimmung der Summenparameter sind Methoden für die verschiedenen Stoffklassen der PP beschrieben. Die Gesamt-PP können entweder mit kolorimetrischen, unter Verwendung verschiedenster Reagenzien, oder mit enzymatischen Methoden bestimmt werden (CLIFFE et al. 1994). Die Folin-Ciocalteu-Methode stellt dabei die am häufigsten verwendete Methode zur Bestimmung der Gesamt-PP dar (GEORGÉ et al. 2005, SINGLETON and ROSSI 1965). Daneben sind Summenmethoden zur Bestimmung der Gesamtflavonoide (PEKAL and PYRZYNSKA 2014), Gesamtflavanole (THIES and FISCHER 1971) und Gesamtanthocyane beschrieben (FULEKI and FRANCIS 1968). Diesen Methoden ist ihre geringe Spezifität gemein, was zu fehlerhaften Ergebnissen führen kann. Vor allem Ascorbinsäure und andere reduzierende Verbindungen führen zu erhöhten Werten im Folin-Ciocalteu-Assay (GEORGÉ et al. 2005).

3.4 Analyse der chemischen Qualitätsparameter

Aufgrund der mangelnden Spezifität der Summenbestimmung wurde zur Analyse der PP ein HPLC-Verfahren gewählt, mit welchem die enthaltenen Verbindungen einzeln analysiert werden können. Um starke Veränderungen im PP-Profil durch die Trocknung erkennen zu können, wurde die Analyse der relevanten Verbindungen aus Äpfeln und Erdbeeren (Anthocyane, Flavanoole, Flavonole, CS und PZ) in einer Methode durchgeführt (MALEC et al. 2014, WOJDYŁO et al. 2009).

Die Extraktion der Verbindungen erfolgt oft mit wässrigen Mischungen von EtOH, MeOH und Aceton (AJILA et al. 2011, CEYMANN et al. 2011, ROBARDS and ANTOLOVICH 1997), weshalb auch in dieser Arbeit die Extraktion von diesen Lösungsmitteln ausgehend optimiert wurde. Die Proben wurden mit Ultraschall behandelt, da die Extraktion, durch die damit verbundene teilweise Zerstörung der Struktur, verbessert wird (TOMA et al. 2001, VIROT et al. 2010). Zur Stabilisierung der Extrakte, insbesondere der darin enthaltenen Anthocyane kann Salzsäure (HCl) oder Ameisensäure zugegeben werden (Extraktion siehe Kapitel 8.5.4.1) (CEYMANN et al. 2011, ROBARDS and ANTOLOVICH 1997).

Die chromatographische Trennung wurde per HPLC durchgeführt, bei der sowohl die aufwändige Entfernung von Störsubstanzen und insbesondere die bei der Gaschromatographie (GC) notwendige Derivatisierung entfallen. Zur Trennung werden meist RP-C18-Phasen mit Wasser und MeOH oder Acetonitril (ACN) als Eluenten verwendet. Auch in dieser Arbeit wurde eine C18-Phase zur Trennung der Analyten eingesetzt. Die Eluenten wurden mit Ameisensäure versetzt, da ansonsten die Anthocyane als breite Peaks eluieren würden (CEYMANN et al. 2011, MALEC et al. 2014, NOVÁKOVÁ et al. 2010, SPÁČIL et al. 2008, VRHOVSEK et al. 2004). Zur Detektion wurde ein DAD verwendet, da hiermit die Detektion bei verschiedenen, an die Absorptionsmaxima der zu bestimmenden Analyten bzw. Analytklassen angepassten Wellenlängen, möglich ist (HPLC-Methode siehe Kapitel 8.5.4.2 für Äpfel und Kapitel 8.5.4.3 für Erdbeeren).

Zur Gewinnung von Standardsubstanzen wurde ein Teil der PP aus Erdbeeren semipräparativ isoliert. Zur Abtrennung der Anthocyane von den übrigen PP wurde die Vorgehensweise nach Skrede et al. (2000) verwendet. Der Extrakt wird dabei auf eine Säule gegeben, die zuvor aktiviertes, C-18-Material enthält. Durch Waschen mit Wasser werden im ersten Schritt Zucker, organische Säuren und andere wasserlösliche Substanzen entfernt. Nach dem Trocknen der Säule, werden PP, mit Ausnahme von Anthocyanen, durch EA eluiert. Die Anthocyane können im Anschluss mit Methanol eluiert werden. Durch diese Vorgehensweise wurden 97 % aller im Extrakt enthaltenen Anthocyane in der Methanol-Fraktion erhalten (SKREDE et al. 2000). Durch die Fraktionierung in Anthocyane und die übrigen PP, können mithilfe der sich anschließenden semipräparativen HPLC, die Verbindungen in größerer Reinheit isoliert werden.

3.4.4 3-Desoxyglucoson

Da 3-DG in Lebensmitteln die bedeutendste 1,2-DV und eine Vorstufe von im Verlauf der MR und Karamellisierungsreaktionen gebildeten braun gefärbten Verbindungen ist, wurde diese Verbindung untersucht (DEGEN et al. 2012). Ein weit verbreitetes Verfahren zur Analyse von 1,2-DV beinhaltet die Derivatisierung mit OPDA zu UV-aktiven Chinoxalinen, deren anschließende Trennung per HPLC durchgeführt wird (ARENA et al. 2011, ARRIBAS-LORENZO and MORALES 2010, DAGLIA et al. 2007, DEGEN

et al. 2012, MARCEAU and YAYLAYAN 2009). Daneben werden GC-Methoden zur Analyse von 1,2-DV beschrieben, bei denen die extrahierten Verbindungen nach Derivatisierung bestimmt werden (HAYASHI and SHIBAMOTO 1985, REVEL et al. 2000, RUIZ-MATUTE et al. 2015).

In dieser Arbeit wurde die Analyse von 3-DG nach Extraktion und Derivatisierung mit OPDA per HPLC durchgeführt, da die Probenaufarbeitung bei der GC-Methodik aufwändiger ist und enthaltene Zucker große Störpeaks ergeben können (RUIZ-MATUTE et al. 2015). Die Extraktion von 3-DG erfolgt durch zweifache Extraktion der zuvor zerkleinerten Probe mit Wasser und anschließender Proteinfällung mit MeOH (DEGEN et al. 2012). Auf eine weitere Zerkleinerung mit beispielsweise einem Ultra-Turrax-Mixer wurde aus Zeitgründen verzichtet. Die Derivatisierung mit OPDA erfolgt in der Regel in wässrigem Phosphatpuffer, in Anwesenheit von Antioxidantien oder Chelatoren, um metall-katalysierte Oxidationen zu verhindern. In diesem Fall wurde der Chelator Diethylentriaminpentaessigsäure (DETAPAC) verwendet, der in vielen vorausgegangenen Studien eingesetzt wurde (DEGEN et al. 2012, HELLWIG et al. 2010, MARCEAU and YAYLAYAN 2009). Die chromatographische Trennung erfolgte mittels HPLC an einer Phenyl-Hexyl-Phase, da diese eine Trennung der wichtigsten 1,2-DV, d.h. 3-DG, 3-Desoxygalactoson, 3-Desoxypentose, GO und MGO ermöglicht. Die Detektion wurde mit einem DAD bei einer Messwellenlänge von 312 nm durchgeführt. Das Verhältnis der Peakflächen von 3-DG bei 312 und 280 nm wurde als Indikator für die Peakreinheit und Identität verwendet (komplette Methode siehe Kapitel 8.5.2).

3.5 Isolierung der Zellwandpolysaccharide und analytische Ballaststoffbestimmung

Um den Gehalt an Ballaststoffen zu bestimmen, existiert eine Vielzahl an Methoden, die sich allgemein in enzymatisch-gravimetrische und chemische Methoden einteilen lassen (ASP 1987). Bei den chemischen Methoden erfolgt ein enzymatischer Stärkeabbau mit anschließender ethanolischer Fällung der Nicht-Stärke-Polysaccharide (NSPS). Anschließend werden bei der Englyst-Methode die nach Hydrolyse erhaltenen Monosaccharide mit chromatographischen oder photometrischen Methoden bestimmt. Hierbei werden allerdings resistente Stärken durch den Einsatz einer thermostabilen α -Amylase und unverdauliche OS nicht erfasst (ENGLYST and CUMMINGS 1984, ENGLYST et al. 1994, SOUTHGATE 1969). Die Uppsala-Methode sieht eine separate Analyse der Neutralzucker, Uronsäuren und Lignin zur Bestimmung des Ballaststoffgehaltes vor (THEANDER et al. 1995).

Die enzymatisch-gravimetrischen Methoden beruhen auf einer enzymatischen Entfernung von Stärke und Protein mit anschließender ethanolischer Fällung der LBS. Die erste entwickelte Methode erlaubte die Bestimmung der Gesamt-BS (PROSKY et al. 1985) und wurde erweitert, um die separate Bestimmung von LBS und UBS zu ermöglichen (LEE et al. 1992). Nach der Veröffentlichung der BS-Definition gemäß Codex Alimentarius wurden die Methoden um die Bestimmung von Niedermolekular löslichen Ballaststoffen (NLBS) und resistenter Stärke erweitert (MCCLEARY 2007). Die Bestimmung von resistenter Stärke wird durch die Verwendung von pankreatischer α -Amylase ermöglicht. Diese ist im Gegensatz zu der sonst eingesetzten thermostabilen α -Amylase nicht in der

3.5 Isolierung der Zellwandpolysaccharide und analytische Ballaststoffbestimmung

Lage resistente Stärke zu spalten. Die NLBS sind nicht verdaubare OS mit einem $DP \geq 3$ und verbleiben bei der Ausfällung der LBS im Überstand. Sie werden nach Entfernung der Puffer-Salze chromatographisch an einer Kationen-Austauschersäule (Sugar-Pak) bestimmt. Die Detektion erfolgt dabei per Brechungsindexdetektor (RI) und erlaubt dementsprechend keine Aussage über die Art und damit Herkunft der NLBS. Diese Methode wurde validiert und als offizielle Methode des Codex Alimentarius, Association of Analytical Chemists (AOAC Methoden 2009.01 und 2011.25) und Association of Cereal Chemists (AACC, Methoden 32-45.01 und 32-50.01) übernommen (McCLEARY et al. 2010, McCLEARY et al. 2012, McCLEARY et al. 2013). Mit den Methoden AOAC 2009.01 und AACC 32-45.01 wird der Gesamtgehalt an BS bestimmt, während die Methoden AOAC 2011.25 und AACC 32-50.01 die separate Bestimmung von UBS, LBS und NLBS vorsehen. Die in dieser Arbeit verwendete Methode ist eine modifizierte Version der offiziellen AOAC-Methode 2011.25 (McCLEARY et al. 2015). Im Vergleich zu den offiziellen Methoden wurde die Inkubationszeit mit α -Amylase und Amyloglucosidase den physiologischen Bedingungen angepasst, reinere Enzympräparate verwendet um die Bildung von resistenten Maltodextrinen zu verhindern und durch Phosphat verknüpfte Stärken abzubauen, und andere Säulen für die chromatographische Bestimmung der NLBS eingesetzt (Methode siehe Kapitel 8.6.2.1).

Korrektur von Restprotein und Aschegehalt:

Da die isolierten Ballaststoffe signifikante Mengen an Asche und Proteinen enthalten können, ist eine Korrektur nötig. Vor allem in LBS können größere Mengen Puffersalze bei der Ethanol-fällung mitgefällt werden. Die als UBS bestimmten Rückstände können unter anderem Strukturproteine enthalten, die durch die in der Methode eingesetzten Proteasen aufgrund der starken Interaktionen mit den Zellwand-PS nicht abgebaut werden können.

Der Restproteingehalt kann über die Bestimmung des Stickstoffgehaltes nach saurem Kjeldahl-Aufschluss ermittelt werden. Die Stickstoffbestimmung kann dabei titrimetrisch, photometrisch oder mittels Ammonium-selektiver Elektrode erfolgen (SÁEZ-PLAZA et al. 2013a, SÁEZ-PLAZA et al. 2013b). Bei der gängigen titrimetrischen Methode wird das gebildete Ammonium nach Überführung in Ammoniak durch Destillation aus der Aufschlusslösung in eine Vorlage überführt, die Borsäure enthält. Borsäure führt zur Komplexierung von Ammoniak, und anschließend kann der Stickstoffgehalt titrimetrisch bestimmt werden. Da hier größere Mengen an Stickstoff und somit hohe Einwaagen benötigt werden, wird diese Methode nicht verwendet. Die photometrische Bestimmung des Stickstoffgehaltes ist gegenüber der Titration vorteilhaft, da sie empfindlicher ist und keine destillative Abtrennung des Ammoniaks vorsieht. Als Farbreagenzien werden hauptsächlich Ninhydrin, Indophenol und Salicylat verwendet. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Messung des freigesetzten Ammoniaks mit einer Ammoniak-sensitiven Elektrode durchgeführt. Diese bietet den Vorteil, dass auch getrübbte Lösungen analysiert werden können, was mit den photometrischen Methoden nicht möglich ist (BREMNER and TABATABAI 1972). Die Ammonium-Ionen, die nach dem Aufschluss vorhanden sind, werden durch Zugabe von Natriumhydroxid (NaOH) in Ammoniak überführt. Dieses kann durch die Ammoniak-selektive Membran diffundieren und die Änderung des pH-Wertes auf der Innenseite der Membran wird gemessen (Durchführung siehe Kapitel 8.6.2.2).

Der Aschegehalt der Proben wurde nach Veraschung bei 500 °C für 4 h gravimetrisch bestimmt.

Isolierung der Ballaststoffe zur Charakterisierung:

Um Ballaststoffe zur Charakterisierung der Zellwand-PS aus den Apfelproben zu isolieren, wurde lediglich ein Stärkeabbau mit thermostabiler α -Amylase und Amyloglucosidase nach Gefriertrocknen und Entfernen der Begleitstoffe durch Waschen mit einem Gemisch aus EtOH/Wasser 80/20 (v/v) durchgeführt. Die löslichen Polysaccharide wurden nach dem Stärkeabbau durch Zugabe der vierfachen Menge an EtOH ausgefällt. Auf eine Proteinentfernung wurde verzichtet, da Proteine bei der Charakterisierung der Zellwand-PS nicht stören (Aufarbeitung siehe Kapitel 8.6.1).

3.6 Charakterisierung der Zellwandpolysaccharide

3.6.1 Monosaccharidzusammensetzung

Zur Bestimmung der Monosaccharidzusammensetzung (MSZ) sind in der Literatur verschiedene Methoden beschrieben, wobei in der Regel eine saure Hydrolyse des zuvor isolierten Zellwandmaterials durchgeführt wird, an die sich eine chromatographische Bestimmung der freigesetzten Monosaccharide anschließt. Die Hydrolysebedingungen bestimmen dabei stark die ermittelte MSZ, da die verschiedenen Bindungstypen unterschiedlich gut gespalten und freigesetzte Monosaccharide teilweise abgebaut werden. Beispielsweise werden in der Regel α -glykosidische Bindungen schneller gespalten als β -glykosidische und Furanoseeinheiten schneller als Pyranoseeinheiten.

Die angewendeten Hydrolysemethoden unterscheiden sich in der Art und Konzentration der eingesetzten Säure und der Zeit und Temperatur, die verwendet wird. Häufig verwendet wird die Saeman-Hydrolyse, die aus einer Vorhydrolyse mit 72 % H_2SO_4 besteht, an die sich eine zweite Hydrolyse mit verdünnter Säure bei erhöhter Temperatur anschließt (SAEMAN et al. 1945). Mit dieser Methode kann kristalline Cellulose gut erfasst werden, jedoch werden β -(1 \rightarrow 4)-verknüpfte Polyuronsäuren nur unvollständig gespalten, weshalb diese unterbestimmt werden (DE RUITER et al. 1992a). Die Hydrolyse mit Trifluoressigsäure (TFE) hat den Vorteil, dass TFE leicht durch Evaporieren entfernt werden kann, und wird daher oft in Kombination mit einer gaschromatographischen Bestimmung der freigesetzten Monosaccharide eingesetzt (ALBERSHEIM et al. 1967). Nachteilig ist allerdings, dass Cellulose durch die TFE-Hydrolyse nicht gespalten wird (SELVENDRAN et al. 1979). Eine Variante der TFE-Hydrolyse stellt die Methanolyse nach De Ruiters dar, bei der durch Behandlung der PS mit methanolischer HCl in einem ersten Schritt Methylglykoside gebildet werden. In der anschließenden TFE-Hydrolyse erfolgt die Spaltung der glykosidischen Bindungen und Entfernung der Methylgruppen (DE RUITER et al. 1992b).

Die chromatographische Bestimmung der nach Hydrolyse erhaltenen Monosaccharide kann entweder mittels GC gekoppelt mit Massenspektrometrie (MS) oder Flammenionisationsdetektor (FID) oder mittels Hochleistungsflüssigkeitsanionenaustauschchromatographie (HPAEC) erfolgen. Für die Analyse per GC ist eine vorherige Derivatisierung notwendig, wobei Alditolacetate und

3.6 Charakterisierung der Zellwandpolysaccharide

Trimethylsilylether der zuvor gebildeten Oxime häufige Derivate darstellen (ALBERSHEIM et al. 1967, RUIZ-MATUTE et al. 2011). Ein Nachteil der GC-Methodik ist, dass eine Reduktion der Säuregruppe der Uronsäuren vor der eigentlichen Derivatisierung erforderlich ist, was den Arbeitsaufwand deutlich erhöht. Die Analyse der Monosaccharide mittels HPAEC erlaubt es Neutralzucker und Uronsäuren in einem Lauf ohne vorherige Derivatisierung zu trennen (DE RUITER et al. 1992b). Die Monosaccharide werden im stark basischen (pH ~ 12) an einem pelliculären Latex-Austauscherharz getrennt, da sie in diesem pH-Bereich als Polyanionen vorliegen. Die Detektion erfolgt elektrochemisch mittels gepulst amperometrischer Detektion (PAD), mit der Mengen im Bereich von wenigen ng detektiert werden können.

Für die Analyse der MSZ im Rahmen dieser Arbeit wurden sowohl eine zweistufige H₂SO₄-Hydrolyse nach Saeman als auch eine Methanolyse nach De Ruiter durchgeführt (Methoden siehe Kapitel 8.6.3). Anschließend erfolgte die chromatographische Bestimmung mittels HPAEC-PAD.

3.6.2 Bestimmung der Bindungsverhältnisse

Die Methylierungsanalyse ist eine gängige Methode zur Bestimmung der Bindungsverhältnisse der Monosaccharide in PS aus pflanzlichen Zellwänden. Zuerst erfolgt eine Methylierung der im PS frei vorliegenden Hydroxygruppen, an die sich eine saure Hydrolyse der PS anschließt. Danach erfolgt eine Reduktion und Ringöffnung mit Natriumborodeuterid (NaBD₄), wodurch Position 1 deuteriummarkiert wird. Die Information über die anomere Konfiguration geht allerdings bei diesem Schritt verloren. Im nächsten Schritt werden die nach der Spaltung freigesetzten Hydroxygruppen acetyliert, und die erhaltenen partiell methylierten Alditolacetate (PMAAs) per GC-MS analysiert. Dadurch können Rückschlüsse auf die Anzahl und Position der Substitution der Monomere gezogen werden. Die Information über den Substituenten geht jedoch verloren. Ein methodisches Problem das häufig auftritt ist eine Untermethylierung, die dazu führt, dass Hydroxygruppen des Polymers acetyliert und fälschlich als Verzweigungspunkt identifiziert werden. Aus diesem Grund empfiehlt es sich die Proben über Nacht in Dimethylsulfoxid (DMSO) zu quellen und den Methylierungsschritt zweifach durchzuführen. Ein weiterer Nachteil der Methode ist, dass Uronsäuren erst nach Reduktion der Säuregruppe analysiert werden können, was den ohnehin schon großen methodischen Aufwand weiter erhöhen würde (PETTOLINO et al. 2012).

In der Literatur sind zahlreiche Varianten der Methylierungsanalyse beschrieben, die sich in der Wahl der Reagenzien und Bedingungen unterscheiden. Der erste Schritt der Methylierung kann auf verschiedene Arten durchgeführt werden (CIUCANU 2006), wobei die Verwendung von Methyljodid in Kombination mit einer starken Base gebräuchlich ist. Die zwei hauptsächlich verwendeten Basen sind das Methylsulfinyl-Carbanion in DMSO (HAKOMORI 1964) und gepulvertes NaOH in DMSO (CIUCANU and KEREK 1984). Letztere Variante ist vorteilhaft, da weniger Nebenprodukte gebildet werden und das Methylsulfinyl-Carbanion instabil und in Gegenwart von Sauerstoff potentiell explosiv ist (CIUCANU and KEREK 1984, PETTOLINO et al. 2012). Die anschließende saure Spaltung der PS kann prinzipiell unter Einsatz von Schwefelsäure (H₂SO₄) oder TFE erfolgen. TFE bietet den Vorteil, dass sie leicht durch Verdampfen aus dem System entfernt werden kann.

In dieser Arbeit wurde die Methylierungsanalyse mit den folgenden Parametern nach Nunes und Coimbra (2001) durchgeführt (Arbeitsvorschrift siehe Kapitel 8.6.4, Seite 190). Die Proben wurden über Nacht in DMSO gequollen, und die Methylierung mit gepulverter NaOH in DMSO wurde zweifach durchgeführt. Die Hydrolyse erfolgte mit 2 M TFE für 1 h bei 121 °C, mit anschließender Reduktion und Acetylierung. Die Trennung und Detektion der PMAAs erfolgte mittels GC-MS, wobei die erhaltenen Massenspektren und Retentionszeiten zur Identifizierung herangezogen wurden (Sims et al. 2018). Die Quantifizierung erfolgte durch GC-Messung mit einem FID und Verwendung der entsprechenden berechneten Responsefaktoren um die molaren Anteile der PMAAs zu bestimmen (SWEET et al. 1975).

Ein weiterer Ansatz zur Charakterisierung der Struktur von PS besteht in der enzymatischen Freisetzung von OS, gefolgt von deren Analyse mittels HPAEC-PAD (ORDAZ-ORTIZ et al. 2005, WEFERS and BUNZEL 2016a). In der Regel erfolgt dabei eine Spaltung der linearen Bereiche der PS, was zu einer Freisetzung von verzweigten und linearen OS führt. Anhand dieser OS ist es dann unter anderem möglich Informationen über die Verteilung und Art von Seitenketten und die anomere Konfiguration zu erhalten. Es muss allerdings in Betracht gezogen werden, dass bei der enzymatischen Inkubation nicht alle PS zugänglich sind. In dieser Arbeit wurden die Arabinane in den mit verschiedenen Verfahren getrockneten Äpfeln untersucht, da sie wie in Kapitel 1.4 beschrieben einen Einfluss auf die Textur von Äpfeln haben und auch bei der Reifung starken Veränderungen unterliegen (Methode siehe Kapitel 8.6.5).

3.6.3 Bestimmung des Veresterungsgrades von Galacturonsäure

Zur Bestimmung des Veresterungsgrades von HG mit MeOH und Essigsäure existiert eine große Anzahl unterschiedlicher Methoden. Hierbei wird der Gehalt an Galacturonsäure und MeOH und/oder Essigsäure bestimmt und daraus der DM bzw. Grad der Acetylveresterung (DA) berechnet. Die sog. titrimetrische Methode erlaubt die Bestimmung des DM in einem Arbeitsgang, wird aber aufgrund der großen benötigten Probenmenge vor allem für industriell erzeugte Proben verwendet (Food Chemicals Codex 1972, 579-580). Auch mit der ¹H-Kernspinresonanz-Spektroskopie (NMR) (BÉDOUET et al. 2003, GRASDALEN et al. 1988, ROSENBOHM et al. 2003) und Fourier-Transform-Infrarot-Spektroskopie (CHATJIGAKIS et al. 1998, KYOMUGASHO et al. 2015) ist es möglich den DM von Galacturonsäure in einer Analyse nicht destruktiv zu bestimmen. Der große Nachteil dieser Methoden ist jedoch die geringe Auflösung der Spektren, wodurch im Fall der ¹H-NMR-Spektroskopie der Gehalt an Galacturonsäure bei z.B. geringer Acetyl-Veresterung nicht mehr bestimmt werden kann. Daher erfolgt die Bestimmung des Gehalts an Galacturonsäure und MeOH und Essigsäure üblicherweise in zwei getrennten Analysen, welche im Folgenden näher beschrieben werden.

3.6 Charakterisierung der Zellwandpolysaccharide

3.6.3.1 Methanol- und Essigsäuregehalt

Die Bestimmung des MeOH- und Essigsäuregehalts erfolgt in der Regel nach Freisetzung durch Verseifung. Die Bestimmung kann chromatographisch per HPLC oder GC, per $^1\text{H-NMR}$ oder enzymatisch erfolgen. Die enzymatische Methode beruht auf der Oxidation von MeOH mit Alkohol Oxidase, anschließender Derivatisierung und photometrischer Bestimmung (KLAVONS and BENNETT 1986). Bei den HPLC-Methoden wird die Trennung an einer Kationenaustauscher-Säule (Aminex HPX-87H) (VORAGEN et al. 1986), RP-C18-Phase (LEVIGNE et al. 2002) oder per Ionenausschlusschromatographie (LUZIO and CAMERON 2013) durchgeführt. Probleme ergeben sich bei allen genannten Methoden durch die Co-Elution von Störsubstanzen und die geringe Empfindlichkeit der Detektion von MeOH per RI. Werden gaschromatographische Methoden eingesetzt, werden MeOH und Essigsäure nach der Verseifung und Neutralisierung aus dem Headspace (HS) der Lösung analysiert. MeOH und Essigsäure können entweder direkt aus dem HS analysiert werden (HS-GC) (HUISMAN et al. 2004) oder nach Festphasenmikroextraktion (SPME) (NUNES et al. 2006, SAVARY and NUÑEZ 2003). Die HS-GC-Methode hat den Nachteil einer geringen Empfindlichkeit, die im Falle der HS-SPME-GC-Methode deutlich verbessert ist. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der SPME ist jedoch von vielen Faktoren wie Salzkonzentration, Durchmischung der Probe, Temperatur oder Volumen des Gasraums abhängig, weshalb die Bedingungen streng eingehalten werden müssen (MESTER et al. 2001). Bei Verwendung der $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie wird die Probe nach Verseifung in deuteriertem Lösungsmitteln und Filtration bei Raumtemperatur vermessen. Die Signale für MeOH und Essigsäure liegen dabei gut aufgelöst im Hochfeld, da durch Filtration die entesterten und unlöslichen Polymere entfernt werden (MÜLLER-MAATSCH et al. 2014). Vorteilhaft ist zudem, dass weder Referenzstandards noch Kalibrierung notwendig sind, und MeOH und Essigsäure empfindlich detektiert werden können. Da gezeigt wurde, dass diese Methode auf Ballaststoffpräparate anwendbar ist (NEUMÜLLER et al. 2013), wurde grundsätzlich die $^1\text{H-NMR}$ -Methodik nach Müller-Matsch et al. (2014) für die Bestimmung des MeOH- und Essigsäuregehaltes in den NSPS der getrockneten Äpfeln verwendet, und eine entsprechende Methode etabliert (Durchführung siehe Kapitel 8.6.6.2).

3.6.3.2 Bestimmung des Galacturonsäuregehaltes

Zur Bestimmung des Galacturonsäuregehalts der Proben sind in der Literatur verschiedene Methoden beschrieben, wobei meist eine photometrische Bestimmung der zuvor freigesetzten Galacturonsäureeinheiten erfolgt. Für unlösliche Proben bzw. Ballaststoffpräparate wird eine Vorhydrolyse mit konzentrierter H_2SO_4 durchgeführt, um das Zellwandnetzwerk aufzulockern und die HG-Ketten teilweise zu hydrolysieren. Anschließend erfolgt eine photometrische Bestimmung nach Umsetzung mit einem Farbreagenz (Carbazol oder 3-Phenylphenol) (BITTER and MUIR 1962, BLUMENKRANTZ and ASBOE-HANSEN 1973, DISCHE 1947, FILISETTI-COZZI and CARPITA 1991). Die photometrischen Methoden haben den Nachteil, dass Neutralzucker während des Erhitzens zu braun gefärbten Verbindungen umgesetzt werden, die das Licht im selben Wellenlängenbereich wie die zu untersuchenden Farbkomplexe absorbieren. Daher wird die Messung eines Blindwertes ohne Zusatz

des Farbreagenz für jede Probe empfohlen (KINTNER and BUREN 1982). Außerdem konnte gezeigt werden, dass monomere Galacturonsäure im Vergleich zu oligomeren oder polymeren Galacturonsäureketten eine geringere Farbentwicklung im Carbazol oder 3-Phenylphenol-Assay aufweist, was eine Überbestimmung des Galacturonsäuregehaltes zur Folge haben kann, wenn Oligo- oder Polygalacturonsäuren vorliegen (MATSUHASHI and HATANAKA 1992).

Weitere Methoden zur Bestimmung des Galacturonsäuregehaltes beinhalten die chromatographische Trennung der zuvor freigesetzten Galacturonsäuremonomere und der weiteren Monosaccharide. Die Trennung der Monomere kann per GC erfolgen. Hierfür wird Galacturonsäure nach Reduktion zum entsprechenden Alditolacetat oder Trimethylsilyletherderivat umgesetzt (FORD 1982, JONES and ALBERSHEIM 1972). HPLC-Methoden bieten im Vergleich zu GC-Methoden den Vorteil, dass keine Derivatisierung erforderlich ist. Generell sind die chromatographischen Methoden den photometrischen überlegen, da sie eine Abtrennung der Störsubstanzen ermöglichen. Der limitierende Faktor bei den chromatographischen Methoden ist jedoch die vorausgehende Hydrolyse, da diese vollständig und ohne Zersetzung der Analyten ablaufen muss, um ein korrektes Ergebnis zu erhalten. Prinzipiell können die in Kapitel 3.6.1 beschriebenen sauren Hydrolysen mit ihren jeweiligen Vor- und Nachteilen eingesetzt werden. Daneben finden Kombinationen aus sauren und enzymatischen Hydrolysen oder rein enzymatische Hydrolysen bei isolierten Pektinen verbreitete Anwendung (ANTHON and BARRETT 2008, GARLEB et al. 1991, GARNA et al. 2006, LUZIO and CAMERON 2013, RUMPUNEN et al. 2002).

Für die Analyse des Galacturonsäuregehaltes im Rahmen dieser Arbeit wurde die photometrische Methode nach der zuvor beschriebenen partiellen H_2SO_4 -Hydrolyse und Umsetzung mit 3-Phenylphenol verwendet (Durchführung siehe Kapitel 8.6.6.1), da diese bereits im Labor etabliert war und weit verbreitete Anwendung findet. Eine enzymatische Hydrolyse bot sich nicht an, da der vollständige Abbau der vorliegenden NSPS im Vergleich zu isolierten Pektinen nicht gewährleistet war.

3.6 Charakterisierung der Zellwandpolysaccharide

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Methodenetablierung und -validierung

Zur Untersuchung des Einflusses der Trocknungsverfahren auf relevante Inhaltsstoffe wurden Methoden zur Bestimmung von AS, Carotinoiden, polyphenolischen Verbindungen und 3-DG für die verschiedenen Produkten etabliert. Da zur Berechnung des Erhalts der Inhaltsstoffe sowohl die frischen als auch getrockneten Produkte analysiert werden sollten, wurden die Methoden jeweils für frisches und getrocknetes Probenmaterial optimiert und validiert. Da zudem eine große Anzahl an Proben analysiert werden sollte, war ein weiteres Ziel, die benötigte Zeit für die Durchführung der Methoden bei gegebener Genauigkeit zu minimieren.

4.1.1 Ascorbinsäure

4.1.1.1 Extraktion der Ascorbinsäure

Wie in Kapitel 3.4.1 beschrieben wurde zur Extraktion von AS 3 % MPS mit einem Zusatz von 1 mM EDTA verwendet. Eine Erhöhung der Konzentration an MPS führte zu Problemen bei der enzymatischen Oxidation von AS zu DHAS (siehe Kapitel 4.1.1.3). MPS fungiert zeitgleich als Extraktionsmittel und Stabilisator, da es beispielsweise metallkatalysierte Oxidationen verhindert und zudem durch Ausfällung von Proteinen zur Klärung des Extraktes beiträgt (SPÍNOLA et al. 2014). Trichloressigsäure (0,3 M) wurde ebenfalls als Fällungsreagenz getestet. Allerdings stellte sich heraus, dass unter diesen Bedingungen, wie schon in der Literatur beschrieben, die Stabilität von AS verringert war, weshalb es in der endgültigen Methode nicht verwendet wurde (CHEBROLU et al. 2012). Weitere Faktoren, die die Stabilität von AS während der Extraktion beeinträchtigen, sind Licht und Temperatur (DRIVELOS et al. 2010, NOVÁKOVÁ et al. 2008b), weshalb ausschließlich in braunen Gefäßen gearbeitet wurde und die Proben während der gesamten Aufarbeitung (mit Ausnahme der enzymatischen Inkubation) auf mindestens 4 °C gekühlt wurden. Das Extraktionsmittel wurde zusätzlich vor der Verwendung mit Stickstoff entgast, um einen Abbau von AS durch im Extraktionsmittel gelösten Sauerstoff zu unterbinden (NOVÁKOVÁ et al. 2008b). Zur Steigerung der Extraktionsausbeute wurden die Proben 10 Minuten im Ultraschallbad behandelt. Hierdurch war eine einfache Extraktion (1 g Probe, 10 ml Extraktionslösungsmittel) ausreichend. Eine zweifache Extraktion (1 g Probe, 2x 5 ml Extraktionslösungsmittel) brachte keine Verbesserung der Extraktionsausbeute von AS mit sich.

4.1.1.2 Chromatographische Vorversuche und Bestimmung der Ascorbinsäure mittels HILIC-DAD

Zur Analyse von AS wurden zuerst Versuche zur chromatographischen Trennung mit Extrakten aus frischen Karotten durchgeführt. Eine gängige Strategie umfasst die Verwendung von wasserstabilen RP-C18-Säulen und wässrigen Eluenten mit niedrigem pH-Wert (FENOLL et al. 2011, ODRIOZOLA-

4.1 Methodenetablierung und -validierung

SERRANO et al. 2007, SPÍNOLA et al. 2012). Reinwässrige Eluenten sind bei der Verwendung von RP-HPLC-Säulen nötig, da AS aufgrund der hohen Hydrophilie nur wenig mit der stationären Phase wechselwirkt. Daher wurden zum einen eine Synergi Fusion RP-80 (4,6x250 mm, 80 Å, 4 µm, Phenomenex) und zum anderen eine Aqua C-18 (4,6x250 mm, 125 Å, 5 µm, Phenomenex) eingesetzt, wobei als Eluent 2 mM H₂SO₄ (pH 2,6) verwendet wurde. Eine Kalibrierung mit AS konnte durchgeführt werden, jedoch war, bedingt durch die kurze Retentionszeit, keine zufriedenstellende Trennung von AS von früh eluierenden Matrixkomponenten und dem Reduktionsmittel DTT möglich (Chromatogramm siehe Abbildung 14 A).

Daher wurde zur Trennung von AS die HILIC eingesetzt, da hier wie in Kapitel 3.4.1 beschrieben, längere Retentionszeiten erzielt und Matrixkomponenten abgetrennt werden. Es wurde eine Luna HILIC-Säule (4,6x250 mm, 200 Å, 5 µm, Phenomenex) und eine Mischung aus ACN/Wasser 86/14 (v/v) mit einem Zusatz von 10 mM Ammoniumacetat entsprechend der Methode nach Tai & Gohda (2007) verwendet (isokratisch). Bei der verwendeten Luna HILIC-Säule handelt es sich um eine Säule auf Silica-Basis, welche mit teilweise vernetzten Diol-Gruppen (2,3-Dihydroxypropyl-Liganden) modifiziert ist. Die Trennung konnte auch per Gradientenelution erreicht werden, jedoch waren hier die Laufzeiten, aufgrund des Spül- und Equilibrierschrittes, im Vergleich zur isokratischen Elution länger. Bei der Gradientenelution muss auf eine vollständige Equilibrierung der Säule geachtet werden, da andererseits Retentionszeitverschiebungen und eine schlechte Reproduzierbarkeit auftreten. Die Retentionszeit von AS betrug 13 Minuten, wodurch eine ausreichende Trennung von den Matrixkomponenten erreicht werden konnte (siehe Abbildung 14 B). Nach der Analyse der Apfel-Proben des Jahres 2016 (HT-Versuche) wurde aufgrund der Verschlechterung der Peakform von AS eine Säule gleichen Typs vom selben Hersteller erworben. Die Retentionszeit von AS war bei Verwendung der neuen Säule mit 7 Minuten deutlich geringer. Durch die gleichzeitige Verringerung der Peakbreite wurde die chromatographische Trennung jedoch nicht beeinträchtigt. Bei der Analyse

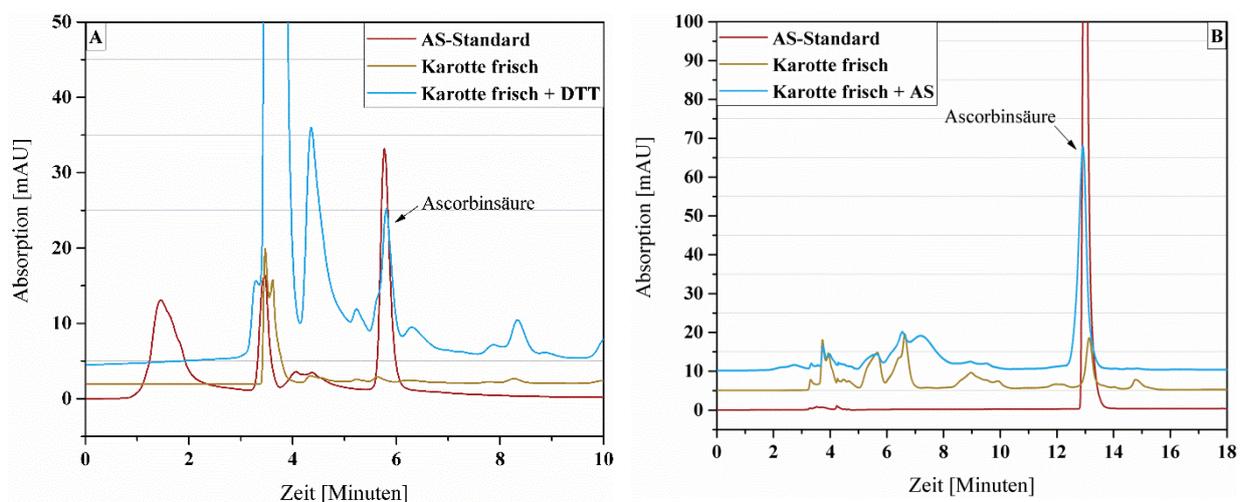


Abbildung 14 A: Chromatogramm der Trennung von Ascorbinsäure auf einer C-18-Säule (Synergi Fusion RP 80, 250x4,6 mm, 80 Å, 4 µm, Phenomenex). UV-Detektion bei 268 nm. B: Chromatogramm der Trennung von Ascorbinsäure mittels HILIC. UV-Detektion bei 268 nm. (Chromatographische Bedingungen siehe Kapitel 8.5.1.1, Seite 174). AS: Ascorbinsäure. DTT: Dithiothreitol

der Apfelproben des Jahres 2017 und der Erdbeerproben auf der neuen Säule bildete sich allerdings mit jeder weiteren Einspritzung ein stärker gesplitteter AS-Peak. Da die in die HPLC injizierte Lösung wässrig war und Wasser im Fall der HILIC das starke Elutionsmittel darstellt, kann es hierdurch zu gesplitteten Peaks kommen. Die Proben wurden daher vor der Messung mit ACN und 200 mM Ammoniumacetat-Lösung verdünnt, um die gleiche Lösungsmittelzusammensetzung wie im Eluenten zu erreichen (siehe Kapitel 8.5.1.1, Seite 174). Der mit der Verdünnung des Extraktes einhergehende Konzentrationsverlust (Faktor 10) wurde durch Erhöhung des Injektionsvolumens von 20 µL auf 100 µL (Faktor 5) zumindest teilweise kompensiert. Die Detektion von AS erfolgte im UV-Bereich beim Absorptionsmaximum (268 nm). Nachteilig bei der Detektion im UV-Bereich sind die geringere Selektivität und die geringere Empfindlichkeit im Vergleich zur fluorimetrischen Detektion. Da in Erdbeeren und Äpfeln deutlich höhere Gehalte an Gesamt-AS zu erwarten sind, stellt dies aber in Bezug auf die Empfindlichkeit kein Problem dar.

Zur Bestimmung der Gesamt-AS wurde eine Reduktion von DHAS zu AS mit einem großen Überschuss an DTT durchgeführt, da gezeigt wurde, dass die Reaktion bei niedrigen pH-Werten, wie sie im Extrakt vorliegen, langsam verläuft (SÁNCHEZ-MATA et al. 2000). Durch die Analyse des Extraktes vor und nach Reduktion werden die Gehalte für Gesamt-AS bzw. AS erhalten, aus welchen der Gehalt an DHAS indirekt berechnet werden kann. Die Bestimmung von Gesamt-AS in frischen und getrockneten Äpfeln und Erdbeeren konnte präzise durchgeführt werden, die relative Standardabweichung lag jeweils unterhalb 10 % (siehe Tabelle 4). Die Bestimmung von AS in frischen und getrockneten Erdbeeren war ebenfalls präzise möglich. Hier liegt der Großteil der Gesamt-AS als AS vor. DHAS konnte lediglich in frischen Erdbeeren mit ausreichender Präzision (< 10 %) bestimmt werden. Die Bestimmung der Gehalte an DHAS in getrockneten Erdbeeren war nicht möglich. Bei den rotfleischigen Äpfeln zeigte sich ein anderes Bild als bei den Erdbeeren, da in den Äpfeln fast ausschließlich DHAS vorlag. Da die Äpfel über einen Zeitraum von etwa 2 Monaten bis zur Analyse gelagert wurden, ist zu vermuten, dass während dieser Zeit die Oxidation von AS zu DHAS begünstigt wird. Aufgrund der sehr niedrigen AS-Gehalte war die Bestimmung von AS in frischen und getrockneten rotfleischigen Äpfeln nicht möglich. DHAS konnte nur in frischen Äpfeln präzise bestimmt werden, in getrockneten Äpfeln waren die Gehalte zu niedrig, um eine ausreichende Präzision zu erhalten. Die Wiederfindung (WF) in getrockneten und frischen rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren lag zwischen 95 – 97 %. In Anbetracht der WF und der Reproduzierbarkeit der Bestimmung von Gesamt-AS liefert die Methode für den Zweck ausreichend richtige und präzise Ergebnisse. Die Empfindlichkeit der eingesetzten Methode (siehe Bestimmungsgrenze Tabelle 4) ist für die Analyse von Gesamt-AS in Erdbeeren ausreichend, da diese hohe AS-Gehalte im Bereich von ca. 50 mg/100 g aufweisen (ODRIOZOLA-SERRANO et al. 2007). Bei den frischen rotfleischigen Äpfeln lagen die ermittelten Gehalte an Gesamt-AS bei etwa 4 mg/100 g. Das heißt, dass auch für Proben, bei denen viel AS während der Trocknung abgebaut wurde, die Empfindlichkeit mit einer BG von 0,60 mg/100 g immer noch ausreichen sollte.

Für die Analyse der Apfelproben des Jahres 2016 (HT-Versuche) wurde jeweils eine Kalibrierung im Extraktionslösungsmittel im Konzentrationsbereich von 5 – 28 µM und 28 – 180 µM hergestellt und analysiert (Anpassung siehe Abbildung 38, Seite 209). Für die Analyse der Apfelproben des Jahres

4.1 Methodenetablierung und –validierung

2017 (GT-, MWVT- und Kombiversuche) und aller Erdbeerproben wurden Kalibrierungen in den Konzentrationsbereichen von 6 – 60 µM bzw. 56 – 560 µM erstellt (Anpassungen siehe Abbildung 39, Seite 209). Zur Messung wurden diese, wie bereits oben erwähnt, mit ACN und einer 200 mM Ammoniumacetat-Lösung verdünnt.

Tabelle 4: Validierungsparameter für die Analyse von Gesamt-Ascorbinsäure, Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure in frischen und getrockneten rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren. Die Reproduzierbarkeit wurde durch fünffache Messung einer Probe an einem Tag (Intraday n=5) und dreifache Messung an drei unterschiedlichen Tagen (Interday 3xn=3) bestimmt und ist als relative Standardabweichung angegeben. Die Gesamt-Wiederfindung wurde durch Standardaddition bestimmt (3 Konzentrationen je n=2). Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen wurden mithilfe einer Grundkalibrierung über ein Signal/Rausch-Verhältnis von 3 bzw. 10 abgeschätzt.

	Apfel					
	Gesamt-Ascorbinsäure		Ascorbinsäure		Dehydroascorbinsäure	
	Frisch	Trocken	Frisch	Trocken	Frisch	Trocken
Intraday	8,1 %	4,2 %	n.b.	n.b.	8,8 %	n.b.
Interday	9,1 %	8,8 %	n.b.	n.b.	6,6 %	n.b.
Gesamt-WF	96,5 %	95,6 %	---	---	---	---
	Erdbeere					
	Gesamt-Ascorbinsäure		Ascorbinsäure		Dehydroascorbinsäure	
	Frisch	Trocken	Frisch	Trocken	Frisch	Trocken
Intraday	3,7 %	4,6 %	4,8 %	5,5 %	7,0 %	n.b.
Interday	3,5 %	10,2 %	5,0 %	10,5 %	4,5 %	n.b.
Gesamt-WF	97,3 %	96,0 %	---	---	---	---
NG			0,26 mg/100 g			
BG			0,60 mg/100 g			

n.b.: nicht bestimmbar

NG: Nachweisgrenze. BG: Bestimmungsgrenze. WF: Wiederfindung

4.1.1.3 Bestimmung der Ascorbinsäure als Dehydroascorbinsäure mittels RP-HPLC nach Derivatisierung

Aufgrund der vergleichsweise geringen Gehalte an AS in Karotten sollte die Bestimmung von AS in diesen Proben nach enzymatischer Oxidation zu DHAS und chromatographischer Bestimmung des fluoreszierenden Derivats (Derivatisierung mit OPDA) erfolgen (SPEEK et al. 1984). Für die Oxidation von AS mit dem Enzym Ascorbat-Oxidase wurden die in der beschriebenen Methode nach Speek et al. (1984) verwendeten Ascorbat-Oxidase-Spatel durch eine entsprechende Enzymlösung ersetzt (Herstellung Enzymlösung siehe Kapitel 8.5.1.2, Seite 175), da die Spatel für die simultane Bestimmung von vielen Proben nicht geeignet sind. Das Enzym wurde in einer Mischung aus Kaliumphosphat-Puffer und Glycerin gelöst und bei gleicher Aktivität (20 U), wie in den Spateln enthalten ist, zugegeben. Für die enzymatische Umsetzung wurde mit 4,5 M Na-Acetat-Puffer-Lösung (pH 6,5) ein pH-Wert von 6 eingestellt (pH-Optimum des eingesetzten Enzyms) (MACCARRONE et al. 1993). Wie oben erwähnt ergaben sich bei der enzymatischen Umsetzung Probleme, wenn eine

4,5 % MPS-Lösung eingesetzt wurde, da hier sehr große Mengen an Puffer nötig waren, um den gewünschten pH-Wert einzustellen. Die nach der enzymatischen Oxidation folgende Derivatisierung von DHAS mit OPDA konnte wie beschrieben durchgeführt werden. Die Lösungen wurden allerdings unmittelbar nach Ende der Inkubation auf Eis gekühlt, um eine ausreichende Stabilität der Messlösung zu gewährleisten. Bei der Bestimmung von DHAS wird auf die enzymatische Inkubation verzichtet und der Extrakt wird nach Zugabe des Puffers direkt mit OPDA-Lösung inkubiert. Allerdings wurde festgestellt, dass AS nach der Zugabe von Puffer und Inkubation mit OPDA-Lösung, bedingt durch den erhöhten pH-Wert, zu etwa 10 % zu DHAS oxidiert wird. Auch nach Beendigung der Inkubation und Kühlung auf 4 °C setzte sich die Oxidation von AS fort, was eine Überbestimmung von DHAS zur Folge hatte. Da aufgrund der hohen Probenzahl Verweildauern von bis zu 8 Stunden im Autosampler realistisch sind, wurde die separate Bestimmung von DHAS daher nicht durchgeführt, sondern nur DHAS und AS als Summenparameter bestimmt.

Die chromatographische Analyse des Chinoxalin-Derivats wurde auf einer RP-C18-Säule mit isokratischer Elution realisiert (Bedingungen siehe Tabelle 31, Seite 175). Die Detektion erfolgte dabei fluorimetrisch, was eine empfindliche und selektive Detektion ermöglicht. Abbildung 15 zeigt die Chromatogramme der Trennung der derivatisierten Extrakte einer frischen Karotte mit und ohne Zugabe von AS und eines AS-Standards.

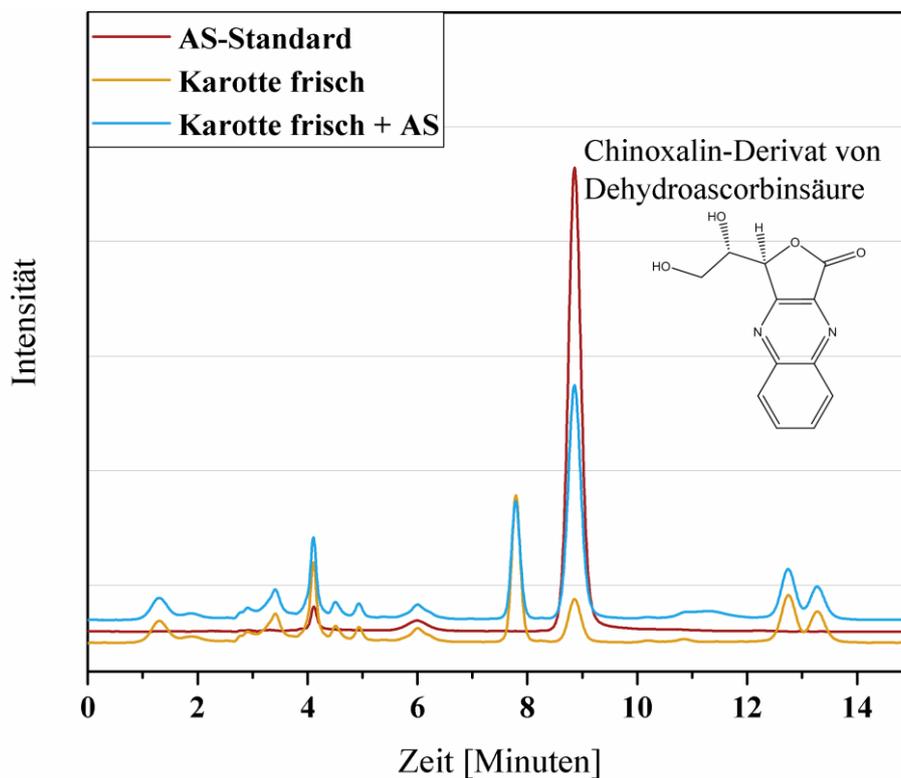


Abbildung 15: Chromatogramm der Trennung des Chinoxalin-Derivats von Dehydroascorbinsäure auf einer C18-Säule mit fluorimetrischer Detektion (Anregung: 355 nm, Emission: 425 nm). Chromatographische Bedingungen siehe Kapitel 8.5.1.2, Seite 175. AS: Ascorbinsäure

4.1 Methodenetablierung und –validierung

Die externe Kalibrierung wurde getrennt in zwei Bereichen zwischen 1,4 – 7 und 7 – 42 μM in einem Zeitraum von mehreren Wochen durchgeführt (lineare Anpassung siehe Abbildung 37, Seite 208). Zur Validierung der Methode wurden die Empfindlichkeit, Präzision und Richtigkeit überprüft (siehe Tabelle 5). Die Methode eignet sich zur empfindlichen Analyse von AS, was die Nachweis- (NG) und Bestimmungsgrenze (BG) von 4,6 bzw. 15,4 $\mu\text{g}/100\text{g}$ verdeutlichen. Die NG und BG sind im Vergleich zur Methode zur Bestimmung von AS mittels HILIC-DAD um etwa den Faktor 40 niedriger, was die bessere Empfindlichkeit der Bestimmung des fluoreszierenden Chinoxalin-Derivats von AS zeigt. Zudem zeigen die WF in frischen und trockenen Karotten mit 98,7 bzw. 91,8 % und die Reproduzierbarkeit an einem bzw. drei Tagen mit 4,5 bzw. 6,9 %, dass die Methode für den Zweck ausreichend richtige und präzise Ergebnisse liefert.

Tabelle 5: Validierungsparameter für die Analyse von Gesamt-Ascorbinsäure in frischen und getrockneten Karotten. Die Reproduzierbarkeit wurde durch fünffache Messung einer Probe an einem Tag (Intraday $n=5$) und dreifache Messung an drei unterschiedlichen Tagen (Interday $3 \times n=3$) bestimmt und ist als relative Standardabweichung angegeben. Die Gesamt-Wiederfindung wurde durch Standardaddition bestimmt (3 Konzentrationen je $n=2$). Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen wurden mithilfe einer Grundkalibrierung über ein Signal/Rausch-Verhältnis von 3 bzw. 10 abgeschätzt.

	Karotte	
	Frisch	Trocken
Intraday-Reproduzierbarkeit ($n=5$)	4,5 %	n.b.
Interday-Reproduzierbarkeit ($3 \times n=3$)	6,9 %	n.b.
Gesamt-Wiederfindung	98,7 %	91,8 %
Nachweisgrenze	4,6 $\mu\text{g}/100\text{g}$	
Bestimmungsgrenze	15,4 $\mu\text{g}/100\text{g}$	

n.b.: nicht bestimmt

4.1.2 Carotinoide

4.1.2.1 Chromatographische Trennung und Kalibrierung

Die Analytik der Carotinoide in Karotten wurde in Anlehnung an die von Abdel-Aal et al. (2007) veröffentlichte Methode durchgeführt. Diese Methode war im Labor schon für die Analyse von Carotinoiden (Lutein, Zeaxanthin und β -Carotin) in Getreiden etabliert. Die in Karotten hauptsächlich vorkommenden Carotinoide Lutein, α - und β -Carotin (MAIANI et al. 2009) sollten in den frischen und getrockneten Karottenproben analysiert werden. Daher war eine Anpassung der Extraktionsbedingungen auf die Matrix (siehe Kapitel 4.1.2.2) und eine Anpassung des Gradienten auf die zu analysierenden Carotinoide samt Matrix notwendig. Zur Trennung der Carotinoide wurde eine RP-C30-Säule (Prontosil C30, 250x4,6 mm, 200 \AA , 5 μm , Bischoff Chromatography) eingesetzt. Mit dem von Abdel-Aal et al. (2007) verwendeten Eluentensystem konnte eine vollständige Trennung von Lutein, α - und β -Carotin und deren eventuell bei der Trocknung entstehenden Z-Isomeren

erreicht werden (siehe Abbildung 16 und Abbildung 32, Seite 197). Durch eine Zugabe von 0,1 % BHT zu den Eluenten sollte eine Oxidation der Carotinoide während der chromatographischen Trennung verhindert werden.

Zur Kalibrierung wurden Stammlösungen von Lutein, α - und β -Carotin in EA hergestellt und bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert. Zu Beginn wurde MTBE als Lösungsmittel verwendet, was jedoch aufgrund der höheren Elutionskraft von MTBE im Vergleich zu EA zu einem Lutein-Peak mit schlechterer Peaksymmetrie führte. Die Lagerung der Stammlösungen der Carotinoide wurde bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durchgeführt, da diese über einen Zeitraum von mehreren Monaten ausreichend stabil waren. Die Kalibrierung wurde über einen Zeitraum von mehreren Monaten wiederholt, um zu überprüfen, ob der Response über einen längeren Zeitraum konstant bleibt. Dazu wurde vor jeder Herstellung der Kalibrierlösungen die Konzentration der Stammlösung photometrisch, unter Berücksichtigung der chromatographischen Reinheit, bestimmt (siehe 8.5.3, Seite 179).

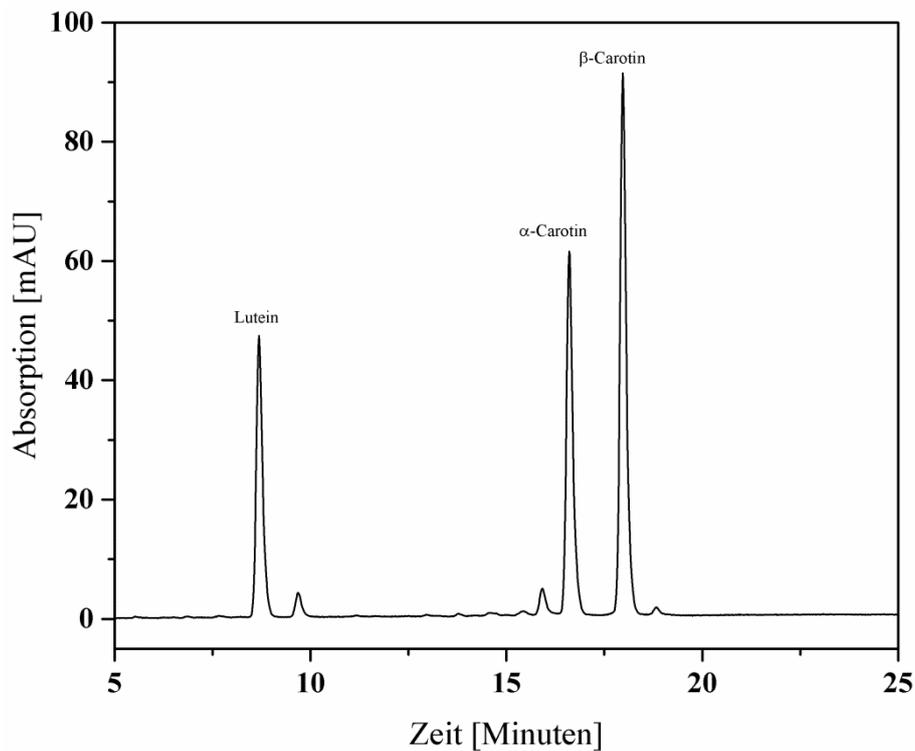


Abbildung 16: Chromatogramm der Trennung eines Gemisches von Lutein, α - und β -Carotin (Standardsubstanzen) in Ethylacetat. Detektion bei einer Messwellenlänge von 450 nm. Chromatographische Bedingungen siehe Kapitel 8.5.3, Seite 179

4.1.2.2 Extraktion

Da die Extraktion bei der Analyse von Carotinoiden oft fehlerbehaftet ist, wurde diese eingehend untersucht. Verschiedene Lösungsmittel und Lösungsmittelgemische wurden zunächst bei Anwendung einer einfachen Extraktion mit 10 ml Extraktionsvolumen auf ihre Extraktionseigenschaften für Carotinoide aus Karotten untersucht (siehe Tabelle 6). Nach Zugabe des Lösungsmittels wurde für 45 s mit einem Wirbelmischer gemischt, 45 Minuten gewartet und nochmal gemischt. Nach weiteren 30 Minuten wurde zentrifugiert (10 Minuten, 4000 rpm), und der

4.1 Methodenetablierung und –validierung

Extrakt wurde analysiert. Dabei zeigten sich lösungsmittelabhängige Unterschiede in der extrahierten Menge an Carotinoiden. 1-Butanol, welches bei der bereits im Labor bestehenden Methode für Getreide verwendet wurde, zeigte mäßige Extraktionseigenschaften im Vergleich zu den anderen eingesetzten Lösungsmitteln. Mit einem Gemisch aus Hexan und Ethanol im Verhältnis 3/4 (v/v) (AMORIM-CARRILHO et al. 2014) konnte die beste Extraktion von Lutein erreicht werden, wohingegen α - und β -Carotin nur in sehr geringem Maß extrahiert wurden. Die höchste Extraktionseffizienz für α - und β -Carotin wurde mit EA sowie einer Mischung aus DCM und MeOH 1/1 (v/v) erreicht. EA wurde ausgewählt, da es weniger toxisch als DCM ist und keine Mischung hergestellt werden muss. Die schlechtere Extrahierbarkeit von Lutein mit EA im Vergleich zu einem Gemisch aus Hexan und Ethanol 3/4 (v/v) wurde hier in Kauf genommen, da die Gehalte an Lutein ohnehin gering waren und Lutein daher eine geringere Bedeutung für die Bewertung der Trocknungsverfahren hatte. BHT wurde dem Extraktionslösungsmittel als Antioxidans zugesetzt.

Tabelle 6: Untersuchung der Extraktion von Carotinoiden aus frischen Karotten mit verschiedenen Lösungsmitteln und –gemischen. Die Angabe der Anteile der Lösungsmittel in den Gemischen erfolgt auf Volumenbasis. Das Lösungsmittel bzw. –gemisch, mit welchem die beste Extraktion erreicht wurde, ist fett markiert.

Einfache Extraktion	Gehalt Lutein	Gehalt α -Carotin	Gehalt β -Carotin
1-Butanol	0,37 mg/100 g	2,97 mg/100 g	4,85 mg/100 g
MTBE	0,39 mg/100 g	4,54 mg/100 g	7,35 mg/100 g
Ethylacetat	0,38 mg/100 g	4,90 mg/100 g	7,92 mg/100 g
Exthylacetat/Cyclohexan 50/50	0,17 mg/100 g	4,24 mg/100 g	6,89 mg/100 g
MTBE/1-Butanol 50/50	0,37 mg/100 g	4,79 mg/100 g	7,63 mg/100 g
Hexan/Ethanol 3/4	0,66 mg/100 g	0,23 mg/100 g	0,24 mg/100 g
Dichlormethan/Methanol 50/50	0,45 mg/100 g	4,85 mg/100 g	7,79 mg/100 g
Aceton/Ethanol 50/50	0,46 mg/100 g	4,69 mg/100 g	7,58 mg/100 g
Hexan/Diethylether 50/50	0,39 mg/100 g	4,77 mg/100 g	7,41 mg/100 g
Methanol/Aceton/Hexan 25/25/50	0,40 mg/100 g	4,31 mg/100 g	7,30 mg/100 g
MTBE/Ethylacetat 50/50	0,39 mg/100 g	4,32 mg/100 g	6,49 mg/100 g
1-Butanol/Ethylacetat 50/50	0,18 mg/100 g	1,68 mg/100 g	2,56 mg/100 g

MTBE: Methyl-*tert*-butyl-Ether

Weitere Faktoren, die die Extraktion der Carotinoide beeinflussen, sind die Häufigkeit der Extraktion, Standzeit im Extraktionsmittel und Vorbehandlung der Probe. Ohne die Verwendung des Wirbelmischers zeigte sich beispielsweise eine drastische Verschlechterung der Extraktion. Auch die Standzeit zwischen den Mischvorgängen war relevant, da mit einer geringeren Standzeit zwischen den Mischvorgängen eine schlechtere Extraktionseffizienz der Carotinoide einherging. Durch mehrfache Extraktion des Rückstands konnte eine Verbesserung der Extraktionsausbeute erreicht werden. Mit einer dreifachen Extraktion, bei der zuerst mit 4 ml und anschließend zweimal mit 3 ml EA extrahiert wurde konnten unerwartet etwas mehr Carotinoide im Vergleich zu einer dreifachen

Tabelle 7: Optimierung der Extraktionsbedingungen von Carotinoiden aus frischen Karotten mit Ethylacetat. Die einfache Extraktion wurde mit 10 ml Ethylacetat durchgeführt. Die Extraktionsbedingungen, mit denen die beste Extraktion für β -Carotin erreicht wurde, sind fett markiert.

Extraktion	Gehalt Lutein	Gehalt α -Carotin	Gehalt β -Carotin
Zweifache Extraktion (2x5 ml)	0,35 mg/100 g	4,64 mg/100 g	6,88 mg/100 g
Dreifache Extraktion (4, 3 und 3 ml)	0,40 mg/100 g	5,30 mg/100 g	7,98 mg/100 g
Dreifache Extraktion (7, 7 und 6 ml)	0,38 mg/100 g	4,99 mg/100 g	7,37 mg/100 g
Vorbehandlung mit Ultra Turrax (20.000 rpm, 30 s) und zweifache Extraktion (2x5 ml)	0,37 mg/100 g	5,02 mg/100 g	8,27 mg/100 g
Vorbehandlung mit 10 mg Driselase®-Lösung (1 h) und einfache Extraktion	0,14 mg/100 g	2,28 mg/100 g	7,41 mg/100 g
Vorbehandlung mit 10 mg Driselase®-Lösung (2 h) und einfache Extraktion	0,13 mg/100 g	2,06 mg/100 g	6,63 mg/100 g
Vorbehandlung mit 2 mg Driselase®-Lösung (24 h) und einfache Extraktion	0,05 mg/100 g	1,71 mg/100 g	5,59 mg/100 g
Vorbehandlung mit 5 mg Driselase®-Lösung (24 h) und einfache Extraktion	0,05 mg/100 g	1,99 mg/100 g	6,40 mg/100 g
Vorbehandlung mit 10 mg Driselase®-Lösung (24 h) und einfache Extraktion	0,06 mg/100 g	2,45 mg/100 g	7,82 mg/100 g
Vorbehandlung mit 10 mg Driselase®-Lösung (16 h) und zweifache Extraktion (7 + 3 ml)	0,07 mg/100 g	3,08 mg/100 g	10,07 mg/100 g

Extraktion mit zweimal 7 und anschließend 6 ml EA oder einer zweifachen Extraktion mit zweimal 5 ml EA extrahiert werden (siehe Tabelle 7). Um eine weitere Verbesserung der Extraktion zu erreichen, wurden drei Verfahren getestet, um die Zugänglichkeit der Carotinoide durch Zerstörung der Struktur der Lebensmittel bzw. der Zellwände zu erhöhen. Die Behandlung der Karottenproben für 15 Minuten in einem Ultraschallbad brachte keine Verbesserung der Extraktionseffizienz, weswegen dieser Ansatz nicht weiter verfolgt wurde. Eine Behandlung der Proben mit einem Ultra-Turrax-Mixer mit anschließender zweifacher Extraktion führte zu höheren Extraktionsausbeuten im Vergleich zur zweifachen Extraktion ohne Vorbehandlung. Trotz der verbesserten Extraktion wurde dieser Ansatz nicht weiter verfolgt, da der Arbeitsaufwand für die Analyse der großen Zahl an Proben zu hoch war. Durch eine enzymatische Behandlung mit Cellulase und Pektinase (enthält PGA, PME und Pektatlyase) konnte bei Verarbeitungsrückständen von Tomaten und Tomatenpaste die Extraktion von Lycopin deutlich verbessert werden (RANVEER et al. 2013, ZUORRO and LAVECCHIA 2010). Daher wurde das aus Pilzen stammende Multi-Enzym-Präparat Driselase, das unter anderem Cellulase-, Xylanase- und Pektinase-Aktivität aufweist, auf die Eignung zur Verbesserung der Extraktion der Carotinoide untersucht. Dazu wurde die Probe mit 2 ml einer wässrigen Suspension, die die entsprechende Menge an Driselase enthält, versetzt, das Extraktionsröhrchen mit N_2 begast und für die jeweilige Zeit inkubiert. Mit zunehmender Dauer der enzymatischen Behandlung stieg die Menge der extrahierten Carotinoide (siehe Tabelle 7), weshalb die Dauer der Behandlung auf 16 h gesetzt wurde. Eine Enzymmenge von 10 mg wurde für 1 g frisches Probenmaterial eingesetzt, da

4.1 Methodenetablierung und –validierung

hiermit im Vergleich zu 2 und 5 mg mehr Carotinoide extrahiert werden konnten (siehe Tabelle 7). Der Einsatz von größeren Enzymmengen wurde aus Kostengründen nicht untersucht. Die Durchführung der Carotinoidanalytik ist aus Kapitel 8.5.3 (Seite 179) ersichtlich. Die Stabilität der Extrakte ist ein weiterer Faktor bei der Carotinoidanalytik. Da Carotinoide in Lösung anfällig für Oxidationen und Isomerisierungen sind, können bei der Lagerung große Verluste auftreten. Daher wurden die Extrakte in braunen Gefäßen bei -20 °C bis zur Analyse gelagert. Hierbei wurde festgestellt, dass sowohl die Extrakte als auch die Kalibrierlösungen mindestens 9 Tage ausreichend stabil waren, da keine Verringerung der Peakflächen zu beobachten war.

4.1.2.3 Validierungsparameter

Die Methode wurde auf ihre Eignung untersucht, indem die Reproduzierbarkeit an einem (Intraday) und mehreren Tagen (Interday), die Empfindlichkeit anhand von NG und BG (Grundkalibrierung) und die Gesamt-WF bestimmt wurden. Im Rahmen der Ermittlung der Reproduzierbarkeit zeigte sich für alle untersuchten Verbindungen in frischen und getrockneten Karotten eine relative Standardabweichung von < 10 %, was eine ausreichend präzise Analyse demonstriert. In frischen Karotten konnte die Reproduzierbarkeit für Lutein nicht bestimmt werden, da die erhaltenen Flächen unterhalb des Kalibrierbereiches lagen und somit keine Quantifizierung möglich war. Die WF wurde untersucht, indem verschiedene Mengen an Standardlösung im Extraktionsgefäß unter N₂ eingedampft wurden. In diesen Gefäßen wurde im Anschluss eine komplette Aufarbeitung von frischen und getrockneten Karottenproben, inklusive enzymatischem Vorverdau, durchgeführt. Hierbei ist anzumerken, dass mit dieser Vorgehensweise die Vollständigkeit der Extraktion nicht untersucht werden kann, da die Carotinoide in der Matrix, im Gegensatz zu den Analyten in Lösung, in der Regel stark mit Membranen und Zellwänden assoziiert vorliegen. Eine niedrige WF würde daher lediglich auf Verluste während der Aufarbeitung hinweisen. Da die WF für alle Verbindungen in

Tabelle 8: Validierungsparameter für die Analyse von Carotinoiden in Karotten. Die Reproduzierbarkeit wurde durch fünffache Messung einer Probe an einem Tag (Intraday n=5) und dreifache Messung an drei unterschiedlichen Tagen (Interday 3xn=3) bestimmt und ist als relative Standardabweichung angegeben. Die Gesamt-Wiederfindung wurde durch Standardaddition bestimmt (3 Konzentrationen je n=2). Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen wurden mithilfe einer Grundkalibrierung über ein Signal/Rausch-Verhältnis von 3 bzw. 10 abgeschätzt.

Reproduzierbarkeit	Lutein		α-Carotin		β-Carotin	
	Frisch	Trocken	Frisch	Trocken	Frisch	Trocken
Intraday (n=5)	n.b.	4,4 %	4,5 %	4,1 %	3,6 %	4,4 %
Interday (3x n=3)	n.b.	4,3 %	2,1 %	2,7 %	7,5 %	5,9 %
Gesamt-WF	97,6 %	90,3 %	100,0 %	107,4 %	97,1 %	89,3 %
NG	4,9 µg/100 g		16,0 µg/100 g		19,1 µg/100 g	
BG	16,2 µg/100 g		53,4 µg/100 g		63,8 µg/100 g	

n.b.: nicht bestimmbar

NG: Nachweisgrenze. BG: Bestimmungsgrenze. WF: Wiederfindung

frischen und getrockneten Karotten zwischen 89 und 107 % liegen, entstehen für die Bewertung dieser Studie akzeptable Verluste während der Aufarbeitung. Mit BG von 16,2, 53,4 und 63,8 µg/100 g für Lutein, α- und β-Carotin ist die Methode ausreichend empfindlich, um die in Karotten zu erwartenden Gehalte zu quantifizieren. Die Gehalte an β-Carotin liegen beispielsweise etwa im Bereich von 10 mg/100 g (MECH-NOWAK et al. 2012, NIIZU and RODRIGUEZ-AMAYA 2005). Somit wäre bei einem Verlust von 90 % des ursprünglich enthaltenen β-Carotins während der Trocknung die BG noch überschritten und eine Quantifizierung möglich.

4.1.3 Phenolische Verbindungen

4.1.3.1 Extraktion

Die Extraktion der phenolischen Verbindungen aus rotfleischigen Äpfeln wurde im Zuge einer Masterarbeit in Zusammenarbeit mit Kevin Schu untersucht. Dabei wurden die Lösungsmittelzusammensetzung sowie Lösungsmittelvolumen, Temperatur und Extraktionszeit optimiert. Die untersuchten Lösungsmittel waren MeOH, Aceton, Ethanol und ACN, da sie prinzipiell eine geeignete Polarität aufweisen und daher auch häufig zur Extraktion von phenolischen Verbindungen eingesetzt werden (siehe Kapitel 3.4.3). Neben den reinen Lösungsmitteln wurden auch Gemische, die 10, 20 bzw. 30 % Wasser enthalten (v/v), untersucht. Höhere Wassergehalte, wie sie teilweise in der Literatur zur Extraktion beschrieben sind, wurden nicht verwendet, um die Menge an extrahierten PS zu minimieren. ACN und Aceton stellten sich als nicht geeignet zur Extraktion der phenolischen Verbindungen heraus, da im Vergleich zu den anderen Lösungsmitteln deutlich geringere Mengen an PP extrahiert wurden. Mit einem Gemisch aus Ethanol/Wasser 70/30 (v/v) konnte für CS und Flavonol-Glycoside eine gute Extraktion erreicht werden, allerdings wurden die Anthocyane nur mäßig extrahiert. Die besten Ergebnisse konnten mit einem Gemisch aus MeOH/Wasser 90/10 (v/v) erzielt werden, mit dem die Verbindungen aller Substanzklassen in ausreichendem Maß extrahiert wurden. Um die Anthocyane zu stabilisieren, wurde zum Lösungsmittelgemisch 5 % Ameisensäure gegeben. Zur Verbesserung der Extraktion wurden die Proben in einem Ultraschallbad behandelt, wobei sich eine Zeit von 15 Minuten als optimal herausstellte. Längere Zeiten führten zum Abbau von CS, die anderen Verbindungen erwiesen sich als stabil. Die Temperatur im Ultraschallbad wurde im Bereich zwischen 4 und 60 °C untersucht, da bei erhöhten Temperaturen aufgrund der verringerten Viskosität die Diffusion der Analyten in das Lösungsmittel erleichtert ist. Da bei steigenden Temperaturen ein leichter Abbau der Anthocyane zu beobachten war, wurde die Temperatur auf 30 °C festgelegt. Wie zu erwarten, war mit steigendem Verhältnis von Lösungsmittel zu Probe die Extraktion verbessert. Da die Verwendung von größeren Volumina eine Abnahme der Konzentration zur Folge hat, wurde ein aliquoter Teil des Extraktes vor der Messung in einem Vakuumkonzentrator bei 45 °C eingedampft und in einem kleineren Volumen des Eluenten wieder aufgenommen. Beim Wiederaufnehmen im Eluent wurde eine Trübung der Lösung festgestellt, die wahrscheinlich auf mitextrahierte unpolare Verbindungen und/oder Chlorophyll zurückzuführen ist. Diese wurde vor der Analyse abzentrifugiert, um eine Verunreinigung

4.1 Methodenetablierung und –validierung

der HPLC zu vermeiden. Die Extrakte wurden bei -20 °C gelagert, da alle Verbindungen unter diesen Bedingungen über einen Zeitraum von sieben Tagen stabil waren.

Die Extraktion der phenolischen Verbindungen aus Erdbeeren wurde analog der Extraktion aus den rotfleischigen Äpfeln durchgeführt. Beim Eindampfen im Vakuumkonzentrator wurde jedoch ein starker Abbau der Anthocyane festgestellt, der abhängig von der eingestellten Temperatur und Säurezugabe war. Dies legt den Schluss nahe, dass die Anthocyane der Erdbeeren weniger temperatur- bzw. säurestabil sind. Die Extraktion wurde daher ohne Zugabe von Ameisensäure, und das Eindampfen des Extraktes ohne eine Temperaturerhöhung durchgeführt.

4.1.3.2 Identifizierung der Hauptverbindungen mittels LC-DAD-MS

Die hauptsächlich vorkommenden phenolischen Verbindungen in rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren wurden im Anschluss mittels LC-DAD-MS anhand ihrer Massen und UV-Spektren vorläufig identifiziert (Aufarbeitung siehe Tabelle 28, Seite 172). Die Extraktion der Verbindungen erfolgte mit einem Gemisch aus Methanol/Wasser 90/10 (v/v) aus zuvor gefriergetrocknetem Probenmaterial. Die Extrakte wurden darauffolgend mittels LC-DAD-MS im ESI-Positiv- und ESI-Negativ-Modus analysiert (Bedingungen siehe Kapitel 8.4, Seite 172). Die Identität und Konfiguration der Kohlenhydrateinheiten konnte mit dieser Vorgehensweise nicht bestimmt werden, weshalb nur angegeben werden kann, ob es sich um eine Hexose, Pentose oder einen Desoxyzucker handelt. Ausgewählte Chromatogramme sind in Abbildung 34 (Seite 199) für Äpfel und Abbildung 35 (Seite 201) für Erdbeeren dargestellt. Die identifizierten Verbindungen finden sich in Tabelle 43 (Seite 200) für Äpfel und Tabelle 44 (Seite 202) für Erdbeeren.

Bei Analyse des Extraktes aus rotfleischigen Äpfeln wurden bei einer Wellenlänge von 510 nm insgesamt sechs Peaks detektiert (Verbindungen **A1**, **A6**, **A11**, **A12**, **A14** und **A15**). Verbindung **A11** ergab den größten Peak und wurde als CGal identifiziert, was in diesem Fall durch Vergleich mit einem kommerziell erhältlichen Standard bestätigt wurde. Verbindung **A1** und **A6** sind aufgrund ihrer Masse vermutlich Konjugate aus einem Anthocyan und einem bzw. zwei Flavanol-Einheiten und wurden bereits im Saft von rotfleischigen Äpfeln nachgewiesen (MALEC et al. 2014). Verbindung **A12** entspricht der Verbindung 5-Carboxypyranocyanidin-Hexosid, welches unter anderem in rotfleischigen Äpfeln der Sorte Weirouge und roten Zwiebeln gefunden werden kann (FOSSEN and ANDERSEN 2003, SADILOVA et al. 2006a). Die weiteren Verbindungen **A14** und **A15** wurden anhand ihrer Masse als Cyanidin-Pentoside bestimmt. Aus der Gruppe der Flavanole (Detektion bei 280 nm) wurden CA (**A8**), EC (**A13**) und ein Flavanol Trimer (**A12**), das mit 5-Carboxypyranocyanidin-Hexosid coeluiert, vorläufig identifiziert. CA und EC wurden zusätzlich durch Vergleich mit einem kommerziellen Standard eindeutig identifiziert. Aus der Gruppe der Flavonole (Detektion bei 350 nm) wurden mehrere Quercetin-Glycoside identifiziert. Dazu zählten zwei Quercetin-Hexoside (**A18** und **A19**), zwei Quercetin-Pentoside (**A21** und **A23**) und ein Quercetin-Desoxyhexosid (**A24**). Die Verbindungen **A18** und **A23** wurden durch Vergleich mit kommerziellen Standardsubstanzen eindeutig als Quercetin-3-O-β-D-Galactopyranosid (QGal) bzw. Quercetin-3-O-α-L-Arabinofuranosid (QA) identifiziert. Als hydroxyzimtsäurehaltige Verbindungen wurden CS (**A4**), zwei weitere

Verbindungen, die Kaffeesäure bzw. *p*-Cumarsäure und Chinasäure enthalten (**A7** und **A9**), und eine Verbindung, deren anhand des *m/z*-Verhältnisses bestimmten Masse auf die Anwesenheit von Kaffeesäure sowie einer Desoxyhexose und einer Pentose schließen lässt (**A2**), identifiziert. Weitere Verbindungen, die identifiziert wurden, sind PZ (**A25**) und eine Verbindung, die aus Phloretin, an welches eine Hexose und Pentose gebunden sind, besteht (**A22**). Die Zusammensetzung der phenolischen Verbindungen entspricht somit weitgehend der in der Literatur für rotfleischige Äpfel beschriebenen (SADILOVA et al. 2006a, WANG et al. 2015).

In Erdbeeren wurden bei einer Wellenlänge von 500 nm fünf Verbindungen detektiert (**E19**, **E20**, **E22**, **E25** und **E27**). Diese Wellenlänge wurde ausgewählt, da das UV-Maximum des hauptsächlich vorkommenden Aglycons Pelargonidin bei 500 nm liegt. Die Verbindungen wurden als Cyanidin-Hexosid (**E19**), Pelargonidin-Hexosid (**E20**), 5-Pyranopelargonidin-Hexosid (**E22**) (AABY et al. 2007), Pelargonidin-Malonyl-Hexosid (**E25**) und acetyliertes Pelargonidin-Hexosid (**E27**) identifiziert. Im Folgenden wurden Peak **E20** und **E25** zur Verwendung als Standardsubstanzen isoliert und deren Struktur mittels NMR-spektroskopischer Methoden als PG (**E20**) und PMG (**E25**) charakterisiert (siehe Kapitel 4.1.3.3). Die beiden hauptsächlich vorkommenden Anthocyane in den untersuchten Erdbeeren stellen **PG** und **PMG** dar, während das Cyanidin-Hexosid einen sehr geringen Anteil hatte. Im Vergleich zu anderen Erdbeersorten ist diese Zusammensetzung der Anthocyane untypisch, da meist PG und Cyanidin-Glucosid die Hauptanthocyane darstellen (DA SILVA et al. 2007). Weiterhin konnten fünf Verbindungen identifiziert werden, die Hydroxyzimtsäuren bzw. Zimtsäure enthalten (Detektion bei 310 nm) (**E11**, **E13**, **E14**, **E18** und **E26**). Diese sind typischerweise in Erdbeeren zu finden, wobei Verbindungen, die *p*-Cumarsäure enthalten, dominieren (AABY et al. 2007). Die Verbindungen **E11** und **E26** wurden ebenso zur Verwendung als Standardsubstanzen isoliert und als *p*-Cumarsäure-Glucosid (**E11**) und Zimtsäure-Glucosid (**E26**) charakterisiert. Aus der Gruppe der Flavanole (Detektion bei 280 nm) wurde CA (**E10**), durch Vergleich mit einem kommerziell erhältlichen Standard eindeutig identifiziert. Zudem waren weitere nicht näher charakterisierte Di- und Trimere von Flavanolen in den hier untersuchten Erdbeeren zu finden (**E1**, **E2**, **E7**, **E8**, **E12** und **E15**). Die Verbindungen, die Quercetin und Kämpferol (Flavonole) enthalten, eluieren spät und weisen ein UV-Maximum bei einer Wellenlänge von etwa 350 nm auf (AABY et al. 2012). Hier konnten die drei Verbindungen, QGluA (**E28**), KG (**E29**) und Kämpferol-3-*O*- β -D-Glucuronopyranosid (KGluA, **E30**) anhand von Standardsubstanzen eindeutig identifiziert werden. Zudem wurden Verbindungen identifiziert, bei denen ein Kämpferol-Hexosid zusätzlich mit Malonsäure oder Essigsäure verestert war (**E32**, **E33**, **E34**). Die sonst in großen Mengen in Erdbeeren vorhandenen Proanthocyanidine wurden nicht gefunden, da sie unter den verwendeten Extraktionsbedingungen kaum extrahiert werden.

Zur Beurteilung der Trocknungsverfahren wurden die hauptsächlich vorkommenden Verbindungen der Anthocyane, Flavanole, Flavonole, Hydroxyzimtsäuren und Dihydrochalcone ausgewählt. Die untersuchten Verbindungen in rotfleischigen Äpfeln sind daher das Anthocyan Cyanidin-Galactosid, die Flavanole (+)-Catechin und (-)-Epicatechin sowie Quercetin-Galactosid und -Arabinosid sowie Phlorizin und Phloretin. In Erdbeeren wurden die Anthocyane Pelargonidin-Glucosid, Pelargonidin-

4.1 Methodenetablierung und -validierung

Malonyl-Glucosid, (+)-Catechin, *p*-Cumarsäure-Glucosid, Zimtsäure-Glucosid sowie Quercetin-Glucosid und -Glucuronid und Kämpferol-Glucosid und -Glucuronid untersucht.

4.1.3.3 Präparative Isolierung und Charakterisierung von Standardsubstanzen aus Erdbeeren

Zur Gewinnung von Standardsubstanzen wurde ein Teil der phenolischen Verbindungen aus Erdbeeren semipräparativ isoliert. Diese wurden mit einem Gemisch aus MeOH/Wasser 90/10 (v/v) aus zuvor gefriergetrockneten Erdbeeren isoliert. Der Extrakt wurde im Anschluss auf einer präparativen C-18-Säule fraktioniert (siehe Kapitel 8.2, Seite 169) (SKREDE et al. 2000). In der EA-Fraktion wurden etwa 10 % aller im Extrakt enthaltenen Anthocyane gefunden, was für die anschließende semipräparative Aufreinigung ausreichend war.

Die EA- und MeOH-Fraktion wurden am Rotationsverdampfer eingengt, in angesäuertem Wasser aufgenommen und zur Aufreinigung mittels semipräparativer HPLC verwendet (Bedingungen siehe Kapitel 8.2, Seite 169). Da nur eine Wellenlänge zur UV-Detektion eingestellt werden konnte, wurde diese bei 340 nm durchgeführt, da hier alle relevanten Verbindungen detektiert werden konnten (Chromatogramme siehe Abbildung 36, Seite 203). Um lichtinduzierte Veränderungen zu vermeiden, wurden die Proben vor Licht geschützt. Insgesamt konnten 20 Verbindungen isoliert werden (siehe Tabelle 45, Seite 204), von denen die zwei hauptsächlich vorkommenden Anthocyane (Verbindungen **P4** und **P5**) und zwei weitere Verbindungen (Verbindungen **P9** und **P18**) die in großen Mengen vorhanden waren, mittels NMR-Spektroskopie und LC-MS-Analyse charakterisiert wurden. Dazu wurden ¹H-NMR-Spektren aufgenommen und H,H-COSY-, HSQC- und HMBC-Experimente

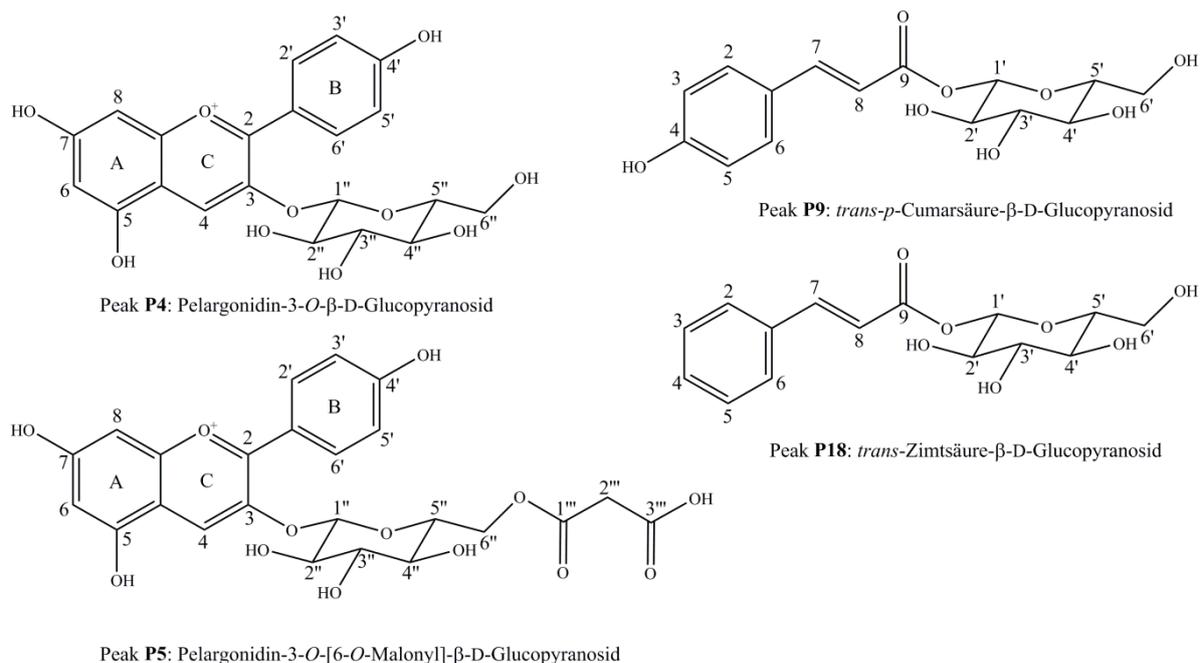


Abbildung 17: Strukturen der isolierten Verbindungen aus Erdbeeren

durchgeführt. Die beiden Anthocyane (Verbindungen **P4** und **P5**) wurden dazu in CD₃OD, dem 0,1 % DCI zugegeben wurde, gelöst, um eine gute Aufspaltung der Signale des Aglycons und der Kohlenhydratkomponente zu erreichen (PEDERSEN et al. 1993). Die Spektren wurden auf das Restsignal von Methanol kalibriert (δ 1H: 3,34 ppm, δ 13C: 49,86 ppm) (GOTTLIEB et al. 1997). Die Verbindungen **P9** und **P18** wurden in Na-Phosphatpuffer (pH 2) gelöst, da sie hier eine bessere Löslichkeit im Vergleich zu CD₃OD aufweisen. Zur Kalibrierung der Spektren wurden vor der Messung 10 μ l Aceton zugegeben und dessen Signale auf eine ¹H- bzw. ¹³C-chemische Verschiebung von 2,22 bzw. 30,89 ppm gesetzt.

4.1.3.3.1 Verbindung P4

Für Verbindung **P4** wurde im Rahmen der massenspektrometrischen Untersuchung im ESI-Positiv-Modus ein Quasimolekülion [M+H]⁺ mit dem *m/z*-Verhältnis von 433 festgestellt, was auf ein Molekulargewicht (MW) von 432 g/mol schließen lässt. In Verbindung mit dem UV-Maximum bei einer Wellenlänge von 501 nm ist dies ein Hinweis auf das Vorliegen eines Pelargonidin-Hexosids. Fünf Signale im Tieffeld des ¹H-NMR-Spektrums, bei chemischen Verschiebungen zwischen 9,1 und 6,0 ppm, konnten durch Vergleich mit Literaturdaten den aromatischen Protonen von Pelargonidin zugeordnet werden (NMR-Daten siehe Tabelle 46, Seite 205). Das Singulett im Tieffeld bei einer chemischen Verschiebung von 9,11 ppm kann dem Atom H4 am C-Ring zugeordnet werden. Die Dubletts bei 8,63 und 7,08 ppm weisen die gleiche Kopplungskonstante von 9,1 Hz auf und können bei Vorliegen von Pelargonidin den Protonen H2' und H6' bzw. H3' und H5' des B-Rings zugeordnet werden. Im HH-COSY-Spektrum waren zudem Korrelationssignale zwischen H2' und H6' bzw. H3' und H5' zu sehen, die anzeigen, dass diese Protonen an benachbarten C-Atomen gebunden sind. Das Dublett-Paar bei chemischen Verschiebungen von 6,69 und 6,96 ppm kann den Protonen H6 und H8 am A-Ring zugeordnet werden. Neben den genannten Signalen waren weitere Signale in größerer Intensität zu sehen, deren Identität nicht geklärt werden konnte. Diese stammen möglicherweise von Verbindungen, die aufgrund der großen Peakbreite von PG (etwa 3 Minuten) während der semipräparativen HPLC zusammen mit PG isoliert wurden. Die ¹³C-chemischen Verschiebungen wurden mithilfe der HSQC und HMBC-Experimente bestimmt. Mithilfe des HSQC-Experiments können die chemischen Verschiebungen derjenigen ¹³C-Atome bestimmt werden, die direkt an die entsprechenden H-Atome gebunden sind. Die chemischen Verschiebungen quartärer C-Atome werden mithilfe des HMBC-Experiments erhalten, da hierbei Kopplungen zwischen H- und C-Atomen über bis zu vier Bindungen sichtbar werden. Die somit erhaltenen ¹³C-chemischen Verschiebungen waren in guter Übereinstimmung mit Literaturdaten von PG (PEDERSEN et al. 1993), weshalb das Aglycon als Pelargonidin bestimmt wurde. Das Signal des anomeren Protons der Kohlenhydrateinheit ist im ¹H-NMR-Spektrum bei einer chemischen Verschiebung von 5,32 ppm zu sehen. Die weiteren Signale der Kohlenhydrateinheit liegen im ¹H-NMR-Spektrum im Bereich zwischen 3,3 und 4,0 ppm. Vom Signal des anomeren Protons ausgehend war es mithilfe des HH-COSY-Spektrums möglich, die weiteren Signale der Kohlenhydrateinheit den jeweiligen Atomen zuzuordnen. Die ¹³C-chemischen Verschiebungen der Kohlenhydrateinheit wurden mithilfe des HSQC-Spektrums bestimmt. Die sehr

4.1 Methodenetablierung und –validierung

gute Übereinstimmung der ^1H - und ^{13}C -chemischen Verschiebungen mit Literaturdaten von PG, legt den Schluss nahe, dass es sich bei der Kohlenhydrateinheit um Glucose handelt. Weiter abgesichert werden könnte die Bestimmung der Kohlenhydrateinheit mittels HPAEC nach vorheriger enzymatischer oder säurekatalysierter Freisetzung der Kohlenhydrateinheit. Aufgrund der sehr guten Übereinstimmung der NMR-Daten mit den Literaturdaten von PG kann mit ausreichender Sicherheit davon ausgegangen werden, dass es sich bei der Kohlenhydrateinheit der Verbindung **P4** um Glucose handelt. Die Ringform von Glucose wurde aufgrund der Korrelationssignale im HMBC-Spektrum, welche die Kopplung zwischen H1'' und C5'' und H5'' und C1'' von Glucose anzeigen, als Pyranose bestimmt. Die anomere Konfiguration von Glucose kann mithilfe der Karplus-Beziehung bestimmt werden. Diese besagt, dass bei α -Konfiguration aufgrund des Interplanarwinkels zwischen H1 (equatorial) und H2 (axial) von etwa 60° die Kopplungskonstanten zwischen 2 und 4 Hz liegen. Bei β -Konfiguration mit einem Interplanarwinkel von 180° zwischen H1 und H2 (beide axial) liegen diese zwischen 7 und 9 Hz (AGRAWAL 1992). Da die Kopplungskonstante des Signals von H1'' 7,6 Hz beträgt, liegt Glucose in β -Konfiguration vor. Die Bindung von Glucose an Position 3 des Pelargonidins konnte durch ein Korrelationssignal im HMBC-Spektrum, welches die Kopplung zwischen H1'' der Glucoseeinheit und C3 von Pelargonidin anzeigt, eindeutig bestätigt werden. Die Verbindung **P4** konnte somit als PG identifiziert werden (Struktur siehe Abbildung 17).

4.1.3.3.2 Verbindung P5

Für Verbindung **P5** wurde anhand der massenspektrometrischen Untersuchung im ESI-Positiv-Modus ein Quasimolekülion $[\text{M}+\text{H}]^+$ mit dem m/z -Verhältnis von 519 festgestellt, was auf ein MW von 518 g/mol schließen lässt. In Verbindung mit dem UV-Maximum bei 502 nm deutet dies auf das Vorliegen eines Pelargonidin-Malonyl-Hexosids hin. Die Zuordnung der Signale des Aglycons und der Kohlenhydrateinheit wurde wie zuvor bei PG gezeigt vorgenommen. Die ^1H - und ^{13}C -chemischen Verschiebungen von Pelargonidin und der Kohlenhydrateinheit von **P5** waren nahezu identisch zu denen von PG (NMR-Daten siehe Tabelle 47, Seite 206) und in sehr guter Übereinstimmung mit Literaturdaten von PMG (TAMURA et al. 1995). Daher wurde das Aglycon als Pelargonidin und die Kohlenhydratkomponente als Glucose identifiziert. Die anomere Konfiguration und die Ringform von Glucose sowie die Position der Bindung an Pelargonidin wurden wie bei Verbindung **P4** beschrieben bestimmt. Es handelte sich dabei um β -D-Glucopyranose die an Position 3 von Pelargonidin gebunden ist. Die Tieffeldverschiebung der Signale der H-Atome 6A'' und 6B'' im ^1H -NMR-Spektrum um etwa 0,5 ppm im Vergleich zu PG deuten darauf hin, dass Malonsäure an Position 6 der Glucoseeinheit gebunden ist. Das Singulett bei einer ^1H - bzw. ^{13}C -chemischen Verschiebung von 3,43 bzw. 42,18 ppm konnte durch Vergleich mit Literaturdaten von PMG den beiden Protonen H2'' der Malonsäure zugeordnet werden (TAMURA et al. 1995). Das Auftreten von Korrelationssignalen im HMBC-Spektrum, welche die Kopplung zwischen H6A'' bzw. H6B'' der Glucoseeinheit und einem C-Atom mit einer ^{13}C -chemischen Verschiebung von 168,75 ppm anzeigen, bestätigen die Vermutung, dass Malonsäure vorliegt, da hohe ^{13}C -chemische Verschiebungen zwischen 155 und 175 ppm typisch für Carboxylgruppen sind. Im HMBC-Spektrum war ein Korrelationssignal zu sehen, welches die Kopplung zwischen H2'' der Malonsäure und C6'' der Glucoseeinheit anzeigt. Somit konnte

Verbindung **P5** mit ausreichender Sicherheit als PMG identifiziert werden (Struktur siehe Abbildung 17).

4.1.3.3 Verbindung P9

Für Verbindung **P9** wurde anhand der massenspektrometrischen Untersuchung ein Quasimolekülion $[M+Na]^+$ mit dem m/z -Verhältnis von 349 festgestellt, was einem MW von 326 g/mol entspricht. In Verbindung mit dem UV-Maximum von 316 nm wurde ein *p*-Cumarsäure-Hexosid vermutet. Im Tieffeld des 1H -NMR-Spektrums waren vier Signale zwischen 7,9 und 6,4 ppm zu sehen (NMR-Daten siehe Tabelle 48, Seite 207). Die zwei Dubletts bei chemischen Verschiebungen von 7,61 und 6,95 ppm entsprechen den aromatischen Protonen H2 und H6 bzw. H3 und H5. Die beiden Dubletts bei chemischen Verschiebungen von 7,84 und 6,47 ppm wiesen die gleiche Kopplungskonstante auf und konnten den Protonen H7 und H8 der Propenylseitenkette zugeordnet werden (Struktur siehe Abbildung 17). Die Kopplungskonstante von H7 und H8 von 16,1 Hz ist typisch für eine *trans*-Konfiguration der Doppelbindung. Da die ^{13}C -chemischen Verschiebungen, die mithilfe der HSQC- und HMBC-Spektren ermittelt wurden, sehr gute Übereinstimmung mit Literaturdaten zeigten (MIZUNO et al. 1989), wurde die phenolische Komponente als *trans-p*-Cumarsäure identifiziert. Das Signal bei einer chemischen Verschiebung von 5,67 ppm entspricht dem anomeren Proton der Kohlenhydrateinheit. Die weiteren Signale im 1H -NMR-Spektrum im Bereich zwischen 4,0 und 3,4 ppm konnten durch Vergleich mit Literaturdaten für die erwartete Verbindung 1-*O-trans-p*-Cumarsäure- β -D-Glucopyranosid (PCG) zugeordnet werden (MIZUNO et al. 1989). Daher ist es sehr wahrscheinlich, dass es sich bei der Kohlenhydrateinheit um Glucose handelt. Zur weiteren Absicherung wäre die Bestimmung mittels HPAEC nach Freisetzung der Kohlenhydrateinheit aus der Verbindung notwendig. Unter der Annahme, dass Glucose vorliegt, wurde die Kohlenhydrateinheit als β -D-Glucopyranosid bestimmt. Die Bindung der Kohlenhydratkomponente an die Säuregruppe konnte durch das Auftreten des entsprechenden Korrelationssignals im HMBC-Spektrum nachgewiesen werden. Somit wurde Verbindung **P9** mit ausreichender Sicherheit als PCG identifiziert.

4.1.3.3.4 Verbindung P18

Für Verbindung **P18** wurde anhand der massenspektrometrischen Analyse im ESI-Positiv-Modus ein Quasimolekülion $[M+Na]^+$ mit dem m/z -Verhältnis von 323 bestimmt, was einem MW von 310 g/mol entspricht. In Verbindung mit dem UV-Maximum von 282 nm wurde ein Zimtsäure-Hexosid vermutet. Im 1H -NMR-Spektrum waren neben den Signalen der identifizierten Verbindung weitere Signale mit etwa 30 % der Intensität der Hauptkomponente zu sehen, die auf die Anwesenheit einer weiteren Verbindung schließen lassen. Die vier Signale im Tieffeld des 1H -NMR-Spektrums zwischen 7,9 und 6,6 ppm wurden den Protonen von Zimtsäure zugeordnet und waren in sehr guter Übereinstimmung mit Literaturdaten von 1-*O-trans*-Zimtsäure- β -D-Glucopyranosid (ZG) (LATZA et al. 1996, MIZUNO et al. 1989). Die zwei Multipletts bei 7,69 und 7,49 ppm, deren Integrale zwei und drei Protonen entsprechen, wurden den aromatischen Protonen H2 und H6 und H3, H4 und H5

4.1 Methodenetablierung und –validierung

zugeordnet. Die zwei weiteren Signale bei 7,90 und 6,61 ppm, deren Integrale jeweils einem Proton entsprechen, wurden H7 bzw. H8 zugeordnet. Die Kopplungskonstante von 16,1 Hz zeigt an, dass die Doppelbindung in *trans*-Konfiguration vorliegt. Die ¹³C-chemischen Verschiebungen, die mittels HSQC- und HMBC-Experiment bestimmt wurden, waren in sehr guter Übereinstimmung mit Literaturdaten für ZG (LATZA et al. 1996, MIZUNO et al. 1989). Die Signale der Kohlenhydrateinheit wiesen ¹H- und ¹³C-chemische Verschiebungen auf, die nahezu identisch zu denen von Glucose aus PCG waren, weshalb davon ausgegangen werden kann, dass Glucose in Verbindung **P18** vorliegt. Die anomere Konfiguration und die Ringform von Glucose wurden wie oben beschrieben bestimmt und die Verbindung **P18** somit mit ausreichender Sicherheit als ZG identifiziert.

4.1.3.4 Bestimmung der Konzentration der isolierten Verbindungen

Die Konzentration der Stammlösungen, die aus den isolierten Verbindungen hergestellt wurden, wurde mittels ¹H-NMR-Spektroskopie bestimmt, da nicht ausgeschlossen werden kann, dass weitere Begleitstoffe enthalten sind, die zu einer zu geringeren Einwaage führen würden (Ergebnisse siehe Tabelle 49, Seite 208). Zur Bestimmung der Konzentration wurde ein aliquoter Teil der Stammlösung entnommen und nach Entfernen des Lösungsmittels der Rückstand in CD₃OD gelöst. Die D₁-Zeit wurde auf 10 s gesetzt, um eine vollständige Relaxation der Moleküle zu gewährleisten. Zur Quantifizierung wurde ein interner Standard zugegeben und Signale im ¹H-NMR-Spektrum verwendet, die gut von anderen Signalen abgetrennt waren (Durchführung siehe Kapitel 8.3, Seite 171). Im Fall von PG und PMG waren dies die Signale von H4 bei 9,11 und 9,03 ppm. Für PCG und ZG wurden die Signale von H8 bei 6,40 bzw. 6,61 ppm verwendet.

4.1.3.5 Chromatographische Trennung der polyphenolischen Verbindungen aus rotfleischigen Äpfeln

Die Entwicklung des Elutionsgradienten zur chromatographischen Trennung aller untersuchten Verbindungen in rotfleischigen Äpfeln wurde im Rahmen einer Masterarbeit in Zusammenarbeit mit Kevin Schu durchgeführt. Die Trennung wurde auf einer RP-C18-Phase durchgeführt (Kinetex C18, 150x4,6 mm, 2,6 µm, 100 Å). Durch die Partikelgröße von 2,6 µm wird die Trennleistung, im Vergleich zu Säulen mit 5 µm-Partikeln, verbessert. Als Eluenten wurden Wasser und ACN gewählt, denen jeweils 2 % Ameisensäure zugesetzt wurden. Dadurch lag der pH-Wert im Eluenten bei etwa 2,0, weshalb die Anthocyane vollständig protoniert vorliegen (pK_s-Wert von CG 2,98) und als schmalere Peaks eluieren (PYYSALO and MAKITIE 1973). Durch die schmalen Peaks wiederum konnte die Auflösung der Trennung der Anthocyane deutlich verbessert werden. Zur Entwicklung der chromatographischen Trennung wurde zunächst der von Malec et al. (2014) beschriebene Gradient verwendet (Anfangsbedingungen 97 % Wasser, Flussrate 1 ml/min, Säulentemperatur 30 °C, Erhöhung des Anteils an ACN um 1 Vol%/min für 40 Minuten). Mit diesem Gradienten war eine vollständige Trennung eines Gemisches der untersuchten Standardsubstanzen möglich. Bei der Untersuchung eines Extraktes aus rotfleischigen Äpfeln waren jedoch viele zusätzliche Peaks zu

sehen, die von den zu analysierenden Verbindungen nicht abgetrennt waren. Daher wurde das Gradientenprogramm weiter angepasst. Zu Beginn wurde die Lösungsmittelzusammensetzung für 5 Minuten bei 3 % ACN konstant gehalten, wodurch eine bessere Auflösung im vorderen Bereich des Chromatogramms erreicht wurde. In Verbindung mit einem flacheren Gradienten (Erhöhung des Anteils an ACN um 0,25 Vol%/min) konnte die vollständige chromatographische Trennung der untersuchten Verbindungen aus einem Extrakt von rotfleischigen Äpfeln erreicht werden (Chromatogramm siehe Abbildung 18, Gradient siehe Tabelle 35, Seite 182). Durch Variation der Flussrate des Lösungsmittels konnte die Trennung nicht verbessert werden, weshalb die Flussrate bei 1 ml/min belassen wurde. Zusätzlich wurde die Temperatur auf 40 °C erhöht, was bei den Anthocyanen zu einer Verringerung der Peakbreite führte. Dadurch wurde eine Auftrennung der Cyanidin-Pentoside bei einer Retentionszeit von etwa 33 min erreicht. Diese waren bei niedrigeren Temperaturen nicht getrennt und eluierten als ein Peak. Um eine möglichst selektive und empfindliche Detektion zu erreichen, wurde diese bei den jeweiligen Absorptionsmaxima der verschiedenen Substanz bzw. Substanzklassen durchgeführt (siehe Tabelle 50, Seite 211).

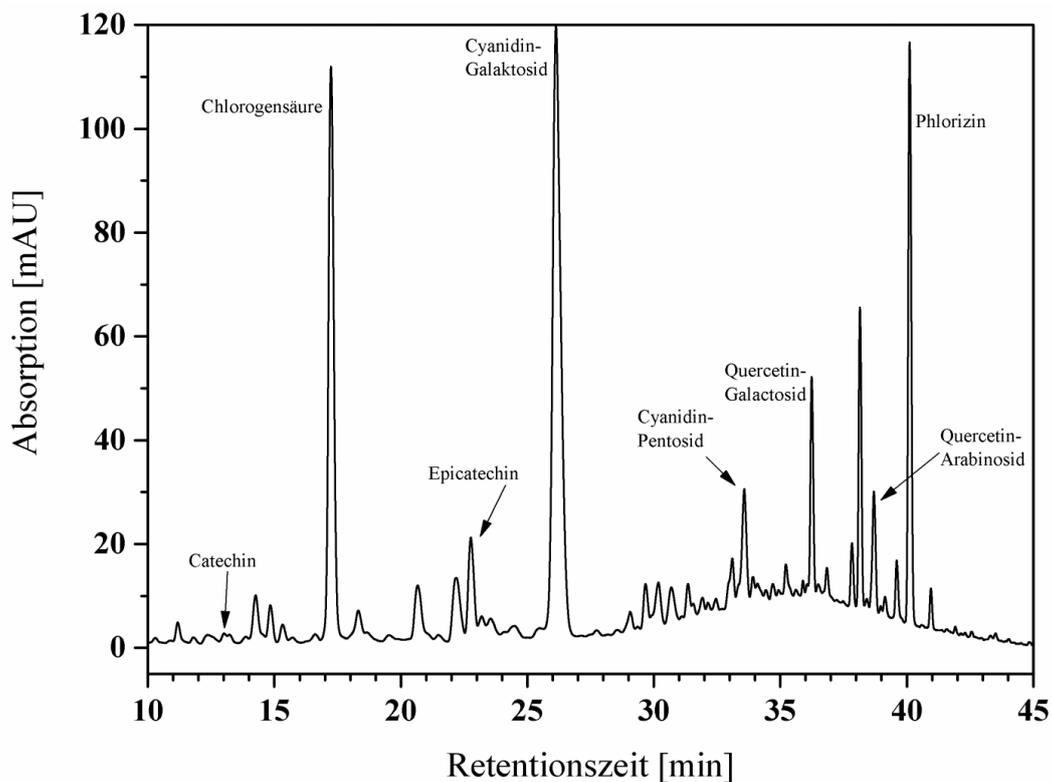


Abbildung 18: Chromatogramm der Trennung der polyphenolischen Verbindungen in rotfleischigen Äpfeln. UV-Detektion bei 280 nm. Chromatographische Bedingungen siehe Tabelle 35, Seite 182

Beim Eindampfen und Wiederaufnehmen der Extrakte zur Erhöhung der Konzentration (siehe Kapitel 4.1.3.1) wurde festgestellt, dass schon geringe Anteile (20 %) an ACN im Lösungsmittel, das zur Injektion in der HPLC verwendet wurde, zu einer Verschlechterung der Peaksymmetrie im vorderen Bereich des Chromatogramms führen. Durch unvollständige Durchmischung des Eluenten mit der injizierten Lösung bilden sich Zonen mit hohem Lösungsmittelanteil, weshalb ein Teil der Verbindung schneller von der Säule eluiert und zum sogenannten „Fronting“ der Peaks führt. Die hier

4.1 Methodenetablierung und -validierung

verwendete Säule enthält Core-Shell-Partikel, die aus einem festen Kern bestehen, auf den eine poröse Hülle mit dem Säulenmaterial aufgebracht wird. Diese Partikel sind für diese Prozesse besonders anfällig, da im Vergleich zu vollporösen Partikeln keine Diffusion des Eluenten in den Kern stattfinden kann.

4.1.3.6 Chromatographische Trennung der polyphenolischen Verbindungen aus Erdbeeren

Zur Trennung der polyphenolischen Verbindungen aus Erdbeeren wurde der bestehende Gradient zur Trennung der polyphenolischen Verbindungen aus rotfleischigen Äpfeln angepasst (Chromatogramm siehe Abbildung 19). Der Anteil des organische Lösungsmittels wurde langsamer erhöht. Zudem wurde nach 35 Minuten wurde die Lösungsmittelzusammensetzung für 20 Minuten konstant gehalten, um die Quercetin- und Kämpferol-Glucoside bzw. Glucuronide zu trennen (Chromatographische Bedingungen siehe Tabelle 36, Seite 183). Die Säulentemperatur hatte einen großen Einfluss auf die Trennung der Quercetin- und Kämpferolverbindungen. Bei Verwendung des gleichen Gradienten waren bei 35 °C oder höheren Temperaturen QG und QGluA basisliniengetrent, KG und KGluA hingegen eluierten zeitgleich als ein Peak. Bei 25 °C hingegen waren KG und KGluA basisliniengetrent und QG und QGluA eluierten zeitgleich. Als Kompromiss wurde deshalb eine Temperatur von 30 °C gewählt, da hier die Trennung bei den Quercetin- und Kämpferolverbindungen akzeptabel war (Chromatogramme siehe Abbildung 42, Seite 212).

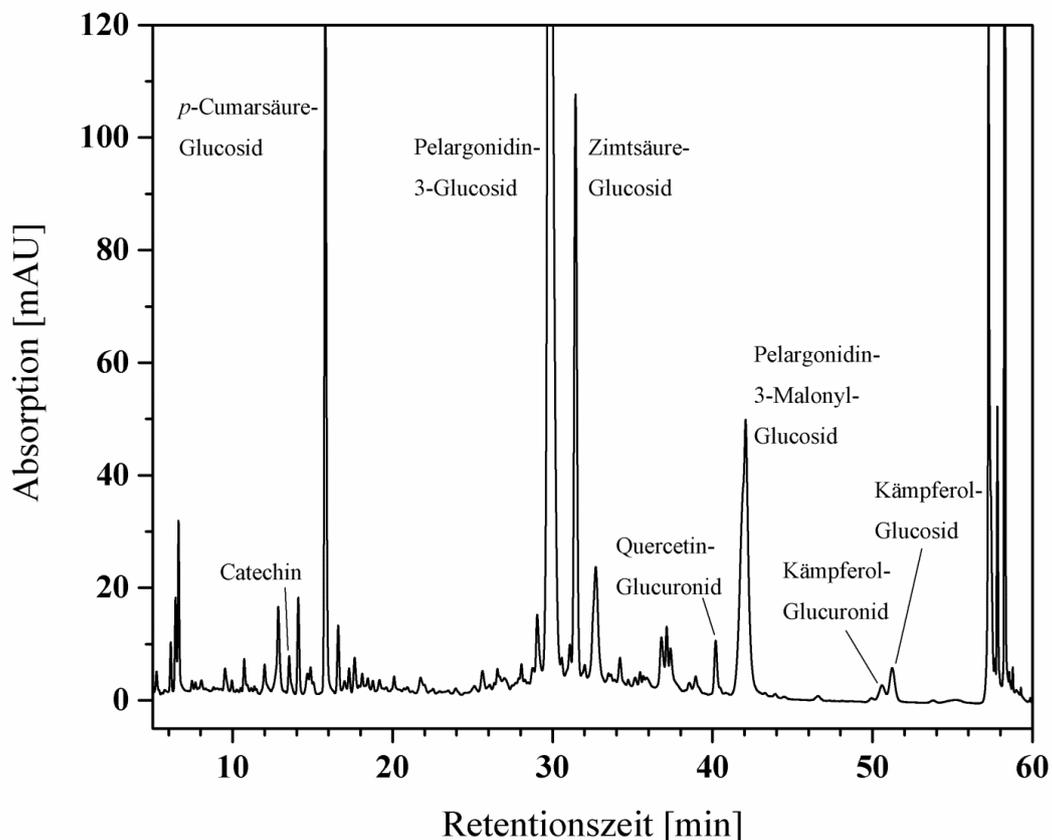


Abbildung 19: Chromatogramm der Trennung der phenolischen Verbindungen in Erdbeeren. UV-Detektion bei 280 nm. Chromatographische Bedingungen siehe Tabelle 36, Seite 183

4.1.3.7 Quantifizierung und Validierungsparameter

Zur Quantifizierung der ausgewählten Verbindungen wurde eine Kalibrierung in Leermatrix durchgeführt. Dazu wurde gefriergetrocknetes Erdbeerpulver so lange mit Methanol extrahiert bis keine der zu analysierenden Verbindungen mehr aus dem Rückstand extrahiert werden konnte. Dieses Material wurde vermahlen und mit Zuckern und organischen Säuren versetzt, um die realen Proben zu simulieren (siehe Kapitel 8.5.4.3, Seite 182). Im Fall des Apfels wurden die entsprechenden

Tabelle 9: Validierungsparameter für die Analyse der polyphenolischen Verbindungen aus rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren. Die Reproduzierbarkeit wurde durch fünffache Messung einer Probe an einem Tag (Intraday $n=5$) und dreifache Messung an drei unterschiedlichen Tagen (Interday $3 \times n=3$) bestimmt und ist als relative Standardabweichung angegeben. Die Gesamt-Wiederfindung wurde durch Standardaddition bestimmt (Apfel: $3 \times n=3$, Erdbeere $2 \times n=2$). Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen wurden mithilfe einer Kalibrierung in Leermatrix über ein Signal/Rausch-Verhältnis von 3 bzw. 10 abgeschätzt.

Rotfleischiger Apfel								
Verbindung	Frisch			Trocken			NG	BG
	Intraday $n=5$	Interday $3 \times n=3$	Gesamt-WF	Intraday $n=5$	Interday $3 \times n=3$	Gesamt-WF		
CA	n.b.	n.b.	93,6%	n.b.	n.b.	92,1%		>300
CS	1,6 %	4,9 %	101,4%	2,1 %	1,5 %	100,4%	23	77
EC	6,7 %	6,0 %	97,9%	14,6%	12,4%	97,5%		>300
CGal	9,3 %	3,1 %	103,5%	4,8 %	1,7 %	111,6%	88	293
QGal	8,9 %	5,3 %	100,9%	14,6 %	5,4 %	101,9%	15	52
QA	7,7 %	4,0 %	101,7%	11,3 %	5,8 %	102,2%	18	61
PZ	3,1 %	5,2 %	104,2%	5,5 %	4,6 %	103,5%	15	51
Erdbeere								
Verbindung	Frisch			Trocken			NG	BG
	Intraday $n=5$	Interday $3 \times n=3$	Gesamt-WF	Intraday $n=5$	Interday $3 \times n=3$	Gesamt-WF		
CA	2,5 %	3,8 %	98,1%	8,1 %	7,7 %	89,0%	10	32
PCG	7,3 %	8,7 %	93,2%	5,0 %	2,8 %	101,2%	4	15
ZG	1,3 %	5,7 %	100,7%	5,7 %	3,5 %	103,9%	10	34
PG	4,5 %	5,3 %	99,1%	4,8 %	2,7 %	91,3%	10	35
PMG	4,6 %	5,3 %	91,7%	5,2 %	2,5 %	91,3%	29	97
QGluA	3,7 %	14,4 %	93,5%	9,9 %	4,6 %	91,8%	9	29
QG	n.b.	n.b.	86,7%	n.b.	n.b.	89,1%	9	31
KGluA	3,0 %	10,2 %	81,9%	18,8 %	8,6 %	88,6%	14	46
KG	2,8 %	9,5 %	81,3%	7,6 %	3,7 %	90,8%	20	66

NG: Nachweisgrenze. BG: Bestimmungsgrenze. WF: Wiederfindung. CA: (+)-Catechin. CS: Chlorogensäure. EC: (-)-Epicatechin. CGal: Cyanidin-3-*O*-Galactosid. QGal: Quercetin-3-*O*-Galactosid. QA: Quercetin-3-*O*-Arabinosid. PZ: Phlorizin. PCG: *trans-p*-Cumarsäure-Glucosid. ZG: *trans*-Zimtsäure-Glucosid. PG: Pelargonidin-3-*O*-Glucosid. PMG: Pelargonidin-3-*O*-[6-*O*-Malonyl]-Glucopyranosid. QGluA: Quercetin-3-*O*-Glucuronid. QG: Quercetin-3-*O*-Glucosid. KGluA: Kämpferol-3-*O*-Glucuronid. KG: Kämpferol-3-*O*-Glucosid.

4.1 Methodenetablierung und –validierung

Mengen der einzelnen PS mit Zuckern und organischen Säuren gemischt (siehe Kapitel 8.5.4.2, Seite 181). Zur Erstellung der Kalibrierung wurde die entsprechende Menge der Standardlösungen in das Extraktionsröhrchen gegeben, das Lösungsmittel unter N₂ eingedampft und nach Zusatz der Leermatrix die Extraktion durchgeführt. Die Anpassungen der Matrixkalibrierungen sind im Anhang (Tabelle 50, Seite 211) dargestellt, wobei aufgrund von Varianzeninhomogenität für alle Verbindungen eine gewichtete Anpassung durchgeführt wurde. Die WF wurde in frischen und getrockneten Äpfeln und Erdbeeren durch Standardaddition bestimmt (siehe Tabelle 9). In frischen und getrockneten Äpfeln lagen die ermittelten WF aller untersuchten Verbindungen zwischen 92,1 und 111,6 %, was die sehr gute Richtigkeit der Methode belegt. In frischen und getrockneten Erdbeeren lagen die meisten WF zwischen 86,7 und 103,9 %. Lediglich in frischen Erdbeeren deuten die WF von KGluA und KG mit 81,9 bzw. 81,3 % auf Verluste während der Aufarbeitung hin. Die Bestimmung aller Verbindungen (CA konnte nicht nachgewiesen werden) in frischen rotfleischigen Äpfeln konnte für den Zweck ausreichend präzise durchgeführt werden, da die relativen Standardabweichungen unter 10 % lagen. In getrockneten Äpfeln lag die relative Standardabweichung der Bestimmung von EC, QGal und QA zwischen 10 und 15 %. Da diese Verbindungen nur in geringen Konzentrationen bestimmt wurden, ist die Reproduzierbarkeit akzeptabel. In frischen und getrockneten Erdbeeren war die Bestimmung aller Verbindungen, mit Ausnahme von QGluA an mehreren Tagen und KGluA an einem Tag, für den Zweck ausreichend präzise (relative Standardabweichung < 10 %). In Erdbeeren und rotfleischigen Äpfeln sollten alle Verbindungen für den Zweck ausreichend empfindlich detektiert werden können, da die BG für die meisten Analyten unterhalb 100 µg/100 g lagen. Lediglich in rotfleischigen Äpfeln lagen die BG für CGal sowie CA und EC höher. Im Fall von CA wurden zwischen der Bestimmung in Erdbeeren und rotfleischigen Äpfeln große Unterschiede in den BG festgestellt. Diese sind vermutlich auf unterschiedlich starke Wechselwirkungen von CA mit der Leermatrix zurückzuführen.

4.1.4 3-Desoxyglucoson

4.1.4.1 Synthese von 3-Desoxyglucoson

Für die Analyse von 3-DG mittels HPLC-DAD, wie sie in Degen et al. (2012) für feste Lebensmittel beschrieben ist, wurde zu Beginn die Standardverbindung 3-DGQ synthetisiert. Dafür wurde der Syntheseweg nach Madson & Feather (1981) verwendet, der in einer späteren Veröffentlichung beschrieben ist (EL KHADEM et al. 1971, HENLE and BACHMANN 1996, MADSON and FEATHER 1981). Die genaue Durchführung der einzelnen Schritte befindet sich in Kapitel 8.1, Seite 167. Die Synthese wurde ausgehend von D-Glucose begonnen, die säurekatalysiert in Gegenwart von *p*-Toluidin mit Benzhydrazid zum 3-Desoxyglucoson-bis(benzoylhydrazon) umgesetzt wird (Reaktionsweg siehe Abbildung 20). Nach Filtration und Waschen des ausgefallenen bis(Benzoyl-Hydrazons) wurde dieses wiederum säurekatalysiert mit Benzaldehyd umgesetzt. Bei dieser Transhydrazonierung wird 3-DG freigesetzt und es bildet sich Benzaldehyd-Benzoylhydrazon, welches ausfällt und per Filtration entfernt werden kann. 3-DG wird nach Entfernung des Lösungsmittelgemisches und verschiedenen Reinigungsschritten in roher Form erhalten. Dieses Rohmaterial wurde wiederum zur Herstellung von

3-DGQ verwendet. Hierfür wurde 3-DG mit OPDA umgesetzt und anschließend mittels semipräparativer HPLC weiter aufgereinigt. Da nach der ersten Aufreinigung noch etwa 10 % Verunreinigung im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum detektierbar waren, wurde eine zweite semipräparative Aufreinigung mit einem veränderten Gradienten durchgeführt (siehe Kapitel 8.1, Seite 167). Danach wurden 160 mg 3-DGQ mit einer Reinheit von etwa 98 % erhalten (Reinheit mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie und HPLC-DAD bei 312 nm). Die Ausbeute war im Vergleich zur Literatur sehr gering, da hier 4,2 g 3-DG bei der gleichen eingesetzten Menge an D-Glucose erhalten wurden (HENLE und BACHMANN 1996).

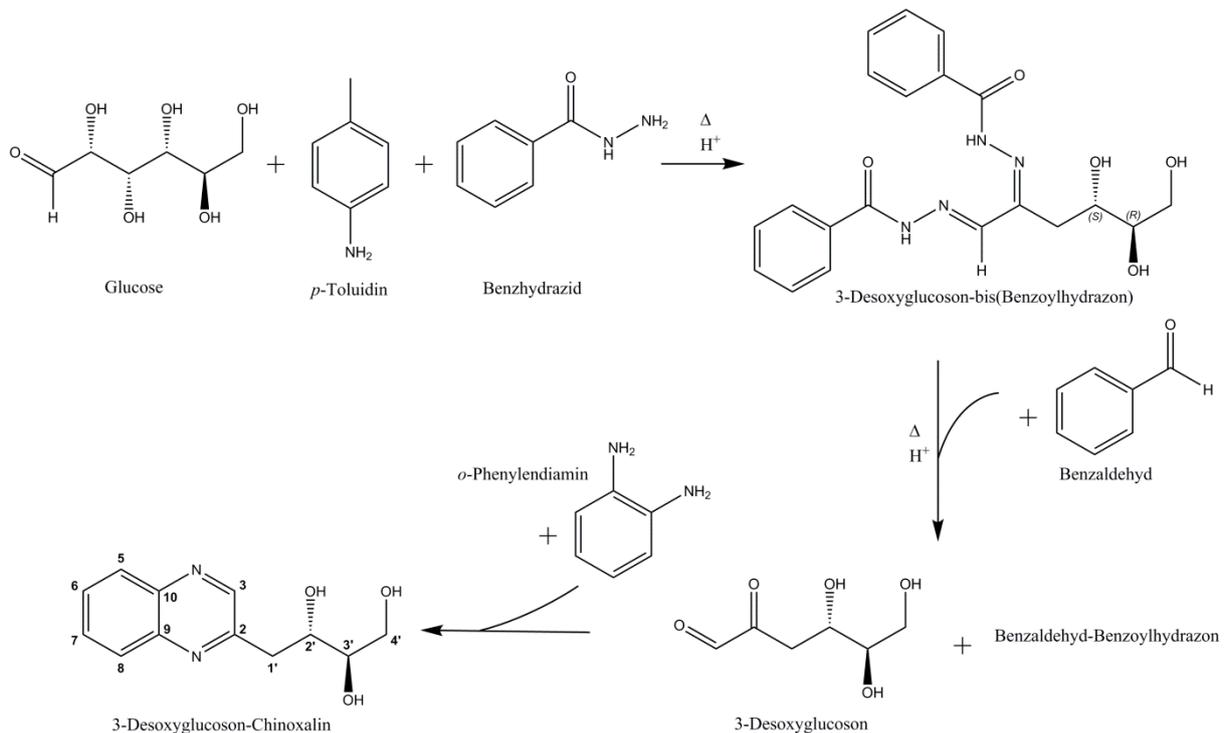


Abbildung 20: Syntheseweg von 3-Desoxyglucoson-Chinoxalin ausgehend von D-Glucose (nach EL KHADEM et al. 1971, MADSON & FEATHER 1981)

4.1.4.2 Extraktion und Chromatographische Trennung

Die Extraktion von 3-DG konnte, wie in der Literatur für feste Proben beschrieben, mit Wasser und anschließender Proteinfällung mit Methanol erreicht werden (komplette Aufarbeitung siehe Kapitel 8.5.2, Seite 176) (DEGEN et al. 2012). Um eine vollständige Extraktion zu gewährleisten, wurde der Extraktionsrückstand nach Zentrifugation ein zweites Mal mit einem Gemisch aus Wasser und Methanol (50/50, v/v) extrahiert und anschließend die vereinigten Überstände derivatisiert. Zur Derivatisierung wurde OPDA verwendet, da dies mit Dicarbonylverbindungen zu Chinoxalinen reagiert (Struktur siehe Abbildung 20). Diese Verbindungen lassen sich sehr gut auf einer Phenyl-Phase trennen, da diese eine gute Selektivität für aromatische Verbindungen besitzen. In der Studie von Hellwig et al. (2010) wurde gezeigt, dass die Trennung der beiden Epimere 3-DG und 3-Desoxygalactoson mit einer Phenyl-Hexyl-Phase möglich ist, jedoch nicht mit einer C-18-Phase. Die Eluenten und der Gradient, die von Degen et al. (2012) eingesetzt wurden, konnten ohne Veränderungen zur Trennung von 3-DG in Karotten übernommen werden (Chromatogramm siehe

4.1 Methodenetablirung und -validierung

Abbildung 21A). Lediglich die Flussrate des Eluenten musste aufgrund des zu starken Rückdrucks angepasst werden. 3-DG konnte durch Zugabe einer Standardlösung von 3-DGQ zum derivatisierten Extrakt bei einer Retentionszeit von ~24 Minuten eindeutig zugeordnet. Um falsch positive Ergebnisse zu vermeiden, wurde von allen Proben der nicht derivatisierte Extrakt analysiert. Dadurch ist es möglich coeluerende Matrixsubstanzen, die zu einer Überbestimmung führen würden, zu identifizieren. Zur Überprüfung der Peakreinheit und Identität wurde zusätzlich das Verhältnis der Flächen bei den Wellenlängen 312 und 280 nm berechnet und mit den Verhältnissen der Standardlösungen verglichen. Der Gradient für die Analyse von 3-DG in Äpfeln und Erdbeeren musste im Verlauf der Arbeiten angepasst werden, da in den nicht derivatisierten Proben eine Co-Elution von Matrixsubstanzen mit 3-DG beobachtet wurde (siehe Abbildung 21 B). Durch eine Abflachung des Gradienten und den Einbau eines Plateaus bei gleichzeitiger Erhöhung der Flussrate von 0,4 auf 0,6 ml/min konnte eine Abtrennung der Matrixkomponenten von 3-DGQ erreicht werden (siehe Abbildung 21 C+D).

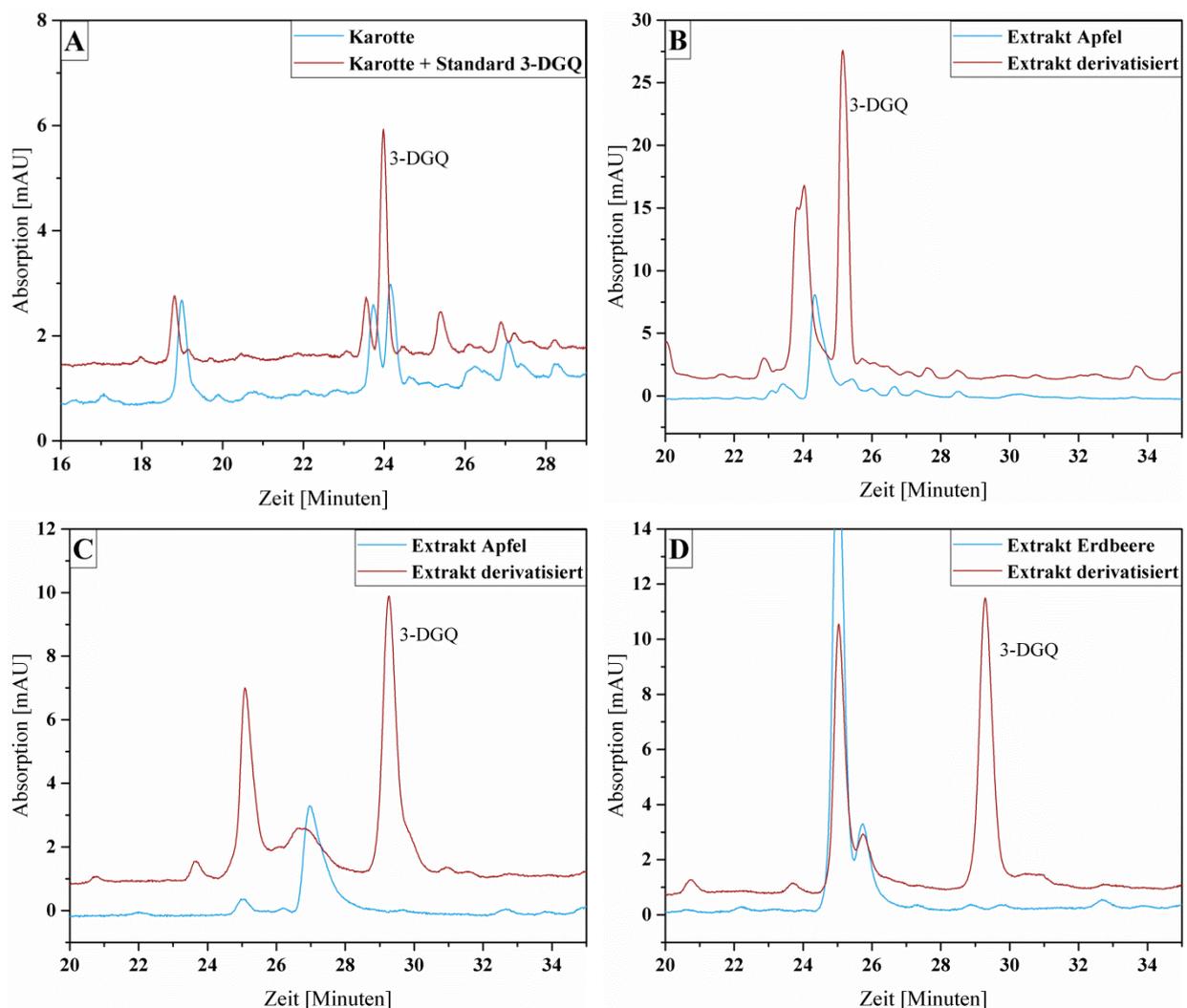


Abbildung 21: Chromatogramme der Trennung von 3-Desoxyglucoson-Chinoxalin in getrockneten Karotten (A), Äpfeln (B und C) und Erdbeeren (D). UV-Detektion bei 312 nm. Chromatographische Bedingungen für A und B siehe Tabelle 32, Seite 177, für C und D siehe Tabelle 33, Seite 178. 3-DGQ: 3-Desoxyglucoson-Chinoxalin

Zur Quantifizierung wurde eine externe Kalibrierung mit 3-DGQ in Wasser im Konzentrationsbereich zwischen 2,3 – 232 $\mu\text{mol/l}$ erstellt (Anpassung siehe Abbildung 40, Seite 210). Für Karotten konnte die Messung der wässrigen Kalibrierlösungen problemlos durchgeführt werden. Bei der Analyse der wässrigen Kalibrierlösungen mit dem angepassten Gradient für Äpfel und Erdbeeren war die Retentionszeit von 3-DGQ, im Vergleich zu den derivatisierten Extrakten (Lösungsmittel: Wasser/Methanol 70/30 v/v), jedoch geringer. Dies ist vermutlich auf die niedrigeren Anteile an organischem Lösungsmittel im Eluent zurückzuführen. Damit einhergehend war der Response von 3-DGQ, im Vergleich zur für Karotten angewendeten Methode (abweichender Gradient), deutlich niedriger. Deswegen wurde eine zweite Kalibrierung für die Analyse von 3-DG in Äpfeln und Erdbeeren erstellt (Anpassung siehe Abbildung 40, Seite 210), bei der die 3-DGQ-Standardlösungen vor der Messung mit der entsprechenden Menge an Methanol versetzt wurden, um die gleiche Lösungsmittelzusammensetzung wie im derivatisierten Extrakt zu erreichen.

4.1.4.3 Validierung

Die Methodvalidierung wurde mit getrockneten Proben von Karotten, rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren durchgeführt, da wie zu erwarten 3-DG in frischen Proben nicht nachgewiesen werden konnte. Eine ausreichend präzise Analyse von 3-DG konnte durch die niedrigen relativen Standardabweichungen zwischen 0,6 und 5,0 %, die bei Bestimmung der Reproduzierbarkeit an einem (Intraday) und mehreren Tagen (Interday) ermittelt wurden, demonstriert werden. Die Gesamt-WF wurde durch Zugabe von verschiedenen Mengen 3-DGQ zu den Proben untersucht und

Tabelle 10: Validierungsparameter der Bestimmung von 3-Desoxyglucoson in getrockneten Karotten, rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren. Die Reproduzierbarkeit wurde durch fünffache Messung einer Probe an einem Tag (Intraday $n=5$) und dreifache Messung an drei unterschiedlichen Tagen (Interday $3 \times n=3$) bestimmt und ist als relative Standardabweichung angegeben. Die Gesamt-Wiederfindung wurde durch Standardaddition mit 3-Desoxyglucoson-Chinoxalin bestimmt (3 Konzentrationen je $n=2$). Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen wurden mithilfe einer Grundkalibrierung von 3-Desoxyglucosonchinoxalin über ein Signal/Rausch-Verhältnis von 3 bzw. 10 abgeschätzt.

	Karotte	Rotfleischiger Apfel	Erdbeere
Intraday ($n=5$)	3,9 %	0,6 %	4,2 %
Interday ($3 \times n=3$)	5,0 %	2,5 %	2,8 %
Gesamt- Wiederfindung	98,8 %	91,2 %	93,2 %
Nachweisgrenze	0,06 mg/100 g	0,17 mg/100 g	
Bestimmungsgrenze	0,19 mg/100 g	0,55 mg/100 g	

4.1 Methodenetablierung und –validierung

lag für alle Produkte in einem für den Zweck akzeptablen Bereich zwischen 91,2 und 98,8 % (siehe Tabelle 10). Die Bildung von 3-DG während der Aufarbeitung in frischen Proben kann ausgeschlossen werden, da bei der Analyse der frischen Produkte kein 3-DG nachweisbar war. Die NG und BG der Analyse von 3-DG in Karotten lagen bei 0,06 bzw. 0,19 mg/100 g. Die NG und BG der Analyse von 3-DG in rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren lagen mit 0,17 bzw. 0,55 mg/100 g höher. Die Unterschiede kommen zustande, da die Kalibrierlösungen im Fall der Analyse von Äpfeln und Erdbeeren mit Methanol verdünnt werden müssen um eine stabile chromatographische Trennung zu gewährleisten. Die Empfindlichkeit dieser Methode liegt damit in einem ähnlichen Bereich wie die bei der Analyse von 3-DG in Backwaren ermittelte Empfindlichkeit (DEGEN et al. 2012). Insgesamt eignet sich die Methode, um die Gehalte an 3-DG mit ausreichender Genauigkeit und Empfindlichkeit in getrockneten Karotten, rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren zu bestimmen.

4.1.5 Methanol- und Essigsäuregehalte in Ballaststoffpräparaten

Zur Bestimmung des Veresterungsgrades von HG mit Methanol und Essigsäure wurde eine Methode zur Bestimmung des Methanol- und Essigsäuregehaltes in Ballaststoffpräparaten etabliert. Dazu wurden chromatographische und spektroskopische Ansätze verfolgt, um die Methode mit der besten Eignung zu ermitteln. Die Methodenentwicklung der HPLC-, GC- und NMR-Methoden wurde in Zusammenarbeit mit Sarah Schleicher im Rahmen einer Masterarbeit durchgeführt und wird im Folgenden dargestellt. Die Bestimmung des Galacturonsäuregehaltes wurde photometrisch mit der im Labor etablierten Methode nach Blumenkrantz & Asboe-Hansen (1973) durchgeführt.

4.1.5.1 Bestimmung von Methanol und Essigsäure mittels HPLC

Nach Verseifung freigesetztes Methanol und Essigsäure wurde mittels HPLC an einer RP C-18-Säule (Luna C-18, 250x4,6 mm, 5 µm, 100 Å) mit 4 mM H₂SO₄ als Eluent analysiert (LEVIGNE et al. 2002). Die Detektion erfolgte im Fall von Methanol unspezifisch mit einem RI-Detektor. Essigsäure wurde im UV-Bereich bei 210 nm detektiert. Für Methanol war keine vollständige chromatographische Abtrennung der früh eluierenden Matrixbestandteile möglich. Grund hierfür war, dass die zur Verseifung verwendete Natronlauge und freigesetzte Kohlenhydrate direkt nach dem Totvolumen eluierten. Da Methanol selbst von der C-18-Phase nur sehr schwach zurückgehalten wird und ebenso früh eluiert, war eine zur quantitativen Bestimmung ausreichende Trennung nicht möglich. Die Bestimmung von Essigsäure hingegen wäre möglich gewesen, da Essigsäure stärker retardiert und von Matrixkomponenten abgetrennt wird. Darüber hinaus ist die Detektion im UV-Bereich trotz Verwendung der Wellenlänge von 210 nm spezifischer im Vergleich zur Detektion von Methanol mit dem RI-Detektor.

4.1.5.2 Bestimmung von Methanol und Essigsäure mittels GC

Ein weiterer Ansatz zur Bestimmung von Methanol und Essigsäure aus Ballaststoffpräparaten basierte auf der GC. Dazu wurde eine HS-SPME-Methode eingesetzt, bei der Methanol und Essigsäure nach Verseifung verdampft, aus dem Dampfraum extrahiert und im Anschluss per GC analysiert wurden (NUNES et al. 2006, SAVARY and NUÑEZ 2003). Zur chromatographischen Trennung von Methanol und Essigsäure wurde eine Pora PLOT Q Säule (25 m, 0,32 mm, 8 µm) verwendet, die es ermöglicht polare und unpolare Verbindungen mit bis zu sieben C-Atomen hauptsächlich nach Molekülgröße zu trennen. Mit dieser Säule konnte eine gute Trennung von Methanol und Essigsäure erreicht werden. Die Methode wurde hinsichtlich Art der verwendeten SPME-Faser, Probenaufarbeitung, Extraktions- und GC-Bedingungen angepasst und optimiert. Mit den optimierten Bedingungen wurde die Anwendbarkeit der Methode zuerst auf Rüben-Pektin getestet. Die Bestimmung von Methanol und Essigsäure nach Verseifung war grundsätzlich möglich, jedoch war die Reproduzierbarkeit mit relativen Standardabweichungen von > 15 % nicht ausreichend. Da die Analyse durch die langen Extraktions- und Desorptionszeiten zudem sehr zeitaufwändig ist und jede Probe einzeln von Hand bestimmt werden musste, wurde dieser Ansatz nicht weiter verfolgt.

4.1.5.3 Bestimmung von Methanol und Essigsäure mittels ¹H-NMR-Spektroskopie

Zur Bestimmung des nach Verseifung freigesetzten Methanols und der Essigsäure wurde letztendlich eine ¹H-NMR-Methode etabliert (MÜLLER-MAATSCH et al. 2014, NEUMÜLLER et al. 2013). Dazu wurde das zu untersuchende Ballaststoffpräparat direkt in D₂O, welches die entsprechende Menge NaOH enthält, verseift. Dadurch war keine Wasserunterdrückung bei der ¹H-NMR-Messung nötig, die sich aufgrund von leichten pH-Unterschieden, die durch das Probenmaterial verursacht werden können, als störanfällig erwies. Durch Filtration der Lösung nach der Verseifung werden PS teilweise entfernt, was eine bessere Auflösung der Spektren zur Folge hat (MÜLLER-MAATSCH et al. 2014). Zur Quantifizierung wurde der interne Standard 3-(Trimethylsilyl)propion-2,2,3,3-d₄-säure (TSP) verwendet, da dieser gut wasserlöslich, chemisch stabil und nicht hygroskopisch ist. TSP wurde zudem zur Kalibrierung des Spektrums genutzt und auf eine chemische Verschiebung von 0 ppm gesetzt. Um eine gute Empfindlichkeit bei moderater Messzeit zu erreichen, wurden 32 Scans aufgenommen. Zur Aufnahme wurde das Standard-Puls Programm „zg30“ von Bruker verwendet, in dem ein 30 ° Puls angewendet wird. Die Protonen der Methylgruppen von Methanol und Essigsäure ergeben im Spektrum gut sichtbare Signale bei chemischen Verschiebungen von 3,36 bzw. 1,92 ppm (siehe Abbildung 22). Das Signal des enthaltenen Restwassers, was hauptsächlich auf die in NaOH enthaltenen Protonen und Austausch mit D₂O zurückzuführen ist, liegt bei einer chemischen Verschiebung von etwa 5,1 ppm und beeinträchtigt damit nicht die Integration der Signale der Protonen von Methanol und Essigsäure. Im Fall des Signals der Protonen von Methanol sind weitere Signale mit geringer Intensität überlagert, die wahrscheinlich auf die Anwesenheit von Kohlenhydratverbindungen zurückzuführen sind.

4.1 Methodenetablierung und –validierung

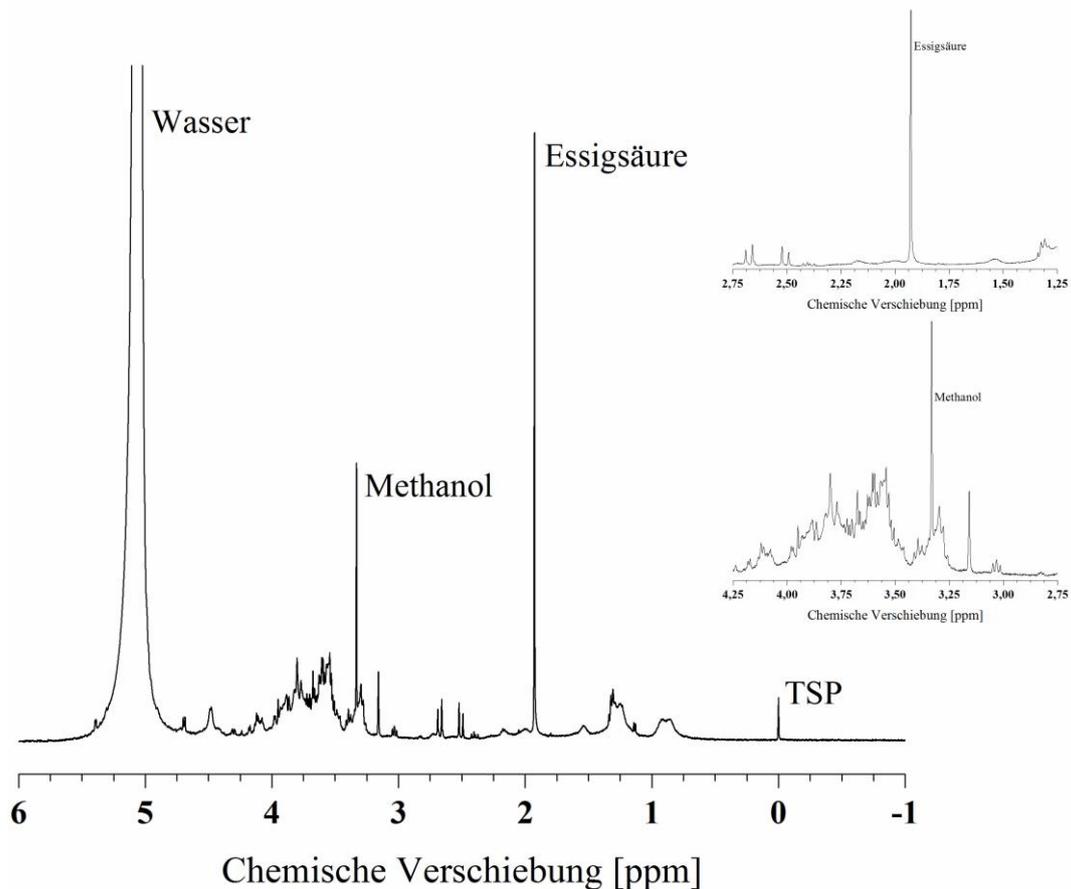


Abbildung 22: ¹H-NMR-Spektrum der Bestimmung von Methanol und Essigsäure in mit 2 M NaOH verseiften unlöslichen Ballaststoffen aus Erdbeeren. Zur Kalibrierung des Spektrums wurde TSP verwendet (0,00 ppm). Bedingungen für die Messung siehe Kapitel 8.6.6.3, Seite 194

Für die quantitative Messung mittels NMR muss auf eine vollständige Relaxation des Spinsystems vor der nächsten Anregung geachtet werden. Die Zeitspanne, bis das System wieder vollständig relaxiert ist, ist unter anderem abhängig vom Pulswinkel und der longitudinalen Relaxationszeit (T_1 -Zeit). Nach einem 90° Puls wird bis zur vollständigen Relaxation in der Regel eine Zeit von $5 \cdot T_1$ festgelegt, die Anwendung eines 30° Anregungspulses verringert entsprechend den Relaxationsdelay. Bei Nichteinhaltung kann es andererseits durch Sättigung der Zeeman-Niveaus zu abnehmenden Signalintensitäten und damit falschen Ergebnissen kommen. Die Bestimmung der T_1 -Zeit wurde mit dem sog. Inversion Recovery Experiment (t1ir Bruker-Standard Pulssequenz) durchgeführt (siehe Kapitel 8.6.6.2, Seite 194). Dieses besteht aus einem 180° Puls mit dem die Magnetisierung von der z-Richtung in die $-z$ -Richtung ausgelenkt wird. Nach einer bestimmten Wartezeit, in der das Spinsystem zu relaxieren beginnt, wird durch einen 90° Puls die wiederhergestellte Magnetisierung der z-Richtung gemessen. Durch Verlängerung der Wartezeit wird der Zeitpunkt bestimmt, an dem die maximale Magnetisierung in z-Richtung erreicht ist und als T_1 -Zeit festgelegt. Für Methanol und Essigsäure wurden mit diesem Experiment T_1 -Zeiten von 4,3 bzw. 6,1 Sekunden ermittelt, weshalb der Relaxationsdelay (D_1 -Zeit) auf 35 s festgelegt wurde.

Die Freisetzung von Methanol und Essigsäure aus den Ballaststoffpräparaten mittels alkalischer Hydrolyse, wurde an LBS von Erdbeeren untersucht. Die Freisetzung wurde hinsichtlich der

Parameter NaOH-Konzentration, Temperatur und Dauer optimiert. Eine vollständige Freisetzung konnte mit 0,4 M NaOH erreicht werden. Durch die Verwendung von höher konzentrierter Lauge konnte die freigesetzte Menge an Methanol und Essigsäure nicht erhöht werden. Die Freisetzung von Methanol und Essigsäure war nach 16 h, unabhängig von der Temperatur, vollständig. Temperaturabhängige Unterschiede waren nur nach ein bzw. zwei Stunden festzustellen. Mit einer zusätzlichen Behandlung der Proben im Ultraschallbad während der Verseifung wurde die maximale Freisetzung von Methanol und Essigsäure nach zwei Stunden erreicht. Daher wurde die Verseifung für 2 h im Ultraschallbad bei Raumtemperatur durchgeführt. Die Verseifung der UBS wurde mit den gleichen Parametern getestet. Dabei stellte sich heraus, dass zur vollständigen Verseifung 2 M NaOH nötig war. Bei Verwendung von 0,4 M NaOH kann es zu einer unvollständigen Auflösung des Netzwerks der Zellwand-PS kommen, was in einer geringeren Freisetzung von Methanol und Essigsäure resultiert.

Zur Validierung der Methode wurden die Empfindlichkeit anhand der NG und BG, der lineare Bereich, die Reproduzierbarkeit und die WF bestimmt (siehe Tabelle 11). Die NG und BG wurden über das Signal/Rausch-Verhältnis von 3 bzw. 10 bestimmt und lagen bei Verwendung von 0,4 M NaOH im Vergleich zu 2 M NaOH etwas niedriger. Im Vergleich zur ursprünglichen Methode ist die hier entwickelte Methode trotz der geringeren Anzahl an Scans (32 statt 64) empfindlicher (MÜLLER-MAATSCH et al. 2014). Dies ist bedingt durch die Verwendung eines Kryoprobenkopfes (N₂ gekühlt), mit dem eine Verbesserung des Signal/Rausch-Verhältnisses um etwa den Faktor 2-3 erreicht werden kann. Der lineare Bereich wurde bestimmt, indem Standardlösungen von Methanol und Essigsäure

Tabelle 11: Validierungsparameter für die Bestimmung von Methanol und Essigsäure in Ballaststoffpräparaten. Die Validierung wurde an UBS (2 M NaOH) und LBS (0,4 M NaOH) von Erdbeeren durchgeführt. Die Reproduzierbarkeit wurde durch fünffache Messung der Probe an einem Tag (Intraday, n=5) und dreifache Messung an drei unterschiedlichen Tagen (3xn=3) bestimmt und ist als relative Standardabweichung angegeben. Die Wiederfindung wurde durch Zugabe von zwei unterschiedlichen Mengen Standardlösung bestimmt und ist als Mittelwert der beiden Versuche angegeben. Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen wurden mithilfe einer Grundkalibrierung über ein Signal-Rausch-Verhältnis von 3 bzw. 10 abgeschätzt.

		Methanol		Essigsäure	
		UBS	LBS	UBS	LBS
Reproduzierbarkeit	Intraday	3,1 %	3,7 %	4,3 %	0,7 %
	Interday	7,3 %	7,1 %	4,9 %	7,6 %
Wiederfindung		102,2 %	101,4 %	96,0 %	94,5 %
Linearer Bereich	0,4 M NaOH	1 – 60 mM		2 – 20 mM	
	2 M NaOH	0,1 – 60 mM		0,1 – 25 mM	
Nachweisgrenze	0,4 M NaOH	0,002 mM		0,004 mM	
	2 M NaOH	0,009 mM		0,016 mM	
Bestimmungsgrenze	0,4 M NaOH	0,006 mM		0,013 mM	
	2 M NaOH	0,031 mM		0,053 mM	

UBS: Unlösliche Ballaststoffe. LBS: Lösliche Ballaststoffe

4.1 Methodenetablierung und –validierung

mit verschiedenen Konzentrationen (10 Konzentrationen, je n=3) hergestellt und der Quotient aus Signal und Konzentration berechnet wurde. Im linearen Bereich sollte dieser Quotient denselben Wert ergeben. Für die Festlegung des linearen Bereichs wurde eine Abweichung von 5 % vom Mittelwert toleriert. Bei Verwendung von 0,4 M NaOH erstreckt sich der lineare Bereich von Methanol und Essigsäure zwischen 1 – 60 mM bzw. 2 – 20 mM, während bei Verwendung von 2 M NaOH der lineare Bereich für Methanol und Essigsäure zwischen 0,1 - 60 mM bzw. 0,1 – 25 mM lag. Die Bestimmung von Methanol und Essigsäure in LBS und UBS konnte mit relativen Standardabweichungen unterhalb von 7,6 % für den Zweck ausreichend präzise durchgeführt werden. Für die Bestimmung der WF wurden zu Proben von LBS und UBS von Erdbeeren, zwei Standardlösungen mit unterschiedlichen Konzentrationen zugesetzt und analysiert. Die damit erreichten WF im Bereich zwischen 94,5 und 102,2 % zeigen die sehr gute Richtigkeit der Methode an. Um die Robustheit der Methode zu überprüfen, wurde die Präzision und WF der Bestimmung der Gehalte an Methanol und Essigsäure in LBS und UBS von weiteren Probenmaterialien untersucht (n=3, siehe Tabelle 12). Mit Ausnahme der LBS von Heidelbeeren konnten die Gehalte an Methanol und Essigsäure, mit relativen Standardabweichungen von unter 10 %, präzise bestimmt werden. Die größeren Schwankungen bei den LBS von Heidelbeeren könnten eventuell auf inhomogenes Probenmaterial zurückzuführen sein. Die WF von Methanol und Essigsäure lagen in einem Bereich zwischen 91,6 und 114,5 %, wobei die LBS aus der Heidelbeere mit WF von 117,1 und 115,9 % für Methanol bzw. Essigsäure wieder eine Ausnahme darstellten. Somit eignet sich die Methode zur genauen Bestimmung der nach Verseifung freigesetzten Gehalte an Methanol und Essigsäure in Ballaststoffpräparaten aus unterschiedlichen Probenmaterialien.

Tabelle 12: Ergebnisse der Untersuchung der Anwendbarkeit der entwickelten Methode zur Bestimmung von Methanol und Essigsäure in Ballaststoffpräparaten aus unterschiedlichen Pflanzen. Die LBS wurden mit 0,4 M NaOH verseift, die UBS mit 2 M NaOH. Die Reproduzierbarkeit wurde durch dreifache Bestimmung der Probe ermittelt und ist als relative Standardabweichung angegeben. Die Wiederfindung wurde durch Zugabe von zwei unterschiedlichen Mengen an Standardlösung bestimmt und ist als Mittelwert der beiden Versuche angegeben.

		Wiederfindung		Reproduzierbarkeit		Gehalt [$\mu\text{mol}/\text{mg}$]	
		Methanol	Essigsäure	Methanol	Essigsäure	Methanol	Essigsäure
Frühlings- zwiebel	LBS	104,1 %	91,6 %	1,2 %	4,2 %	0,28	0,06
	UBS	101,8 %	99,2 %	1,1 %	3,2 %	0,21	0,19
Tomate	LBS	114,5 %	94,8 %	6,3 %	8,8 %	0,06	0,07
	UBS	101,7 %	100,1 %	3,8 %	3,1 %	0,06	0,16
Pfirsich	LBS	99,8 %	97,0 %	1,5 %	2,3 %	0,96	0,16
	UBS	98,2 %	97,1 %	0,9 %	1,9 %	0,28	0,22
Heidelbeere	LBS	117,1 %	115,9 %	18,4 %	19,8 %	0,87	0,06
	UBS	99,6 %	93,6 %	7,8 %	12,4 %	0,12	0,57

UBS: Unlösliche Ballaststoffe. LBS: Lösliche Ballaststoffe

4.2 Untersuchung des Erhalts relevanter Inhaltsstoffe und der Bildung von 3-Desoxyglucoson während unterschiedlicher Trocknungsverfahren

4.2.1 Einzeltrocknungsverfahren

Mit den Methoden, deren Entwicklung und Validierung im vorherigen Kapitel beschrieben ist, wurde der Erhalt der Inhaltsstoffe im Verlauf der Einzeltrocknungsverfahren untersucht. In Tabelle 13 sind die Trocknungsdauern aller Einzelverfahren dargestellt. Die GT dauert 300 Minuten im Fall von Karotten und Äpfeln und 398 Minuten für Erdbeeren und stellt damit das zeitintensivste Verfahren dar. Die Dauer der HT ist von der eingestellten Lufttemperatur anhängig, wobei höhere Temperaturen in kürzeren Trocknungszeiten resultieren. Im Fall der HT von Äpfeln und Karotten bei 70 °C beträgt die Zeit zur Trocknung etwa 250 Minuten und ist damit etwas kürzer als die GT. Bei 105 °C werden 164 bzw. 146 Minuten zur vollständigen Trocknung der Äpfel bzw. Karotten benötigt. Im Fall der HT von Erdbeeren sind die Trocknungsdauern bei 70 bzw. 105 °C mit 524 bzw. 327 Minuten etwa doppelt so lang wie bei der HT von Äpfeln und Karotten. Erklärt werden kann dies durch die ungünstige Produktstruktur, die zu einem Austritt von Wasser aus dem Produkt führte. Das führte zum Anhaften der Erdbeerscheiben an der Trommel, wodurch die Trocknungsoberfläche verkleinert wurde, da keine Durchmischung der Proben stattfand. Das Wasser musste vor dem Verdampfen einen längeren Weg durch das Produkt transportiert werden, was zu den langen Trocknungszeiten führte. Die MWVT stellte das schnellste Verfahren dar, wobei die Trocknungsdauer

Tabelle 13: Dauer der Einzeltrocknungsverfahren in Karotten, Äpfeln und Erdbeeren in Minuten.

Verfahren	Karotte	Apfel	Erdbeere
HT-70 °C	240 ¹	265 ± 42 ³	524 ± 10 ²
HT-90 °C	194 ± 11 ³		
HT-105 °C	146 ¹	164 ± 18 ²	327 ± 84 ²
MWVT-250 W ^a	127 ¹	111 ± 5 ³	125 ± 15 ²
MWVT-500 W 50 mbar	42 ± 1 ³		
MWVT-500 W 10 mbar	41 ¹		
MWVT-500 W 100 mbar	43 ¹		
MWVT-750 W ^a	24 ¹	61 ± 23 ³	56 ¹
GT	297 ± 38 ³	300 ± 0 ³	398 ± 8 ²

^a: Im Fall von Karotten wurden die MWVT-Versuche bei 50 mbar durchgeführt, bei Erdbeeren und Äpfeln bei 15 mbar

¹: n=1

²: n=2 (Dauer ± Range/2)

³: n=3 (Dauer ± Standardabweichung)

HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung.
GT: Gefriertrocknung

4.2 Untersuchung des Erhalts relevanter Inhaltsstoffe und der Bildung von 3-Desoxyglucoson während unterschiedlicher Trocknungsverfahren

abhängig vom Energieeintrag war. Die MWVT-750 W stellt für alle drei Produkte mit Trocknungszeiten von 24, 61 und 56 Minuten bei Karotten, Äpfeln und Erdbeeren das schnellste Verfahren dar. Die Trocknungsdauer der MWVT-250 W für Karotten und Äpfel liegt bei 127 bzw. 111 Minuten und ist damit etwas kürzer als die HT bei 105 °C. Der Einfluss des Drucks (10, 50 und 100 mbar) bei der MWVT wurde bei Karotten mit einem Energieeintrag von 500 W untersucht. Die Trocknungszeiten wurden durch Veränderung des Druckes in diesem Bereich nicht beeinflusst, weshalb die Trocknung von Äpfeln und Erdbeeren bei einem konstanten Druck durchgeführt wurde. In der Literatur wird der Einfluss des Drucks kontrovers diskutiert, was eine Abhängigkeit vom Produkt nahelegt. Bei Pilzen beispielsweise wird die Trocknungszeit nur minimal vom Druck beeinflusst (GIRI and PRASAD 2007), während bei Chilis durch niedrigeren Druck schnellere Trocknungen erreicht werden (KAENSUP et al. 2002). Das legt nahe, dass die Trocknung bei Karotten allein vom Energieeintrag und nicht vom Massentransfer des verdampften Wassers aus dem Produkt abhängig ist. Da bei niedrigerem Druck der Massentransfer verbessert ist, würde dies bei einer Abhängigkeit vom Massentransfer zu einer schnelleren Trocknung führen.

4.2.1.1 Erhalt der Carotinoide in Karotten

Die Carotinoidgehalte wurden mit der in Kapitel 0 beschriebenen Methode in Karotten im Verlauf der Trocknungen untersucht. Die verwendeten Verfahren waren eine HT bei 70, 90 und 105 °C, MWVT bei 50 mbar mit einem Energieeintrag von 250, 500 und 750 W, MWVT bei 10 bzw. 100 mbar und 500 W Energieeintrag sowie eine GT. Zur Berechnung des Erhalts der Inhaltsstoffe wurden fünf frische Proben, über den viermonatigen Zeitraum in dem die Trocknungen durchgeführt wurden, zurückgelegt. Es zeigten sich allerdings starke Schwankungen in den Carotinoidgehalten des Ausgangsmaterials, die einerseits auf natürliche Schwankungen und/oder Veränderungen während der Lagerung zurückzuführen sind. Dies wiederum führte zu berechneten Erhalten von teilweise weit über 100 %. Daher war eine Berechnung des Erhalts der Carotinoide während der Trocknung nicht möglich, da die exakten Gehalte vor der Trocknung nicht bekannt waren. Die Einzelverfahren waren somit hinsichtlich des Erhalts der Inhaltsstoffe im Verlauf der Trocknung nicht auswertbar. Darum wurde für die weiteren Untersuchungen beschlossen, für jeden durchgeführten Trocknungsversuch (Apfel und Kombinationsverfahren Karotte) bzw. jeden Versuchstag (Erdbeere) eine repräsentative frische Vergleichsprobe zur korrekten Berechnung des Inhaltsstoffgehalts zu analysieren.

4.2.1.2 Die Bildung von 3-Desoxyglucoson

Die Bildung von 3-DG wurde in allen drei Produkten (Karotte, Äpfel und Erdbeeren) über den Verlauf der Einzeltrocknungen untersucht. In den frischen Proben aller Produkte konnte 3-DG nicht nachgewiesen werden. Zur vergleichbaren Darstellung der Ergebnisse wurden diese, aufgrund der unterschiedlichen Wassergehalte der analysierten Proben, jeweils auf die Trockenmasse des Ausgangsmaterials bezogen. In Tabelle 14 sind die Gehalte von 3-DG in mit unterschiedlichen

Verfahren getrockneten Karotten, Äpfeln und Erdbeeren gezeigt. Die relative Beladung von 0,01 entspricht dabei dem vollständig getrockneten Produkt.

Die größten Mengen an 3-DG wurden bei der Trocknung von Karotten bei Anwendung des MWVT-Verfahrens gebildet, hier wurden bei der MWVT-500 W bei 100 mbar 18 mg/100 g 3-DG am Ende der Trocknung gefunden. Die anderen MWVT-Verfahren führten zu etwas geringeren 3-DG-Gehalten von etwa 9 mg/100 g. Bei Anwendung der HT-Verfahren mit 105 und 90 °C wird 2,6 bzw. 1,9 mg/100 g 3-DG gebildet, bei 70 °C sowie der GT war kein 3-DG in den getrockneten Produkten nachweisbar. Bei Erdbeeren waren die quantitativ größten Mengen an 3-DG bei der HT (105 °C) und der MWVT-750 W mit 55 und 22 mg/100 g zu finden. Die HT (70 °C) und die MWVT-250 W führten zu kleinen Mengen an 3-DG, während bei der GT kein 3-DG nachweisbar war. Bei Äpfeln lagen die Gehalte generell niedriger mit etwa 3, 4 und 6 mg/100 g für die MWVT-750 W, 250 W und HT bei 105 °C. Bei der HT (70 °C) und der GT konnte 3-DG am Ende der Trocknung jeweils nur in Spuren nachgewiesen werden.

Die Bildung von 3-DG fand bei allen untersuchten Produkten in den letzten Stadien der Trocknung statt. Bei z.B. Karotten war 3-DG nur bei einer relativen Restfeuchte von 0,01 quantifizierbar. In Äpfeln, die einer MWVT unterzogen wurden, konnte 3-DG schon ab einer relativen Restfeuchte von 0,2 nachgewiesen werden. In Erdbeeren, die einer HT bei 105 °C unterzogen wurden, war 3-DG bei einer relativen Restfeuchte von 0,3 nachweisbar. Bei Karotten war die Bildung von 3-DG in MWVT-Verfahren gegenüber der HT begünstigt, bei Äpfeln und Erdbeeren wurde bei der HT (105 °C) mehr 3-DG als bei den MWVT-Verfahren gebildet. In Erdbeeren wurden die höchsten Gehalte von allen Produkten gefunden, hier war 3-DG auch in den Produkten, die mit einer HT bei 70 °C hergestellt wurden, nachweisbar, was bei Äpfeln und Karotten nicht der Fall war. Die höheren Gehalte in Erdbeeren sind möglicherweise auf die längeren Trocknungszeiten zurückzuführen, da die Erdbeeren für längere Zeit den erhöhten Temperaturen ausgesetzt sind. Dies wiederum begünstigt die Bildung von 3-DG. Weiterhin könnte die Zusammensetzung der Matrix eine Rolle spielen, da unterschiedliche Gehalte an Glucose oder Aminen vorliegen können.

Insgesamt war bei allen Produkten mit fortschreitender Trocknung eine Zunahme der Gehalte an 3-DG festzustellen. Auch bei der Wärmebehandlung von Honig und Most wurde eine stetige Zunahme der 3-DG-Gehalte über einen Zeitraum von acht bzw. 12 Stunden beobachtet (RUIZ-MATUTE et al. 2015). Anhand der Bildungswege der 1,2-DV (siehe Kapitel 1.5.4) wäre allerdings eine weitere Reaktion von 3-DG naheliegend, was zu einer Abnahme der Gehalte führen würde. Durch die mit dem Wasserentzug einhergehende Erhöhung der Viskosität der wässrigen Phase und der damit verbundenen geringeren Beweglichkeit der Moleküle, wäre wiederum die Reaktion der Carbonylfunktionen von 3-DG mit anderen Matrixbestandteilen unwahrscheinlicher. Da in allen untersuchten Produkten aber eine Zunahme der 3-DG-Gehalte bis zum Ende der Trocknung zu beobachten ist, liegt der Schluss nahe, dass 3-DG nicht oder nur in sehr geringem Maß weitere Reaktionen eingeht oder die Verluste aufgrund der starken Neubildung überkompensiert wurden. Weiterhin wurde bei der Behandlung von Honig bei 80 °C eine stetige Zunahme der 3-DG-Gehalte festgestellt, erst war eine Abnahme der Gehalte zu beobachten, die einen Abbau von 3-DG und/oder eine Weiterreaktion mit Matrixbestandteilen anzeigt (MARCEAU and YAYLAYAN 2009).

4.2 Untersuchung des Erhalts relevanter Inhaltsstoffe und der Bildung von 3-Desoxyglucoson während unterschiedlicher Trocknungsverfahren

Tabelle 14: Gehalte an 3-Desoxyglucoson in g/100 g im Verlauf von mit verschiedenen Verfahren getrockneten Karottenscheiben, Erdbeerscheiben und rotfleischigen Apfelstücken. Die Gehalte sind über der relativen Restfeuchte X/X_0 aufgetragen (siehe Formel (2), Seite 32) und auf die Trockenmasse des jeweiligen Ausgangsmaterials bezogen. Die Fehler sind als \pm Standardabweichung ($n \geq 3$) bzw. \pm Range/2 ($n=2$) angegeben.

Karotte	Relative Beladung X/X_0				
	0,6	0,4	0,2	0,1	0,01
GT	n.b. ^a	n.b. ^a	n.b. ^a	n.b. ^a	n.b. ^b
HT-70 °C	n.b. ^a	n.b. ^a	n.b. ^a	n.b. ^a	Spur ^c
HT-90 °C	n.b. ^c	n.b. ^c	n.b. ^b	n.b. ^a	1,70 \pm 0,92 ^b
HT-105 °C	n.b. ^a	n.b. ^a	n.b. ^a	n.b. ^a	2,62 ^a
MWVT-250 W, 50 mbar	n.b. ^a	n.b. ^a	n.b. ^a	n.b. ^a	9,21 ^a
MWVT-500 W, 50 mbar	n.b. ^c	n.b. ^c	n.b. ^c	n.b. ^d	4,88 \pm 2,14 ^c
MWVT-500 W, 10 mbar	n.b. ^a	n.b. ^a	n.b. ^a	0,47 ^a	9,04 ^a
MWVT-500 W, 100 mbar	n.b. ^b	n.b. ^a	n.b. ^a	0,21 ^a	17,98 ^a
MWVT-750 W, 50 mbar	n.b. ^a	n.b. ^a	n.b. ^a	0,46 ^a	10,01 ^a
Apfel	0,6	0,4	0,2	0,1	0,01
GT	n.b. ^c	n.b. ^c	n.b. ^c	Spur ^c	Spur ^c
HT-70 °C	n.b. ^d	n.b. ^c	Spur ^c	Spur ^c	Spur ^c
HT-105 °C	n.b. ^b	Spur ^b	Spur ^b	1,05 \pm 0,26 ^b	6,15 \pm 2,56 ^b
MWVT-250 W	n.b. ^c	n.b. ^c	Spur ^c	Spur ^c	4,23 \pm 1,53 ^c
MWVT-750 W	n.b. ^c	n.b. ^c	0,84 \pm 0,79 ^c	1,45 \pm 1,23 ^c	2,72 \pm 3,25 ^c
Erdbeere	0,4	0,3	0,2	0,1	0,01
GT ^b	n.b. ^b	n.b. ^b	n.b. ^c	n.b. ^b	n.b. ^c
HT-70 °C ^b	n.b. ^b	Spur ^a	Spur ^b	0,71 \pm 0,05 ^b	3,16 \pm 0,30 ^b
HT-105 °C ^b	Spur ^b	0,79 \pm 0,12 ^b	1,05 \pm 0,07 ^b	9,62 \pm 2,82 ^b	56,9 \pm 23,7 ^b
MWVT-250 W ^b	n.b. ^b	n.b. ^b	n.b. ^b	n.b. ^b	0,78 \pm 0,78 ^b
MWVT-750 W ^b	n.b. ^b	n.b. ^b	0,30 \pm 0,13 ^b	9,91 \pm 6,32 ^b	22,64 ^a

^a: n=1. ^b: n=2. ^c: n=3. ^d: n=4. n.b.: nicht bestimmbar

GT: Gefriertrocknung. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung

Da 3-DG ein Intermediat der Maillard- und von Karamellisierungsreaktionen darstellt, kann es im weiteren Verlauf zu braun gefärbten Verbindungen reagieren und damit einen Einfluss auf die Farbe des getrockneten Produktes nehmen. Daher wurde überprüft, ob die Voraussage einer im weiteren Verlauf der Trocknung auftretenden Farbänderung durch die Analyse der Gehalte an 3-DG möglich ist. Bei den rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren traten Änderungen der Farbwerte vor allem im Anfangsstadium und am Ende der Trocknung ab einer relativen Restfeuchte von 0,2 auf (Apfel siehe Tabelle 52, Seite 220 und Erdbeeren siehe Tabelle 53, Seite 221). Da 3-DG erst in den späten Stadien der Trocknung nachweisbar ist, ist eine Vorhersage einer im weiteren Verlauf der Trocknung eintretenden Farbänderung in diesem Fall nicht möglich. Die Gehalte an 3-DG könnten sich im Fall der HT eher als Maß für die Temperaturbelastung der Produkte eignen, da bei höheren Trocknungstemperaturen mehr 3-DG gebildet wird. Gleiche Effekte sind bei der Lagerung oder Wärmebehandlung von Honig zu beobachten (MARCEAU and YAYLAYAN 2009, RUIZ-MATUTE et al. 2015,

WEIGEL et al. 2004). Bei der MWVT ist die Bildung von 3-DG möglicherweise abhängig vom Energieeintrag, da im Fall von Karotten und Erdbeeren durch höhere Energieeinträge, bei gleichem Druck, mehr 3-DG entsteht.

4.2.1.3 Erhalt von Ascorbinsäure in rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren

Der Erhalt von AS wurde in allen Produkten im Verlauf der eingesetzten Trocknungsverfahren untersucht, da im Allgemeinen angenommen werden kann, dass, wenn AS gut erhalten ist, auch die anderen Inhaltsstoffe gut erhalten bleiben (SANTOS and SILVA 2008). In Karotten konnte, wie in Kapitel 4.2.1.1 beschrieben, der Erhalt der Inhaltsstoffe aufgrund der zu geringen Anzahl frischer Vergleichsproben nicht korrekt ermittelt werden. In rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren wurde der Erhalt an Gesamt-AS im Verlauf der HT und MWVT-Verfahren sowie der GT untersucht (Ergebnisse siehe Abbildung 23).

Bei der Trocknung von Äpfeln konnte während der GT, MWVT-250 W und MWVT-750 W kein Verlust an Gesamt-AS am Ende der Trocknung festgestellt werden, was in guter Übereinstimmung mit Literaturdaten steht (CUI et al. 2008a). Bei der GT war dies in den niedrigen Temperaturen und dem gleichzeitigen Ausschluss von Sauerstoff begründet. Auch bei den MWVT-Verfahren sind oxidative Verluste von AS durch die niedrigen Drücke minimiert. Die kurzen Trocknungszeiten verringerten zudem die Dauer, in denen das Produkt erhöhten Temperaturen ausgesetzt war, was thermisch bedingte Verluste wiederum minimierte. Bei Anwendung der HT-Verfahren bei 70 und 105 °C wurden große Verluste an Gesamt-AS festgestellt. Es waren nach der vollständigen Trocknung noch 50 bzw. 20 % der ursprünglich enthaltenen Gesamt-AS vorhanden. Für Apfelscheiben, die bei 65 °C heißluftgetrocknet wurden, wurden mit 64 % ähnliche Retentionen bestimmt (CUI et al. 2008a). Gründe hierfür sind die hohen Temperaturen in Verbindung mit den langen Trocknungszeiten und der Anwesenheit von Sauerstoff, was wahrscheinlich zu einem oxidativem Abbau von Gesamt-AS führt. Der Abbau von AS war vor allem abhängig von der Trocknungstemperatur, da die HT bei 105 °C trotz einer kürzeren Trocknungszeit zu größeren Verlusten von Gesamt-AS im Vergleich zur HT bei 70 °C führte.

Bei der Trocknung von Erdbeeren ergab sich ein ähnliches Bild wie im Fall der rotfleischigen Äpfel. Die GT und MWVT-250 W führten zum vollständigen Erhalt von Gesamt-AS. Bei der Anwendung der MWVT-750 W auf Erdbeeren blieben, im Gegensatz zum Apfel, lediglich 50 % der ursprünglich enthaltenen Gesamt-AS erhalten. Nach der HT bei 70 °C bzw. 105 °C blieben noch etwa 55 bzw. 10 % AS erhalten. Die Ergebnisse der Einzelverfahren sind im Einklang mit der Studie von Wojdylo et al. (2009) zur Trocknung von Erdbeerhälften, wobei die geringfügigen Unterschiede der Produktgeometrie geschuldet sein können oder abhängig vom verwendeten Kultivar sind. Der Erhalt von Gesamt-AS während der HT von Äpfeln und Erdbeeren unterschied sich wenig, obwohl die Trocknungszeiten im Fall der Erdbeeren etwa doppelt so lang sind. Somit scheint im Fall der HT hauptsächlich die Lufttemperatur und in geringerem Ausmaß die Dauer der Trocknung den Erhalt von Gesamt-AS zu bestimmen.

4.2 Untersuchung des Erhalts relevanter Inhaltsstoffe und der Bildung von 3-Desoxyglucoson während unterschiedlicher Trocknungsverfahren

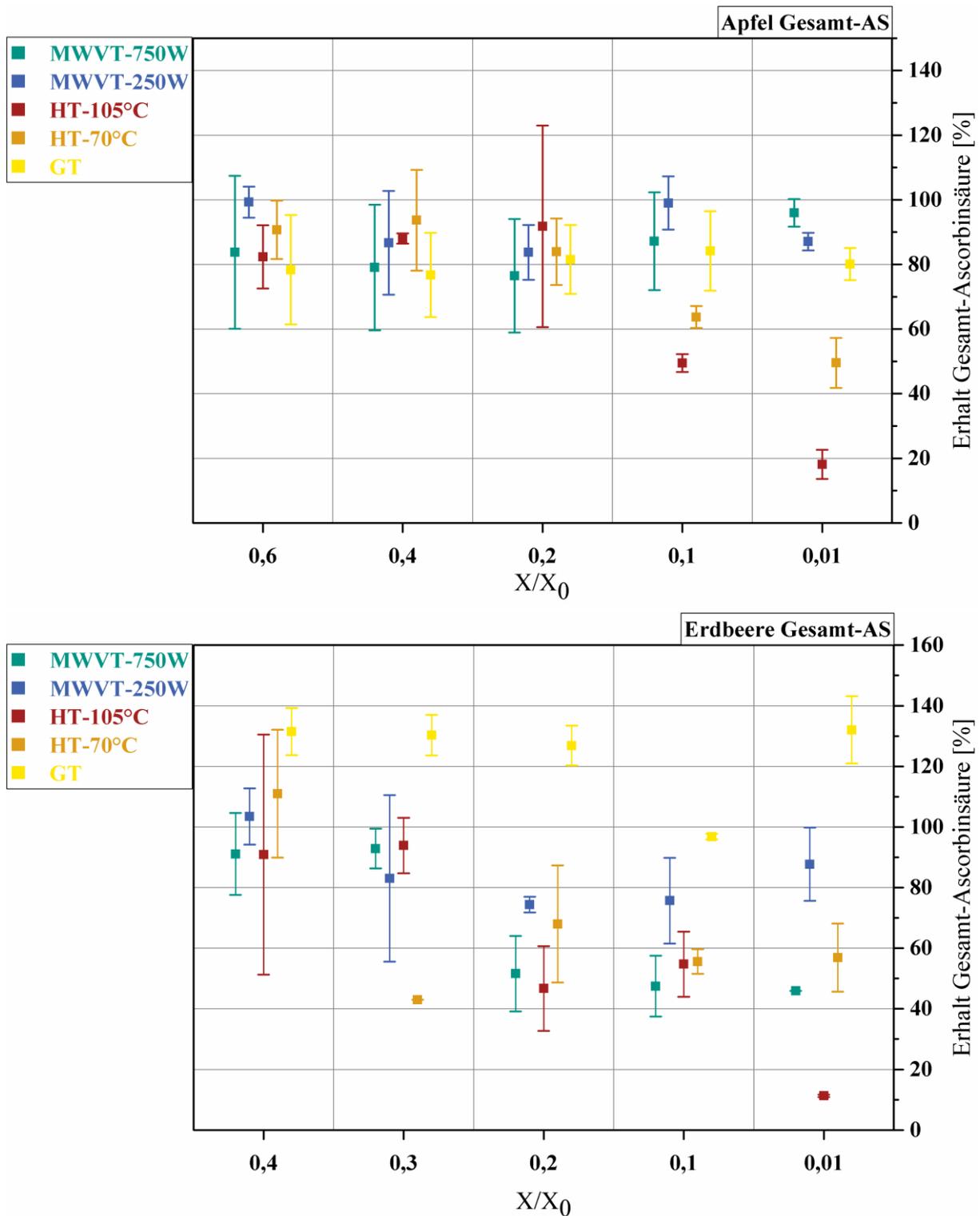


Abbildung 23: Erhalt von Gesamt-AS im Verlauf von verschiedenen Einzel Trocknungsverfahren in Erdbeerscheiben und rotfleischigen Apfelstücken. Der Erhalt von Gesamt-AS ist über der relativen Restfeuchte X/X_0 aufgetragen (siehe Formel (2), Seite 32). Apfel $n=3$ (außer HT-105 °C: $n=2$). Erdbeere $n=2$ (außer MWVT-750W X/X_0 von 0,01 und HT-70 °C X/X_0 von 0,3: $n=1$). AS: Ascorbinsäure. GT: Gefriertrocknung. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung.

Durch die Betrachtung des Erhalts von Gesamt-AS über den Verlauf der Trocknung konnten für den Erhalt von Gesamt-AS als nachteilig zu bewertende Abschnitte identifiziert werden. Mit den gewonnenen Erkenntnissen können anschließend gezielt Kombinationsverfahren entwickelt werden, bei denen die für den Erhalt von Gesamt-AS als nachteilig zu bewertende Abschnitte umgangen werden, um so einen besseren Erhalt der Inhaltsstoffe zu erreichen. Bemerkenswert ist, dass die Gesamt-AS-Gehalte in Äpfeln in den HT-Verfahren sehr lange, d.h. bis zu einer relativen Restfeuchte von 0,2, konstant bleiben, und Verluste erst im Anschluss eintreten. Bei der Untersuchung der Trocknung von halben und geschälten Tomaten oder Kartoffeln war, im Gegensatz zu den vorliegenden Daten, eine kontinuierliche Abnahme des Gesamt-AS-Gehaltes über den gesamten Verlauf der Trocknung zu beobachten (KHRAISHEH et al. 2004, MARFIL et al. 2008). Die Verluste am Ende der Trocknung deuten aufgrund der hohen vorherrschenden Temperaturen (siehe Abbildung 39, Seite 209) auf einen thermisch bedingten Abbau von Gesamt-AS in Äpfeln hin. Verluste, die durch die Aktivität von Enzymen verursacht werden, wären hingegen im Anfangsstadium der Trocknung, aufgrund der hohen Wassergehalte und der erhöhten Temperatur, wahrscheinlicher. Im Fall der Trocknung von Erdbeeren fanden die Verluste von Gesamt-AS bei Anwendung der MWVT-750 W zwischen den relativen Restfeuchten 0,3 und 0,2 statt. In der Folge war kein weiterer Abbau von Gesamt-AS zu beobachten. Bei Anwendung der HT bei 105 °C nahmen die AS-Gehalte ab der relativen Restfeuchte von 0,3 kontinuierlich bis zum Ende der Trocknung ab, während bei der HT (70 °C) die Gehalte an Gesamt-AS zwischen einer relativen Restfeuchte von 0,4 und 0,1 abnahmen.

4.2.1.4 Erhalt an polyphenolischen Verbindungen in rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren

Der Erhalt der phenolischen Verbindungen wurde in Äpfeln und Erdbeeren untersucht. Es wurden die Verbindungsklassen mit der größten Relevanz untersucht. Dazu zählen die Anthocyane als farbgebende Bestandteile, Flavanole und Flavonole als Substanzen mit vermutlich positiven ernährungsphysiologischen Eigenschaften, PZ und CS in Äpfeln sowie quantitativ bedeutende hydroxymethylsäurehaltige Verbindungen aus Erdbeeren (untersuchte Verbindungen siehe Kapitel 4.1.3.2). Von den in Äpfeln untersuchten Verbindungen konnten CGal, CS, PZ und EC quantitativ bestimmt werden. QGal und QA wurden in fast allen untersuchten Apfelproben in nicht quantifizierbaren Mengen nachgewiesen und wurden deshalb nicht zur Bewertung der Trocknungsverfahren herangezogen. CA wurde zwar mittels LC-MS in den rotfleischigen Äpfeln identifiziert, konnte aber in keiner der untersuchten Proben nachgewiesen werden. Da zur Identifizierung der Verbindungen Äpfel der Ernte des Vorjahres verwendet wurden, müssen die Unterschiede in der Zusammensetzung der phenolischen Verbindungen im Anbaujahr begründet sein. Von den in Erdbeeren untersuchten Verbindungen lagen alle, mit Ausnahme von QG und KGluA, in quantifizierbaren Mengen vor. Die Gehalte von ZG lagen in den meisten Fällen oberhalb der Kalibrierung. Eine Verdünnung des Extraktes war aufgrund der großen Probenanzahl aus zeitlichen Gründen nicht möglich. Der Erhalt der untersuchten PP im Verlauf der unterschiedlichen

4.2 Untersuchung des Erhalts relevanter Inhaltsstoffe und der Bildung von 3-Desoxyglucoson während unterschiedlicher Trocknungsverfahren

Trocknungsverfahren ist im Fall der rotfleischigen Äpfel in Tabelle 15 und für Erdbeeren in Tabelle 16 gezeigt. Eine schematische Darstellung der Verluste der PP findet sich in Abbildung 24.

Tabelle 15: Erhalt der phenolischen Verbindungen in rotfleischigen Äpfeln während verschiedener Trocknungsverfahren, angegeben in % des Gehaltes der frischen Probe vor der Trocknung. Die Präzision der Bestimmung des Erhalts ist als \pm Standardabweichung angegeben (n=3, außer anders gekennzeichnet).

GT	Relative Beladung X/X ₀				
	0,6	0,4	0,2	0,1	0,01
CS	90,8 \pm 9,3	94,4 \pm 8,2	89,0 \pm 3,8	91,0 \pm 11,2	105,5 \pm 7,6
EC	103,7 \pm 4,8	107,7 \pm 12,1	99,8 \pm 18,5	98,0 \pm 17,6	127,8 \pm 15,3
CGal	110,0 \pm 24,3	114,7 \pm 11,6	119,4 \pm 24,9	118,4 \pm 28,6	94,1 \pm 13,6
PZ	106,8 \pm 24,5	103,1 \pm 29,0	90,6 \pm 18,0	104,8 \pm 22,1	129,1 \pm 11,3
HT 70 °C	0,6	0,4	0,2	0,1	0,01
CS	83,7 \pm 5,8 ^b	67,9 \pm 9,3	57,5 \pm 7,4	58,0 \pm 7,4	51,1 \pm 2,1
EC	87,6 \pm 17,8 ^b	77,8 \pm 13,1	67,9 \pm 7,5	74,0 \pm 14,4	67,6 \pm 5,0
CGal	71,7 \pm 8,0 ^b	61,0 \pm 4,2	59,9 \pm 6,5	54,5 \pm 15,6	44,4 \pm 1,5
PZ	77,8 \pm 9,1 ^b	69,4 \pm 14,4	67,6 \pm 4,0	60,7 \pm 10,8	67,3 \pm 7,8
HT 105 °C	0,6	0,4	0,2	0,1	0,01
CS	83,8 \pm 0,1 ^a	75,2 \pm 5,4 ^a	58,8 ^c	63,3 \pm 3,4 ^a	59,2 \pm 8,9 ^a
EC	73,5 \pm 4,1 ^a	90,6 \pm 6,4 ^a	68,9 ^c	59,0 \pm 0,7 ^a	44,5 \pm 16,0 ^a
CGal	62,5 \pm 8,2 ^a	68,9 \pm 0,1 ^a	53,3 ^c	45,0 \pm 2,2 ^a	23,1 \pm 1,8 ^a
PZ	84,9 \pm 8,4 ^a	65,5 \pm 9,5 ^a	65,0 ^c	62,3 \pm 3,5 ^a	60,2 \pm 3,2 ^a
MWVT 250 W	0,6	0,4	0,2	0,1	0,01
CS	98,9 \pm 11,1	96,5 \pm 4,8	103,9 \pm 22,6	95,1 \pm 13,9	118,0 \pm 8,1
EC	90,6 \pm 9,0	98,5 \pm 4,2	90,6 \pm 1,2	108,0 \pm 8,8	96,7 \pm 12,8
CGal	86,6 \pm 13,8	99,8 \pm 6,3	90,0 \pm 5,6	100,1 \pm 18,8	78,2 \pm 17,1
PZ	89,7 \pm 7,4	92,1 \pm 7,7	93,5 \pm 22,2	110,7 \pm 24,9	120,5 \pm 24,5
MWVT 750 W	0,6	0,4	0,2	0,1	0,01
CS	92,5 \pm 3,5	76,3 \pm 5,1	91,1 \pm 5,4	89,4 \pm 5,4	96,5 \pm 7,0
EC	87,7 \pm 5,7	88,8 \pm 11,4	89,4 \pm 11,9	99,0 \pm 9,6	101,2 \pm 10,3
CGal	89,4 \pm 24,2	89,5 \pm 14,5	88,8 \pm 4,5	95,9 \pm 22,7	79,5 \pm 13,9
PZ	93,6 \pm 0,4	89,1 \pm 12,2	81,4 \pm 13,3	99,2 \pm 11,5	103,7 \pm 11,3

^a: n=2 (Erhalt \pm Range/2). ^b: n=4. ^c: n=1

GT: Gefriertrocknung. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung. CS: Chlorogensäure. EC: (-)-Epicatechin. CGal: Cyanidin-Galactosid. PZ: Phlorizin

Die Anthocyane CGal, PG und PMG waren nach der GT von Äpfeln und Erdbeeren komplett erhalten. Während der HT der rotfleischigen Äpfel bei 70 bzw. 105 °C war ein starker Abbau von CGal festzustellen, sodass am Ende der Trocknung noch 44 bzw. 23 % des ursprünglichen Gehalts an CGal vorhanden war. Die Anthocyane PG und PMG in Erdbeeren wurden durch die HT bei 105 °C fast vollständig abgebaut (Erhalt von 9 bzw. 8 %), nach der HT bei 70 °C blieben dagegen 44 bzw. 43 %

von PG und PMG erhalten. Der Abbau der Anthocyane im Verlauf der HT-Verfahren der rotfleischigen Äpfel und Erdbeeren findet teilweise in den frühen Stadien der Trocknung statt. CGal ist bei einer relativen Restfeuchte von 0,6 während der HT von rotfleischigen Äpfeln bei 70 °C bzw. 105 °C zu 72 bzw. 63 % erhalten. Verluste von etwa 35 % PG und PMG sind bei der HT von Erdbeeren bei 105 °C bei einer relativen Restfeuchte von 0,4 aufgetreten. Diese Verluste werden möglicherweise durch die Aktivität des Enzyms PPO verursacht, da gezeigt wurde, dass die Aktivität von aus Äpfeln isolierter PPO bei Temperaturen bis 68 °C erhöht wird (YEMENICIOGLU et al. 1997) und eine Inaktivierung erst bei höheren Temperaturen stattfindet. Andererseits ist ein starker Abbau der Anthocyane bei der HT (105 °C) von rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren am Ende der Trocknung zwischen den relativen Restfeuchten 0,1 und 0,01 zu beobachten. Der Abbau wird sehr wahrscheinlich durch die hohen Temperaturen begünstigt, da bei der HT (70 °C) in diesem Abschnitt der Trocknung keine bzw. nur sehr geringe Verluste der Anthocyane auftreten. Die MWVT von rotfleischigen Äpfeln führte bei beiden Energieeinträgen (250 und 750 W) zu leichten Verlusten von CGal von etwa 20 %. Diese traten bei beiden Verfahren am Ende der Trocknung zwischen den relativen Restfeuchten von 0,1 und 0,01 auf. Da die Oberflächentemperaturen in diesem Abschnitt der MWVT ansteigen (siehe Abbildung 45, Seite 216) ist ein thermisch begünstigter Abbau, ähnlich wie bei den HT-Verfahren naheliegend. Bei der MWVT von Erdbeeren mit 250 W Energieeintrag sind keine Verluste der Anthocyane am Ende der Trocknung festzustellen, während nach der MWVT mit 750 W Energieeintrag noch 32 bzw. 42 % des ursprünglich enthaltenen PG bzw. PMG erhalten waren. Der Abbau der Anthocyane während der MWVT mit 750 W ist ab einer relativen Restfeuchte von 0,3 bis zum Ende der Trocknung zu beobachten.

Da Anthocyane die farbgebenden Komponenten darstellen, liegt eine Korrelation zwischen den Anthocyangehalten und den Farbwerten nahe. Die Farbwerte von Äpfeln und Erdbeeren wurden nach der Durchführung der Trocknungsversuche unter standardisierten Bedingungen bestimmt (siehe (SIEBERT et al. 2019a)) und von der kooperierenden Forschungsstelle (Institut für Lebensmittelverfahrenstechnik) zur Verfügung gestellt. Die Farbwerte der rotfleischigen Äpfel und Erdbeeren vor und nach der Trocknung im RGB-Farbraum sind aus Tabelle 52, Seite 220 und Tabelle 53, Seite 221 ersichtlich. Hierbei ist anzumerken, dass eine Erhöhung der Farbwerte mit einer Verringerung der Farbintensität einhergeht. Im Fall der Trocknung von Äpfeln und Erdbeeren treten die größten Veränderungen der Farbwerte in allen Verfahren zu Beginn der Trocknung auf, da zwischen dem frischen Produkt und dem Produkt bei einer relativen Restfeuchte von 0,6 in allen untersuchten Trocknungsverfahren große Unterschiede in den Farbwerten feststellbar sind. Diese Farbänderung im ersten Stadium der Trocknung geht im Fall der HT von rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren mit Verlusten von Anthocyanen einher, jedoch nicht wenn eine GT oder MWVT eingesetzt wird. Die Zunahme der Farbwerte im letzten TA der HT von rotfleischigen Äpfeln, die einer Aufhellung der Produkte entspricht, geht mit großen Verlusten von CGal einher. Jedoch werden die großen Verluste von Anthocyanen in Erdbeeren im letzten TA bei Anwendung der HT (70 °C und 105 °C) und MWVT-750W nur von minimalen Änderungen der Farbwerte begleitet, weshalb ein Zusammenhang zwischen Anthocyangehalt und Farbwerten nicht oder nur bedingt gegeben scheint. Weitere Faktoren, die die Farbe des Produktes beeinflussen können, sind deren Dichte und Struktur

4.2 Untersuchung des Erhalts relevanter Inhaltsstoffe und der Bildung von 3-Desoxyglucoson während unterschiedlicher Trocknungsverfahren

Tabelle 16: Erhalt der phenolischen Verbindungen in Erdbeeren während verschiedener Trocknungsverfahren, angegeben in % des Gehaltes der frischen Probe vor der Trocknung. Die Fehler sind als \pm Range/2 angegeben (n=2, außer anders gekennzeichnet).

Relative Beladung X/X ₀					
GT	0,4	0,3	0,2	0,1	0,01
CA	97,8 ± 16,8	99,5 ± 3,3	88,6 ± 22,9 ^a	54,0 ± 16,4	100,1 ± 5,9 ^a
PCG	95,2 ± 5,8	94,8 ± 4,1	80,9 ± 22,9 ^a	56,6 ± 16,4	99,7 ± 5,9 ^a
PG	99,4 ± 6,0	111,0 ± 6,3	85,5 ± 24,7 ^a	61,0 ± 20,5	95,5 ± 4,9 ^a
PMG	96,9 ± 9,9	109,4 ± 3,8	82,1 ± 24,6 ^a	55,9 ± 18,5	92,6 ± 9,8 ^a
QGluA	114,1 ± 32,9	97,0 ± 11,3	92,0 ± 22,0 ^a	48,2 ± 18,4	104,6 ± 28,9 ^a
KG	100,9 ± 16,5	101,0 ± 6,3	83,3 ± 21,3 ^a	53,9 ± 16,4	92,8 ± 4,3 ^a
HT 70 °C	0,4	0,3	0,2	0,1	0,01
CA	86,5 ± 1,2	60,1 ^b	68,6 ± 33,2	47,0 ± 2,9	48,9 ± 8,5
PCG	96,3 ± 10,4	106,9 ^b	59,2 ± 7,1	107,5 ± 4,7	88,1 ± 1,6
PG	115,6 ± 1,3	69,1 ^b	44,0 ± 8,8	49,9 ± 3,7	43,7 ± 6,1
PMG	113,3 ± 11,0	77,9 ^b	48,7 ± 16,9	46,3 ± 2,0	42,9 ± 4,4
QGluA	117,9 ± 19,8	24,2 ^b	83,9 ± 44,6	63,5 ± 11,0	97,4 ± 20,4
KG	112,5 ± 6,5	63,0 ^b	78,3 ± 34,7	72,3 ± 5,4	106,6 ± 21,3
HT 105 °C	0,4	0,3	0,2	0,1	0,01
CA	74,4 ± 9,0	78,8 ± 9,2	58,3 ± 11,1	43,2 ± 16,2	22,3 ± 6,3
PCG	69,9 ± 4,5	103,6 ± 21,6	82,0 ± 20,9	107,5 ^b	73,8 ± 7,9
PG	68,5 ± 1,2	72,3 ± 17,1	62,0 ± 24,9	30,3 ± 20,3	8,8 ± 6,5
PMG	65,4 ± 0,2	67,8 ± 12,1	46,2 ± 4,9	45,0 ^b	7,9 ± 0,7
QGluA	111,2 ± 48,4	106,5 ± 4,9	98,0 ± 0,7	122,2 ^b	130,9 ± 25,3
KG	85,9 ± 4,8	91,7 ± 10,8	75,2 ± 1,6	124,1 ± 11,3	95,4 ± 1,3
MWVT 250 W	0,4	0,3	0,2	0,1	0,01
CA	87,3 ± 9,0	82,8 ± 6,7	63,9 ± 14,7	85,1 ± 8,4	94,4 ± 9,7
PCG	104,2 ± 10,3	91,9 ± 8,9	60,6 ± 14,2	108,4 ± 15,6	90,9 ± 13,6
PG	81,9 ± 16,8	103,4 ± 1,5	66,6 ± 17,3	86,8 ± 13,7	96,9 ± 1,4
PMG	79,1 ± 5,7	106,7 ± 0,2	64,8 ± 20,4	88,3 ± 12,7	113,2 ± 13,3
QGluA	88,8 ± 23,3	115,5 ± 9,4	82,0 ± 50,9	54,8 ± 17,2	88,0 ± 20,2
KG	75,0 ± 6,6	106,2 ± 12,3	76,9 ± 35,7	75,4 ± 10,9	96,7 ± 11,6
MWVT 750 W	0,4	0,3	0,2	0,1	0,01
CA	88,3 ± 0,9	84,7 ± 4,4	45,2 ± 6,4	69,0 ± 15,8	149,5 ^b
PCG	91,3 ± 8,0	95,9 ± 7,0	44,4 ± 4,8	92,8 ± 17,5	58,0 ^b
PG	118,0 ± 27,4	80,2 ± 2,2	36,0 ± 0,7	67,7 ± 12,4	32,0 ^b
PMG	121,7 ± 39,0	78,7 ± 3,2	34,1 ± 1,1	67,6 ± 12,1	41,9 ^b
QGluA	91,5 ± 16,8	69,4 ± 0,1	31,0 ± 4,9	89,2 ± 26,3	100,4 ^b
KG	94,4 ± 17,2	72,0 ± 0,4	32,6 ± 4,3	89,4 ± 21,3	84,4 ^b

^a: n=3 (Erhalt ± Standardabweichung). ^b: n=1

GT: Gefriertrocknung. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung. CA: (+)-Catechin. PCG: p-Cumarsäure-Glucosid. PG: Pelargonidin-Glucosid. PMG: Pelargonidin-Malonyl-Glucosid. QGluA: Quercetin-Glucuronid. KG: Kämpferol-Glucosid

(LIN et al. 1998). Die Schrumpfung der Produkte, die während der HT besonders ausgeprägt ist, führt z.B. zu einer Konzentration der noch vorhandenen Pigmente, was wiederum zu einer Farbtintensivierung führen könnte, die dem Verlust der Farbe durch Zerstörung der Pigmente entgegenwirkt.

Aus der Gruppe der Flavanole wurde der Erhalt von EC in rotfleischigen Äpfeln und von CA in Erdbeeren untersucht. Während der GT und MWVT-Verfahren waren keine Verluste von CA und EC festzustellen. Im Fall der GT von rotfleischigen Äpfeln und MWVT mit 750 W von Erdbeeren lagen die Mengen an EC und CA bei 128 bzw. 150 % des Ausgangsgehaltes. Eine mögliche Erklärung stellt die Depolymerisierung von Proanthocyanidinen während der Trocknung dar, durch die EC und CA-Monomere freigesetzt werden. Diese wurde beispielsweise im Fall der GT von Sauerkirschen (WOJBYŁO et al. 2014) und Erdbeerhälften (WOJBYŁO et al. 2009) vermutet. Während der HT hingegen waren große Verluste an EC in rotfleischigen Äpfeln und CA in Erdbeeren zu beobachten, die bei höheren Temperaturen ausgeprägter waren und hauptsächlich in den späten Abschnitten der Trocknung auftraten. Diese Verluste können entweder durch einen Abbau der Verbindungen oder die Bildung von braun gefärbten Verbindungen im Rahmen der enzymatischen Bräunung bedingt sein. Die Flavonole QGluA und KG blieben bei allen untersuchten Verfahren zur Trocknung von Erdbeeren komplett erhalten. PZ und CS waren während der GT und MWVT von rotfleischigen Äpfeln stabil und wurden während der HT, unabhängig von der Trocknungstemperatur, moderat abgebaut. Die Verluste von PZ und CS in den frühen und mittleren Stadien der Trocknung deuten auf einen enzymatischen Abbau hin. Verluste der Verbindungen PCG und ZG wurden während den HT- und MWVT-Verfahren festgestellt, wobei eine höhere Mikrowellenleistung in größeren Verlusten von PCG und ZG resultierte. Die Verluste am Ende der Trocknung deuten auf einen thermisch begünstigten Abbau hin.

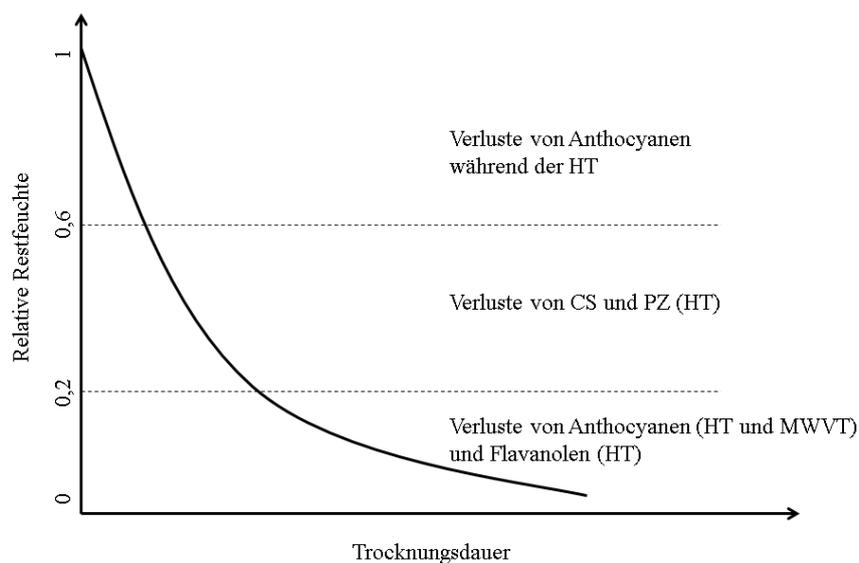


Abbildung 24: Schematische Darstellung der Verluste an phenolischen Verbindungen während der Trocknung von rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren.

4.2 Untersuchung des Erhalts relevanter Inhaltsstoffe und der Bildung von 3-Desoxyglucoson während unterschiedlicher Trocknungsverfahren

4.2.1.5 Zusammenfassung Einzelverfahren

Im Vergleich der Trocknungsverfahren findet, wie zu erwarten, während der HT-Verfahren der stärkste Abbau von Inhaltsstoffen statt. Diese Verluste sind in den hohen Temperaturen bei gleichzeitiger Anwesenheit von Sauerstoff begründet. Bei der GT, welche oft als Referenzmethode für den Erhalt der Inhaltsstoffe verwendet wird, war kein Abbau aller untersuchten Inhaltsstoffe feststellbar. Auch die MWVT-Verfahren sind als positiv für den Erhalt der Inhaltsstoffe zu bewerten, da lediglich während der Trocknung von Erdbeeren mit hohem Energieeintrag von 750 W ein Abbau von AS, Anthocyanen und Hydroxyzimtsäurederivaten festzustellen war. Die durch die geringen Drücke bedingten niedrigen Produkttemperaturen, die Minimierung des Sauerstoffgehaltes und die kurzen Trocknungszeiten tragen zum Erhalt der Inhaltsstoffe bei.

Die untersuchten Verbindungen wiesen unterschiedliche Stabilitäten während der Trocknungsverfahren auf. AS und die Anthocyane waren die Verbindungen, bei denen die größten Verluste nach der Trocknung festgestellt wurden, wobei diese in etwa gleichen Maße abgebaut wurden. Das Anthocyan CGal im Apfel war außerdem stabiler als PG und PMG in Erdbeeren, in Modellstudien hingegen wurde das Gegenteil gezeigt (SADILOVA et al. 2007). Im Fall der MWVT-750 W beispielsweise wurden die Anthocyane PG und PMG in den Erdbeeren deutlich stärker abgebaut als CGal im Apfel. Eine Korrelation der Farbwerte im RGB-Farbraum mit dem Anthocyanengehalt über den Verlauf der Trocknung ist im Fall der Trocknung von Äpfeln und Erdbeeren nicht gegeben. Die Dichte und Struktur der Produkte hat wahrscheinlich einen größeren Einfluss auf die Farbe der als der Anthocyanengehalt. CS und PZ im Apfel wurden während der HT-Verfahren, abhängig von der Trocknungstemperatur, moderat abgebaut. Die Flavanole QGluA und KG sowie PCG aus Erdbeeren waren in allen untersuchten Trocknungsverfahren stabil. Die Flavanole, von denen EC im Apfel und CA in der Erdbeere untersucht wurden, wurden abhängig von der Trocknungstemperatur während der HT-Verfahren abgebaut. Die Zunahme des Gehaltes an EC bei der MWVT-750 W in Erdbeeren könnte in einer Depolymerisation von Proanthocyanidinen, bei der EC freigesetzt wird, begründet sein. Eine verstärkte Bildung von 3-DG konnte in den Trocknungsverfahren mit hohem Energieeintrag (HT bei 105 °C, MWVT-750 W) festgestellt werden und erfolgte vornehmlich im letzten Stadium der Trocknung. Der Vergleich der 3-DG-Gehalte der MWVT- und HT-Verfahren lässt vermuten, dass die Bildung hauptsächlich von den vorherrschenden Temperaturen im Produkt und weniger von der Dauer der Trocknung abhängig ist, was in Übereinklang mit Literaturdaten zur Erhitzung von Honig ist (WEIGEL et al. 2004). Daher kann die gebildete Menge von 3-DG möglicherweise als Indikator für die Temperaturbelastung während einer Trocknung verwendet werden.

Für die Entwicklung von Kombinationsverfahren, die einen verbesserten Inhaltsstoffgehalt zum Ziel haben, können aus den Daten zu den Einzelverfahren Rückschlüsse gezogen werden. Der Abbau der Inhaltsstoffe findet vorwiegend im letzten Abschnitt der HT und MWVT (nur mit 750 W Energieeintrag) statt. Eine Kombination aus einer HT mit einem schonenderen Verfahren sollte daher zu einem besseren Inhaltsstoffgehalt führen. Die möglichen Kombinationen sind hierbei HT-GT oder HT-MWVT, wobei der Wechsel auf das zweite Verfahren spätestens bei einer relativen Restfeuchte von 0,2 beim Apfel bzw. 0,3 bei Erdbeeren erfolgen sollte. Die Kombinationen aus einer GT mit einer

anschließenden MWVT oder HT sind aus technologischer Sicht relevant, da Produkte mit ähnlichen Eigenschaften wie rein gefriergetrocknete Produkte, jedoch in deutlich kürzerer Zeit, erhalten werden können. Den Inhaltsstoffgehalt betreffend, sollte die Kombination GT-MWVT bei niedrigen Energieeinträgen zu keinem Verlust von Inhaltsstoffen führen. Die Kombination GT-HT hingegen könnte zu Verlusten von Inhaltsstoffen führen, da die für die Inhaltsstoffe als nachteilig zu bewertenden TA nicht umgangen werden. Inwiefern der Inhaltsstoffgehalt im zweiten Verfahren durch die teilweise Trocknung mit dem ersten Verfahren beeinflusst wird, soll außerdem betrachtet werden. Die Kruste, die während der HT gebildet wird, wirkt als Diffusionsbarriere und führt bei der Trocknung von Karottenscheiben zu einer Verringerung der Trocknungsgeschwindigkeit des zweiten Verfahrens im Vergleich zum Einzelverfahren (SIEBERT et al. 2018a). Die verlangsamte Trocknungsgeschwindigkeit könnte wiederum, durch die damit verbundene Verlängerung der thermischen Belastung, den Verlust von Inhaltsstoffen während des zweiten Verfahrens begünstigen.

4.2.2 Kombinationsverfahren

Nach Untersuchung der Einzelverfahren hinsichtlich des Erhalts der Inhaltsstoffe wurden die gewonnenen Erkenntnisse genutzt, um gezielt Kombinationsverfahren zu entwickeln, die einen möglichst guten Erhalt der Inhaltsstoffe aufweisen. Neben dem Erhalt der Inhaltsstoffe stellt die Trocknungsdauer ein wichtiges Kriterium dar (Dauer der Kombinationsverfahren siehe Tabelle 51, Seite 219). Die Kombination GT-MWVT mit einem WP bei einer relativen Restfeuchte von 0,5 erwies sich hierbei als günstig, da eine Zeitersparnis von 62, 60 bzw. 70 % (Karotten, Äpfel, Erdbeeren) gegenüber der reinen GT erreicht wird. Die Zeitersparnis wird mit steigendem GT-Anteil geringer, bei einem geringeren GT-Anteil entsprechend höher. Auch die Kombination GT-HT führt bei Karotten und Äpfeln abhängig vom WP zu einer Zeitersparnis zwischen 29 und 37 % gegenüber der reinen GT. Die Kombination HT-MWVT ist sinnvoll, da der ineffiziente letzte TA der HT, mit dem effizienteren Verfahren der MWVT ersetzt wird. Mit dieser Kombination sind bei einem WP von 0,5 bei der Trocknung von Äpfeln und Karotten Zeitersparnisse von 39 bzw. 63 % im Vergleich zur reinen HT möglich. Die Verfahren, in denen eine GT als zweites Verfahren (HT-GT und MWVT-GT) eingesetzt wird, dauern etwa so lang wie eine reine GT. Der Grund hierfür ist die Abnahme der Trocknungsgeschwindigkeit der GT, wenn sie als zweites Verfahren nach einer HT oder MWVT eingesetzt wird (SIEBERT et al. 2018a). Diese Abnahme kann durch die Ausbildung von Produktstrukturen im ersten Verfahren erklärt werden, die den Transport des Wassers aus dem Produkt verlangsamen und damit zur Verringerung der Trocknungsgeschwindigkeit führen. Im Fall der HT von Karotten wurde z.B. gezeigt, dass die Kruste, bei einer relativen Restfeuchte von 0,5 beginnend, gebildet wird (SIEBERT et al. 2018b). Da diese Kombinationsverfahren keine Reduktion der Trocknungszeit ermöglichen, wären sie nur sinnvoll, wenn damit besondere Produkteigenschaften, z.B. struktureller Art, generiert werden können.

4.2 Untersuchung des Erhalts relevanter Inhaltsstoffe und der Bildung von 3-Desoxyglucoson während unterschiedlicher Trocknungsverfahren

4.2.2.1 Apfel

Für den rotfleischigen Apfel wurden die Kombinationen GT-MWVT, GT-HT, HT-GT, HT-MWVT und MWVT-GT bei verschiedenen WP untersucht (WP und Bedingungen siehe Tabelle 2, Seite 33). Der Erhalt der Inhaltsstoffe nach der Trocknung bei Einsatz der Kombinationsverfahren wurde denen, der Einzelverfahren gegenübergestellt. Beim Apfel wurden für die Kombinationsverfahren die HT bei 90 °C und die MWVT bei einem Energieeintrag von 500 W durchgeführt. Da Einzelverfahren mit diesen Bedingungen nicht durchgeführt wurden, erfolgt der Vergleich mit den Kombinationsverfahren mit der HT bei 70 und 105 °C bzw. MWVT mit 250 und 750 W Energieeintrag (siehe Abbildung 25).

Die Verfahren, die mit einer GT beginnen, sind vorteilhaft, da die poröse Struktur, die bei der GT gebildet wird, zu einer schnelleren Trocknung beim zweiten Verfahren führt, und Produkte erhalten werden, die ähnliche strukturelle Eigenschaften wie die Produkte, die mit einer reinen GT hergestellt werden, aufweisen (SIEBERT et al. 2018a). Die Inhaltsstoffe betreffend erwies sich die Kombination GT-HT als ungünstig, da, wie aus den Einzelverfahren zu erwarten war, ein starker Abbau der untersuchten Inhaltsstoffe festzustellen war. Im Erhalt von Gesamt-AS, CGal und CS während der HT bei 105 °C und der drei Kombinationen GT-HT (siehe Tabelle 17) war kein signifikanter Unterschied festzustellen. Der Einfluss des WP auf den Erhalt der Inhaltsstoffe ist sehr gering, da im Erhalt von Gesamt-AS, CGal und CS kein signifikanter Unterschied zwischen den Kombinationsverfahren feststellbar war. Die hohen Inhaltsstoffverluste sind darin begründet, dass der für den Erhalt der Inhaltsstoffe als nachteilig zu bewertende letzte Abschnitt der HT, in der der thermisch und/oder oxidativ bedingte Abbau der Inhaltsstoffe bevorzugt stattfindet, bei dieser Kombination nicht umgangen wird. Beim zweiten untersuchten Kombinationsverfahren mit einem Gefriervortrocknungsschritt, wurde die MWVT als zweites Verfahren eingesetzt (GT-MWVT). Der Erhalt aller untersuchten Verbindungen lag in den drei untersuchten Kombinationen mit unterschiedlichen WP jeweils oberhalb von 80 %. Daher ist die Kombination GT-MWVT als günstig hinsichtlich des Erhalts von Inhaltsstoffen zu bewerten. Im Erhalt der Inhaltsstoffe Gesamt-AS, CGal und CS waren keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zur GT und zu den beiden MWVT-Verfahren festzustellen. In einer Studie von Huang et al. (2009) wurde mit dem Kombinationsverfahren GT-MWVT sogar ein etwas besserer Erhalt von Gesamt-AS im Vergleich zur reinen GT festgestellt.

Von den Kombinationsverfahren, die mit einer GT enden, wurden die HT-GT und MWVT-GT jeweils bei einem WP von 0,5 untersucht. Alle untersuchten Inhaltsstoffe waren am Ende der Verfahren HT-0,5-GT und MWVT-0,5-GT nahezu vollständig erhalten, was sich im Fall der Kombination MWVT-0,5-GT mit Literaturdaten zum Erhalt von Gesamt-AS im Zuge der Trocknung von Apfelscheiben mit diesem Kombinationsverfahren deckt (CUI et al. 2008a). In einer anderen Studie hingegen war der Erhalt von Gesamt-AS während des Kombinationsverfahrens MWVT-0,9-GT im Vergleich zur Kombination GT-MWVT und zur reinen GT niedriger (HUANG et al. 2009). Da in der zweiten Studie der Verfahrenswechsel deutlich früher stattfindet, könnte die höhere Wasseraktivität enzymatisch bedingte Verluste von AS während des Verfahrenswechsels begünstigen. Im Fall der Kombination HT-0,5-GT konnte der für den Erhalt der Inhaltsstoffe als negativ zu bewertende letzte

Trocknungsabschnitt der HT umgangen werden. Für den Erhalt von Gesamt-AS, CGal und CS waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kombinationsverfahren und der reinen GT feststellbar. Da während der beiden HT-Einzelverfahren bei der relativen Restfeuchte von 0,5 bei welcher der Verfahrenswechsel stattfindet, im Fall der PP moderate Verluste festgestellt wurden, ist der Erhalt der PP im Kombinationsverfahren HT-0,5-GT besser als es anhand der Erkenntnisse der Einzelverfahren zu vermuten gewesen wäre. Diese Differenzen könnten durch die unterschiedlichen Ausgangsmaterialien begründet sein. Die Versuche der HT-Verfahren wurden im Jahr 2016, die Kombinationsverfahren im Jahr 2017 durchgeführt.

Die letzte untersuchte Kombination bestand aus einer HT gefolgt von einer MWVT. Aufgrund der Erkenntnisse der Einzelverfahren ist ein vollständiger Erhalt der Inhaltsstoffe zu erwarten, da der für den Inhaltsstoffgehalt kritische letzte Abschnitt der HT umgangen und durch eine MWVT ersetzt wird, bei der keine Verluste von Inhaltsstoffen auftreten. Der Erhalt von Gesamt-AS und CGal lag bei der Kombination HT-0,5-MWVT bei 63 bzw. 58 % und damit zwischen dem Erhalt der am Ende der HT bzw. der MWVT-Einzelverfahren festgestellt wurde. Es kann also eine Verbesserung des Inhaltsstoffgehalts im Vergleich zu den HT-Einzelverfahren erreicht werden. Da während des HT-Einzelverfahrens bis zu einer relativen Restfeuchte von 0,5 kein Abbau von Gesamt-AS stattfindet und auch während der MWVT Gesamt-AS erhalten bleibt, ist dieses Ergebnis trotzdem unerwartet. Der Grund für diesen unerwarteten Verlust von AS könnte eine Betrachtung des Temperaturverlaufs der Trocknung liefern (siehe Abbildung 46, Seite 218). Hier ist deutlich zu erkennen, dass die Produkte nach Beendigung der HT eine höhere Temperatur, im Vergleich zu beiden MWVT-Verfahren bei der gleichen relativen Restfeuchte, aufweisen. Die im Vergleich zum MWVT-Einzelverfahren erhöhte Temperatur begünstigt sehr wahrscheinlich den Abbau von Gesamt-AS.

4.2 Untersuchung des Erhalts relevanter Inhaltsstoffe und der Bildung von 3-Desoxyglucoson während unterschiedlicher Trocknungsverfahren

Tabelle 17: Vergleich der Mittelwerte (siehe Abbildung 25, n=3, außer anders gekennzeichnet) des Erhalts von Gesamt-Ascorbinsäure, Cyanidin-Galactosid und Chlorogensäure in mit verschiedenen Kombinations- und Einzel-trocknungsverfahren hergestellten rotfleischigen Äpfeln. Verfahren, die keinen gemeinsamen Buchstaben teilen, unterscheiden sich signifikant bezüglich des Mittelwertes des Erhalts des jeweiligen Inhaltsstoffes ($p < 0,95$).

Verfahren	Gesamt-Ascorbinsäure	Cyanidin-Galaktosid	Chlorogensäure
GT	ab	abc	abc
GT-0,5-HT	cde	abce	e
GT-0,7-HT ^a	de	ef	e
GT-0,9-HT	e	ef	e
GT-0,5-MWVT	ab	bc	bcd
GT-0,7-MWVT	ab	b	bcd
GT-0,9-MWVT	ab	bc	bcde
HT-105°C ^a	de	e	de
HT-70°C	cd	de	e
HT-0,5-GT ^b	a	bc	acd
HT-0,5-MWVT	bc	cdef	bcd
MWVT-0,5-GT ^a	ab	bc	abcd
MWVT-250W	ab	bcdf	a
MWVT-750W	a	bcdf	abcd

^a: n=2, ^b: n=4

GT: Gefriertrocknung. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung

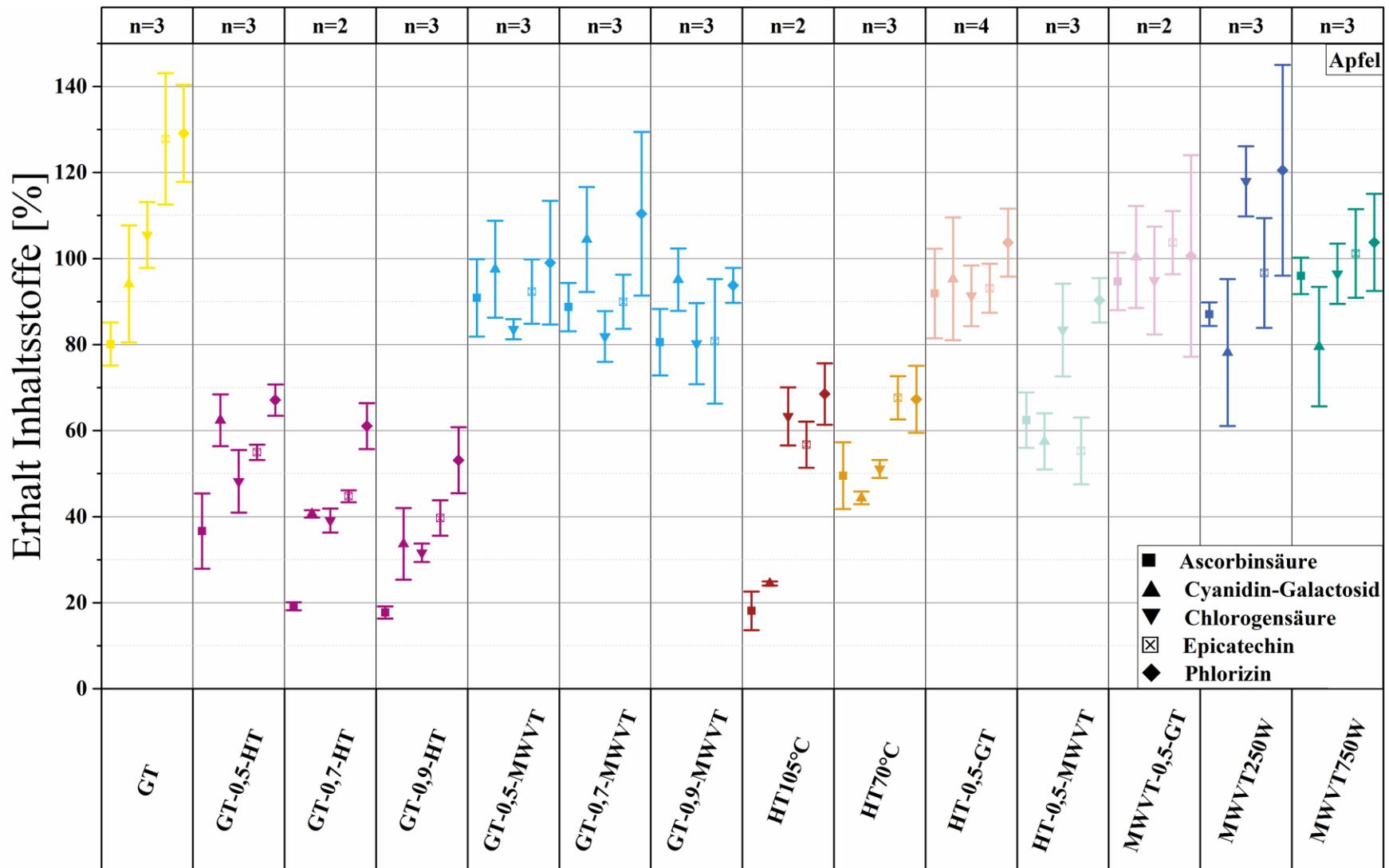


Abbildung 25: Erhalt von Gesamt-Ascorbinsäure und der phenolischen Verbindungen Cyanidin-3-O-Galactosid, Chlorogensäure, (-)-Epicatechin und Phlorizin in mit verschiedenen Kombinationsverfahren getrockneten rotfleischigen Apfelstücken. Der Erhalt ist in % des Ausgangsgehaltes des frischen Probenmaterials angegeben. Die Fehlerbalken sind als \pm Standardabweichung ($n > 3$) oder \pm Range/2 ($n = 2$) angegeben. GT: Gefriertrocknung. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung

4.2 Untersuchung des Erhalts relevanter Inhaltsstoffe und der Bildung von 3-Desoxyglucoson während unterschiedlicher Trocknungsverfahren

4.2.2.2 Erdbeere

Für die Erdbeere wurden die Kombinationen GT-MWVT, GT-HT und HT-MWVT untersucht. Da für die HT-MWVT-Versuche keine frischen Vergleichsproben zurückgelegt wurden, war eine Auswertung dieser Versuche hinsichtlich des Erhalts der Inhaltsstoffe nicht möglich. Aufgrund der kurzen saisonalen Verfügbarkeit der verwendeten Erdbeersorte wurden die Trocknungsversuche zweimal durchgeführt, weshalb kein statistischer Vergleich der Mittelwerte erfolgte. Trotzdem sollten mithilfe der in Doppelbestimmung gewonnenen Daten Tendenzen erörtert werden können.

Die Kombination GT-MWVT wurde bei drei WP von 0,2, 0,3 und 0,5 relativer Restfeuchte untersucht. Der Erhalt aller Inhaltsstoffe lag bei dem untersuchten Kombinationsverfahren höher als 70 %, was einen guten Erhalt der Inhaltsstoffe zeigt (siehe Abbildung 26). Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Inhaltsstoffe besser erhalten werden, wenn zu einem früheren Zeitpunkt der GT zur MWVT gewechselt wird. Da allerdings teilweise sehr große Abweichungen zwischen den Wiederholversuchen vorliegen, können keine eindeutigen Rückschlüsse gezogen werden.

Während des Kombinationsverfahrens GT-0,5-HT sind große Verluste an Gesamt-AS und den Anthocyanen feststellbar, die vergleichbar sind mit den Verlusten, die während der HT bei 70 °C auftreten. Die Verbindungen CA, PCG, QGluA und KG bleiben während des Kombinationsverfahrens nahezu vollständig erhalten. Der Erhalt von CA im Kombinationsverfahren ist dabei im Vergleich zu den reinen HT-Verfahren höher. Die Trocknung der Erdbeerscheiben mit dem Kombinationsverfahren GT-0,5-HT ist somit aufgrund der Verluste an Gesamt-AS und der Anthocyane als ungünstig zu beurteilen.

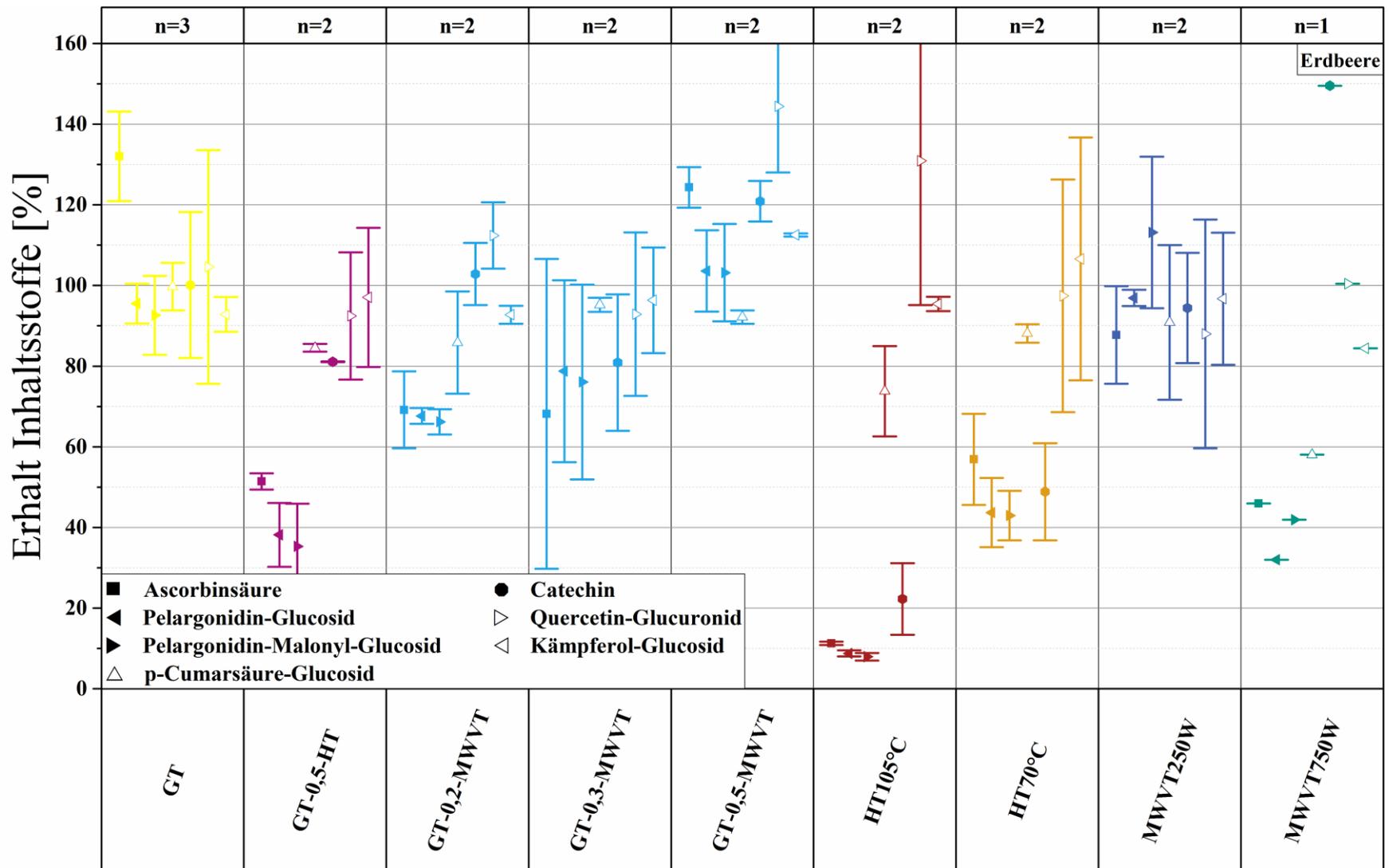


Abbildung 26: Erhalt von Gesamt-Ascorbinsäure und der phenolischen Verbindungen Pelargonidin-3-O-Glucosid, Pelargonidin-3-O-[6-O-Malonyl]-Glucosid, (+)-Catechin, *p*-Cumarsäure-Glucosid, Quercetin-3-O-Glucuronid und Kämpferol-3-O-Glucosid in mit verschiedenen Kombinationsverfahren getrockneten Erdbeerscheiben. Der Erhalt ist in % des Ausgangsgehaltes des frischen Probenmaterials angegeben. Die Fehlerbalken sind als \pm Range/2 ($n=2$) oder \pm Standardabweichung ($n=3$) angegeben. GT: Gefriertrocknung. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung

4.2 Untersuchung des Erhalts relevanter Inhaltsstoffe und der Bildung von 3-Desoxyglucoson während unterschiedlicher Trocknungsverfahren

4.2.2.3 Karotte

Zur Trocknung von Karotten wurden die Kombinationen GT-HT, GT-MWVT, HT-GT, MWVT-GT und HT-MWVT untersucht. Zusätzlich wurden im Rahmen der Kombinationsversuche die verwendeten Trocknungen als Einzelverfahren wiederholt, um den Erhalt der Inhaltsstoffe am Ende der Trocknung vergleichen zu können. Es wurden für jedes untersuchte Verfahren zwei Trocknungsversuche durchgeführt, weshalb kein Vergleich der Mittelwerte des Erhalts der Inhaltsstoffe durchgeführt wurde.

Mit den untersuchten Einzelverfahren wurden die Karottenscheiben mit HT bei 90 °C, GT und MWVT-750 W (15 mbar) vollständig getrocknet. Eine Untersuchung des Erhalts der Inhaltsstoffe über den Verlauf der drei Einzelverfahren wurde nicht wiederholt. Die größten Verluste wurden nach der HT festgestellt, hier blieben lediglich 52 % der ursprünglich enthaltenen Gesamt-AS nach der Trocknung erhalten (siehe Abbildung 27). Bei der GT und der MWVT-750 W wurde 78 bzw. 96 % der Gesamt-AS erhalten. Für α - und β -Carotin wurden während der Einzelverfahren lediglich leichte Verluste festgestellt, der Erhalt lag in allen Verfahren zwischen 73 und 91 %. Im Fall der MWVT-750 W wurden zudem bei der chromatographischen Analyse der Carotinoide verschiedene Peaks identifiziert, die verschiedenen Z-Isomeren von α - und β -Carotin entsprechen (SANDER et al. 1994). Der Nachweis der Z-Isomere ist allerdings rein qualitativer Natur. Die Isomerisierung der Carotinoide ist als nachteilig zu bewerten, da die Z-Isomere zum einen eine niedrigere Provitamin-A-Aktivität im Vergleich zu den all-E-Isomeren aufweisen und sie zum anderen weniger intensiv gefärbt sind, was sich negativ auf die Farbe der Produkte auswirken kann.

Beim Kombinationsverfahren GT-0,5-HT wurde ein nahezu vollständiger Abbau von Gesamt-AS (Erhalt von 4 %) festgestellt. Der Erhalt ist im Vergleich zur reinen HT bei 90 °C (Erhalt von 52 %) deutlich niedriger. Die Carotinoide α - und β -Carotin wurden mit 75 bzw. 77 % im Vergleich zu AS jedoch deutlich geringer abgebaut. Ein Grund für den starken Abbau von Gesamt-AS könnte die ungleichmäßige Trocknung der Karottenscheiben während der GT sein, die aus den zwei unterschiedlichen Geweben der Karotte resultiert. In der Mitte der Karottenscheiben befindet sich das Xylem, in welchem sich die Leitbündel für den Wassertransport befinden. Die äußere Schicht der Karottenscheibe besteht aus dem sekundären Phloem, das als Speichergewebe dient und in dem die Mehrzahl der Inhaltsstoffe lokalisiert ist (KADEREIT et al. 2014). Bei teilweise gefriergetrockneten Karottenscheiben konnte gezeigt werden, dass mit fortschreitender Trocknung die Mitte der Karottenscheibe (Xylem) vollständig getrocknet ist, während der Rand (Phloem) größtenteils noch gefroren vorliegt, also nur geringfügig getrocknet wurde (SIEBERT et al. 2019b). Diese ungleichmäßige Trocknung der Karottenscheibe könnte beim Kombinationsverfahren GT-0,5-HT dazu führen, dass nach dem Wechsel zur HT die Bereiche im Inneren der Karottenscheibe, im Vergleich zu den äußeren Bereichen, einer stärkeren thermischen Belastung ausgesetzt sind, da keine Kühlung durch verdampfendes Wasser stattfindet. Weiterhin könnte die durch das Einfrieren verursachte, teilweise Zerstörung der Zellkompartimente und dadurch bedingte Freisetzung von Enzymen, den enzymatischen Abbau von Gesamt-AS in den äußeren Schichten der Karottenscheibe während der HT begünstigen. Der hohe Wassergehalt in den äußeren Schichten könnte zusätzlich thermische Verluste von AS begünstigen, da in Modellversuchen gezeigt wurde, dass der thermische Abbau von Gesamt-

AS mit steigender Wasseraktivität beschleunigt wird (LEE and LABUZA 1975). Inwieweit die Ergebnisse der Modellversuche auf die hier durchgeführten Trocknungen übertragbar sind, ist jedoch unklar.

Bei der Kombination GT-MWVT wurden die WP bei einer relativen Restfeuchte von 0,2, 0,3, 0,5 und 0,7 untersucht. Der Erhalt von Gesamt-AS lag bei allen Verfahren, mit Ausnahme der GT-0,5-MWVT, zwischen 79 und 87 %, also zwischen denen der reinen GT und MWVT. Bei der Kombination GT-0,5-MWVT blieben 45 % Gesamt-AS am Ende der Trocknung erhalten. Es bleibt jedoch unklar, warum nur das Kombinationsverfahren GT-MWVT beim WP bei einer relativen Restfeuchte von 0,5 zu starken Verlusten an Gesamt-AS führt und nicht die übrigen Kombinationen bei WP von 0,2, 0,3 und 0,7. Möglicherweise wirkt sich die oben beschriebene ungleichmäßige Trocknung der Karottenscheiben nur beim WP von 0,5 besonders negativ auf den Erhalt von Gesamt-AS aus. Der Erhalt der Carotinoide lag bei den Kombinationen mit den WP von 0,2, 0,3 und 0,5 relativer Restfeuchte zwischen 69 und 79 % und damit etwas niedriger als bei beiden Einzelverfahren. Lediglich die Kombination GT-0,7-MWVT führte zu Erhalten von α - und β -Carotin von 91 und 84 %, die etwa den Erhalten der beiden Einzelverfahren entsprechen. Das Kombinationsverfahren GT-MWVT ist somit, mit Ausnahme des WP bei einer relativen Restfeuchte von 0,5, als günstig hinsichtlich des Erhalts von Gesamt-AS und der Carotinoide zu beurteilen. Mit dem Kombinationsverfahren GT-MWVT können Produkte mit ähnlichem Inhaltsstoffgehalt (Ausnahme GT-0,5-MWVT) wie rein gefriergetrocknete, in kürzerer Zeit hergestellt werden.

Die Kombination HT-GT wurde bei den WP mit einer relativen Restfeuchte von 0,3, 0,5 und 0,7 durchgeführt. Für den Erhalt von Gesamt-AS konnte kein eindeutiger Trend festgestellt werden (Erhalt von 61, 53 bzw. 71 %), jedoch war bei dem Verfahren mit dem größten Anteil an GT (HT-0,7-GT) der Erhalt am höchsten. Der Erhalt der Carotinoide lag bei Anwendung der drei WP zwischen dem Erhalt der Einzelverfahren GT und HT. Damit eignet sich das Kombinationsverfahren HT-GT zur Herstellung von Produkten mit gutem Inhaltsstoffgehalt. Da die Trocknungsdauer allerdings nur wenig kürzer ist als bei der reinen GT (siehe Tabelle 51, Seite 219) ist eine Verwendung des Kombinationsverfahrens HT-GT hinsichtlich des Erhalts der Inhaltsstoffe nur bedingt sinnvoll.

Bei der Kombination MWVT-0,5-GT zeigt sich ein ähnliches Bild wie bei der Kombination HT-GT. Gesamt-AS wird zu 45 % erhalten, α - und β -Carotin jeweils zu 69 und 80 %. Die Verluste von Gesamt-AS sind deutlich größer als in beiden Einzelverfahren. Da bei der reinen MWVT kein Abbau von Gesamt-AS stattfindet, ist unklar, an welchem Punkt des Verfahrens die Verluste auftreten. Möglicherweise findet der Abbau beim Transfer der Produkte vom Trockner zum Einfrieren bzw. während des Einfrierprozesses statt. Damit liegt der Erhalt der Inhaltsstoffe niedriger als in den beiden Einzelverfahren GT und MWVT. Im Vergleich zu Literaturdaten werden die Carotinoide zudem stärker abgebaut (CUI et al. 2008a). Die Unterschiede könnten dabei durch die Produktgeometrie (Dicke der Scheiben von 8 mm) oder das Ausgangsmaterial bedingt sein, da das Blanchieren von gelagerten Karotten zu größeren Verlusten an Gesamt-AS führte als bei frischen (SELMAN 1994).

Bei der Kombination HT-MWVT wurden vier WP bei relativen Restfeuchten von 0,1, 0,2, 0,3 und 0,5 untersucht. Der Erhalt von Gesamt-AS in den HT-MWVT-Verfahren mit WP 0,1 und 0,2 entsprach mit 60 und 46 % etwa dem Erhalt der reinen HT. Bei den Verfahren mit dem WP von 0,3 und 0,5 ist ein

4.2 Untersuchung des Erhalts relevanter Inhaltsstoffe und der Bildung von 3-Desoxyglucoson während unterschiedlicher Trocknungsverfahren

etwas besserer Erhalt von Gesamt-AS (Erhalt von 72 bzw. 71 als bei der reinen HT zu beobachten. Der Erhalt der Carotinoide in den Verfahren mit den WP von 0,2 und 0,3 lag bei 96 % und 102 % für α -Carotin und 85 % und 88 % für β -Carotin. Bei den Verfahren mit einem WP von 0,1 und 0,5 waren moderate Verluste festzustellen, der Erhalt lag bei 77 % bzw. 65 % für α -Carotin und 79 % bzw. 71 % für β -Carotin. Im Vergleich zur reinen HT wird eine Verbesserung des Erhalts der Carotinoide bei den Verfahren mit dem WP 0,2 und 0,3 erreicht. Für das Kombinationsverfahren HT-0,5-MWVT (HT bei 60 °C und MWVT 140 W) ist in der Literatur ein Erhalt von α - bzw. β -Carotin von 74 bzw. 71 % beschrieben (ZHAO et al. 2014), der trotz abweichender Prozessauslegung (Lufttemperatur der HT und Energieeintrag während MWVT) vergleichbar mit den hier erzielten Ergebnissen ist. Da mit dem Kombinationsverfahren HT-MWVT im Vergleich zur reinen HT eine deutliche Zeitersparnis (Trocknungsdauer siehe Tabelle 51, Seite 219) bei gleichem oder besserem Erhalt der Inhaltsstoffe erreicht werden kann, ist diese Kombination als günstig zu bewerten.

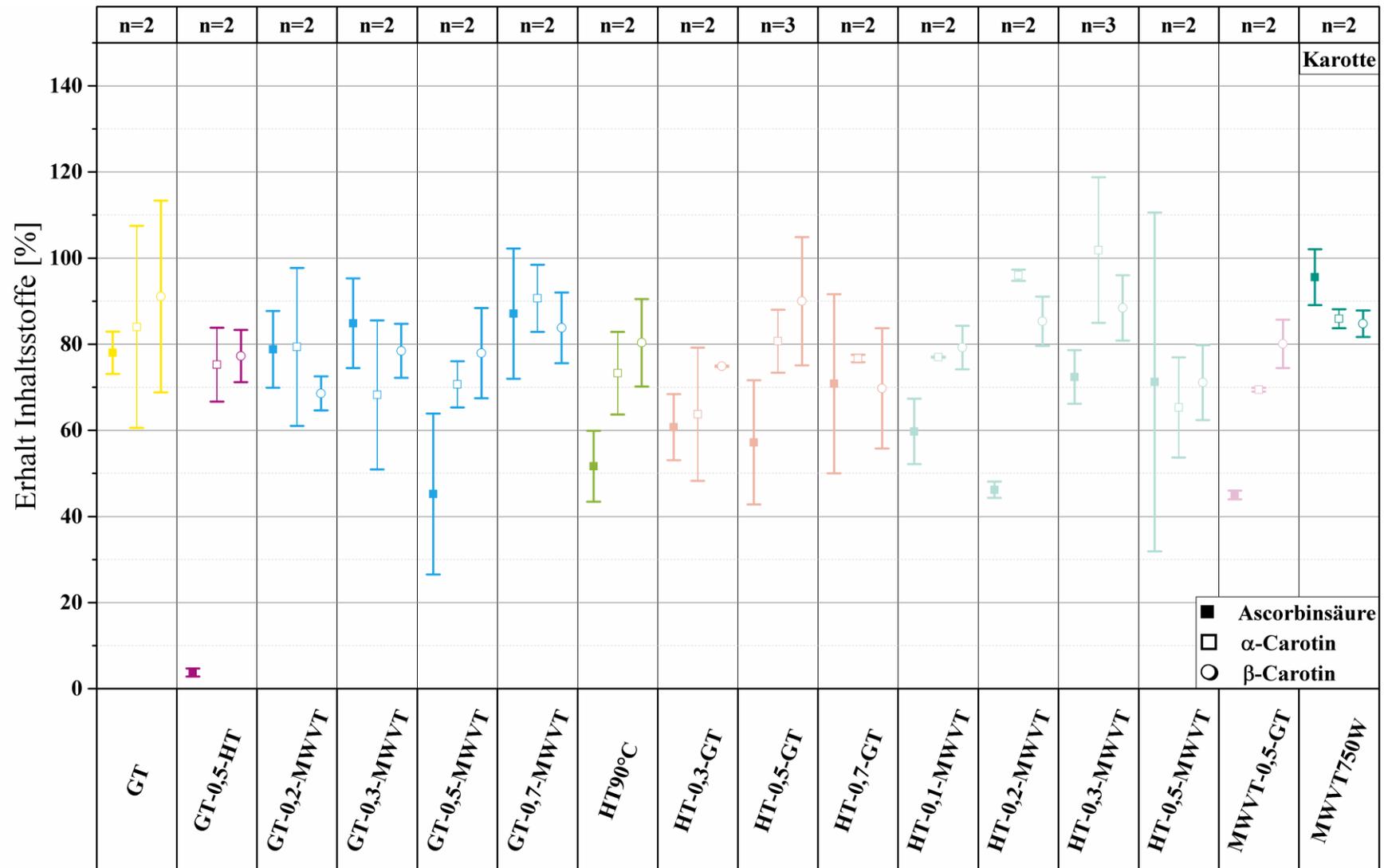


Abbildung 27: Erhalt von Gesamt-Ascorbinsäure und α- und β-Carotin in mit verschiedenen Kombinationsverfahren getrockneten Karottenscheiben. Der Erhalt ist in % des Ausgangsgehaltes des frischen Probenmaterials angegeben. Die Fehlerbalken sind als ± Range/2 (n=2) oder ± Standardabweichung (n=3) angegeben. GT: Gefriertrocknung. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumentrocknung

4.2 Untersuchung des Erhalts relevanter Inhaltsstoffe und der Bildung von 3-Desoxyglucoson während unterschiedlicher Trocknungsverfahren

4.2.2.4 3-Desoxyglucoson

Die Bildung von 3-DG wurde während der Kombinationsverfahren in Äpfel, Erdbeeren und Karotten untersucht (Ergebnisse siehe Tabelle 18). Bei Anwendung der GT-MWVT auf rotfleischige Äpfel werden kleine Mengen an 3-DG ($< 1 \text{ mg}/100\text{g}$) gebildet, die mit steigendem Anteil der MWVT leicht zunehmen. In Erdbeeren hingegen nehmen die Gehalte an 3-DG mit steigendem Anteil an MWVT ab, was den Ergebnissen bei Äpfeln entgegengesetzt ist. In Karotten wird während der Kombinationsverfahren GT-MWVT kein 3-DG gebildet. Im Fall der Kombination GT-HT wird analog zur Kombination GT-MWVT bei der Trocknung von rotfleischigen Äpfeln mit zunehmendem Anteil der HT mehr 3-DG gebildet. Die Gehalte der Kombinationsverfahren liegen zwischen den Gehalten an 3-DG, die nach der HT mit 70 bzw. 105 °C festgestellt werden. In Erdbeeren und Karotten wurde lediglich die Kombination GT-0,5-HT untersucht, wobei in beiden Fällen weniger 3-DG gebildet wird als bei den entsprechenden HT-Verfahren.

Tabelle 18: Gehalte an 3-Desoxyglucoson in mg/100 g in mit verschiedenen Kombinationsverfahren getrockneten rotfleischigen Apfelstücken (n=3), Karottenscheiben (n=2) und Erdbeerscheiben (n=2) außer anders gekennzeichnet. Die Gehalte sind auf die Trockenmasse des jeweiligen Ausgangsmaterials bezogen. Die Abweichung ist als \pm Standardabweichung (n \geq 3) oder \pm Range/2 (n=2) angegeben.

Apfel					
GT-0,5-HT	1,80 \pm 0,59	GT-0,5-MWVT	Spur	HT-0,5-GT	Spur ^a
GT-0,7-HT^a	3,28 \pm 0,30	GT-0,7-MWVT	0,63 \pm 0,79	HT-0,5-MWVT	6,45 \pm 3,97
GT-0,9-HT	3,34 \pm 0,15	GT-0,9-MWVT	0,78 \pm 1,05	MWVT-0,5-GT	Spur ^b
GT	Spur	HT-70 °C	Spur	HT-105 °C	6,15 \pm 2,56 ^b
MWVT-250 W	4,23 \pm 1,53	MWVT-750 W	2,72 \pm 3,25		
Karotte					
GT-0,2-MWVT	n.b.	HT-0,3-GT	n.b.	HT-0,1-MWVT	4,07 \pm 1,51
GT-0,3-MWVT	n.b.	HT-0,5-GT	n.b. ^c	HT-0,2-MWVT	8,42 \pm 0,49
GT-0,5-MWVT	n.b.	HT-0,7-GT	n.b.	HT-0,3-MWVT	11,71 \pm 4,95 ^c
GT-0,7-MWVT	Spur	MWVT-0,5-GT	Spur	HT-0,5-MWVT	8,94 \pm 4,56
GT-0,5-HT	0,45 \pm 0,12				
GT	n.b.	HT-90 °C	3,51 \pm 0,39	MWVT-750 W	23,84 \pm 0,28
Erdbeere					
GT-0,2-MWVT	8,93 \pm 0,48	GT	n.b. ^c		
GT-0,3-MWVT	8,38 \pm 7,11	HT-70 °C	3,16 \pm 0,30		
GT-0,5-MWVT	0,38 \pm 0,38	HT-105 °C	56,9 \pm 23,7		
GT-0,5-HT	8,64 \pm 0,97	MWVT-250 W	0,78 \pm 0,78		
		MWVT-750 W	22,64 ^d		

^a: n=4, Gehalt \pm Standardabweichung

^b: n=2, Gehalt \pm Range/2

^c: n=3, Gehalt \pm Standardabweichung

^d: n=1

GT: Gefriertrocknung. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung

Bei den Kombinationsverfahren, die mit einer GT enden (MWVT-GT und HT-GT), wird wie zu erwarten kein 3-DG in den getrockneten Produkten nachgewiesen. Das ist zu erklären, da 3-DG während der MWVT und HT von Karotten und rotfleischigen Äpfeln erst am Ende der Trocknung gebildet wird und diese Abschnitte beim Kombinationsverfahren umgangen werden (siehe Tabelle 14, Seite 80). Während der anschließenden GT bis zur vollständigen Trocknung wird aufgrund der niedrigen Temperaturen kein 3-DG gebildet. Die Kombination HT-0,5-MWVT führt bei rotfleischigen Äpfeln zu höheren bzw. gleichen 3-DG-Gehalten, werden diese mit der HT bei 105 °C bzw. den MWVT-Verfahren verglichen. Durch die HT sind, wie in Kapitel 4.2.2.1 beschrieben, die Produkttemperaturen beim WP höher als bei der reinen MWVT. Da die Temperaturen im weiteren Verlauf der MWVT, höher sind als im Einzelverfahren, wird die Bildung von 3-DG beschleunigt. Bei der Karotte können bei allen untersuchten Kombinationsverfahren HT-MWVT Gehalte an 3-DG festgestellt werden, die zwischen denen der beiden Einzelverfahren liegen. Mit zunehmendem Anteil an MWVT bei den WP zwischen 0,1 und 0,3 relativer Restfeuchte werden dabei zunehmende Gehalte an 3-DG festgestellt.

Die Bildung von 3-DG während der Kombinationsverfahren ist hauptsächlich abhängig vom zweiten Verfahren. Jedoch sind bei den Kombinationen GT-HT und GT-MWVT die Gehalte an 3-DG im Vergleich zum reinen Einzelverfahren HT und MWVT niedriger. Die poröse Struktur die während der GT entsteht, ermöglicht eine effizientere Trocknung während des zweiten Verfahrens. Dies wiederum vermindert die thermische Belastung der Produkte, was die verminderte Bildung von 3-DG in Kombinationsverfahren die einen ersten Gefriervortrocknungsschritt enthalten erklären könnte.

4.2.2.5 Zusammenfassung Kombinationsverfahren

Die Kombinationsverfahren, die mit einer GT enden (HT-GT und MWVT-GT), führen, analog zur reinen GT, zu Produkten, in denen die Inhaltsstoffe nahezu vollständig erhalten bleiben. Gleiches gilt für das Kombinationsverfahren GT-MWVT, an dieser wurde in allen drei Produkten nach der Trocknung ein sehr guter Erhalt der Inhaltsstoffe festgestellt. Zudem wurde mit dem Kombinationsverfahren GT-MWVT eine deutliche Zeitersparnis im Vergleich zur reinen GT erreicht. Die Trocknung mit dem Kombinationsverfahren GT-HT führte hingegen bei allen untersuchten Produkten (Apfel, Erdbeere Karotte) zu großen Inhaltsstoffverlusten. Der starke Abbau der Inhaltsstoffe ist ebenso bei den reinen HT-Verfahren zu beobachten. Das Kombinationsverfahren HT-MWVT führt lediglich im Fall der Trocknung von Äpfeln zu moderaten Inhaltsstoffverlusten. Die Verluste während dieses Verfahren waren unerwartet, da während der reinen MWVT-Verfahren zur Trocknung von Äpfeln kein Verlust von Inhaltsstoffen festgestellt wurde und während der HT bis zum verwendeten WP, anhand der Erkenntnisse der Einzelverfahren, keine Verluste erwartet wurden. In diesem Fall wurde der Inhaltsstoffgehalt während der MWVT durch die erhöhten Produkttemperaturen, die bei Beendigung der HT vorlagen, negativ beeinflusst.

Der Erhalt der Inhaltsstoffe während der Kombinationsverfahren wird somit fast ausschließlich vom zweiten Verfahren bestimmt, weshalb die Reihenfolge der Verfahren einen großen Einfluss hat. Diese Beobachtung deckt sich mit den Erkenntnissen, die anhand der Untersuchung der Einzelverfahren

4.2 Untersuchung des Erhalts relevanter Inhaltsstoffe und der Bildung von 3-Desoxyglucoson während unterschiedlicher Trocknungsverfahren

erhalten wurden, da festgestellt wurde, dass der Abbau der meisten Inhaltsstoffe größtenteils am Ende der Trocknung stattfindet. Die Relevanz der Reihenfolge der Verfahren wurde ebenso in der Studie zur Trocknung von Apfelstücken von Huang et al. (2009) festgestellt. Die Vorhersage des Erhalts der Inhaltsstoffe anhand der Erkenntnisse der Einzelverfahren trifft in allen Fällen zu, mit Ausnahme des Kombinationsverfahrens HT-MWVT für die Trocknung von Äpfeln. Es wurde zudem festgestellt, dass der WP zwischen relativen Restfeuchten von 0,9 bis 0,3 einen geringen Einfluss auf den Erhalt der Inhaltsstoffe hat, da der Verfahrenswechsel bei unterschiedlichen relativen Restfeuchten, nur zu geringen bzw. keinen Unterschieden im Erhalt der Inhaltsstoffe führte. Diese Erkenntnis deckt sich mit der Untersuchung des Kombinationsverfahrens GT-MWVT zur Trocknung von Äpfeln mit Anwendung unterschiedlicher WP (HUANG et al. 2009). Hierbei wurde wie in der vorliegenden Arbeit, nur ein geringer Unterschied im Erhalt von Vitamin C bei Anwendung unterschiedlicher WP beim Kombinationsverfahren GT-MWVT festgestellt.

4.2.3 Scale-Up- und Blanchier-Versuche zur Trocknung von Karotten

Um die Übertragbarkeit der Ergebnisse der Trocknung von Karotten auf industrielle Maßstäbe zu untersuchen, wurden Blanchier- und Scale-Up-Versuche zur Trocknung von Karotten durchgeführt. Die Versuche wurden mit Karotten durchgeführt, da sie das ganze Jahr über in ausreichenden Mengen zur Verfügung stehen und zudem einfach zu handhaben sind. Durch das Blanchieren sollte überprüft werden, ob ein typischer Probenvorbereitungsschritt der industriellen Verarbeitung den Erhalt der Inhaltsstoffe während der Trocknung beeinflusst. Der Einfluss des Blanchierens wurde sowohl bei den Trocknungsversuchen im Labormaßstab (GT, MWVT und GT-MWVT) als auch bei den Scale-Up-Versuchen untersucht. Für die Scale-Up-Versuche standen beim Kooperationspartner ein Heißluftbandtrockner und ein Gefriertrockner zur Verfügung, weshalb die Übertragbarkeit der Kombinationsverfahren HT-GT und GT-HT auf größere Maßstäbe, hinsichtlich des Erhalts der Inhaltsstoffe, untersucht wurde.

Zum Blanchieren der Proben wurden die Karottenscheiben für fünf Minuten in Wasser bei 95 °C getaucht. Die Carotinoide α - und β -Carotin waren nach dem Blanchieren nahezu vollständig erhalten (95 ± 17 bzw. 94 ± 17 %), zudem war keine Bildung von Z-Isomeren festzustellen. In der Literatur hingegen wurde beim Einmachen von Karotten die Bildung von Z-Isomeren mit einem Anteil bis zu 40 % beobachtet (LESSIN and SCHWARTZ 1997). Die Unterschiede sind wahrscheinlich auf die längeren Prozesszeiten und die damit verbundene höhere thermische Belastung zurückzuführen, die allerdings in der genannten Studie nicht angegeben sind. Gesamt-AS wurde während des Blanchierens zu etwa der Hälfte abgebaut (Erhalt von 57 ± 15 %). Die Verluste sind thermisch bedingt und/oder auf das Auslaugen von Gesamt-AS in das Wasser zurückzuführen. Zwischen den einzelnen Versuchen (n=11) waren große Unterschiede im Erhalt der Inhaltsstoffe zu beobachten. Dies kann möglicherweise auf unterschiedlich lange gelagertes Probenmaterial zurückzuführen sein, da gezeigt wurde, dass bei gelagerten Karotten die Verlust von Vitamin C während des Blanchierens höher sind als bei frischen (SELMAN 1994).

Bei Anwendung der Trocknungsversuche mit vorangegangenem Blanchierschritt wurde der Erhalt der Inhaltsstoffe auf das jeweilige frische Probenmaterial bezogen, der Blanchierschritt wird dadurch in die Berechnung einbezogen. Der Erhalt von Gesamt-AS liegt in allen untersuchten Verfahren (GT, MWVT, GT-MWVT) etwas höher als beim Blanchierschritt selbst, was auf einen vollständigen Erhalt während der Trocknung hindeutet (siehe Abbildung 28). Der Erhalt von α - und β -Carotin liegt für die GT und alle Kombinationsverfahren, die mit blanchierten Karotten durchgeführt wurden, zwischen 125 und 138 %. Bei der MWVT wurden α - und β -Carotin zu 106 und 107 % erhalten. Da der Erhalt bei den blanchierten Proben im Vergleich zu den nicht blanchierten deutlich höher liegt (Vergleich Abbildung 27, Seite 99), führt das Blanchieren möglicherweise zu einer besseren Freisetzung der Carotinoide aus der Matrix bei deren Extraktion. Dadurch können auch die Erhalte von deutlich über 100 % erklärt werden. Dies scheint plausibel, da das Einmachen von Karotten ebenso zu einer höheren Konzentration an Carotinoiden führte (LESSIN and SCHWARTZ 1997). Da keine Unterschiede im

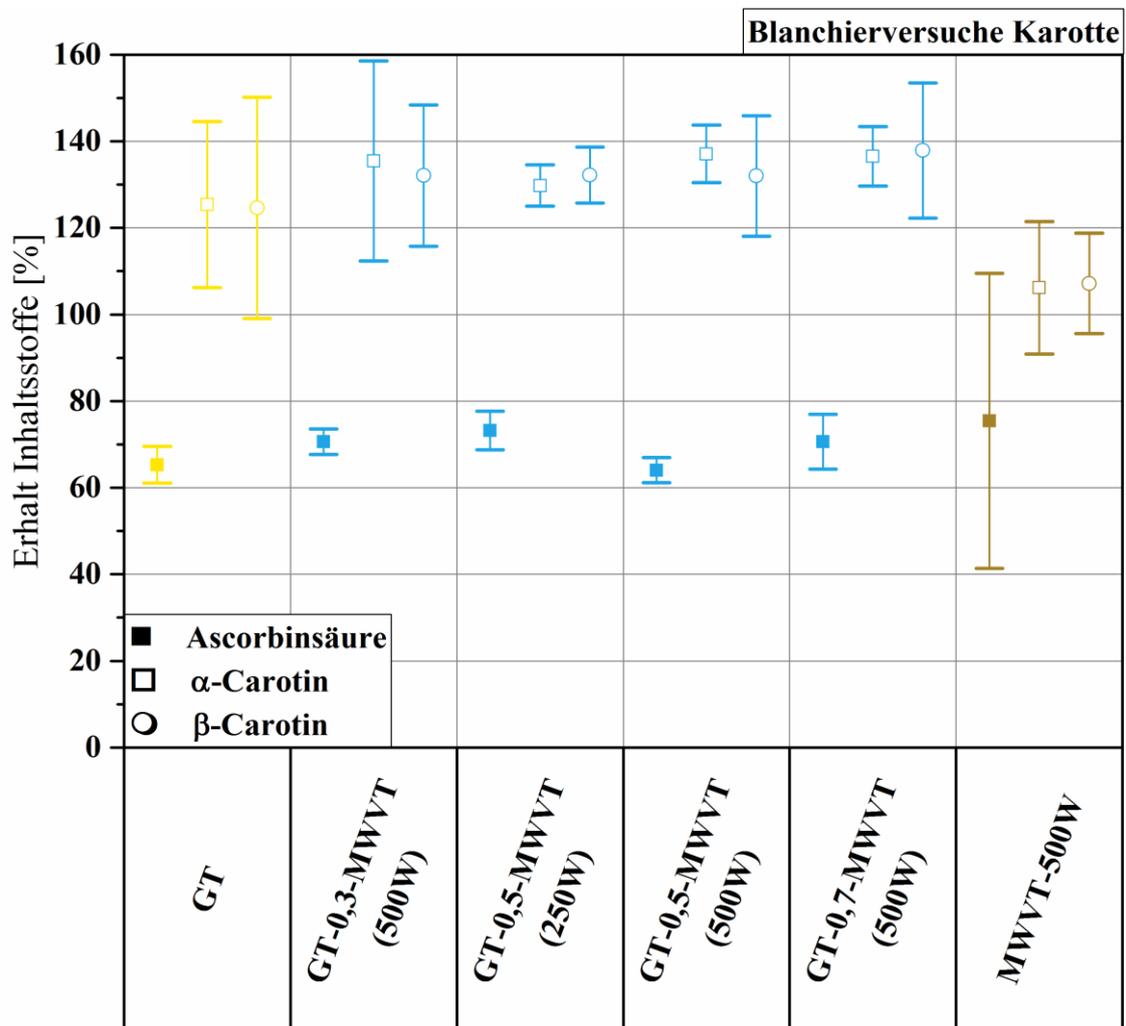


Abbildung 28: Erhalt von Gesamt-Ascorbinsäure, α - und β -Carotin während verschiedener Kombinationsverfahren aus GT und MWVT und den entsprechenden Einzelverfahren. Der Erhalt ist in % des Ausgangsgehaltes der frischen Probe angegeben. Die Fehler sind als \pm Standardabweichung angegeben (n=3, außer GT: n=4 und GT-0,5-MWVT 500W n=6). GT: Gefriertrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung

4.2 Untersuchung des Erhalts relevanter Inhaltsstoffe und der Bildung von 3-Desoxyglucoson während unterschiedlicher Trocknungsverfahren

Erhalt bei Anwendung verschiedener WP feststellbar waren, scheint dieser keinen nennenswerten Einfluss auf den Erhalt der Inhaltsstoffe zu haben. Im Vergleich zu den Versuchen, die ohne Blanchieren durchgeführt wurden (siehe Kapitel 4.2.2.3, Seite 96), sind die Erhalte in den blanchierten Karotten nach der Trocknung höher. Da jedoch in blanchierten und nicht blanchierten Karotten die Erhalte nach der Trocknung mit Kombinationsverfahren und GT gleich sind, wird der Erhalt während der Trocknung durch das Blanchieren nicht beeinflusst. 3-DG war, analog zu den Ergebnissen der nicht blanchierten Karotten, lediglich in den mit MWVT verarbeiteten Karotten nachweisbar (siehe Tabelle 20). Der Blanchierschritt hat daher lediglich einen geringen Einfluss auf die Bildung von 3-DG während der nachfolgenden Trocknung.

Die Scale-Up-Versuche wurden mit einem Bandtrockner durchgeführt, der im Kreuzstromverfahren arbeitet und im Vergleich zum Labortrockner einen höheren Luftstrom aufweist. Die Kapazität der großen Gefriertrocknungsanlage betrug etwa 5 kg, wobei das Produkt auf Blechen ausgebracht wurde, die von unten auf bis zu 30 °C beheizt wurden. Das Produkt wurde in einer Schicht aufgebracht, da sonst eine ungleichmäßige Trocknung stattfinden würde. Bei den Kombinationen, die mit einer GT enden, wurden die teilweise getrockneten Produkte direkt nach Beendigung der HT bei -20 °C eingefroren, um Verluste beim Wechsel des Verfahrens zu vermeiden. Insgesamt konnten die

Tabelle 19: Erhalt von Gesamt-Ascorbinsäure, α - und β -Carotin während der Scale-Up-Versuche mit verschiedenen Kombinationsverfahren aus Gefriertrocknung und Heißlufttrocknung. Der Erhalt ist in % des Ausgangsgehaltes der frischen Probe angegeben (n=1).

Verfahren		Gesamt-AS	α -Carotin	β -Carotin
GT-0,5-HT	Labormaßstab	15,3	74,2	57,9
	Scale-Up	Probe verloren		
	Scale-Up blanchiert	10,5	79,7	99,5
HT-0,3-GT	Labormaßstab	30,8	117,6	83,7
	Scale-Up	Probe verloren		
	Scale-Up blanchiert	101,6	136,3	167,8
HT-0,5-GT	Labormaßstab	67,3	113,2	89,1
	Scale-Up	50,5	102,2	107,9
	Scale-Up blanchiert	76,6	111,5	133,5
HT-0,7-GT	Labormaßstab	65,5	108,5	99,2
	Scale-Up	73,9	104,8	105,1
	Scale-Up blanchiert	87,0	110,8	135,5

GT: Gefriertrocknung. HT: Heißlufttrocknung. AS: Ascorbinsäure

Kombinationsverfahren erfolgreich auf die größeren Trocknungsanlagen übertragen werden, die Verfahrenswechsel waren problemlos realisierbar. Die untersuchten Kombinationsverfahren waren die GT-0,5-HT und HT-GT bei WP von 0,3, 0,5 und 0,7. Im Fall der Kombination GT-HT wurde nur ein WP untersucht, da durch Verwendung der HT als zweites Verfahren, ein starker Abbau der Inhaltsstoffe festgestellt wurde. Zur besseren Vergleichbarkeit der Labor- mit den Scale Up-

Versuchen, wurden die Versuche ohne Blanchieren mit dem Labortrockner wiederholt. Die Scale-Up-Versuche wurden mit blanchierten und nicht blanchierten Karottenscheiben durchgeführt. Im Fall der Scale-Up-Versuche ohne Blanchieren gingen die Proben der GT-0,5-HT und HT-0,3-GT verloren, weshalb hierfür keine Daten vorliegen.

Insgesamt ist der Erhalt in den Scale-Up-Versuchen mit blanchierten und nicht blanchierten Karotten vergleichbar oder höher als bei den Versuchen, die parallel im Labormaßstab durchgeführt wurden (Ergebnisse siehe Tabelle 19). Der höhere Erhalt der Carotinoide in den Scale-Up-Versuchen mit blanchierten Karotten im Vergleich zu den nicht blanchierten Karotten kann wie bereits oben beschrieben durch die verbesserte Freisetzung der Carotinoide aus der Matrix nach dem Blanchieren erklärt werden. Der Erhalt von Gesamt-AS in den Produkten, die mit den Scale-Up-Versuchen mit blanchierten Karotten unter Anwendung des Kombinationsverfahren HT-GT hergestellt wurden, lag bei Verwendung der WP 0,3, 0,5 und 0,7 jeweils höher als der Erhalt von Gesamt-AS beim Blanchieren selbst. Ebenso sind die geringeren Verluste von Gesamt-AS in den Scale-Up-Versuchen HT-GT (WP bei 0,3, 0,5 und 0,7) mit blanchierten Karotten im Vergleich zu den nicht blanchierten nicht plausibel, da der Blanchierschritt selbst zu Verlusten von 43 % an Gesamt-AS führt. Dieses Ergebnis könnte in nicht repräsentativen frischen Vergleichsproben für die Scale-Up-Versuche mit blanchierten Karotten begründet sein, letztlich bleiben die Gründe hierfür allerdings unklar. 3-DG wurde nach Anwendung der Kombinationstrocknungen im Labormaßstab und den Scale-Up-Versuchen in jeweils etwa den gleichen Mengen gefunden (siehe Tabelle 20), was auf eine ähnliche thermische Belastung der Produkte während den Trocknung hindeutet.

Tabelle 20: Gehalt an 3-Desoxyglucoson in mg/100 g (bezogen auf die Trockenmasse des jeweiligen frischen Ausgangsmaterials) in mit verschiedenen Trocknungsverfahren hergestellten Karottenscheiben. Es wurden Versuche mit blanchierten Karotten (n=3, außer anders gekennzeichnet) und Scale-Up-Versuche (n=1) durchgeführt. Die Abweichung im Fall der Blanchierversuche ist als \pm Standardabweichung angegeben.

Blanchierversuche					
GT	GT-0,3-MWVT (500W)	GT-0,5-MWVT (500W)	GT-0,7-MWVT (500W)	GT-0,5-MWVT (250W)	MWVT (500W)
n.b. ^a	n.b.	n.b. ^b	n.b.	n.b.	1,55 \pm 0,33

Scale-Up-Versuche				
	GT-0,5-HT	HT-0,3-GT	HT-0,5-GT	HT-0,7-GT
Labormaßstab	20,77	Spur	n.b.	n.b.
Scale-Up	Probe verloren	Probe verloren	n.b.	Spur
Scale-Up blanchiert	3,95	n.b.	0,29	Spur

^a: n=4, ^b: n=6

GT: Gefriertrocknung. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung

4.3 Untersuchung der Zellwandpolysaccharide von mit verschiedenen Verfahren getrockneten Äpfeln

Die durchgeführten Scale-Up-Versuche zur Überprüfung der Übertragbarkeit der entwickelten Kombinationsverfahren auf industrielle Maßstäbe konnten erfolgreich durchgeführt werden. In den Scale-Up-Versuchen wurden die untersuchten Inhaltsstoffe AS und Carotinoide in gleichem Maß oder besser erhalten als im Labormaßstab. Auch der Verfahrenswechsel konnte problemlos auf den größeren Trocknungsanlagen durchgeführt werden, was eine industrielle Nutzung zur Herstellung von Produkten mit verbessertem Inhaltsstoffgehalt oder zur Verkürzung der Trocknungsdauer möglich macht.

4.3 Untersuchung der Zellwandpolysaccharide von mit verschiedenen Verfahren getrockneten Äpfeln

Während der Trocknung von pflanzlichen Lebensmitteln finden starke Veränderungen der Textur statt. Diese werden zum Großteil durch den Wasserentzug verursacht, können allerdings auch aus Veränderungen in der Zusammensetzung der Zellwand-PS resultieren. Zellwand-PS stellen zudem einen Großteil des BS-Komplexes dar, weshalb die Veränderungen in den BS-Gehalten, die durch die Trocknung verursacht werden, von ernährungsphysiologischer Relevanz sind. Da die gesundheitsfördernden Effekte der BS außerdem stark von der Struktur abhängig sind (siehe Kapitel 1.3, Seite 12), ist die Kenntnis von Veränderungen der Zellwandzusammensetzung während der Trocknung von Bedeutung. Um den Einfluss der Trocknungsverfahren auf Zellwandpolysaccharide zu untersuchen, wurden die NSPS aus getrockneten rotfleischigen Äpfeln isoliert (ASPINALL and FANOUS 1984). Zudem wurden die Veränderungen im Ballaststoffgehalt und dessen Zusammensetzung untersucht (MCCLEARY 2019, MCCLEARY et al. 2015). Um die Unterschiede im Ausgangsmaterial auszugleichen, wurden zusätzlich die entsprechenden frischen Proben untersucht. Die Trocknung der rotfleischigen Äpfel wurde mit einer HT bei 70 und 105 °C, MWVT mit 250 und 750 W und dem Kombinationsverfahren GT-0,9-MWVT durchgeführt. Die Auswahl des aus technologischer Sicht vielversprechenden Kombinationsverfahren GT-0,9-MWVT erfolgte, da in kürzerer Zeit Produkte mit ähnlicher Qualität wie rein gefriergetrocknete erhalten werden können (ROTHER et al. 2011).

4.3.1 Analytischer Ballaststoffgehalt

Zur Untersuchung der Ballaststoffgehalte der frischen und getrockneten rotfleischigen Äpfel wurde eine Abwandlung der offiziellen Methode AOAC 2011.25 verwendet (MCCLEARY 2019, MCCLEARY et al. 2015), bei der zwischen UBS, LBS und NLBS unterschieden wird. In allen Proben konnten NLBS lediglich in sehr geringen, nicht quantifizierbaren Mengen detektiert werden, weshalb diese bei der Ergebnisdarstellung nicht berücksichtigt wurden. Der BS-Gehalt der fünf frischen Proben lag zwischen 1,87 und 2,30 g/100 g, was die Notwendigkeit einer Analyse der frischen Proben zur korrekten Beurteilung der trocknungsbedingten Veränderungen in den Zellwand-PS verdeutlicht (Absolut-Gehalte der Proben siehe Anhang Tabelle 54, Seite 222). In allen frischen Proben waren UBS in größeren Mengen als LBS vorhanden, was gut mit Literaturdaten von geschälten Äpfeln übereinstimmt (PASTELL et al. 2019).

Die Veränderungen in den Gehalten an UBS, LBS und der Gesamt-BS in den rotfleischigen Äpfeln während der Trocknung sind in Abbildung 29 dargestellt. Die HT bei 70 °C und 105 °C sowie die MWVT-250 W führten nur zu kleinen Veränderungen in den Gehalten. Hierbei war hauptsächlich eine Abnahme des Gehaltes an LBS von etwa 7 % im Fall der HT 105 °C und von 13 % im Fall der HT 70 °C und MWVT-250 W festzustellen. Bei der MWVT-250 W war gleichzeitig eine Zunahme des Gehaltes von UBS um 15 % zu beobachten. Der Gehalt der Gesamt-BS blieb in allen drei genannten Verfahren nahezu unverändert. Im Vergleich zur Literatur sind diese Ergebnisse unerwartet, da bei HT-Verfahren typischerweise eine Abnahme der Gehalte an hochmolekularem Zellwandmaterial beobachtet wurde, die mit steigender Trocknungstemperatur verstärkte (FEMENIA et al. 2009, FEMENIA et al. 2007, GARAU et al. 2007). Zudem wurde oft eine Erhöhung des Anteils an löslichen Pektinen bzw. eine Erhöhung der Löslichkeit des Zellwandisolats in Wasser festgestellt, was sich im Fall der hier verwendeten Methode in einer Zunahme der LBS oder NLBS widerspiegeln würde (CONTRERAS et al. 2007, FEMENIA et al. 2009, PLAT et al. 1991). Bei der MWVT-750 W und dem Kombinationsverfahren GT-0,9-MWVT war im Gegensatz zu den anderen Verfahren eine starke Zunahme der BS-Gehalte um 32 bzw. 40 % festzustellen. Dabei nehmen UBS und LBS in gleichem Maße zu, dementsprechend fand nicht nur eine Verschiebung in der Löslichkeit der BS-Komponenten statt. Die Erhöhung der LBS-Gehalte könnte in einer thermisch oder enzymatisch bedingten Erhöhung des Anteils an wasserlöslichen Pektinen begründet sein. Die Bildung von retrogradierter Stärke, die mit der verwendeten Methode zur Bestimmung des Ballaststoffgehaltes erfasst wird, könnte ein Grund für die Zunahme der UBS-Gehalte darstellen. Retrogradierte Stärke ist bei den Temperaturen die im Assay zur Isolierung der Ballaststoffe eingesetzt werden nicht wasserlöslich und wird daher als UBS erfasst (SAJILATA et al. 2006). Da die Erhöhung der UBS-Gehalte lediglich bei der MWVT-750 W und der Kombination GT-0,9-MWVT (500 W) und nur in geringem Maß bei der MWVT-250 W stattfand, deutet dies darauf hin, dass die Verkleisterung der Stärke, die für die Retrogradierung notwendig ist, nur bei den hohen Energieeinträgen bzw. Trocknungstemperaturen stattfand. Neben der Bildung von retrogradierter Stärke wäre außerdem die Bildung von resistenter Stärke Typ 2 denkbar. So könnte durch die Trocknung der Produkte die Stärke in eine eng gepackte und dehydrierte Form überführt worden sein, deren Zugänglichkeit für stärkespaltende Enzyme stark erniedrigt ist. Ein eindeutiger Nachweis von resistenter Stärke Typ 2 und retrogradierter Stärke könnte durch Behandlung der UBS mit thermostabiler α -Amylase bei hohen Temperaturen (95 °C) erfolgen. Wäre resistente Stärke vorhanden, würde sich dies in einer Verringerung der Menge an UBS bei gleichzeitiger Freisetzung von Glucose niederschlagen. Der Nachweis war allerdings nicht mehr möglich, da das gesamte Probenmaterial verwendet wurde und die isolierten UBS im Anschluss zur Bestimmung des Asche- und Restproteingehaltes verwendet wurden.

4.3 Untersuchung der Zellwandpolysaccharide von mit verschiedenen Verfahren getrockneten Äpfeln

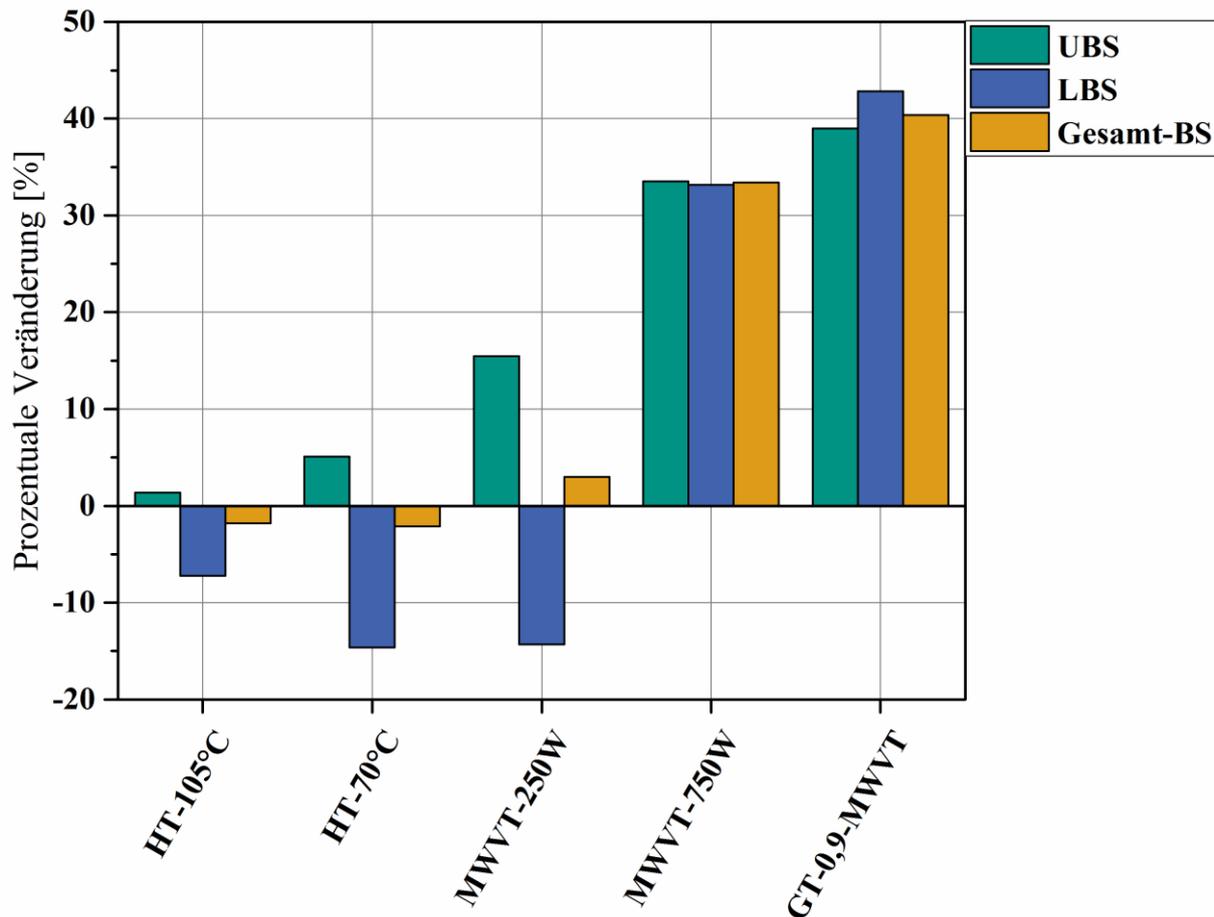


Abbildung 29: Prozentuale Veränderung des Ballaststoffgehaltes von rotfleischigen Äpfeln während der Trocknung mit unterschiedlichen Verfahren in Prozent des Ballaststoffgehaltes bezogen auf das Ausgangsmaterial. GT: Gefriertrocknung. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung. UBS: Unlösliche Ballaststoffe. LBS: Lösliche Ballaststoffe. BS: Ballaststoffe

4.3.2 Untersuchung der Monosaccharidzusammensetzung

Um Veränderungen in den Anteilen der PS während der Trocknung zu bestimmen, wurden die MSZ der zuvor isolierten NSPS der frischen und mit verschiedenen Verfahren getrockneten rotfleischigen Äpfel untersucht. Die durch Säurehydrolyse freigesetzten Monosaccharide wurden mittels HPAEC-PAD analysiert. In Abbildung 30 sind die relativen Anteile der Monosaccharide in den NSPS der frischen und mit unterschiedlichen Verfahren getrockneten rotfleischigen Äpfeln dargestellt. Um möglichst alle PS zu erfassen, wurden eine H_2SO_4 -Hydrolyse und Methanolyse mit anschließender TFE-Hydrolyse durchgeführt (siehe Kapitel 3.6.1, Seite 41).

Durch Anwendung der H_2SO_4 -Hydrolyse wurde aus allen untersuchten Proben hauptsächlich Glucose freigesetzt, die vermutlich überwiegend aus Cellulose stammt. Weitere in größeren Anteilen vorliegende Monosaccharide, sind Galactose, Arabinose und Galacturonsäure. Diese lagen in ähnlichen Anteilen vor und werden hauptsächlich aus Pektinen, genauer HG und RG-I (Galacturonsäure) und den Arabinanen und Galactanen, die an RG-I gebunden vorliegen, freigesetzt.

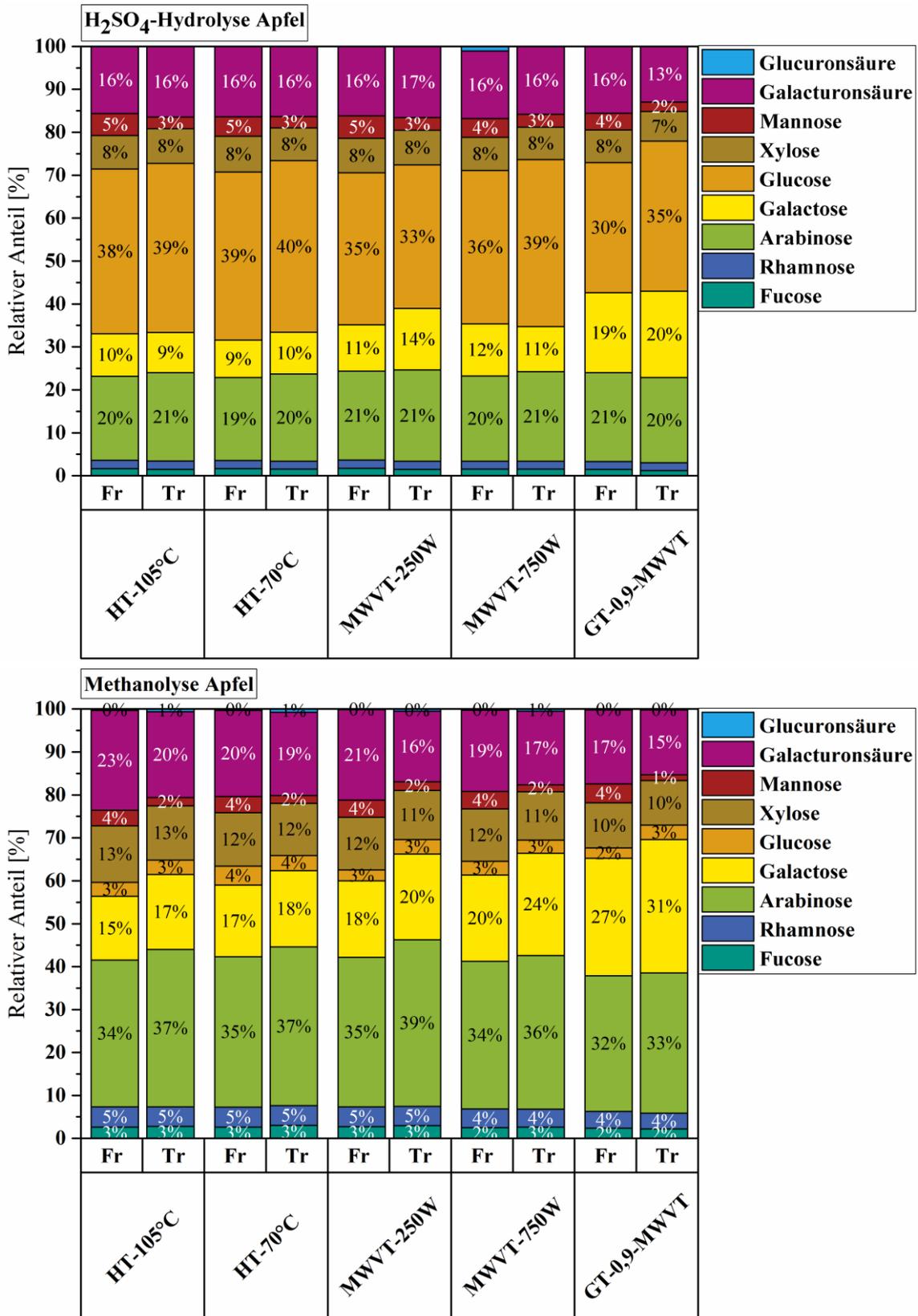


Abbildung 30: Monosaccharidzusammensetzung von mit verschiedenen Verfahren getrockneten rotfleischigen Äpfeln und den entsprechenden frischen rotfleischigen Äpfeln. Die Monosaccharidzusammensetzung wurde nach H₂SO₄-Hydrolyse (oben) und Methanolyse mit anschließender Trifluoressigsäure-Hydrolyse (unten) bestimmt. Die nach H₂SO₄-Hydrolyse bestimmten Anteile an Rhamnose, Fucose und Glucuronsäure liegen zwischen ein und zwei Prozent. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung. GT: Gefriertrocknung. Fr: Frisch. Tr: Trocken

4.3 Untersuchung der Zellwandpolysaccharide von mit verschiedenen Verfahren getrockneten Äpfeln

Daneben wurden geringe Anteile an Rhamnose, Xylose, Mannose und Fucose detektiert. Die hohen Anteile von Arabinose und Galactose im Vergleich zu Rhamnose deuteten auf relativ lange Arabinan- und Galactan-Seitenketten hin, wobei die Arabinane gegenüber den Galactanen etwas überwiegen. Das Vorkommen von Xylose kann hauptsächlich auf die Anwesenheit von XG, XGA und/oder linearen Xylanen zurückgeführt werden. Die stark abweichende MSZ nach Methanolyse im Vergleich zur H₂SO₄-Hydrolyse resultiert aus der fehlenden Spaltung von Cellulose. Daher wurde Glucose in allen Proben lediglich mit einem geringen Anteil zwischen 2 und 4 % detektiert, was auf das Vorliegen von XG hindeutet. Jedoch kann angenommen werden, dass die Anteile an Uronsäuren und Desoxyhexosen repräsentativ abgebildet werden. Die Anteile an Galacturonsäure waren im Vergleich zur H₂SO₄-Hydrolyse etwa gleich oder nur leicht erhöht. Die nach Methanolyse bestimmten Anteile an Rhamnose waren im Vergleich zu den nach H₂SO₄-Hydrolyse bestimmten Anteilen höher, was auf ein Verhältnis von HG zu RG-I von etwa 1:3 schließen lässt. Die während dieser Versuche bestimmte MSZ zeigte sehr gute Übereinstimmung mit bereits in der Literatur für Äpfel beschriebenen MSZ (ASPINALL and FANOUS 1984, CHASSAGNE-BERCES et al. 2009, WEFERS et al. 2018). Anhand der Daten der MSZ ließ sich folgern, dass die rotfleischige Apfelsorte Baya Marisa eine ähnliche Zusammensetzung der Zellwand-PS wie herkömmliche Äpfel aufweist.

Anhand der MSZ konnte zwischen den frischen und getrockneten Proben bei keinem Verfahren ein substantieller Unterschied festgestellt werden. Daher ließen die Ergebnisse der MSZ nicht auf deutliche Veränderungen in der Zusammensetzung der Zellwand-PS während der untersuchten Trocknungsverfahren schließen. Die Auswirkungen von Trocknungsverfahren auf die MSZ von Zellwandisolaten wurden bisher in der Literatur unterschiedlich beschrieben. In Apfel-Würfeln wurde beispielsweise, im Gegensatz zu den vorliegenden Ergebnissen, nach einer HT bei 60 °C eine Abnahme der Anteile an Arabinose und Xylose bei gleichzeitiger Erhöhung der Anteile von Glucose und Galacturonsäure beobachtet (DALMAU et al. 2017). Die HT von Kiwi-Würfeln bei 90 °C führte zu einer leichten Verringerung des Anteils an Arabinose, wobei gleichzeitig eine Zunahme des Glucose-Anteils festgestellt wurde (FEMENIA et al. 2009). Die HT von Ananas bei verschiedenen Temperaturen (40, 60 und 80 °C) führte hingegen zu keinen nennenswerten Verschiebungen in der MSZ im Vergleich zur frischen Probe (FEMENIA et al. 2007). Hierbei ist allerdings zu beachten, dass zwar die relativen Anteile konstant bleiben, die Gehalte an Arabinose, Galactose, Xylose und Uronsäuren bezogen auf das Zellwandisolat jedoch leicht abnehmen. Auch durch das Einfrieren der Äpfel, was beim Kombinationsverfahren GT-0,9-MWVT nötig ist, entstanden keine Veränderungen in der Zusammensetzung der Zellwand-PS (CHASSAGNE-BERCES et al. 2009). Die auf Trocknung beruhenden Veränderungen in der MSZ scheinen somit vor allem vom Produkt abhängig zu sein. Die hier nur wenig ausgeprägten Veränderungen in der MSZ lassen vermuten, dass die Zellwand-PS durch die verschiedenen Trocknungsverfahren nicht oder nur geringfügig verändert werden.

4.3.3 Analyse der Polysaccharidbindungsverhältnisse (Methylierungsanalyse)

Durch die Analyse der Bindungsverhältnisse können detaillierte Informationen über die Art der Verknüpfung der Monomereinheiten in den PS der Zellwände erhalten werden. Dadurch können potentiell während der Trocknung der rotfleischigen Äpfel entstehende Veränderungen in den Zellwand-PS erfasst werden. Die Ergebnisse sind semiquantitativer Natur und als relative Anteile angegeben. In Tabelle 21 sind die Anteile der unterschiedlich gebundenen Monomereinheiten dargestellt. Hierbei ist anzumerken, dass die Uronsäuren mit der verwendeten Methode nicht analysiert wurden, sodass die Verhältnisse nicht direkt mit der MSZ vergleichbar sind. Auffällig ist dennoch der insgesamt niedrigere Anteil an Galactose im Vergleich zur MSZ. Hier liegt offenbar eine Unterbestimmung der Galactoseeinheiten vor, die in einer unvollständigen Spaltung der entsprechenden PS oder der Unterbestimmung der entsprechenden PMAAs während der chromatographischen Bestimmung begründet sein kann (WEFERS and BUNZEL 2016b).

Das in allen untersuchten Proben hauptsächlich vorkommende PMAA stellt die 1,4-verknüpfte Glucopyranose dar, was auf das Vorliegen von Cellulose aber auch von XG hinweist. Wie im vorherigen Abschnitt beschrieben könnte die Bildung von resistenter Stärke für die Zunahme der Ballaststoffgehalte nach der Trocknung verantwortlich sein. Daher könnten die PMAAs die 1,4-verknüpfte Glucopyranose entsprechen auch aus Stärke stammen. Da allerdings eine thermostabile α -Amylase zur Isolierung der NSPS verwendet wurde, wäre durch die Trocknung gebildete resistente Stärke abgebaut worden. Die Anwesenheit von XG deutete sich durch geringe Glucose-Gehalte im Hydrolysat nach Methanolyse an und wird durch das Vorhandensein der 1,4,6-substituierten Glucopyranose (~7 % Anteil) bestätigt. Den XG können teilweise auch die terminalen Xylopyranose-Einheiten (~7 % Anteil) zugeordnet werden. Die Anwesenheit 1,4-substituierter Xylopyranoseeinheiten deutete weiterhin auf die Anwesenheit von Xylanen hin. Weitere Polymere die den Hemicellulosen zugeordnet werden konnten sind Mannane. Die terminalen, 1,4-verknüpften sowie 1,4,6-verknüpften Mannopyranosen können den Mannanen zugeordnet werden, die ebenfalls Teil der Hemicellulosen sein können. Die Ergebnisse der MSZ deuteten darauf hin, dass die Pektine der untersuchten rotfleischigen Äpfel aus großen Anteilen an HG und kurzen Abschnitten von RG-I bestehen (siehe Kapitel 4.3.2). Die PMAAs, die 1,2- und 1,2,4-substituierter Rhamnopyranose entsprechen, lagen in etwa gleichen Mengen vor, woraus sich schließen lässt, dass RG-I stark verzweigt mit neutralen Seitenketten vorliegt. Laut der MSZ lagen, mit Ausnahme der Proben des Kombinationsverfahrens GT-0,9-MWVT, mehr Arabinan- als Galactan-Seitenketten vor (Verhältnis Arabinose:Galactose etwa 2:1). Die hauptsächlich vorkommenden 1,5-verknüpften Arabinofuranosen und 1,4-verknüpften Galactopyranosen zeigen, dass die neutralen Seitenketten vorwiegend aus Arabinanen und Galactanen aufgebaut sind. Hierbei ist anzumerken, dass das aus 1,5-verknüpfte Arabinofuranose freigesetzte PMAA, identisch zu dem PMAA ist, das aus 1,4-verknüpfte Arabinopyranose resultieren würde, welche ein Strukturelement von Galactanen darstellt (HUISMAN et al. 2001, WEFERS et al. 2014). Die Annahme, dass ausschließlich 1,5-verknüpfte Arabinofuranose vorliegt, würde daher wahrscheinlich eine Überschätzung deren Anteile zur Folge haben. Eine Substitution des Arabinan-Rückgrats lag hauptsächlich an Position O-3 und weniger in Position O-2

4.3 Untersuchung der Zellwandpolysaccharide von mit verschiedenen Verfahren getrockneten Äpfeln

Tabelle 21: Prozentuale molare Anteile der glykosidischen Bindungen in den Nicht-Stärke-Polysacchariden von mit verschiedenen Verfahren getrockneten und den entsprechenden frischen rotfleischigen Äpfeln (n=2).

Anteil PMAA [mol%]	HT 105 °C		HT 70 °C		MWVT 750W		MWVT 250W		GT-0,9-MWVT	
	Fr	Tr	Fr	Tr	Fr	Tr	Fr	Tr	Fr	Tr
t-Araf	11,9	12,1	13,2	12,5	14,9	12,7	13,1	12,2	13,1	13,1
t-Arap	0,4	0,5	0,4	0,5	0,6	0,6	0,4	0,6	0,5	0,7
1,5-Araf / 1,4-Arap	8,4	8,3	8,9	7,7	10,6	8,0	8,7	8,1	8,5	8,1
1,2,5-Araf	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6
1,3,5-Araf	5,9	6,0	6,7	5,9	9,2	6,6	7,5	6,8	7,6	7,5
1,2,3,5-Araf	2,3	2,5	2,6	2,6	3,4	2,4	2,3	2,7	2,5	2,8
t-Xylp	7,3	8,0	7,3	7,8	7,7	7,5	7,4	7,7	7,1	7,6
1,4-Xylp	3,9	4,1	3,9	3,9	4,4	4,1	3,8	4,2	3,6	4,2
1,2-Rhap	0,5	0,6	0,5	0,4	0,4	0,5	0,6	0,5	0,5	0,4
1,2,4-Rhap	0,4	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,4	0,3
t-Galp	2,6	2,8	2,5	2,6	2,8	2,6	2,5	2,7	3,0	2,6
1,4-Galp	3,2	3,1	3,1	3,1	4,1	4,2	3,4	3,5	6,3	5,6
1,6-Galp	0,4	0,5	0,4	0,4	0,3	0,4	0,3	0,4	0,3	0,4
1,3,6-Galp	0,4	0,8	0,4	0,7	0,3	0,7	0,4	0,7	0,2	0,5
t-Manp	0,5	0,3	0,7	0,3	0,6	0,2	0,7	0,3	0,8	0,2
1,4-Manp	1,9	2,1	2,0	2,0	2,0	2,0	1,6	1,9	1,5	1,6
1,4,6-Manp	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3
t-Glcp	1,0	1,0	1,2	1,2	0,8	0,5	1,3	1,0	1,6	0,7
1,4-Glcp	40,7	38,4	37,6	39,8	29,0	37,1	37,4	38,5	34,9	35,2
1,4,6-Glcp	7,5	7,9	7,2	7,4	7,4	8,3	7,5	7,6	6,7	7,5

PMAA: Partiiell methyliertes Alditol-Acetat. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung. GT: Gefriertrocknung. Fr: Frisch. Tr: Trocken. t: terminal. f: Furanose. p: Pyranose. Ara: L-Arabinose. Xyl: D-Xylose. Rha: L-Rhamnose. Gal: D-Galactose. Man: D-Mannose. Glc: D-Glucose

vor (Verhältnis O-3:O-2 etwa 10:1). Zwischen den untersuchten frischen Proben waren dabei nur geringfügige Unterschiede feststellbar. Das PMAA, welches einer doppelt substituierten Arabinoseeinheit entspricht (1,2,3,5-Arabinofuranose), wurde in relativ großen Mengen gefunden (2,3 – 3,4 % relativer Anteil). Hierbei ist allerdings anzumerken, dass dieses PMAA auch aus einer teilweisen Untermethylierung resultieren kann und daher dessen Gehalte möglicherweise überschätzt wurden. Da jedoch die Anzahl an terminalen Arabinofuranoseeinheiten gut mit der Anzahl der Verknüpfungen übereinstimmt, ist wahrscheinlich nicht von einer Untermethylierung auszugehen. Es kann daher festgehalten werden, dass die Arabinane der untersuchten rotfleischigen Äpfel eine sehr komplexe Struktur aufweisen, die gut mit Strukturdaten aus der Literatur für herkömmliche und einen rotfleischigen Apfel in Einklang zu bringen ist (PEÑA and CARPITA 2004, WEFERS et al. 2018). Die oben erwähnte geringe Freisetzung von Galactose im Vergleich zur MSZ kann

wahrscheinlich auf eine unvollständige Spaltung oder Bestimmung der 1,4-verknüpften Galactoseeinheiten zurückgeführt werden, da terminale und 1,4-verknüpfte Galactose in fast gleichen Anteilen gefunden wurden. Die Anwesenheit von 1,6- und 1,3,6-verknüpften Galactopyranoseeinheiten deutet außerdem auf die Anwesenheit von Typ-II AG hin.

Beim Vergleich der frischen und getrockneten Proben konnten keine auf die Trocknung zurückzuführenden Veränderungen in den Bindungsverhältnissen festgestellt werden. Bei den Arabinanen, die als thermolabile Strukturelemente beschrieben werden (DE ROECK et al. 2008, SILA et al. 2006a), blieb das Verhältnis der Verzweigungen des Rückgrats an Position O-3 zu O-2 durch die Trocknung unverändert. Auch das Verhältnis zwischen linearen und verzweigten Abschnitten im Arabinan-Rückgrat war nach der Trocknung nahezu unverändert. Lediglich in der mit MWVT-750 W getrockneten und entsprechenden frischen Probe waren Änderungen in den relativen Anteilen der PMAAs festzustellen. Hierbei ist allerdings anzumerken, dass im Fall der frischen Probe der MWVT-750 W, in einem der beiden Ansätze ein deutlich geringerer Anteil des PMAA, das 1,4-substituierter Glucopyranose entspricht, festgestellt wurde. Dies wiederum deutet auf eine unvollständige Spaltung von Cellulose oder der in geringeren Anteilen vorliegenden XG hin. Eine Wiederholung der Probe wurde aufgrund der geringen Probenmenge und Zeitgründen nicht durchgeführt. Da die relativen Anteile bestimmt wurden, bewirkte die Verringerung des Anteils von 1,4-substituierter Glucopyranose eine gleichzeitige Erhöhung der Anteile aller weiteren Verbindungen. Dieser Effekt wird durch die Mittelwertbildung zwar relativiert, aber nicht aufgehoben. Die Unterschiede in der frischen und getrockneten Probe der MWVT-750 W sind demnach wahrscheinlich nicht auf die Trocknung zurückzuführen. Daher liegt der Schluss nahe, dass die auf kovalenten Bindungen beruhenden Strukturen der Zellwand-PS in den rotfleischigen Äpfeln nicht durch die angewendeten Trocknungsverfahren beeinflusst werden. In der Literatur konnten keine Daten gefunden werden, die die Bindungsverhältnisse der Zellwand-PS nach einer Trocknung beschreiben.

4.3.4 Weitergehende Analyse der Arabinane (Arabinan-Screening)

Durch die Analyse der mittels *endo*-Arabinanase freigesetzten OS können detaillierte Informationen über die Struktur der Arabinan-Seitenketten bzw. spezifische Strukturelemente erhalten werden (Strukturen der untersuchten Verbindungen siehe Abbildung 47, Seite 223) (WEFERS and BUNZEL 2016a). Viele der erhaltenen Informationen sind nicht über die Methylierungsanalyse zugänglich. Die Bestimmung der Strukturelemente der Arabinan-Seitenketten ist als semiquantitativ anzusehen, da die enzymatische Freisetzung der Arabinan-OS bedingt durch die komplexe Zellwandstruktur in aller Wahrscheinlichkeit nie vollständig ist. Daher werden die relativen Anteile der freigesetzten Arabinan-OS angegeben. Zu den untersuchten Verbindungen zählen ein 1,5-verknüpftes lineares Dimer (**A-2a**) und das entsprechende lineare Trimer (**A-3a**), welches eine zu geringe Aktivität des verwendeten Enzyms anzeigt. Die Verbindung **A-2b** besteht aus einer Arabinofuranose, an die in Position O-5 eine Xylopyranose gebunden ist. Die Verbindungen **A-4a** und **A-4b** sind aus drei 1,5-verknüpften Arabinoseeinheiten bestehende OS, welche an Position O-3 bzw. O-2 der mittleren Arabinoseeinheit mit einer weiteren Arabinoseeinheit substituiert sind. Verbindung **A-5a** repräsentiert einen

4.3 Untersuchung der Zellwandpolysaccharide von mit verschiedenen Verfahren getrockneten Äpfeln

Arabinanabschnitt, in dem das Rückgrat mit zwei Arabinoseeinheiten doppelt substituiert vorliegt. Dimere Seitenketten mit einer Arabinoseeinheit in β -Konfiguration liegen in den Verbindungen **A-5b** und **A-5c** vor, wobei die Seitenkette im Fall von **A-5b** und **A-5c** an Position *O*-3 bzw. *O*-2 gebunden vorliegt. Das OS **A-6a** repräsentiert einen Abschnitt, in dem zwei benachbarte Arabinoseeinheiten des Rückgrats verzweigt sind. Im Fall der Verbindung **A-7b** liegen zwei Arabinoseeinheiten des Rückgrats einfach substituiert vor, zwischen denen sich eine nicht substituierte Arabinoseeinheit befindet. Die Verbindung **A-7a** stellt einen hochverzweigten Abschnitt dar, in dem neben einer zweifach verzweigten Arabinoseeinheit des Rückgrats, eine einfach verzweigte zu finden ist. Größere und damit höher verzweigte OS mit mehr als sieben Arabinoseeinheiten werden nicht bestimmt und sind daher unterrepräsentiert. Verbindung **A-3b** enthält das gleiche Strukturelement wie Verbindung **A-4a**, nur ohne die Arabinoseeinheit am terminalen Ende. Gleiches trifft auch für die Verbindungen **A-6a** und **A-5d** sowie **A-7b** und **A-6b** zu. Die Verbindungen könnten Teile der Arabinanen verschiedener Pflanzen sein, allerdings können sie auch durch die Arabinofuranosidase-Seitenaktivität des Enzympräparats gebildet werden (Verbindungen siehe Abbildung 47, Seite 223).

Bei allen frischen Proben wurde hauptsächlich das Dimer **A-2a** freigesetzt, was auf große Anteile an linearen Abschnitten in den Arabinanen schließen lässt. Die Substitution des Arabinan-Rückgrats erfolgte hauptsächlich in Position *O*-3, da die entsprechenden OS (**A-3b**, **A-4a**, **A-5b**, **A-5d**, **A-6a** und **A-7b**) gegenüber den an Position *O*-2 substituierten OS (**A-4b** und **A-5c**) deutlich überwiegen. Diese Ergebnisse sind in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Methylierungsanalyse (siehe Kapitel 4.3.3). Im Vergleich zur Methylierungsanalyse wurden die doppelsubstituierten Arabinoseeinheiten (1,2,3,5-Araf) im Arabinan-Screening in deutlich geringeren Anteilen bestimmt. Das könnte entweder auf eine Untermethylierung in der Methylierungsanalyse oder eine reduzierte enzymatische Zugänglichkeit der hochsubstituierten Bereiche der Arabinane hinweisen. Zudem sind OS, die mehr als sieben Arabinoseeinheiten enthalten, nicht in die Methode integriert, weshalb große, hoch substituierte OS nicht detektiert werden können. Dies könnte ebenfalls zu Unterschieden zwischen den OS-Profilen und der Methylierungsanalyse führen. Die hier erhaltenen Daten zeigten gute Übereinstimmung mit Daten aus der Literatur für verschiedene Apfelsorten, die mit der identischen Methode untersucht wurden. Einzig die Verbindung **A-5c**, welche an Position *O*-2 eine dimere Seitenkette mit einer Arabinoseeinheit in β -Konfiguration enthält, war in den hier untersuchten frischen Proben zu etwa 1 % enthalten, während sie in der Literatur ausschließlich in den für acht Monate gelagerten Äpfeln nachgewiesen werden konnte (WEFERS et al. 2018).

Am Ende der untersuchten Trocknungsverfahren wurde bei allen Verfahren, mit Ausnahme des Kombinationsverfahrens GT-0,9-MWVT, eine Abnahme des Anteils an den Dimeren **A-2a** festgestellt (siehe Tabelle 22). Die Abnahme im Anteil der Verbindung **A-2a** war nach der HT (70 °C) besonders stark ausgeprägt. Hierbei wurden zudem hohe Anteile der Verbindungen **A-3a** (lineares Arabinose-Trimer) und **A-3b** bestimmt, was normalerweise auf eine experimentell bedingte geringere Aktivität des Enzyms endo-Arabinanase (**A-3a**) sowie eine erhöhte Arabinofuranosidase-Seitenaktivität (**A-3b**) hindeuten könnte. Jedoch lagen in den anderen getrockneten Proben geringere Anteile der Verbindungen **A-3a** und **A-3b** vor. Daher ist es denkbar, dass durch die HT (70 °C) Veränderungen in der Beschaffenheit der Zellwand stattgefunden haben, die die Spaltung der Verbindung **A-3a** zu **A-2a**

Tabelle 22: Prozentuale Anteile der enzymatisch freigesetzten Arabinan-Oligosaccharide in getrockneten und den entsprechenden frischen Proben (n=2) (Verbindungen siehe Abbildung 47, Seite 223). Die Abweichungen wurden als prozentuale Range/2 berechnet und lagen meist < 5 %. Lediglich im Fall der getrockneten Proben war die prozentuale Range/2 im Fall der Verbindungen **A-3a** und **A-3b** etwas höher.

Anteil Verbindung [%]	HT 105 °C		HT 70 °C		MWVT 750W		MWVT 250W		GT-0,9- MWVT	
	Fr	Tr	Fr	Tr	Fr	Tr	Fr	Tr	Fr	Tr
A-2a	75,0	65,2	72,5	49,6	72,1	68,5	72,4	70,3	64,8	70,7
A-3a	0,7	4,5	0,8	18,0	0,8	2,9	0,7	6,6	1,4	3,2
A-3b	1,5	8,7	1,6	16,9	1,6	4,6	1,6	3,9	1,9	n.d.
A-4a	12,0	10,9	13,1	9,7	13,5	12,2	13,1	9,5	16,2	16,5
A-4b	1,4	1,2	1,3	1,1	1,3	1,5	1,3	1,1	3,4	3,3
A-5a	0,9	2,1	1,0	3,7	1,1	2,5	1,0	1,3	2,2	0,9
A-5b	2,4	1,9	2,7	2,1	2,6	2,5	3,1	3,5	1,6	1,0
A-5c	1,1	2,3	0,9	n.d.	0,7	0,6	0,8	0,8	1,1	n.d.
A-5d	0,5	n.d.	0,5	n.d.	0,5	0,7	0,5	n.d.	n.d.	n.d.
A-6a	1,8	1,5	2,0	n.d.	2,2	1,7	2,2	1,2	2,6	1,2
A-6b	n.d.	n.d.	0,4	n.d.	0,4	n.d.	0,4	n.d.	n.d.	0,0
A-7b	2,7	1,8	3,1	n.d.	3,1	2,3	3,0	1,8	4,7	3,2
Verhältnis A-4a/A-4b	8,4	9,0	10,2	8,5	10,2	8,4	10,1	8,6	4,8	5,0

HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung. GT: Gefriertrocknung. Fr: Frisch. Tr: Trocken

verlangsamen. Außerdem wurde für alle Proben die gleiche Enzymlösung verwendet, weshalb die Enzymaktivität in allen Proben gleich sein sollte. Im Fall der Verbindung **A-3b** ist es zudem möglich, dass dieses aus Veränderungen der Arabinane während der Trocknung resultiert, da deren Vorkommen in den Arabinanen von manchen Pflanzen denkbar ist (WEFERS and BUNZEL 2016a). Klarheit könnte durch eine Inkubation mit höherer Enzymmenge geschaffen werden, da hierbei zumindest Verbindung **A-3a** (lineares Trimer) zu Verbindung **A-2a** abgebaut werden sollte. Das Verhältnis der Anteile der Verbindungen **A-4a** und **A-4b**, welches Aufschluss über das Verhältnis der Substitution des Arabinan-Rückgrats an Position *O*-3 bzw. *O*-2 gibt, wurde während der Trocknung nur bei Anwendung der HT (70 °C) und MWVT (250 W und 750 W) geringfügig verändert. Die leichte Verringerung der an Position *O*-3 verknüpften OS könnte einerseits in dem Abbau dieses Strukturelements begründet sein, andererseits aber auch durch die Zunahme der relativen Anteile anderer OS verursacht werden. Weiterhin kann nach der Trocknung bei allen Verfahren ein verringerter Anteil der hochsubstituierten OS (**A-5d**, **A-6a**, **A-6b**, **A-7a** und **A-7b**) festgestellt werden. Im Fall der HT bei 70 °C war der Effekt am stärksten ausgeprägt, da keine dieser Verbindungen nach der Trocknung im Vergleich zur frischen Probe freigesetzt wurde. Diese Ergebnisse deuteten auf einen Abbau der hochverzweigten Strukturelemente hin. Im Fall der HT bei 70 °C könnte dieser durch eine Aktivität des Enzyms α -L-Arabinofuranosidase bedingt sein, welches in der Lage ist terminale α -L-Arabinofuranose-Einheiten von Arabinanen abzuspalten. Da die Oberflächentemperatur während

4.3 Untersuchung der Zellwandpolysaccharide von mit verschiedenen Verfahren getrockneten Äpfeln

der HT (70 °C) auf maximal 50 °C anstieg (siehe Abbildung 45, Seite 216) ist es plausibel, dass das Enzym α -L-Arabinofuranosidase aktiv bleibt. Diese Annahme wird weiter unterstützt durch zwei Studien zur Inaktivierung von α -L-Arabinofuranosidase und anderen Enzymen in pürierten Karotten, Brokkoli und Tomaten. Die fünfminütige Behandlung bei 50 °C führte zur Reduktion der Aktivität um 60 % (Tomaten), 40 % (Karotten) und etwa 30 % (Brokkoli) (HOUBEN et al. 2013, HOUBEN et al. 2014). Eine vollständige Inaktivierung von α -L-Arabinofuranosidase in Karotten, Brokkoli und Tomaten konnte erst nach fünfminütiger Behandlung bei 80 °C erreicht werden. Da allerdings anhand der Methylierungsanalyse keine Veränderungen in den Anteilen der unterschiedlich verknüpften Arabinoseeinheiten festgestellt werden konnte, könnte ebenso eine Verschlechterung der enzymatischen Zugänglichkeit der Arabinane nach der Trocknung vorliegen.

4.3.5 Veresterungsgrad der Galacturonsäure aus Pektinen

Zur Bestimmung des Veresterungsgrades wurde der Galacturonsäuregehalt photometrisch (Kalibrierung siehe Abbildung 48, Seite 225, Gehalte siehe Tabelle 55, Seite 224) und die Gehalte an Methanol und Essigsäure mittels ^1H -NMR-Spektroskopie bestimmt. Aus beiden Werten wurde im Folgenden der DM und DA von Galacturonsäure berechnet. Dazu wurde angenommen, dass das freigesetzte Methanol und die freigesetzte Essigsäure ausschließlich an Galacturonsäure gebunden vorlag. Da jedoch auch Xylane mit Essigsäure verestert sein können (siehe Kapitel 1.2.2.2, Seite 7), kann eine Überschätzung des DA nicht ausgeschlossen werden. Die bestimmten Werte für den DM und DA lagen im Fall der frischen rotfleischigen Äpfel zwischen 87,9 und 99,9 bzw. 57,8 und 68,4 % (siehe Tabelle 55, Seite 224). In der Literatur sind für den DM und DA von Äpfeln Werte von 77 bzw. 24 % (CHASSAGNE-BERCES et al. 2009), 72 bzw. 26 % (RENARD et al. 1990) und von 72 % (DM) beschrieben (LE BOURVELLEC et al. 2004). Die hohen DM von über 90 % könnten ein Hinweis dafür sein, dass Methanol aus einer anderen Quelle als HG freigesetzt wird. Denkbar wäre auch eine Unterbestimmung des Galacturonsäuregehaltes oder Überbestimmung des Methanol-Gehaltes. Der höhere DM und DA der untersuchten rotfleischigen Äpfel im Vergleich zu den Daten aus der Literatur könnte auch sortenbedingt sein, allerdings wurden keine Literaturdaten bezüglich des DM und DA von HG aus rotfleischigen Äpfeln zum Vergleich gefunden. Die Unterschiede zwischen den fünf frischen Proben könnten durch die kleinen Probenmengen erklärt werden (250 g), da das Probenmaterial jeweils aus etwa drei Äpfeln entnommen wurde und hier größere Unterschiede im DM bzw. DA zwischen den Äpfeln auftreten können.

Während der Trocknung war im Fall des Kombinationsverfahrens GT-0,9-MWVT eine starke Abnahme des DM und DA nach der Trocknung festzustellen (siehe Tabelle 23). Beim Gefrieren von Äpfeln wurde lediglich eine minimale Zunahme des DM und minimale Abnahme des DA beobachtet (CHASSAGNE-BERCES et al. 2009), weshalb dieser Schritt nicht für die Veränderungen im DM und DA verantwortlich ist. Es kommt jedoch beim Gefrieren zur teilweisen Zerstörung der Zellkompartimente, was beim Auftauen der Produkte sowie bei der anschließenden MWVT zu einer vermehrten Freisetzung verschiedener Esterasen, wie PME zur Folge haben kann, und somit zu einer Spaltung der Methylester führen könnte. Bei der reinen GT sollte dies nicht der Fall sein, da das

Produkt entweder gefroren oder getrocknet vorliegt, und enzymatische Reaktionen durch den niedrigen a_w -Wert verhindert oder zumindest stark verlangsamt sein sollten. Während der beiden HT- und MWVT-Verfahren waren nur geringfügige Verringerungen zu erkennen. Die geringen Änderungen während der HT- und MWVT-Verfahren legten den Schluss nahe, dass HG nach der Trocknung weitgehend unverändert vorliegt. In stark mit Methanol veresterten Bereichen von HG kann zwar eine Spaltung des Polymers durch β -Eliminierung erfolgen, allerdings sind hierfür hohe Temperaturen von 80 °C und mehr erforderlich (ALBERSHEIM et al. 1960), die wahrscheinlich nur kurz erreicht werden. Ob dann bei den schon stark getrockneten Produkten, die entsprechend einen niedrigen a_w -Wert aufweisen, die Reaktion noch abläuft, erscheint fragwürdig, da die Untersuchungen zur β -Eliminierung in Modellversuchen mit Lösungen von HG untersucht wurden. Eine Spaltung von HG durch β -Eliminierung würde sich zudem wahrscheinlich in einem höheren Gehalt an LBS widerspiegeln, da die kürzeren Ketten eine bessere Löslichkeit in Wasser besitzen sollten. In der Literatur sind abhängig von der untersuchten Pflanze verschiedene Auswirkungen der Trocknung auf den DM beschrieben. In reifen Kiwis beispielsweise wurde eine Zunahme des DM nach einer HT bei Lufttemperaturen zwischen 40 und 90 °C beobachtet, was auf eine größere Stabilität der methylveresterten Bereiche während der Trocknung schließen lässt (FEMENIA et al. 2009). Die HT von Ananas und Aprikosen bei 80 °C bzw. 70 °C hingegen führte zu einer Abnahme des DM nach der Trocknung (FEMENIA et al. 1998, FEMENIA et al. 2007). Im Fall der Ananas war außerdem mit steigenden Temperaturen eine verstärkte Abnahme des DM zu beobachten. Da in den drei genannten Studien das Zellwandmaterial als alkohol-unlöslicher Rückstand isoliert wurde sollten die Veränderungen im DM auf die Trocknung und nicht die Isolierung des Zellwandmaterials zurückzuführen sein.

Tabelle 23: Veresterungsgrad von Galacturonsäure mit Methanol und Essigsäure in den Nicht-Stärke-Polysacchariden von mit verschiedenen Verfahren getrockneten rotfleischigen Apfelstücken. Die Präzision der Bestimmung des Veresterungsgrades von Galacturonsäure mit Methanol und Essigsäure ist als Standardabweichung angegeben und wurde mithilfe des Gaußschen Fehlerfortpflanzungsgesetzes berechnet (siehe Formel (7), Kapitel 9.11, Seite 224).

	Frisch		Getrocknet	
	Veresterungsgrad Methanol [%]	Veresterungsgrad Essigsäure [%]	Veresterungsgrad Methanol [%]	Veresterungsgrad Essigsäure [%]
HT-70 °C	89,9 ± 1,8 %	58,1 ± 1,2 %	88,9 ± 4,5 %	52,7 ± 2,7 %
HT-105 °C	95,4 ± 4,9 %	61,7 ± 3,5 %	93,9 ± 7,6 %	55,7 ± 4,4 %
MWVT 750W	91,8 ± 4,9 %	60,1 ± 3,4 %	89,3 ± 4,3 %	54,5 ± 2,8 %
MWVT 250W	87,9 ± 3,7 %	57,8 ± 2,4 %	92,1 ± 6,0 %	55,8 ± 3,6 %
GT-0,9-MWVT	99,9 ± 5,8 %	68,4 ± 3,1 %	86,5 ± 4,6 %	56,4 ± 4,0 %

HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung. GT: Gefriertrocknung. Fr: Frisch. Tr: Trocken

4.3 Untersuchung der Zellwandpolysaccharide von mit verschiedenen Verfahren getrockneten Äpfeln

4.3.6 Zusammenfassung

Die durch Untersuchung der MSZ, Analyse der Bindungsverhältnisse, AN-Screening und Bestimmung des DM und DA von Galacturonsäure bestimmte Zusammensetzung der NSPS zeigte gute Übereinstimmung mit Daten aus der Literatur zu frischen weißfleischigen Äpfeln. Cellulose stellte wie zu erwarten das am häufigsten vorkommende PS der Zellwand dar. Aus der Klasse der Hemicellulosen wurden XG, Xylane und Mannane in kleineren Mengen identifiziert. Die Pektine bestanden aus langen Abschnitten von hochverestertem HG und kurzen Abschnitten von RG-I, welches hoch verzweigt mit langen neutralen Seitenketten aus Arabinanen und Galactanen sowie AG-II war. Der DM und DA waren dabei im Vergleich zur Literatur etwas höher und könnte sortenbedingt sein (CHASSAGNE-BERCES et al. 2009, RENARD et al. 1990). Die Arabinane erwiesen sich als komplex mit einem hohen Verzweigungsgrad und einer verschiedenartigen Substitution des Rückgrats. Zudem wurde in den frischen rotfleischigen Äpfeln ein Oligosaccharid detektiert, das die Bindung einer dimeren Seitenkette mit einer Arabinoseeinheit in β -Konfiguration an das Arabinan-Rückgrat anzeigt.

Während der Trocknung waren vor allem Veränderungen im BS-Gehalt der mit dem Kombinationsverfahren GT-0,9-MWVT und MWVT-750 W hergestellten Produkte zu beobachten. Die höheren BS-Gehalte, die nach der Trocknung mit den Verfahren GT-0,9-MWVT und MWVT-750 W festgestellt wurden, könnten durch die Bildung von retrogradierter Stärke verursacht werden. Aus ernährungsphysiologischer Sicht sind die erhöhten BS-Gehalte als positiv zu bewerten. Ein experimenteller Nachweis wäre durch die Behandlung der UBS mit thermostabiler α -Amylase bei erhöhten Temperaturen möglich. Wäre retrogradierte Stärke vorhanden, würde sich dies in einer Verringerung der Menge an UBS bemerkbar machen. Die Erhöhung der BS-Gehalte fand dabei nur in den MWVT-Verfahren mit einem hohen Energieeintrag statt. Die Ergebnisse der MSZ und der Methylierungsanalyse deuteten nicht auf Veränderungen in der Zusammensetzung der Zellwand-PS während der Trocknung hin. Anhand der Untersuchung der enzymatisch freigesetzten Arabinan-OS wurde jedoch eine Abnahme der Anteile der hochverzweigten OS nach der Trocknung bei allen Verfahren festgestellt. Diese Abnahme könnte auf die Aktivität des Enzyms α -L-Arabinofuranosidase, welches terminale Arabinoseeinheiten entfernt oder auf eine Verschlechterung der enzymatischen Zugänglichkeit der getrockneten Proben zurückzuführen sein. Der DM von HG wurde durch die HT- und MWVT-Verfahren nur geringfügig verändert, was den Schluss nahelegt, dass HG während der Trocknung nicht oder nur wenig verändert wird. Lediglich das Kombinationsverfahren GT-0,9-MWVT führte zu starken Verringerungen im DM und DA, die möglicherweise durch die Zerstörung der Zellkompartimente und der damit verbundenen Freisetzung von Enzymen verursacht wurde. Zusammenfassend gesehen wird deutlich, dass die Trocknung der rotfleischigen Äpfel mit den untersuchten Verfahren, im Gegensatz zu Literaturdaten von anderen pflanzlichen Lebensmitteln, zu keinen bzw. sehr geringen Veränderungen in der Zusammensetzung der Zellwand-PS führt (DALMAU et al. 2017, FEMENIA et al. 2009, GARAU et al. 2007). Damit sind die eingangs erwähnten Veränderungen der Textur die während der Trocknung von pflanzlichen Lebensmitteln auftreten nicht auf Veränderungen in der Zusammensetzung der Zellwand zurückzuführen.

4.4 Sensorische Untersuchungen

Die mit dem Kombinationsverfahren GT-MWVT hergestellten getrockneten Produkte wurden mit einem Triangeltest auf ihre Unterscheidbarkeit von rein gefriergetrockneten und mit MWVT hergestellten Produkten untersucht. Das Panel bestand aus zwölf Teilnehmern. Das Kombinationsverfahren GT-MWVT ist von besonderem Interesse, da Produkte in kürzerer Zeit hergestellt werden können, die ähnliche Eigenschaften wie rein gefriergetrocknete aufweisen (ROTHER et al. 2011, SIEBERT et al. 2019b). Die Verfahren, die verglichen wurden, sind aus Tabelle 24 ersichtlich. Im Fall der Äpfel wurde aus zeitlichen Gründen auf die Trocknung mit dem Kombinationsverfahren GT-0,7-MWVT verzichtet. Die Produkte, die durch Anwendung der MWVT hergestellt wurden, wurden außerdem aufgrund des stark abweichenden optischen Eindrucks nicht mit den anderen Verfahren verglichen. Zur Überprüfung der Unterscheidbarkeit wurden drei Proben bereitgestellt, von denen zwei identisch waren. Zur Beurteilung musste eine Probe ausgewählt werden, die sich für den Prüfer von den anderen Proben unterscheidet (forced choice). Beim Vergleich der Produkte der GT und mit den in Kombinationsverfahren hergestellten Produkten wurde

Tabelle 24: Ergebnisse der Dreiecksprüfung zum Vergleich von mit Gefriertrocknung und Kombinationsverfahren aus Gefriertrocknung und Mikrowellenvakuumtrocknung getrockneten Karottenscheiben und Stücken aus rotfleischigen Äpfeln. Zur Verkostung wurden jedem Teilnehmer mindestens fünf Stücke bzw. Scheiben zur Verkostung gereicht. Die Anzahl der Teilnehmer betrug zwölf.

Karotte	Verglichene Verfahren		Richtige Antworten [%]
	GT	vs GT-0,9-MWVT	100 %
	GT	vs GT-0,7-MWVT	100 %
	GT	vs GT-0,5-MWVT	100 %
	GT-0,9-MWVT	vs GT-0,5-MWVT	70%

Apfel	Verglichene Verfahren		Richtige Antworten [%]
	GT	vs GT-0,9-MWVT	100 %
	GT	vs GT-0,5-MWVT	100 %
	GT-0,9-MWVT	vs GT-0,5-MWVT	70%

MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung. GT: Gefriertrocknung

die abweichende Probe in allen Fällen korrekt zugeordnet. Die Unterscheidbarkeit der Kombinationsverfahren GT-MWVT bei den WP von 0,9 und 0,5 (Karotten und Äpfel) war mit 70 % korrekter Zuordnung der abweichenden Probe etwas schlechter im Vergleich der Kombinationsverfahren und der reinen GT. Dies zeigte deutlich die sensorischen Unterschiede zwischen den gefriergetrockneten und den mit Kombinationsverfahren hergestellten Produkten. Auffällig war, dass die mit Kombinationsverfahren hergestellten Produkte im Vergleich zu den gefriergetrockneten Produkten deutlich geschrumpft waren, was eine rein optische Unterscheidung ermöglichte. Diese Schrumpfung wird sehr wahrscheinlich durch den Transfer der Produkte beim

4.4 Sensorische Untersuchungen

Verfahrenswechsel verursacht. Das Brechen des Vakuums führt dabei zur Schrumpfung der Produkte. Diese Erkenntnis steht in Übereinklang mit dem Volumenerhalt von Karotten die durch Anwendung des Kombinationsverfahrens GT-MWVT hergestellt wurden. Der Volumenerhalt war hierbei positiv mit der Dauer der GT zu Beginn des Kombinationsverfahrens korreliert (SIEBERT et al. 2018a).

Da mit dem Triangeltest festgestellt wurde, dass die mit Kombinationsverfahren getrockneten Produkte gut von den rein gefriergetrockneten unterscheidbar waren, sollte mit einer beschreibenden sensorischen Prüfung untersucht werden, welche Attribute außer dem Volumenerhalt für die Unterscheidbarkeit verantwortlich waren. Mit einem Panel von 10 Prüfern wurden die Merkmale süß, sauer, Bräunung und Festigkeit im Fall der Äpfel auf einer Skala von 1 – 10 bewertet. Die visuelle Textur wurde nicht einbezogen, da die durch Anwendung der GT und der Kombinationsverfahren hergestellten Produkte auch ohne Bewertung der visuellen Textur unterscheidbar waren. Im Fall der Karotten wurden die Merkmale süß, Farbintensität, Knusprigkeit und Fremdgeschmack bewertet. Eine 1 bedeutete dabei, dass das Merkmal nicht und eine 10, dass das Merkmal voll ausgeprägt war. Die Bewertung wurde zuerst von jedem Prüfer einzeln durchgeführt. Anschließend erfolgte die Festlegung eines Konsenswertes aller Prüfer, der schlussendlich zur Beurteilung der Merkmale verwendet wurde (siehe Abbildung 31). Es stellte sich heraus, dass der Konsenswert, sehr gut mit den Mittelwerten der Einzelbewertungen der Prüfer übereinstimmte (siehe Tabelle 56, Seite 226).

Im Fall der getrockneten Apfelstücke konnten für die Merkmale süß und sauer kaum Unterschiede zwischen den mit verschiedenen Verfahren getrockneten Produkten festgestellt werden. Die Festigkeit wurde bei den gefriergetrockneten Produkten als sehr schwach ausgeprägt bewertet, was auf die schwammartige Struktur, die typischerweise während der GT gebildet wird, zurückzuführen war. Die Festigkeit, in den mit Kombinationsverfahren und MWVT hergestellten Produkten wurde deutlich stärker bewertet als in den rein gefriergetrockneten Produkten. Die Bräunung war in den gefriergetrockneten Produkten am geringsten und in den mit dem Kombinationsverfahren GT-0,9-MWVT hergestellten Produkten am höchsten ausgeprägt. Die Unterschiede in den gefriergetrockneten und mit den Kombinationsverfahren hergestellten Apfelstücken, waren demnach in einer unterschiedlichen Bräunung und Festigkeit der Produkte begründet.

Im Fall der Karotten waren in allen Merkmalen Unterschiede zwischen den Trocknungsverfahren festzustellen. Die Farbintensität wurde in den gefriergetrockneten Produkten am geringsten bewertet. In der Literatur wurde übereinstimmend dazu, höhere Helligkeitswerte im Lab-Farbraum in gefriergetrockneten Karottenwürfeln, im Vergleich mit durch Anwendung des Kombinationsverfahrens GT-MWVT hergestellten Produkten, beschrieben (ROTHER et al. 2011). Die geringe Farbintensität ist auf die poröse Struktur der gefriergetrockneten Produkte zurückzuführen. In den mit dem Kombinationsverfahren GT-MWVT und durch Anwendung der MWVT hergestellten Produkten, wurde die Farbintensität nahezu identisch bewertet. Die durch Anwendung der MWVT hergestellten Produkte wurden als weniger süß bewertet als die rein gefriergetrockneten und mit Kombinationsverfahren hergestellten Produkte. Die geringere Süße der mit MWVT hergestellten Produkte ging mit einem stark ausgeprägten Fremdgeschmack (sechs) einher, der in den restlichen Produkten nicht oder nur in sehr geringem Maß festzustellen war. Die Knusprigkeit der Produkte war

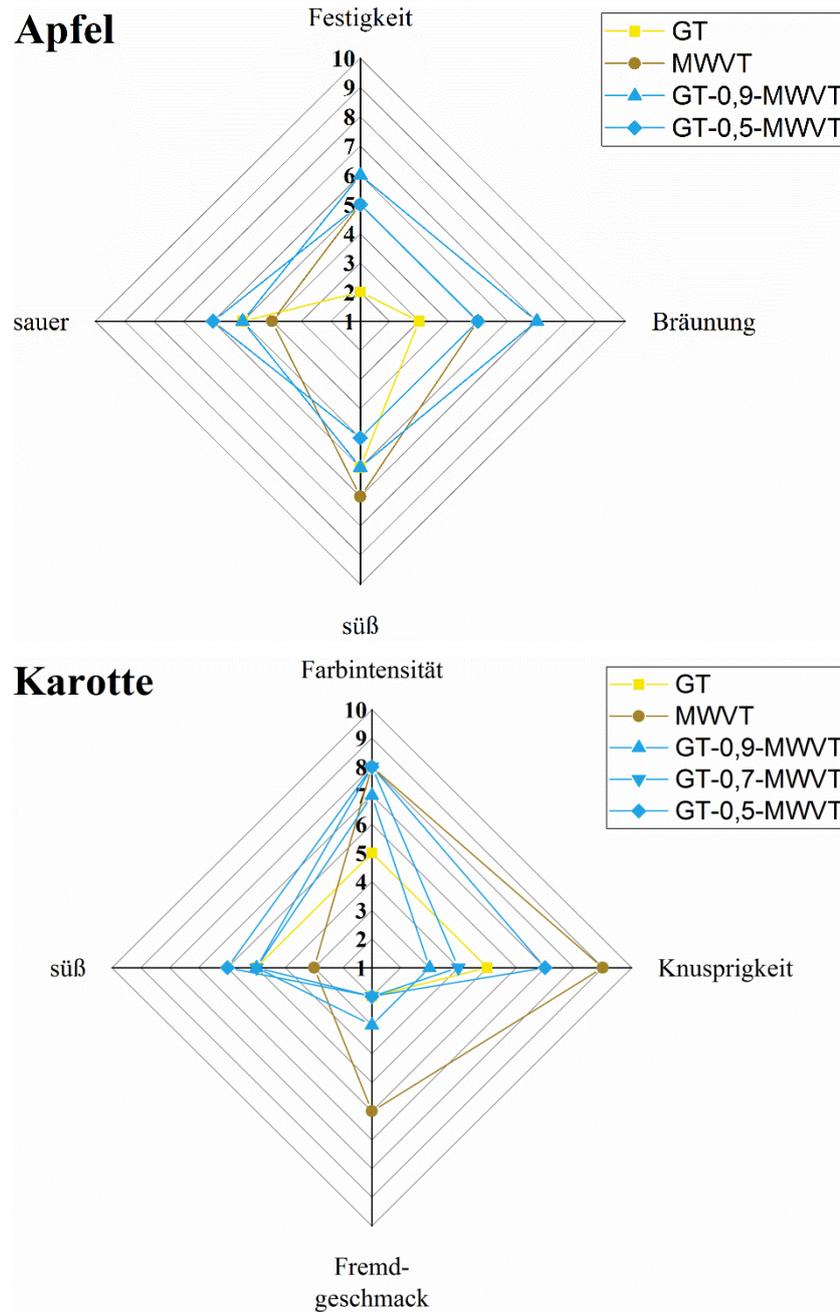


Abbildung 31: Ergebnisse der einfachen beschreibenden sensorischen Prüfung von Apfelstücken (oben) und Karottenscheiben (unten). Dargestellt sind die Konsenswerte des Panels (zehn Prüfer), weshalb keine Standardabweichungen angegeben sind. Es wurden das Kombinationsverfahren GT-MWVT bei verschiedenen Wechselzeitpunkten und die entsprechenden Einzelverfahren Gefriertrocknung und Mikrowellenvakuumentrocknung bewertet. Ein Wert von 1 bedeutet, dass das Merkmal nicht ausgeprägt ist, ein Wert von 10 bedeutet, dass das Merkmal voll ausgeprägt ist. GT: Gefriertrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumentrocknung

stark abhängig vom Trocknungsverfahren und wurde in den mit MWVT hergestellten Produkten als am stärksten ausgeprägt bewertet (neun). Im Fall der Kombinationsverfahren nahm die Knusprigkeit mit zunehmender Dauer der MWVT von sieben auf drei ab. Die Unterscheidbarkeit der mit unterschiedlichen Verfahren getrockneten Karottenscheiben konnte anhand der vorliegenden Daten auf Unterschiede in der Knusprigkeit und Farbintensität zurückgeführt werden.

4.4 Sensorische Untersuchungen

4.5 Zusammenfassende Diskussion

Der erste Teil dieser Arbeit bestand in der Etablierung von Methoden zur Analyse der Inhaltsstoffe in mit verschiedenen Trocknungsverfahren hergestellten rotfleischigen Äpfeln, Karotten und Erdbeeren. Da zur Berechnung des Erhalts der Inhaltsstoffe auch jeweils das frische Ausgangsmaterial untersucht werden musste, wurden die Methoden für die Analyse des frischen und (teilweise) getrockneten Probenmaterials optimiert. Ein weiteres Augenmerk lag auf der Minimierung der benötigten Zeit für die Durchführung der Analyse, da eine große Probenanzahl erwartet wurde. Die Validierung aller Methoden erfolgte hinsichtlich Präzision, Richtigkeit und Empfindlichkeit.

Zur Bestimmung von Gesamt-AS in Karotten wurde ein chromatographischer Ansatz gewählt, bei dem das OPDA-Derivat von DHAS auf einer RP-C18-Säule analysiert wurde (SPEEK et al. 1984). Mit dieser Methode war es möglich die niedrigen AS-Gehalte in den Karottenproben mit ausreichender Empfindlichkeit zu bestimmen. Eine Bestimmung von AS und DHAS konnte dagegen nicht durchgeführt werden (SPEEK et al. 1984), da während des Derivatisierungsschritts ein großer Teil der AS zu DHAS oxidiert wird. Dies würde zu erhöhten Gehalten und somit einer Überschätzung der DHAS-Gehalte führen. Zur Analyse des Gesamtgehalts an AS in Erdbeeren und rotfleischigen Äpfeln wurde die HILIC eingesetzt, mit der eine zufriedenstellende Abtrennung von AS von den Matrixkomponenten erreicht wurde (TAI and GOHDA 2007). Die Anwendung der oft eingesetzten Strategie der Trennung von AS an RP-C18-Säulen mit schwach sauren, wässrigen Eluenten (FENOLL et al. 2011, ODRIOZOLA-SERRANO et al. 2007, SPÍNOLA et al. 2012), war mit den in dieser Arbeit verwendeten Säulen hingegen nicht möglich.

Zur Bestimmung der Carotinoide in Karotten wurde eine im Labor bestehende Methode zur HPLC-DAD-Analyse von Carotinoiden in Getreide, auf die jeweilige Matrix und die zu erwartenden Verbindungen angepasst. Die chromatographische Trennung konnte an einer C30-Säule durchgeführt werden (ABDEL-AAL et al. 2007). Neben der vollständigen Trennung der Analyten konnte zudem eine Abtrennung der Z-Isomere, deren Bildung während der Trocknung wahrscheinlich ist, erreicht werden. Die Extraktion der Carotinoide stellt den kritischen Punkt der Methode dar und konnte, wie in vorherigen Studien beschrieben, durch eine Vorbehandlung der Proben mit einem Multi-Enzym-Präparat (Driselase®) deutlich verbessert werden (RANVEER et al. 2013, ZUORRO and LAVECCHIA 2010). Im Gegensatz zur Verwendung eines Ultra-Turrax-Mixer, mit dem eine vergleichbare Extraktionseffizienz erreicht werden konnte, war mit der enzymatischen Vorbehandlung die zeitgleiche Analyse vieler Proben möglich.

Die phenolischen Verbindungen in rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren wurden nach Extraktion mittels HPLC-DAD untersucht. Die Methoden wurden dabei auf die Analyse der hauptsächlich vorkommenden Verbindungen aus der Klasse der Anthocyane, Flavanole, Flavonole, Hydroxyzimtsäurederivaten in die Methoden integriert. Im Fall der Erdbeeren wurden die beiden hauptsächlich vorkommenden Anthocyane PG und PMG sowie zwei weitere Verbindungen (PCG und ZG) semipräparativ zur Verwendung als Standardsubstanzen isoliert und deren Struktur eindeutig mittels HPLC-DAD-MS und NMR-spektroskopischen Methoden aufgeklärt. Zur Methodenetablierung

4.5 Zusammenfassende Diskussion

wurden vor allem die Extraktionsbedingungen und die chromatographische Trennung optimiert und auf das jeweilige Analytspektrum angepasst. Die UV-Detektion bei an das Absorptionsmaximum der Verbindungen bzw. Analytklassen angepassten Wellenlängen war vor allem für Anthocyane, Flavonole und Hydroxyzimtsäurederivate selektiv. Die Empfindlichkeit jedoch war für die Analyse der Flavonole in rotfleischigen Äpfeln nicht hoch genug. Für eine empfindlichere Detektion wäre die Verwendung einer HPLC-DAD-MS-Methodik vonnöten gewesen, da die Empfindlichkeit hierbei bis zu 100-fach höher sein kann (CEYMANN et al. 2011).

Zur Analyse von 3-DG, welches ein Intermediat der Maillard-Reaktion darstellt, wurde 3-DGQ zur Verwendung als Standardsubstanz synthetisiert und mittels semipräparativer Chromatographie aufgereinigt (EL KHADEM et al. 1971, HENLE and BACHMANN 1996, MADSON and FEATHER 1981). Die Extraktion und chromatographische Trennung konnten wie in der Studie von Degen et al. (2012) beschrieben mit kleinen Modifikationen durchgeführt werden. Die Verwendung einer Phenyl-Hexyl-Phase zur Trennung ermöglichte hierbei die Trennung der beiden Epimere 3-DG und 3-Desoxygalactoson (HELLWIG et al. 2010). Nachteilig bei dieser Methode sind jedoch die sehr langen Laufzeiten der chromatographischen Analyse von fast einer Stunde. Diese hätten durch die Verwendung der UHPLC verkürzt werden können.

Zur Analyse der Gehalte an Methanol und Essigsäure in Ballaststoffpräparaten, deren Kenntnis zur Bestimmung des Veresterungsgrades von Galacturonsäure notwendig ist, wurde außerdem eine ^1H -NMR-Methode etabliert. Dieser Ansatz wurde schlussendlich gewählt, da die Bestimmung von Methanol und Essigsäure in den Ballaststoffpräparaten mittels HPLC oder GC sich als nicht geeignet herausstellten. Die NMR-Methodik bietet den Vorteil, dass zur Quantifizierung keine externe Kalibrierung notwendig ist, was den Arbeitsaufwand verringert. Die Verwendung von D_2O ermöglichte eine Messung ohne Wasserunterdrückung. Dies ist von Vorteil, da das zugehörige Experiment empfindlich gegenüber probenbedingten leichten Unterschieden im pH-Wert ist. Die Verwendung eines Kryoprobenkopfes resultierte in einer verbesserten Empfindlichkeit im Vergleich zu der ursprünglichen Methode die auf isolierte Pektine angewendet wurde (MÜLLER-MAATSCH et al. 2014). Die Signale der Protonen der Methylgruppen von Methanol und Essigsäure waren trotz der komplexeren Zusammensetzung der Ballaststoffpräparate im Vergleich zu den isolierten Pektinen gut von den übrigen Signalen abgetrennt. Dies zeigt die Eignung der ^1H -NMR-Methodik zur empfindlichen und selektiven Bestimmung von Methanol und Essigsäure.

Mit den zuvor beschriebenen Methoden wurden der Erhalt der Inhaltsstoffe und die Bildung von 3-DG im Verlauf der GT, HT (70 °C und 105 °C) und MWVT (250 W und 750 W) von Karotten, rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren untersucht. Aufgrund einer zu geringen Anzahl an frischen Vergleichsproben war jedoch die Berechnung des Erhalts der Inhaltsstoffe im Verlauf der Trocknung von Karotten nicht möglich, daher können nur Aussagen über den Erhalt der Inhaltsstoffe am Ende der Trocknung getroffen werden. Die GT führte, wie zu erwarten, zu Produkten mit einem sehr guten Inhaltsstoffgehalt, da die Produkte im gefrorenen oder getrockneten Zustand vorliegen, wodurch thermisch oder enzymatisch bedingte Verluste von Inhaltsstoffen minimiert sind. Die HT führte dagegen zu großen Verlusten von Inhaltsstoffen, wobei der Inhaltsstoffverlust bei höheren Lufttemperaturen trotz kürzerer Trocknungszeit stärker ausgeprägt war. Die Verluste sind vor allem

auf die hohen Temperaturen bei gleichzeitiger Anwesenheit von Sauerstoff zurückzuführen. Die MWVT führt wiederum zu Produkten mit sehr gutem Inhaltsstoffgehalt. Lediglich bei der MWVT-750 W von Erdbeeren wurden AS, Anthocyane und Hydroxycinnamtsäurederivate etwa zur Hälfte abgebaut. Die niedrigen Drücke, die Minimierung des Sauerstoffgehalts und die kurzen Trocknungszeiten tragen bei diesem Verfahren wahrscheinlich zum sehr guten Erhalt der Inhaltsstoffe bei.

Der Erhalt der untersuchten Verbindungen unterschied sich zum Teil stark und macht deren unterschiedliche Stabilitäten während der Trocknung der pflanzlichen Lebensmittel deutlich. Die labilsten Verbindungen stellten AS und die Anthocyane dar, welche in allen Trocknungsverfahren in etwa dem gleichen Maß abgebaut wurden. Die Eignung von Gesamt-AS als Marker für den allgemeinen Inhaltsstoffgehalt nach der Trocknung wird daher bestätigt, da in diesen Untersuchungen für keine Verbindung ein geringerer Erhalt als für Gesamt-AS festgestellt wurde. Zwischen den Anthocyanen waren Unterschiede in der Stabilität feststellbar, da im Fall der MWVT-750 W die Anthocyane PG und PMG in den Erdbeeren deutlich stärker abgebaut wurden als CGal im Apfel. Diese Ergebnisse stehen allerdings im Kontrast zu Modellstudien, die zum gegensätzlichen Ergebnis kamen (SADILOVA et al. 2007). Ein Zusammenhang zwischen Anthocyanengehalt und Farbe der Produkte, wurde nicht festgestellt, da die größten Veränderungen der Farbwerte zu Beginn aller Trocknungsverfahren stattfanden und nicht mit Verlusten der Anthocyane einhergingen. Die Verbindungen CS, PZ sowie die Flavonole (EC in Äpfeln und CA in Erdbeeren) wurden abhängig von der Lufttemperatur während der HT-Verfahren moderat abgebaut, was mit den Ergebnissen voriger Studien übereinstimmt (JOSHI et al. 2011, WOJDYŁO et al. 2009). Die Verbindungen QGluA und KG aus der Gruppe der Flavonole, sowie PCG in Erdbeeren waren am Ende aller Trocknungsverfahren vollständig erhalten. Die Carotinoide wurden moderat während der HT-Verfahren und MWVT-Verfahren abgebaut, was in Einklang mit Literaturdaten zu bringen ist (CUI et al. 2008a, LIN et al. 1998). Eine Isomerisierung der Carotinoide war vor allem bei den durch Anwendung der MWVT-Verfahren hergestellten Karotten zu beobachten. Die veränderte Carotinoidstruktur kann in einer Verringerung der Farbtintensität der Produkte und geringerer Provitamin-A-Aktivität resultieren, weshalb die Isomerisierung der Carotinoide als nachteilig zu bewerten ist. Die Bildung von 3-DG wurde in allen Produkten untersucht und war verstärkt in den Trocknungsverfahren mit hohem Energieeintrag zu beobachten (HT 105 °C und MWVT-750 W) und fand in allen untersuchten Produkten in den letzten Stadien der Trocknung statt. Dies legt nahe, dass die Entstehung dieses Reaktionsprodukts hauptsächlich von den vorherrschenden Temperaturen und weniger von der Trocknungsdauer abhängt. Die temperaturabhängig Bildung von 3-DG während der Lagerung von Honig bestätigt diese Vermutung weiter (WEIGEL et al. 2004). Daher kann die gebildete Menge an 3-DG möglicherweise Aufschluss über die Temperaturbelastung während der Trocknung geben. Zudem war eine Zunahme der Gehalte an 3-DG bis zum Ende der Trocknung festzustellen, was darauf hindeutet, dass 3-DG keine weiteren Reaktionen eingeht oder die Weiterreaktion durch die Neubildung in dem Zeitrahmen der Trocknungen überkompensiert wird. Eine Vorhersage einer Farbänderung anhand der Bildung von 3-DG, die durch die Bildung von braun gefärbten

4.5 Zusammenfassende Diskussion

Verbindungen verursacht wird, war nicht möglich, da die Farbänderungen vor der Bildung von 3-DG einsetzen.

Durch die Untersuchung des Abbauverhaltens der Inhaltsstoffe im Verlauf der Einzelverfahren konnten Hinweise für die Entwicklung der Kombinationsverfahren mit möglichst gutem Inhaltsstoffgehalt erhalten werden. AS blieb während der HT-Verfahren bis zu einer relativen Restfeuchte von 0,2 komplett erhalten und wurde erst im Anschluss abgebaut. Aufgrund der hohen vorherrschenden Temperaturen in diesem Stadium der Trocknung sind thermisch bedingte Verluste am wahrscheinlichsten. Diese Erkenntnisse stehen im Kontrast zu Untersuchungen zum Abbauverhalten von AS während der Trocknung von Kartoffeln und Tomatenhälften, in denen Verluste von AS über den gesamten Verlauf einer HT bei verschiedenen Lufttemperaturen festgestellt wurden (KHRAISHEH et al. 2004, MARFIL et al. 2008). Es ist denkbar, dass die Unterschiede im Probenmaterial begründet sind. Die Anthocyane wurden während der HT von rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren zu Beginn der Trocknung moderat abgebaut (30 – 40 % Verlust). Diese Verluste können durch die Aktivität des Enzyms PPO verursacht werden, da dessen Aktivität während der Trocknung von Äpfeln bis Temperaturen von 68 °C gesteigert wurde (YEMENICIOGLU et al. 1997). Zudem waren thermisch bedingte Verluste in den letzten Stadien der Trocknungen (HT und MWVT) festzustellen, die bei höherem Energieeintrag stärker ausgeprägt waren. Die Flavanole EC und CA wurden ebenso in den letzten Stadien der HT abgebaut, was thermisch bedingte Verluste nahelegt. Die GT der rotfleischigen Äpfel sowie die MWVT-750 W von Erdbeeren führte hingegen zu einer Erhöhung der Gehalte an EC bzw. CA. Dieser Effekt könnte in einer Depolymerisierung von Proanthocyanidinen begründet sein und wurde ebenso bei der GT bzw. MWVT von Sauerkirschen und Erdbeeren beobachtet (WOJDYŁO et al. 2014, WOJDYŁO et al. 2009). Die Gehalte der Verbindungen CS und PZ in rotfleischigen Äpfeln, nahmen während der HT (70 °C und 105 °C) zwischen relativen Restfeuchten von 0,6 und 0,2 ab. Dies legt einen enzymatisch bedingten Abbau nahe, da die Verluste unabhängig von der Trocknungstemperatur auftraten. Die größten Verluste der Inhaltsstoffe treten hauptsächlich in den letzten Stadien der HT und der MWVT auf. Werden diese Abschnitte durch entsprechende Kombination der Trocknungsverfahren umgangen, sollte es möglich sein Produkte mit einem verbessertem Inhaltsstoffprofil zu erhalten.

Durch die Entwicklung von Kombinationsverfahren sollten die Qualitätsvoraussagen, die anhand der Erkenntnisse der Einzelverfahren getroffen wurden, überprüft werden. Dazu wurden Kombinationsverfahren untersucht, die mit einer GT beginnen (GT-MWVT und GT-HT). Diese sind aus technologischer Sicht vielversprechend, da hiermit Produkte in kürzerer Zeit hergestellt werden können, die ähnliche Eigenschaften wie rein gefriergetrocknete Produkte aufweisen (ROTHER et al. 2011, SIEBERT et al. 2018a). Die Kombinationsverfahren, die mit einer GT enden (MWVT-GT und HT-GT), sollten zu Produkten mit gutem Inhaltsstoffgehalt führen, da bei rechtzeitigem Wechsel zur GT die als nachteilig zu bewertenden Stadien der HT und MWVT umgangen werden. Das Kombinationsverfahren HT-MWVT war außerdem von Interesse, da der letzte TA der HT sehr ineffektiv ist und hierbei das effektivere Verfahren der MWVT ersetzt wird.

Das Kombinationsverfahren GT-MWVT sollte laut den Erkenntnissen der Einzelverfahren zu Produkten mit sehr gutem Inhaltsstoffgehalt führen. Diese Annahme wurde bestätigt, da alle

Produkte, die durch Anwendung dieses Kombinationsverfahrens getrocknet wurden, einen sehr guten Inhaltsstoffgehalt aufwiesen. Zudem konnte im Vergleich zur reinen GT eine deutliche Zeitersparnis erreicht werden. Der Zeitpunkt des Wechsels zur MWVT hatte bei allen Produkten im untersuchten Bereich (relative Restfeuchte zwischen 0,9 und 0,2) lediglich einen geringen Einfluss auf den Erhalt der Inhaltsstoffe, was in Übereinstimmung mit einer Studie zur Trocknung von Apfelstücken ist (HUANG et al. 2009). Beim Kombinationsverfahren GT-HT wurden hingegen sehr große Inhaltsstoffverluste festgestellt, die vergleichbar mit den bei reinen HT-Verfahren auftretenden Verlusten sind. Diese Ergebnisse waren anhand der Erkenntnisse der Einzelverfahren zu erwarten, da der letzte Abschnitt der HT, in dem vorwiegend der Abbau der Inhaltsstoffe stattfindet, nicht umgangen wird. Unterschiedliche WP wurden zur Trocknung der rotfleischigen Äpfel angewendet und hatten einen geringen Einfluss auf den Erhalt der Inhaltsstoffe. Die Kombinationsverfahren, die mit einer GT endeten, wurden zur Trocknung der rotfleischigen Äpfel und Karotten angewendet und führten zu Produkten mit sehr gutem Inhaltsstoffgehalt. Dies war aufgrund der Erkenntnisse der Einzelverfahren zu erwarten, da im Fall der Kombination HT-GT das für die Inhaltsstoffe schädliche letzte Stadium der HT umgangen wird. Allerdings war die Zeitersparnis im Vergleich zur reinen GT gering. Die Anwendung verschiedener WP (relative Restfeuchte zwischen 0,7 und 0,3) zur Trocknung von Karotten mit dem Kombinationsverfahren HT-GT führte zu minimalen Änderungen im Erhalt der Inhaltsstoffe. Das Kombinationsverfahren HT-MWVT wurde zur Trocknung der rotfleischigen Äpfel und Karotten angewendet. Bei der Trocknung von Karotten führte das Kombinationsverfahren zu Produkten deren Inhaltsstoffgehalt zwischen dem der entsprechenden Einzelverfahren lag. Die Trocknung der rotfleischigen Äpfel führte zu moderaten Verlusten der labilen Inhaltsstoffe AS, CGal und EC. Diese waren unerwartet, da während der HT bis zum WP bei einer relativen Restfeuchte keine Verluste dieser Inhaltsstoffe festgestellt wurden und diese während der MWVT nahezu komplett erhalten blieben. Dabei zeigte sich, dass die Produkte durch die HT zu Beginn der Trocknung, beim Wechsel des Verfahrens höhere Temperaturen aufwiesen als es bei der reinen MWVT der Fall ist. Dieser Temperaturunterschied ist wahrscheinlich der Grund weshalb bei der folgenden MWVT die moderaten Verluste der labilen Inhaltsstoffe auftraten. Anhand der Erkenntnisse die anhand der Entwicklung der Kombinationsverfahren erhalten wurden, ist klar ersichtlich, dass der Erhalt der Inhaltsstoffe bei Anwendung der zweistufigen Kombinationsverfahren hauptsächlich vom zweiten Verfahren abhängt, da die größten Inhaltsstoffverluste in den letzten Stadien der Trocknung auftreten. Damit beeinflusst die Verfahrensreihenfolge bei Verwendung von zweistufigen Kombinationsverfahren maßgeblich den Erhalt der Inhaltsstoffe im Endprodukt. Der Zeitpunkt des Wechsels hingegen beeinflusst im untersuchten Bereich im Vergleich zur Reihenfolge der Verfahren den Inhaltsstoffgehalt in deutlich geringerem Ausmaß, was im Einklang mit einer Studie zur Trocknung von Apfelstücken steht (HUANG et al. 2009). Da gezeigt wurde, dass der WP in dem untersuchten Bereich einen Einfluss auf die physikochemischen Qualitätsparameter hat, wäre es daher möglich die Produkte durch entsprechende Wahl des WP für den jeweiligen Anwendungszweck zu optimieren (SIEBERT et al. 2018a).

Im Anschluss wurde für einige der entwickelten Kombinationsverfahren die Übertragbarkeit auf industrielle Maßstäbe überprüft, indem Scale-Up- und Blanchierversuche mit Karotten durchgeführt

4.5 Zusammenfassende Diskussion

wurden. Da das Blanchieren einen wichtigen Probenvorbereitungsschritt in der industriellen Verarbeitung darstellt, sollte der Einfluss des Blanchierens auf die Trocknung von Karotten durch Anwendung des Kombinationsverfahrens GT-MWVT untersucht werden. Das Blanchieren hatte keinen nachteiligen Effekt auf den Erhalt der Inhaltsstoffe während der sich anschließenden Trocknung. Nach der Trocknung wurden sogar höhere Gehalte an Carotinoiden festgestellt. Durch teilweise Zerstörung der Membranen und Zellwände beim Blanchieren ist die Freisetzung der Carotinoide bei der Extraktion verbessert. Der gleiche Effekt wurde beim Einmachen von Karotten beobachtet (LESSIN and SCHWARTZ 1997). Die mit den Kombinationsverfahren GT-HT und HT-GT durchgeführten Scale-Up-Versuche zeigten, dass die im Labormaßstab erzielten Ergebnisse auf industrielle Maßstäbe übertragbar sind. Der Verfahrenswechsel konnte zudem problemlos durchgeführt werden, was die Eignung der Kombinationsverfahren für die industrielle Nutzung zeigt.

Mithilfe von sensorischen Untersuchungen sollte die Unterscheidbarkeit der mit dem Kombinationsverfahren GT-MWVT hergestellten Produkte von rein gefriergetrockneten und mit MWVT hergestellten Produkten überprüft werden. Im Triangeltest waren die mit den Kombinationsverfahren hergestellten Produkte eindeutig von den rein gefriergetrockneten unterscheidbar. Auch die Produkte, die durch Anwendung des Kombinationsverfahrens GT-MWVT beim WP von 0,5 und 0,9 hergestellt wurden, waren gut unterscheidbar. Ein Grund hierfür stellte die Schrumpfung der mit den Kombinationsverfahren hergestellten Produkte dar, die durch das Brechen des Vakuums beim Verfahrenswechsel verursacht wird. Das Volumen des Endprodukts nimmt dabei mit steigendem Anteil der GT zu (SIEBERT et al. 2018a). Durch eine beschreibende sensorische Prüfung wurde im Anschluss zudem festgestellt, dass die Unterscheidbarkeit auf die Färbung der Produkte sowie die Produktstruktur zurückzuführen ist.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde außerdem der Einfluss der HT (70 °C und 105 °C), MWVT (250 W und 750 W) und des Kombinationsverfahrens GT-0,9-MWVT auf die Zellwandzusammensetzung und den BS-Gehalt untersucht. Die BS-Gehalte waren nach Anwendung der HT-Verfahren (70 °C und 105 °C) und der MWVT (250 W) nahezu unverändert, was im Widerspruch zu einigen Literaturdaten steht (FEMENIA et al. 1998, FEMENIA et al. 2009, FEMENIA et al. 2007). Auch die leichte Abnahme der Gehalte an LBS steht im Widerspruch zu einigen Literaturstudien, in denen eine Erhöhung des Anteils an löslichen Pektinen bzw. der Wasserlöslichkeit des Zellwandmaterials nach der HT festgestellt wurde (CONTRERAS et al. 2007, FEMENIA et al. 2009, PLAT et al. 1991). Jedoch wurde in anderen Studien eine Abnahme in der Löslichkeit des Zellwandmaterials während der HT festgestellt (FEMENIA et al. 2007, GARAU et al. 2007), weshalb die Änderungen in der Löslichkeit des Zellwandmaterials während der Trocknung möglicherweise produktabhängig sind. Die Anwendung der MWVT-750 W und des Kombinationsverfahrens GT-0,9-MWVT resultierte in einer starken Zunahme der BS-Gehalte, die aus ernährungsphysiologischer Sicht als positiv zu bewerten ist. Die Zunahme der BS-Gehalte könnte auf die thermisch oder enzymatisch bedingte Erhöhung des Anteils an wasserlöslichen Pektinen bei gleichzeitiger Bildung von retrogradierter oder resistenter Stärke Typ-II zurückzuführen sein. Ein zusätzlicher Nachweis der Stärke konnte nicht durchgeführt werden, da das gesamte Probenmaterial während für die Analyse verbraucht wurde. Die durch Untersuchung der MSZ, der glykosidischen Bindungen, der enzymatisch freigesetzten AN-OS und des DM und DA von Galacturonsäure

bestimmte Zusammensetzung der NSPS der untersuchten frischen rotfleischigen Äpfel zeigte gute Übereinstimmung mit Daten aus der Literatur zu weißfleischigen Äpfeln. Die Ergebnisse der MSZ und der Analyse der Bindungsverhältnisse deuten nicht auf Veränderungen in der Zellwandzusammensetzung durch die eingesetzten Trocknungsverfahren hin. Veränderungen im DM und DA wurden lediglich in den Produkten, die durch Anwendung des Kombinationsverfahrens GT-0,9-MWT hergestellt wurden, festgestellt. Das Einfrieren könnte beim Auftauen zu einer vermehrten Freisetzung von Esterasen führen, die in der Folge eine Spaltung der Methylestern von Galacturonsäure bewirken. In der Literatur wird der Einfluss von Trocknungsverfahren auf den DM je nach Produkt als unterschiedlich beschrieben. Die HT von Ananas (80 °C), Aprikosen (70 °C) und unreifen Kiwis (30 °C bis 90 °C) führt zu einer Abnahme des DM (FEMENIA et al. 1998, FEMENIA et al. 2007), die HT von halbreifen Kiwis (30 °C bis 90 °C) hatte keinen Einfluss auf den DM, während bei reifen Kiwis eine Zunahme des DM festgestellt wurde (FEMENIA et al. 2009). Anhand der durch *endo*-Arabinanase freigesetzten OS wurde eine verringerte Freisetzung der Anteile der hochverzweigten OS festgestellt. Denkbar wäre ein Abbau dieser Strukturelemente durch eine Aktivität des Enzyms α -L-Arabinofuranosidase oder lediglich eine Verschlechterung der enzymatischen Zugänglichkeit. Ob es tatsächlich zum Verlust dieser Strukturelemente während der Trocknung kommt, konnte nicht abschließend geklärt werden.

5 Zusammenfassung

Die Trocknung von pflanzlichen Lebensmitteln ist ein wichtiges Verfahren der Lebensmittelverarbeitung. Durch den Wasserentzug und der damit verbundenen Absenkung der Wasseraktivität können leicht verderbliche oder saisonal verfügbare Produkte haltbar gemacht werden. Zudem ist das verringerte Gewicht der getrockneten Produkte vorteilhaft für Transportprozesse. Die Trocknung von pflanzlichen Lebensmitteln führt immer zu nachteiligen Veränderungen wie Schrumpfung, Veränderung der Textur oder den Verlust von Farbstoffen und wertgebenden Inhaltsstoffen. Daher gibt es ein großes Bestreben bestehende Trocknungsprozesse zu optimieren oder neue Trocknungsverfahren zu entwickeln, bei denen die nachteiligen Auswirkungen der Trocknung minimiert sind. Die serielle Kombination von Trocknungsverfahren bietet hinsichtlich der Verbesserung der Qualität der getrockneten Produkte großes Potential, da sich für die Qualitätsparameter als nachteilig zu bewertende Abschnitte durch geschickte Kombination umgehen lassen. Neben der Reihenfolge der Verfahren ist der Wechselzeitpunkt (WP) vom ersten auf das zweite Verfahren entscheidend für den Erhalt der Inhaltsstoffe. Hierbei bieten die in der Literatur beschriebenen seriellen Kombinationsverfahren großes Verbesserungspotential, da die WP meist zufällig oder nach dem trial-and-error-Prinzip ausgewählt wurden. Zudem ziehen viele der Studien den Erhalt von Inhaltsstoffen zur Beurteilung der Produktqualität nach der Trocknung mit Kombinationsverfahren nicht in Betracht.

Daher wurden in dieser Arbeit gezielt Kombinationsverfahren entwickelt, die hinsichtlich des Erhalts von Inhaltsstoffen optimiert sind. Die wissenschaftliche Grundlage zur Entwicklung der Kombinationsverfahren wurde durch die Untersuchung des Erhalts der Inhaltsstoffe im Verlauf der verwendeten Einzelverfahren geschaffen. Hierbei konnten für den Erhalt der Inhaltsstoffe als nachteilig zu bewertende Stadien der Trocknung identifiziert werden. Durch die entsprechende Wahl des WP und der Reihenfolge der Verfahren, können die nachteiligen Trocknungsstadien mithilfe der Kombinationsverfahren umgangen werden.

Zur Bewertung der Qualität wurden verschiedene Inhaltsstoffe in frischen und getrockneten Karotten, rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren untersucht. Zur Bestimmung von Gesamt-Ascorbinsäure (Gesamt-AS, entspricht dem Gehalt an Vitamin C) in Karotten wurde aufgrund der geringen zu erwartenden Gehalte eine Methode etabliert, bei der das fluoreszierende Derivat von Dehydroascorbinsäure nach chromatographischer Trennung bestimmt wurde. Zur Analyse von Gesamt-AS in Erdbeeren und rotfleischigen Äpfeln wurde eine Methodik etabliert die auf der hydrophilen Interaktionschromatographie mit Diodenarraydetektor (DAD) basiert. Zur Analyse der Carotinoide in Karotten wurde eine Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-DAD (HPLC-DAD) Methode etabliert, die hinsichtlich der Extraktionsbedingungen und der chromatographischen Trennung auf die Matrix und die zu analysierenden Verbindungen angepasst wurde. Zur Analyse der Polyphenole (PP) wurde nach Identifizierung der relevanten Verbindungen der Substanzklassen der Anthocyane, Flavanole, Flavonole und der Hydroxyzimtsäuren eine HPLC-DAD-Methode etabliert, die eine Analyse aller Verbindungen in einem chromatographischen Lauf ermöglicht. Aus Erdbeeren wurden die beiden hauptsächlich vorkommenden Anthocyane sowie zwei weitere quantitativ

überwiegende Verbindungen zur Verwendung als Standardsubstanzen isoliert und deren Struktur mittels HPLC-DAD-MS und NMR-Spektroskopie aufgeklärt. Die Dicarbonylverbindung 3-Desoxyglucoson (3-DG), die ein Intermediat der Maillard-Reaktion ist und eine Vorstufe von braun gefärbten Verbindungen darstellt, wurde nach wässriger Extraktion und Umsetzung zu einem Chinoxalin-Derivat mittels HPLC-DAD bestimmt.

Die etablierten und validierten Methoden wurden im Anschluss genutzt, um den Erhalt der ausgewählten Verbindungen in den eingesetzten Einzelverfahren Heißlufttrocknung (HT), Gefriertrocknung (GT) und Mikrowellenvakuumtrocknung (MWVT) zu untersuchen. Für die Trocknung von Karotten wurden aufgrund zu geringer Probenmengen der frischen Karotten, keine Erkenntnisse über den Erhalt der Inhaltsstoffe im Verlauf der Einzelverfahren erhalten. Die HT der rotfleischigen Äpfel und Erdbeeren führte zu großen Inhaltsstoffverlusten. Diese traten vorwiegend im letzten Stadium der Trocknung auf und waren mit höherer Lufttemperatur stärker ausgeprägt. Nach der GT waren alle Inhaltsstoffe nahezu vollständig erhalten. Die MWVT von rotfleischigen Äpfeln führte bei hohen und niedrigen Energieeinträgen zu geringen Verlusten von AS und Anthocyanen. Im Fall der MWVT von Erdbeeren wurden bei hohen Energieeinträgen Inhaltsstoffverluste festgestellt, die analog zur HT im letzten Stadium der Trocknung auftraten. Die Inhaltsstoffe wiesen zudem unterschiedliche Stabilitäten während der Trocknung auf. Die am stärksten abgebauten Verbindungen waren AS sowie die Anthocyane, die nach Beendigung der Trocknung meist zu gleichen Anteilen erhalten wurden. Die Flavonole aus Erdbeeren wurden während der Trocknung nicht abgebaut, während in rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren moderate Verluste an Flavanolen während der HT-Verfahren zu beobachten waren. Die Verbindungen aus der Klasse der Hydroxymethylsäurederivate sowie Phlorizin wurden während der HT und MWVT-Verfahren moderat abgebaut. Eine Bildung von 3-DG wurde in den letzten Stadien der HT und MWVT festgestellt und war mit höherem Energieeintrag stärker ausgeprägt.

Für die Entwicklung der Kombinationsverfahren konnten anhand der Erkenntnisse der Einzelverfahren einige Rückschlüsse gezogen werden. Die Kombinationserfahren, bei denen eine GT als zweites Verfahren eingesetzt wird, sollten unabhängig vom ersten Verfahren, zu einem sehr guten oder vollständigen Erhalt der Inhaltsstoffe führen, da der letzte, für den Erhalt der Inhaltsstoffe als nachteilig zu bewertende, Abschnitt der Trocknungsverfahren umgangen wird. Die mit einer GT beginnenden Kombinationsverfahren können hingegen in Abhängigkeit vom zweiten eingesetzten Verfahren zu starken Verlusten von Inhaltsstoffen führen. Der Wechsel vom ersten auf das zweite Verfahren sollte bei Verwendung der HT oder MWVT, spätestens bei einer relativen Restfeuchte von 0,3 vollzogen werden, um Verluste von Inhaltsstoffen zu vermeiden.

Zur Untersuchung der Qualitätsvoraussagen wurden verschiedene zweistufige Kombinationsverfahren bei Anwendung unterschiedlicher WP hinsichtlich des Inhaltsstoffgehalts untersucht. Für das Kombinationsverfahren GT-MWVT wurde in allen Produkten ein sehr guter Erhalt der Inhaltsstoffe festgestellt, der etwa dem Erhalt von rein gefriergetrockneten Produkten entsprach. Im Vergleich zur reinen GT konnte ein deutliches Zeitersparnis erreicht werden. Die Anwendung unterschiedlicher WP führte bei allen Produkten im untersuchten Bereich (relative Restfeuchten zwischen 0,9 und 0,3) zu einem vergleichbaren Erhalt der Inhaltsstoffe. Das Kombinationsverfahren

GT-HT hingegen führte, wie anhand der Erkenntnisse der Einzelverfahren zu erwarten, zu starken Inhaltsstoffverlusten, da das, für die Inhaltsstoffe als nachteilig zu bewertende, letzte Stadium der HT nicht umgangen wird. Die Anwendung unterschiedlicher WP (relative Restfeuchte zwischen 0,9 und 0,5) zur Trocknung von Äpfeln mit dem Kombinationsverfahren GT-HT hatte einen geringen Einfluss auf den Inhaltsstoffgehalt. Die mit einer GT endenden Kombinationen MWVT-GT und HT-GT wurden zur Trocknung von Karotten und Äpfeln eingesetzt und führten zu Produkten mit gutem Inhaltsstoffgehalt. Die Kombination HT-MWVT führte im Fall der Trocknung von Äpfeln zu einem moderaten Verlust der labilen Inhaltsstoffe. Diese waren aufgrund der Erkenntnisse der Einzelverfahren nicht zu erwarten und sind auf höhere Produkttemperaturen während der MWVT im Vergleich zum Einzelverfahren zurückzuführen, welche durch die anfängliche HT verursacht werden. Wurde das Kombinationsverfahren HT-MWVT zur Trocknung von Karotten verwendet, ergaben sich Produkte mit moderaten Verlusten von Inhaltsstoffen, deren Erhalt zwischen dem der Einzelverfahren lag. Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass der Erhalt der Inhaltsstoffe in den untersuchten Kombinationsverfahren hauptsächlich abhängig vom zweiten Verfahren ist. Daher bestimmt die Reihenfolge der verwendeten Verfahren maßgeblich den Erhalt der Inhaltsstoffe in den in dieser Arbeit untersuchten zweistufigen Kombinationsverfahren. Der Einfluss des WP auf den Inhaltsstoffgehalt ist als gering zu bewerten. Die Untersuchung der verschiedenen Kombinationsverfahren zeigte zudem, dass die Vorhersagen die anhand der Erkenntnisse der Einzelverfahren getroffen wurden, zutreffen. Daraus folgt, dass der Erhalt im zweiten Verfahren nicht oder nur in sehr geringem Maß durch das vorangehende Verfahren beeinflusst wird. Eine Ausnahme stellt wie zuvor beschrieben das Kombinationsverfahren HT-MWVT zur Trocknung von rotfleischigen Äpfeln dar.

Die Übertragbarkeit der Ergebnisse im Labormaßstab auf industrielle Prozesse wurde anhand von Scale-Up-Versuchen und Trocknungsversuchen mit zuvor blanchierten Karottenscheiben untersucht. Das Blanchieren selbst führte zu den erwarteten Verlusten von AS, hatte aber keinen negativen Einfluss auf den Erhalt während der sich anschließenden Trocknung mit dem Kombinationsverfahren GT-MWVT. Die Scale-Up-Versuche wurden mit den Kombinationsverfahren HT-GT und GT-HT durchgeführt. Der Erhalt in den mit Scale-Up-Versuchen hergestellten Produkten war im Vergleich zu den Versuchen im Labormaßstab meist gleich oder höher. Daher zeigen die Ergebnisse eine gute Übertragbarkeit der Versuche auf industrielle Maßstäbe.

Mit den sensorischen Untersuchungen sollte überprüft werden, ob die mit dem Kombinationsverfahren GT-MWVT hergestellten Apfelstücke und Karottenscheiben, von denen der reinen MWVT und GT unterscheidbar sind. Die Produkte die mit den Kombinationsverfahren hergestellt wurden, waren eindeutig von den mit den Einzelverfahren GT und MWVT hergestellten Produkten zu unterscheiden. Auch die Produkte die mit dem Kombinationsverfahren GT-MWVT bei unterschiedlichen WP hergestellt wurden, waren sehr gut voneinander unterscheidbar. Die beschreibende Prüfung zeigte, dass vor allem Unterschiede in der Färbung (Farbintensität bzw. Bräunung) und Produktstruktur (Knusprigkeit bzw. Festigkeit) bestehen.

Die Veränderungen in der Zusammensetzung der Zellwandbestandteile wurden in mit verschiedenen Verfahren getrockneten rotfleischigen Apfelstücken untersucht (HT mit 70 und 105 °C

Lufttemperatur, MWVT mit 250 und 750 W sowie GT-0,9-MWVT). Nach der Trocknung mit der MWVT-750 W und dem Kombinationsverfahren GT-0,9-MWVT wurde vor allem eine starke Zunahme des Ballaststoffgehaltes (BS-Gehaltes) um 32 % bzw. 40 % festgestellt, der auf die Bildung von retrogradierter oder resistenter Stärke zurückzuführen sein könnte. Die höheren Ballaststoffgehalte sind aus ernährungsphysiologischer Sicht als positiv zu bewerten. Die restlichen Trocknungsverfahren führten zu geringfügigen Veränderungen in den BS-Gehalten. Die Zusammensetzung der Zellwände der frischen rotfleischigen Äpfel war sehr ähnlich zu der von weißfleischigen Äpfeln. Die Veränderungen in der Zusammensetzung der Zellwände nach der Trocknung waren in den meisten Fällen nur gering ausgeprägt. Die weitergehende Analyse der Arabinane deutete auf eine Verringerung der Anteile der hochverzweigten Bereiche hin. Veränderungen im Veresterungsgrad von Galacturonsäure wurden lediglich in den durch Anwendung des Kombinationsverfahren GT-0,9-MWVT getrockneten Produkten festgestellt.

Die in dieser Arbeit beschriebenen Ergebnisse zeigen, dass eine wissensbasierte Verbesserung von Trocknungsverfahren durch eine detaillierte Analyse der Inhaltsstoffe unterstützt werden kann. In Zukunft können diese Erkenntnisse für die industrielle Trocknung von qualitativ hochwertigen Lebensmitteln genutzt werden.

6 Literaturverzeichnis

- AABY, K., EKEBERG, D. AND SKREDE, G. **2007**. Characterization of phenolic compounds in strawberry (*Fragaria × ananassa*) fruits by different HPLC detectors and contribution of individual compounds to total antioxidant capacity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 4395-4406.
- AABY, K., MAZUR, S., NES, A. AND SKREDE, G. **2012**. Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening, *Food Chemistry* 132: 86-97.
- AACC **2001**. The definition of dietary fiber, *Cereal Foods World* 46: 112-126.
- ABDEL-AAL, E.-S. M., YOUNG, J. C., RABALSKI, I., HUCL, P. AND FREGEAU-REID, J. **2007**. Identification and quantification of seed carotenoids in selected wheat species, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 787-794.
- AGRAWAL, P. K. **1992**. NMR-Spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides, *Phytochemistry* 31: 3307-3330.
- AJILA, C. M., BRAR, S. K., VERMA, M., TYAGI, R. D., GODBOUT, S. AND VALÉRO, J. R. **2011**. Extraction and analysis of polyphenols: Recent trends, *Critical Reviews in Biotechnology* 31: 227-249.
- AKYILDIZ, A. AND ÖCAL, N. D. **2006**. Effects of dehydration temperatures on colour and polyphenoloxidase activity of Amasya and Golden Delicious apple cultivars, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 2363-2368.
- ALBERSHEIM, P., NEUKOM, H. AND DEUEL, H. **1960**. Splitting of pectin chain molecules in neutral solutions, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 90: 46-51.
- ALBERSHEIM, P., NEVINS, D. J., ENGLISH, P. D. AND KARR, A. **1967**. A method for the analysis of sugars in plant cell-wall polysaccharides by gas-liquid chromatography, *Carbohydrate Research* 5: 340-345.
- AMORIM-CARRILHO, K. T., CEPEDA, A., FENTE, C. AND REGAL, P. **2014**. Review of methods for analysis of carotenoids, *Trends in Analytical Chemistry* 56: 49-73.
- ANTHON, G. E. AND BARRETT, D. M. **2008**. Combined enzymatic and colorimetric method for determining the uronic acid and methylester content of pectin: Application to tomato products, *Food Chemistry* 110: 239-247.
- ARENA, E., BALLISTRERI, G., TOMASELLI, F. AND FALLICO, B. **2011**. Survey of 1,2-dicarbonyl compounds in commercial honey of different floral origin, *Journal of Food Science* 76: 1203-1210.
- ARRIBAS-LORENZO, G. AND MORALES, F. J. **2010**. Analysis, distribution, and dietary exposure of glyoxal and methylglyoxal in cookies and their relationship with other heat-induced contaminants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 2966-2972.
- ARYA, S. P., MAHAJAN, M. AND JAIN, P. **1998**. Photometric methods for the determination of vitamin C, *Analytical Sciences* 14: 889-895.
- ARYA, S. P., MAHAJAN, M. AND JAIN, P. **2000**. Non-spectrophotometric methods for the determination of vitamin C, *Analytica Chimica Acta* 417: 1-14.
- ASP, N.-G. **1987**. Dietary fibre-definition, chemistry and analytical determination, *Molecular Aspects of Medicine* 9: 17-29.

- ASPINALL, G. O. AND FANOUS, H. K. **1984**. Structural investigations on the non-starchy polysaccharides of apples, *Carbohydrate Polymers* 4: 193-214.
- BARTLEY, I. M. AND KNEE, M. **1982**. The chemistry of textural changes in fruit during storage, *Food Chemistry* 9: 47-58.
- BÉDOUET, L., COURTOIS, B. AND COURTOIS, J. **2003**. Rapid quantification of *O*-acetyl and *O*-methyl residues in pectin extracts, *Carbohydrate Research* 338: 379-383.
- BEN-SHALOM, N., PLAT, D., LEVI, A. AND PINTO, R. **1992**. Changes in molecular weight of water-soluble and EDTA-soluble pectin fractions from carrot after heat treatments, *Food Chemistry* 45: 243-245.
- BILLAUD, C., ROUX, E., BRUN-MÉRIMÉE, S., MARASCHIN, C. AND NICOLAS, J. **2003**. Inhibitory effect of unheated and heated D-glucose, D-fructose and L-cysteine solutions and Maillard reaction product model systems on polyphenoloxidase from apple. I. Enzymatic browning and enzyme activity inhibition using spectrophotometric and polarographic methods, *Food Chemistry* 81: 35-50.
- BITTER, T. AND MUIR, H. M. **1962**. A modified uronic acid carbazole reaction, *Analytical Biochemistry* 4: 330-334.
- BLASCHEK, W., KOEHLER, H., SEMLER, U. AND FRANZ, G. **1982**. Molecular weight distribution of cellulose in primary cell walls, *Planta* 154: 550-555.
- BLUMENKRANTZ, N. AND ASBOE-HANSEN, G. **1973**. New method for quantitative determination of uronic acids, *Analytical Biochemistry* 54: 484-489.
- BÖHM, V., KÜHNERT, S., ROHM, H. AND SCHOLZE, G. **2006**. Improving the nutritional quality of microwave-vacuum dried strawberries: A preliminary study, *Food Science and Technology International* 12: 67-75.
- BOON, C. S., MCCLEMENTS, D. J., WEISS, J. AND DECKER, E. A. **2010**. Factors influencing the chemical stability of carotenoids in foods, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 50: 515-532.
- BOYER, J. AND LIU, R. H. **2004**. Apple phytochemicals and their health benefits, *Nutrition Journal* 3: 5.
- BRADY, C. J. **1987**. Fruit ripening, *Annual Review of Plant Physiology* 38: 155-178.
- BREMNER, J. M. AND TABATABAI, M. A. **1972**. Use of an ammonia electrode for determination of ammonium in Kjeldahl analysis of soils, *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 3: 159-165.
- BRENNAN, C. S. **2005**. Dietary fibre, glycaemic response, and diabetes, *Molecular Nutrition & Food Research* 49: 560-570.
- BRITTON, G. **1995**. Structure and properties of carotenoids in relation to function, *The FASEB Journal* 9: 1551-1558.
- BROWNLEADER, M. D., JACKSON, P., MOBASHERI, A., PANTELIDES, A. T., SUMAR, S., TREVAN, M. AND DEY, P. M. **1999**. Molecular aspects of cell wall modifications during fruit ripening, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 39: 149-164.
- BUCKERIDGE, M. S. **2010**. Seed cell wall storage polysaccharides: Models to understand cell wall biosynthesis and degradation, *Plant Physiology* 154: 1017-1023.

- BUCKERIDGE, M. S., RAYON, C., URBANOWICZ, B., TINÉ, M. A. S. AND CARPITA, N. C. **2004**. Mixed linkage (1→3),(1→4)-β-D-glucans of grasses, *Cereal Chemistry* 81: 115-127.
- BUNZEL, M., RALPH, J. AND STEINHART, H. **2005**. Association of nonstarch polysaccharides and ferulic acid in grain amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) dietary fiber, *Molecular nutrition & food research* 49: 551-559.
- BURINI, G. **2007**. Development of a quantitative method for the analysis of total L-ascorbic acid in foods by high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A* 1154: 97-102.
- BURKHARDT, S. AND BÖHM, V. **2007**. Development of a new method for the complete extraction of carotenoids from cereals with special reference to durum wheat (*Triticum durum* desf.), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 8295-8301.
- CAFFALL, K. H. AND MOHNEN, D. **2009**. The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides, *Carbohydrate Research* 344: 1879-1900.
- CALVO, M. M., DADO, D. AND SANTA-MARÍA, G. **2007**. Influence of extraction with ethanol or ethyl acetate on the yield of lycopene, β-carotene, phytoene and phytofluene from tomato peel powder, *European Food Research and Technology* 224: 567-571.
- CARPITA, N. C. AND GIBEAUT, D. M. **1993**. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth, *The Plant Journal* 3: 1-30.
- CASTAÑEDA-OVANDO, A., PACHECO-HERNÁNDEZ, M. D. L., PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E., RODRÍGUEZ, J. A. AND GALÁN-VIDAL, C. A. **2009**. Chemical studies of anthocyanins: A review, *Food Chemistry* 113: 859-871.
- CEBULI, A., CUNJA, V., MIKULIC-PETKOVSEK, M. AND VEBERIC, R. **2017**. Importance of metabolite distribution in apple fruit, *Scientia Horticulturae* 214: 214-220.
- CEYMANN, M., ARRIGONI, E., SCHARER, H., BAUMGARTNER, D., NISING, A. B. AND HURRELL, R. F. **2011**. Rapid high performance screening method using UHPLC-MS to quantify 12 polyphenol compounds in fresh apples, *Analytical Methods* 3: 1774-1778.
- CEYMANN, M., ARRIGONI, E., SCHÄRER, H., BOZZI NISING, A. AND HURRELL, R. F. **2012**. Identification of apples rich in health-promoting flavan-3-ols and phenolic acids by measuring the polyphenol profile, *Journal of Food Composition and Analysis* 26: 128-135.
- CHANDRASEKARAN, S., RAMANATHAN, S. AND BASAK, T. **2013**. Microwave food processing: A review, *Food Research International* 52: 243-261.
- CHASSAGNE-BERCES, S., POIRIER, C., DEVAUX, M.-F., FONSECA, F., LAHAYE, M., PIGORINI, G., GIRAULT, C., MARIN, M. AND GUILLON, F. **2009**. Changes in texture, cellular structure and cell wall composition in apple tissue as a result of freezing, *Food Research International* 42: 788-797.
- CHATJIGAKIS, A. K., PAPPAS, C., N.PROXENIA, O.KALANTZI, P.RODIS AND POLISSIOU, M. **1998**. FT-IR spectroscopic determination of the degree of esterification of cell wall pectins from stored peaches and correlation to textural changes, *Carbohydrate Polymers* 37: 395-408.
- CHEBROLU, K. K., JAYAPRAKASHA, G. K., YOO, K. S., JIFON, J. L. AND PATIL, B. S. **2012**. An improved sample preparation method for quantification of ascorbic acid and dehydroascorbic acid by HPLC, *LWT - Food Science and Technology* 47: 443-449.

CHENG, R. AND KAWAKISHI, S. **1994**. Novel decomposition of Amadori compound catalyzed by copper ion, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42: 700-703.

CIUCANU, I. **2006**. Per-*O*-methylation reaction for structural analysis of carbohydrates by mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta* 576: 147-155.

CIUCANU, I. AND KEREK, F. **1984**. A simple and rapid method for the permethylation of carbohydrates, *Carbohydrate Research* 131: 209-217.

CLIFFE, S., FAWER, M. S., MAIER, G., TAKATA, K. AND RITTER, G. **1994**. Enzyme assays for the phenolic content of natural juices, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42: 1824-1828.

CLIFFORD, M., JAGANATH, I. B., LUDWIG, I. A. AND CROZIER, A. **2017**. Chlorogenic acids and the acyl-quinic acids: discovery, biosynthesis, bioavailability and bioactivity, *Natural Product Reports*: 1391-1421.

CODEX ALIMENTARIUS, **2010**, Guidelines on nutrition labeling CAC/GL 2-1985.

CONTRERAS, C., MARTÍN-ESPARZA, M. E., MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. AND CHIRALT, A. **2007**. Influence of osmotic pre-treatment and microwave application on properties of air dried strawberry related to structural changes, *European Food Research and Technology* 224: 499-504.

CONTRERAS, C., MARTÍN, M. E., MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. AND CHIRALT, A. **2005**. Effect of vacuum impregnation and microwave application on structural changes which occurred during air-drying of apple, *LWT - Food Science and Technology* 38: 471-477.

CRAFT, N. E. AND SOARES, J. H. **1992**. Relative solubility, stability, and absorptivity of lutein and β -carotene in organic solvents, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 431-434.

CUI, Z.-W., LI, C.-Y., SONG, C.-F. AND SONG, Y. **2008a**. Combined microwave-vacuum and freeze drying of carrot and apple chips, *Drying Technology* 26: 1517-1523.

CUI, Z.-W., SUN, L.-J., CHEN, W. AND SUN, D.-W. **2008b**. Preparation of dry honey by microwave–vacuum drying, *Journal of Food Engineering* 84: 582-590.

CUI, Z.-W., XU, S.-Y. AND SUN, D.-W. **2004**. Effect of microwave-vacuum drying on the carotenoids retention of carrot slices and chlorophyll retention of chinese chive leaves, *Drying Technology* 22: 563-575.

CYBULSKA, J., ZDUNEK, A., PSONKA-ANTONCZYK, K. M. AND STOKKE, B. T. **2013**. The relation of apple texture with cell wall nanostructure studied using an atomic force microscope, *Carbohydrate Polymers* 92: 128-137.

DA SILVA, F. L., ESCRIBANO-BAILÓN, M. T., PÉREZ ALONSO, J. J., RIVAS-GONZALO, J. C. AND SANTOS-BUELGA, C. **2007**. Anthocyanin pigments in strawberry, *LWT - Food Science and Technology* 40: 374-382.

DAGLIA, M., PAPETTI, A., ACETI, C., SORDELLI, B., SPINI, V. AND GAZZANI, G. **2007**. Isolation and determination of α -dicarbonyl compounds by RP-HPLC-DAD in green and roasted coffee, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 8877-8882.

DALMAU, M. E., BORNHORST, G. M., EIM, V., ROSSELLÓ, C. AND SIMAL, S. **2017**. Effects of freezing, freeze drying and convective drying on *in vitro* gastric digestion of apples, *Food Chemistry* 215: 7-16.

FENNEMA, O. R. **2008**. Fennema's food chemistry. Boca Raton, CRC Press/Taylor & Francis.

- DE BRUIJN, J. AND BÓRQUEZ, R. **2014**. Quality retention in strawberries dried by emerging dehydration methods, *Food Research International* 63, Part A: 42-48.
- DE PAEPE, D., VALKENBORG, D., NOTEN, B., SERVAES, K., DIELS, L., DE LOOSE, M., VAN DROOGENBROECK, B. AND VOORSPOELS, S. **2015**. Variability of the phenolic profiles in the fruits from old, recent and new apple cultivars cultivated in Belgium, *Metabolomics* 11: 739-752.
- DE ROECK, A., SILA, D. N., DUVETTER, T., VAN LOEY, A. AND HENDRICKX, M. **2008**. Effect of high pressure/high temperature processing on cell wall pectic substances in relation to firmness of carrot tissue, *Food Chemistry* 107: 1225-1235.
- DE RUITER, G. A., JOSSO, S. L., COLQUHOUN, I. J., VORAGEN, A. G. J. AND ROMBOUTS, F. M. **1992a**. Isolation and characterization of β -(1-4)-D-glucuronans from extracellular polysaccharides of moulds belonging to Mucorales, *Carbohydrate Polymers* 18: 1-7.
- DE RUITER, G. A., SCHOLS, H. A., VORAGEN, A. G. J. AND ROMBOUTS, F. M. **1992b**. Carbohydrate analysis of water-soluble uronic acid-containing polysaccharides with high-performance anion-exchange chromatography using methanolysis combined with TFA hydrolysis is superior to four other methods, *Analytical Biochemistry* 207: 176-185.
- DE VRIES, J. A., ROMBOUTS, F. M., VORAGEN, A. G. J. AND PILNIK, W. **1982**. Enzymic degradation of apple pectins, *Carbohydrate Polymers* 2: 25-33.
- DEGEN, J., HELLWIG, M. AND HENLE, T. **2012**. 1,2-Dicarbonyl compounds in commonly consumed foods, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 7071-7079.
- DISCHE, Z. **1947**. A new specific color reaction of hexuronic acids, *Journal of Biological Chemistry* 167: 189-198.
- DRIVELOS, S., DASENAKI, M. AND THOMAIDIS, N. **2010**. Determination of isoascorbic acid in fish tissue by hydrophilic interaction liquid chromatography–ultraviolet detection, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 397: 2199-2210.
- DUVETTER, T., SILA, D. N., BUGGENHOUT, S. V., JOLIE, R., LOEY, A. V. AND HENDRICKX, M. **2009**. Pectins in processed fruit and vegetables: Part I—Stability and catalytic activity of pectinases, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 8: 75-85.
- EHRENKRANZ, J. R. L., LEWIS, N. G., RONALD KAHN, C. AND ROTH, J. **2005**. Phlorizin: A review, *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 21: 31-38.
- EL KHADEM, H., HORTON, D., MESHREKI, M. H. AND NASHED, M. A. **1971**. New route for the synthesis of 3-deoxyaldos-2-uloses, *Carbohydrate Research* 17: 183-192.
- ENGLYST, H. N. AND CUMMINGS, J. H. **1984**. Simplified method for the measurement of total non-starch polysaccharides by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates, *Analyst* 109: 937-942.
- ENGLYST, H. N., QUIGLEY, M. E. AND HUDSON, G. J. **1994**. Determination of dietary fibre as non-starch polysaccharides with gas-liquid chromatographic, high-performance liquid chromatographic or spectrophotometric measurement of constituent sugars, *Analyst* 119: 1497-1509.
- ESHAK, E. S., ISO, H., DATE, C., KIKUCHI, S., WATANABE, Y., WADA, Y., WAKAI, K. AND TAMAKOSHI, A. **2010**. Dietary fiber intake is associated with reduced risk of mortality from cardiovascular disease among Japanese men and women, *The Journal of Nutrition* 140: 1445-1453.

FELICETTI, E. AND MATTHEIS, J. P. **2010**. Quantification and histochemical localization of ascorbic acid in 'Delicious,' 'Golden Delicious,' and 'Fuji' apple fruit during on-tree development and cold storage, *Postharvest Biology and Technology* 56: 56-63.

FELLOWS, P. **2009**. Food processing technology : Principles and practice. Boca Raton, Florida, CRC Press.

FEMENIA, A., SÁNCHEZ, E. S., SIMAL, S. AND ROSSELLÓ, C. **1998**. Modification of cell wall composition of apricots (*Prunus armeniaca*) during drying and storage under modified atmospheres, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 5248-5253.

FEMENIA, A., SASTRE-SERRANO, G., SIMAL, S., GARAU, M. C., EIM, V. S. AND ROSSELLÓ, C. **2009**. Effects of air-drying temperature on the cell walls of kiwifruit processed at different stages of ripening, *LWT - Food Science and Technology* 42: 106-112.

FEMENIA, A., SIMAL, S., TABERNER CARME, G. AND ROSSELLÓ, C. **2007**. Effects of heat treatment and dehydration on pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) cell walls, *International Journal of Food Engineering* 3: 1-14.

FENOLL, J., MARTÍNEZ, A., HELLÍN, P. AND FLORES, P. **2011**. Simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids in vegetables and fruits by liquid chromatography with tandem-mass spectrometry, *Food Chemistry* 127: 340-344.

FERGUSON, L. R. AND HARRIS, P. J. **1996**. Studies on the role of specific dietary fibres in protection against colorectal cancer, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 350: 173-184.

FIGIEL, A. **2010**. Drying kinetics and quality of beetroots dehydrated by combination of convective and vacuum-microwave methods, *Journal of Food Engineering* 98: 461-470.

FILISSETTI-COZZI, T. M. C. C. AND CARPITA, N. C. **1991**. Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars, *Analytical Biochemistry* 197: 157-162.

FISCHER, R. L. AND BENNETT, A. B. **1991**. Role of cell wall hydrolases in fruit ripening, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42: 675-703.

FORD, C. W. **1982**. A routine method for identification and quantitative determination by gas-liquid chromatography of galacturonic acid in pectic substances, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 33: 318-324.

FOSSEN, T. AND ANDERSEN, Ø. M. **2003**. Anthocyanins from red onion, *Allium cepa*, with novel aglycone, *Phytochemistry* 62: 1217-1220.

FRAEYE, I., KNOCKAERT, G., BUGGENHOUT, S. V., DUVETTER, T., HENDRICKX, M. AND LOEY, A. V. **2009**. Enzyme infusion and thermal processing of strawberries: Pectin conversions related to firmness evolution, *Food Chemistry* 114: 1371-1379.

FRY, S. C. **1989**. The structure and functions of xyloglucan, *Journal of Experimental Botany* 40: 1-11.

FRY, S. C., YORK, W. S., ALBERSHEIM, P., DARVILL, A., HAYASHI, T., JOSELEAU, J. P., KATO, Y., LORENCES, E. P., MACLACHLAN, G. A., MCNEIL, M., MORT, A. J., REID, J. S. G., SEITZ, H. U., SELVENDRAN, R. R., VORAGEN, A. G. J. AND WHITE, A. R. **1993**. An unambiguous nomenclature for xyloglucan-derived oligosaccharides, *Physiologia Plantarum* 89: 1-3.

FULEKI, T. AND FRANCIS, F. J. **1968**. Quantitative methods for anthocyanins 2. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice, *Journal of Food Science* 33: 78-83.

- GARAU, M. C., SIMAL, S., ROSSELLÓ, C. AND FEMENIA, A. **2007**. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. Canoneta) by-products, *Food Chemistry* 104: 1014-1024.
- GARLEB, K. A., BOURQUIN, L. D. AND FAHEY, G. C. **1991**. Galacturonate in pectic substances from fruits and vegetables: Comparison of anion exchange HPLC with pulsed amperometric detection to standard colorimetric procedure, *Journal of Food Science* 56: 423-426.
- GARNA, H., MABON, N., NOTT, K., WATHELET, B. AND PAQUOT, M. **2006**. Kinetic of the hydrolysis of pectin galacturonic acid chains and quantification by ionic chromatography, *Food Chemistry* 96: 477-484.
- GEHRMANN, D., ESPER, G. J. AND SCHUCHMANN, H. **2009**. Trocknungstechnik in der Lebensmittelindustrie. Hamburg, Behr-Verlag.
- GEORGÉ, S., BRAT, P., ALTER, P. AND AMIOT, M. J. **2005**. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 1370-1373.
- GIBEAUT, D. M., PAULY, M., BACIC, A. AND FINCHER, G. B. **2005**. Changes in cell wall polysaccharides in developing barley (*Hordeum vulgare*) coleoptiles, *Planta* 221: 729-738.
- GIRI, S. K. AND PRASAD, S. **2007**. Drying kinetics and rehydration characteristics of microwave-vacuum and convective hot-air dried mushrooms, *Journal of Food Engineering* 78: 512-521.
- GLOMB, M. A. AND MONNIER, V. M. **1995**. Mechanism of protein modification by glyoxal and glycolaldehyde, reactive intermediates of the maillard reaction, *Journal of Biological Chemistry* 270: 10017-10026.
- GOBERT, J. AND GLOMB, M. A. **2009**. Degradation of glucose: Reinvestigation of reactive α -dicarbonyl compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 8591-8597.
- GÖKMEN, V. AND ACAR, J. **1996**. A simple HPLC-method for the determination of total vitamin C in fruit juices and drinks, *Fruit Processing* 6: 198-201.
- GÖKMEN, V., KAHRAMAN, N., DEMIR, N. AND ACAR, J. **2000**. Enzymatically validated liquid chromatographic method for the determination of ascorbic and dehydroascorbic acids in fruit and vegetables, *Journal of Chromatography A* 881: 309-316.
- GOTTLIEB, H. E., KOTLYAR, V. AND NUDELMAN, A. **1997**. NMR chemical shifts of common laboratory solvents as trace impurities, *The Journal of Organic Chemistry* 62: 7512-7515.
- GRANT, G. T., MORRIS, E. R., REES, D. A., SMITH, P. J. C. AND THOM, D. **1973**. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model, *FEBS Letters* 32: 195-198.
- GRASDALEN, H., EINAR BAKØY, O. AND LARSEN, B. **1988**. Determination of the degree of esterification and the distribution of methylated and free carboxyl groups in pectins by $^1\text{H-NMR}$ -spectroscopy, *Carbohydrate Research* 184: 183-191.
- GWANPUA, S. G., VAN BUGGENHOUT, S., VERLINDEN, B. E., CHRISTIAENS, S., SHPIGELMAN, A., VICENT, V., KERMANI, Z. J., NICOLAI, B. M., HENDRICKX, M. AND GEERAERD, A. **2014**. Pectin modifications and the role of pectin-degrading enzymes during postharvest softening of Jonagold apples, *Food Chemistry* 158: 283-291.
- GWANPUA, S. G., VERLINDEN, B. E., HERTOOG, M. L. A. T. M., NICOLAI, B. M., HENDRICKX, M. AND GEERAERD, A. **2016**. Slow softening of Kanzi apples (*Malus domestica* L.) is associated with preservation of pectin integrity in middle lamella, *Food Chemistry* 211: 883-891.

HAKOMORI, S. I. **1964**. A rapid permethylation of glycolipid and polysaccharide catalyzed by methylsulfinyl carbanion in dimethyl sulfoxide, *The Journal of Biochemistry* 55: 205-208.

HARRIS, P. J. AND FERGUSON, L. R. **1993**. Dietary fibre: Its composition and role in protection against colorectal cancer, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 290: 97-110.

HARRIS, P. J. AND SMITH, B. G. **2006**. Plant cell walls and cell-wall polysaccharides: Structures, properties and uses in food products, *International Journal of Food Science & Technology* 41: 129-143.

HART, D. J. AND SCOTT, K. J. **1995**. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK, *Food Chemistry* 54: 101-111.

HAYASHI, T., MASE, S. AND NAMIKI, M. **1985**. Formation of the N,N'-dialkylpyrazine cation radical from glyoxal dialkylimine produced on reaction of a sugar with an amine or amino acid, *Agricultural and Biological Chemistry* 49: 3131-3137.

HAYASHI, T., MASE, S. AND NAMIKI, M. **1986**. Formation of three-carbon sugar fragment at an early stage of the browning reaction of sugar with amines or amino acids, *Agricultural and Biological Chemistry* 50: 1959-1964.

HAYASHI, T. AND SHIBAMOTO, T. **1985**. Analysis of methyl glyoxal in foods and beverages, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 33: 1090-1093.

HELLWIG, M., DEGEN, J. AND HENLE, T. **2010**. 3-Deoxygalactosone, a "new" 1,2-dicarbonyl compound in milk products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 10752-10760.

HELLWIG, M., GENSBERGER-REIGL, S., HENLE, T. AND PISCHETSRIEDER, M. **2018**. Food-derived 1,2-dicarbonyl compounds and their role in diseases, *Seminars in Cancer Biology* 49: 1-8.

HEMSTRÖM, P. AND IRGUM, K. **2006**. Hydrophilic interaction chromatography, *Journal of Separation Science* 29: 1784-1821.

HENLE, T. AND BACHMANN, A. **1996**. Synthesis of pyrrole reference material, *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 202: 72-74.

HERNÁNDEZ, Y., LOBO, M. G. AND GONZÁLEZ, M. **2006**. Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods, *Food Chemistry* 96: 654-664.

HOFMANN, T. **1999**. Quantitative studies on the role of browning precursors in the Maillard reaction of pentoses and hexoses with L-alanine, *European Food Research and Technology* 209: 113-121.

HOFMANN, T., BORS, W. AND STETTMAIER, K. **1999**. Studies on radical intermediates in the early stage of the nonenzymatic browning reaction of carbohydrates and amino acids, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 379-390.

HOLLNAGEL, A. AND KROH, L. W. **2002**. 3-Deoxypentosulose: An α -dicarbonyl compound predominating in nonenzymatic browning of oligosaccharides in aqueous solution, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 1659-1664.

HORUZ, E., BOZKURT, H., KARATAŞ, H. AND MASKAN, M. **2017**. Effects of hybrid (microwave-convectional) and convectional drying on drying kinetics, total phenolics, antioxidant capacity, vitamin C, color and rehydration capacity of sour cherries, *Food Chemistry* 230: 295-305.

- HOUBEN, K., JAMSAZZADEH KERMANI, Z., VAN BUGGENHOUT, S., JOLIE, R. P., VAN LOEY, A. M. AND HENDRICKX, M. E. **2013**. Thermal and high-pressure stability of pectinmethylesterase, polygalacturonase, β -galactosidase and α -arabinofuranosidase in a tomato matrix: Towards the creation of specific endogenous enzyme populations through processing, *Food and Bioprocess Technology* 6: 3368-3380.
- HOUBEN, K., JAMSAZZADEH KERMANI, Z., VAN BUGGENHOUT, S., VAN LOEY, A. M. AND HENDRICKX, M. E. **2014**. Thermal and high-pressure stability of pectin-converting enzymes in broccoli and carrot purée: Towards the creation of specific endogenous enzyme populations through processing, *Food and Bioprocess Technology* 7: 1713-1724.
- HUANG, L.-L., ZHANG, M., MUJUMDAR, A. S., SUN, D.-F., TAN, G.-W. AND TANG, S. **2009**. Studies on decreasing energy consumption for a freeze-drying process of apple slices, *Drying Technology* 27: 938-946.
- HUANG, L.-L., ZHANG, M., WANG, L.-P., MUJUMDAR, A. S. AND SUN, D.-F. **2012**. Influence of combination drying methods on composition, texture, aroma and microstructure of apple slices, *LWT - Food Science and Technology* 47: 183-188.
- HUISMAN, M. M. H., BRÜLL, L. P., THOMAS-OATES, J. E., HAVERKAMP, J., SCHOLS, H. A. AND VORAGEN, A. G. J. **2001**. The occurrence of internal (1 \rightarrow 5)-linked arabinofuranose and arabinopyranose residues in arabinogalactan side chains from soybean pectic substances, *Carbohydrate Research* 330: 103-114.
- HUISMAN, M. M. H., OOSTERVELD, A. AND SCHOLS, H. A. **2004**. Fast determination of the degree of methyl esterification of pectins by head-space GC, *Food Hydrocolloids* 18: 665-668.
- ISHII, T. **1997**. Structure and functions of feruloylated polysaccharides, *Plant Science* 127: 111-127.
- ISHII, T. AND MATSUNAGA, T. **2001**. Pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II is covalently linked to homogalacturonan, *Phytochemistry* 57: 969-974.
- IWASE, H. **2000**. Use of an amino acid in the mobile phase for the determination of ascorbic acid in food by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection, *Journal of Chromatography A* 881: 317-326.
- JANOVITZ-KLAPP, A., RICHARD, F. AND NICOLAS, J. **1989**. Polyphenoloxidase from apple, partial purification and some properties, *Phytochemistry* 28: 2903-2907.
- JARAMILLO, S., RODRÍGUEZ, R., JIMÉNEZ, A., GUILLÉN, R., FERNÁNDEZ-BOLAÑOS, J. AND HEREDIA, A. **2007**. Effects of storage conditions on the accumulation of ferulic acid derivatives in white asparagus cell walls, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87: 286-296.
- JONES, T. M. AND ALBERSHEIM, P. **1972**. A gas chromatographic method for the determination of aldose and uronic acid constituents of plant cell wall polysaccharides, *Plant Physiology* 49: 926-936.
- JOSHI, A. P. K., RUPASINGHE, H. P. V. AND KHANIZADEH, S. **2011**. Impact of drying processes on bioactive phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of red-fleshed apple slices, *Journal of Food Processing and Preservation* 35: 453-457.
- KADEREIT, J. W., KÖRNER, C., KOST, B. AND SONNEWALD, U. **2014**. Strasburger– Lehrbuch der Pflanzenwissenschaften. Berlin, Springer-Verlag.
- KAENSUP, W., CHUTIMA, S. AND WONGWISES, S. **2002**. Experimental study on drying of chilli in a combined microwave-vacuum-rotary drum dryer, *Drying Technology* 20: 2067-2079.

- KAWAKISHI, S., TSUNEHIRO, J. AND UCHIDA, K. **1991**. Autoxidative degradation of Amadori compounds in the presence of copper ion, *Carbohydrate Research* 211: 167-171.
- KEIJBETS, M. J. H. AND PILNIK, W. **1974**. β -Elimination of pectin in the presence of anions and cations, *Carbohydrate Research* 33: 359-362.
- KHRAISHEH, M. A. M., MCMINN, W. A. M. AND MAGEE, T. R. A. **2004**. Quality and structural changes in starchy foods during microwave and convective drying, *Food Research International* 37: 497-503.
- KINTNER, P. K. AND BUREN, J. P. **1982**. Carbohydrate interference and its correction in pectin analysis using the m-hydroxydiphenyl method, *Journal of Food Science* 47: 756-759.
- KLAVONS, J. A. AND BENNETT, R. D. **1986**. Determination of methanol using alcohol oxidase and its application to methyl ester content of pectins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 34: 597-599.
- KOCADAĞLI, T. AND GÖKMEN, V. **2014**. Investigation of α -dicarbonyl compounds in baby foods by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 7714-7720.
- KONG, J.-M., CHIA, L.-S., GOH, N.-K., CHIA, T.-F. AND BROUILLARD, R. **2003**. Analysis and biological activities of anthocyanins, *Phytochemistry* 64: 923-933.
- KRALL, S. M. AND MCFEETERS, R. F. **1998**. Pectin hydrolysis: Effect of temperature, degree of methylation, pH, and calcium on hydrolysis rates, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 1311-1315.
- KRAUS, S., ROTHER, M., STEIMLE, P., GAUKEL, V., SCHUCHMANN, H. P. AND MERK, D. **2011**. Modularer Trocknungsprozessor zur Anwendung kombinierter Trocknungsverfahren, *Chemie Ingenieur Technik* 83: 888-892.
- KRAVTCHEENKO, T. P., ARNOULD, I., VORAGEN, A. G. J. AND PILNIK, W. **1992**. Improvement of the selective depolymerization of pectic substances by chemical β -elimination in aqueous solution, *Carbohydrate Polymers* 19: 237-242.
- KROH, L. W. **1994**. Caramelisation in food and beverages, *Food Chemistry* 51: 373-379.
- KUMAR, H. S. P., RADHAKRISHNA, K., NAGARAJU, P. K. AND RAO, D. V. **2001**. Effect of combination drying on the physico-chemical characteristics of carrot and pumpkin, *Journal of Food Processing and Preservation* 25: 447-460.
- KYOMUGASHO, C., CHRISTIAENS, S., SHPIGELMAN, A., VAN LOEY, A. M. AND HENDRICKX, M. E. **2015**. FT-IR spectroscopy, a reliable method for routine analysis of the degree of methylesterification of pectin in different fruit- and vegetable-based matrices, *Food Chemistry* 176: 82-90.
- LATZA, S., GANSSER, D. AND BERGER, R. G. **1996**. Identification and accumulation of 1-O-trans-cinnamoyl- β -D-glucopyranose in developing strawberry fruit (*Fragaria ananassa* Duch. Cv. Kent), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 1367-1370.
- LE BOURVELLEC, C., GUYOT, S. AND RENARD, C. M. G. C. **2004**. Non-covalent interaction between procyanidins and apple cell wall material: Part I. Effect of some environmental parameters, *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* 1672: 192-202.
- LE GOFF, A., RENARD, C. M. G. C., BONNIN, E. AND THIBAUT, J. F. **2001**. Extraction, purification and chemical characterisation of xylogalacturonans from pea hulls, *Carbohydrate Polymers* 45: 325-334.

- LEDL, F. AND SCHLEICHER, E. **1990**. Die Maillard-Reaktion in Lebensmitteln und im menschlichen Körper – neue Ergebnisse zu Chemie, Biochemie und Medizin, *Angewandte Chemie* 102: 597-626.
- LEE, S. AND LABUZA, T. P. **1975**. Destruction of ascorbic acid as a function of water activity, *Journal of Food Science* 40: 370-373.
- LEE, S. C., PROSKY, L. AND DEVRIES, J. W. **1992**. Determination of total, soluble, and insoluble dietary fibre in foods - enzymatic-gravimetric method, MES-TRIS Buffer: Collaborative study, *Journal of AOAC International* 75: 395-416.
- LESSIN, W. J. AND SCHWARTZ, S. J. **1997**. Quantification of *cis-trans* isomers of provitamin A carotenoids in fresh and processed fruits and vegetables, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 3728-3732.
- LEVIGNE, S., THOMAS, M., RALET, M. C., QUEMENER, B. AND THIBAUT, J. F. **2002**. Determination of the degrees of methylation and acetylation of pectins using a C18 column and internal standards, *Food Hydrocolloids* 16: 547-550.
- LEVIGNE, S. V., RALET, M.-C. J., QUÉMÉNER, B. C., POLLET, B. N.-L., LAPIERRE, C. AND THIBAUT, J.-F. J. **2004**. Isolation from sugar beet cell walls of arabinan oligosaccharides esterified by two ferulic acid monomers, *Plant Physiology* 134: 1173-1180.
- LI, M.-J., MA, F.-W., ZHANG, M. AND PU, F. **2008**. Distribution and metabolism of ascorbic acid in apple fruits (*Malus domestica* Borkh cv. Gala), *Plant Science* 174: 606-612.
- LIM, C. J., KIM, H. Y., LEE, C. H., KIM, Y., BACK, K., BAE, J.-M., LEE, S. W. AND AHN, M.-J. **2009**. Variation in carotenoid composition in carrots during storage and cooking, *Journal of Food Science and Nutrition* 14: 240-245.
- LIN, T. M., D. DURANCE, T. AND SCAMAN, C. H. **1998**. Characterization of vacuum microwave, air and freeze dried carrot slices, *Food Research International* 31: 111-117.
- LIPKIN, M., REDDY, B., NEWMARK, H. AND LAMPRECHT, S. A. **1999**. Dietary factors in human colorectal cancer, *Annual Review of Nutrition* 19: 545-586.
- LITVIN, S., MANNHEIM, C. H. AND MILTZ, J. **1998**. Dehydration of carrots by a combination of freeze drying, microwave heating and air or vacuum drying, *Journal of Food Engineering* 36: 103-111.
- LUCINI, L., PELLIZZONI, M., BAFFI, C. AND MOLINARI, G. P. **2012**. Rapid determination of lycopene and β -carotene in tomato by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92: 1297-1303.
- LUZIO, G. A. AND CAMERON, R. G. **2013**. Determination of degree of methylation of food pectins by chromatography, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93: 2463-2469.
- LYKKESFELDT, J. **2000**. Determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in biological samples by high-performance liquid chromatography using subtraction methods: Reliable reduction with tris[2-carboxyethyl]phosphine hydrochloride, *Analytical Biochemistry* 282: 89-93.
- MACCARRONE, M., D'ANDREA, G., SALUCCI, M. L., AVIGLIANO, L. AND FINAZZI-AGRÒ, A. **1993**. Temperature, pH and UV irradiation effects on ascorbate oxidase, *Phytochemistry* 32: 795-798.
- MADSON, M. A. AND FEATHER, M. S. **1981**. An improved preparation of 3-deoxy-D-erythro-hexos-2-ulose via the bis(benzoylhydrazone) and some related constitutional studies, *Carbohydrate Research* 94: 183-191.

MAIANI, G., CASTÓN, M. J. P., CATASTA, G., TOTI, E., CAMBRODÓN, I. G., BYSTED, A., GRANADO-LORENCIO, F., OLMEDILLA-ALONSO, B., KNUTHSEN, P., VALOTI, M., BÖHM, V., MAYER-MIEBACH, E., BEHSNILIAN, D. AND SCHLEMMER, U. **2009**. Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans, *Molecular Nutrition & Food Research* 53: 194-218.

MALEC, M., LE QUÉRÉ, J.-M., SOTIN, H., KOŁODZIEJCZYK, K., BAUDUIN, R. AND GUYOT, S. **2014**. Polyphenol profiling of a red-fleshed apple cultivar and evaluation of the color extractability and stability in the juice, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 6944-6954.

MARCEAU, E. AND YAYLAYAN, V. A. **2009**. Profiling of α -dicarbonyl content of commercial honeys from different botanical origins: Identification of 3,4-dideoxyglucoson-3-ene (3,4-dge) and related compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 10837-10844.

MARFIL, P. H. M., SANTOS, E. M. AND TELIS, V. R. N. **2008**. Ascorbic acid degradation kinetics in tomatoes at different drying conditions, *LWT - Food Science and Technology* 41: 1642-1647.

MARTINS, S. I. F. S., JONGEN, W. M. F. AND VAN BOEKEL, M. A. J. S. **2001**. A review of maillard reaction in food and implications to kinetic modelling, *Trends in Food Science & Technology* 11: 364-373.

MARX, M., SCHIEBER, A. AND CARLE, R. **2000**. Quantitative determination of carotene stereoisomers in carrot juices and vitamin supplemented (ATBC) drinks, *Food Chemistry* 70: 403-408.

MASKAN, M. **2000**. Microwave/air and microwave finish drying of banana, *Journal of Food Engineering* 44: 71-78.

MASKAN, M. **2001**. Kinetics of colour change of kiwifruits during hot air and microwave drying, *Journal of Food Engineering* 48: 169-175.

MATSUHASHI, S. AND HATANAKA, C. **1992**. Difference between the free and conjugated galacturonate residues in their color reaction with carbazole or m-hydroxybiphenyl reagents, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 56: 1142-1143.

MAZZA, G. AND VELIOGLU, Y. S. **1992**. Anthocyanins and other phenolic compounds in fruits of red-flesh apples, *Food Chemistry* 43: 113-117.

MCCLEARY, B. V. **2007**. An integrated procedure for the measurement of total dietary fibre (including resistant starch), non-digestible oligosaccharides and available carbohydrates, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 389: 291-308.

MCCLEARY, B. V. **2019**. Total dietary fiber (CODEX definition) in foods and food ingredients by a rapid enzymatic-gravimetric method and liquid chromatography: Collaborative study, first action 2017.16, *Journal of AOAC International* 102: 196-207.

MCCLEARY, B. V., DEVRIES, J. W., RADER, J. I., COHEN, G., PROSKY, L., MUGFORD, D. C., CHAMP, M. AND OKUMA, K. **2010**. Determination of total dietary fiber (CODEX definition) by enzymatic-gravimetric method and liquid chromatography: Collaborative study, *Journal of AOAC International* 93: 221-233.

MCCLEARY, B. V., DEVRIES, J. W., RADER, J. I., COHEN, G., PROSKY, L., MUGFORD, D. C., CHAMP, M. AND OKUMA, K. **2012**. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber (CODEX definition) by enzymatic-gravimetric method and liquid chromatography: Collaborative study, *Journal of AOAC International* 95: 824-844.

MCCLEARY, B. V., SLOANE, N. AND DRAGA, A. **2015**. Determination of total dietary fibre and available carbohydrates: A rapid integrated procedure that simulates *in vivo* digestion, *Starch - Stärke* 67: 860-883.

- MCCLEARY, B. V., SLOANE, N., DRAGA, A. AND LAZEWSKA, I. **2013**. Measurement of total dietary fiber using AOAC method 2009.01 (AACC international approved method 32-45.01): Evaluation and updates, *Cereal Chemistry* 90: 396-414.
- MCDUGALL, G. J., MORRISON, I. M., STEWART, D. AND HILLMAN, J. R. **1996**. Plant cell walls as dietary fibre: Range, structure, processing and function, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 70: 133-150.
- MCNEIL, M., DARVILL, A. G., FRY, S. C. AND ALBERSHEIM, P. **1984**. Structure and function of the primary cell walls of plants, *Annual Review of Biochemistry* 53: 625-663.
- MECH-NOWAK, A., ŚWIDERSKI, A., KRUCZEK, M., ŁUCZAK, I. AND KOSTECKA-GUGAŁA, A. **2012**. Content of carotenoids in roots of seventeen cultivars of *Daucus carota* L., *Acta Biochimica Polonica* 59: 139-141.
- MÉNDEZ-LAGUNAS, L., RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, J., CRUZ-GRACIDA, M., SANDOVAL-TORRES, S. AND BARRIADA-BERNAL, G. **2017**. Convective drying kinetics of strawberry (*Fragaria ananassa*): Effects on antioxidant activity, anthocyanins and total phenolic content, *Food Chemistry* 230: 174-181.
- MESTER, Z., STURGEON, R. AND PAWLISZYN, J. **2001**. Solid phase microextraction as a tool for trace element speciation, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 56: 233-260.
- MEYER, K. A., KUSHI, L. H., JACOBS, J. D. R., SLAVIN, J., SELLERS, T. A. AND FOLSOM, A. R. **2000**. Carbohydrates, dietary fiber, and incident type 2 diabetes in older women, *The American Journal of Clinical Nutrition* 71: 921-930.
- MIZUNO, M., KATO, M., IINUMA, M., TANAKA, T., KIMURA, A., OHASHI, H., SAKAI, H. AND KAJITA, T. **1989**. Two chemical races in *Salix sachalinensis* Fr. Schmidt (Salicaceae), *The botanical magazine = Shokubutsugaku-zasshi* 102: 403-411.
- MOHNEN, D. **2008**. Pectin structure and biosynthesis, *Current Opinion in Plant Biology* 11: 266-277.
- MOUSA, N. AND FARID, M. **2002**. Microwave vacuum drying of banana slices, *Drying Technology* 20: 2055-2066.
- MÜLLER-MAATSCH, J., CALIGIANI, A., TEDESCHI, T., ELST, K. AND SFORZA, S. **2014**. Simple and validated quantitative ¹H-NMR-method for the determination of methylation, acetylation, and feruloylation degree of pectin, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 9081-9087.
- NAKAMURA, A., FURUTA, H., MAEDA, H., TAKAO, T. AND NAGAMATSU, Y. **2002**. Structural studies by stepwise enzymatic degradation of the main backbone of soybean soluble polysaccharides consisting of galacturonan and rhamnogalacturonan, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 66: 1301-1313.
- NEUMÜLLER, K. G., CARVALHO DE SOUZA, A., VAN RIJN, J., APPELDOORN, M. M., STREEKSTRA, H., SCHOLS, H. A. AND GRUPPEN, H. **2013**. Fast and robust method to determine phenoyl and acetyl esters of polysaccharides by quantitative ¹H-NMR, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61: 6282-6287.
- NG, J. K. T., SCHRÖDER, R., BRUMMELL, D. A., SUTHERLAND, P. W., HALLETT, I. C., SMITH, B. G., MELTON, L. D. AND JOHNSTON, J. W. **2015**. Lower cell wall pectin solubilisation and galactose loss during early fruit development in apple (*Malus x domestica*) cultivar 'Scifresh' are associated with slower softening rate, *Journal of Plant Physiology* 176: 129-137.
- NIIZU, P. Y. AND RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **2005**. New data on the carotenoid composition of raw salad vegetables, *Journal of Food Composition and Analysis* 18: 739-749.

NOVÁKOVÁ, L., SOLICH, P. AND SOLICHOVÁ, D. **2008a**. HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids, *Trends in Analytical Chemistry* 27: 942-958.

NOVÁKOVÁ, L., SOLICHOVÁ, D., PAVLOVIČOVÁ, S. AND SOLICH, P. **2008b**. Hydrophilic interaction liquid chromatography method for the determination of ascorbic acid, *Journal of Separation Science* 31: 1634-1644.

NOVÁKOVÁ, L., SOLICHOVÁ, D. AND SOLICH, P. **2009**. Hydrophilic interaction liquid chromatography – charged aerosol detection as a straightforward solution for simultaneous analysis of ascorbic acid and dehydroascorbic acid, *Journal of Chromatography A* 1216: 4574-4581.

NOVÁKOVÁ, L., SPÁČIL, Z., SEIFRTOVÁ, M., OPLETAL, L. AND SOLICH, P. **2010**. Rapid qualitative and quantitative ultra high performance liquid chromatography method for simultaneous analysis of twenty nine common phenolic compounds of various structures, *Talanta* 80: 1970-1979.

NUNES, C., ROCHA, S. M., SARAIVA, J. AND COIMBRA, M. A. **2006**. Simple and solvent-free methodology for simultaneous quantification of methanol and acetic acid content of plant polysaccharides based on headspace solid phase microextraction-gas chromatography (HS-SPME-GC-FID), *Carbohydrate Polymers* 64: 306-311.

O'NEILL, M. A., ISHII, T., ALBERSHEIM, P. AND DARVILL, A. G. **2004**. Rhamnogalacturonan II: Structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide, *Annual Review of Plant Biology* 55: 109-139.

OBEL, N., PORCHIA, A. C. AND SCHELLER, H. V. **2002**. Dynamic changes in cell wall polysaccharides during wheat seedling development, *Phytochemistry* 60: 603-610.

ODRIOZOLA-SERRANO, I., HERNÁNDEZ-JOVER, T. AND MARTÍN-BELLOSO, O. **2007**. Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits, *Food Chemistry* 105: 1151-1158.

ORDAZ-ORTIZ, J. J., DEVAUX, M.-F. AND SAULNIER, L. **2005**. Classification of wheat varieties based on structural features of arabinoxylans as revealed by endoxylanase treatment of flour and grain, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 8349-8356.

PAENGKANYA, S., SOPONRONNARIT, S. AND NATHAKARANAKULE, A. **2015**. Application of microwaves for drying of durian chips, *Food and Bioproducts Processing* 96: 1-11.

PANDEY, K. B. AND RIZVI, S. I. **2009**. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2: 270-278.

PARK, Y. B. AND COSGROVE, D. J. **2015**. Xyloglucan and its interactions with other components of the growing cell wall, *Plant and Cell Physiology* 56: 180-194.

PASTELL, H., PUTKONEN, T. AND RITA, H. **2019**. Dietary fibre in legumes, seeds, vegetables, fruits and mushrooms: Comparing traditional and semi-automated filtration techniques, *Journal of Food Composition and Analysis* 75: 1-7.

PATRAS, A., BRUNTON, N. P., O'DONNELL, C. AND TIWARI, B. K. **2010**. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods: Mechanisms and kinetics of degradation, *Trends in Food Science & Technology* 21: 3-11.

PEDERSEN, A. T., ANDERSEN, Ø. M., AKSNES, D. W. AND NERDAL, W. **1993**. NMR of anthocyanins: Assignments and effects of exchanging aromatic protons, *Magnetic Resonance in Chemistry* 31: 972-976.

PEKAL, A. AND PYRZYNSKA, K. **2014**. Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay, *Food Analytical Methods* 7: 1776-1782.

- PEÑA, M. J. AND CARPITA, N. C. **2004**. Loss of highly branched arabinans and debranching of rhamnogalacturonan I accompany loss of firm texture and cell separation during prolonged storage of apple, *Plant Physiology* 135: 1305-1313.
- PETTOLINO, F. A., WALSH, C., FINCHER, G. B. AND BACIC, A. **2012**. Determining the polysaccharide composition of plant cell walls, *Nature Protocols* 7: 1590-1607.
- PLAT, D., BEN-SHALOM, N. AND LEVI, A. **1991**. Changes in pectic substances in carrots during dehydration with and without blanching, *Food Chemistry* 39: 1-12.
- POSÉ, S., KIRBY, A. R., PANIAGUA, C., WALDRON, K. W., MORRIS, V. J., QUESADA, M. A. AND MERCADO, J. A. **2015**. The nanostructural characterization of strawberry pectins in pectate lyase or polygalacturonase silenced fruits elucidates their role in softening, *Carbohydrate Polymers* 132: 134-145.
- PRASANNA, V., PRABHA, T. N. AND THARANATHAN, R. N. **2007**. Fruit ripening phenomena—An overview, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47: 1-19.
- PROSAPIO, V. AND NORTON, I. **2017**. Influence of osmotic dehydration pre-treatment on oven drying and freeze drying performance, *LWT - Food Science and Technology* 80: 401-408.
- PROSKY, L., ASP, N. G., FURDA, I., DEVRIES, J. W., SCHWEIZER, T. F. AND HARLAND, B. F. **1985**. Determination of total dietary fiber in foods and food products: Collaborative study, *Journal of AOAC International* 68: 677-679.
- PROTHON, F., AHRNÉ, L. L. M., FUNEBO, T., KIDMAN, S., LANGTON, M. AND SJÖHOLM, I. **2001**. Effects of combined osmotic and microwave dehydration of apple on texture, microstructure and rehydration characteristics, *LWT - Food Science and Technology* 34: 95-101.
- PUSTJENS, A. M., SCHOLS, H. A., KABEL, M. A. AND GRUPPEN, H. **2013**. Characterisation of cell wall polysaccharides from rapeseed (*Brassica napus*) meal, *Carbohydrate Polymers* 98: 1650-1656.
- PYYSALO, H. AND MAKITIE, O. **1973**. Spectrophotometric studies on the acid dissociation of anthocyanins in aqueous solutions, *Acta Chemica Scandinavica*: 2681-2682.
- QUEIROZ, C., MENDES LOPES, M. L., FIALHO, E. AND VALENTE-MESQUITA, V. L. **2008**. Polyphenol oxidase: Characteristics and mechanisms of browning control, *Food Reviews International* 24: 361-375.
- QUIDEAU, S., DEFFIEUX, D., DOUAT-CASASSUS, C. AND POUYSÉGU, L. **2011**. Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis, *Angewandte Chemie International Edition* 50: 586-621.
- RALPH, J., GRABBER, J. H. AND HATFIELD, R. D. **1995**. Lignin-ferulate cross-links in grasses: active incorporation of ferulate polysaccharide esters into ryegrass lignins, *Carbohydrate Research* 275: 167-178.
- RANVEER, R. C., PATIL, S. N. AND SAHOO, A. K. **2013**. Effect of different parameters on enzyme-assisted extraction of lycopene from tomato processing waste, *Food and Bioproducts Processing* 91: 370-375.
- REGIER, M., MAYER-MIEBACH, E., BEHNSILIAN, D., NEFF, E. AND SCHUCHMANN, H. P. **2005**. Influences of drying and storage of lycopene-rich carrots on the carotenoid content, *Drying Technology* 23: 989-998.
- RENARD, C. M. G. C., VORAGEN, A. G. J., THIBAUT, J. F. AND PILNIK, W. **1990**. Studies on apple protopectin: I. Extraction of insoluble pectin by chemical means, *Carbohydrate Polymers* 12: 9-25.

- REVEL, G. D., PRIPIS-NICOLAU, L., BARBE, J.-C. AND BERTRAND, A. **2000**. The detection of α -dicarbonyl compounds in wine by formation of quinoxaline derivatives, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 102-108.
- RIDLEY, B. L., O'NEILL, M. A. AND MOHNEN, D. **2001**. Pectins: Structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling, *Phytochemistry* 57: 929-967.
- RIHOUEY, C., MORVAN, C., BORISSOVA, I., JAUNEAU, A., DEMARTY, M. AND JARVIS, M. **1995**. Structural features of CDTA-soluble pectins from flax hypocotyls, *Carbohydrate Polymers* 28: 159-166.
- RIVERA, S. AND CANELA, R. **2012**. Influence of sample processing on the analysis of carotenoids in maize, *Molecules* 17: 11255-11268.
- ROBARDS, K. AND ANTOLOVICH, M. **1997**. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids: A review, *Analyst* 122: 11-34.
- ROCHA, A. M. C. N., CANO, M. P., GALEAZZI, M. A. M. AND MORAIS, A. M. M. B. **1998**. Characterisation of 'Starking' apple polyphenoloxidase, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 77: 527-534.
- RODRIGUES, S., FERNANDES, F. A. N., GARCÍA-PÉREZ, J. V. AND CÁRCEL, J. A. **2017**. Influence of ultrasound-assisted air-drying and conventional air-drying on the activity of apple enzymes, *Journal of Food Processing and Preservation* 41: 1-9.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **2010**. Quantitative analysis, *in vitro* assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids - A review, *Journal of Food Composition and Analysis* 23: 726-740.
- RODRÍGUEZ-ARCOS, R. C., SMITH, A. C. AND WALDRON, K. W. **2004**. Ferulic acid crosslinks in asparagus cell walls in relation to texture, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 4740-4750.
- ROMBOUTS, F. M. AND THIBAUT, J.-F. **1986**. Enzymic and chemical degradation and the fine structure of pectins from sugar-beet pulp, *Carbohydrate Research* 154: 189-203.
- ROSENBOHM, C., LUNDT, I., CHRISTENSEN, T. I. E. AND YOUNG, N. G. **2003**. Chemically methylated and reduced pectins: Preparation, characterisation by $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy, enzymatic degradation, and gelling properties, *Carbohydrate Research* 338: 637-649.
- ROTHER, M., STEIMLE, P., GAUKEL, V. AND SCHUCHMANN, H. P. **2011**. How to meet the freeze drying standard in combined drying processes: Pre and finish drying of carrot dice, *Drying Technology* 29: 266-277.
- RUIZ-MATUTE, A. I., CASTRO VAZQUEZ, L., HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, O., SANZ, M. L. AND MARTÍNEZ-CASTRO, I. **2015**. Identification and determination of 3-deoxyglucosone and glucosone in carbohydrate-rich foods, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95: 2424-2430.
- RUIZ-MATUTE, A. I., HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, O., RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, S., SANZ, M. L. AND MARTÍNEZ-CASTRO, I. **2011**. Derivatization of carbohydrates for GC and GC-MS analyses, *Journal of Chromatography B* 879: 1226-1240.
- RUMPUNEN, K., THOMAS, M., BADILAS, N. AND THIBAUT, J. F. **2002**. Validation of a combined enzymatic and HPLC-method for screening of pectins in fruits of japanese quince (*Chaenomeles japonica*), *LWT - Food Science and Technology* 35: 490-496.
- SADILOVA, E., CARLE, R. AND STINTZING, F. C. **2007**. Thermal degradation of anthocyanins and its impact on color and *in vitro* antioxidant capacity, *Molecular Nutrition & Food Research* 51: 1461-1471.

- SADILOVA, E., STINTZING, F. C. AND CARLE, R. **2006a**. Chemical quality parameters and anthocyanin pattern of red-fleshed "Weirouge" apples, *Journal of Applied Botany and Food Quality* 80: 82-87.
- SADILOVA, E., STINTZING, F. C. AND CARLE, R. **2006b**. Thermal degradation of acylated and nonacylated anthocyanins, *Journal of Food Science* 71: 504-512.
- SAEMAN, J. F., BUBL, J. L. AND HARRIS, E. E. **1945**. Quantitative saccharification of wood and cellulose, *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition* 17: 35-37.
- SÁEZ-PLAZA, P., MICHAŁOWSKI, T., NAVAS, M. J., ASUERO, A. G. AND WYBRANIEC, S. **2013a**. An overview of the Kjeldahl method of nitrogen determination. Part I. Early history, chemistry of the procedure, and titrimetric finish, *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 43: 178-223.
- SÁEZ-PLAZA, P., NAVAS, M. J., WYBRANIEC, S., MICHAŁOWSKI, T. AND ASUERO, A. G. **2013b**. An overview of the Kjeldahl method of nitrogen determination. Part II. Sample preparation, working scale, instrumental finish, and quality control, *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 43: 224-272.
- SAGAR, V. R. AND SURESH KUMAR, P. **2010**. Recent advances in drying and dehydration of fruits and vegetables: A review, *Journal of Food Science and Technology* 47: 15-26.
- SAINI, R. K., NILE, S. H. AND PARK, S. W. **2015**. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities, *Food Research International* 76: 735-750.
- SAJILATA, M. G., SINGHAL, R. S. AND KULKARNI, P. R. **2006**. Resistant starch: A review, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 5: 1-17.
- SÁNCHEZ-MATA, M. C., CÁMARA-HURTADO, M., DÍEZ-MARQUÉS, C. AND TORIJA-ISASA, M. E. **2000**. Comparison of high-performance liquid chromatography and spectrofluorimetry for vitamin C analysis of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.), *European Food Research and Technology* 210: 220-225.
- SANDER, L. C., SHARPLESS, K. E., CRAFT, N. E. AND WISE, S. A. **1994**. Development of engineered stationary phases for the separation of carotenoid isomers, *Analytical Chemistry* 66: 1667-1674.
- SANDER, L. C., SHARPLESS, K. E. AND PURSCH, M. **2000**. C30 Stationary phases for the analysis of food by liquid chromatography, *Journal of Chromatography A* 880: 189-202.
- SANTOS, P. H. S. AND SILVA, M. A. **2008**. Retention of vitamin C in drying processes of fruits and vegetables: A review, *Drying Technology* 26: 1421-1437.
- SAPERS, G. M., DOUGLAS, F. W., ZIOLKOWSKI, M. A., MILLER, R. L. AND HICKS, K. B. **1990**. Determination of ascorbic acid, dehydroascorbic acid and ascorbic acid-2-phosphate in infiltrated apple and potato tissue by high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A* 503: 431-436.
- SAVARY, B. J. AND NUÑEZ, A. **2003**. Gas chromatography–mass spectrometry method for determining the methanol and acetic acid contents of pectin using headspace solid-phase microextraction and stable isotope dilution, *Journal of Chromatography A* 1017: 151-159.
- SCHÄFER, J., BRETT, A., TRIERWEILER, B. AND BUNZEL, M. **2016a**. Characterization of cell wall composition of radish (*Raphanus sativus* L. Var. Sativus) and maturation related changes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64: 8625-8632.
- SCHÄFER, J., WAGNER, S., TRIERWEILER, B. AND BUNZEL, M. **2016b**. Characterization of cell wall components and their modifications during postharvest storage of *Asparagus officinalis* L.: Storage-related changes in dietary fiber composition, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64: 478-486.

- SCHELLER, H. V. AND ULVSKOV, P. **2010**. Hemicelluloses, *Annual Review of Plant Biology* 61: 263-289.
- SCHIEBER, A. AND CARLE, R. **2005**. Occurrence of carotenoid *cis*-isomers in food: Technological, analytical, and nutritional implications, *Trends in Food Science & Technology* 16: 416-422.
- SCHOLS, H. A., BAKX, E. J., SCHIPPER, D. AND VORAGEN, A. G. J. **1995**. A xylogalacturonan subunit present in the modified hairy regions of apple pectin, *Carbohydrate Research* 279: 265-279.
- SCHUCHMANN, H. P. AND SCHUCHMANN, H. **2005**. Lebensmittelverfahrenstechnik : Rohstoffe, Prozesse, Produkte. Weinheim, WILEY-VCH.
- SELMAN, J. D. **1994**. Vitamin retention during blanching of vegetables, *Food Chemistry* 49: 137-147.
- SELVENDRAN, R. R., MARCH, J. F. AND RING, S. G. **1979**. Determination of aldoses and uronic acid content of vegetable fiber, *Analytical Biochemistry* 96: 282-292.
- SIEBERT, T., BECKER, A., BUNZEL, M., ZUBER, M., HAMANN, E., BAUMBACH, T., KARBSTEIN, H. P. AND GAUKEL, V. **2019a**. Evaluation of the usefulness of serial combination processes for drying of apples, *Drying Technology*: 1-17.
- SIEBERT, T., GALL, V., KARBSTEIN, H. P. AND GAUKEL, V. **2018a**. Serial combination drying processes: A measure to improve quality of dried carrot disks and to reduce drying time, *Drying Technology* 36: 1578-1591.
- SIEBERT, T., ZUBER, M., ENGELHARDT, S., BAUMBACH, T., KARBSTEIN, H. P. AND GAUKEL, V. **2018b**. Visualization of crust formation during hot-air-drying via micro-CT, *Drying Technology*: 1-10.
- SIEBERT, T., ZUBER, M., HAMANN, E., BAUMBACH, T., KARBSTEIN, H. P. AND GAUKEL, V. **2019b**. Micro-CT visualization of structure development during freeze-drying processes, *Drying Technology*: 1-9.
- SILA, D. N., BUGGENHOUT, S. V., DUVERTER, T., FRAEYE, I., ROECK, A. D., LOEY, A. V. AND HENDRICKX, M. **2009**. Pectins in processed fruits and vegetables: Part II Structure-function relationships, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 8: 86-104.
- SILA, D. N., DOUNGLA, E., SMOUT, C., VAN LOEY, A. AND HENDRICKX, M. **2006a**. Pectin Fraction Interconversions: Insight into Understanding Texture Evolution of Thermally Processed Carrots, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 8471-8479.
- SILA, D. N., SMOUT, C., ELLIOT, F., LOEY, A. V. AND HENDRICKX, M. **2006b**. Non-enzymatic depolymerization of carrot pectin: Toward a better understanding of carrot texture during thermal processing, *Journal of Food Science* 71: 1-9.
- SIMS, I. M., CARNACHAN, S. M., BELL, T. J. AND HINKLEY, S. F. R. **2018**. Methylation analysis of polysaccharides: Technical advice, *Carbohydrate Polymers* 188: 1-7.
- SINGH, R., BARDEN, A., MORI, T. AND BEILIN, L. **2001**. Advanced glycation end-products: A review, *Diabetologia* 44: 129-146.
- SINGLETON, V. L. AND ROSSI, J. A. **1965**. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- SKREDE, G., WROLSTAD, R. E. AND DURST, R. W. **2000**. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.), *Journal of Food Science* 65: 357-364.

- SLAVIN, J. **2013**. Fiber and prebiotics: Mechanisms and health benefits, *Nutrients* 5: 1417-1435.
- SOUTHGATE, D. A. T. **1969**. Determination of carbohydrates in foods II: Unavailable carbohydrates, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 20: 331-335.
- SPÁČIL, Z., NOVÁKOVÁ, L. AND SOLICH, P. **2008**. Analysis of phenolic compounds by high performance liquid chromatography and ultra performance liquid chromatography, *Talanta* 76: 189-199.
- SPEEK, A. J., SCHRIJVER, J. AND SCHREURS, W. H. P. **1984**. Fluorometric determination of total vitamin C and total isovitamin C in foodstuffs and beverages by high-performance liquid chromatography with precolumn derivatization, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 32: 352-355.
- SPÍNOLA, V., LLORENT-MARTÍNEZ, E. J. AND CASTILHO, P. C. **2014**. Determination of vitamin C in foods: Current state of method validation, *Journal of Chromatography A* 1369: 2-17.
- SPÍNOLA, V., MENDES, B., CÂMARA, J. AND CASTILHO, P. **2012**. An improved and fast UHPLC-PDA methodology for determination of L-ascorbic and dehydroascorbic acids in fruits and vegetables. Evaluation of degradation rate during storage, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 403: 1049-1058.
- STINTZING, F. C. AND CARLE, R. **2004**. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition, *Trends in Food Science & Technology* 15: 19-38.
- STORY, J. A. AND KRITCHEVSKY, D. **1976**. Comparison of the binding of various bile acids and bile salts *in vitro* by several types of fiber, *The Journal of Nutrition* 106: 1292-1294.
- STREPPPEL, M. T., OCKÉ, M. C., BOSHUIZEN, H. C., KOK, F. J. AND KROMHOUT, D. **2008**. Dietary fiber intake in relation to coronary heart disease and all-cause mortality over 40 y: the Zutphen Study, *The American Journal of Clinical Nutrition* 88: 1119-1125.
- SUN-WATERHOUSE, D., LUBERRIAGA, C., JIN, D., WIBISONO, R., WADHWA, S. S. AND WATERHOUSE, G. I. N. **2013**. Juices, fibres and skin waste extracts from white, pink or red-fleshed apple genotypes as potential food ingredients, *Food and Bioprocess Technology* 6: 377-390.
- SWEET, D. P., SHAPIRO, R. H. AND ALBERSHEIM, P. **1975**. Quantitative analysis by various g.l.c. response-factor theories for partially methylated and partially ethylated alditol acetates, *Carbohydrate Research* 40: 217-225.
- TAI, A. AND GOHDA, E. **2007**. Determination of ascorbic acid and its related compounds in foods and beverages by hydrophilic interaction liquid chromatography, *Journal of Chromatography B* 853: 214-220.
- TAMURA, H., TAKADA, M. AND YOSHIDA, Y. **1995**. Pelargonidin 3-O-(6-O-Malonyl-β-D-glucoside) in *Fragaria x ananassa* Duch. cv. Nyoho AU - Tamura, Hirotooshi, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 59: 1157-1158.
- TAN, B. K. AND HARRIS, N. D. **1995**. Maillard reaction products inhibit apple polyphenoloxidase, *Food Chemistry* 53: 267-273.
- TARKO, T., DUDA-CHODAK, A. AND TUSZYNSKI, T. **2009**. The influence of microwaves and selected manufacturing parameters on apple chip quality and antioxidant activity, *Journal of Food Processing and Preservation* 33: 676-690.
- TAUNGBODHITHAM, A. K., JONES, G. P., WAHLQVIST, M. L. AND BRIGGS, D. R. **1998**. Evaluation of extraction method for the analysis of carotenoids in fruits and vegetables, *Food Chemistry* 63: 577-584.

- THAKUR, B. R., SINGH, R. K., HANDA, A. K. AND RAO, M. A. **1997**. Chemistry and uses of pectin — A review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 37: 47-73.
- THEANDER, O., AMAN, P., WESTERLUND, E., ANDERSSON, R. AND PETTERSSON, D. **1995**. Total dietary fiber determined as neutral sugar residues, uronic acid residues, and Klason lignin (the Uppsala method): Collaborative study, *Journal of AOAC International* 78: 1030-1044.
- THIBAUT, J.-F., RENARD, C. M. G. C., AXELOS, M. A. V., ROGER, P. AND CRÉPEAU, M.-J. **1993**. Studies of the length of homogalacturonic regions in pectins by acid hydrolysis, *Carbohydrate Research* 238: 271-286.
- THIES, M. AND FISCHER, R. **1971**. Über eine neue Farbreaktion zum mikrochemischen Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von Catechinen, *Microchimica Acta* 59: 9-13.
- THORNALLEY, P. J., LANGBORG, A. AND MINHAS, H. S. **1999**. Formation of glyoxal, methylglyoxal and 3-deoxyglucosone in the glycation of proteins by glucose, *Biochemical Journal* 344: 109-116.
- TINELLO, F., MIHAYLOVA, D. AND LANTE, A. **2018**. Effect of dipping pre-treatment with unripe grape juice on dried “Golden Delicious” apple slices, *Food and Bioprocess Technology* 11: 2275-2285.
- TOMA, M., VINATORU, M., PANIWNKY, L. AND MASON, T. J. **2001**. Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction, *Ultrasonics Sonochemistry* 8: 137-142.
- TRESSL, R., NITTKA, C., KERSTEN, E. AND REWICKI, D. **1995**. Formation of isoleucine-specific maillard products from [1-¹³C]-D-glucose and [1-¹³C]-D-fructose, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 1163-1169.
- TSAO, R. **2010**. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols, *Nutrients* 2: 1231-1246.
- TUOMIVAARA, S. T., YAOI, K., O’NEILL, M. A. AND YORK, W. S. **2015**. Generation and structural validation of a library of diverse xyloglucan-derived oligosaccharides, including an update on xyloglucan nomenclature, *Carbohydrate Research* 402: 56-66.
- VAN BUREN, J. P. **1979**. The chemistry of texture in fruits and vegetables, *Journal of Texture Studies* 10: 1-23.
- VINCKEN, J.-P., SCHOLS, H. A., OOMEN, R. J. F. J., MCCANN, M. C., ULVSKOV, P., VORAGEN, A. G. J. AND VISSER, R. G. F. **2003**. If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture, *Plant Physiology* 132: 1781-1789.
- VIROT, M., TOMAO, V., LE BOURVELLEC, C., RENARD, C. M. C. G. AND CHEMAT, F. **2010**. Towards the industrial production of antioxidants from food processing by-products with ultrasound-assisted extraction, *Ultrasonics Sonochemistry* 17: 1066-1074.
- VOGEL, J. **2008**. Unique aspects of the grass cell wall, *Current Opinion in Plant Biology* 11: 301-307.
- VORAGEN, A. G. J., COENEN, G.-J., VERHOEF, R. P. AND SCHOLS, H. A. **2009**. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls, *Structural Chemistry* 20: 263-275.
- VORAGEN, A. G. J., SCHOLS, H. A. AND PILNIK, W. **1986**. Determination of the degree of methylation and acetylation of pectins by h.p.l.c, *Food Hydrocolloids* 1: 65-70.
- VRHOSEK, U., RIGO, A., TONON, D. AND MATTIVI, F. **2004**. Quantitation of polyphenols in different apple varieties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 6532-6538.

- WAKABAYASHI, K. **2000**. Changes in cell wall polysaccharides during fruit ripening, *Journal of Plant Research* 113: 231-237.
- WANG, X., LI, C., LIANG, D., ZOU, Y., LI, P. AND MA, F. **2015**. Phenolic compounds and antioxidant activity in red-fleshed apples, *Journal of Functional Foods* 18, Part B: 1086-1094.
- WECHTERSBAACH, L. AND CIGIĆ, B. **2007**. Reduction of dehydroascorbic acid at low pH, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 70: 767-772.
- WEENEN, H. **1998**. Reactive intermediates and carbohydrate fragmentation in Maillard chemistry, *Food Chemistry* 62: 393-401.
- WEFERS, D. AND BUNZEL, M. **2015**. Characterization of dietary fiber polysaccharides from dehulled common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) seeds, *Cereal Chemistry* 92: 598-603.
- WEFERS, D. AND BUNZEL, M. **2016a**. Arabinan and galactan oligosaccharide profiling by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAEC-PAD), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: 4656-4664.
- WEFERS, D. AND BUNZEL, M. **2016b**. NMR spectroscopic profiling of arabinan and galactan structural elements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64: 9559-9568.
- WEFERS, D., FLÖRCHINGER, R. AND BUNZEL, M. **2018**. Detailed structural characterization of arabinans and galactans of 14 apple cultivars before and after cold storage, *Frontiers in Plant Science* 9: 1-12.
- WEFERS, D., GMEINER, B. M., TYL, C. E. AND BUNZEL, M. **2015a**. Characterization of diferuloylated pectic polysaccharides from quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.), *Phytochemistry* 116: 320-328.
- WEFERS, D., TYL, C. E. AND BUNZEL, M. **2014**. Novel arabinan and galactan oligosaccharides from dicotyledonous plants, *Frontiers in Chemistry* 2: 1-9.
- WEFERS, D., TYL, C. E. AND BUNZEL, M. **2015b**. Neutral pectin side chains of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) contain long, partially branched arabinans and short galactans, both with terminal arabinopyranoses, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63: 707-715.
- WEIGEL, K. U., OPITZ, T. AND HENLE, T. **2004**. Studies on the occurrence and formation of 1,2-dicarbonyls in honey, *European Food Research and Technology* 218: 147-151.
- WESCHE-EBELING, P. AND MONTGOMERY, M. W. **1990**. Strawberry polyphenoloxidase: Extraction and partial characterization, *Journal of Food Science* 55: 1320-1324.
- WESTPHAL, Y., KÜHNEL, S., DE WAARD, P., HINZ, S. W. A., SCHOLS, H. A., VORAGEN, A. G. J. AND GRUPPEN, H. **2010**. Branched arabino-oligosaccharides isolated from sugar beet arabinan, *Carbohydrate Research* 345: 1180-1189.
- WOJDYŁO, A., FIGIEL, A., LECH, K., NOWICKA, P. AND OSZMIĄŃSKI, J. **2014**. Effect of convective and vacuum-microwave drying on the bioactive compounds, color, and antioxidant capacity of sour cherries, *Food and Bioprocess Technology* 7: 829-841.
- WOJDYŁO, A., FIGIEL, A. AND OSZMIĄŃSKI, J. **2009**. Effect of drying methods with the application of vacuum microwaves on the bioactive compounds, color, and antioxidant activity of strawberry fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 1337-1343.

- WOJDYŁO, A., OSZMIANŃSKI, J. AND LASKOWSKI, P. **2008**. Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 6520-6530.
- WRAY, D. AND RAMASWAMY, H. S. **2015**. Novel concepts in microwave drying of foods, *Drying Technology* 33: 769-783.
- XU, Y., ZHANG, M., MUJUMDAR, A. S., DUAN, X. AND JIN-CAI, S. **2006**. A two-stage vacuum freeze and convective air drying method for strawberries, *Drying Technology* 24: 1019-1023.
- YAN, C., YIN, M., ZHANG, N., JIN, Q., FANG, Z., LIN, Y. AND CAI, Y. **2014**. Stone cell distribution and lignin structure in various pear varieties, *Scientia Horticulturae* 174: 142-150.
- YAPO, B. M. **2011**. Pectic substances: From simple pectic polysaccharides to complex pectins—A new hypothetical model, *Carbohydrate Polymers* 86: 373-385.
- YEMENICIOGLU, A., ÖZKAN, M. AND CEMEROGLU, B. **1997**. Heat inactivation kinetics of apple polyphenoloxidase and activation of its latent form, *Journal of Food Science* 62: 508-510.
- YORUK, R. AND MARSHALL, M. R. **2003**. Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: A review, *Journal of Food Biochemistry* 27: 361-422.
- ZANONI, B., PERI, C., NANI, R. AND LAVELLI, V. **1998**. Oxidative heat damage of tomato halves as affected by drying, *Food Research International* 31: 395-401.
- ZECHMEISTER, L. AND POLGÁR, A. **1943**. *Cis-trans*-Isomerization and spectral characteristics of carotenoids and some related compounds, *Journal of the American Chemical Society* 65: 1522-1528.
- ZHANG, M., TANG, J., MUJUMDAR, A. S. AND WANG, S. **2006**. Trends in microwave-related drying of fruits and vegetables, *Trends in Food Science & Technology* 17: 524-534.
- ZHAO, D., AN, K., DING, S., LIU, L., XU, Z. AND WANG, Z. **2014**. Two-stage intermittent microwave coupled with hot-air drying of carrot slices: Drying kinetics and physical quality, *Food and Bioprocess Technology* 7: 2308-2318.
- ZIELINSKA, M. AND MICHALSKA, A. **2016**. Microwave-assisted drying of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruits: Drying kinetics, polyphenols, anthocyanins, antioxidant capacity, colour and texture, *Food Chemistry* 212: 671-680.
- ZUORRO, A. AND LAVECCHIA, R. **2010**. Mild enzymatic method for the extraction of lycopene from tomato paste, *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 24: 1854-1857.

7 Chemikalien und Instrumente

7.1 Chemikalien

Für alle Versuche wurde bidest. Wasser verwendet. Die verwendeten Lösungsmittel für die Chromatographie waren in der entsprechenden Reinheit (HPLC-Grade oder LC-MS-Grade). Alle Chemikalien hatten sofern nicht anders angegeben eine Reinheit von mindestens 99 %.

Name	Hersteller	GHS-Symbole	H-Sätze	P-Sätze
(-)-Catechin	Sigma	---	---	---
(+)-Epicatechin	Phytolab	---	---	---
1,25 M Methanolische Salzsäure	Sigma		H225, H301 + H311 + H331, H314, H370	P210, P260, P280, P301 + P310, P305 + P351 + P338, P310
1-Methylimidazol (> 99 %, p.A.)	Sigma		H302, H311, H314, H412	P273, P280, P305 + P351 + P338, P310
3-(Trimethylsilyl)propionic-2,2,3,3-d4 acid sodium salt > 98 Atom% D (TSP)	Deutero	---	---	---
3-Phenylphenol	Sigma		H315, H319, H335	P261, P305 + P351 + P338
5-O-Caffeoyl-Chinasäure (Chlorogensäure)	Phytolab	---	---	---
Aceton	VWR		H225, H319, H336, EUH066	P210, P305 + P351 + P338, P370 + P378, P403 + P235
Acetonitril (HPLC-Grade)	VWR		H225, H302, H312, H319, H332	P210, P280, P305 + P351 + P338, P309 + P310
Ameisensäure	VWR		H226, H302, H314, H331	P210, P280, P301 + P330 + P331, P304 + P340, P305 + P351 + P338, P308 + P310

Name	Hersteller	GHS-Symbole	H-Sätze	P-Sätze
Ammoniak-Lösung 25 %	Merck		H290, H314, H335, H400	P273, P280, P301 + P330 + P331, P304 + P340, P305 + P351 + P338, P309 + P310
Ammoniumacetat	Fluka	---	---	---
Ammoniumchlorid (> 95 %)	Roth		H302, H319	P305 + P351 + P338
Äpfelsäure	Roth		H319	P305 + P351 + P338
Ascorbinsäure	Fluka	---	---	---
Benzaldehyd	Alfa Aesar		H302	P262
Benzhydrazid	Alfa Aesar		H301, H315, H319, H335	P261, P301 + P310, P305 + P351 + P338
Butylhydroxytoluol	Sigma		H410	P273, P501
Calciumchlorid Dihydrat	Roth		H319	P305 + P351 + P338
Celite	Roth	---	---	---
Cellulose		---	---	---
Citronensäure	Roth		H319	P305 + P351 + P338
Cyanidin-3-O-β-D-Galactopyranosid	Polyphenols	---	---	---
Deuteriumoxid	Sigma	---	---	---
D-Apiose	Sigma	---	---	---
DCI	Sigma		H290, H314, H335	P280, P303 + P361 + P353, P305 + P351 + P338
Dehydroascorbinsäure	Sigma		H302	
D-Fructose	Sigma	---	---	---
D-Galactose	Sigma	---	---	---

Name	Hersteller	GHS-Symbole	H-Sätze	P-Sätze
D-Galacturonsäure-Monohydrat	Sigma	---	---	---
D-Glucose	Sigma	---	---	---
D-Glucuronsäure	Sigma	---	---	---
Dichlormethan	VWR		H315, H319, H336, H351	P281, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P308 + P313
Diethylentriaminpentaessigsäure (DETAPAC)			H319, H332, H361d	P281, P305 + P351 + P338
Diethylether	Roth		H224, H302, H336, EUH019, EUH066	P201, P304 + P340, P403 + P235
Di-Kaliumhydrogenphosphat	Roth	---	---	---
Dimethylsulfoxid	VWR	---	---	---
Di-Natriumhydrogenphosphat	Riedel	---	---	---
DL-Dithiothreitol	Lancaster		H302, H315, H319, H335	P261, P305 + P351 + P338
D-Mannit	Sigma	---	---	---
D-Mannose	Sigma	---	---	---
D-Xylose	Sigma	---	---	---
Essigsäure	Roth		H226, H290, H314	P210, P280, P301 + P330 + P331, P305 + P351 + P338, P308
Essigsäureanhydrid	Fluka		H226, H302, H314, H335	P280, P301 + P330 + P331, P305 + P351 + P338, P309 + P310
Ethanol (> 99 %)	VWR		H225, H319	P210, P240, P305 + P351 + P338, P403 + P235
Ethanol absolut	Merck			

Name	Hersteller	GHS-Symbole	H-Sätze	P-Sätze
Ethylacetat	Roth		H225, H319, H336, EUH066	P210, P240, P305 + P351 + P338
Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)	Lancaster		H319	
Glycerol	Roth	---	---	---
Kaliumdihydrogenphosphat	Roth	---	---	---
Kämpferol-O-3-β-D-Glucopyransid	Phytolab	---	---	---
Kämpferol-O-3-β-D-Glucuronopyransid	Extra-synthese	---	---	---
L-Arabinose	Sigma	---	---	---
L-Fucose	Alfa Aesar	---	---	---
L-Rhamnose-Monohydrat	Sigma	---	---	---
Lutein	Appllichem	---	---	---
Maleinsäure	Roth		H302, H315, H319, H335, H317	P261, P280, P305 + P351 + P338
Maltose-Monohydrat (> 99 %)	Sigma	---	---	---
Maltotriose	Sigma	---	---	---
<i>meta</i> -Phosphorsäure 39 - 43 % stabilisiert mit NaPO ₃	Alfa Aesar		H314	P280, P301 + P330 + P331, P305 + P351 + P338, P309 + P310
Methanol (HPLC-Grade)	VWR		H225, H301 + H311 + H331, H370	P210, P260, P280, P301 + P310, P311
Methanol-d4 (> 99,8 Atom% D)	Sigma			
Methyliodid (99 %)	VWR		H302, H312, H314	P280, P305 + P351 + P338, P310
methyl- <i>tert</i> -butyl-Ether (MTBE)	Sigma		H225, H315	P210, P233, P240, P302 + P352, P403 + P235
Natrium-Acetat (HPAEC)	Honeywell	---	---	---
Natrium-Acetat-Trihydrat	Sigma	---	---	---

Name	Hersteller	GHS-Symbole	H-Sätze	P-Sätze
Natriumbordeuterid > 98 Atom% D	Sigma		H260, H301 + H311, H314	P223, P231 + P232, P280, P301 + P310, P370 + P378, P422
Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat	VWR	---	---	---
Natriumhydroxidplättchen	Roth		H290, H314	P280, P301 + P330 + P331, P305 + P351 + P338, P310
Natriumhydroxid-Lösung für HPAEC (50-52 %)	Fluka		H290, H314	P280, P303 + P361 + P353, P304 + P340 + P310, P305 + P351 + P338
Natriumtetraborat	Sigma		H360FD, H319	P201, P305 + P351 + P338, P308 + P313
Natriumthiosulfat	Roth	---	---	---
n-Hexan (> 95 %)	VWR		H225, H304, H315, H336, H361f, H373, H411	P210, P240, P273, P301 + P310, P302 + P352, P331, P403 + P235
<i>ortho</i> -Phenylendiamin	VWR		H301, H312 + H332, H317, H319, H341, H351, H371, H410	P260, P273, P280, P301 + P310, P305 + P351 + P338, P501
<i>para</i> -Toluidin	Alfa Aesar		H301 + H311 + H331, H317, H319, H341, H400	P261, P273, P280, P301 + P310, P305 + P351 + P338, P311
Phloretin	Roth		H315, H319, H335	P261, P305 + P351 + P338
Phlorizin	VWR	---	---	---
Polygalacturonsäure	Megazyme	---	---	---
Quercetin- <i>O</i> -3- α -L-Arabinofuranosid	Phytolab	---	---	---

Name	Hersteller	GHS-Symbole	H-Sätze	P-Sätze
Quercetin- <i>O</i> -3- β -D-Galactopyranosid	Extra-synthese	---	---	---
Quercetin- <i>O</i> -3- β -D-Glucopyranosid	Phytolab	---	---	---
Quercetin- <i>O</i> -3- β -D-Glucuronopyranosid	Phytolab	---	---	---
Raffinose	Sigma	---	---	---
Rhamnogalacturonan-I (potato)	Megazyme	---	---	---
D(+)-Saccharose	Roth	---	---	---
Salzsäure (37 %)	VWR		H290, H314, H335	P280, P301 + P330 + P331, P305 + P351 + P338, P309 + P310
Schwefelsäure (95 %)	VWR		H290, H314	P280, P301 + P330 + P331, P305 + P351 + P338, P309 + P310
Selenreaktionsgemisch (Kjeldahl)	Sigma		H302, H410	P273, P501
Trifluoressigsäure (> 98 %)	Sigma		H314, H332, H412	P271, P273, P301 + P330 + P331, P305 + P351 + P338, P309 + P310
Trizma® Base	Sigma		H315, H319	P302 + P352, P305 + P351 + P338
Xylan from beechwood	Sigma	---	---	---
α -Carotin (> 95 %)	Chemos	---	---	---
β -Carotin (> 97 %)	Sigma	---	---	---

7.2 Enzyme

Enzym	Hersteller	Herkunft	Aktivität	EC-Nr.
Driselase ®	Sigma-Aldrich	<i>Basidiomycetes</i> <i>sp.</i>	---	---
Ascorbat Oxidase	Alfa Aesar	<i>Cucurbita sp.</i>	530 U/mg	1.10.3.3
Endo-Arabinanase	Megazyme	<i>Aspergillus niger</i>	200 U/ml	3.2.1.99
Pankreas α -Amylase (AB)	Sigma	Porcine pancreas	≥ 5 U/mg	3.2.1.1
Amyloglucosidase (AB)	Megazyme	<i>Aspergillus niger</i>	36000 U/g	3.2.1.3
Protease (AB)	Megazyme	<i>Bacillus licheniformis</i>	> 10 U/mg Protein	3.4.21.62
Thermostable α -Amylase (NSPS)	Megazyme	<i>Bacillus licheniformis</i>	3000 U/ml	3.2.1.1
Amyloglucosidase (NSPS)	Megazyme	<i>Aspergillus niger</i>	200 U/ml	3.2.1.3

AB: Analytische Ballaststoffe

NSPS: Nicht-Stärke-Polysaccharide

7.3 Instrumente

(U)HPLC-DAD-System

(Polyphenole)

Pumpe 1	Knauer PlatinBlue P-1 (mit Mischkammer 350 µl)
Pumpe 2	Knauer PlatinBlue P-1(mit Degasser)
Autosampler	Knauer PlatinBlue AS-1
Detektor	Knauer PlatinBlue PDA-1

HPLC-DAD-System

(3-Desoxyglucoson und Carotinoide)

Pumpe	Beckman System Gold 126 Solvent Module
Autosampler	Beckman System Gold 508 Autosampler
Detektor	Beckman System Gold 168 Detector DAD

HPLC-DAD-FLD-System

(Ascorbinsäure)

3 Pumpen	Shimadzu LC-20AT
Autosampler	Shimadzu SIL-20AC
Säulenofen	Shimadzu CTO-20AC
Kommunikations-Interface	Shimadzu CBM-20A
DAD-Detektor	Shimadzu SPD-M20A
FLD-Detektor	Shimadzu RF-10AXL

HPLC-DAD-IonTrapMS-System

(Bestimmung des Molekulargewichtes und Identifizierung von Verbindungen)

Pumpe	Thermo Scientific Finnigan Surveyor MS Pump Plus
Autosampler	Thermo Scientific Finnigan Surveyor Autosampler Plus
Detektor	Thermo Scientific Finnigan Surveyor PDA Plus Detector MS
Massenspektrometer	Thermo Scientific Finnigan Surveyor LXQ Linear Ion Trap MS

GC-MS-System

(Methylierungsanalyse)

Gaschromatograph	Shimadzu GC-2010 Plus
Autosampler	Shimadzu AOC-20i
Massenspektrometer	Shimadzu GCMS-QP2010 SE

GC-FID-System

(Methylierungsanalyse)

Gaschromatograph	Shimadzu GC-2010 Plus
Autosampler	Shimadzu AOC-20i
Detektor	Shimadzu FID-2010 Plus

HPAEC-PAD-System

(Monosaccharide und Oligosaccharide)

Pumpe	Thermo Scientific ICS-5000 DP
Autosampler	Thermo Scientific ICS-5000 AS-AP
Detektor	Thermo Scientific ICS-5000 DC Mit Thermo Scientific ICS-5000 ED

HPLC-RI-System

(Niedermolekular lösliche Ballaststoffe)

Pumpe	Merk/Hitachi L-7100
Autosampler	Merk/Hitachi L-7200
RI-Detektor	Merk/Hitachi L-7490

semipräparatives HPLC-UV-System

2 Pumpen	Shimadzu LC-8A
Detektor	Shimadzu SPD-20A

NMR-Spektrometer

Bruker Ascend 500	Prodigy Kryoprobenkopf
-------------------	------------------------

Sonstige Geräte

Bechermühle	IKA Tube Mill Comfort
Photometer	Jasco V-550 UV/Vis Spectrophotometer

8 Arbeitsvorschriften

8.1 Synthese von 3-Desoxyglucoson-Chinoxalin

Synthese von 3-Desoxyglucoson

- 10 g Glucose und 5,5 g p-Toluidinin einer Mischung aus 225 ml Ethanol und 11 ml Eisessig suspendieren und unter ständigem Rühren 30 Minuten unter Rückfluss sieden
- Zugabe von 16,5 g Benzhydrazid
- 6 Stunden unter Rückfluss sieden lassen
- Lösung unter Rühren abkühlen lassen und zum Ausfällen im Kühlschrank lagern
- Filtrieren (Büchner-Trichter)
- Rückstand 3x mit je 20 ml eisgekühltem Ethanol waschen
- Rückstand 3x mit je 20 ml Diethylether waschen und an der Luft trocknen lassen
- Rückstand in einer Mischung aus 500 ml Wasser, 300 ml Ethanol und 22 ml Eisessig suspendieren und 15 ml Benzaldehyd zugeben
- Unter ständigem Rühren 2 Stunden unter Rückfluss zum Sieden erhitzen
- Nach dem Abkühlen wurde Ethanol am Rotationsverdampfer bei 40 °C entfernt, unter gleichzeitiger Zugabe von 500 ml Wasser
- Kühlung der Lösung im Eisbad
- Filtrieren (Büchner-Trichter)
- Zum Filtrat wurden je 30 g Ambersep 200 (H⁺) und Amberlite FPA53 (OH⁻) gegeben, 15 Minuten im Dunkeln gerührt und filtriert (Büchner-Trichter)
- Einengen des Filtrats am Rotationsverdampfer (Restvolumen etwa 100 ml)
- Filtrat 6x mit je 50 ml Diethylether waschen (organische Phase verwerfen)
- Wässrige Phase am Rotationsverdampfer bis fast zur Trockne einengen
- Zugabe von 5 ml Wasser, 50 ml Ethanol und je 5 g Ambersep 200 (H⁺) und Amberlite FPA53 (OH⁻)
- 10 Minuten im Dunkeln Rühren
- Filtrieren (Büchner-Trichter)
- Einengen am Rotationsverdampfer (etwa 5 ml)
- Gefriertrocknen (rohes 3-Desoxyglucoson wird erhalten)

Synthese von 3-Desoxyglucoson-Chinoxalin

- Das nach dem Gefriertrocknen erhaltene rohe 3-Desoxyglucoson in 50 ml Methanol lösen
- Zugabe von 400 mg OPDA
- Über Nacht im Dunkeln rühren
- Filtrieren (Büchner-Trichter)
- Filtrat am Rotationsverdampfer zur Trockne einengen und in Wasser aufnehmen
- Membranfiltrieren (Macherey-Nagel, RC, 0,45 µm, Ø 25 mm)
- Zweifache Aufreinigung per semipräparativer HPLC (Bedingungen siehe Tabelle 25)

Tabelle 25: Bedingungen für die Aufreinigung von 3-Desoxyglucoson-Chinoxalin mittels semipräparativer HPLC.

Gradientenprogramm 1		
Zeit [Minuten]	Anteil Eluent A [%]	Anteil Eluent B [%]
0	80	20
10	50	50
14	50	50
20	20	80
27	20	80
28	80	20
32	80	20

Gradientenprogramm 2		
Zeit [Minuten]	Anteil Eluent A [%]	Anteil Eluent B [%]
0	80	20
20	65	35
25	0	100
30	0	100
32	80	20

Eluent A: Wasser

Eluent B: Methanol

Säulentemperatur: Raumtemperatur

Flussrate 8 ml/min

Injektionsvolumen: 1000 µl

Detektion: UV-Detektor (Detektion bei einer Wellenlänge von 312 nm)

Säule: Luna C-18(2) (Phenomenex) 250x15 mm, 5 µm, 100Å

8.2 Isolierung von phenolischen Verbindungen aus Erdbeeren

Extraktion

- 50 g gefriergetrocknete Erdbeere mit 500 ml Methanol/Wasser 90/10 + 0,01 % HCl versetzen
- 10 Minuten unter Lichtausschluss rühren
- 15 Minuten im Ultraschallbad behandeln
- 10 Minuten unter Lichtausschluss rühren und durch einen Faltenfilter filtrieren
- Filtrat am Rotationsverdampfer einengen (max. 40 °C)
- Rückstand in 100 ml Wasser lösen

Fraktionierung

- Zur Fraktionierung der phenolischen Verbindungen wurde eine Glassäule (600x30 mm, Porengröße 0) mit 100g C18-Material (Chromabond C18f, Macherey-Nagel) gepackt (Bettvolumen ~ 200 ml)
- Zur Vorkonditionierung wurde die Säule mit 2x 200 ml Ethylacetat, 2x 200 ml Methanol + 0,01 % HCl und 2x 200 ml Wasser + 0,01 % HCl konditioniert
- Nach Aufgabe des Rückstands wurde 3x mit je 200 ml Wasser gewaschen und das Eluat verworfen
- 2x mit je 200 ml Ethylacetat eluieren
- Eluate auffangen und vereinen → Ethylacetat-Fraktion
- 3x mit je 200 ml Methanol eluieren
- Eluate auffangen und vereinen → Methanol-Fraktion
- Beide Fraktionen am Rotationsverdampfer eindampfen (max. 40 °C) und in 40 ml Wasser/Methanol 90/10 aufnehmen und zur chromatographischen Aufreinigung der Komponenten einsetzen (Chromatographische Bedingungen siehe Tabelle 26)

Charakterisierung der Verbindungen per NMR und LC-DAD-MS

- Zur Charakterisierung wurden ^1H -, HSQC- und HMBC-Experimente durchgeführt
- Für Verbindung 4 und 5 wurde zusätzlich ein H,H-COSY-Experiment durchgeführt
- Von allen Verbindungen wurde zudem mittels LC-DAD-MS das Molekulargewicht und das UV-Spektrum ermittelt (Bedingungen siehe Kapitel 8.4, Seite 172)

Tabelle 26: Bedingungen für die Trennung der phenolischen Verbindungen aus Erdbeeren mittels semipräparativer HPLC.

Gradientenprogramm 1 (Methanol-Fraktion)		
Zeit [Minuten]	Anteil Eluent A [%]	Anteil Eluent B [%]
0	95	5
5	95	5
25	80	20
34	69	31
34,5	0	100
40	0	100
40,5	95	5
45	95	5
Gradientenprogramm 2 (Ethylacetat-Fraktion)		
Zeit [Minuten]	Anteil Eluent A [%]	Anteil Eluent B [%]
0	95	5
5	95	5
25	80	20
38,5	64,5	35,5
39	0	100
44	0	100
44,5	95	5
50	95	5

Eluent A: Wasser + 2 % Ameisensäure

Eluent B: Acetontril + 2 % Ameisensäure

Säulentemperatur: Raumtemperatur

Flussrate 8 ml/min

Injektionsvolumen: 1700 µl

Detektion: UV-Detektor Wellenlänge 340 nm (Gradient 1)
bzw. 310 nm (Gradient 2)

Säule: Luna C-18(2) (Phenomenex) 250x15 mm, 5 µm, 100Å

8.3 Bestimmung der Konzentration der isolierten Verbindungen aus Erdbeeren mittels $^1\text{H-NMR}$

Aus den isolierten Verbindungen wurden zwei Stammlösungen hergestellt. Eine enthielt die Anthocyane PG und PMG die andere PCG und ZG. Von den Stammlösungen wurden jeweils 500 μl entnommen, eingedampft und in 500 μl Methanol- d_4 dem 0,1 % DCI zugesetzt wurde wiederaufgenommen. Als interner Standard wurden 50 μl einer TSP-Lösung (2 mg/ml) zugegeben. Die Bedingungen der Messung sind aus Tabelle 27 ersichtlich.

Tabelle 27: Bedingungen für die Bestimmung der Konzentration der isolierten phenolischen Verbindungen aus Erdbeeren mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie.

Pulsprogramm	Bruker zg30 (90 ° Puls)
Anzahl Scans	128
Acquisition Time	3,28 s
Relaxation Delay D1	10 s
Lösungsmittel	Methanol- d_4
Datenpunkte	65536
Spektraler Bereich	10000 Hz
Internes Referenzsignal	TSP (0 ppm)

8.4 Identifizierung der phenolischen Verbindungen mittels LC-DAD-MS

Tabelle 28: Bedingungen für die Identifizierung der phenolischen Verbindungen aus rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren mittels LC-DAD-MS.

Gradientenprogramm		
Zeit [Minuten]	Anteil Eluent A [%]	Anteil Eluent B [%]
0	97	3
5	97	3
25	92	8
45	72	28
55	40	60
56	0	100
62	0	100
64	97	3
70	97	3

Eluent A: Wasser + 0,1% Ameisensäure

Eluent B: Methanol + 0,1% Ameisensäure

Säulentemperatur: Raumtemperatur

Flussrate: 0,5 ml/min

Injektionsvolumen: 20 µl

Detektion: DAD 200 – 600 nm

Säule: Kinetex C-18(2) (Phenomenex) 250x4,6 mm, 2,6 µm, 100Å

MS Scan-Bereich: 100 – 1200 *m/z*

8.5 Analyse der chemischen Qualitätsparameter

Die Einwaage der getrockneten und teilweise getrockneten Proben wurde so gewählt, dass das entsprechende Frischgewicht (siehe Formel (3)) etwa 1 g beträgt (siehe Tabelle 29). Zusätzlich wurde die zuvor entzogene Menge an Wasser zugegeben. Der zur Berechnung nötige Wassergehalt wurde im Vakuumtrockenschrank (70 °C, 40 mbar, 16 h) bestimmt.

Tabelle 29: Einwaagen für die teilweise getrockneten und getrockneten Proben von Karotten, Äpfeln und Erdbeeren.

$X_{db}/X_{0,db}$	Karotte		Apfel		Erdbeere	
	Einwaage [mg]	Wasser [μ l]	Einwaage [mg]	Wasser [μ l]	Einwaage [mg]	Wasser [μ l]
0,01	110	890	149	851	90	910
0,1	198	802	231	769	176	824
0,2	275	725	322	678	272	728
0,3	---	---	---	---	368	632
0,4	440	560	504	496	464	536
0,6	660	340	686	314	---	---

$X_{db}/X_{0,db}$: siehe Formel (2)

8.5.1 Analyse von Ascorbinsäure

Die Extraktion wurde für beide Methoden (HILIC und Fluoreszenz) identisch durchgeführt.

- 1 g Probe (Frisch, bzw. Entsprechendes Frischgewicht nach Formel (3)) in ein braunes 15 ml Zentrifugenröhrchen einwiegen
- 10 ml gekühlte 3 % MPS-Lösung zugeben und gut schütteln
- 10 Minuten mit Ultraschallbad behandeln (Ultraschallbad mit Eis kühlen)
- 30 Sekunden vortexen
- 15 Minuten stehen lassen (Kühlung mit Eis)
- Zentrifugieren (15 Minuten, 4000 rpm, 4 °C)
- 2 ml vom Überstand mit einer Spritze entnehmen und Membranfiltrieren durch einen Spritzenfilter (Macherey-Nagel, RC, 0,45 μ m, \varnothing 25 mm)
- Dieser so gewonnene Extrakt wird vor der Messung mit HPLC entsprechend der verwendeten Methode derivatisiert

8.5.1.1 HILIC-Methode Apfel und Erdbeere

Derivatisierung

- 500 µl des Extraktes (siehe Kapitel 8.5.1) in ein braunes 2 ml Reaktionsgefäß geben
- Zugabe von 100 µl 2 % DTT-Lösung und mischen
- 2 h im Dunkeln bei Raumtemperatur reagieren lassen
- Für Apfel-Proben der Ernte 2016 (Versuche HT): Überführen in ein Vial und 20 µl einspritzen
- Für Apfel-Proben der Ernte 2017 (Versuche GT, MWVT und Kombinationsverfahren) und alle Erdbeer-Proben: 20 µl des Extraktes mit 10 µl 200 mM Ammonium-Acetat-Lösung und 170 µl Acetonitril versetzen und mischen. Davon wurden 100 µl chromatographisch bestimmt.

Kalibrierung und Chromatographie

Die Kalibrierung für die Apfel-Proben wurde mit AS im Bereich von 6 – 180 µM erstellt, für die Erdbeer-Proben im Bereich von 56 – 565 µM. Die Kalibrierlösungen wurden wie unter „Derivatisierung“ beschrieben behandelt und gemessen (Kalibrierdaten siehe Kapitel 9.4.1). Die chromatographischen Bedingungen sind aus Tabelle 30 ersichtlich. Die Auswertung erfolgte bei einer Wellenlänge von 268 nm.

Tabelle 30: Bedingungen für die Analyse von Ascorbinsäure in Äpfeln und Erdbeeren mittels HPLC-DAD.

Isokratische Bedingungen		
Dauer 18 Minuten		
Anteil Eluent A [%]	Anteil Eluent B [%]	Anteil Eluent C [%]
10	86	4

Eluent A: 100 mM Ammonium-Acetat-Lösung in Wasser

Eluent B: Acetonitril

Eluent C: Wasser

Säulentemperatur: 30 °C

Flussrate: 1,2 ml/min

Injektionsvolumen: 20 µl oder 100 µl

Detektion: DAD (UV/vis-Spektrum von 190 – 600 nm)

Säule: Luna HILIC (Phenomenex) 250x4,6 mm, 5 µm, 200Å

8.5.1.2 Fluoreszenz-Methode Karotten

Herstellung Enzymlösung

- Ascorbat Oxidase- Pulver (1000 U) in 5 ml Glycerin/40 mM Kalium-Phosphat-Puffer pH 7,8 (1/1) lösen

Derivatisierung

- 500 µl des Extraktes (siehe Kapitel 8.5.1) in ein braunes 2 ml Reaktionsgefäß geben
- Zugabe von 150 µl 4,5 M Na-Acetat-Puffer pH 6,5
- Zugabe von 100 µl Ascorbat Oxidase Lösung (entspricht 20 U)
- 5 Minuten bei 37 °C und leichtem Schütteln (500 rpm) inkubieren
- Zugabe von 150 µl 0,1 % OPDA-Lösung
- 20 Minuten bei 37 °C und leichtem Schütteln (450 rpm) inkubieren
- Direkt nach Ende der Inkubation die Proben in Eis kühlen
- Nach der Überführung ins Vial wurden 20 µl der Proben innerhalb der nächsten 12 h vermessen

Kalibrierung und Chromatographie

Die Kalibrierung für die Karotten-Proben wurde mit AS im Bereich von 1,5 – 45 µM erstellt. Die Kalibrierlösungen wurden wie unter „Derivatisierung“ beschrieben behandelt und gemessen (Kalibrierdaten siehe Kapitel 9.4.1). Die chromatographischen Bedingungen sind aus Tabelle 31 ersichtlich.

Tabelle 31: Bedingungen für die Analyse von Ascorbinsäure in Karotten mittels HPLC-FLD.

Isokratische Bedingungen		
Dauer 18 Minuten		
Anteil Eluent A [%]	Anteil Eluent B [%]	Anteil Eluent C [%]
20	20	60

Eluent A: 40 mM K-Phosphat-Puffer pH 7,8

Eluent B: Methanol

Eluent C: Wasser

Säulentemperatur: 30 °C

Flussrate: 1 ml/min

Injektionsvolumen: 20 µl

Detektion: FLD (Anregung: 350 nm, Emission: 425 nm)

Säule: Luna C-18(2) (Phenomenex) 250x4,6 mm, 5 µm, 100Å

8.5.2 Analyse von 3-Desoxyglucoson

Die Extraktion von 3-DG wurde für alle Proben (Karotte, Apfel, Erdbeere) identisch durchgeführt.

Extraktion

- 1 g Probe (Frisch, bzw. Entsprechendes Frischgewicht nach Formel (3)) in ein 15 ml Zentrifugenröhrchen einwiegen
- 5 ml Wasser zugeben
- 30 Sekunden vortexen
- 1 h stehen lassen
- 5 ml Methanol zugeben
- 1 h bei -20 °C zur Proteinfällung
- Zentrifugieren (20 Minuten, 4000 rpm, 20 °C)
- Überstand in einen 15 ml Messkolben überführen
- Zum Rückstand 4,5 ml Wasser/Methanol 50/50 v/v geben
- 30 Sekunden vortexen
- Zentrifugieren (20 Minuten, 4000 rpm, 20 °C)
- Überstände im Messkolben vereinen und mit Wasser/Methanol 50/50 v/v auf 15 ml auffüllen
- 2 ml vom Überstand mit einer Spritze entnehmen und Membranfiltrieren (Macherey-Nagel, RC, 0,20 µm, Ø 25 mm)

Derivatisierung

- 500 µl des Extraktes in ein braunes 2 ml Reaktionsgefäß geben
- Zugabe von 150 µl 0,5 M Na-Phosphat-Puffer pH 6,85 und 150 µl einer 18,5 mM Lösung mit OPDA und DETAPAC und gut mischen
- Über Nacht im Dunkeln reagieren lassen

8.5.2.1 Karotte**Kalibrierung und Chromatographie**

Die Kalibrierung für die Karotten-Proben wurde mit 3-DGQ im Bereich von 2,3 – 232 µM erstellt (Kalibrierdaten siehe Kapitel 0) und mit den in Tabelle 32 ersichtlichen chromatographischen Bedingungen bestimmt. Die Auswertung erfolgte bei einer Wellenlänge von 312 nm. Zusätzlich wurde das Verhältnis der Peakflächen die bei Wellenlängen von 312 und 280 nm erhalten wurden berechnet um Aussagen über die Reinheit und Identität der Verbindung zu treffen.

Tabelle 32: Bedingungen für die Analyse von 3-Desoxyglucoson aus Karotten mittels HPLC-DAD.

Gradientenprogramm		
Zeit [Minuten]	Anteil Eluent A [%]	Anteil Eluent B [%]
0	90	10
25	50	50
30	50	50
34	0	100
44	0	100
48	90	10
58	90	10

Eluent A: Wasser + 0,075 % Essigsäure

Eluent B: MeOH/Eluent A 80/20 (v/v)

Säulentemperatur: 25 °C

Flussrate: 0,4 ml/min

Injektionsvolumen: 20 µl

Detektion: DAD (UV/vis-Spektrum von 200 – 600 nm)

Säule: Kinetex Phenyl-Hexyl (Phenomenex) 150x4,6 mm, 2,6 µm, 100Å

8.5.2.2 Apfel und Erdbeere

Kalibrierung und Chromatographie

Die Kalibrierung für die Apfel- und Erdbeer-Proben wurde mit 3-DGQ im Bereich von 2,3 – 232 µM erstellt (Kalibrierdaten siehe Kapitel 0). Vor der chromatographischen Bestimmung wurden zu 100 µl der Kalibrierlösung 50 µl Methanol gegeben um die gleiche Lösungsmittelzusammensetzung wie bei den Proben zu erhalten. Die chromatographischen Bedingungen sind aus Tabelle 33 ersichtlich. Die Auswertung erfolgte bei einer Wellenlänge von 312 nm. Zusätzlich wurde das Verhältnis der Peakflächen die bei Wellenlängen von 312 und 280 nm erhalten wurden berechnet um Aussagen über die Reinheit und Identität der Verbindung zu treffen.

Tabelle 33: Bedingungen für die Analyse von 3-Desoxyglucoson aus rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren mittels HPLC-DAD.

Gradientenprogramm		
Zeit [Minuten]	Anteil Eluent A [%]	Anteil Eluent B [%]
0	90	10
20	82	18
30	82	18
35	0	100
42	0	100
45	90	10
53	90	10

Eluent A: Wasser + 0,075 % Essigsäure

Eluent B: MeOH/Eluent A 80/20 (v/v)

Säulentemperatur: 25 °C

Flussrate: 0,6 ml/min

Injektionsvolumen: 20 µl

Detektion: DAD (UV/vis-Spektrum von 200 – 600 nm)

Säule: Kinetex Phenyl-Hexyl (Phenomenex) 150x4,6 mm, 2,6 µm, 100Å

8.5.3 Analyse von Carotinoiden

Extraktion

- 1 g Probe (Frisch, bzw. Entsprechendes Frischgewicht nach Formel (3)) in ein braunes 15 ml Zentrifugenröhrchen einwiegen
- 1 ml Driselase-Lösung (100 mg in 10 ml Wasser) und 1 ml Wasser zugeben
- Kopfraum mit N₂ begasen, mischen und über Nacht bei Raumtemperatur inkubieren
- Zugabe von 7 ml Ethylacetat + 0,1 % BHT
- 45 Sekunden vortexen
- 1 h bei Raumtemperatur stehen lassen
- 45 Sekunden vortexen
- 30 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen
- Zentrifugieren (10 Minuten, 4000 rpm, 20 °C)
- Überstand abnehmen und in braunen 10 ml Messkolben überführen
- Zugabe von 3 ml Ethylacetat + 0,1 % BHT
- 30 Sekunden vortexen
- 1 h bei Raumtemperatur stehen lassen
- Zentrifugieren (10 Minuten, 4000 rpm, 20 °C)
- Überstände im Messkolben vereinen und zur Marke mit Ethylacetat + 0,1 % BHT auffüllen
- Membranfiltrieren durch einen Spritzenfilter (Macherey-Nagel, PTFE, 0,45 µm, Ø 13 mm)

Kalibrierung und Chromatographie

Die Kalibrierung wurde für α-Carotin im Bereich von 0,2 – 7,4 µg/ml und β-Carotin im Bereich von 0,2 – 11,8 µg/ml erstellt (Kalibrierdaten siehe Kapitel 9.4.3). Die Konzentration der Stammlösungen wurde jeweils vor der Verwendung photometrisch bestimmt. Dazu wurden je 200 µl der α- und β-Carotin-Lösungen entnommen, unter N₂ eingedampft und in 4 ml n-Hexan aufgenommen. Die ermittelte Extinktion und die chromatographische Reinheit wurden verwendet um die Konzentration nach Formel (5) zu berechnen:

$$\text{Konzentration } [\mu\text{g/ml}] = \frac{\text{MW} \cdot \text{E} \cdot \text{V}_{\text{LM}} \cdot 1000 \cdot \text{R}}{\varepsilon \cdot \text{V}_{\text{P}} \cdot 100 \cdot \text{d}} \quad (5)$$

MW: Molekulargewicht in g/mol

E: Extinktion

V_{LM}: Volumen Hexan in ml = 4 ml

V_P: eingesetztes Volumen der Stammlösung in ml

R: Reinheit in Prozent

ε: Extinktionskoeffizient (α-Carotin: 146300 L/mol*cm (ZECHMEISTER and POLGÁR 1943), β-Carotin: 139200 L/mol*cm, Lutein: 1451000 L/mol*cm (CRAFT and SOARES 1992))

d: Schichtdicke in cm = 1cm

Die chromatographischen Bedingungen sind aus Tabelle 34 ersichtlich. Die Auswertung erfolgte bei einer Wellenlänge von 450 nm.

Tabelle 34: Bedingungen für die Analyse der Carotinoide α - und β -Carotin aus Karotten mittels HPLC-DAD.

Gradientenprogramm		
Zeit [Minuten]	Anteil Eluent A [%]	Anteil Eluent B [%]
0	100	0
20	40	60
35	40	60
40	100	0
45	100	0

Eluent A: MeOH/MTBE/Wasser 81/15/4 (v/v/v) + 0,1 % BHT

Eluent B: MeOH/MTBE 10/90 (v/v) + 0,1 % BHT

Säulentemperatur: 30 °C

Flussrate: 1,2 ml/min

Injektionsvolumen: 20 μ l

Detektion: DAD (UV/vis-Spektrum von 200 – 600 nm)

Säule: Prontosil C-30 (Bischoff Chromatography) 250x4,6 mm, 5 μ m, 200Å

8.5.4 Analyse von phenolischen Verbindungen

8.5.4.1 Extraktion für Polyphenole aus rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren

- 1 g Probe (Frisch, bzw. entsprechendes Frischgewicht und Wasser nach Formel (3)) in ein braunes 15 ml Zentrifugenröhrchen einwiegen
- Direkt nach der Einwaage Lösungsmittel zugeben und gut mischen:
 - Apfel: 7,5 ml Methanol + 5 % Ameisensäure v/v
 - Erdbeere: 8 ml Methanol
- 15 Minuten im Ultraschallbad bei 30 °C behandeln
- 30 Sekunden vortexen
- Zentrifugieren (10 Minuten, 4000 rpm, 20 °C)
- Membranfiltrieren (Macherey-Nagel, PTFE, 0,20 μ m, \varnothing 13 mm)
- Vor der Messung wurden die Proben am Evaporator bis zur Trockne eingedampft:
 - Apfel: 750 μ l bei 45 °C für max. 3 h eindampfen und in 100 μ l Wasser/Acetonitril 97/3 + 2 % Ameisensäure aufnehmen
 - Erdbeere: 800 μ l für max. 5 h eindampfen (ohne Temperatur) und in 100 μ l Wasser/Acetonitril 97/3 + 2 % Ameisensäure aufnehmen
- Die chromatographische Bestimmung erfolgte mit den in Tabelle 35 bzw. Tabelle 36 gezeigten Bedingungen für Apfel bzw. Erdbeere.

8.5.4.2 Apfel**Herstellung Leermatrix**

Die Kalibrierung wurde mit einer Leermatrix durchgeführt, die durch Mischen der folgenden Bestandteile hergestellt wurde. Da in Polygalacturonsäure PZ enthalten war, wurde diese mit Methanol extrahiert bis PZ nicht mehr nachweisbar war.

Verbindung	Einwaage [g]
D-Glucose	2,02 g
D-Fructose	5,73 g
Saccharose	2,51 g
Xylan from Beechwood	0,70 g
Cellulose	0,61 g
Polygalacturonsäure (aufgereinigt)	0,81 g
Rhamnogalacturonan	0,11 g
Äpfelsäure	0,44 g
Citronensäure	0,04 g

Untersuchte Verbindungen und Kalibrierung

Die in Tabelle 50 (Seite 211) aufgeführten Verbindungen wurden im angegebenen Bereich kalibriert. Dazu wurde die entsprechende Menge der Stammlösung in ein braunes 15 ml Zentrifugenröhrchen gegeben und das Lösungsmittel unter N₂ abgedampft. Dann wurde ~ 150 mg der Apfel-Leermatrix zugegeben und wie unter Kapitel 8.5.4.1 beschrieben extrahiert und mit den in Tabelle 35 dargestellten Bedingungen gemessen.

Tabelle 35: Bedingungen für die Analyse von phenolischen Verbindungen aus rotfleischigen Äpfeln mittels HPLC-DAD.

Gradientenprogramm		
Zeit [Minuten]	Anteil Eluent A [%]	Anteil Eluent B [%]
0	97	3
5	97	3
25	92	8
45	74	26
52	40	60
54	0	100
59	0	100
61	97	3
68	97	3

Eluent A: Wasser + 2 % Ameisensäure

Eluent B: Acetonitril + 2 % Ameisensäure

Säulentemperatur: 40 °C

Flussrate: 1 ml/min

Injektionsvolumen: 10 µl

Detektion: DAD (UV/vis-Spektrum von 200 – 700 nm)

Säule: Kinetex C-18(2) (Phenomenex) 150x4,6 mm, 2,6 µm, 100Å

8.5.4.3 Erdbeere

Herstellung Leermatrix

Die Kalibrierung wurde mit einer Leermatrix durchgeführt, die durch Mischen der folgenden Bestandteile hergestellt wurde. Das Zellwandmaterial, wurde durch mehrfache Extraktion mit einem Gemisch aus Methanol/Wasser 90/10 v/v von gefriergetrockneten Erdbeeren erreicht. Bei dem Material konnten keine Peaks festgestellt werden, die auf die untersuchten Substanzen zurückzuführen waren.

Verbindung	Einwaage [g]
Zellwandmaterial Erdbeere	4,90 g
D-Glucose	6,59 g
D-Fructose	6,93 g
Saccharose	3,21 g
Äpfelsäure	1,01 g
Citronensäure	2,26 g
Ascorbinsäure	0,21 g

Untersuchte Verbindungen und Kalibrierung

Die in Tabelle 50 (Seite 211) aufgeführten Verbindungen wurden im angegebenen Bereich kalibriert. Dazu wurde die entsprechende Menge der Stammlösung in ein braunes 15 ml Zentrifugenröhrchen gegeben und das Lösungsmittel unter N₂ abgedampft. Dann wurde ~ 90 mg der Erdbeer-Leermatrix zugegeben und wie unter Kapitel 8.5.4.1 beschrieben extrahiert und mit den in Tabelle 36 gezeigten Bedingungen gemessen.

Tabelle 36: Bedingungen für die Analyse von phenolischen Verbindungen aus Erdbeeren mittels HPLC-DAD.

Gradientenprogramm		
Zeit [Minuten]	Anteil Eluent A [%]	Anteil Eluent B [%]
0	97	3
5	97	3
35	86	14
55	86	14
56	0	100
61	0	100
62	97	3
68	97	3

Eluent A: Wasser + 2 % Ameisensäure

Eluent B: Acetonitril + 2 % Ameisensäure

Säulentemperatur: 30 °C

Flussrate 1 ml/min

Injektionsvolumen: 10 µl

Detektion: DAD (UV/vis-Spektrum von 200 – 700 nm)

Säule: Kinetex C-18(2) (Phenomenex) 150x4,6 mm, 2,6 µm, 100Å

8.6 Charakterisierung der Zusammensetzung der Zellwandpolymere

8.6.1 Isolierung der Nicht-Stärke-Polysaccharide

Entfernung der organischen Säuren

- 7,5 g der gemahlenden, gefriergetrockneten Probe mit 40 ml 80% Ethanol versetzen und vortexen
- Zentrifugieren (10 Minuten, 4000 rpm) und Überstand verwerfen
- Insgesamt 3x durchführen
- Gefriertrocknen der Probe

Stärkeabbau

- 5 g der gemahlenden Probe in großem Falcon-Röhrchen mit 15 mL Wasser versetzen und vortexen
- 100 µL thermostabile α -Amylase hinzufügen und gut mischen
- 5 min bei 95°C inkubieren
- Nach dem Abkühlen 200 µL Amyloglucosidase hinzufügen und gut mischen
- 10 Minuten bei 60°C inkubieren
- Zur Inaktivierung 5 min bei 100°C inkubieren
- 60 mL Ethanol (99 %) zugeben und Niederschlagsbildung über Nacht abwarten
- Zentrifugieren (10 Minuten, 4000 rpm) und Überstand verwerfen

Waschen

- 10 mL Wasser mit 60°C zugeben, gut mischen und kurz warten
- Zugabe von 40 mL Ethanol und Niederschlagsbildung abwarten
- Zentrifugieren (10 Minuten, 4000 rpm) und Überstand verwerfen
- Mit 30 mL Ethanol (80 %) waschen
- Zentrifugieren (10 Minuten, 4000 rpm) und Überstand verwerfen
- Wiederholung der vorherigen Schritte „Waschen“
- 2x mit 30 ml Aceton zugeben, gut mischen, zentrifugieren (10 Minuten, 4000 rpm) und Überstand verwerfen
- Rückstand gefriertrocknen
- Zerkleinern der Probe mit Mörser und Pistill

8.6.2 Analytische Bestimmung der Ballaststoffgehalte

8.6.2.1 Isolierung der Ballaststoffe

Unlösliche Ballaststoffe

- 1 g gefriergetrocknete Probe mit 1 ml Ethanol und 35 ml 100 mM Natriummaleatpuffer versetzen
- Unter Rühren 10 Minuten bei 37 °C inkubieren
- 5 ml PAA-Lösung zugeben (400 mg Pankreas α -Amylase und 47,2 mg Amyloglucosidase (Megazyme) in 5 ml Natriummaleatpuffer) und unter Rühren 4 Stunden bei 37 °C inkubieren
- Einstellen des pH-Wertes auf 8,2 mit 0,75 M Trizma-Base
- Für 20 Minuten bei 95 °C inkubieren
- Proben auf etwa 60 °C abkühlen lassen und 0,1 ml Protease-Lösung zugeben (3,9 mg Protease in 0,1 ml Wasser)
- 30 Minuten bei 60 °C inkubieren
- Einstellen des pH-Wertes auf 4,3 mit 2 M Essigsäure
- Zugabe von 1 ml der internen Standardlösung (100 mg/ml Glycerol)
- Lösung über zuvor bei 500 °C konstant geglühte Filtertiegel (Pore Size 2) mit Celite abfiltrieren
- 2x mit je 25 ml und 1x mit 10 ml Wasser (60 °C) waschen. Wässrige Filtrate sammeln und vereinigen (enthalten LBS und NLBS)
- Rückstand im Tiegel 2x mit je 25 ml Ethanol und 2x mit je 25 ml Aceton waschen
- Rückstand im Tiegel über Nacht bei 105 °C trocknen → Auswaage enthält UBS

Lösliche Ballaststoffe

- Das wässrige Filtrat der UBS mit der vierfachen Menge Ethanol versetzen (Anteil Ethanol > 76 %)
- Präzipitatbildung über Nacht abwarten
- Lösung über zuvor bei 500 °C konstant geglühte Filtertiegel (Pore Size 2) mit Celite abfiltrieren
- 2x mit je 25 ml und 1x mit 10 ml Ethanol (78 %) waschen. Filtrate sammeln und vereinigen (enthalten NLBS)
- Rückstand im Tiegel 2x mit je 25 ml Ethanol und 2x mit je 25 ml Aceton waschen
- Rückstand im Tiegel über Nacht bei 105 °C trocknen → Auswaage enthält UBS

Niedermolekulare lösliche Ballaststoffe

- Das Filtrat das bei der Isolierung der LBS erhalten wurde bei 50 °C am Rotationsverdampfer bis fast zur Trockne einengen
- Den Rückstand mit etwas Wasser aufnehmen und quantitativ in einen 25 ml Messkolben überführen
- 5 ml Probe zum Entsalzen auf eine Ionenaustauscher Säule geben (je 4 g Amberlite FPA53 (OH⁻) und Ambersep 200 (H⁺)) die vorher mit 20 ml Wasser gewaschen wurde
- 15 Minuten auf der Säule stehen lassen
- Elution mit 40 ml Wasser
- Eluat bei 50 °C am Rotationsverdampfer bis zur Trockne eindampfen
- Rückstand in 2 ml Wasser aufnehmen
- Membranfiltrieren (Macherey-Nagel, PTFE, 0,45 µm, Ø 25 mm)
- Chromatographische Bestimmung (Bedingungen siehe Tabelle 37)
- Der Übergang von Maltotriose zu Maltose dient als Grenze zwischen Di- und Oligosacchariden, wobei nur die Oligosaccharide ausgewertet werden.
- Die Kalibrierung und Quantifizierung erfolgt über das Peakflächenverhältnis von Glucose zum internen Standard Glycerol

Tabelle 37: Bedingungen für die Analyse von niedermolekularen löslichen Ballaststoffen mittels SEC-HPLC-RI.

Isokratische Elution mit Wasser Dauer: 60 Minuten
--

Säulentemperatur: 80 °C

Flussrate 0,4 ml/min

Injektionsvolumen: 50 µl

Detektion: RI

Säule: TSKgel G2500PWxl (Tosoh) 300x7,8 mm, 2x in Reihe

8.6.2.2 Proteinkorrektur

Kjeldahl-Aufschluss

- Den gesamten Rückstand mit Celite der bei der Isolierung der Ballaststoffe erhaltenen UBS und LBS (siehe Kapitel 8.6.2.1) in einen Aufschlusskolben mit Glasperlen überführen
- Zugabe von 500 mg Katalysator und 5 ml konz. Schwefelsäure
- 1 – 1,5 Stunden erhitzen bis der Probenrückstand aufgelöst und die Lösung entfärbt war
- Nach Abkühlen der Lösung vorsichtig 10 ml Wasser zugeben
- Quantitatives Überführen der Lösung in einen 100 ml Messkolben (ohne Glasperlen)

Messung des Stickstoffgehalts

- 2 ml der verdünnten Aufschlusslösung mit 48 ml Wasser versetzen
- Zugabe von 3 ml 2 M NaOH (Überführung der NH_4^+ -Ionen in NH_3) und Abdecken des Becherglases mit einem Uhrglas, damit kein NH_3 entweichen kann
- Eintauchen der NH_3 -sensitiven Elektrode in die Lösung und Starten der Messung

Kalibrierung

- Zur Kalibrierung wurden drei Lösungen von Ammonium-Chlorid der Konzentrationen 0,1, 1,0 und 10,0 mg/l N in 200 ml Messkolben hergestellt denen jeweils 4 ml verdünnte Schwefelsäure (4 ml konz. Schwefelsäure in 50 ml Wasser) zugesetzt wurde um die Salzkonzentration der Probe nachzustellen.
- 50 ml der Kalibrierlösungen wurden mit 3 ml 2 M NaOH versetzt und mit der NH_3 -sensitiven Elektrode gemessen

8.6.2.3 Aschekorrektur

Zur Bestimmung des Aschegehaltes wurden die Tiegel mit UBS bzw. LBS 4 Stunden bei 500 °C im Muffelofen verascht und ausgewogen.

8.6.3 Analyse der Monosaccharidzusammensetzung

8.6.3.1 Schwefelsäurehydrolyse

- 10 mg der Probe (NSPS siehe Kapitel 8.6.1) in ein 3,5 ml GC-Vial einwiegen und mit Glasperlen versetzen
- 150 µl 12 M Schwefelsäure zugeben und vortexen
- 30 Minuten auf Eis stehen lassen und dabei alle 10 Minuten vortexen
- 2 Stunden bei Raumtemperatur stehen lassen und dabei alle 30 Minuten vortexen
- Zugabe von 975 µl Wasser
- 3 Stunden bei 100 °C im Trockenschrank hydrolysieren
- Nach dem Abkühlen alles mit einer Spritze aufnehmen und membranfiltrieren (Macherey-Nagel, PTFE, 0,45 µm, Ø 25 mm)
- 100 µl des Filtrats mit 75 µl 4 M NaOH und 825 µl Wasser versetzen
- Davon 20 µl mit 20 µl 1 mM D-Mannit-Lösung und 160 µl Wasser versetzen
- Lösung entsprechend verdünnen und per HPAEC-PAD bestimmen

8.6.3.2 Methanolyse

- 10 mg der Probe (NSPS siehe Kapitel 8.6.1) in ein 3,5 ml GC-Vial einwiegen
- 2 ml 1,25 M methanolische HCl hinzufügen und Deckel gut verschließen
- Bei 80 °C für 16 Stunden inkubieren
- Nach dem Abkühlen und Absetzen der Teilchen 40 µl entnehmen und im Evaporator zur Trockne eindampfen
- Zugabe von 500 µl 2 M TFA-Lösung
- 1 Stunde bei 121 °C behandeln
- Im Evaporator zur Trockne eindampfen
- 2x je 200 µl Ethanol zugeben und im Evaporator zur Trockne eindampfen
- Rückstand in 180 µl Wasser aufnehmen und 20 µl 1 mM D-Mannit-Lösung zugeben
- Vor der Messung diese Lösung verdünnen (1:5 – 1:20)

8.6.3.3 HPAEC-PAD Bedingungen

Chromatographie

Die Trennung und Detektion der Monosaccharide erfolgte mittels HPAEC-PAD (Bedingungen siehe Tabelle 38). Da die Monosaccharide D-Xylose und D-Mannose im Standardprogramm nicht vollständig getrennt sind, wird zur Bestimmung von D-Mannose ein modifizierter Gradient verwendet.

Kalibrierung und Auswertung

Die Kalibrierung wurde für die Monosaccharide L-Fucose, L-Rhamnose, L-Arabinose, D-Galactose, D-Glucose, D-Xylose, D-Mannose, D-Fructose, D-Apiose, D-Galacturonsäure und D-Glucuronsäure im Bereich von 1 – 25 und 25 – 125 µM hergestellt. Es wurde für alle Kalibrierungen eine linear quadratische Anpassung durchgeführt.

Tabelle 38: Bedingungen für die Analyse von Monosacchariden mittels HPAEC-PAD.

Gradientenprogramm			
Zeit [Minuten]	Anteil Eluent A [%]	Anteil Eluent B [%]	Anteil Eluent C [%]
-20,0	0	100	0
-10,0	0	100	100
-9,9	90	10	0
0,0	90	10	0
1,5	96	4	0
22	96	4	0
32	0	100	0
32,1	0	0	100
42	0	0	100

Gradientenprogramm zur Trennung von Xylose und Mannose			
Zeit [Minuten]	Anteil Eluent A [%]	Anteil Eluent B [%]	Anteil Eluent C [%]
-20,0	0	100	0
-10,0	0	100	0
-9,9	96	4	0
25,0	96	4	0
25,1	0	0	100
40,0	0	0	100

Eluent A: Wasser

Eluent B: 100 mM NaOH

Eluent C: 100 mM NaOH + 200 mM Na-Acetat

Säulentemperatur: 25 °C

Flussrate 0,4 ml/min

Injektionsvolumen: 25 µl

Detektion: PAD, Waveform Carbohydrates (Standard Quad), Elektrode AgCl,

Modus: IntAmp

Säule: CarboPac PA20 (Thermo Scientific) 150x3 mm

8.6.4 Analyse der Polysaccharidbindungsverhältnisse (Methylierungsanalyse)

Methylierung

- 5 mg Probe (NSPS siehe Kapitel 8.6.1) in ein 15 ml Pyrex-Glas einwiegen
- Zugabe von 2 ml DMSO
- 15 Minuten im Ultraschallbad behandeln
- Über Nacht quellen lassen
- 15 Minuten im Ultraschallbad behandeln
- Zugabe von 100 mg unter N₂ frisch gemörserter NaOH
- 90 Minuten im Ultraschallbad behandeln
- 90 Minuten bei Raumtemperatur reagieren lassen
- Zugabe von 1 ml Methyliodid
- 30 Minuten im Ultraschallbad behandeln
- 30 Minuten bei Raumtemperatur reagieren lassen
- Zugabe von 3 ml Dichlormethan
- Zugabe von 5 ml 0,1 M Natriumthiosulfat-Lösung und gut mischen
- Abnehmen der oberen wässrigen Phase (wird verworfen)
- Organische Phase 2x mit je 5 ml Wasser waschen
- Lösungsmittel am Rotationsverdampfer bei 50 °C entfernen
- Über Nacht im Vakuumtrockenschrank trocknen (40 °C, 30 mbar)
- Die Methylierung wurde zweimal durchgeführt (beim zweiten Mal kein Quellen der Probe über Nacht in DMSO)

Spaltung und Acetylierung

- Zum trockenen Rückstand 2 ml 2 M TFE geben
- 90 Minuten bei 121 °C im Trockenschrank hydrolysieren
- Das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer bei 50 °C entfernen
- Zugabe von 20 mg Natriumbor-deuterid in 0,3 ml 2 M Ammoniak
- 1 Stunde bei Raumtemperatur reagieren lassen
- Zugabe von 100 µl Essigsäure zum Abbruch der Reaktion
- Unter Kühlung mit Eis 450 µl 1-Methylimidazol und 3 ml Essigsäureanhydrid zugeben
- 30 Minuten bei Raumtemperatur reagieren lassen
- Unter Kühlung mit Eis 3 ml Wasser zugeben
- Wässrige Phase mit 5 ml Dichlormethan extrahieren
- Abnehmen der oberen wässrigen Phase (wird verworfen)
- Organische Phase 3x mit je 5 ml Wasser waschen
- Das restliche Wasser durch Ausfrieren entfernen

GC-Analyse

Die erhaltenen PMAAs wurden zuerst mittels GC-MS identifiziert und im Anschluss mittels GC-FID semiquantitativ bestimmt. Die chromatographischen Bedingungen und Einstellungen sind in Tabelle 39 ersichtlich.

Tabelle 39: Bedingungen und Einstellungen für die Analyse von partiell methylierten Alditol Acetaten, die bei der Methylierungsanalyse erhalten werden, mittels GC-MS und GC-FID.

	GC-MS	GC-FID	
Säule	DB-225MS (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm)		
Trägergas	Helium		
Trägergasgeschwindigkeit	40 cm/s		
Injektionsmodus	Split		
Splitrate	10:1 – 30:1		
Injektionsvolumen	1 µl		
Injektortemperatur	220 °C		
Detektortemperatur	Ion Source: 220 °C	FID: 240°C	
Transferline	220 °C	---	
Temperaturprogramm			
	Aufheizrate [°C/min]	Temperatur [°C]	Haltezeit [min]
Stufe 0	---	140	1
Stufe 1	20	220	25

8.6.5 Weitergehende Analyse der Arabinane (Arabinan-Screening)

8.6.5.1 Enzymatische Umsetzung

- 5 mg Probe (NSPS siehe Kapitel 8.6.1) in ein 1,5 ml Reaktionsgefäß einwiegen
- Zugabe von 500 µl Wasser und vortexen
- Zugabe von 5 µl einer endo-Arabinanase-Lösung (20U/ml) und mischen
- 24 h bei 40 °C unter Schütteln inkubieren
- 5 Minuten bei 95 °C inkubieren
- Zentrifugieren (10 Minuten, 14000 rpm, 20 °C)
- Überstand abnehmen, Rückstand verwerfen
- Zur Messung 30 µl des Überstands, 15 µl 100 µM Raffinose-Lösung und 105 µl Wasser mischen und per HPAEC-PAD analysieren

8.6.5.2 HPAEC-Bedingungen und Auswertung

Die AN-OS wurde mit den in Tabelle 40 dargestellten Bedingungen mittels HPAEC-PAD getrennt und detektiert. Die Quantifizierung erfolgte mithilfe von relativen Responsefaktoren nach Wefers et al. (2016).

Tabelle 40: Bedingungen für die Analyse von Arabinan-Oligosacchariden mittels HPAEC-PAD.

Gradientenprogramm			
Zeit [Minuten]	Anteil Eluent A [%]	Anteil Eluent B [%]	Anteil Eluent C [%]
-30,0	0	0	100
-20,0	0	0	100
-19,9	90	10	0
0,0	90	10	0
10,0	50	50	0
60,0	50	30	20
75,0	0	40	60
75,1	0	0	100
90,0	0	0	100

Eluent A: Wasser

Eluent B: 100 mM NaOH

Eluent C: 100 mM NaOH + 500 mM Na-Acetat

Säulentemperatur: 25 °C

Flussrate 0,4 ml/min

Injektionsvolumen: 25 µl

Detektion: PAD, Waveform Carbohydrates (Standard Quad), Elektrode AgCl, Modus: IntAmp

Säule: CarboPak PA200 (Thermo Scientific) 250x3 mm

8.6.6 Bestimmung des Veresterungsgrades von Galacturonsäure mit Methanol und Essigsäure

Die Bestimmung des Veresterungsgrades von Galacturonsäure gliedert sich in die Bestimmung des Galacturonsäuregehaltes und des Methanol- und Essigsäuregehalts. Anhand der erhaltenen Ergebnisse kann der Veresterungsgrad berechnet werden.

8.6.6.1 Photometrische Galacturonsäurebestimmung

Hydrolyse

- 10 mg Probe (NSPS siehe Kapitel 8.6.1) in ein 3,5 ml GC-Vial einwiegen und mit Glasperlen versetzen
- Zugabe von 300 µl 12 M Schwefelsäure und vortexen
- Unter Kühlung mit Eis 30 Minuten reagieren lassen und dabei alle 10 Minuten vortexen
- Danach 2 Stunden bei Raumtemperatur reagieren lassen und dabei alle 30 Minuten vortexen
- Zugabe von 1950 µl Wasser
- Membranfiltrieren (Macherey-Nagel, PTFE, 0,45 µm, Ø 25 mm)
- Verdünnen mit Wasser (1:20)

Photometrische Bestimmung

- Je 600 µl der verdünnten Probe in zwei 15 ml Pyrex-Gläser geben
- Unter Kühlung mit Eis 3,6 ml einer 7 mM Natriumtetraborat-Lösung in konz. Schwefelsäure zugeben und sofort vortexen
- 5 Minuten bei 100 °C inkubieren und anschließend sofort im Eisbad abkühlen
- Zu einem Ansatz 60 µl einer 10 mM 3-Phenylphenol-Lösung in 0,5 % NaOH geben (Probe), zum anderen 60 µl 0,5 % NaOH geben (Blindwert) und sofort vortexen
- Nach 20 Minuten bei einer Wellenlänge von 520 nm die Extinktion gegen Luft messen

Kalibrierung

- Zur Kalibrierung wurden Lösungen mit einem Galacturonsäuregehalt von 10 – 85 mg/l hergestellt und wie die Proben photometrisch bestimmt
- Für die Kalibrierung wurde eine linear quadratische Anpassung durchgeführt

8.6.6.2 Bestimmung der longitudinalen Relaxationszeit

Die longitudinale Relaxationszeit (T1-Zeit) wurde mithilfe eines Rüben-Pektin-Standards bestimmt, der wie für die Proben beschrieben aufgearbeitet wurde (siehe Kapitel 8.6.6.3). Dazu wurde die Bruker Pulssequenz „t1ir“ verwendet. Die Wartezeiten nach dem 180°-Puls lagen zwischen 0,01 und 15 sec.

8.6.6.3 Bestimmung des Methanol- und Essigsäuregehaltes mittels ¹H-NMR-Spektroskopie

Verseifung

- 10 mg der Probe (NSPS siehe Kapitel 8.6.1) in ein 1,5 ml Reagiergefäß einwiegen
- Zugabe von 1 ml 2 M NaOH in D₂O
- Zugabe von 0,1 ml einer Lösung von 0,2 mg/ml TSP in D₂O
- Vortexen und für 2 Stunden im Ultraschallbad behandeln (Kühlung mit Eis um Überhitzung zu verhindern)
- Zentrifugieren (10 Minuten, 14000 rpm, 20 °C)
- Überstand abnehmen und membranfiltrieren (Macherey-Nagel, RC, 0,45 µm, Ø 25 mm)

NMR-Messung, Prozessierung und Auswertung der Spektren

Zur Messung wurden 500 µl der Lösung in ein NMR-Röhrchen überführt und am NMR-Spektrometer vermessen (Bedingungen siehe Tabelle 41). Die Prozessierung der Spektren erfolgte mit TopSpin. Es wurde eine Basislinien- und Phasenkorrektur, zero filling um den Faktor 2 und die Anwendung einer reutz-Funktion (0,3) durchgeführt. Es wurden die Signale bei 1,920 ppm (Essigsäure) und 3,358 ppm (Methanol) integriert. Als Referenz diente das Signal von TSP welches auf 0 ppm gesetzt wurde. Zur Berechnung des Gehaltes an Methanol und Essigsäure in den Ballaststoffpräparaten wurde Formel (6) verwendet.

Tabelle 41: Bedingungen für die Bestimmung von Methanol und Essigsäure aus Nicht-Stärke-Polysacchariden mittels ¹H-NMR-Spektroskopie.

Pulsprogramm	Bruker zg30 (90 ° Puls)
Anzahl Scans	32
Acquisition Time	3,28 s
Relaxation Delay D1	35 s
Lösungsmittel	D ₂ O
Datenpunkte	65536
Spektraler Bereich	10000 Hz
Internes Referenzsignal	TSP (0 ppm)

Formel zur Berechnung des Gehalts von Methanol und Essigsäure

$$c(x) \left[\frac{\mu\text{mol}}{\text{mg}} \right] = \frac{A_x * MW_x * m_{\text{TSP}} * n_{\text{H}_{\text{TSP}}}}{A_{\text{TSP}} * MW_{\text{TSP}} * n_{\text{H}_x} * MW_x * \text{Einwaage}} \quad (6)$$

x: Analyt

nH: Anzahl an Protonen

A: Integral

MW: Molekulargewicht

m: Masse

TSP: Natriumtrimethylsilylpropionat- d_4

9 Anhang

9.1 Chromatogramme der Trennung von Carotinoiden

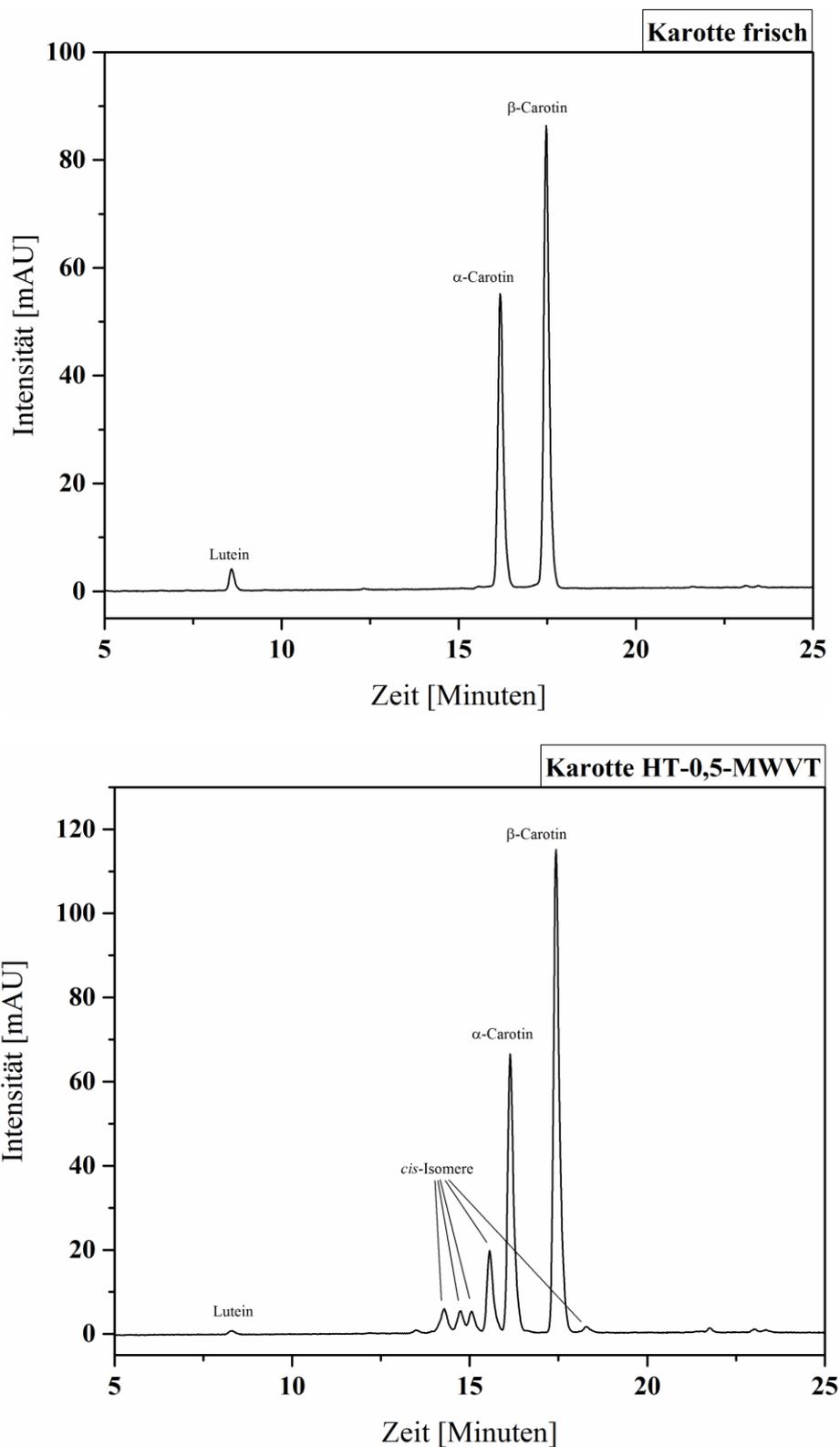


Abbildung 32: Chromatographische Trennung von Carotinoiden auf einer C30-Säule. UV-Detektion bei 450 nm. Oben: Frische Karotte. Unten: Karotte die durch Anwendung des Kombinationsverfahrens HT-0,5-MWVT getrocknet wurde. Chromatographische Bedingungen siehe Kapitel 8.5.3, Seite 179

9.2 Bestimmung der Reinheit von 3-Desoxyglucoson-Chinoxalin mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie

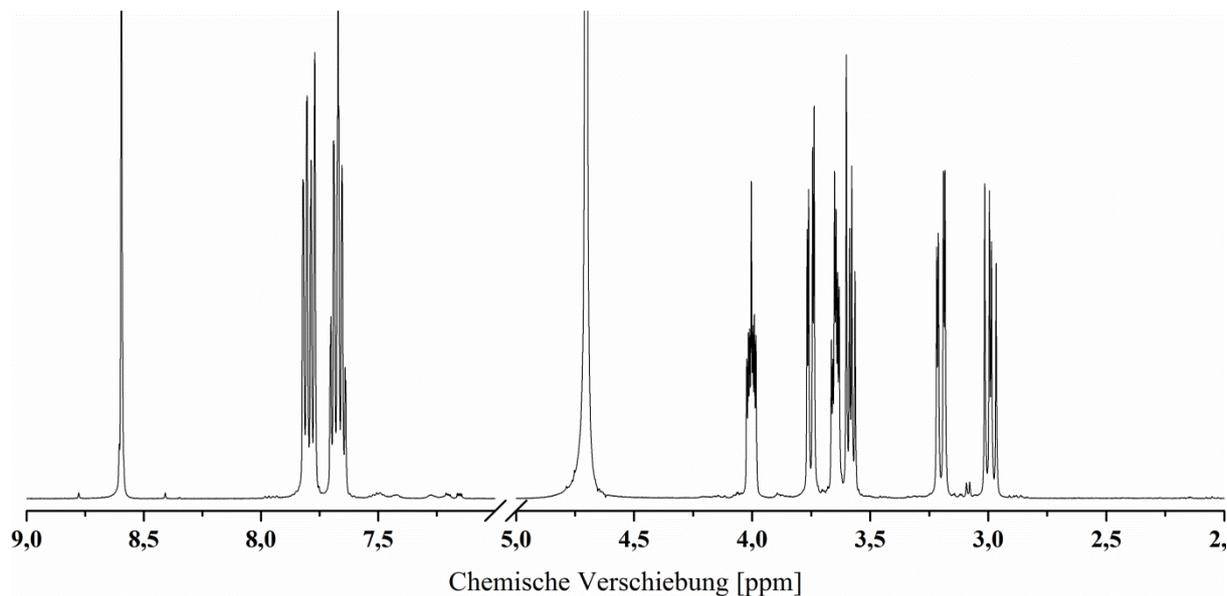


Abbildung 33: Bestimmung der Reinheit von 3-Desoxyglucoson-Chinoxalin mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie. Experiment: zg30 (90 ° Puls). Anzahl Scans: 16. Temperatur: 298 K. Lösungsmittel D_2O

Tabelle 42: Chemische Verschiebungen und Kopplungskonstanten von 3-Desoxyglucoson-Chinoxalin. Zuordnung der Atome siehe Abbildung 20 (Seite 69).

Atom	Multiplizität	H-Atome [ppm]	Kopplungskonstante [Hz]	C-Atome [ppm]
2				154,9 ^a
3	s	8,596		146,07
5	m	7,795		130,07
6	m	7,672		127,1
7	m	7,672		127,7
8	m	7,795		130,84
9				140,7 ^a
10				139,7 ^a
1'A	dd	2,991	14,2 und 9,9	38,74
1'B	dd	3,201	14,3 und 3,3	38,74
2'	m	4,004		71,39
3'	m	3,648		74,53
4'A	dd	3,583	11,6 und 7,0	62,41
4'B	dd	3,752	11,5 und 3,3	62,41

^a: Chemische Verschiebungen mithilfe des HMBC-Experiment bestimmt

9.3 Isolierung von phenolischen Verbindungen aus Erdbeeren

9.3.1 Identifizierung der Hauptverbindungen in rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren

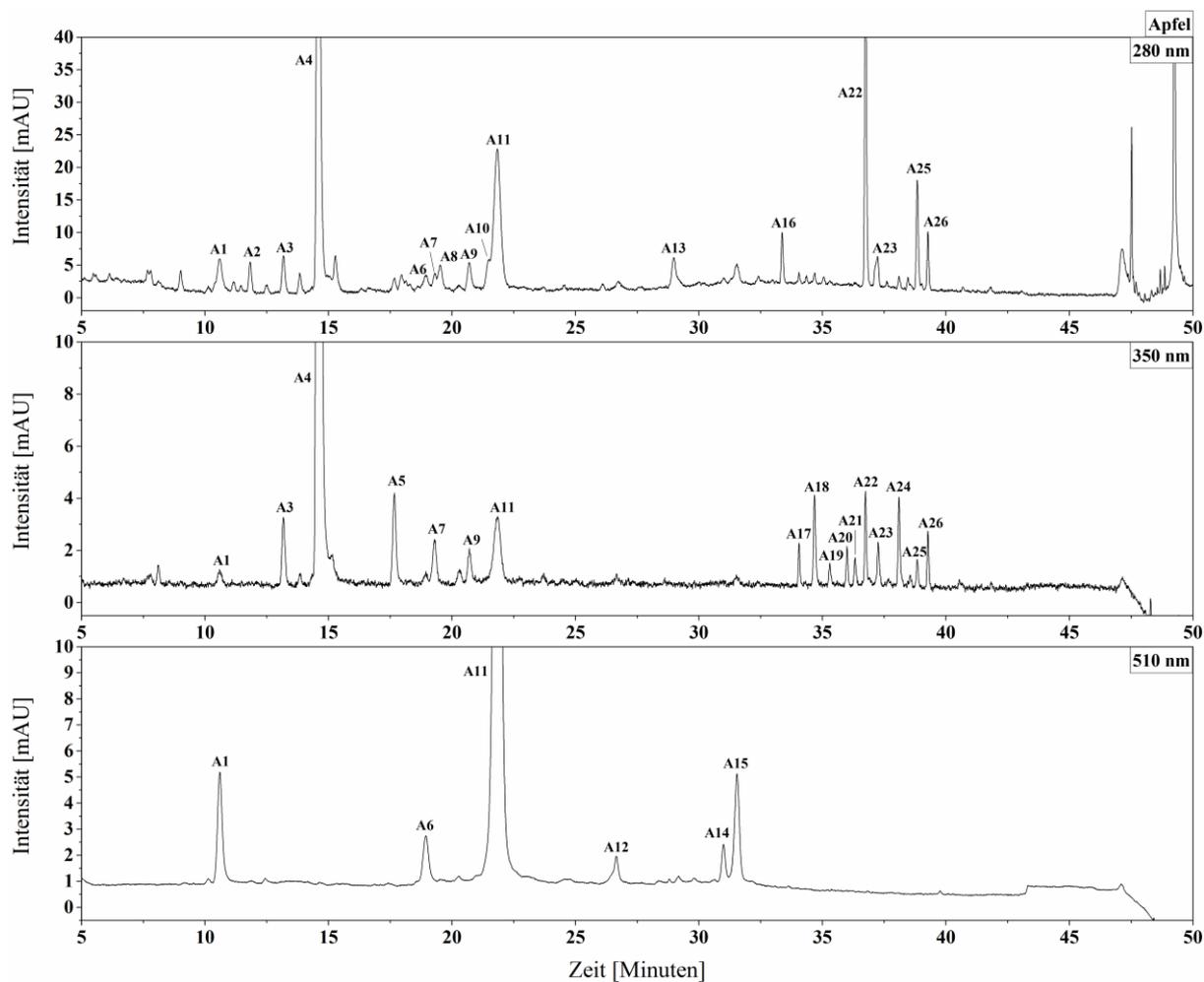


Abbildung 34: Chromatogramme der Identifizierung der sauer-methanolisch extrahierbaren Verbindungen aus dem Fruchtfleisch von rotfleischigen Äpfeln mittels HPLC-DAD-MS. UV-Detektion bei 280 nm (oben), 350 nm (Mitte) und 510 nm (unten). Chromatographische Bedingungen siehe Kapitel 8.4, Seite 172

Tabelle 43: Charakterisierung der sauer-methanolisch extrahierbaren Verbindungen aus dem Fruchtfleisch von rotfleischigen Äpfeln mittels HPLC-DAD-MS. Zuordnung der Peaks siehe Abbildung 34, Seite 199

Peak	λ max [nm]	t_R [min]	[M-H] ⁻ [m/z]	Mögliche Verbindung
A1	522	10,6	735	Anthocyan und Flavanol-Addukt ^a
A2	---	11,8	457	Kaffeesäure + Rhamnose + Pentose
A3	314	13,2	323	Keine Zuordnung
A4	326	14,6	353	Chlorogensäure ^b
A5	330	17,6	372	Keine Zuordnung
A6	526	18,9	1023	Anthocyan und Flavanol-Addukt?
A7	320	19,3	353	Kaffeesäure + Chinasäure
A8	279	19,5	289	(+)-Catechin ^b
A9	312	20,7	337	<i>p</i> -Cumarsäure + Chinasäure
A10	---	21,5	705	Keine Zuordnung
A11	515	21,8	447	Cyanidin- <i>O</i> -3- β -D-Galactopyranosid ^b
A12	505	26,6	515 865	5-Carboxypyranocyanidin-Hexosid Flavanol Trimer
A13	279	29,0	289	(-)-Epicatechin ^b
A14	520	31,0	419 [M+H] ⁺	Cyanidin-Pentosid
A15	515	31,5	417	Cyanidin-Pentosid
A16	274	33,4	403	Keine Zuordnung
A17	320	34,1	591	Keine Zuordnung
A18	353	34,7	463	Quercetin- <i>O</i> -3- β -D-Galactopyranosid ^b
A19	353	35,3	463	Quercetin-Hexosid
A20	350	36,0	343	Quercetin acetyliert?
A21	353	36,3	433	Quercetin-Pentosid
A22	285	36,7	567	Phloretin + Hexose + Pentose
A23	351	37,3	433	Quercetin- <i>O</i> -3- α -L-Arabinofuranosid ^b
A24	350	38,1	447	Quercetin-Desoxyhexosid
A25	285	38,8	435	Phlorizin ^b
A26	315	39,3	429	Keine Zuordnung

^a: (MALEC et al. 2014)

^b: Mit einem kommerziell erhältlichen Standard identifiziert

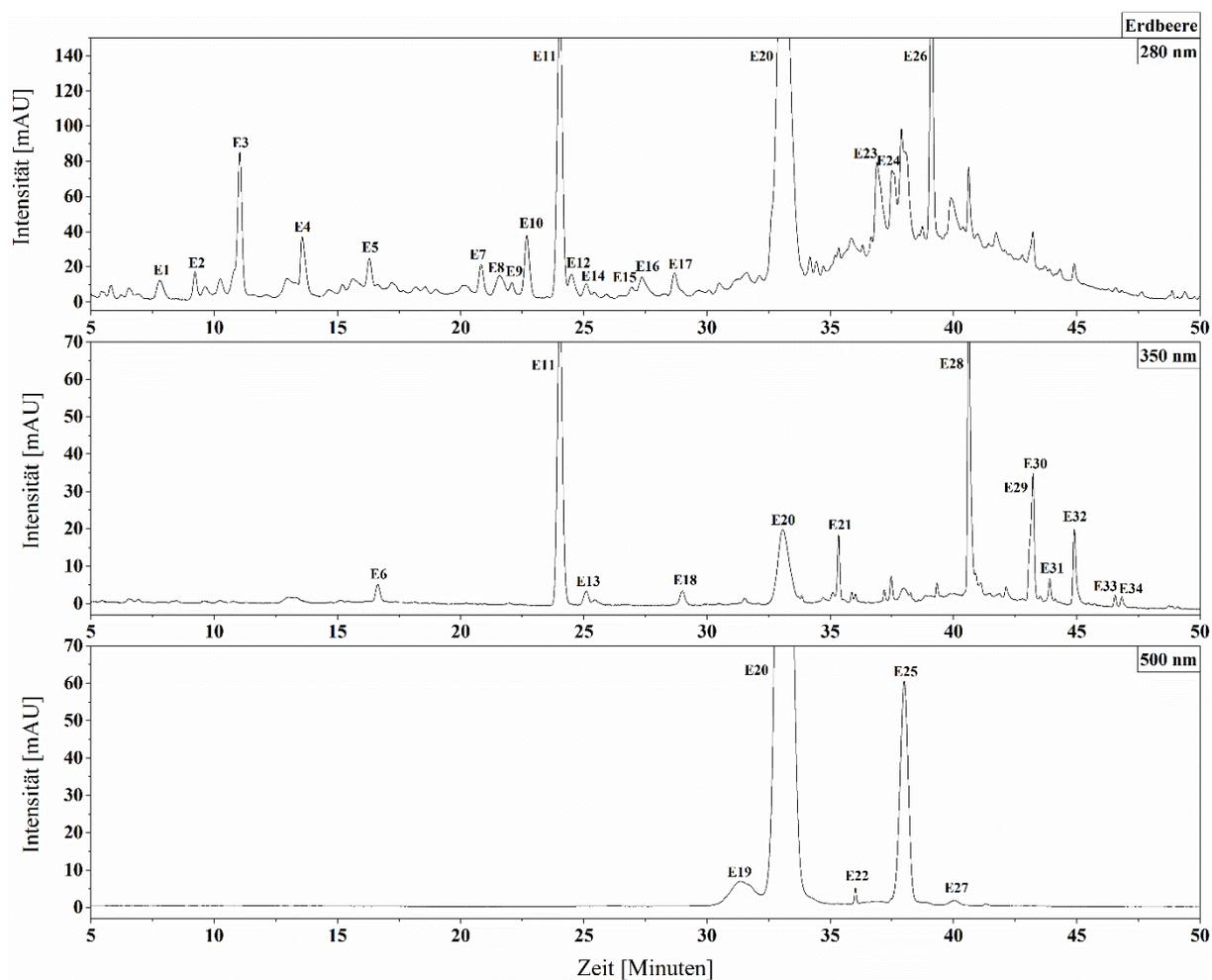


Abbildung 35: Chromatogramm der Identifizierung der sauer-methanologisch extrahierbaren Verbindungen aus Erdbeeren mittels HPLC-DAD-MS. UV-Detektion bei 280 nm (oben), 350 nm (Mitte) und 500 nm (unten). Chromatographische Bedingungen siehe Kapitel 8.4, Seite 172

Tabelle 44: Charakterisierung der sauer-methanolisch extrahierbaren Verbindungen aus Erdbeeren mittels HPLC-DAD-MS. Zuordnung der Peaks siehe Abbildung 35, Seite 201.

Peak	λ_{\max} [nm]	t_R [min]	$[M-H]^-$ [m/z]	Mögliche Verbindung
E1	280	7,8	865	Flavanol Trimer
E2	274	9,2	289	Flavanol
E3	283	11,0	508 $[M+HCO_2]^-$	Keine Zuordnung
E4	272	13,6		Keine Zuordnung
E5	274	16,3	509	Keine Zuordnung
E6	336	16,6	951	Keine Zuordnung
E7	279	20,8	577	Flavanol Dimer
E8	278	21,6	577	Flavanol Dimer
E9	279	22,1	463	Keine Zuordnung
E10	279	22,7	289	(+)-Catechin ^b
E11	316	24,0	325	<i>trans-p</i> -Cumarsäure- β -D-Glucopyranosid (Strukturaufklärung per NMR = P9)
E12	277	24,3	865	Flavanol Trimer
E13	314	24,9	325	<i>p</i> -Cumarsäure-Hexosid
E14	326	25,1	325	<i>p</i> -Cumarsäure-Hexosid
E15	277	26,7	865	Flavanol Trimer
E16	272	27,0	633	Galloyl-HHDP-Glucose ^a
E17	271	28,4	1153	Flavanol Tetramer
E18	338	29,0	355	Ferulasäure-Hexosid
E19	513	31,4	447,703	Cyanidin-Hexosid
E20	501	33,1	431	Pelargonidin-3- <i>O</i> - β -D-Glucopyranosid (Strukturaufklärung per NMR = P4)
E21	340	35,3	449	Ferulasäure-Hexosid-Derivat ^a
E22	493	36,0	501 $[M]^+$	5-Pyranopelargonidin-3-Glucosid ^a
E23	271	36,9	935	Galloyl-bis-HHDP-Glucose ^a
E24	278	37,5	935	Galloyl-bis-HHDP-Glucose ^a
E25	503	38,0	517	Pelargonidin-3- <i>O</i> -[6- <i>O</i> -Malonyl]- β -D-Glucopyranosid (Strukturaufklärung per NMR = P5)
E26	282	39,1	355	<i>trans</i> -Zimtsäure-Glucosid (Strukturaufklärung per NMR = P18)
E27	496	40,1	475 $[M+H]^+$	Pelargonidin-hexosid acetyliert
E28	354	40,6	477	Quercetin- <i>O</i> -3-Glucuronid ^b
E29	349	43,1	447	Kämpferol- <i>O</i> -3-Glucosid ^b
E30	343	43,2	461	Kämpferol- <i>O</i> -3-Glucuronid ^b
E31	354	43,9	491	Quercetin-Glucuronid methyliert?
E32	350	44,9	533	Kämpferol-Malonylhexosid
E33	350	46,6	533	Kämpferol-Malonylhexosid
E34	352	46,8	489	Kämpferol-hexosid acetyliert

^a: nach (AABY et al. 2007). ^b: Mit einem kommerziell erhältlichen Standard identifiziert. HHDP: Hexahydroxydiphenolsäure

9.3.2 Semipräparative Isolierung von Verbindungen aus Erdbeeren

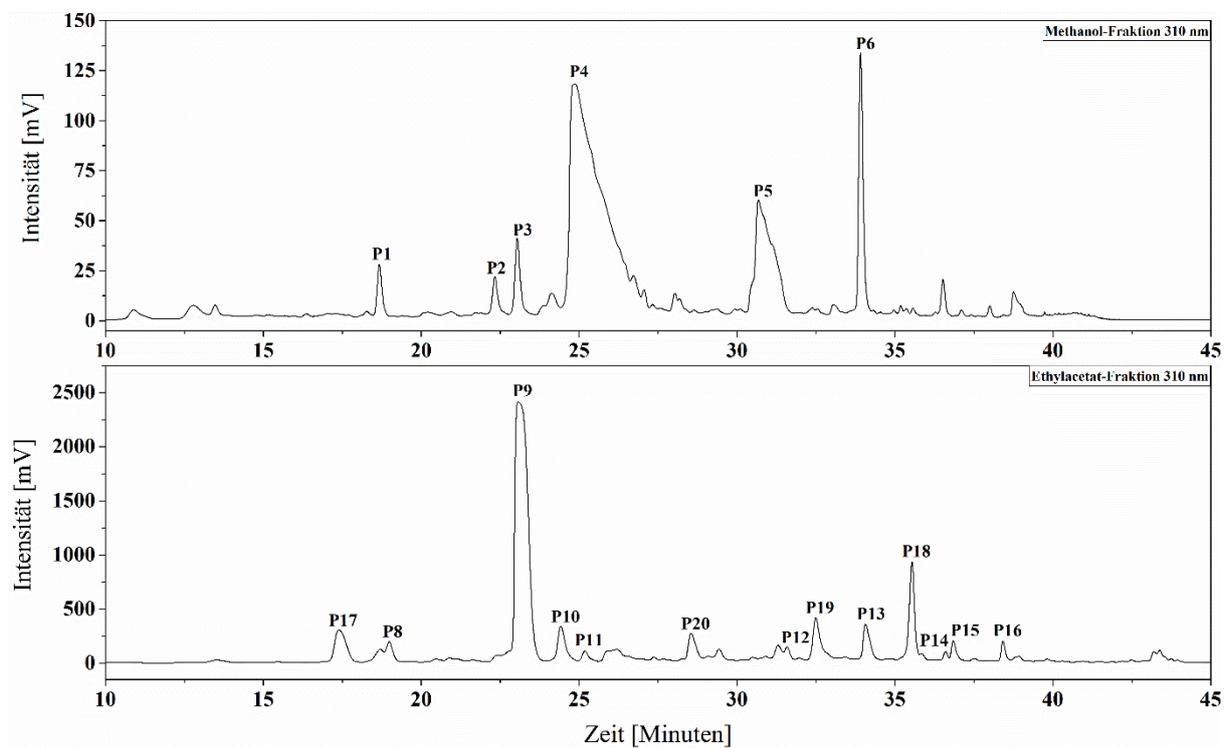


Abbildung 36: Chromatogramme der phenolischen Verbindungen aus Erdbeeren die nach der Fraktionierung auf einer präparativen C-18-Säule erhalten wurden. Methanol-Fraktion (oben) und Ethylacetat-Fraktion (unten). UV-Detektion bei 310 nm. Chromatographische Bedingungen siehe Tabelle 26, Seite 170

Tabelle 45: Charakterisierung der aus Erdbeeren mittels semipräparativer Chromatographie gewonnenen Verbindungen mittels LC-DAD-MS. (Chromatogramm siehe Abbildung 36, Seite 203)

Peak	t _R [min]	λ _{max} [nm]	[M+H] ⁺ [m/z]	Mögliche Verbindung
P1	18,7	330	343	Kaffeesäure-Hexosid?
P2	22,3	316	459	<i>p</i> -Cumarsäure-Hexosid-Pentosid
P3	23,1	314	327	<i>p</i> -Cumarsäure-Hexosid
P4	25,5	501	433	Pelargonidin-Hexosid
P5	31,1	502	519	Pelargonidin-Malonyl-Hexosid
P6	34,0	354	479	Quercetin-Hexuronsäure
P8	19,0	330	343	Kaffeesäure-Hexosid?
P9	23,3	320	327	<i>p</i> -Cumarsäure-Hexosid
P10	24,5	313	327	<i>p</i> -Cumarsäure-Hexosid
P11	25,2	332	357	Ferulasäure-Hexosid
P12	31,7	344		
P13	34,2	353	479	Quercetin-Hexuronsäure
P14	36,6	349	449	Kämpferol-Hexosid
P15	36,9	350	463	Kämpferol-Hexuronsäure
P16	38,5	350	535	Kämpferol-Malonyl-Hexosid
P17	17,4	288		
P18	35,4	285	311	Zimtsäure-Hexosid
P19	32,5	310		
P20	28,5	250	785	?

^a: nach (MALEC et al. 2014)

^b: Mithilfe eines kommerziell erhältlichen Standards identifiziert

9.3.3 Chemische Verschiebungen der isolierten Verbindungen aus Erdbeeren

Tabelle 46: Chemische Verschiebungen und Kopplungskonstanten von Verbindung **P4** (Pelargonidin-3-*O*- β -D-Glucopyranosid). Zuordnung der Atome siehe Abbildung 17, Seite 60. Lösungsmittel: CD₃OD + 0,1 % DCl.

	Atom	Multiplizität	H-Atome [ppm]	Kopplungs- konstante [Hz]	C-Atome [ppm]
Pelargonidin	2				165,06 ^a
	3				145,95 ^a
	4	s	9,106		138,26
	5				159,84 ^a
	6	d	6,689	1,82	103,86
	7				171,29 ^a
	8	d	6,956	1,66	95,73
	9				158,37 ^a
	10				114,13 ^a
	1'				121,33 ^a
	2'	d	8,633	9,06 Hz	136,2
	3'	d	7,078	9,06 Hz	118,3
	4'				166,93 ^a
	5'	d	7,078	9,06 Hz	118,3
	6'	d	8,633	9,06 Hz	136,2
Glucose	1''	d	5,316	7,6	104,35
	2''	t	3,673	7,7; 9,1	75,36
	3''		3,56	9,1	78,73
	4''		3,453		71,7
	5''	m	3,59		79,36
	6''A	dd	3,948	2,2; 12,1	63,0
	6''B	dd	3,728	6,2; 12,1	63,0

^a: Chemische Verschiebung wurde mithilfe des HMBC-Experiments bestimmt

Tabelle 47: Chemische Verschiebungen und Kopplungskonstanten von Verbindung **P5** (Pelargonidin-3-*O*-[6-*O*-Malonyl]- β -D-Glucopyranosid). Zuordnung der Atome siehe Abbildung 17 (Seite 60). Lösungsmittel: CD₃OD + 0,1 % DCl.

	Atom	Multiplizität	H-Atome [ppm]	Kopplungskonstante [Hz]	C-Atome [ppm]
Pelargonidin	2				165,58 ^a
	3				146,07 ^a
	4	s	9,031		138,26
	5				
	6	d	6,711	1,8	103,91
	7				
	8	d	6,964	1,8	95,88
	9				158,7 ^a
	10				113,8 ^a
	1'				121,61 ^a
	2'	d	8,629	9,1	136,34
	3'	d	7,077	9,1	118,36
	4'				167,39 ^a
	5'	d	7,077	9,1	118,36
	6'	d	8,629	9,1	136,34
Glucose	1''	d	5,296	7,8	104,32
	2''	t	3,674	9; 7,9	75,27
	3''		3,563	9	78,49
	4''		3,431	10,8	71,85
	5''	m	3,839	1,8; 9,5	76,53
	6''A	dd	4,306	7,5; 12	66,02
	6''B	dd	4,592	1,9; 12	66,02
Malonsäure	1'''				168,75 ^a
	2'''		3,433		42,18
	3'''				169,34 ^a

^a: Chemische Verschiebung wurde mithilfe des HMBC-Experiments bestimmt

Tabelle 48: Chemische Verschiebungen und Kopplungskonstanten von Verbindung **P9** (1-*O-trans-p*-Cumarsäure- β -D-Glucopyranosid) und Verbindung **P18** (1-*O-trans*-Zimtsäure- β -D-Glucopyranosid). Zuordnung der Atome siehe Abbildung 17 (Seite 60). Lösungsmittel: D₂O/Na-Phosphat-Puffer pH2 90/10.

	Atom	Multiplizität	H-Atome [ppm]	Kopplungs- konstante [Hz]	C-Atome [ppm]
<i>trans-p</i> - Cumarsäure	1				126,86 ^a
	2	d	7,611	8,8	131,45
	3	d	6,947	8,8	116,59
	4				159,2 ^a
	5	d	6,947	8,8	116,59
	6	d	7,611	8,8	131,45
	7	d	7,843	16,1	148,6
	8	d	6,469	16,1	113,65
	9				168,36 ^a
Glucose	1''	d	5,667	7,8	94,64
	2''	t	3,613	9,2	76,11
	3''	t	3,574		72,64
	4''	t	3,486		69,76
	5''	m	3,623		77,39
	6''A	dd	3,906	2,0; 12,5	60,98
	6''B	dd	3,749	5,5; 12,4	60,98
	Atom	Multiplizität	H-Atome [ppm]	Kopplungs- konstante [Hz]	C-Atome [ppm]
<i>trans</i> - Zimtsäure	1				134,45 ^a
	2	m	7,691		129,13
	3	m	7,491		131,78
	4	m	7,491		131,78
	5	m	7,491		131,78
	6	m	7,691		129,13
	7	d	7,901	16,1	148,66
	8	d	6,614	16,1	116,6
	9				168,03 ^a
Glucose	1''	d	5,603	7,8	94,74
	2''	t	3,627	8,8	76,07
	3''	t	3,587	7,8; 9,6	72,51
	4''	t	3,495	9,1	69,72
	5''	m	3,632		77,4
	6''A	dd	3,911	2,1; 12,5	61,06
	6''B	dd	3,753	5,3; 12,5	61,06

^a: Chemische Verschiebung wurde mithilfe des HMBC-Experiments bestimmt

9.3.4 Bestimmung der Konzentration der isolierten Verbindungen aus Erdbeeren

Tabelle 49: Bestimmung der Konzentration der isolierten Verbindungen aus Erdbeeren mittels ¹H-NMR-Spektroskopie (Bedingungen siehe 8.3, Seite 171)

	Pelargonidin-3-O-Glucosid	Pelargonidin-3-O-[6-O-Malonyl]-Glucosid	trans-p-Cumarsäure-Hexosid	trans-Zimtsäure-Hexosid
Signal	H4: 9,106 ppm	H4: 9,031 ppm	H8: 6,404 ppm	H8: 6,614 ppm
Mittelwert	0,3306	0,0789	0,1488	0,0564
Integral (n=7)				
Sx%	1,3 %	2,7 %	7,5 %	5,4 %
Konzentration	1,492 mg/ml	0,427 mg/ml	0,507 mg/ml	0,183 mg/ml

Sx%: prozentuale Standardabweichung

9.4 Kalibrierungen

9.4.1 Ascorbinsäure

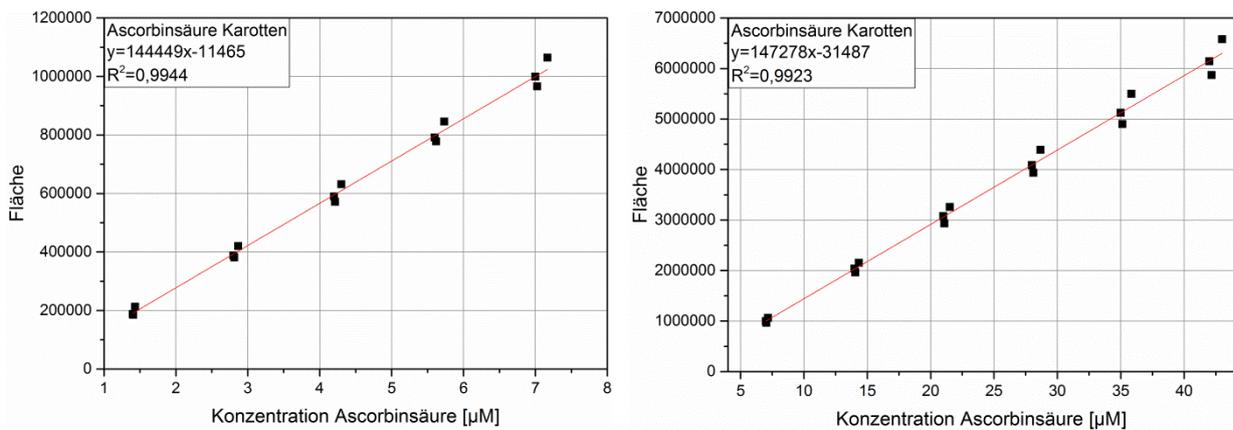


Abbildung 37: Externe Kalibrierung zur Analyse von Ascorbinsäure in Karotten mittels HPLC-FLD im Bereich von 1,5 – 7 µM (links) und 7 – 42 µM (rechts) für die Kombinationsverfahren, Scale-Up und Blanchierversuche

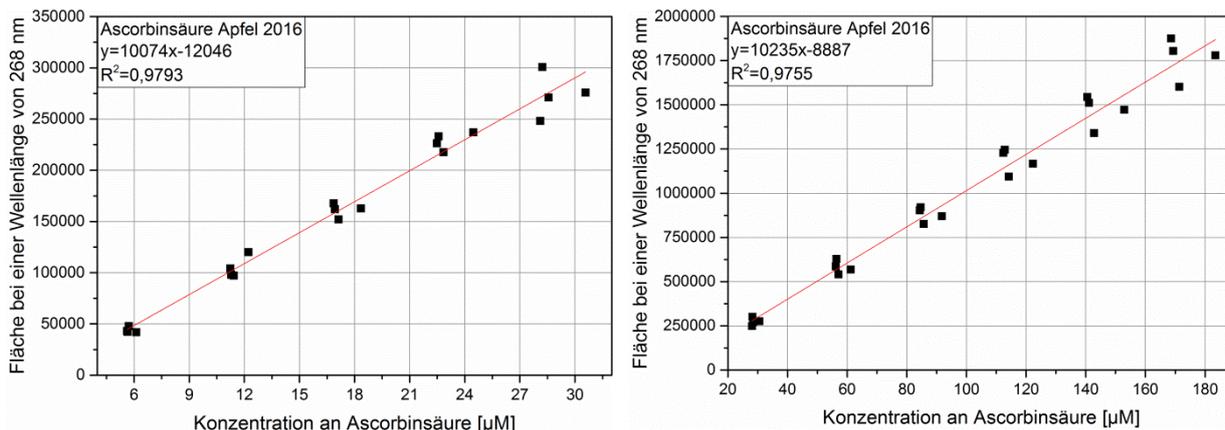


Abbildung 38: Externe Kalibrierung zur Analyse von Ascorbinsäure in rotfleischigen Äpfeln mit der HILIC-Methode im Bereich von 6 – 28 µM (links) und 28 – 180 µM (rechts) für die Proben des Jahres 2016 (Heißlufttrocknung)

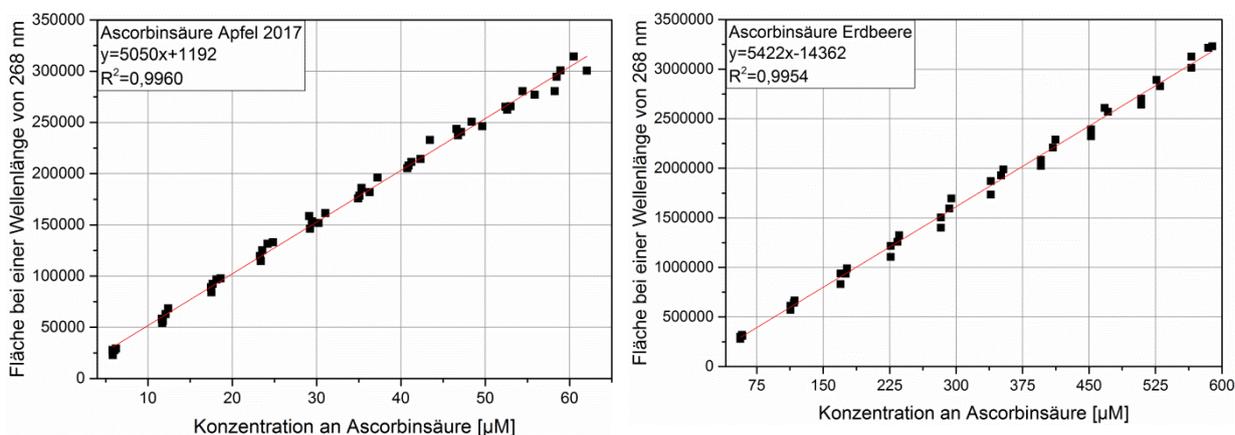


Abbildung 39: Links: Externe Kalibrierung zur Analyse von Ascorbinsäure in rotfleischigen Äpfeln mit der HILIC-Methode im Bereich von 6 – 60 µM für die Proben des Jahres 2017 (Gefriertrocknung, Mikrowellenvakuumtrocknung und Kombinationsverfahren). Rechts: Externe Kalibrierung zur Analyse von Ascorbinsäure mit der HILIC-Methode für alle Erdbeerproben im Bereich von 56 – 560 µM

9.4.2 3-Desoxyglucoson

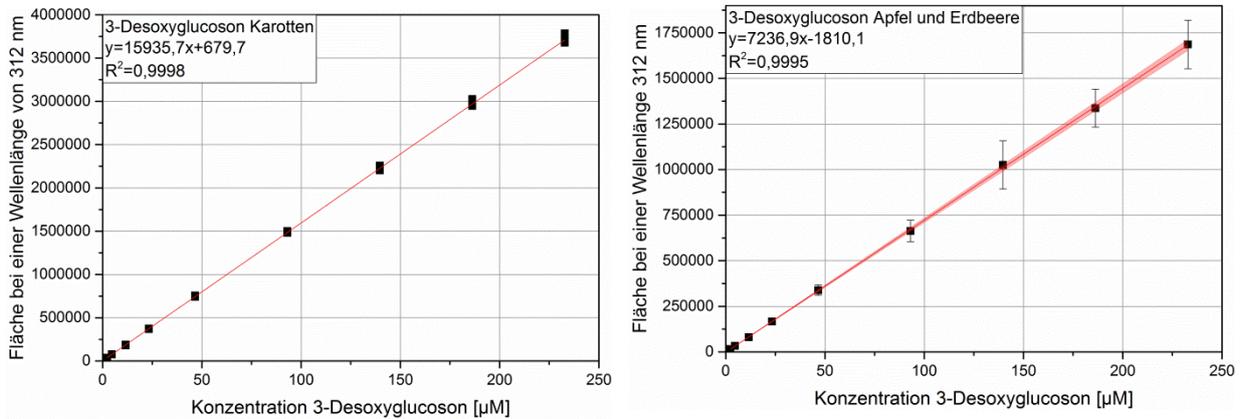


Abbildung 40: Links: Externe gewichtete Kalibrierung zur Analyse von 3-Desoxyglucoson für alle Karotten-Proben im Bereich von 2,3 – 232 µM. Rechts Externe gewichtete Kalibrierung zur Analyse von 3-Desoxyglucoson für alle Apfel und Erdbeere-Proben im Bereich von 2,3 – 232 µM

9.4.3 Carotinoide

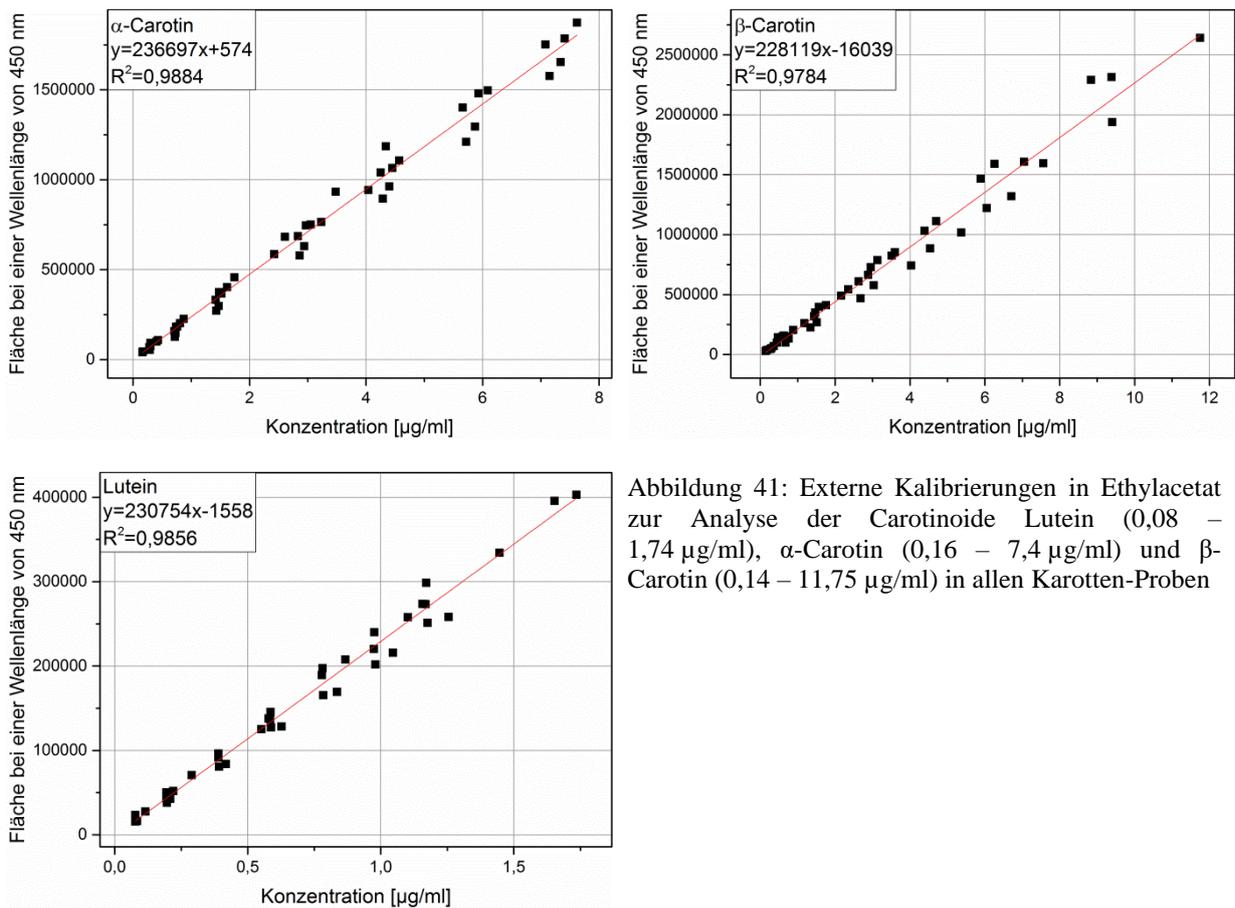


Abbildung 41: Externe Kalibrierungen in Ethylacetat zur Analyse der Carotinoide Lutein (0,08 – 1,74 µg/ml), α -Carotin (0,16 – 7,4 µg/ml) und β -Carotin (0,14 – 11,75 µg/ml) in allen Karotten-Proben

9.4.4 Polyphenole

Tabelle 50: Kalibrierdaten der Matrixkalibrierung zur Analyse von polyphenolischen Verbindungen in rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren. Aufgrund von Varianzeninhomogenität wurde für alle Verbindungen eine gewichtete Kalibrierung durchgeführt (n=4).

Rotfleischiger Apfel				
Verbindung	Geradengleichung	R ²	Kalibrierbereich	Wellenlänge
(+)-Catechin	y=5988x-10666	0,9991	5 – 90 µg/Ansatz	280 nm
Chlorogensäure	y=31360x-48752	0,9989	5 – 90 µg/Ansatz	280 nm
(-)-Epicatechin	y=6677x-10979	0,9986	5 – 90 µg/Ansatz	320 nm
Cyanidin-3- <i>O</i> -Galactosid	y=22794x-46120	0,9951	5 – 90 µg/Ansatz	510 nm
Quercetin-3- <i>O</i> -Galactosid	y=25090x-48121	0,9993	5 – 90 µg/Ansatz	350 nm
Quercetin-3- <i>O</i> -Arabinosid	y=25601x-51562	0,9976	5 – 90 µg/Ansatz	350 nm
Phlorizin	y=21850x-28391	0,9991	5 – 90 µg/Ansatz	280 nm
Phloretin	y=38704x-48837	0,9975	5 – 90 µg/Ansatz	280 nm
Erdbeere				
Verbindung	Geradengleichung	R ²	Kalibrierbereich	Wellenlänge
(+)-Catechin	y=6184x-127	0,9991	2 – 60 µg/Ansatz	280 nm
<i>trans-p</i> -Cumarsäure-Glucosid	y=105903x-52744	0,9991	5 – 66 µg/Ansatz	310 nm
<i>trans</i> -Zimtsäure-Glucosid	y=51584x-9599	0,9994	2 – 24 µg/Ansatz	280 nm
Pelargonidin-3- <i>O</i> -Glucosid	y=43945x-62139	0,9994	15 – 239 µg/Ansatz	500 nm
Pelargonidin-3- <i>O</i> -Malonylglucosid	y=39549x-14944	0,9992	4 – 68 µg/Ansatz	500 nm
Quercetin-3- <i>O</i> -Glucuronid	y=23767x-8572	0,9955	2 – 60 µg/Ansatz	350 nm
Quercetin-3- <i>O</i> -Glucosid	y=26678x-10972	0,9960	2 – 60 µg/Ansatz	350 nm
Kämpferol-3- <i>O</i> -Glucuronid	y=21973x-3880	0,9980	2 – 60 µg/Ansatz	350 nm
Kämpferol-3- <i>O</i> -Glucosid	y=21305x-8506	0,9971	2 – 60 µg/Ansatz	350 nm

y: Peakfläche bei der jeweiligen Wellenlänge

x: Menge des Analyten in µg

R²: Bestimmtheitsmaß

9.5 Einfluss der Temperatur auf die chromatographische Trennung der phenolischen Verbindungen in Erdbeeren

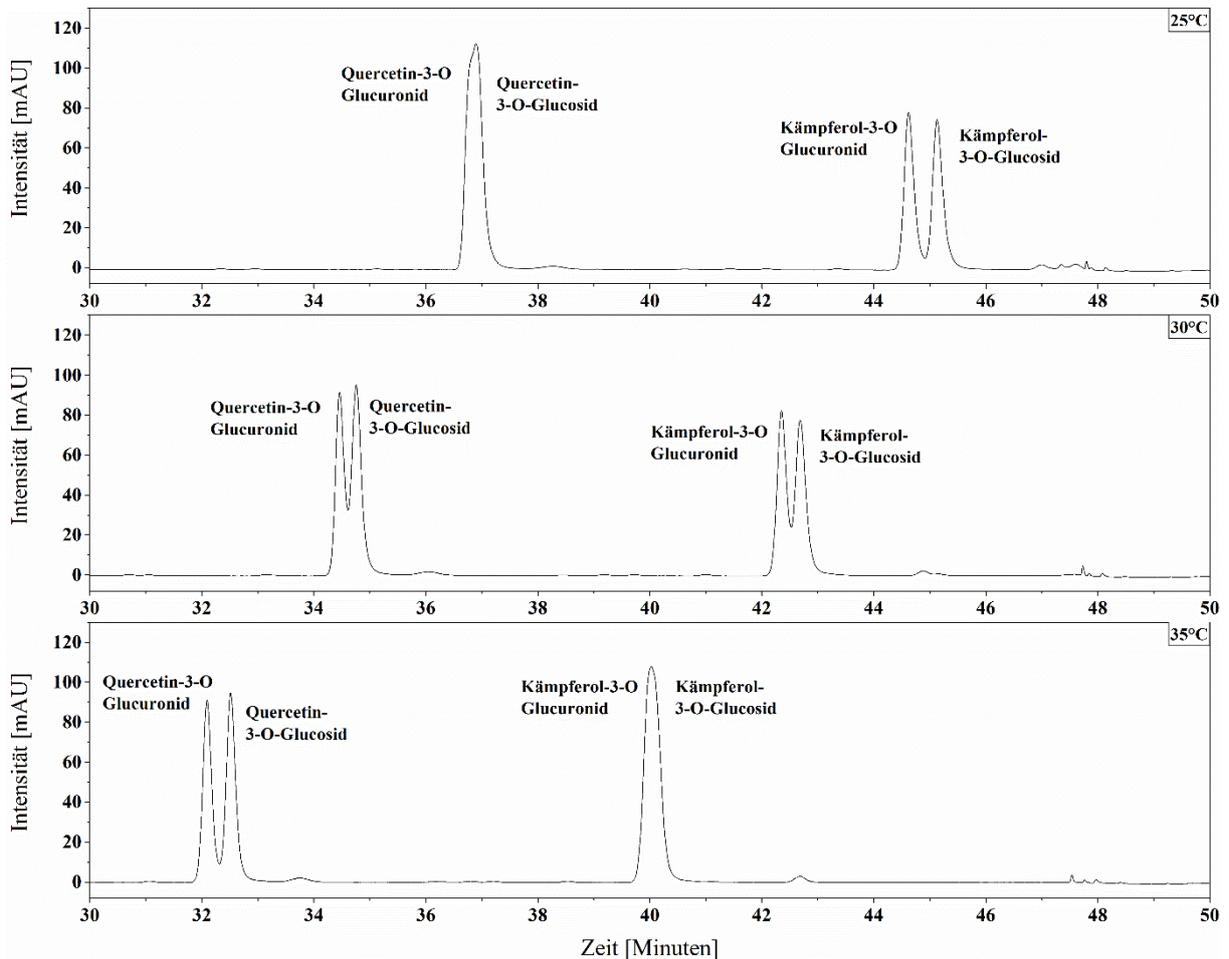


Abbildung 42: Chromatogramme der Trennung von Quercetin- und Kämpferol- Glycosiden bei verschiedenen Temperaturen (Oben: 25 °C, Mitte: 30 °C, Unten: 35 °C) mit dem gleichen Gradient (Chromatographische Bedingungen siehe Tabelle 36, Seite 183). UV-Detektion bei 350 nm

9.6 Inhaltsstoffgehalte in frischen Vergleichsproben von rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren

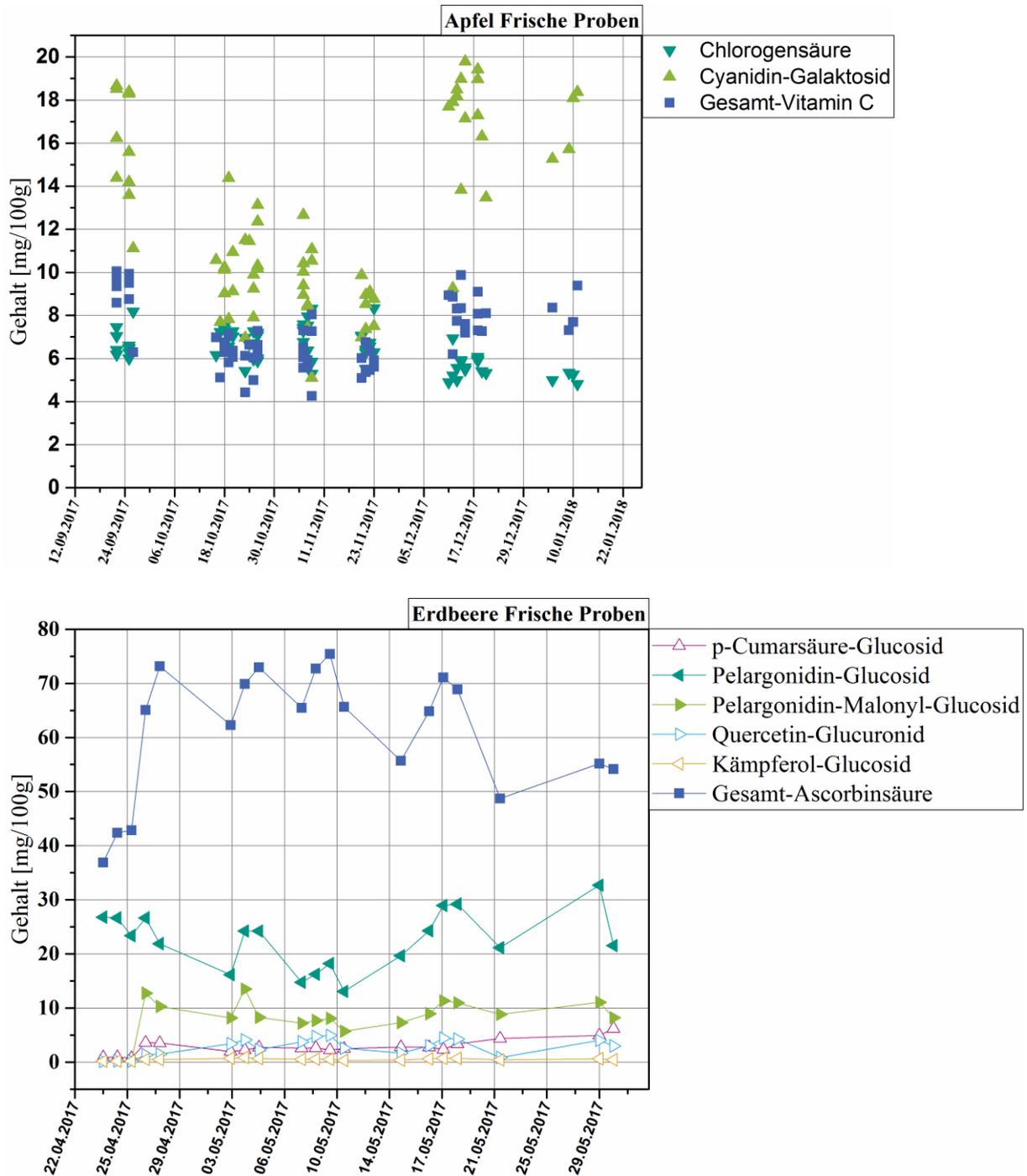


Abbildung 43: Gehalte der untersuchten Verbindungen in den frischen Vergleichsproben von rotfleischigen Äpfeln (oben) und Erdbeeren (unten) in mg/100g

9.7 Trocknungsparameter

9.7.1 Trocknungskurven Einzelverfahren

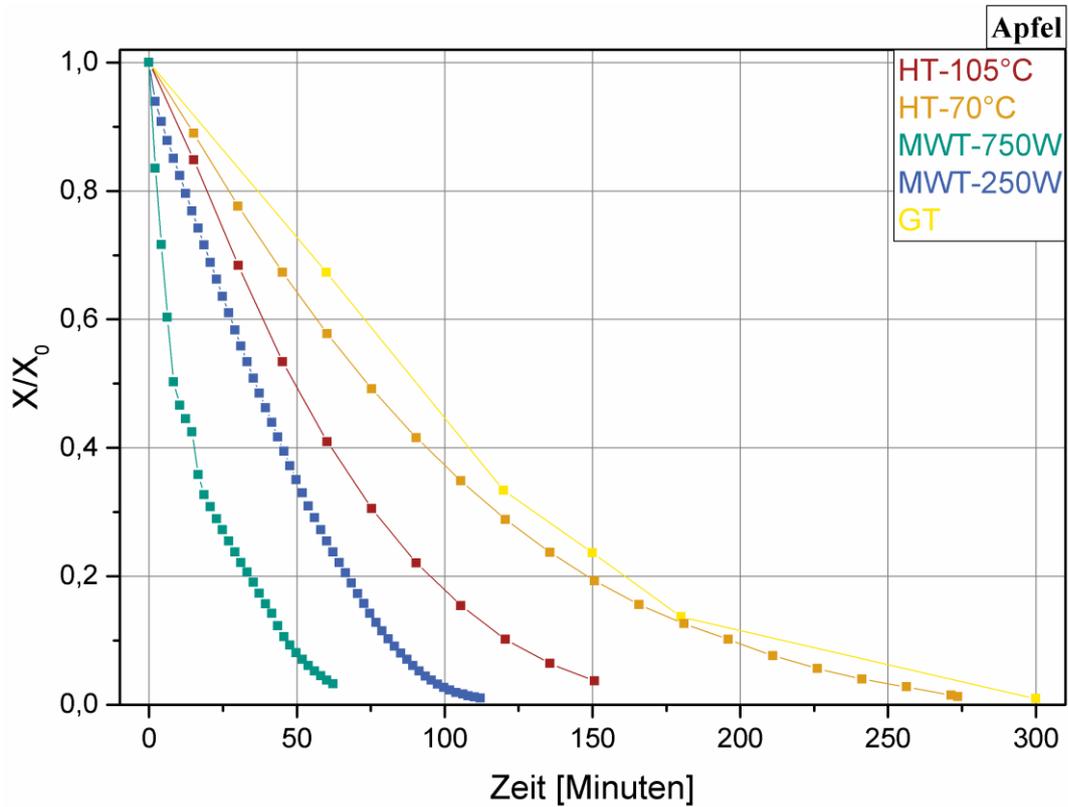
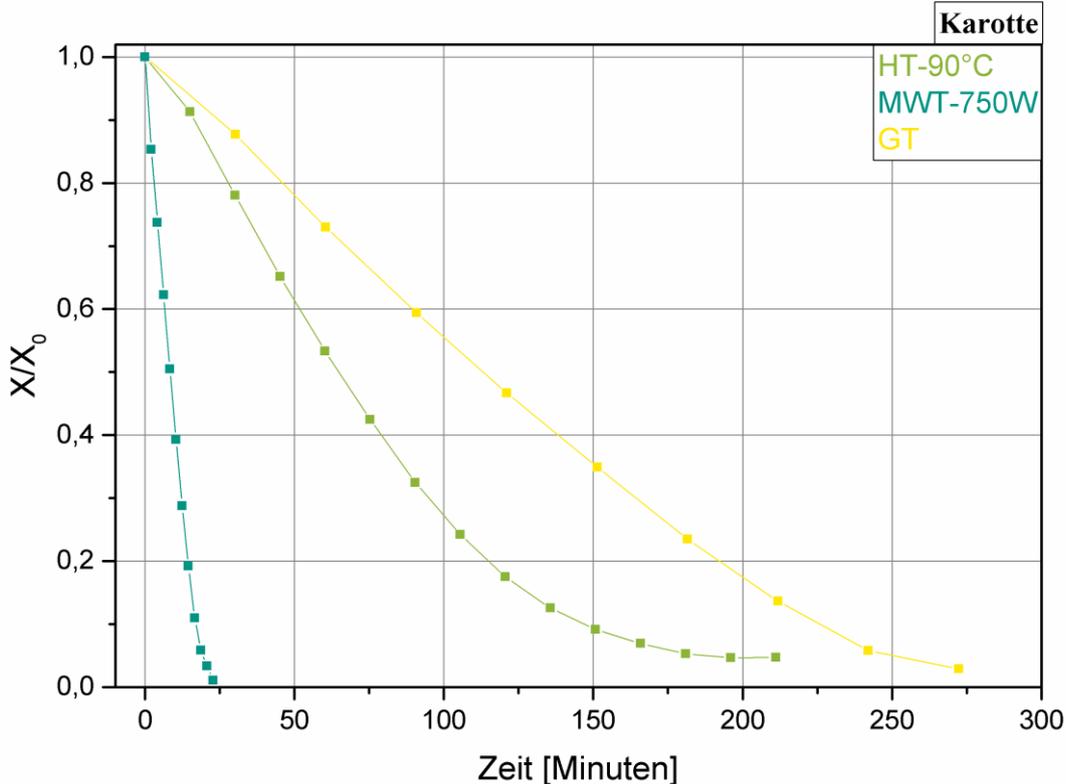
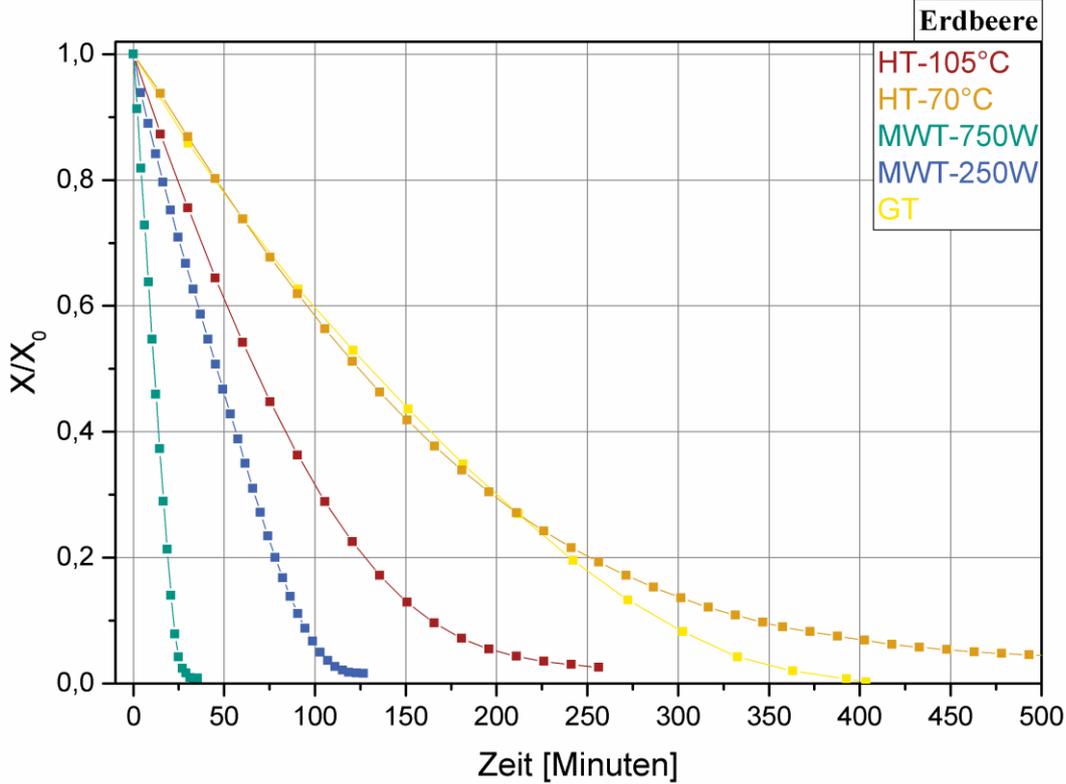


Abbildung 44: Trocknungskurven der Trocknung von rotfleischigen Äpfeln, Erdbeeren und Karotten mit verschiedenen Verfahren. Die relative Beladung X/X_0 (siehe Formel (2), Seite 32) ist über der Trocknungsdauer in Minuten aufgetragen. GT: Gefrier Trocknung. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung



Fortsetzung von Abbildung 44

9.7.2 Oberflächentemperaturen während der Einzel Trocknungsverfahren

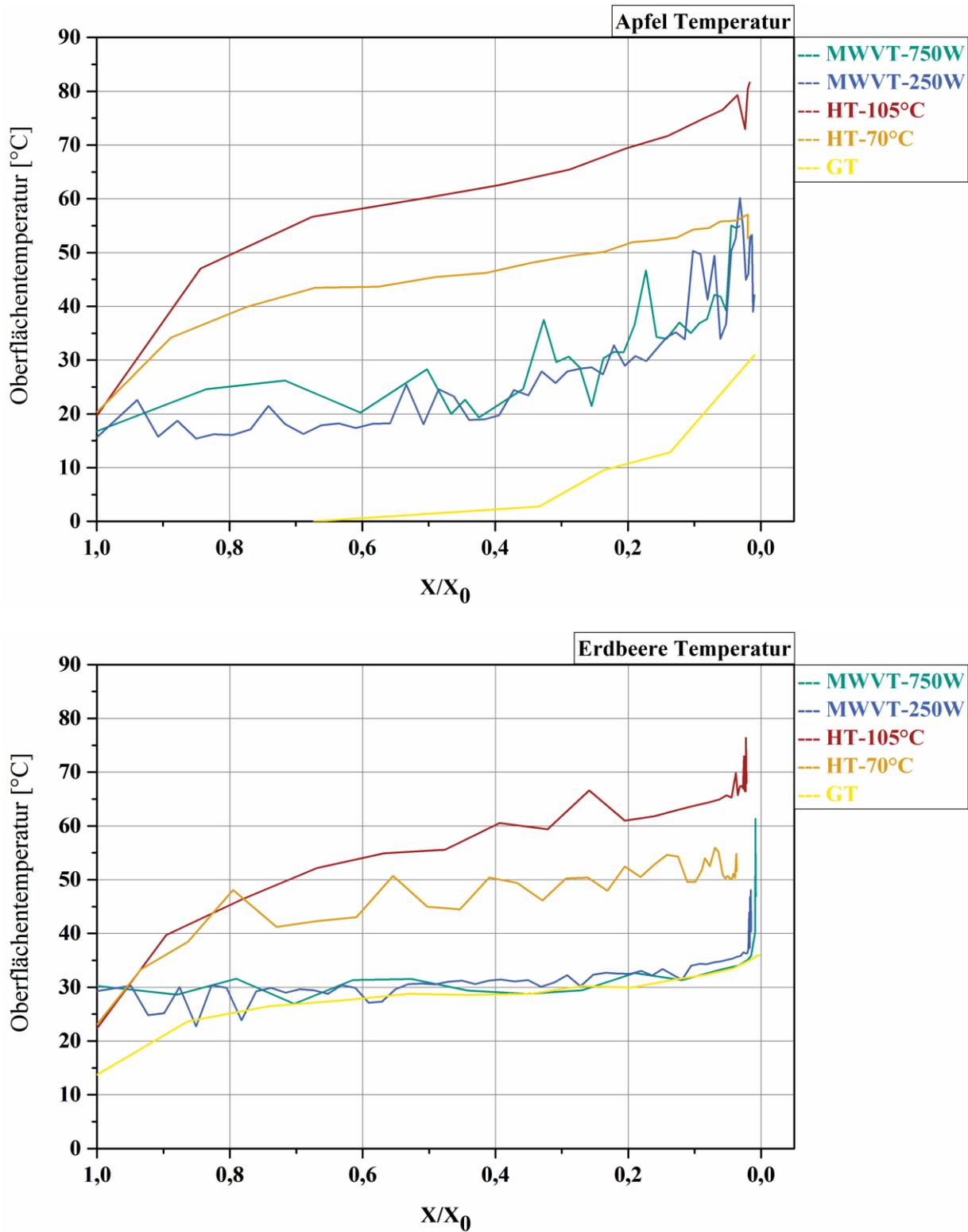
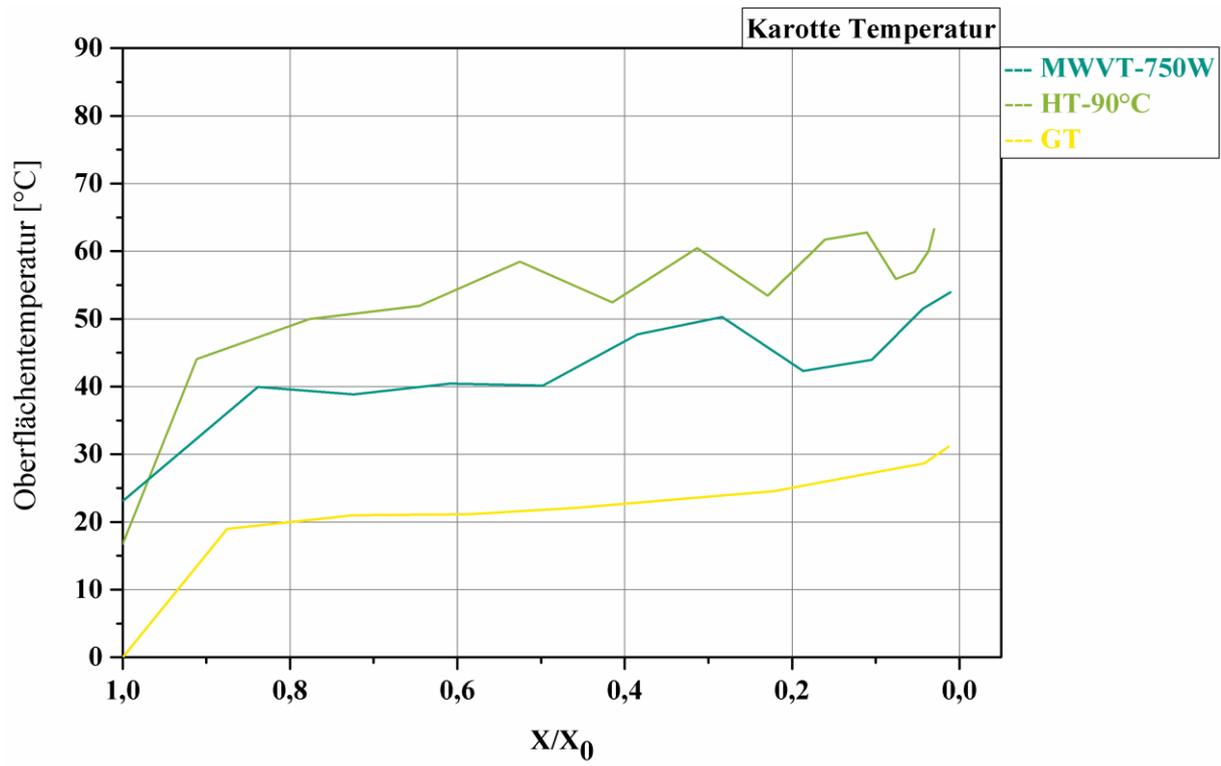


Abbildung 45: Oberflächentemperatur im Verlauf von verschiedenen Trocknungsverfahren von rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren. Die Temperatur ist über der relativen Restfeuchte X/X_0 (siehe Formel (2), Seite 32) aufgetragen. GT: Gefriertrocknung. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung.



Fortsetzung von Abbildung 45

9.7.3 Temperaturverlauf Kombinationsverfahren

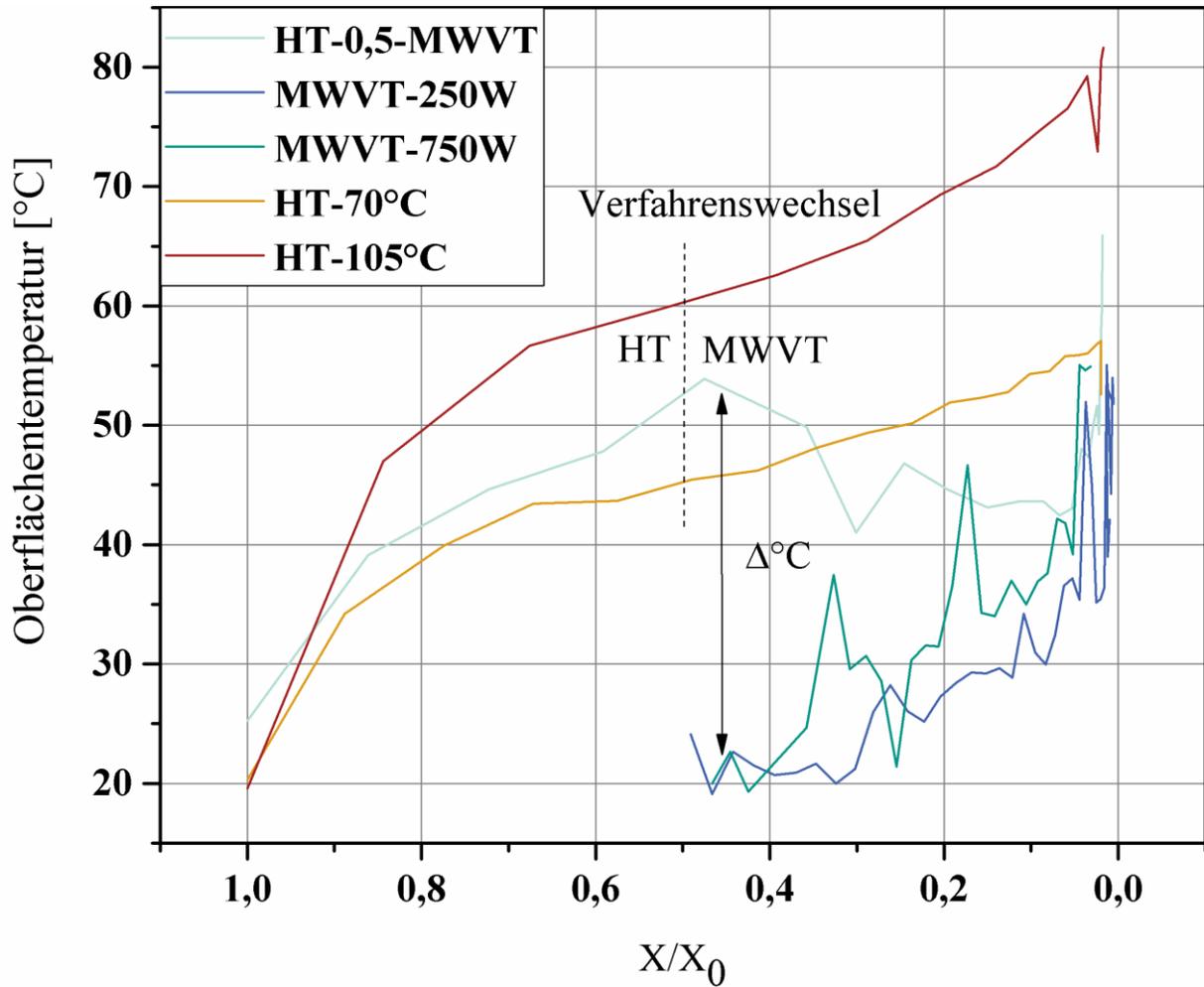


Abbildung 46: Oberflächentemperatur der Trocknung von rotfleischigen Apfelstücken mit dem Kombinationsverfahren HT-0,5-MWT. Zur Vergleichbarkeit sind die Oberflächentemperaturen der Heißlufttrocknung (70 °C und 105 °C) sowie Mikrowellenvakuumtrocknung (250 und 750 W) ab dem Wechselzeitpunkt bei einer relativen Restfeuchte von 0,5 dargestellt. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung. X/X_0 : relative Restfeuchte

9.7.4 Trocknungsdauer Kombinationsverfahren

Tabelle 51: Dauer der Kombinationsverfahren zur Trocknung von Karotten, rotfleischigen Äpfeln und Erdbeeren in Minuten. Die Zeitersparnis ($t/t_{\text{gesamt}} * 100 - 100$) ist relativ zum ersten Verfahren wenn es als Einzelverfahren angewendet wird, angegeben (Einzelverfahren siehe Tabelle 13, Seite 77).

Verfahren	Karotte			
	Gesamt [t_{gesamt}]	Verfahren 1 [t_1]	Verfahren 2 [t_2]	Zeitersparnis [%]
GT ^a	307 ± 49			
HT-90 °C ^a	212 ± 1			
MWVT-750W ^a	22 ± 1			
GT-0,5-HT ^a	194 ± 3	100 ± 0	94 ± 3	- 37 %
GT-0,2-MWVT ^a	178 ± 11	171 ± 15	8 ± 4	-42 %
GT-0,3-MWVT ^a	141 ± 13	131 ± 13	11 ± 1	-54 %
GT-0,5-MWVT ^a	117 ± 9	101 ± 13	16 ± 4	-62 %
GT-0,7-MWVT ^a	72 ± 4	61 ± 1	12 ± 4	-77 %
HT-0,3-GT ^a	273 ± 23	76 ± 2	197 ± 21	+29 %
HT-0,5-GT ^b	261 ± 35	49 ± 6	212 ± 30	+23 %
HT-0,7-GT ^a	276 ± 6	30 ± 0	246 ± 6	+30 %
HT-0,1-MWVT ^a	137 ± 1	131 ± 3	6 ± 1	-35 %
HT-0,2-MWVT ^a	123 ± 1	116 ± 2	8 ± 1	-42 %
HT-0,3-MWVT ^b	104 ± 3	90 ± 2	14 ± 1	-51 %
HT-0,5-MWVT ^a	78 ± 1	62 ± 1	16 ± 1	-63 %
MWVT-0,5-GT ^a	238 ± 16	7 ± 1	232 ± 15	+982 %
Verfahren	Apfel			
	Gesamt [t_{gesamt}]	Verfahren 1 [t_1]	Verfahren 2 [t_2]	Zeitersparnis [%]
GT-0,5-HT ^b	214 ± 21	90 ± 0	124 ± 21	-29 %
GT-0,7-HT ^a	216 ± 0	50 ± 0	166 ± 0	-28 %
GT-0,9-HT ^b	202 ± 4	18 ± 2	184 ± 5	-33 %
GT-0,5-MWT ^b	121 ± 0	91 ± 1	30 ± 1	-60 %
GT-0,7-MWT ^b	97 ± 25	62 ± 25	36 ± 1	-68 %
GT-0,9-MWT ^b	57 ± 5	20 ± 5	37 ± 1	-81 %
HT-0,5-GT ^b	305 ± 9	65 ± 9	240 ± 0	+86 %
HT-0,5-MWT ^b	100 ± 10	65 ± 9	35 ± 2	-39 %
MWT-0,5-GT ^b	261 ± 2	19 ± 3	242 ± 2	+327 %
Verfahren	Erdbeere			
	Gesamt [t_{gesamt}]	Verfahren 1 [t_1]	Verfahren 2 [t_2]	Zeitersparnis [%]
GT-0,2-MWVT ^a	278 ± 4	241 ± 0	37 ± 4	-39 %
GT-0,3-MWVT ^a	228 ± 3	182 ± 1	47 ± 4	-54 %
GT-0,5-MWVT ^a	183 ± 1	121 ± 0	62 ± 1	-70 %

^a: n=2. ^b: n=3

GT: Gefriertrocknung. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung

9.8 Farbwerte der Einzelverfahren in Erdbeeren und Äpfeln

Tabelle 52: Farbwerte im RGB-Farbraum von mit verschiedenen Verfahren getrockneten rotfleischigen Apfelstücken im Verlauf der Trocknungen. Zur Bestimmung der Farbwerte wurden jeweils zehn Apfelstücke herangezogen. Die Abweichungen der Wiederholversuche sind als \pm Standardabweichung angegeben. Die genaue Durchführung der Farbmessungen sind aus Siebert et al. (2019a) ersichtlich.

HT-70 °C	Relative Restfeuchte	R	G	B
	1	142,6 \pm 13,1	67,9 \pm 11,1	60,6 \pm 10,2
	0,6	118,1 \pm 4,5	53,5 \pm 3,3	36,0 \pm 1,3
	0,4	124,5 \pm 13,5	60,8 \pm 11,8	42,8 \pm 9,0
	0,2	120,5 \pm 11,3	54,9 \pm 8,2	40,4 \pm 11,9
	0,1	111,9 \pm 15,1	51,3 \pm 8,3	37,2 \pm 12,0
	0,01	113,8 \pm 5,7	60,3 \pm 7,1	44,2 \pm 10,3
HT-105 °C	Relative Restfeuchte	R	G	B
	1	148,5 \pm 5,2	69,4 \pm 10,6	64,8 \pm 8,1
	0,6	128,4 \pm 8,6	61,5 \pm 0,6	44,5 \pm 0,9
	0,4	128,8 \pm 6,7	59,7 \pm 2,6	45,9 \pm 4,3
	0,2	117,8 \pm 7,3	53,2 \pm 2,4	39,7 \pm 5,9
	0,1	111,8 \pm 4,8	55,5 \pm 0,8	43,3 \pm 0,9
	0,01	123,5 \pm 6,1	67,0 \pm 5,9	54,2 \pm 3,2
MWVT-250 W	Relative Restfeuchte	R	G	B
	1	164,1 \pm 8,0	62,8 \pm 7,0	68,1 \pm 5,3
	0,6	153,7 \pm 1,8	50,7 \pm 1,4	56,9 \pm 0,4
	0,4	137,1 \pm 15,2	40,2 \pm 4,9	48,9 \pm 5,8
	0,2	132,2 \pm 1,9	38,0 \pm 0,6	49,1 \pm 1,1
	0,1	133,9 \pm 0,5	39,8 \pm 2,7	50,4 \pm 3,3
	0,01	136,1 \pm 9,0	46,9 \pm 5,4	64,0 \pm 7,5
MWVT-750 W	Relative Restfeuchte	R	G	B
	1	164,1 \pm 8,0	62,8 \pm 7,0	68,1 \pm 5,3
	0,6	139,1 \pm 5,9	42,8 \pm 4,2	52,2 \pm 4,0
	0,4	150,9 \pm 11,4	50,1 \pm 11,3	60,1 \pm 8,8
	0,2	138,8 \pm 5,0	47,0 \pm 4,2	57,1 \pm 3,7
	0,1	145,0 \pm 3,6	50,7 \pm 1,3	61,8 \pm 4,0
	0,01	138,8 \pm 10,6	56,2 \pm 11,5	63,9 \pm 8,8
GT	Relative Restfeuchte	R	G	B
	1	164,1 \pm 8,0	62,8 \pm 7,0	68,1 \pm 5,3
	0,6	131,4 \pm 10,9	41,9 \pm 10,8	50,8 \pm 9,7
	0,4	136,2 \pm 5,5	52,0 \pm 9,2	63,6 \pm 10,9
	0,2	142,1 \pm 7,8	59,1 \pm 9,9	72,4 \pm 9,6
	0,1	137,4 \pm 0,3	55,3 \pm 1,3	69,3 \pm 0,6
	0,01	152,0 \pm 1,2	74,0 \pm 3,6	87,4 \pm 3,9

Tabelle 53: Farbwerte im RGB-Farbraum von mit verschiedenen Verfahren getrockneten Erdbeerscheiben im Verlauf der jeweiligen Trocknung. Zur Bestimmung der Farbwerte wurden jeweils zehn Erdbeerstücke herangezogen. Die Abweichungen der Wiederholversuche sind als \pm Standardabweichung angegeben. Die Durchführung der Farbmessungen sind aus Siebert et al. (2019a) ersichtlich.

HT-70 °C	Relative Restfeuchte	R	G	B
	1	224,4 \pm 9,5	89,1 \pm 13,1	71,2 \pm 8,2
	0,4	169,7 \pm 23,6	58,0 \pm 13,9	58,8 \pm 11,4
	0,3	173,4 \pm 17,1	57,8 \pm 10,3	58,3 \pm 8,1
	0,2	158,9 \pm 14,0	54,0 \pm 6,5	55,2 \pm 6,1
	0,1	163,3 \pm 20,7	64,1 \pm 13,4	62,9 \pm 12,0
	0,01	151,4 \pm 15,0	64,4 \pm 7,5	61,6 \pm 5,7
HT-105 °C	Relative Restfeuchte	R	G	B
	1	224,4 \pm 9,5	89,1 \pm 13,1	71,2 \pm 8,2
	0,4	178,7 \pm 24,3	59,7 \pm 11,6	58,9 \pm 8,0
	0,3	158,5 \pm 19,4	54,4 \pm 14,7	56,5 \pm 12,3
	0,2	171,0 \pm 19,6	58,1 \pm 9,3	58,4 \pm 7,5
	0,1	148,6 \pm 13,1	64,5 \pm 7,1	60,9 \pm 6,0
	0,01	144,1 \pm 16,2	70,9 \pm 10,8	59,2 \pm 7,9
MWVT-250 W	Relative Restfeuchte	R	G	B
	1	224,4 \pm 9,5	89,1 \pm 13,1	71,2 \pm 8,2
	0,4	178,7 \pm 19,8	57,3 \pm 11,6	57,4 \pm 9,1
	0,3	165,3 \pm 11,7	50,7 \pm 4,3	52,3 \pm 4,1
	0,2	161,2 \pm 15,1	48,5 \pm 6,0	50,1 \pm 5,2
	0,1	176,8 \pm 12,7	54,3 \pm 5,3	55,3 \pm 4,6
	0,01	166,8 \pm 21,7	51,6 \pm 8,2	53,3 \pm 7,8
MWVT-750 W	Relative Restfeuchte	R	G	B
	1	224,4 \pm 9,5	89,1 \pm 13,1	71,2 \pm 8,2
	0,4	182,7 \pm 6,7	55,4 \pm 4,2	54,4 \pm 3,2
	0,3	158,9 \pm 13,6	48,0 \pm 6,3	48,7 \pm 5,1
	0,2	166,8 \pm 17,2	50,6 \pm 6,3	50,7 \pm 5,6
	0,1	172,0 \pm 15,9	56,0 \pm 9,7	55,0 \pm 8,7
	0,01	161,7 \pm 16,4	52,3 \pm 5,4	52,6 \pm 5,9
GT	Relative Restfeuchte	R	G	B
	1	224,4 \pm 9,5	89,1 \pm 13,1	71,2 \pm 8,2
	0,4	165,5 \pm 17,1	56,5 \pm 6,7	59,7 \pm 6,4
	0,3	155,6 \pm 33,6	56,0 \pm 12,3	57,5 \pm 11,8
	0,2	151,0 \pm 15,8	52,3 \pm 7,3	55,5 \pm 7,1
	0,1	164,5 \pm 13,4	57,1 \pm 6,3	60,0 \pm 6,2
	0,01	185,7 \pm 19,0	72,6 \pm 12,4	75,5 \pm 12,1

GT: Gefriertrocknung. HT: Heißlufttrocknung; MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung

9.9 Ballaststoffgehalte in mit verschiedenen Verfahren getrockneten rotfleischigen Äpfeln

Tabelle 54: Ballaststoffgehalte von frischen und mit verschiedenen Verfahren getrockneten rotfleischigen Äpfeln (n=2). Alle Ergebnisse sind als g/100 g \pm Range/2 angegeben.

Rotfleischiger Apfel				
Getrocknete Proben	UBS [g/100 g]	LBS [g/100 g]	NLBS [g/100 g]	Gesamt-BS [g/100 g]
HT-70 °C	1,49 \pm 0,02	0,69 \pm 0,03	Spur	2,18 \pm 0,04
HT-105 °C	1,46 \pm 0,03	0,79 \pm 0,10	Spur	2,26 \pm 0,13
MWVT 750W	1,49 \pm 0,08	1,01 \pm 0,02	Spur	2,49 \pm 0,10
MWVT 250W	1,34 \pm 0,05	0,72 \pm 0,13	Spur	2,06 \pm 0,18
GT-0,9-MWVT	1,71 \pm 0,08	1,00 \pm 0,18	Spur	2,71 \pm 0,26

FrISCHE Proben	UBS [g/100 g]	LBS [g/100 g]	NLBS [g/100 g]	Gesamt-BS [g/100 g]
HT-70 °C	1,41 \pm 0,06	0,81 \pm 0,06	Spur	2,23 \pm 0,11
HT-105 °C	1,44 \pm 0,31	0,85 \pm 0,18	Spur	2,30 \pm 0,48
MWVT 750W	1,11 \pm 0,11	0,76 \pm 0,14	Spur	1,87 \pm 0,24
MWVT 250W	1,16 \pm 0,21	0,84 \pm 0,15	Spur	2,00 \pm 0,36
GT-0,9-MWVT	1,23 \pm 0,06	0,70 \pm 0,09	Spur	1,93 \pm 0,15

GT: Gefriertrocknung. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung. UBS: Unlösliche Ballaststoffe. LBS: Lösliche Ballaststoffe. NLBS: Niedermolekulare lösliche Ballaststoffe. BS: Ballaststoffe

9.10 Strukturen der untersuchten Arabinan-Oligosaccharide

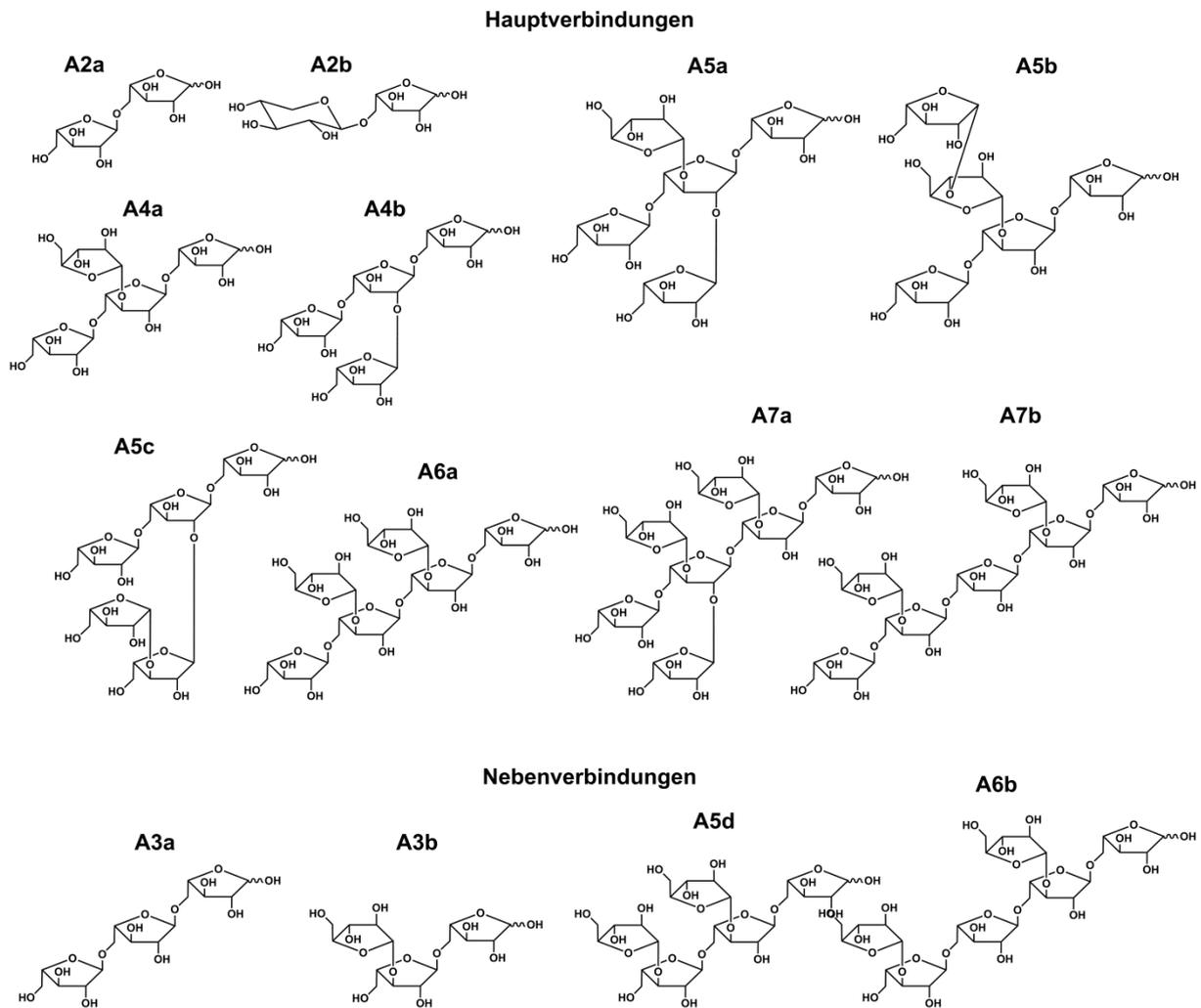


Abbildung 47: Strukturen der untersuchten Arabinan-Oligosaccharide in frischen und mit verschiedenen Verfahren getrockneten rotfleischigen Äpfeln (Durchführung siehe Kapitel 8.6.5, Seite 192)

9.11 Bestimmung des Veresterungsgrades Galacturonsäure in Nicht-Stärke-Polysacchariden von mit verschiedenen Verfahren getrockneten rotfleischigen Äpfeln

Tabelle 55: Daten zur Bestimmung des Veresterungsgrades von Galacturonsäure mit Methanol und Essigsäure in mit verschiedenen Verfahren getrockneten Apfelstücken und den entsprechenden frischen Proben. Der Veresterungsgrad berechnet sich durch Division des Methanol-Gehaltes mit dem Galacturonsäuregehalt. Die Abweichungen sind als \pm Standardabweichung angegeben (n=3) und wurden mithilfe des Gaußschen Fehlerfortpflanzungsgesetz berechnet (siehe Formel (7)).

Getrocknete Proben	Galacturonsäure [$\mu\text{mol}/\text{mg}$]	Methanol [$\mu\text{mol}/\text{mg}$]	Essigsäure [$\mu\text{mol}/\text{mg}$]	Veresterungs-grad Methanol [%]	Veresterungs-grad Essigsäure [%]
HT-70 °C	1,138 \pm 0,035	1,011 \pm 0,040	0,600 \pm 0,024	88,9 \pm 4,5 %	52,7 \pm 2,7 %
HT-105 °C	1,038 \pm 0,074	0,974 \pm 0,037	0,578 \pm 0,018	93,9 \pm 7,6 %	55,7 \pm 4,4 %
MWVT 750W	1,096 \pm 0,052	0,979 \pm 0,009	0,598 \pm 0,013	89,3 \pm 4,3 %	54,5 \pm 2,8 %
MWVT 250W	1,127 \pm 0,071	1,038 \pm 0,020	0,629 \pm 0,008	92,1 \pm 6,0 %	55,8 \pm 3,6 %
GT-0,9-MWVT	1,049 \pm 0,053	0,907 \pm 0,015	0,592 \pm 0,592	86,5 \pm 4,6 %	56,4 \pm 4,0 %

FrISCHE Proben	Galacturonsäure [$\mu\text{mol}/\text{mg}$]	Methanol [$\mu\text{mol}/\text{mg}$]	Essigsäure [$\mu\text{mol}/\text{mg}$]	Veresterungs-grad Methanol [%]	Veresterungs-grad Essigsäure [%]
HT-70 °C	0,990 \pm 0,018	0,890 \pm 0,006	0,576 \pm 0,005	89,9 \pm 1,8 %	58,1 \pm 1,2 %
HT-105 °C	0,914 \pm 0,044	0,871 \pm 0,017	0,564 \pm 0,018	95,4 \pm 4,9 %	61,7 \pm 3,5 %
MWVT 750W	0,958 \pm 0,047	0,880 \pm 0,018	0,576 \pm 0,016	91,8 \pm 4,9 %	60,1 \pm 3,4 %
MWVT 250W	1,010 \pm 0,021	0,887 \pm 0,032	0,583 \pm 0,022	87,9 \pm 3,7 %	57,8 \pm 2,4 %
GT-0,9-MWVT	0,860 \pm 0,026	0,859 \pm 0,042	0,588 \pm 0,020	99,9 \pm 5,8 %	68,4 \pm 3,1 %

GT: Gefriertrocknung; HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung

Berechnung der Abweichung der Bestimmung des Veresterungsgrades von Homogalacturonan mit Methanol bzw. Essigsäure nach dem Gaußschen Fehlerfortpflanzungsgesetz:

$$S_{(\text{Veresterungsgrad})} = \sqrt{\left(\frac{100 \cdot S_{(\text{Analyt})}}{c_{(\text{GalA})}}\right)^2 + \left(\frac{c_{(\text{Analyt})} \cdot 100 \cdot S_{(\text{GalA})}}{c_{(\text{GalA})}^2}\right)^2} \quad (7)$$

$S_{\text{Veresterungsgrad}}$: Standardabweichung des Veresterungsgrades von Galacturonsäure mit Methanol oder Essigsäure

$S_{(\text{Analyt})}$: Standardabweichung der Bestimmung des Gehaltes von Methanol bzw. Essigsäure in $\mu\text{mol}/\text{mg}$

$S_{(\text{GalA})}$: Standardabweichung der Bestimmung des Gehaltes von galacturonsäure in $\mu\text{mol}/\text{mg}$

$c_{(\text{GalA})}$: Gehalt an Galacturonsäure in $\mu\text{mol}/\text{mg}$

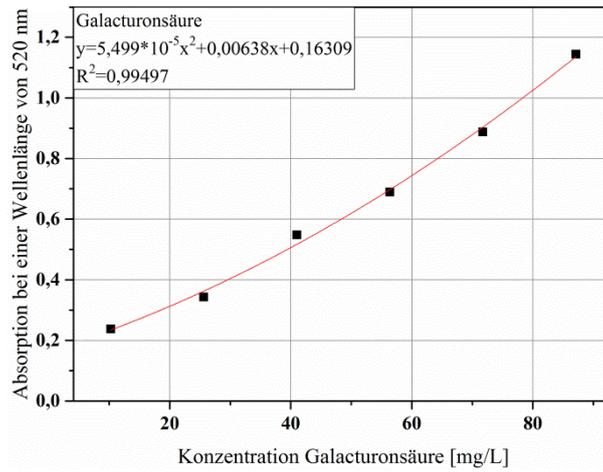


Abbildung 48: Externe Kalibrierung zur photometrischen Bestimmung von Galacturonsäure im Bereich von 10 – 85 mg/L. Es wurde eine linear quadratische Anpassung durchgeführt.

9.12 Sensorische Untersuchungen von mit verschiedenen Verfahren getrockneten Apfelstücken und Karottenscheiben

Tabelle 56: Ergebnisse der sensorischen Untersuchung von mit dem Kombinationsverfahren GT-MWVT getrockneten Karottenscheiben und Apfelstücken und den entsprechenden Einzelverfahren Gefriertrocknung und Mikrowellenvakuumtrocknung. Die Abweichungen sind als \pm Standardabweichung angegeben (n=10).

Karotte	Farbintensität		Knusprigkeit		Süß		Fremdgeschmack	
	Kon-sens	Mittel-wert	Kon-sens	Mittel-wert	Kon-sens	Mittel-wert	Kon-sens	Mittel-wert
GT	5,0	4,9 \pm 1,3	5,0	5,0 \pm 1,2	5,0	4,9 \pm 2,4	2,0	1,8 \pm 1,2
MWVT	8,0	7,8 \pm 0,8	9,0	8,6 \pm 0,7	3,0	2,8 \pm 1,5	6,0	6,1 \pm 2,4
GT-0,9-MWVT	7,0	7,4 \pm 0,8	3,0	3,4 \pm 0,7	5,0	4,3 \pm 1,6	3,0	2,9 \pm 2,1
GT-0,7-MWVT	8,0	7,9 \pm 0,3	4,0	4,3 \pm 1,1	5,0	5,2 \pm 1,5	2,0	2,4 \pm 1,6
GT-0,5-MWVT	8,0	8,0 \pm 0,7	7,0	6,8 \pm 0,8	6,0	5,6 \pm 1,0	2,0	2,1 \pm 1,1

Apfel	Festigkeit		Bräunung		Süß		Sauer	
	Kon-sens	Mittel-wert	Kon-sens	Mittel-wert	Kon-sens	Mittel-wert	Kon-sens	Mittel-wert
GT	2,0	1,8 \pm 0,4	3,0	3,3 \pm 0,8	6,0	6,3 \pm 2,2	5,0	5,3 \pm 1,3
MWVT	5,0	5,3 \pm 1,3	5,0	4,6 \pm 1,2	7,0	6,6 \pm 1,1	4,0	4,2 \pm 1,1
GT-0,9-MWVT	6,0	5,5 \pm 1,6	7,0	6,4 \pm 1,0	6,0	5,7 \pm 0,9	5,0	4,6 \pm 1,1
GT-0,5-MWVT	5,0	4,5 \pm 1,4	5,0	4,8 \pm 1,5	5,0	5,2 \pm 1,1	6,0	5,9 \pm 1,1

GT: Gefriertrocknung. HT: Heißlufttrocknung. MWVT: Mikrowellenvakuumtrocknung

10 Publikationsliste

Publikationen

Rachel R. Schendel, Andreas Becker, Catrin E. Tyl, Mirko Bunzel, Isolation and characterization of feruloylated arabinoxylan oligosaccharides from the perennial cereal grain Intermediate wheat grass (*Thinopyrum intermedium*), *Carbohydrate Research*, 407 (2015) 16-25.

Tim Siebert, Andreas Becker, Mirko Bunzel, Marcus Zuber, Elias Hamann, Tilo Baumbach, Heike P. Karbstein, Volker Gaukel, Evaluation of the usefulness of serial combination processes for drying of apples, *Drying Technology*, 2019a, published online.

Beiträge auf Fachtagungen

Regionalverbandstagung (LChG) in

06.- 07. März 2018 in Gießen

Vortrag: Herstellung und Charakterisierung von getrockneten Apfelstücken aus der neuen rotfleischigen Sorte „Baya Marisa“

Andreas Becker, Tim Siebert, Volker Gaukel, Mirko Bunzel

47. Deutscher Lebensmittelchemikertag

17. – 19. September 2018 in Berlin

Poster: Entwicklung einer Methode zur Bestimmung polymergebundener Methanol- und Essigsäuregehalte in Ballaststoffpräparaten mittels ¹H-NMR

Andreas Becker, Sarah Schleicher, Mirko Bunzel

Poster: Kombinierte Trocknungsverfahren und deren Einfluss auf relevante Inhaltsstoffe in Obst und Gemüse

Andreas Becker, Tim Siebert, Volker Gaukel, Mirko Bunzel