

# **Veränderungen ausgewählter Qualitätsparameter in Erbsen, Bohnen und Karotten während verschiedener Frische- und Tiefkühlagerbedingungen**

## **Dissertation**

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften  
des Departments Chemie der Universität Hamburg  
am Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie  
- Abteilung Lebensmittelchemie -

vorgelegt von  
**Matthias Sebastian Berger**  
München, 2006

Der praktische Teil der vorliegenden Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 2002 bis September 2005 unter der Leitung von Professor Dr. Dr. Hans Steinhart am Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie, Abteilung Lebensmittelchemie, an der Universität Hamburg angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. Dr. Hans Steinhart
2. Gutachter: Prof. Dr. Bernwart Bisping

Tag der mündlichen Prüfung: 16. März 2007

Mein Dank gilt Prof. Dr. Dr. Steinhart für die Überlassung der Aufgabenstellung und die Geduld bei der Korrektur der Arbeit, sowie Prof. Dr. Bisping für die freundliche Übernahme des Koreferats und Dr. Paschke und Prof. Lieberei für die Begutachtung der Disputation.

Ansonsten möchte ich mich bei den Laborkollegen André Müller (u.a. für seine Hilfsbereitschaft bei allen HPLC-Problemen) und Torben Kückler für die gute Zusammenarbeit und die lustige Zeit insgesamt danken, sowie bei allen, die mir in jeglicher Hinsicht bei der Arbeit geholfen haben, besonders aber bei meiner Mutter.

## Veröffentlichungen:

- Steinhart, H.; Göldnitz, C.; Berger, M.; Küchler, T.: Bewertung des Frischestatus von Tiefkühlgemüse mit chemisch-analytischen Methoden, *GIT Laborfachzeitschrift* 9, 876-878 (2003).
- Berger, M.; Steinhart, H.: Veränderungen des Carotin-Spektrums in Karotten (*Daucus carota* L.) und des Gehalts an Major Flavonolen in grünen Bohnen (*Phaseolus vulgaris* L.) bei unterschiedlichen Frische- und Tiefkühl-Lagerbedingungen, *Lebensmittelchemie* 59, 73-104 (2005).
- Berger, M.; Küchler, T.; Maaßen, A.; Busch-Stockfisch, M.; Steinhart, H.: Alterations of important analytical quality indicators and correlation to main sensory attributes in deep-frozen green beans. EUROFREEZE 2005: Individual Quick Freezing of Foods, Sofia (Bulgarien), eingereicht.
- Berger, M.; Küchler, T.; Fiegen, M.; Steinhart, H.: Chemical-analytical parameters to assess the freshness of various stored and processed green beans (*Phaseolus vulgaris* L.), Euro Food Chem XIII (Hamburg). Macromolecules and their degradation products in food - physiological, analytical and technological aspects. Proceedings 2, 410-411 (21.- 23. September 2005).
- Berger, M.; Küchler, T.; Maaßen, A.; Busch-Stockfisch, M.; Steinhart, H.: Correlations of ingredients with sensory attributes in green beans and peas under different storage conditions, *Food Chemistry*, in Druck, akzeptiert am 21. September 2006.
- Berger, M.; Küchler, T.; Maaßen, A.; Busch-Stockfisch, M.; Steinhart, H.: Correlations of carotene with sensory attributes in carrots under different storage conditions, *Food Chemistry*, eingereicht.

## Vorträge:

- Berger, M.; Küchler, T.; Steinhart, H.: Veränderungen des Carotin-Spektrums in Karotten (*Daucus carota* L.) und des Gehalts an Major Flavonolen in grünen Bohnen (*Phaseolus vulgaris* L.) bei unterschiedlichen Frische- und Tiefkühl-Lagerbedingungen, 33. Deutscher Lebensmittelchemikertag, Bonn, 13. September 2004.
- Berger, M.; Küchler, T.; Maaßen, A.; Busch-Stockfisch, M.; Steinhart, H.: Alterations of analytical quality indicators and their correlation with main sensory attributes of deep-frozen green beans; Eurofreeze award ceremony, 1<sup>st</sup> International Food and Nutrition Congress, Food Safety and Quality through the Food Chain: Farm to Fork - Fork to Farm, Istanbul (Türkei), 16. Juni 2005.

## Poster:

- Küchler, T.; Berger, M.; Steinhart, H.: Bestimmung chemisch-analytischer und sensorischer Qualitätskriterien von ausgewählten frischen und tiefgefrorenen Gemüsearten, 62. Jahrestagung des Forschungskreises der Ernährungsindustrie (FEI), 8. September 2004.
- Berger, M.; Küchler, T.; Steinhart, H.: Sind das Carotin-Spektrum und der Vitamin C-Gehalt geeignete Marker für die Frische von verschiedenen gelagerten Karotten? Tagung der Regionalverbände Nord und Nordost der Lebensmittelchemischen Gesellschaft in der GDCh, Hannover, 08.03.2005.
- Berger, M.; Küchler, T.; Fiegen, M.; Steinhart, H.: Chemical-analytical parameters to assess the freshness of various stored and processed green beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Euro Food Chem XIII und Deutscher Lebensmittelchemikertag (Hamburg), 19.-23. September 2005.

## Inhaltsverzeichnis:

1	Einleitung .....	1
2	Grundlagen .....	4
2.1.	Grundsätzliches zur Lagerfähigkeit von Gemüse .....	4
2.1.1.	Lagerfähigkeiten nach Gemüseart .....	4
2.1.2.	Einflussfaktoren auf die Lagerfähigkeit von Gemüse vor der Lagerung .....	5
2.1.3.	Einfluss der Lagerbedingungen .....	11
2.1.4.	Einfluss von nicht-industriellen Faktoren .....	14
2.2.	Technologie der Produktion von TK-Gemüse .....	15
2.3.	Biochemie, Ernährungsphysiologie und Vorkommen der Qualitätsparameter Vitamin C, Carotine und Polyphenole .....	17
2.3.1.	Vitamin C .....	17
2.3.2.	Provitamin A-Carotinoide .....	18
2.3.3.	Andere sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe .....	20
2.4.	Methodenüberblick .....	23
2.4.1.	Vitamin C-Analytik .....	23
2.4.2.	Carotin-Analytik .....	23
2.4.3.	Flavonol-Analytik und antioxidative Kapazität .....	25
3	Problemstellung .....	28
4	Material und Methoden .....	30
4.1.	Untersuchte Gemüsearten (Sorten, Erntetermine, Witterung) .....	30
4.2.	Lagerung .....	31
4.3.	Gemüsezubereitung .....	32
4.4.	Analytische Methoden .....	32
4.4.1.	Vorbereitung .....	32
4.4.2.	Gesamtascorbinsäure-Bestimmung .....	32
4.4.3.	Carotin Analytik .....	33
4.4.4.	Polyphenol Bestimmung .....	35
5	Ergebnisse .....	38
5.1.	Vitamin C-Analytik .....	38
5.1.1.	Methodenoptimierung .....	38
5.1.2.	Vitamin C-Bestimmung in Abhängigkeit von der Lagerung .....	42
5.2.	Carotin-Analytik .....	52
5.2.1.	Methodenentwicklung .....	52
5.2.2.	Carotin-Bestimmung in Abhängigkeit von der Lagerung .....	55
5.3.	Polyphenol-Analytik .....	57
5.3.1.	Flavonol-Analytik mit HPLC .....	57
5.3.2.	Ergebnisse der Analytik der antioxidativen Kapazität .....	66
6.	Diskussion .....	70
6.1.	Vitamin C .....	70
6.2.	Carotin .....	74
6.3.	Flavonole .....	80
6.4.	Antioxidative Kapazität .....	82
7	Korrelation mit den Ergebnissen der sensorischen Untersuchungen .....	84
7.1.	Prinzip und Methodik der sensorischen Untersuchungen .....	84
7.2.	Werte der Korrelation chemisch-analytischer und sensorischer Untersuchungen ..	85
7.2.1.	Erbsen, 2. Saison (Korrelation mit dem Vitamin C-Gehalt) .....	87
7.2.2.	Bohnen, 1. Saison (Korrelation mit dem Vitamin C-Gehalt) .....	89
7.2.3.	Bohnen, 2. Saison (Korrelation mit dem Vitamin C-Gehalt) .....	91

7.2.4.	Karotten, 1. Saison (Korrelation mit dem Gesamtcarotingehalt).....	93
7.2.5.	Karotten, 2. Saison (Korrelation mit dem Vitamin C-Gehalt) .....	95
8	Ausblick .....	98
9	Anhang .....	101
9.1.	Beschreibung der untersuchten Lagerstadien.....	101
9.2.	Zubereitungen.....	101
9.2.1.	Zubereitung der Erbsen .....	101
9.2.2.	Zubereitung der Bohnen.....	102
9.2.3.	Zubereitung der Karotten .....	102
9.3.	Gefriertrocknung .....	102
9.3.1.	Ablauf der Gefriertrocknung.....	103
9.3.2.	Vergleich Gefriertrocknung mit Trockenmasse-Bestimmung (mit Seesand).....	103
9.4.	Vitamin C Analyse .....	104
9.5.	Carotin Analyse.....	107
9.6.	Flavonol Analyse.....	109
9.7.	Bestimmung der antioxidativen Kapazität .....	112
9.7.1.	Bestimmung mittels Test nach Folin-Ciocalteu .....	112
9.7.2.	Bestimmung mittels FRAP-Test .....	113
9.8.	Untersuchungsgeräte und Chemikalien.....	113
9.9.	Einzelaufstellung der Messdaten (mit Statistik).....	115
9.9.1.	Vitamin C .....	116
9.9.2.	Carotine .....	120
9.9.3.	Flavonole.....	121
9.9.4.	Antioxidative Kapazität.....	124
10	Literatur.....	125

## Abkürzungen

AA	Ascorbinsäure
ABAP	2,2'-Azo-bis-(2-amidinopropan)
ABTS	2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonsäure)
APCI	Chemische Ionisation bei Atmosphärendruck
AU	Absorptionseinheiten
BG	Bestimmungsgrenze
BHT	Butylhydroxytoluol
bidest.	zweifach destilliert
CA	kontrollierte Atmosphäre
CUPRAC	Test auf kupferreduzierende antioxidative Kapazität
DAD	Diodenarray-Detektor
DCM	Dichlormethan
dest.	destilliert
DGKS	2,3-Diketogulonsäure
DHAA	Dehydro-L-(+)-Ascorbinsäure
2,6-DCIP	2,6-Dichlorindophenol
DPPH	Di-pikrylhydrazyl-
DTT	Dithiothreitol
ECD	elektrochemischer Detektor
ESI	Elektronenspray-Ionisation
ESR	Elektronen-Spin-Resonanz-
FG	Frischgewicht
FR	Frisch- bzw. frisch/e/es
FRAP	Test auf eisenreduzierende antioxidative Kapazität
GAA	Gesamt-AA (Summe aus AA und DHAA), entspricht dem Vitamin C-Gehalt
h	Stunden
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
HDL	Lipoproteine höherer Dichte
I.U.	Internationale Einheiten
LDL	Lipoproteine niedriger Dichte
MALDI-TOF	Matrixunterstützte Laser-Desorption-Ionisation mit Flugzeitanalysator
min	Minuten
MS	Massenspektrometrie bzw. massenspektrometrischer Detektor
m/z	Masse/Ladung
NWG	Nachweisgrenze
n.n.	nicht nachweisbar
ORAC	Test auf Sauerstoffspezies-reduzierende antioxidative Kapazität für die Analyse
p.A.	für die Analyse
PSC	Test auf Peroxylradikal-Fänger-Kapazität
rF	relative Luftfeuchte
RP-HPLC	Umkehrphasen-Hochleistungsflüssigchromatographie
RT	Raumtemperatur
sec	Sekunden
SC	(offene) Säulenchromatographie
SDS-PAGE	Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese
Sk	Skalenteile

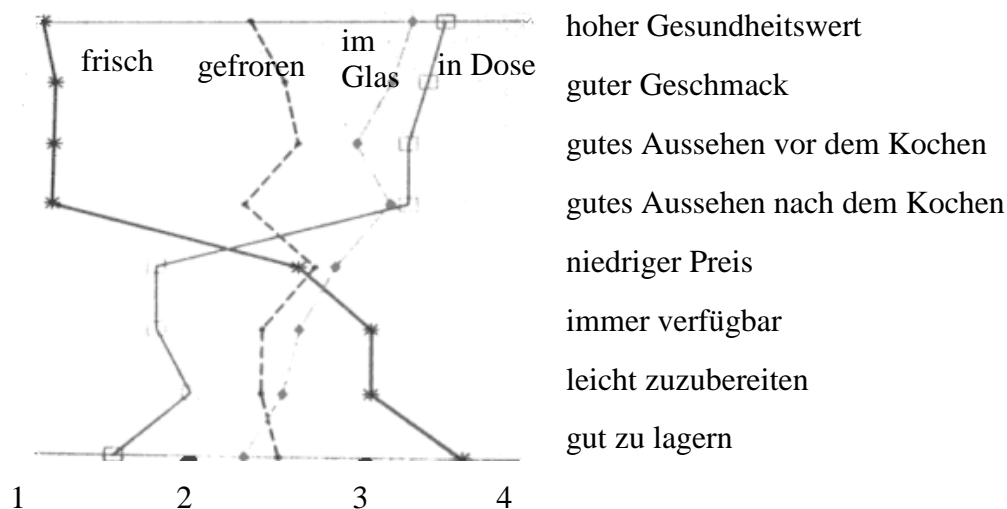
SPE	Festphasenextraktion
TBHQ	<i>tert</i> -Butylhydrochinon
TEAC	Test auf Trolox-Äquivalent-reduzierende Kapazität
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TK	Tiefkühl- bzw. tiefgekühlt/e/es
TM	Trockenmasse
TRAP	Test auf Gesamtradikalfänger-antioxidative Kapazität (total radical-trapping antioxidant parameter assay)
UV	Ultraviolett-Licht bzw. Ultraviolett-Licht-Detektor
VLDL	Lipoproteine sehr niedriger Dichte



## 1 Einleitung

Um die allgemeine weltweite Ernährungs- und Gesundheitssituation zu verbessern und die in vielen entwickelten Ländern als Haupttodesrisiken bekannten Herz-Kreislauf-Erkrankungen einzudämmen wird schon seit längerem versucht, in breit angelegten staatlichen Ernährungsprogrammen und -empfehlungen (zum Beispiel mittels Ernährungspyramiden oder Kampagnen wie zum Beispiel „5-am-Tag“) Einfluss auf das Verbraucherverhalten der Konsumenten zu nehmen. Vielen Verbrauchern ist es nicht immer möglich, das im Vergleich zu Fertig-Lebensmitteln aufwendigere Zubereitungsverfahren und die offensichtlich kürzeren Aufbewahrungszeiten von frischem Gemüse (FR-Gemüse) auf sich zu nehmen und es wurde trotz des gestiegenen Bewusstseins beim Verbraucher für den Gesundheitswert von Gemüse ein Rückgang bzw. eine Stagnation des tatsächlichen Verbrauchs festgestellt (Unilever Nutrition Centre, 1996). In einer Umfrage in verschiedenen europäischen Nationen wurde zudem festgestellt, dass viele Verbraucher Schwierigkeiten hätten, den tatsächlichen Frische-Zustand eines Lebensmittels festzustellen und dadurch zum Teil vom Kauf zurückschreckten.

Abb. 1: Image von FR-, Tiefkühl-(TK), Glas- und Dosengemüse (Durchschnitt aus sieben verschiedenen europäischen Ländern). Höhere Noten bedeuten niedrigere Werte für die Attribute (Unilever Nutrition Centre, 1996).



Die Differenzierung FR-, TK-, Dosen- und Glasprodukte wurde auch in die zitierte Studie mit einbezogen und es zeigte sich, dass im Vergleich zu frischen Produkten das Ansehen von TK-, Dosen- und Glasprodukten trotz guter Lagerfähigkeit niedriger eingestuft wurde (Abb. 1). Der Verbraucher geht davon aus, dass insbesondere der Gesundheitswert bei Letzteren leidet, sei es durch die zusätzliche Verarbeitung oder durch die schlechtere Qualität des FR-Gemüses. Es erscheint wichtig herauszustellen, dass Begrifflichkeiten wie „FR-Gemüse“ oft nicht genau definiert sind und somit das Ergebnis der Umfragen (nicht objektivierbar) beeinflussen. Wird unter „FR-Gemüse“ nicht das „erntefrische, also das umgehend nach Abtrennen von der Pflanze erhaltene Produkt“ sondern die auf

Märkten angebotene Ware verstanden, werden die Antworten der Konsumenten deutlich variieren. In der hier vorliegenden Arbeit, bei der es um den Vergleich der Qualitätsparameter von FR- und TK-Gemüse geht, wird im Folgenden unter „FR-Gemüse“ immer das auf dem Markt angebotene, nicht behandelte oder verarbeitete Gemüse verstanden, davon zu unterscheiden ist die „erntefrische Ware“. In den Mittelmeerländern, in denen traditionell viel Gemüse bei der Zubereitung täglicher Mahlzeiten verwendet wird, und paradoxerweise auch in Deutschland, wird die Qualität von TK-Gemüse durchschnittlich schlechter bewertet, als diejenige von FR-Gemüse. In Deutschland führen dieser Vorbehalt und die zum Teil kürzeren saisonalen Verfügbarkeiten von FR-Gemüse generell zu einem Rückgang des Gemüseverbrauchs.

Um ein allgemeines Verständnis für die Problematik zu gewinnen, muss an dieser Stelle auch ein aktuelles Bild der Marktsituation unterschiedlicher Produkte angeführt werden (Tab. 1), wobei auch hier die Definition „Gemüse“ entscheidend ist: sind Kartoffeln und verarbeitete Produkte wie zum Beispiel Ketchup als Gemüse mit einzubeziehen? In Tab. 1 ist Gemüse, das eine substantielle Änderung erfahren hat (zum Beispiel fermentierte oder mit anderen Zutaten vermischte Erzeugnisse) und Kartoffeln nicht mit aufgenommen. Es ist abzulesen, dass TK-Ware in Deutschland nach wie vor einen wesentlich geringeren Stellenwert als FR-Ware besitzt.

Tab. 1: Verbrauch an Gemüse in Deutschland 1994-2004 (Statistisches Jahrbuch, 2005)

Gesamte pflanzliche Erzeugnisse (FR-Gemüse)										
Jahr	94/95	95/96	96/97	97/98	98/99	99/00	00/01	01/02	02/03	03/04*
kg/Einwohner	81,6	86,7	89,9	87,7	88,8	91,6	94,0	95,4	94,7	93,3
TK-Gemüse										
Jahr	94/95	95/96	96/97	97/98	98/99	99/00	00/01	01/02	02/03	03/04*
in 1000 t	229,2	227,4	234,2	246,1	258,2	269,1	274,1	292,0	279,4	280,5
kg/Einwohner	2,8	2,8	2,9	3,0	3,1	3,3	3,3	3,5	3,4	3,4
in % von FR-Gemüse	3,4	3,2	3,2	3,4	3,5	3,6	3,5	3,7	3,6	3,6

\*Zahlen basieren auf vorläufigen Schätzungen

Die in Deutschland häufigsten Angebotsformen von Gemüse sind neben FR-Gemüse: TK-Gemüse, Dosengemüse, Glaswarengemüse, in Öllaken eingelegtes Gemüse und andere Gemüsearten (wie zum Beispiel vergorenes, in Essig eingelegtes Gemüse, Trockengemüse).

Bei der Herstellung von TK-Gemüse werden gemäß § 2 der Verordnung über tiefgefrorene Lebensmittel frische, gesunde Früchte einwandfreier Qualität verwendet. Dem Gefrierverfahren geht ein Blanchierschritt (mittels Wasserdampf, Heißwasser, Luft, Infrarotstrahlung oder Mikrowellen) voraus, der die Inaktivierung der Katalase (Abbau von Wasserstoffperoxid zu Wasser und Sauerstoff) und der Peroxidase (Oxidation organischer Moleküle unter Verbrauch von Wasserstoffperoxid) als Indikatorenzyme für eine ausreichende Erhitzung sicherstellen muss (Leitsätze 2/42 für tiefgefrorenes Obst und Gemüse).

Genauere rechtliche Vorgaben zur Definition des „Frischebegriffs“ bei TK-Gemüse und die Frage, ob TK-Gemüse, das substantiell dem FR-Gemüse gleichzustellen ist, auch als „frisch“ bezeichnet werden darf, sucht man im deutschen und europäischen Lebensmittelrecht vergeblich. In den USA dagegen gab es ein rechtskräftiges Urteil, das es ermöglicht, TK-Produkte als „frisch“ zu bewerben. In Deutschland und in der EU könnte sich in Zukunft die alte Auffassung, dass TK-Lebensmittel (im Gegensatz zu gekühlten) als „technologisch behandelte“ bzw. haltbar gemachte Lebensmittel angesehen werden (Schmidt-Lorenz, 1991; Trenkle, 1976) und damit nicht mehr als „frisch“ gelten, ebenfalls ändern. Neueste Urteile für andere Lebensmittel (Zenk, 2000) zeigen, dass bereits nicht mehr generell davon ausgegangen werden kann, dass jedes Verfahren, das sich auf die Lagerfähigkeit eines Produkts auswirkt, einer Frische-Auslobung entgegensteht, dies sei vielmehr „grundsätzlich eine Frage des Einzelfalls“, so Zenk (2000).

Demnach ist es für derartige rechtliche Präzisierungen und vertriebsorientierte Fragestellungen entscheidend, ein möglichst breites Datenmaterial zu ernährungsphysiologischen und sensorischen Untersuchungen über den substantiellen Vergleich von FR-Gemüse und TK-Gemüse zur Hand zu haben.

Wichtig ist dabei, wertgebende Inhaltsstoffe auszuwählen. Das sind im Idealfall sich mit der Lagerdauer verändernde Markersubstanzen, die eine zeitliche und eine qualitative Komponente beinhalten. Das heißt, dass dies Stoffe sein sollten, die den Wert des Lebensmittels mit beschreiben. Hierzu zählen vor allem ernährungsphysiologisch wertvolle Inhaltsstoffe wie zum Beispiel Vitamine, Mineralstoffe, potentiell gesundheitsfördernde sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe oder andere essentielle Nährstoffe (zum Beispiel Aminosäuren oder  $\Omega$ -3-Fettsäuren).

## 2 Grundlagen

Die in Deutschland meistangebauten Gemüsearten sind Spargel (16744 ha), Karotten (10504 ha), Zwiebeln (9111 ha), Weißkohl (7025 ha), Blumenkohl (5679 ha), Erbsen (5503 ha), Eissalat (4901 ha) und Stangenbohnen (4433 ha) (Statistisches Jahrbuch, 2005). Es ist davon auszugehen, dass die hier untersuchten und unten beschriebenen Gemüsearten (Bohnen, Erbsen, Karotten) in nicht unerheblicher Menge zur Deckung des täglichen Bedarfs an verschiedenen Nährstoffen beitragen. Block (1994) berichtet, dass 14 bis 17 %, Heinonen (1990) für Finnland, dass 10 % der gesamten Vitamin A-Versorgung durch den Verzehr von Karotten erfolgt. Die Vitamin C-Versorgung durch Gemüse wird von Hötzel und Zittermann (1992) auf 35-55 %, von Selman (1994) auf bis zu 50 % geschätzt.

### 2.1. Grundsätzliches zur Lagerfähigkeit von Gemüse

#### 2.1.1. Lagerfähigkeiten nach Gemüseart

Am besten lagerfähig sind vor allem Speicherorgane von Pflanzen wie zum Beispiel Rüben oder Knollen. Weniger gut lagerfähig sind Früchte und Samen und am wenigsten lagerfähig sind Blattgemüse und andere möglichst frisch zu genießende Pflanzenteile (zum Beispiel Stiele).

Eine umfangreiche Aufstellung der durchschnittlichen maximalen Lagerdauer bei unterschiedlichen Temperaturen  $> 0\text{ }^{\circ}\text{C}$  und bei unterschiedlichen Luftfeuchten findet sich bei Bognár und Zacharias (1998). Sie geben abhängig von der Luftfeuchte bei Temperaturen  $> 0\text{ }^{\circ}\text{C}$  für Erbsen Lagerzeiten von 2 bis 14 Tage, für Bohnen von 3 bis 10 Tage und für Karotten (spät geerntete Sorten) von 2 bis 4 Monate an.

Abb. 2 gibt einen Überblick über die durchschnittlichen Verfügbarkeiten von einheimischem Gemüse.

	Jan	Feb	März	April	Mai	Juni	Juli	Aug	Sep	Okt	Nov	Dez
Auberginen												
Bleich-/Staudensellerie												
Blumenkohl												
Busch-/Stangenbohnen												
Brokkoli/Spargelkohl												
Champignons												
Chicorée												
Chinakohl												
Einlegegurken												
Erbsen, grün												
Fenchel												
Grünkohl												
Kartoffeln												
Kohlrabi												
Kürbis												
Mangold												
Meerrettich												
Möhren												
Paprika												

Abb. 2:  
durchschnittliche  
Verfügbarkeiten von  
in Deutschland  
produziertem FR-  
Gemüse auf dem  
deutschen Markt  
(Quelle: BMVEL,  
2005)

## **2.1.2. Einflussfaktoren auf die Lagerfähigkeit von Gemüse vor der Lagerung**

### **2.1.2.1. Einfluss von Arten und Sorten**

Bei Bohnen werden neben unterschiedlichen Sorten 2 verschiedene Arten angebaut (Timm und Herrmann, 1996); neben der Art *Phaseolus vulgaris* L. var. *vulgaris* (auch Stangen- oder Gartenbohne genannt) existiert die niedrigere, strauchig wachsende Art *Phaseolus vulgaris* L. var. *nanus* (auch Buschbohne genannt). Von jeder dieser Arten gibt es verschiedene Sorten, die sich für eine TK-Lagerung eignen. Zur TK-Lagerung bestimmte Bohnen müssen vor allem faden-, holz- und bastfrei und um Ausbleicheffekten entgegen zu wirken, möglichst grün sein. Außerdem ist wichtig, dass die gewählte Sorte eine möglichst geringe Neigung zur Samenbildung aufweist.

Bei Erbsen zur weiteren Verarbeitung oder Lagerung eignen sich Markerbsen mit weicher Schale und möglichst wenig mehligem Körper.

Karotten, die zur Lagerung bestimmt sind, sollten möglichst orange und süß sein und einen möglichst geringen Markanteil haben. Als Lagerkarotten eignen sich zum Beispiel die Sorten Nantaise, Bauers Kieler Rote oder Pariser Markt.

Karotten, die zur Sterilisation oder zum Tiefgefrieren bestimmt sind, müssen Sorten mit einem hohen Trockengewicht sein (Bajaj et al., 1978). Außerdem sind orange Karottensorten (mit per se höheren Carotingehalten) gelben Karottensorten (mit niedrigeren Carotingehalten) vorzuziehen (Banga und Bruyn, 1954). Andererseits weisen manche Sorten bereits derart hohe Carotingehalte auf, dass sich durch den erhöhten Trockenmasse-(TM) Gehalt eine Verwendung für den menschlichen Verzehr aufgrund der fehlenden Saftigkeit ausschließt. Solche Sorten eignen sich laut Banga und Bruyn (1954) nur zur Futtermittelgewinnung.

### **2.1.2.2. Einfluss der Anbauart und der Bepflanzungsverhältnisse**

Systematische Untersuchungen zur Lagerfähigkeit von unterschiedlich angebauten Gemüsearten wurden bisher nicht durchgeführt. Allerdings konnte gezeigt werden, dass gewisse Pflanztechniken Einfluss auf den Zustand des Gemüses zum Erntezeitpunkt haben. Bei Karotten wurden bei größeren Pflanzabständen längere und spitzere Möhren erhalten, Auswirkungen auf die sensorischen und chemischen Eigenschaften hatte dies allerdings nicht (Rosenfeld et al., 2002). Es wurde auch darauf hingewiesen, dass eine engere Bepflanzung aufgrund des stärkeren Dickenwachstums bei Karotten zu späterer Reife und damit niedrigerer Gehalte an Inhaltsstoffen zum Erntezeitpunkt führt (Banga und Bruyn, 1956 und 1968).

Andere Autoren verglichen Freilandanbau mit Gewächshausanbau zu unterschiedlichen Erntezeitpunkten und fanden, dass der Carotingehalt von Freilandkarotten immer vor der Ernte das Maximum erreichte, während der Carotingehalt bei Gewächshauskarotten bis zum letzten Erntezeitpunkt hin zunahm (Fritz und Habben, 1977).

Die Düngung und der Einsatz von Pflanzenschutzmitteln hatten ebenfalls einen Einfluss auf den Gehalt an wichtigen Inhaltsstoffen. So wurden in mit Glyphosat behandelten Bohnen geringere Carotingehalte in den Blättern und höhere Proteingehalte in den Samen gefunden (El-Hattab et al., 1987).

### **2.1.2.3. Einfluss der Witterung (Regenmenge, Bewässerung, Sonnenscheindauer) und des Erntezeitpunktes auf die Qualität**

Der Erntezeitpunkt und damit verbunden die während der Reife vorherrschende Witterung hat einen entscheidenden Einfluss auf die Lagerfähigkeit von Gemüse.

Ziel bei der Gemüseproduktion ist es, den abhängig von der Witterung optimalen Erntezeitpunkt zu ermitteln. Dazu dienen früher Indikatoren wie zum Beispiel das Fructose- zu Glucose-Verhältnis bei Bohnen und Erbsen, heute wird der optimale Erntezeitpunkt mithilfe eines Tenderometers (Gerät zur Bestimmung der Festigkeit) ermittelt.

Während der Reifung wird aus den Zuckern Fructose und Glucose zunächst Saccharose sowie Stärke als Reservestoff aufgebaut, außerdem nehmen der Wassergehalt ab und Ballaststoffe zu. Ab der botanischen Reife werden dann die Zucker und die Reservestoffe abgebaut (Sánchez-Mata et al., 2003). Erbsen und Bohnen, die zur TK-Lagerung bestimmt sind, werden botanisch gesehen unreif geerntet (Eriksson und Sydow, 1964) (also noch bevor Seneszenz eintritt und die Hülsen anfangen zu vertrocknen), um möglichst hohe Zuckergehalte zum Zeitpunkt der Ernte zu erzielen.

Suojala (2000) fand bei Karotten nach 30-50 Tagen ein Maximum an Saccharose, dessen Menge zu diesem Zeitpunkt auch die Gehalte an Fructose und Glucose überstieg. Simon (1980) und Rosenfeld et al. (2002) berichteten, dass Karotten süßer waren, wenn sie im milden Winter statt im heißen Sommer reiften, während Frost die Saccharose-Speicherung in Karotten zum Erliegen brachte (Suojala, 2000).

Hohe Temperaturen über die gesamte Reifezeit führten zu insgesamt geringerem Wachstum und eher gedrungenen, runden Möhren, während bei tiefen Temperaturen schnelles Wachstum zu länglichen Wurzeln beobachtet wurde, aber geringere Zucker- und Stärkegehalte erreicht wurden. Außerdem kam die Carotin-Biosynthese bei tieferen Temperaturen früher zum Erliegen als bei höheren (Fritz und Habben, 1977). Nach Khan (1975) wurden durchschnittlich 130 bis 140 Tage nach der Aussaat die höchsten  $\beta$ -Carotingehalte bestimmt. In mehreren Studien mit Karotten wurde festgestellt, dass die Witterung einen entscheidenden Einfluss auf die Carotingehalte hatte. In einer 7-Jahresstudie konnte gezeigt werden, dass die Maximalgehalte an Carotin zu einem bestimmten Zeitpunkt im Jahr bei gleicher Sorte und gleichem Anbaubeginn, um bis zu 120 % schwankten. Der Zeitpunkt der optimalen Carotingehalte schwankte in dieser Studie von Mitte August bis Ende November (Booth, 1951).

Der Einfluss der Bewässerung auf den Carotingehalt von Karotten wurde ebenfalls in älteren Studien mehrfach ermittelt. Brown (1947) untersuchte den Einfluss der Niederschläge über einen längeren Zeitraum und stellte fest, dass nach heftigen Schauern der Carotingehalt in Karotten

wasseraufnahmebedingt um bis zu 15-20 % abnahm. Wunschziel der landwirtschaftlichen Produktion ist es demnach, vor der Ernte möglichst eine kurze Trockenperiode zu haben.

Eine hohe Anzahl von Sonnenstunden während der Reifephase der Früchte bewirkte nach Lee (2000) eine verstärkte Synthese von Vitamin C.

#### **2.1.2.4. Einfluss der Bodenbeschaffenheit und des Anbaustandorts**

Nach Kidmose et al. (2004) wurden - ohne Beschreibung über die genaue Zusammensetzung des Bodens - unterschiedliche Carotingehalte und Gehalte an qualitätsbestimmenden Aromastoffen in Karotten derselben Sorte an zwei unterschiedlichen Anbauflächen in Dänemark gefunden. Bei der Sorte „Line 1“ wurden zum Beispiel 8,8 mg  $\beta$ -Carotin/100 g Frischgewicht (FG) im Vergleich zu 5,2 mg/100 g FG bestimmt. Nach Banga und Bruyn (1954), hat die Bodenart einen Einfluss auf den Carotingehalt von Karotten. So wurden in Lehm 9,32 mg, in trockenem Sand 8,02 mg und in feuchtem Sand 6,51 mg Gesamtcarotin/10 g Trockenmasse bei derselben Sorte gefunden.

In Böden, die zu wenig Sauerstoff (unter 6 %) enthielten (was durch eine Paraffinversiegelung reproduzierbar simuliert werden konnte) war die Carotin-Biosynthese verringert (Banga und Bruyn, 1958).

Ein hoher Stickstoff-Anteil im Boden erhöhte wiederum die  $\beta$ -Carotin- und die Protein-Biosynthese in Karotten (Banga und Bruyn, 1968).

#### **2.1.2.5. Einfluss der Erntedauer und Erntetechnik**

Der Zeitraum zwischen Ernte und Verarbeitung des Gemüses hat einen entscheidenden Einfluss auf die Qualität der Gemüseprodukte. Dabei treten die ersten Verfallserscheinungen bei Bohnen und Erbsen ab dem Zeitpunkt des Abtrennens von der Mutterpflanze ein und bei Karotten ab dem Zeitpunkt, an dem die Wurzeln den Kontakt zum Erdreich verlieren. Eine maschinelle Ernte ist wegen der höheren Geschwindigkeit der Fahrzeuge und nicht zuletzt auch aufgrund vorhandener Sprechfunk- und Navigationssysteme (schnellere Routenplanungen und Berechnung optimaler Erntewege) besser geeignet, diese Zeitspanne zu verkürzen.

Die maximale Zeit von der Ernte bis zur Tiefkühlung darf bei Bohnen 4 h, bei Erbsen 1,5 h betragen (Timm und Herrmann, 1996).

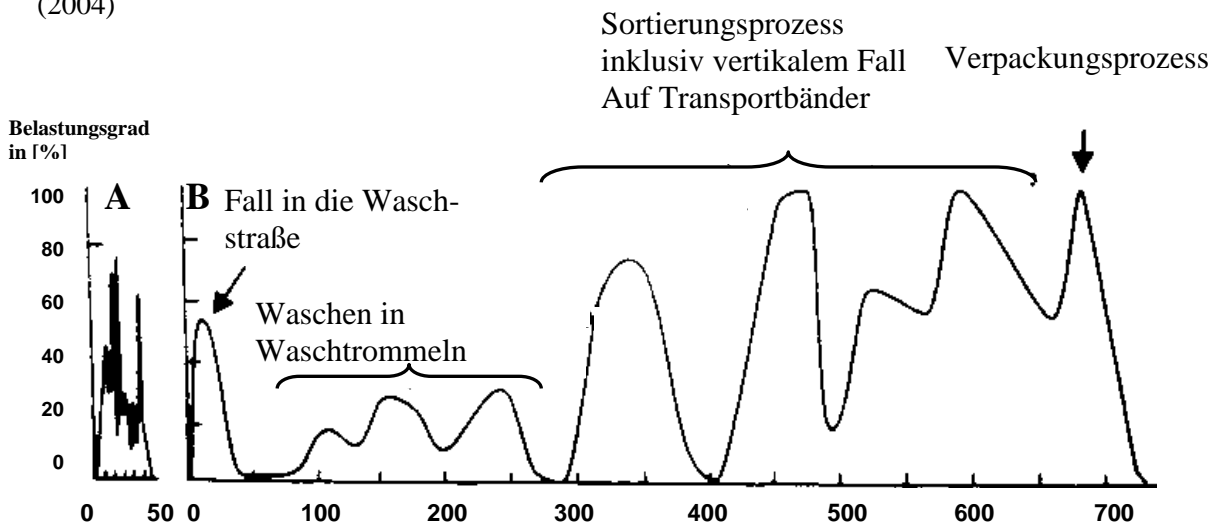
In der Regel wird nachts oder am frühen Morgen geerntet. In jedem Fall ist auf zusätzliches Umfüllen und Umpacken zu verzichten, um mechanische Verletzungen zu vermeiden, die bei einer maschinellen gegenüber einer manuellen Ernte verstärkt auftreten können.

### 2.1.2.6. Industrielles Vorbereiten (Putzen, Waschen und Blanchieren)

Im Folgenden wird auf Einflussfaktoren auf den Gehalt der in dieser Studie untersuchten Stoffe (Carotine, Vitamine, sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe) in TK-Gemüse fokussiert, da die wesentlichen, die Qualität vermindern Schritte bei der Verarbeitung von FR-Ware entfallen.

Die Vorbereitung für die TK-Verarbeitung umfasst Waschen, Putzen und Blanchieren. Hierbei treten nicht unerhebliche Beschädigungen des Erntegutes auf, die einen großen Einfluss auf den anschließenden Lagerverlauf haben. Nach Seljåsen et al. (2004) wiesen handgewaschene und handverpackte Karotten gegenüber maschinell gewaschenen Karotten weniger durch Verderbsvorgänge verursachte Ausbeuteverluste, weniger Bittergeschmack, weniger terpenartiges Aroma, sowie einen weniger grasigen und erdartigen Geruch auf. Durch erhöhten mechanischen Stress wurde dagegen eine stärkere Ethanolproduktion während der folgenden Lagerung der Karotten festgestellt. In Abb. 3 (Seljåsen et al., 2004) ist eine Schockmessung mithilfe einer digitalen Sonde im Verlauf einer manuellen und einer industriellen Verarbeitung von Karotten dargestellt.

Abb. 3: Mechanische Belastung in Prozent der Maximalmessung eines Impulses einer digitalen „Schocksondenkarotte“ bei manueller (A) und bei maschineller Verarbeitung (B), Seljåsen et al. (2004)



Trotzdem wurden Verluste durch mechanischen Stress im Vergleich zu den Verlusten des nachfolgenden Blanchierens gering eingestuft (Spieß, 1984).

Blanchieren dient der Enzyminaktivierung, der Freisetzung von Luft aus Interzellularräumen (woraus eine Verminderung der Oxidation während der Lagerung resultiert), der Verminderung der mikrobiologischen Belastung (Ramesh et al., 2002) und der Farbvertiefung (Mittler, 1998). Zudem hat das kurze Erhitzen auch einen wünschenswerten Einfluss auf nachfolgende Schäl- und Zerstückelungsschritte (Shamaila et al., 1996) und dient der Beseitigung von übrigem Schmutz, sowie von unerwünschten Geruchs- und Geschmacksstoffen (zum Beispiel Bitterstoffe bei Kohlarten).



Blanchieren wird hauptsächlich zur Inaktivierung der Ascorbatoxidase, der Zellulasen, Chlorophyllasen, Lipoxygenasen und anderer Enzyme durchgeführt. Dabei ist es wichtig, ein Indikatorenzym für den Nachweis einer ausreichenden Hitzeeinwirkung festzulegen.

Es wurde zum Beispiel die von einigen Autoren (Williams et al., 1995) als zu labil eingestufte Katalase als Indikatorenzym verwendet, während andere Autoren die Peroxidase (die ab 70 °C allmählich inaktiviert wird) als besten Indikator angaben (Bognár, 1995b). Allerdings wurde schon vor längerem in Zeit-Inaktivierungs-Studien festgestellt, dass das Blanchieren bis zu völliger Inaktivierung der Peroxidase zu Verlusten qualitätsbestimmender Inhaltsstoffe führte und somit ein Überblanchieren darstellte. Andere Autoren (zum Beispiel Böttcher, 1975) schlugen deswegen bei Bohnen und Erbsen ein Blanchieren bis zur Peroxidase-Restaktivität von 2-8 % vor. Gute Blanchierergebnisse wurden auch mit Lipoxygenase als Indikatorenzym gefunden (Williams et al., 1995), daneben sollten sich nach Kim et al. (2001) noch Galaktolipase und Phospholipase C eignen.

Bei Karotten berichtete Böttcher (1975), dass einige qualitätsbestimmende Merkmale (hoher Vitamin C-Gehalt, niedrige Gehalte an titrierbare Säuren, sinnesphysiologische Qualitätsmerkmale) auch ohne einen Blanchierschritt während der nachfolgenden Lagerung erhalten blieben, während an anderer Stelle (Shaheen et al., 1977) berichtet wurde, dass in Karotten ohne Blanchieren nach 4 Monaten Lagerung (bei -40 °C) ein Gesamtcarotinverlust von 38,1 % auftrat, wogegen blanchierte Karotten nach 4 Monaten Lagerung (bei -40 °C) nur 24,5 % des Gesamtcarotins einbüßten.

Ein Blanchierverzicht bei Erbsen ist nicht praktikabel. Wegen der Aktivität der Phospholipase C würde dies zu Verlusten an Fettsäuren in den Phospholipidfraktionen (Lee und Mattick, 1961) führen. Es reichten aber bei früh geernteten Erbsen, die einen niedrigeren Enzymstatus als reifere Erbsen aufwiesen, kürzere Blanchierzeiten (Guerrant und O'Hara, 1953).

In Bezug auf Zeit-Temperatur-Verläufe des Blanchiervorgangs ist es bemerkenswert, dass die thermischen Abbau-Verluste von Vitamin C in einigen Studien auf Restaktivitäten der Ascorbatoxidase in der Aufheizphase des Blanchierens zurückgeführt wurden.

Zur Art der Blanchierverfahren wurden hauptsächlich Vergleiche zwischen Wasser- und Dampfblanchieren durchgeführt, wobei die Verluste beider Verfahren zum Teil ähnlich hoch ausfielen (Spieß, 1984). Bei anderen Untersuchungen dagegen zeigte sich das Dampfblanchieren dem Wasserblanchieren überlegen, zum Beispiel wurden von Foda et al. (1967) 3,3 % weniger Gesamtcarotin- und 5,1 % weniger Vitamin C-Verluste in Bohnen festgestellt. Das Mikrowellenblanchieren führte im Vergleich zum Wasser- oder Dampfblanchieren bei Bohnen zu keinen besseren Ergebnissen.

Auch der Zusatz von Natriumhydrogencarbonat ins Blanchierwasser bewirkte keine Verbesserungen, es wurden sogar höhere Verluste von 9,6 % Carotin bzw. 7 % Vitamin C gegenüber normalem Dampfblanchieren gefunden (Foda et al., 1967). Ein hoher pH-Wert im Blanchierwasser von Bohnen führt zu größeren (Hudson et al., 1974), ein Zusatz von 2 % Kochsalz ins Blanchierwasser von Brokkoli zu geringeren Blanchierverlusten an Vitamin C.

Tab. 2 gibt einen Überblick über Blanchierverluste an Vitamin C in Bohnen, Erbsen und Karotten aus verschiedenen Studien. Die Blanchierverluste betragen 4-58 %.

Tab. 2: verschiedene Studien zu Blanchierverlusten von Bohnen, Erbsen und Karotten

Gemüse	Analyt	Blanchierverlust, %	Blanchierdauer	Blanchiertemperatur und -art (soweit angegeben)	Quelle
Bohnen	Vitamin C	34	k.A.	Wasser-	Spieß, 1984
Bohnen	Vitamin C	25	k.A.	Dampf-	Spieß, 1984
Bohnen	Vitamin C	15,8	2 min	Wasser- bei 60 °C	Böttcher, 1975
Bohnen	Vitamin C	14,9		Wasser- bei	Böttcher, 1975
Bohnen	Vitamin C	18,5		Wasser- bei	Böttcher, 1975
Erbsen und Bohnen	Vitamin C	ca. 25	k.A.		Herrmann, 1968
Erbsen und Bohnen	Vitamin C	20-25	k.A.	Wasser- und sofortige Kühlung	Fennema, 1975
Erbsen	Ascorbinsäure	33	3	Wasser- bei 93 °C	Guerrant et al. 1947
Erbsen	Ascorbinsäure	46	6	Wasser- bei 93 °C	Guerrant et al. 1947
Erbsen	Ascorbinsäure	58	9	Wasser- bei 93 °C	Guerrant et al. 1947
Erbsen	Vitamin C	20-30	k.A.	Wasser-	Selman, 1978
Erbsen	Vitamin C	20-30	1 min	Wasser-	Selman, 1978
Erbsen	Vitamin C	30-40	3 min	Wasser-	Selman, 1978
Erbsen	Vitamin C	4-16	3 min	Wasser-	Lee, 1986
Erbsen	Vitamin C	6,6	2 min	Wasser- bei 60 °C	Böttcher, 1975
Erbsen	Vitamin C	21,6			Böttcher, 1975
Erbsen	Vitamin C	32,6			Böttcher, 1975
Erbsen	Vitamin C	12,3	k.A.	Dampf-	Holmquist et al., 1954
Erbsen	Vitamin C	25,8	k.A.	Wasser-	Holmquist et al., 1954
Karotten	Vitamin C	46	k.A.	Wasser-	Bognár, 1987
Karotten	Vitamin C	34	k.A.	Mikrowellendampf-	Bognár, 1987
Karotten	Vitamin C	46	k.A.	Wasserblanchieren	Spieß, 1984

Auffällig ist, dass Bohnen (und in geringerem Maße Erbsen), die bei einer Temperatur von 60 °C blanchiert wurden, nach 9 Monaten TK-Lagerung höhere Vitamin C-Verluste im Vergleich zu Bohnen, die bei einer Temperatur von 90 °C blanchiert wurden, aufwiesen (Tab. 3).

Tab. 3: Lagerverluste an Vitamin C nach unterschiedlichen Blanchierbedingungen von Erbsen und Bohnen (Böttcher, 1975)

Gemüse	Analyt	Lagerverlust	Lagertemperatur und -dauer	Blanchierbedingungen
Erbsen	Vitamin C	39,8 %	-18 °C, 9 Monate	Wasser-, 2 min bei 60 °C
Erbsen	Vitamin C	13,2 %	-18 °C, 9 Monate	Wasser-, 2 min bei 95 °C
Bohnen	Vitamin C	61,8 %	-18 °C, 9 Monate	Wasser-, 2 min bei 60 °C
Bohnen	Vitamin C	19,5 %	-18 °C, 9 Monate	Wasser-, 2 min bei 95 °C

An dieser Stelle sei angemerkt, dass es wichtig ist, die Blanchiertemperatur nach der Inaktivierungszeit möglichst schnell zu erniedrigen, um fortlaufende thermisch bedingte Abbauvorgänge zu vermeiden.

### 2.1.3. Einfluss der Lagerbedingungen

Die Atmung der Zellen im geernteten Gemüse verursacht einen schnellen Anstieg der Temperatur und führt zu Abbauprozessen (Böttcher, 1996; Sánchez-Mata et al., 2003). Bohnen weisen bei Temperaturen  $> 20\text{ °C}$  eine starke metabolische Aktivität auf, was die Bildung von durchschnittlich  $212\text{ ml CO}_2$  pro kg und h zur Folge hat (Cano et al., 1998). Dadurch werden die schnell verfügbaren Energiereserven (vorwiegend Zucker) verbraucht, und der degenerative Verfall, verursacht durch Pilze und verschiedene Mikroorganismen (wie zum Beispiel mit *Thielaviopsis brassicola* in Karotten), beginnt (Seljåsen et al., 2004).

#### 2.1.3.1. Einfluss der Einfrier- und Lagertemperatur

Einen entscheidenden Einfluss auf die Lagerfähigkeit von Gemüse hat die Kühl- bzw. Einfriergeschwindigkeit. Bei größerer Geschwindigkeit werden kurze, bei kleinerer Einfriergeschwindigkeit lange Eiskristalle gebildet (Spieß, 1992). Längere Kristalle führen zur Zerstörung des Zellgewebes, was die Qualität des Gefriergutes nachhaltig beeinflusst. Wegen der Entstehung eines Geschwindigkeitsgradienten des Wasserentzugs zum Inneren des Gefriergutes, bilden sich beim Gefrierprozess zunächst außen am Gefriergut kleinere und innen größere Eiskristalle. Außerdem gefriert extrazelluläres Wasser schneller als intrazelluläres Wasser (da die Konzentration von gelösten Stoffen außen im Vergleich zu innen niedriger ist), wodurch eine Diffusion des intrazellulären Wassers in den extrazellulären Raum zu beobachten ist. Dieses fließt zum Äußeren des Gefriergutes, tritt beim Auftauen aus dem Gefriergut aus und geht verloren (Bognár und Wolf, 2002). Durch lange Eiskristalle werden Zellen zerstört und der Zellsaft tritt bei langsamer Gefriergeschwindigkeit aus. Es kommt zu einer Aufkonzentration an sauren Salzen wodurch es zu Hydrolysen von Proteinen und Kohlenhydraten kommt (Hein, 1971).

Charoenrein und Reid (1989) berichteten von durchschnittlich 14 % weniger Vitamin C-Verlusten bei einem schnellen gegenüber einem langsamen Einfrierprozess von grünen Bohnen. Nach fortschreitender Lagerdauer oder bei höheren Gefrierlagertemperaturen ( $-5\text{ °C}$  statt  $-18\text{ °C}$ ) gleichen sich die gesamten Vitamin C-Verluste der schnell und der langsam eingefrorenen Ware aber wieder an. Fuchigami et al. (1995) fanden für schnell eingefrorene Karotten eine höhere Festigkeit nach dem Auftauen im Vergleich zu langsam eingefrorenen Karotten.

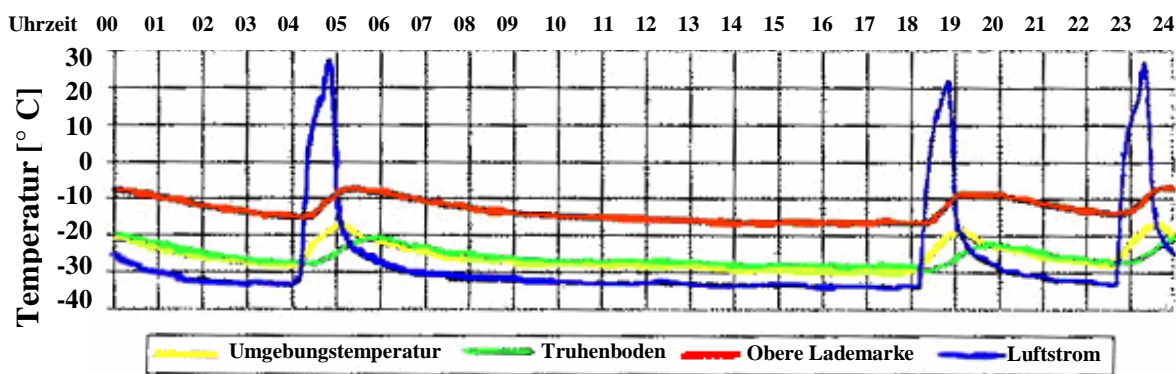
Besonders kritisch ist der Temperaturbereich zwischen  $0$  und  $-12\text{ °C}$  (Bognár und Wolf, 2002; Reid et al., 2003). Danach werden bei  $-10$  bis  $-12\text{ °C}$  bis zu 90 % der gesamten Vitamin C-Verluste bis zum Erreichen der endgültigen Lagertemperatur von  $-25\text{ °C}$  festgestellt (Bognár und Wolf, 2002).

Ein großes Problem für die Qualität des Produktes stellen Temperaturschwankungen während der TK-Lagerung dar, da durch die Störung der Kristallisation (bei kurzzeitig höheren Temperaturen außerhalb des Lebensmittels tritt Wasserdampf aus und kondensiert wieder) starke Qualitätseinbußen eintreten.

In modernen Anlagen wird das Gefriergut in kürzester Zeit auf die TK-Lagertemperatur abgesenkt (siehe 2.2), allerdings wird während Transport und Handel nicht immer die in Deutschland nach der Verordnung über tiefgefrorene Lebensmittel vorgeschriebene Temperatur von  $-18\text{ °C}$  erreicht, wobei Schwankungen um bis zu  $3\text{ °C}$  eintreten dürfen.

Abb. 4 zeigt anhand dreier Auftauvorgänge (zum Beispiel bei Stromausfällen), dass eine halbe Stunde nach Starten des Abtauvorgangs im Bereich der oberen Lademarke einer TK-Truhe kritische Temperaturen ( $> -10\text{ °C}$ ) gemessen werden, die erst 5 h später wieder unterschritten werden. Gleiches gilt für die Temperatur am TK-Gut (Umgebungstemperatur).

Abb. 4: Veränderung der Temperatur während dreier Auftauphasen in 24 h an verschiedenen Stellen einer Handels-TK-Truhe (Lebensmittelbrief, 1999).



Allgemein gilt, dass bei einer Erhöhung der Lagertemperatur um  $10\text{ °C}$  die Oxidation ernährungsphysiologisch wichtiger Inhaltsstoffe um den Faktor 2-3 ansteigt (Bognár, 1999). Enzymatisch katalysierte Reaktionen können ohne spezielle Vorbereitung (Blanchieren) auch bei tiefen Temperaturen weiterlaufen; selbst bei  $-30$  bis  $-35\text{ °C}$  sind Rest-Aktivitäten (zum Beispiel der Ascorbatoxidase) bestimmbar (Cremer und Aign, 1966). Ebenso können auch nicht-enzymatische Bräunungsreaktionen in Gemüse im gefrorenen Zustand ablaufen, zum Teil sogar schneller als bei Raumtemperatur. Zum Beispiel läuft im gefrorenen Gemüse die Oxidation von Vitamin C (Fennema, 1966) ab, welche durch, in Blanchierschritten entstandene Radikale ausgelöst wird.

Da einige Schimmelpilze bzw. Hefen Temperaturen von unter  $-18\text{ °C}$  bzw.  $-12\text{ °C}$  überleben (Herrmann, 1972, berichtet über Koloniebildungen auf grünen Bohnen bei  $-10\text{ °C}$ ), ist aus mikrobiologischen Gründen eine Temperatur bei der TK-Lagerung von unter  $-18\text{ °C}$  mindestens zu erreichen.

### 2.1.3.2. Einfluss der Luftfeuchte und der Lageratmosphäre

Eng verknüpft mit der Lagertemperatur ist der Einfluss der Luftfeuchte und der Lageratmosphäre auf die Qualität des Gefrierguts. Die Luftfeuchte sollte möglichst hoch liegen (Negi, 2000), da bei der TK-Lagerung durch Sublimation Austrocknungseffekte verhindert werden müssen. Eine relative

Luftfeuchte (rF) über 90 % führte in Gemüse zu durchschnittlich 2-3 mal niedrigeren Verlusten an Vitaminen und sekundären Pflanzenstoffen gegenüber einer rF von unter 75 %, wobei aber auf die Gefahr einer mikrobiellen Belastung zu achten war (Bognár, 1995a). Für Karotten wurde die optimale Luftfeuchte bei 0 °C mit 93-98 % angegeben (Salunkhe und Desai, 1984).

Die Zusammensetzung der Lageratmosphäre beeinflusst die Haltbarkeit der Produkte ebenfalls maßgeblich: Durch Entzug von Sauerstoff wurden geringere Aktivitäten an Polyphenoloxidase, Ascorbatoxidase und Glycoloxidase festgestellt (Kader, 1986). Empfohlen wurde zum Beispiel für Bohnen ein Sauerstoff-Restgehalt von weniger als 5 % (Kader, 1997). Es wird vermutet, dass sich durch die Zusammensetzung der Atmosphäre sogar die Genexpression für obengenannte Enzyme verhindern lässt.

Mithilfe kontrollierter CO<sub>2</sub>-Gehalte in kontrollierter Atmosphäre (CA) lassen sich Abbauvorgänge von ernährungsphysiologisch wertvollen Inhaltsstoffen ebenfalls minimieren. Lee (2000) führte aus, dass der Vitamin C-Gehalt in verschiedenen Gemüsearten bei einer Lagerung bei bis zu 10 % CO<sub>2</sub> signifikant höher lag als der von Gemüse, das in nicht-kontrollierter Atmosphäre gelagert wurde.

Allerdings muss betont werden, dass die Anwendung der CA begrenzt ist durch die bei Sauerstoffmangel in organischer Materie üblicherweise eintretenden Gärungsvorgänge. Dabei kann es zur Alkoholentwicklung kommen (Sánchez-Mata et al., 2003 und Seljåsen et al., 2004), außerdem können sich unerwünschte anaerobe Mikroorganismen ansiedeln.

Ein weiteres Gas, dessen Einfluss auf die Lagerung von Gemüse eingehend untersucht wurde, ist das Ethylen: Nach Czepa und Hofmann (2003) und Seljåsen et al. (2004) stiegen in Karotten in Folge höherer Ethylengehalte die Gehalte mancher Terpene (zum Beispiel die Aromastoffe 6-Methoxymellein und Eugenin) signifikant an. Neben dem veränderten Aromastoffprofil kam es außerdem zum Abbau von Saccharose zu Fructose und Glucose, was das sensorische Profil von ethylenbegasteten Karotten im Vergleich zu in Luft-Atmosphäre gelagerten Karotten nachhaltig veränderte. Bei Erbsen konnte Lee (1986) beweisen, dass Ethylen, welches vor allem bei nicht-entschoteten Erbsen schnell anstieg, Enzymsysteme anregte, die zur Bildung von Peroxyfettsäuren neigten und eine Ranzigkeit in Erbsen hervorriefen. Nach 7 Monaten wurden 3,5-mal mehr Peroxide in Erbsen, die mit Ethylen begast wurden und in Erbsen, die in Schoten gelagert wurden, gefunden im Vergleich zu Erbsen, die ohne Ethylen, ohne Hülse und kontrolliert gelagert wurden (Lee, 1986).

### **2.1.3.3. Lichteinfluss**

Licht hat - besonders im UV-Bereich - einen zerstörerischen Effekt auf die Zusammensetzung vieler Gemüsearten. Da es aber nicht einfach ist, den Einfluss des Lichts von anderen Einflüssen bei der Lagerung abzutrennen, lassen sich nur wenige Studien finden, die sich eingehender mit dem Lichteinfluss auf die Lagerung der hier untersuchten Gemüsearten befassen. Kopas-Lane und Warthesen (1995) fanden bei kühlgelagerten (bei 4 °C) Karotten im Gegensatz zu Spinat keinen Einfluss des Lichts auf Carotingehalt und -muster.

In diesem Zusammenhang sei aber auf den lichtabschirmenden Effekt der Verpackung (siehe 2.1.3.4.) verwiesen. Der Einfluss von Licht wird eingehender unter 2.3. bei den Besonderheiten über die untersuchten Analyten behandelt.

#### 2.1.3.4. Einfluss der Verpackung

Der Einfluss der Verpackung ergibt sich zum Teil aus denselben Effekten die schon bei der Lageratmosphäre behandelt wurden. Durch eine dicht anliegende Verpackung wird das Austrocknen verhindert und der bei der TK-Lagerung durch sublimiertes Eis an der Oberfläche des Lebensmittels entstehende Gefrierbrand verhindert (Fennema, 1966; Spieß, 1992). Bei Kühlschrank-Temperaturen ist es dagegen wichtig, eine atmungsaktive Verpackung zu verwenden (Seljåsen et al., 2004), ansonsten wird Ethanol gebildet und Zucker abgebaut. Durch die Verpackung wird lokal eine CA simuliert; Beuscher (1979) berichtete, dass das in Plastiktüten gebildete CO<sub>2</sub> ausreichte, den Qualitätsverlust bei Bohnen zu verringern. Polyethylenverpackungen verhinderten bei einigen Karotten-Sorten das Austrocknen und den Gesamtcarotin-Abbau (Bajaj et al., 1978).

#### 2.1.4. Einfluss von nicht-industriellen Faktoren

Eine Reihe weiterer, nicht industrieller Faktoren beeinflusst bis zum Anrichten zum Verzehr die Qualität von Gemüse. Dabei spielt die Haushalts-Vorratshaltung eine nicht zu unterschätzende Rolle. Manch wenig aufgeklärter Verbraucher ist sich dabei über Kälteempfindlichkeiten einiger Gemüsearten wenig bewusst. Tab. 4 zeigt, dass Erbsen und Karotten für eine Kältelagerung (Lagerung knapp über 0 °C) geeignet sind, Bohnen dagegen nicht.

Tab. 4: Kälteempfindliches und kühlenschrankverträgliches Obst und Gemüse (Trierweiler, 2003).

Kälteempfindlich		Kühlschrankverträglich	
Obst	Gemüse	Obst	Gemüse
Ananas	Auberginen	Äpfel	Artischocken
Avocados	Gurken	Aprikosen	Blattsalate, Spinat
Bananen	Grüne Bohnen	Birnen	Blumenkohl
Granatäpfel	Kartoffeln	Erdbeeren	Broccoli
Guaven	Kürbis	Feigen	Erbsen
Kochbananen	Melonen	Kirschen	Karotten, Rüben
Mangos	Okra	Kiwis	Knoblauch
Oliven	Paprika	Nektarinen	Kohl, Rosenkohl
Papayas	Tomaten	Persimonen	Radieschen, Rote Rüben
Passionsfrüchte	Wassermelonen	Pflaumen	Sellerie
Zitrusfrüchte	Zucchini	Pfirsiche	Spargel
		Weintrauben	Zuckermais
		Zwetschgen	Zwiebeln

Der nächste Verfahrensschritt, das Auftauen, ist von der individuellen Verwendung abhängig, ein Auftauen im Kühlschrank oder bei Raumtemperatur (RT) führt (aufgrund enzymatisch katalysierter

Reaktionen) zu Verlusten wertbestimmender Inhaltsstoffe und ist aus mikrobiologischen Gründen nicht zu empfehlen und auch ein Auftauen in der Mikrowelle führt bei unsachgemäßer Durchführung (Bildung so genannter lokaler Hitzeherde) zum thermisch induziertem Abbau von Vitaminen (Fennema, 1966).

Durch Auslaugschritte beim Zubereiten treten ebenfalls Verluste wertbestimmender Inhaltsstoffe auf: So verlieren Karotten zum Beispiel nach 15 min Wässern (Wasser in einen Eimer mit dem Gemüse laufen lassen) rund 4 % an Vitamin B<sub>1</sub>, nach 60 min Wässern sind es mehr als 10 % (Bognár, 1985).

Das Zerkleinern von Gemüse hat unterschiedliche Auswirkungen auf den Vitamin- und Nährstoffgehalt: Beim Extremfall „Mischen“ wurde nach Bognár (1985) bei Frühjahrs-Spinat unmittelbar nach dem Mixen 9 % und nach zusätzlich 2 h Stehenlassen 33 % des ursprünglichen Vitamin C-Gehalts verloren.

Die höchsten Verluste wichtiger Inhaltsstoffe in Gemüse im Haushalt verursacht die Zubereitung (Bognár, 1985). Nach Astier-Dumas et al. (1985) ergaben sich beispielsweise bei Bohnen derselben Charge während des Dampfkochens Verluste von 9,6 mg Vitamin C/100 g FG und während des Kochens mit Wasser 7,6 mg Vitamin C/100 g FG. Nursal und Yücecan (2000) berichteten über den Einfluss verschiedener Oberfläche-Masse-Verhältnisse (der Gemüseart) und das optimale Kochwassermengenverhältnis. So wurden in Karotten bei höheren Kochwassermengen (im Verhältnis zur Gemüsemasse) signifikant höhere Abnahmen im Chlorogensäure-Gehalt gefunden und in Bohnen wurden nach Andlauer et al. (2002) Rutin- bzw. Quercitrin-(Quercetin 3-*O*-rhamnosid) Verluste von 30 % (bei Wasser zu Bohnen 1:1, v/w) und 2 % (bei Wasser zu Bohnen 1:0,13, v/w) gefunden.

Nach Bognár (1985) sind die durchschnittlichen, thermisch bedingten Verluste an B-Vitaminen und Vitamin C bei sachgemäßer Ausführung der Garverfahren Mikrowellengaren, Kochen und Dünsten (Anpassung der Wassermenge) gleich hoch. Die Höhe der gewählten Gartemperatur (50-100 °C) ist bei optimaler Wahl der Garzeit (1,5-16 min) nicht bestimmend für die Verluste an wertgebenden Inhaltsstoffen.

Beim Aufstellen einer Kochvorschrift muss außerdem beachtet werden, dass vorblanchiertes TK-Gemüse andere Ankochzeiten hat als frisches. Es wird immer empfohlen, wenn möglich auf einen Auftauschritt zu verzichten und TK-Gemüse noch gefroren zu kochen (Fennema, 1966; Timm und Herrmann, 1996).

## 2.2. Technologie der Produktion von TK-Gemüse

Der industrielle Ablauf der Gewinnung von TK-Gemüse besteht im Wesentlichen aus den Schritten Waschen, Schälen, Schneiden, Blanchieren, Gefrieren, Verpacken und Lagern.

Die größte Verbreitung hat das kostengünstigere Wasserblanchieren. Dabei werden Temperaturen von 75 bis 95 °C 1-10 min lang angewandt (Selman, 1994); zum Teil wird industriell gewonnenes Gemüse auch dampfblanchiert, während Mikrowellen-, Infrarot-, Vakuumdampf- oder Heißgasblanchieren kaum Anwendung finden (Ponne et al., 1994; Selman, 1994; Ramesh et al., 2002).

Als Gefrierverfahren kommen zwei verschiedene Methoden zum Einsatz: Das Kontaktgefrieren (eines fertig verpackten Produkts, zum Beispiel Spinat) wird auf Metallplatten durchgeführt (Nachteil: zu hohe Feuchtigkeitsverluste) oder (bei Schüttgut wie Erbsen, Bohnen und Karotten) das Luftgefrieren, bei dem ein aufsteigender Kälteluftstrom (mit 3 m/sec) das Gefriergut mit Geschwindigkeiten von bis zu 10 cm/h bei  $-35\text{ °C}$  innerhalb von wenigen Minuten (4 min bei Erbsen) schockgefriert (Timm und Herrmann, 1996). Bei letzterer Methode haben sich so genannte Wirbelschichtgefrierer -auch Fließbettfroster genannt- durchgesetzt (Wirbelbettdicke etwa 25 mm bei Erbsen). Es existieren verschiedene Ausführungen, unter anderen der Tunnel-Wirbelschichtgefrierer- (Abb. 5a und 5b) und so genannte Spiraltransportgefrier-Apparate (Advancedfreezer, 2006) (Abb. 6).

Abb. 5a: Wirbelschichtgefrierer, Tunnel-Ausführung: 1 Zufuhr des Gefrierergutes, 2 Produkttrug mit seitlich angebrachten Luftleitflächen, 3 Austrag des gefrorenen Gutes, 4 Luftkühler, 5 Ventilator, rote Pfeile stellen den Luftstrom dar (Advancedfreezer, 2006)

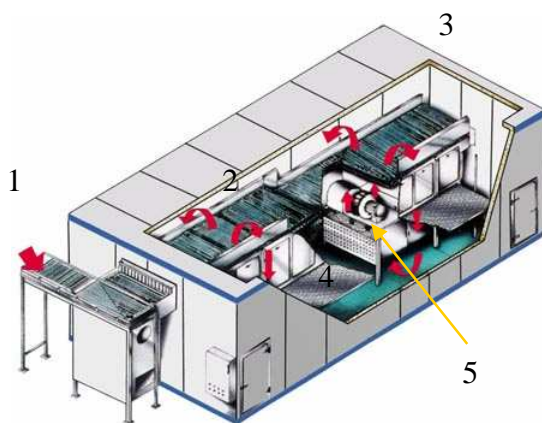


Abb. 5b: Wirbelschichtgefrierer, Tunnel-Ausführung, schematisch:

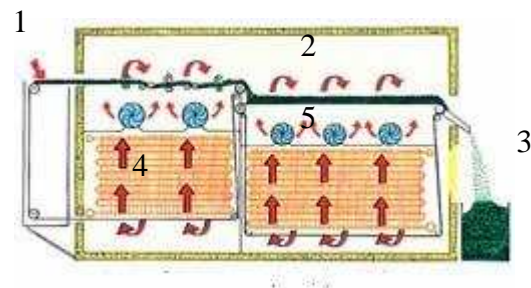
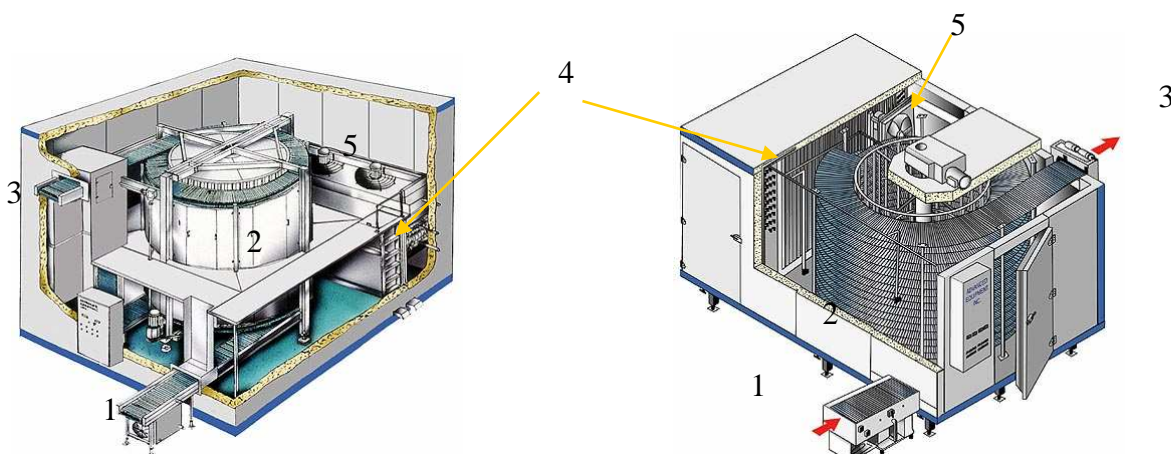


Abb. 6: Wirbelschichtgefrierer, 2 Spiraltransport-Ausführungen (Zeichenerklärung siehe Abb. 5a)



Gefrieren mit tiefgekühlten Flüssigkeiten (Stickstoff und Kohlendioxid) ist zur Gewinnung von TK-Gemüse nicht verbreitet.



Einige Gemüsearten (wie Karotten) müssen vor dem Tiefkühlen üblicherweise mittels eines so genannten Hochdruckdämpfers und eines so genannten Laugenschälers geschält werden (Timm und Herrmann, 1996). Danach werden diese in (max. 3 mm dicke) Scheiben geschnitten und, wie bei Erbsen und Bohnen beschrieben, tiefgefroren.

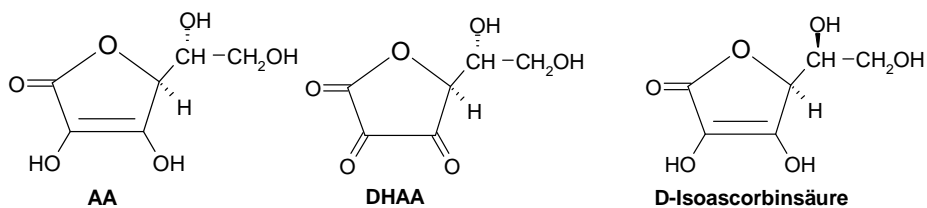
## 2.3. Biochemie, Ernährungsphysiologie und Vorkommen der Qualitätsparameter Vitamin C, Carotine und Polyphenole

### 2.3.1. Vitamin C

Vitamin C ist definitionsgemäß die Summe an Substanzen, welche eine der L(+)-Ascorbinsäure (AA) vergleichbare biologische Aktivität aufweisen. Dabei ist bemerkenswert, dass die AA im Gleichgewicht mit einigen ihrer Isomere (Abb. 7) steht (Steffan, 2000), wovon nur wenige eine der AA vergleichbare biologische Aktivität aufweisen. Das primäre Oxidationsprodukt, die Dehydro-L-(+)-Ascorbinsäure (DHAA) ist reversibel in die AA umwandelbar und wird ebenfalls voll zum Vitamin C hinzu gerechnet. D(-)-Ascorbinsäure zeigt dagegen keine und einige Isoascorbate eine vergleichsweise niedrige AA-Aktivität (Procházka, 1964; Isler et al., 1998). DHAA kann bei höheren pH-Werten und höheren Temperaturen schnell irreversibel zur 2,3-Diketogulonsäure (DKGS) und weiteren Produkten abgebaut werden, die nicht mehr Vitamin C-aktiv sind (Lee und Kader, 2000). Spieß (1992) schlug vor, als Frischemarker das Abbauprodukt DKGS zu bestimmen.

Die alleinige Bestimmung von AA ohne Bestimmung des DHAA-Anteils ist auf jeden Fall unzureichend um den Vitamin C-Status in Gemüse zu erfassen.

Abb. 7: Formeln von AA, DHAA, D(-)-Isoascorbinsäure



Die vielen weiteren biologischen Funktionen von Vitamin C, wie zum Beispiel die Komplexierungsfähigkeit von Eisen, die Beteiligung an verschiedenen Hydroxylierungsreaktionen (zum Beispiel von Prolin im Bindegewebe, beim Aufbau von Carnitin und bei Cytochrom-P450-abhängigen Entgiftungen), die Beteiligung an der Bildung von Steroidhormonen und an der Detoxifizierung von Nitrosaminen sind einschlägigen Lehrbüchern zu entnehmen und können an dieser Stelle nicht näher behandelt werden.

Vitamin C ist als wasserlösliches Vitamin als Marker für andere wasserlösliche Vitamine aus dem B-Komplex vorgeschlagen worden. Aus diesem Grunde und aufgrund seiner besonderen Empfindlichkeit gegenüber Licht, Sauerstoff, chemischer Oxidation und höheren Temperaturen wurde es für diese Studie ausgewählt, um die Qualität des untersuchten Gemüses zu beurteilen.

### 2.3.2. Provitamin A-Carotinoide

Das Provitamin  $\beta$ -Carotin ist eines von 500-600 bisher bekannten Carotinoiden, wovon ca. 40 im durchschnittlichen Nahrungsangebot westlicher Industrienationen vorhanden sind. Von allen bekannten Carotinoiden sind ca. 10 % Vitamin A-aktiv (Tan, 1988), 35 wurden bisher in menschlichem Plasma identifiziert (Sies und Stahl, 1998). Abhängig von der Anzahl an  $\beta$ -Ionon-Ringen und von der Position der Doppelbindungen resultieren unterschiedliche Vitamin A-Aktivitäten. Die *cis-trans*-Konfiguration der Doppelbindungen (bei  $\beta$ -Carotin alle *trans*-) hat ebenfalls einen Einfluss auf die Vitamin A-Aktivität des jeweiligen Carotinoids. Im menschlichen Körper werden aus einem Molekül  $\beta$ -Carotin nicht die theoretisch möglichen 2 Moleküle Retinol gebildet, sondern weniger: Laut Edwards et al. (2002) entsprechen sechs Teile  $\beta$ -Carotin und zwölf Teile  $\alpha$ -Carotin (und andere Carotine wie zum Beispiel  $\chi$ -Carotin und Cryptoxanthin) nicht mehr einem Teil Retinol. Nach neuen Umrechnungsfaktoren sind 12 Teile  $\beta$ -Carotin bzw. 24 Teile  $\alpha$ -Carotin einem Teil Retinol äquivalent. Die Umrechnung in I.U. (Internationale Einheiten) geht davon aus, dass 0,6  $\mu\text{g}$   $\beta$ -Carotin bzw. 1,2  $\mu\text{g}$   $\alpha$ -Carotin einer I.U. entsprechen (Klein und Perry, 1982). Genaue Vitamin-A-Aktivitäten von *cis*-Isomeren der Carotine sind offiziell noch nicht festgelegt worden. Nach Zechmeister (1962) und Sweeney und Marsh (1973) ist von durchschnittlich noch einmal 50 % weniger Vitamin-Aktivität des jeweiligen *cis*-Isomers gegenüber dem entsprechenden *all-trans*-Isomer auszugehen.

Vitamin A wird von ärmeren Bevölkerungsteilen in manchen Teilen der Welt (durch primäre Quellen wie Leber, Eier und Fleisch) und von manchen Vegetariern nicht ausreichend aufgenommen (Ong und Tee, 1992). Dabei wird der Vitamin A-Bedarf in entwickelten Ländern zu etwa 60 %, in unterentwickelten Ländern zu ca. 82 % mit Provitaminen aus Gemüse gedeckt (Simpson, 1983).

Die Bioverfügbarkeit von Carotinen ist von vielen Faktoren abhängig: dazu zählen eine gleichzeitige Fett-, Vitamin E- oder Ballaststoff-Aufnahme, der Protein- und der Zinkstatus der jeweiligen Person, sowie die Anwesenheit von anderen Carotinoiden, mittelkettigen Fettsäuren und einigen Fettersatzstoffen (Mono- und Di-Ester aus Fettsäuren und Zuckern), welche die Bioverfügbarkeit der Carotine senken (Bub et al., 2000).

In weiteren Studien wurde nachgewiesen, dass bestimmte Krankheiten wie Fieberinfektionen bei Kleinkindern, mikrobielle Kontaminationen (Rodriguez-Amaya, 1997) oder Rauchen (Biesalski und Frank, 1995) die Bioverfügbarkeit von Provitamin A-Carotinen senkten.

Viel diskutiert wurden neben der Vitamin A-Aktivität andere protektive Wirkungen von  $\beta$ -Carotin, die auf antioxidative Eigenschaften zurückzuführen waren. Zumeist wurde über Wirkungen wie das Quenching von Singulett-Sauerstoff oder die Fähigkeit von  $\beta$ -Carotin, Radikale abzufangen (Rodriguez-Amaya, 1997) berichtet. Allerdings waren Quenching-Effekte bei anderen Carotinoiden zum Teil höher als bei  $\beta$ -Carotin (Bramley, 2000).

Krinsky (1989a) beobachtete dagegen eine prooxidative Wirkung von  $\beta$ -Carotin. Jedoch wurden letztere Ergebnisse bei sehr hohen, nicht physiologischen Sauerstoff-Partialdrücken von 760 Torr erhalten. Auch Albanes et al. (1996) fanden negative Wirkungen von  $\beta$ -Carotin: Sie konnten zeigen, dass erhöhte Lungenkrebs-Fälle bei gleichzeitiger  $\beta$ -Carotin-Aufnahme und Exposition gegenüber Zigarettenrauch oder Asbeststaub auftraten.

Khachik et al. (1998) nahmen als Wirkungsmechanismen für die Anticancerogenität des  $\beta$ -Carotins eine Induktion von Phase-II-Enzymen an, die den intrazellulären Glutathion-Spiegel erhöhten, wodurch mutagene Elektrophile in der Zelle verstärkt abgebaut wurden. Dieselben Autoren berichteten, dass  $\beta$ -Carotin eine verstärkte Zellkommunikation bewirkte: Durch eine verstärkte Expression von bestimmten Botenstoffen bzw. Proteinen (zum Beispiel Connexin 43) sollen normale Zellen in der Lage gewesen sein, Krebszellen zu umschließen und diese am unkontrollierten Wachstum zu hindern. Dies wurde durch eine Verlängerung der Initiationsphase von Röntgenstrahlen- und Methylcholanthren-induzierter Cancerogenese bestimmt. Krinsky und Deneke (1982) fanden außerdem, dass Liposomen, die einer Oxidation mittels Kaliumperoxodichromat ausgesetzt waren, bei Zugabe von  $\beta$ -Carotin, eine signifikant verringerte Menge an Lipoperoxiden enthielten.

In einer in vivo-Studie wurden verminderte Gehalte an Pentan und Hexan (zwei Marker für oxidativen Stress) in der Ausatemluft von Vitamin C-mangelernährten und Tetrachlorkohlenstoff-gefütterten Meerschweinchen nach Gabe von  $\beta$ -Carotin gefunden (Krinsky, 1989b). Bei einer Bioverfügbarkeits- und Interventionsstudie (Bub et al., 2000) wurden nach strenger Diät mit Karottensaft, Spinatpulver und Tomatensaft, hohe  $\beta$ -Carotingehalte in den LDL-(Lipoproteine niedriger Dichte), HDL-(Lipoproteine höherer Dichte) und VLDL-(Lipoproteine sehr niedriger Dichte) Blut-Lipoproteinen (ohne ein spezielles Verteilungsmuster) der Probanden gefunden. Der Plasma-Malondialdehyd-Spiegel (Messung als Thiobarbitursäure-reaktive Spezies) und der Gehalt an konjugierten Fettsäuren (Messung über die UV-Absorption der Dienbindungen) als Marker für den Oxidationsstatus waren allerdings nur bei der Einnahme von Tomatensaft signifikant erniedrigt, was als Hinweis gewertet wurde, dass unterschiedliche Lebensmittelmatrices zu unterschiedlichen Bioverfügbarkeiten des  $\beta$ -Carotins führten.

Der genaue Mechanismus der Eigenschaft von  $\beta$ -Carotin, Radikale abzufangen, konnte bislang nicht aufgeklärt werden, da noch keine stabilen Fettsäure- $\beta$ -Carotin-Intermediate nachgewiesen (ein hypothetisches Intermediat beschrieb Krinsky, 1989c) werden konnten und nur in einer Studie mittels ESR-(Elektronenspin-Resonanz) Spektroskopie ein delokalisiertes  $\beta$ -Carotin-Radikal gefunden wurde (Pryor und Govindan, 1981).

Zum Vorkommen von Carotinen in Karotten wurde bisher über Gehalte an  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin, seltener über einen geringen Anteil an  $\gamma$ -Carotin,  $\epsilon$ -Carotin und Lycopin (Kidmose et al., 2004), sowie einiger entsprechender *cis*-Isomere berichtet.

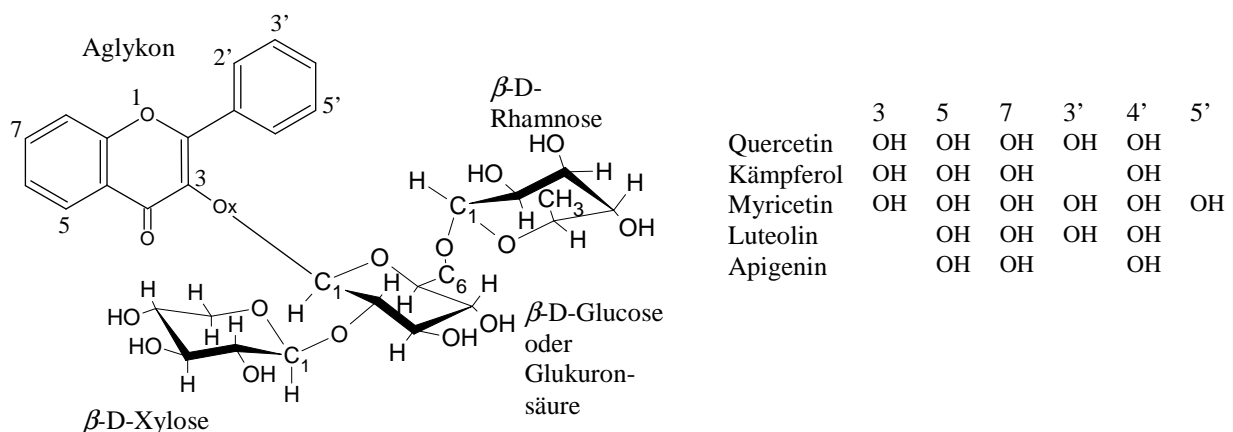
Carotinoide sind Vorläufer für wichtige Aromastoffe, die die Qualität von Karotten nachhaltig beeinflussen. Nach Arya et al. (1979) waren ab 20-45 % Gesamtcarotinoid-Verlusten deutlich

wahrnehmbare Fehlgerüche festzustellen. Nach Henry et al. (2000) waren  $\beta$ -Apo-13-carotenon und  $\beta$ -Apo-14'-carotenal (Bindungen 13-14 und 13'-14' werden vorwiegend angegriffen) die primär aus  $\beta$ -Carotin gebildeten Abbauprodukte. Krinsky (1989a) konnte außerdem  $\beta$ -Ionon-haltige Substanzen und deren Peroxide als Endprodukte einer enzymatisch katalysierten Oxidation (mit Lipoxygenase) von Carotinen nachweisen.

### 2.3.3. Andere sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe

Eine weitere Gruppe ernährungsphysiologisch wirksamer Substanzen aus der Reihe der sekundären Pflanzeninhaltsstoffe sind die Polyphenole. Flavonoide (als eine Untergruppe der Polyphenole) nehmen in Gemüse die mengenmäßig wichtigste Position ein. Die am häufigsten vorkommenden Flavonoide sind die so genannten Flavonole (Untergruppe der Flavonoide), aber auch (vor allem in der Samenschale von Leguminosen) andere Flavonoide, wie Anthocyane und Cyanidine kommen in Gemüse vor. Wichtige, in pflanzlichem Gewebe immer an Zucker gebundene Flavonoide sind neben Quercetin, Kämpferol und Myricetin noch Luteolin, Apigenin, Petunidin, Malvidin und Delphinidin (Benninger und Hosfield, 2003). In Abb. 8 ist ein Strukturelement und an O<sub>x</sub> gebunden, die häufigsten Zuckerreste dargestellt.

Abb. 8: Flavonoidgrundstrukturen



Da die Bildung abhängig ist von der Lichteinstrahlung (Herrmann, 1976), ist es nicht verwunderlich, dass diese Substanzen überwiegend in den Blättern zu finden sind (Harper et al., 1970 und Bilyk et al., 1984). Die an den Flavonoiden gebundenen, am häufigsten vorkommenden Zucker sind Glucose, Galactose, Rhamnose, Arabinose, Xylose, Apiose und das Zuckerderivat Glukuronsäure; außerdem wurden (über Estergruppen an Flavonoide gebundene) p-Hydroxyzimtsäure, p-Hydroxybenzoesäure, Benzoe-, Malon- und Essigsäure gefunden (Herrmann, 1976).

Die Hauptaufnahme von Flavonoiden erfolgt durch Tee, Zwiebeln, Brokkoli, Äpfel und grüne Bohnen. Für die USA wurde die durchschnittliche tägliche Aufnahme an Gesamt-Flavonoiden auf 1 g

geschätzt (Kühnau, 1976), für die Niederlande wurde von Hollman et al. (1995) eine tägliche Aufnahme von 16 mg Quercetin angegeben.

Zu den Struktur-Wirkungs-Beziehungen von verschiedenen Flavonoiden wurde eine Vielzahl an Untersuchungen durchgeführt. Die wichtigsten Eigenschaften in diesem Zusammenhang waren die Fähigkeit als Wasserstoff-Donator zu fungieren, Eisen- und Kupfer-Ionen zu komplexieren, das Abfangen von Singulett-Sauerstoff und das Regenerieren von  $\alpha$ -Tocopherol (Rice-Evans, 1996). Dabei ist beobachtet worden, dass eine Diol-Struktur an 3'-4'-Position zu einer höheren (Quercetin hatte einen höheren TEAC-Wert als Kämpferol) und eine Glykosylierung an 3-Position zu einer niedrigeren antioxidativen Kapazität (bestimmt mit dem TEAC-Test) führt. Bemerkenswert ist dabei, dass für Quercetin zum Teil höhere antioxidative Wirkungen (bestimmt mit dem TEAC-Test) als für Vitamin C gefunden wurden (Rice-Evans et al., 1995 und Price et al., 1998). Pryor et al. (1993) fanden, dass in einem lipophilen Test-System mit Linolsäure als Oxidations-Substrat und ABAP (2,2'-Azo-bis-(2-amidinopropan)) als Radikalstarter Quercetin dem Vitamin E aufgrund der schwächeren Grenzflächenaktivität unterlegen ist. Eine Übersicht über die Vielzahl weiterer Tests mit zum Teil sehr unterschiedlichen Ergebnissen findet sich bei Rice-Evans und Miller (1996). Außerdem wurde darüber berichtet, dass Flavonoide zudem durch ihre Eigenschaft als Inhibitoren der Lipoxygenase und der Prostaglandinsynthetase Radikalbildungen verhinderten (Cremer und Aign, 1966). Eine UV-Filterwirkung (nach Caldwell, 2003, ergaben sich geringere UV-Durchlässigkeiten in der Epidermis bei Pflanzen mit hohen Gehalten an Polyphenolen) könnte ein weiterer Grund für die Schutzwirkung der Flavonoide gegenüber einer Lipidperoxidation sein.

Die Vielzahl an in vitro-Studien steht einem großen Mangel an in vivo-Erklärungsmodellen gegenüber und die biochemischen Funktionen der Flavonoide im menschlichen Körper sind nach wie vor nur unzureichend geklärt; einfache Exkretionsstudien konnten diese Zusammenhänge bisher nicht genauer aufschlüsseln.

Oft wurde eine inhibierende Wirkung der Flavonoide auf die LDL-Oxidation festgestellt; der physiologische Mechanismus sei an dieser Stelle kurz dargestellt (Whalley et al., 1990): Fettsäuren aus dem LDL werden von verschiedenen Zelltypen zu Peroxyfettsäuren oxidiert, wobei entstandene reaktive Aldehyde an Lysinreste des so genannten LDL-Apolipoproteins B-100 binden, was eine Neutralisation der positiven LDL-Gesamtladung zur Folge hat. Sobald LDL-eigene Antioxidantien (wie vor allem  $\delta$ -Tocopherol und  $\beta$ -Carotin) aufgebraucht sind, wird die neutralisierte Form der LDL von Rezeptoren von Makrophagen verstärkt gebunden und vermehrt von diesen aufgenommen. Es bilden sich dann durch Ansammlungen von LDL- und Cholesterin-beladenen Makrophagen an atherosklerotischen Verletzungen cholesterinhaltige Schaumzellen, die zu den typischen beobachteten Gefäßverengungen führen. Bei Zugabe von Quercetin in Konzentrationen von 3  $\mu$ mol/l wurde nach 24 h bei 37 °C ein signifikant niedrigerer Gehalt (bei 3  $\mu$ mol/l Quercetin ca. 1  $\mu$ g LDL-Protein/mg Zellprotein, ohne Quercetin ca. 24  $\mu$ g LDL-Protein/mg Zellprotein) an oxidiertem LDL ( $^{235}$ I-markiert)

festgestellt (Whalley et al., 1990). Cavallini (1978) berichtete über eine um 67 % verringerte (mit Chromaten induzierte) Peroxidation von Rattenlebermikrosomen bei Zugabe von Quercetin.

Ein vielversprechender Ansatz zur Erforschung der antioxidativen Wirkung von Quercetin war der elektrophoretische Nachweis des LDL-Oxidationsprodukts (Salah et al., 1995) statt über die einfache Ermittlung der UV-Maxima-Verschiebung durch gebildete Dien-Doppelbindungen von Fettsäuren.

Allerdings stehen die bisher aufgeführten beobachteten Effekte der hier genannten Flavonoide im Widerspruch zu Ergebnissen anderer Studien: Zum Beispiel berichteten schon Hardigree et al. (1978) und MacGregor et al. (1978) über mutagene Eigenschaften von Quercetin beim Ames-Test und Bjeldanes und Chang (1977) fanden einen Basenpaaraustausch mit Gerüstverschiebung der DNA nach einer Behandlung von *Salmonella typhimurium*-Mutanten mit Quercetin, nicht dagegen bei Behandlung mit Rutin.

Rice-Evans et al. (1996), Hollman et al. (1996 und 1997) und Proteggente et al. (2002) fanden hohe Bioverfügbarkeiten einiger Flavonoide (darunter Quercetin und Kämpferol); es wurden Plasma-Konzentrationen von bis zu 1  $\mu\text{mol/l}$  für Quercetin bestimmt (Hollman et al., 1993), welche nach Proteggente et al. (2002) bereits antioxidative Effekte bewirkten.

In vielen älteren Studien wurde davon ausgegangen, dass nur freie Flavonoide resorbiert werden können. Diese Ansicht wurde zum Beispiel von Erlund et al. (2000) widerlegt: Sie fanden langsamere und höher schwankende Gehalte des Flavonolglykosids Rutin (gegenüber dem freien Flavonol Quercetin) im Blut der Probanden, aber es waren in jedem Fall Gehalte über der BG (Bestimmungsgrenze) quantifizierbar. Nach Hollman et al. (1995) wurden sogar 17 % des Rutins gegenüber 24 % des freien Quercetins absorbiert. Am besten absorbiert wurden aber nach letzterer Studie die Quercetinglykoside von frittierten Zwiebeln (52 %). Hollman et al. (1997) fanden höhere Quercetin-Gehalte in Serum und Urin nach einer Zwiebeldiät (Quercetin vermehrt an Glukoside gebunden) im Vergleich zu einer Apfeldiät (Quercetin vermehrt an Galaktoside und Arabinoside gebunden), wogegen die Zugabe reinen Quercetin-3-*O*-rutinosids die niedrigsten Quercetin-Gehalte in Serum- und Urin nach sich zog. Die Fähigkeit der Flavonolglykoside, die Darmwand zu passieren, hängt also von der Art und Zahl der Glykosidreste ab (Gee et al., 1998), sowie von der Lebensmittelmatrix und zudem vom physiologischen Zustand der Probanden.

Zum Metabolismus bliebe zu erwähnen, dass von einer Absorption im Dünndarm, einer Sulfatierung und Glukuronidierung (Erlund, 2000) oder einem Abbau zu Benzoesäure nach  $\beta$ -Oxidation von Phenylacetessigsäurederivaten ausgegangen wurde (Rice-Evans et al., 1996). Dieselben Autoren wiesen auf mögliche Proteinaddukte hin, was Veränderungen in der Bioverfügbarkeit zur Folge hatte.

## **2.4. Methodenüberblick**

### **2.4.1. Vitamin C-Analytik**

Zur Bestimmung von Vitamin C in Gemüse existieren eine Vielzahl an Bestimmungsmethoden.

Zur Extraktion von AA und DHAA müssen starke Säuren wie zum Beispiel Oxalsäure, Essigsäure, Perchlorsäure oder Trichloressigsäure verwendet werden. Dadurch vermindert sich der pH-Wert des Extraktionsmittels und Verluste an AA werden vermieden. Zur Anwendung kommen überwiegend rein wässrige Extraktionsmittel (meist gepuffert) und in seltenen Fällen Methanol-Wasser-Gemische. Rein organische Lösungsmittel werden nicht verwendet.

In den meisten Veröffentlichungen wird AA vor und nach der Reduktion (der DHAA zu AA) bestimmt, das heißt als AA und als GAA (GAA entspricht der Summe aus AA und DHAA). Als Reduktionsmittel werden zum Beispiel Schwefelwasserstoff, Dithiothreitol, Homocystein und neuerdings Tris-(2-carboxyethyl)-phosphin (Lykkesfeldt, 2000) verwendet.

Zur Quantifizierung der AA und DHAA werden verschiedenste Methoden angewendet. Bei den nicht-chromatographischen Bestimmungen kommen zum Beispiel Derivatisierungen mit 2,6-Dichlorphenol-Indophenol (Bildung eines blauen Farbstoffs), 2,4-Dinitrophenylhydrazin (photometrische Detektionen), 1,2-Phenylendiamin (fluorimetrische Messung des Kondensationsprodukts mit AA) oder enzymatische Methoden unter Verwendung der Ascorbatoxidase zum Einsatz (Speek et al., 1984).

Soweit HPLC-Trennungen durchgeführt werden, dominieren RP-18-Säulenmaterialien. Nur vereinzelt finden sich in der Literatur Trennungen auf Aminophasen und die Zugabe von Ionenpaarreagenzien (z.B. Tetra-Alkylammoniumsalze) in das Fließmittel zur Verlängerung der Retentionszeit der AA. Zur Detektion der AA nach der Chromatographie werden überwiegend UV-Detektoren, Fluoreszenzdetektoren oder elektrochemische Detektoren (ECD) (Iwase und Ono, 1997) eingesetzt. Eine Besonderheit stellen dabei unterschiedliche Vorsäulen-Derivatisierungen (Keating und Haddad, 1982) dar: Zum Beispiel mit 1,2-Phenylendiamin, welches ein im sichtbaren Licht (oder durch Fluoreszenz) detektierbares Derivat ergibt.

### **2.4.2. Carotin-Analytik**

Zur Bestimmung der Carotine in Gemüse wurden eine Reihe von Methoden (Tsukida, 1982; Tsukida et al., 1992; Lesellier und Tchappa, 1993; Rodriguez-Amaya, 1997) entwickelt, welche durch die Fortschritte in der chemischen Analytik immer genauere Aufschlüsselungen der Zusammensetzung des Carotinmusters von Karotten und anderen Gemüsearten mit sich brachten.

Als Extraktion für Carotin aus Lebensmitteln wurden vor allem Aceton, n-Hexan, Petrolether, Acetonitril und Methanol in unterschiedlichen Mischverhältnissen verwendet (zum Beispiel Aceton/Petrolether (1:1; v/v) mit mehrfachem Waschen der Petroletherphase mit Aceton nach Hsieh und Karel, 1983); von Carotin-Extraktionen mit Dichlormethan, Chloroform, Tetrahydrofuran, Benzol

oder Toluol wurde abgeraten, da diese Carotin-Extraktionsmittel zu Peaksplitting bei der Chromatographie führten (Khachik et al., 1988).

Zum Teil wurde ein aufwendiges, für die Routine nicht taugliches Ausschütteln mit Trocknungen über Natriumsulfat (Marx, 2000), Calciumcarbonat (Emenhiser, 1996) oder Magnesiumcarbonat durchgeführt. Die basischen Carbonate wurden zur Neutralisation des Carotinextrakts vorgeschlagen, da berichtet wurde, dass Carotine im sauren Milieu instabil seien (Lesellier und Tchalpa, 1993). Neuere Untersuchungen zeigten aber keine messbaren Carotinverluste bei einer leicht sauren Extraktion und es wurde seitdem geraten, auf die Verwendung der oben genannten Trocknungsmittel zu verzichten (Rodriguez-Amaya, 1997; Kimura und Rodriguez-Amaya, 1999). Eine bewährte Methode ist die der AOAC (American Organisation of Analytical Chemists, 1983): hierbei wird ein Aceton/n-Hexan-Extrakt säulenchromatographisch auf Magnesium-Diatomeenerde mit Aceton/Hexan (1:9; v/v) als Elutionsmittel getrennt und die eingengten Elutionen bei 436 nm photometrisch quantifiziert.

Wurden Carotin-Extrakte direkt hochdruckflüssigchromatographisch aufgetrennt, führte eine ungeeignete Wahl des Extraktionsmittels zu Peakverzerrungen. So wurden bei der Verwendung von Aceton (von Booth (1951) und anderen Autoren als bestes Extraktionsmittel für Carotine empfohlen), sofern es nicht entsprechend mit mobiler Phase verdünnt wurde, Doppelpeaks oder starkes Tailing beobachtet (Zapata und Garrido, 1991).

Heutzutage kommen für die Carotin-Analytik nahezu ausschließlich moderne HPLC-Methoden zur Anwendung. In den Anfängen der HPLC wurden neben Kieselgel (Fiksdahl et al. 1978) zum Beispiel Calciumhydroxid und Magnesiumoxid als stationäre Phasen verwendet, eine Trennung von *cis*- und *trans*-Carotinen war aber nicht möglich und es ergab sich oft das Problem zu langer Retentionszeiten. Mit dem Aufkommen von Umkehrphasen wurden Nitril- (Khachik et al., 1992), Amino- und einige C18-Phasen (Hsieh und Karel, 1983; Khachik, 1986; Khachik und Beecher, 1987; Edelenbos et al., 2001) zur HPLC-Trennung der Carotine verwendet. Als effektiv erwies sich ein System von Bushway (1985), bei dem Aluminiumoxidsäulen als Normalphase mit Isooctan/THF (99,5:0,5; v/v) als mobile Phase verwendet wurden. Mitte der 90er Jahre wurde dann eine C30-Phase entwickelt, die es ermöglichte, ein *cis-trans*-Carotin-Isomeren-Gemisch aufzutrennen (Emenhiser et al., 1996; Albert, 1998). Auf Gemüseextrakte angewandt, konnten Darnoko et al. (2000) und Burns et al. (2003) eindrucksvoll zeigen, dass eine Vielzahl von Carotin-Isomeren zuzüglich einiger Tocopherole und Chlorophylle in einem chromatographischen Lauf getrennt werden können.

In Abb. 9 ist beispielhaft ein 15-*cis*- $\beta$ -Carotin neben einem all-*trans*- $\beta$ -Carotin dargestellt.

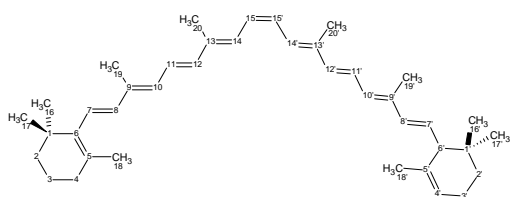
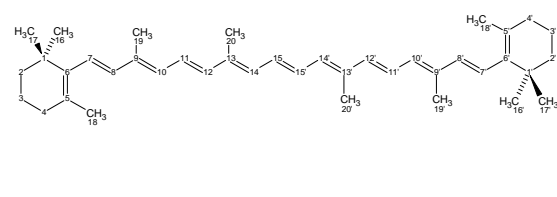


Abb. 9: 15-*cis*- $\beta$ -Carotin



all-*trans*- $\beta$ -Carotin



Zum Teil wurde mittels selbst gezogener DC-Platten (Fiksdahl et al., 1978; Johjima und Ogura, 1983; Stahl, 1996) eine Trennung der Carotine in verschiedene Verbindungsklassen erreicht.

Zur Quantifizierung von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin wurden zum Teil interne Standards (zum Beispiel  $\beta$ -Apo-8'-carotenal für Xanthophylle), Echinenon, Decapreno- $\beta$ -carotin (für Carotine) oder Nonapreno- $\beta$ -carotin, ein C45-Körper, vorgeschlagen (Khachik et al., 1986; Khachik und Beecher, 1987). Viele der bisher verwendeten internen Standards, wie zum Beispiel das  $\beta$ -Apo-8'-carotenal erwiesen sich als ungeeignet für eine robuste Carotinbestimmungsmethode, da sie als dem  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin strukturell zu unähnlich, ein unterschiedliches Verhalten bei der Extraktion und bei der Chromatographie aufwiesen (Marx et al., 2000). Viele Quantifizierungen der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotingehalte in Karotten wurden deswegen mit externer Kalibrierung durchgeführt.

Es wurde empfohlen auf Verseifungsmethoden während der Aufarbeitung zu verzichten, da der Verlust an  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin oft hoch war (Khachik et al., 1991). Beim Vorliegen von Carotinoid-Estern sauerstoffhaltiger Xanthophylle konnten Verluste (in Tomaten, Grünkohl und Papaya) durch schonende Verseifungsbedingungen (bei niedrigen Temperaturen) minimiert werden (Kimura et al., 1990), während bei Karotten eine Verseifung allgemein als unnötig angesehen wurde (Khachik und Beecher, 1987; Rodriguez-Amaya, 1997).

### **2.4.3. Flavonol-Analytik und antioxidative Kapazität**

Zur Extraktion der Flavonole und/oder Flavonolglykoside aus Gemüse verwendeten die meisten Autoren ein Gemisch aus Wasser und verschiedenen Alkoholen (Betti et al., 1993; DuPont et al., 2000). Dueñas et al. (2004) verwendeten ein Gemisch aus Methanol/Wasser/Essigsäure (70:30:5; v/v/v).

Wurden native Flavonolglykoside analysiert, schloss sich zumeist eine Aufreinigung und Fraktionierung über Polyamid an, worauf HPLC-Trennungen auf RP-18-Materialien folgten. Detektiert wurde zumeist mit UV-Spektrometrie oder Massenspektrometrie (MS). Bei letzterem Detektor kamen verschiedene Varianten zum Einsatz: Neben MS mit positiver und negativer APCI (atmospheric-pressure-chemical-ionization) als Ionisationsquelle bei Price et al. (1998) und DuPont et al. (2000) wurde über die Verwendung einer negativen Elektrospray-Ionisation (ESI) bei Hvattum und Ekeberg (2003) und einer positiven ESI bei Taylor et al. (2003) und zum Teil auch über die Verwendung der MS-Einheit MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption ionization – time-of-flight) bei Taylor et al. (2003) und von Triple-Quadrupole-Geräten (Hvattum und Ekeberg, 2003) zur Detektion von Flavonolglykosiden berichtet. Vereinzelt nutzten die Autoren auch Detektionsarten, bei denen als Nachsäulenderivate Quercetin-Aluminium-Komplexe gebildet wurden (Hollman et al., 1996), welche dann auch mit einem Fluoreszenz-Detektor empfindlich erfasst werden konnten (Mullen et al., 2002).

Zur Bestimmung der Aglykone wurden Deglukuronidierungen mit  $\beta$ -D-Glukuronidase oder  $\beta$ -D-Glukosidase (Harborne, 1965; Ferreres et al. 1997) und Demalonyierungen mit saurem Methanol/Wasser (95:5; v/v) durchgeführt. In der Mehrzahl der Experimente wurde aber eine Salzsäure-Hydrolyse (Hertog et al., 1992a und b; Nogata et al., 1994; Hideaki et al., 1998; Ewald et al., 1999) durchgeführt. 3-*O*-Glykoside waren nach wenigen Minuten mit 2 mol/l Salzsäure (in 50 % Methanol/Wasser; v/v) komplett hydrolysiert, während 3,7-*O*- und 4'-*O*-Glukuronide 60 bis 250 min benötigten (Hertog et al., 1992a und b). Nach Harborne (1965) waren 7-*O*-Glukuronide stabiler (180 min Hydrolysezeit mit 2 mol/l Salzsäure) im Vergleich zu 7-*O*-Glukosiden (25 min) und 7-*O*-rhamnosiden (5 min). Es empfiehlt sich somit - je nach zu erwartenden Flavonolglykosiden - eine Anpassung der Hydrolysebedingungen vorzunehmen (Hertog et al., 1992a), da bei zu langem Hydrolysieren Verluste der Aglykone beobachtet wurden (Hertog et al., 1992a; Ewald et al., 1999).

Zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität gibt es eine umfangreiche Sammlung unterschiedlicher Verfahren, ein guter Überblick wurde von Frankel und Meyer (2000) publiziert.

Es hat sich gezeigt, dass dieselben Substanzen in verschiedenen Test-Systemen unterschiedliche Aktivitäten aufwiesen und sich zum Teil die Reihenfolgen der antioxidativen Eigenschaften veränderten (Schlesier et al., 2002; Aaby et al., 2004). Auf die Multidimensionalität bei der Messung der antioxidativen Kapazität mittels einfacher Tests wurde von Schlesier et al. (2002) hingewiesen: Einfluss hatte vor allem die Temperatur, die Anwesenheit von Metall-Ionen, die Oberflächenaktivität verschiedener beteiligter Substanzen, das Lösungsmittel (Hunter und Fletcher, 2002), sowie Licht und die Probenmatrix.

Es werden hier kurz einige Beispiele für antioxidative Tests und deren Schwachstellen erläutert (soweit nicht anders erwähnt, wurde mittels eines Photometer analysiert): Das älteste Verfahren zur Bestimmung von Polyphenolen und indirekt der antioxidativen Kapazität war die Bestimmung nach Folin-Ciocalteu. Dieser Test wurde aber früh als unspezifisch eingestuft, da sich zeigte, dass bereits Aminosäuren wie Tyrosin (auch gebunden in Proteinen) eine Färbung des Reagenzes bewirkten (Folin, 1929). Die ebenfalls weit verbreitete TEAC-Methode (Trolox equivalent antioxidant capacity) nach Berg et al. (2000), die die Fähigkeit quantifizierte, das farbige 2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonsäure)-(ABTS) Radikal (entstanden durch den thermischen Abbau von 2,2'-Azo-bis-(2-amidinopropan) (ABAP) und Radikalübertragung) zu stabilisieren, hatte den Nachteil, dass der Eintritt des endgültigen Reaktionsstillstands mehrere Minuten bis mehrere Stunden dauerte (Strube et al., 1997). Außerdem wurden unterschiedliche TEAC-Werte für ein und denselben Stoff gefunden (zum Beispiel für Quercetin 3,1 bis 6,4 nach Arts, 2004). Es wurde zudem berichtet, dass ABTS selbst schon von organischen Säuren aus der Radikalkationform zurück in die Molekülform reduziert werden konnte (Collins et al., 1998), was das Ergebnis verfälschte. Brand-Williams et al. (1995) variierten den TEAC-Tests und verwendeten statt des ABTS- das DPPH-(Di-pikrylhydrazyl) als zu vermessendes, farbiges Radikal.

Mit dem ORAC-(oxygen radical absorbance capacity) Test, mit dem die Fähigkeit bestimmt wurde, ein fluoreszierendes Indikatorprotein ( $\beta$ -Phycoerythrin) vor einem Radikal-Angriff (generiert aus ABAP) zu schützen, hatte man den Vorteil, sehr niedrige Konzentrationen an Antioxidantien bestimmen zu können (Cao et al., 1993; Aaby et al., 2004). Huang et al. (2002) gelang es, den normalerweise auf wässrige oder methanolische Medien beschränkten Test mithilfe von methyliertem  $\beta$ -Cyclodextrin als Lösungsvermittler auf lipophile Systeme zu übertragen.

Beim FRAP-(ferric reducing antioxidant power) Test nach Benzie und Strain (1996) wurde die gebildete Menge einer farbigen Eisen(II)-tri-pyridyltriazin-Verbindung (Absorptionsmaximum bei 593 nm) aus dessen Eisen(III)-Form nach Reduktion durch die Anwesenheit von elektronenliefernden Antioxidantien bestimmt.

Apak et al. (2004) entwickelten den CUPRAC-Test, eine dem FRAP-Test ähnliche Alternative und setzten Kupfer statt Eisen ein, das im oxidierend wirkenden Chromogen Kupfer(II)-neocuproin-Komplex gebunden war. Dieser trug aufgrund der unterschiedlichen Kinetik zur Eisen-Verbindung zu einer Beschleunigung der Reaktion bei.

Die Luminol-Methode nach Bastos et al. (2003) hatte gegenüber den anderen Methoden den Vorteil, dass Wasserstoffperoxid-Radikale (aus Wasserstoffperoxid mittels Hämin induziert) als tatsächlich in der lebenden Zelle gefundene Spezies zur Reaktion kamen: Diese wurden von zugegebenen Antioxidantien abgefangen und die abgeschwächte Fluoreszenz bei der Oxidation des Proteins Luminol bestimmt, was aber ein Fluorimeter erforderte.

Daneben wurden noch eine Reihe von Carotin-Bleich-Tests (zum Beispiel bei Ismail et al., 2004) entwickelt, wobei  $\beta$ -Carotin mit Linolsäure durch Licht gebleicht und die Abnahme der Extinktion bei 480 nm bestimmt wurde. Frankel und Meyer (2000) hatten zu diesen Tests kritisch angemerkt, die Substanzen Linoläure oder Methylolinoleat würden den natürlichen Substraten (Triacylglyceride und freie Fettsäuren) bei einer Carotin-induzierten Autoxidation in ihren chemischen Eigenschaften zu wenig ähneln.

Das aktuellste Verfahren von Adom und Liu (2005), der PSC-(peroxyl radical scavenging capacity) Test, basiert auf der Inhibition der Oxidation von Dichlorfluorescein durch Antioxidantien, die Peroxyl-Radikale abfangen, welche wiederum durch thermischen Abbau von ABAP entstanden sind. Die fluorimetrisch bestimmte verbleibende Dichlorfluorescein-Menge ist nach diesem Test ein Maß für die antioxidativen Eigenschaften der jeweils zugesetzten oder in der Probe enthaltenen Antioxidantien.

### 3 Problemstellung

Das Hauptziel dieser Forschungsarbeit ist die vergleichende Erfassung der Vitaminverluste und der Verluste an sekundären Pflanzeninhaltsstoffen während einer TK- bzw. FR-Lagerung von Karotten, Erbsen und Bohnen. Durch eine Auswertung der erhaltenen quantitativen Daten sollen neben der Bewertung des Frische-Status der jeweiligen Ware eventuell vorhandene Schwachstellen bzw. kritische Punkte (z.B. Blanchieren bei der TK-Ware) bei der Produktion von TK-Gemüse ermittelt werden.

Im Vordergrund stehen zunächst die Entwicklung und Optimierung von Methoden, die vergleichende Aussagen über den Frische-Status von TK- und FR-Gemüse ermöglichen. Dazu werden Substanzen ausgewählt, die ernährungsphysiologisch wichtig sind: Vitamin C als stark wasserlösliches Vitamin, das durch Auswasch- und thermische Verluste vermindert wird, das Carotin-Spektrum, das sich durch thermische Einwirkung und Lichteinfluss verändert und die Flavonolfraktion, welche ebenso durch technologische Prozesse bei denen es zu einer Hitzeeinwirkung oder einem intensiven Kontakt mit Wasser kommt, Verlusten unterliegt.

Zum Erreichen des Forschungszieles ist es notwendig, Erbsen, Bohnen bzw. Karotten derselben Sorte und vom selben Feld zu ernten und in ihrem ernährungsphysiologischen Zustand nach Verarbeitung und/oder Lagerung und/oder haushaltsmäßiger Zubereitung zu bestimmen. Dabei müssen industrielle Verfahren (Blanchieren) eingebunden werden und das Probenmaterial unter realen Bedingungen gewonnen werden.

Ausgehend von der unverarbeiteten, ursprünglich vorhandenen gesamten Charge der Rohware muss ein repräsentativer Anteil einer industrieeüblichen Gewinnung von TK-Ware (siehe 2.2) und ein weiterer repräsentativer Anteil einer direkten Lagerung unter Bedingungen bei der Vermarktung von FR-Ware unterworfen werden. Dabei müssen in beiden Fällen die üblichen Transportwege und Transportzeiten simuliert werden um realistische Aussagen machen zu können ohne dass methodisch und organisatorisch bedingte Abweichungen von einer realen Gemüsegewinnung zu stark abweichen.

Die TK-Ware wird dazu während der gesamten Lagerzeit unter realen Bedingungen (bei Temperaturen von -18 °C und -25 °C) gelagert, während die FR-Ware nach dem Transport zur Forschungsstätte einer Lagerung bei 4 °C (wodurch eine Kühlschranks-Lagerung beim Verbraucher simuliert wird) und einer Lagerung bei 20 °C (wodurch eine Lagerung bei Raumtemperatur beim Verbraucher simuliert wird) unterworfen wird.

Vom gesamten TK-Bestand bzw. vom gesamten Bestand an FR-Ware werden nach definierten zeitlichen Abständen (siehe 4. Material und Methoden) Anteile entnommen und jeweils in 2 Teile geteilt. Ein Teil wird ohne weitere Behandlung analysiert und der andere Teil wird der haushaltsmäßigen Zubereitung zugeführt und anschließend analysiert.

Bei der Erfassung von Verlusten während der haushaltsmäßigen Zubereitung von Erbsen, Bohnen bzw. Karotten müssen standardisierte Zubereitungsverfahren verwendet werden, um eine möglichst große Vergleichbarkeit zu erzielen.

Durch das Zusammenführen der Daten sollen dann Kochverluste, Blanchierverluste und durch die Bestimmung der Vitamingehalte und der Gehalte an sekundären Pflanzeninhaltsstoffen in den Erntejahren 2002 und 2003 saisonale Einflüsse aus entsprechend statistisch aufbereiteten Darstellungen abgelesen werden.

In Zusammenarbeit mit der Hochschule für Angewandte Wissenschaften, Hamburg/Bergedorf ist das weiterführende Ziel während der Lagerung derselben Ware, systematische Daten zu gewinnen, die auch die sensorischen Parameter einschließen, um eine Gesamtaussage zur Qualität der untersuchten Gemüsearten zu erhalten. Damit ist eine Aussage darüber möglich, ob es einen Zusammenhang zwischen ernährungsphysiologisch wichtigen Inhaltsstoffen und sensorischen Merkmalen (Aussehen, Geruch, Geschmack) bei der Lagerung von Gemüse gibt.

## 4 Material und Methoden

### 4.1. Untersuchte Gemüsearten (Sorten, Erntetermine, Witterung)

Als Untersuchungsmaterial standen die in Tab. 5 aufgeführten Gemüsearten zur Verfügung.

Während der beiden Erntejahre herrschten unterschiedliche Witterungsbedingungen. Der Sommer 2002 war sehr feucht. Im darauf folgenden Sommer 2003 herrschte eine extreme Trockenperiode. Aus diesem Grunde mussten Sortenwechsel erfolgen und geplante Erntezeitpunkte verschoben werden.

Das gesamte Material entstammte Feldern bei Lommatzsch in Sachsen von Vertragsbauern der Firma Elbtal Tiefkühlkost Vertriebs GmbH im Auftrag der Firma FRoSTA AG. Die Sorten, der Erntetag, der zum Erntezeitpunkt bestimmte Reifegrad mit dem Tenderometer (TMW), die Länge und der Durchmesser des Gemüses können Tab. 5 entnommen werden. Karotten die zur Tiefkühlung bestimmt waren, wurden zur Vergrößerung der Oberfläche wie bei industrieller Gewinnung üblich, vor dem Blanchieren in Scheiben (glatt oder Wellenschnitt) geschnitten. Die dabei eingestellte Scheibenstärke ist ebenfalls in Tab. 5 angegeben.

Tab. 5.: Verwendete Gemüsearten und -sorten in beiden Erntejahren

Gemüse	Erntejahr 2002		Erntejahr 2003	
Erbsen	Sorte: Artnummer: TMW: Durchmesser: Erntetag:	Tyne F1332 105-155 8-9 mm 16.07.02	Tristar F1322 7 < 105 8-9 mm 27.06.03	
Bohnen	Sorte: Artnummer: Durchmesser: Länge: Erntetag:	Cadillac F1282 < 9,5 mm 3-4 cm 20.08.02	Paulista F1293Z 9,5 mm 3-4 cm 04.09.03	
Karotten	Sorte: Artnummer: Durchmesser: Scheibenstärke: Erntetag:	Nevis (Bio-) F1959Q 15-35 mm 5-7 mm glatt 15.10.02	Kingston (Bio-) F1972Q 15-27 mm 4-6 mm Welle- 24.10.03	Nevis (konventionell) F1986Z 15-27 mm 4-6 mm Welle- 04.11.03

Im Erntejahr 2003 wurden zusätzlich zu Karotten der Sorte Kingston, Karotten der Sorte Nevis (angebaut unter Bedingungen des konventionellen Landbaus) untersucht, die im Erntejahr 2002 unter Bedingungen des ökologischen Landbaus (Bio-) gewonnen wurden. Das Material ist früh morgens maschinell geerntet und innerhalb von 3 h an der Fabrik angeliefert worden. Ein repräsentativer Anteil (etwa 100 kg) eines Erntefeldes wurde zum einen dem industriellen TK-Prozess unterworfen und zum anderen für die Lagerung bei 4 und bei 20 °C innerhalb eines Tages an die Hochschule für Angewandte Wissenschaften, Hamburg/Bergedorf verbracht, wo das Gemüse umgehend und ohne weitere Verarbeitungsschritte unter diesen definierten Temperaturen gelagert wurde.

## 4.2. Lagerung

Folgende Lagerarten wurden durchgeführt:

- FR-Gemüse: keine Lagerung, Verarbeitung/Analyse direkt nach Anlieferung (Status-Bezeichnung: FR 1. Tag)
- Gelagertes FR-Gemüse: (an der Hochschule für Angewandte Wissenschaften)
  - Ein Teil 4 und ein Teil 7 Tage lang bei 20 °C gelagert
  - Ein Teil 4, ein Teil 7 und ein Teil 14 Tage lang bei 4 °C gelagert
  - Ein Teil 28 Tage lang bei 4 °C gelagert (nur bei Karotten im Erntejahr 2003)
- TK-Gemüse: nach Blanchieren und Schockgefrieren bei -28 °C (bei der Firma Elbtal)
  - direkte Analyse nach dem Tiefgefrierprozess und Verbringen an die Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg/Bergedorf, keine Lagerung (Status-Bezeichnung: 0. Monat)
  - direkt nach dem Einfrieren wird je ein Teil 4, 8, 12 (und nur zum Erntejahr 2002 24 Monate) bei -18 °C bei der Firma Elbtal gelagert
  - direkt nach dem Einfrieren wird je ein Teil 4, 8, 12 (und nur zum Erntejahr 2002 24 Monate) bei -25 °C bei der Firma Elbtal gelagert

Die TK-Lagerhaltung fand jeweils bei der Firma Elbtal in Lommatzsch statt, da hier genaue Temperatur-Aufzeichnungen und definierte TK-Bedingungen möglich waren.

Alle Gemüsearten wurden vorab blanchiert. Es kam jeweils das Dampfblanchier-Verfahren zum Einsatz. Die genauen Blanchierzeiten und -temperaturen sind Tab. 6 zu entnehmen.

Tab. 6:  
Blanchiertemperaturen >  
und -zeiten

	Temperatur	Dauer
Erbsen	95 °C	50 sec
Bohnen	95 °C	70 sec
Karotten	95 °C	65 sec

Nach Abschluss der TK-Lagerhaltung wurden die jeweiligen Anteile tiefgekühlt (über Trockeneis) von Lommatzsch nach Hamburg mit einem Expresskurier verschickt, wo umgehend die weitere Unterteilung in zwei etwa gleich große Anteile vorgenommen wurde.

Ein Teil jedes Lagerstatus der TK- und der FR-Ware wurde unter definierten Bedingungen gekocht und der andere Teil wurde zur Untersuchung in ungekochtem Zustand bei -45 °C bis zur Analyse eingefroren. Bei dieser Temperatur sind in unzerkleinertem Zustand keine Veränderungen für die untersuchten Parameter zu erwarten (Gutschmidt, 1964; Bognár, 2002).

Zusätzlich zur TK- und FR-Ware, wurden zum einfachen Vergleich je zwei Proben (Dosen- und Glasware) ungegart Erbsen und Bohnen aus dem Handel erworben und auf die gleiche Weise wie das restliche Material analysiert. Es handelte sich um Material unbekannter Sorte, Herkunft und Lagerdauer.

Mit Lagerstadium wird fortan jedes Gemüse-Material verstanden, das bei einer bestimmten Lagertemperatur bei bestimmter Lagerdauer gelagert wurde und entweder roh oder gegart vorlag. Eine Aufstellung aller Lagerstadien ist in Tab. 15 (Anhang 9.1) dargestellt.

### **4.3. Gemüsezubereitung**

Das Volumen der jeweiligen Gemüseart und -sorte war entscheidend für die Festlegung der Gardauer. Die Garzeiten für das FR-Gemüse sowie für das TK-Gemüse unterschieden sich in der Ankoch- und Fortkochdauer. Während TK-Gemüse längere Ankochzeiten (zum Auftauen) benötigte, war die Fortkochdauer kürzer zu wählen, da der bei TK-Gemüse vorher erfolgte Blanchierschritt berücksichtigt werden musste. Die detaillierten Verfahrensanweisungen wie sie an der Hochschule für Angewandte Wissenschaften in Hamburg/Bergedorf entwickelt wurden, finden sich im Anhang 9.2.

Ein Aliquot des Kochwassers wurde für den Kochprozess jedes Lagerstadiums abgenommen und bis zur Analyse bei -45 °C aufbewahrt.

### **4.4. Analytische Methoden**

Eine Reihe von Methodenentwicklungen und Optimierungen zu den Vitamin C-, Carotin- und Polyphenolanalysen wird in Abschnitt 5 als Ergebnisse präsentiert. Hier werden die nach der Methodenentwicklung optimierten Methoden dargestellt, sowie das dafür verwendete Labormaterial und die wichtigsten Messgeräte beschrieben.

Das Prinzip und die Methodik der sensorischen Untersuchungen, die an der Hochschule für Angewandte Wissenschaften in Hamburg/Bergedorf durchgeführt wurden, sind der Arbeit von Maaßen (2006) entnommen und in der Korrelationsstudie 7. beschrieben.

#### **4.4.1. Vorbereitung**

Alle zu untersuchenden Gemüseproben wurden in 100 g-Anteilen kurz vor der Analytik bei -44 °C in gefrorenem Zustand gefriergetrocknet. Dies ist notwendig, um eine Vergleichbarkeit der unterschiedlich wasserhaltigen Proben zu gewährleisten, da die durch Wasserverluste beim Trocknen bzw. Erhitzen veränderten relativen Anteile der Analyten berücksichtigt werden müssen. Nach dem Gefriertrocknen wurde das Material mit einem Mörser homogenisiert und pulverisiert. Zur Validierung des Gefriertrocknungsschrittes wurden unterschiedliche 100 g-Chargen der angelieferten Portionen in ihrem Trockenmassegehalt untereinander und mit einem Trocknungsschritt (nach der Methode mit Seesand) verglichen. Das zugehörige Ergebnis ist unter 9.3.2. des Anhangs dargestellt.

#### **4.4.2. Gesamtascorbinsäure-Bestimmung**

In Anlehnung an eine Methode von Steffan (1999) wurde zur Bestimmung des AA-Anteils in Karotten, Erbsen und Bohnen eine Probe von 100 mg gefriergetrocknetem Material mit 10 ml *m*-Phosphorsäure-Perchlorsäure-Mischung (2,5 %ige (w/v) *m*-Phosphorsäure in 3 %iger (v/v) Perchlorsäure) extrahiert. Dabei bewirkte die Perchlorsäure die Ausfällung von Proteinen und die *m*-Phosphorsäure diente der Stabilisierung der AA, wobei sich *m*-Phosphorsäure schnell zersetzte.



Deshalb musste die Mischung täglich neu angesetzt werden. Die gut gemischte Suspension wurde im 10 ml-Pyrexglas 15 min abgedunkelt ins Ultraschallbad, dann 15 min auf eine Schüttelmaschine gebracht und anschließend 5 min bei 3600 · g zentrifugiert.

Um die Summe von DHAA und AA zu erfassen, wurde ein Reduktionsschritt mit einem 250-fachen Überschuss -im Vergleich zur erwarteten DHAA- an DTT (Dithioerythrol) bei 30 min Einwirkzeit durchgeführt. Zur Herstellung der DTT-Lösung wurden 25 ml einer 1 mol/l Di-Kaliumhydrogenphosphat-trihydrat Lösung (mit 85 %iger *o*-Phosphorsäure (v/v) auf pH 7 eingestellt) zu 500 mg DTT gegeben. Es wurden zu den 100 mg Gemüsepulver 2,6 ml Di-Kaliumhydrogenphosphat-trihydrat Lösung, sowie 0,4 ml DTT-Lösung zugegeben und die Suspension vorsichtig gemischt. Nach 30 min Reduktion im Dunkeln auf einer Schüttelmaschine wurden 7 ml *m*-Phosphorsäure-Perchlorsäure-Mischung zum Abstoppen der Reaktion und zur Stabilisierung zugegeben, geschüttelt und danach 5 min bei 3600 · g zentrifugiert.

Konzentrationen und Reduktionszeiten wurden in Optimierungsversuchen ermittelt (Abschnitt 5.1.1.). Beide Extrakte wurden bei Erbsen und Bohnen 1:10 mit *m*-Phosphorsäure-Perchlorsäure-Mischung (v/v), bei Karotten unverdünnt in 2 ml-Braungläser abgefüllt und innerhalb von maximal 6 h über einen Autosampler in eine HPLC-Anlage eingespritzt und analysiert. Die Anlage bestand aus einer bei 30 °C thermostatisierten RP-18 Säule (LiChrospher® 100, 5 µm, 4,6 x 250 mm, Merck, Darmstadt), einem UV-Detektor (Detektorwellenlänge 243 nm), einem ECD (mit einer Glassy-carbon Arbeitselektrode und einem Arbeitspotential von 0,85 V, einer Silber/Silberchlorid-Referenzelektrode bei einem Einstellbereich von 50 nA, einem Zeitfilter von 0,1 sec, bei Offset 0 % und einer eingebauten Zelldistanzscheibe von 120 µm) und einer isokratischen Pumpe mit einer Flussrate von 1 ml/min. Als Eluent diente ein 45 mmol/l Natrium-dihydrogenphosphat Puffer (eingestellt auf pH 2,0 mit 85%iger (v/v) *o*-Phosphorsäure). Die Quantifizierung erfolgte mittels einer externen Standardreihe von 0,1 bis 1 mg/l AA (in *m*-Phosphorsäure-Perchlorsäure-Mischung) am ECD. Bei der Analyse der einzelnen Gemüse-Lagerstadien wurden je Status 3, zum Teil bis zu 6 Bestimmungen durchgeführt. Eine statistische Auswertung der Ergebnisse, eindeutige Identifizierungen der quantifizierten Peaks und ein Differenzen-t-Test zur Vergleichbarkeit der Bestimmungen von AA und DHAA am UV-Detektor und am ECD findet sich in Abschnitt 5.1.1 (Tab. 7).

Zur Bestimmung des Vitamin C-Anteils (genauer der AA und DHAA-Anteile) im Kochwasser wurden 2 ml Kochwasser statt des gefriergetrockneten Gemüsepulvers in ein 10 ml-Pyrexglas pipettiert und ansonsten wie beschrieben aufgearbeitet.

#### **4.4.3. Carotin Analytik**

Die Carotin Analytik wurde durch Adaption der chromatographischen Methode von Lessin et al. (1997) und Marx et al. (2000) durchgeführt, die Extraktionsmethode wurde selbst entwickelt. Dazu wurden verschiedene Anteile literaturbekannter Lösungsmittel getestet und optimiert. Der Einfluss verschiedener organischer Extraktionsmittel auf die Gesamtcarotin-Ausbeute und ein

Methodenvergleich (Ausschütteln und Trocknen gegenüber direkter Extraktion) sind im Ergebnisteil unter 5.2.1. beschrieben.

Zur Quantifizierung des Carotinspektrums aller Lagerstadien wurde folgende Methode verwendet:

70-80 mg gefriergetrocknetes Karottenpulver wurden auf 0,1 mg in ein 10 ml-Pyrexglas eingewogen und bei Versuchen mit internem Standard wurde dieser hier zugegeben. Unter möglichst wenig Licht- und Wärmeeinfluss wurde unter Zuhilfenahme eines stumpfen Glasstabs zum Ausquetschen des Gemüsepulvers zweimal mit je 3 ml Methanol p.A. in einem 10 ml-Pyrexglas extrahiert. Anschließend wurde 10 min bei 3600 · g zentrifugiert, der Überstand (sowie alle weiteren) in einen 20 ml Messkolben überführt und zu dem Niederschlag zweimal je 3 ml Aceton p.A./n-Hexan (dest.) (1:1; v/v) zugegeben und wie oben beschrieben extrahiert und zentrifugiert. Dann wurde das schon deutlich entfärbte Pulver mit zweimal je 3 ml Aceton p.A. wie oben extrahiert und anschließend zentrifugiert. Die gesammelten Überstände (3 mal 6 ml) wurden auf 20 ml mit Methanol p.A. aufgefüllt und ein im Fließmittel 1 (Methanol/*tert*-Butylmethylether/Wasser 81:15:4; v/v/v) 1:1 verdünnter Aliquot in ein Braungläschen gegeben und in den Autosampler der HPLC-Anlage (Tab. 24, Anhang 9.5) gestellt.

Bei der Untersuchung aller Gemüse-Lagerstadien wurde mittels externer Standardreihe (bei einer Konzentration von 1-5 mg  $\beta$ -Carotin in Fließmittel 1, siehe oben) quantifiziert. Dabei musste die Standardreihe täglich frisch hergestellt werden, da zum einen sauerstoff-induzierte Abbaueffekte zu beobachten waren und zum anderen  $\beta$ -Carotin aus gekühlten Stammlösungen dazu neigte, nach wenigen Tagen im Kühlschrank auszukristallisieren.

Zur Bildung eines Gradienten wurden zwei Fließmittel benötigt: Das Fließmittel 1 bestand aus Methanol/*tert*-Butylmethylether/Wasser (81:15:4; v/v/v), das Fließmittel 2 aus Methanol/*tert*-Butylmethylether/Wasser (90:6:4; v/v/v), wobei letzteres aufgrund einer Phasentrennung nur mit Wasser gesättigt (15 min im Scheidetrichter geschüttelt) werden konnte.

Das Fließmittelprogramm wurde auf einer HPLC-Säule mit C<sub>30</sub> RP-Material (S-5  $\mu$ m-Säule mit den Dimensionen 3,0 x 250 mm inkl. einer C<sub>30</sub> S-5  $\mu$ m-Vorsäule 3,0 x 10 mm, YMC, Dinslaken) benutzt (Tab. 25, Anhang 9.5.). Die Säule wurde bei 23 °C thermostatisiert, die Flussrate betrug 0,5 ml/min und detektiert wurde bei einer Wellenlänge von 440 nm mittels Diodenarray-Detektor (DAD) (Tab. 24, Anhang 9.5).

Zur Analyse der Kochwässer aus der Zubereitung der Karotten wurde eine Festphasenextraktion in Kartuschen (Bond Elut® C<sub>18</sub> 500 mg der Varian, Darmstadt) mit je 2,5 ml Kochwasser durchgeführt. Die Säulen wurden durch Spülen mit je 5 ml n-Hexan, Aceton und Wasser konditioniert. Nach Aufgabe des Kochwassers wurde mit 1 ml Wasser gewaschen und mit 5 ml Aceton eluiert. Der so erhaltene Extrakt wurde mit Stickstoff bis zur Trockne abgeblasen und nach Aufnahme in 1 ml Fließmittel 1 chromatographiert (Tab. 24 und 25, Anhang 9.5.).

#### **4.4.4. Polyphenol Bestimmung**

##### **4.4.4.1. Analyse von Quercetin und Kämpferol**

###### **4.4.4.1.1. Analyse der Summe der Aglykone (1. Saison)**

Die Analyse der Flavonole wurde in der 1. Saison (Erntejahr 2002) in Anlehnung an die Methode von Hertog et al. (1992a und b) durchgeführt um ein Screening auf die in den drei Gemüsearten vorkommenden Flavonoid-Grundkörper durchzuführen. Der Hydrolyseschritt wurde in Bezug auf Einwirkdauer und Säurekonzentration an die Matrix angepasst. Außerdem wurde der Effekt einer Mehrfachextraktion auf die Ausbeuten der gefundenen Flavonole Quercetin und Kämpferol überprüft. Alle Optimierungsversuche sind im Ergebnisteil (5.3.1.1.) dargestellt.

Die Quercetin- und Kämpferolgehalte in grünen Bohnen wurden mittels einer optimierten Methode von Hertog et al. (1992a und b) bestimmt: Zur Herstellung der Extraktionslösung wurden 2 g TBHQ (*tert*-Butylhydrochinon) in 625 ml Methanol gelöst und mit bidest. Wasser auf 1 l aufgefüllt (wöchentlich frisch hergestellt). Zur Herstellung der Hydrolyselösung wurden 250 ml Salzsäure (37 %; v/v) mit bidest. Wasser auf 500 ml aufgefüllt. 200 mg des gefriergetrockneten Gemüsepulvers wurden in ein 10 ml-Pyrexglas eingewogen und mit 8 ml der Extraktionslösung versetzt. Nach gutem Durchmischen wurden 2 ml Hydrolyselösung zugegeben und das 10 ml-Pyrexglas mit einem gasdichten Deckel verschlossen. Die Extraktion wurde 2 h lang bei 90 °C auf einem Thermoblock durchgeführt und nach 2 h durch sofortiges Kühlen in einem Eisbad unterbrochen. Anschließend wurden die Proben bei 3200 · g zentrifugiert, der Überstand in einen 20 ml Messkolben überführt und der Rückstand erneut wie beschrieben extrahiert. Beide Überstände wurden vereinigt, auf 20 ml mit 0,1 %iger TFA (Trifluoressigsäure) (v/v) aufgefüllt und ein Aliquot von 700 µl mit 700 µl Methanol (40 %; v/v) in einem Braungläschen verdünnt (dieses wurde in eine HPLC-Anlage (Tab. 27 und 28, Anhang 9.6.) gestellt). Die Trennung erfolgte auf einer RP-18 Nova-Pak-Säule® (Waters, Eschborn) mit den Dimensionen 3,9 x 150 mm (inklusive einer Vorsäule mit 3,9 x 4 mm) bei 30 °C und einem Fluss von 0,8 ml/min (Tab. 27 und 28, Anhang 9.6.). Das Fließmittel setzte sich aus Eluent 1 (0,1 %ige TFA in Wasser; v/v) und Eluent 2 (Methanol für die HPLC) zusammen. Das Gradientenprogramm wird im Anhang 9.6. in Tab. 28 beschrieben. Detektiert wurde mittels DAD und quantifiziert mit externen Quercetin und Kämpferolstandards bei einer Wellenlänge von 365 nm.

###### **4.4.4.1.2. Analyse der Einzel-Flavonolglykoside (2. Saison)**

Nachdem in der 1. Saison das Vorhandensein von Quercetin- und Kämpferolaglykonen in grünen Bohnen nachgewiesen werden konnte, wurde in der 2. Saison (Erntejahr 2003) eine Methode zur Bestimmung der einzelnen Flavonolglykoside entwickelt um eine eventuelle Veränderung des Flavonolglykosid-Spektrums während Lagerung und Verarbeitung zu ermitteln.

Dabei wurde auf eine von Hempel und Böhm (1996) benutzte Methode zurückgegriffen. Die Extraktion wurde allerdings vereinfacht, da Chlorophylle und Carotinoide (von Hempel und Böhm, 1996 mittels Chloroform abgetrennt) die Chromatographie nicht störten und außerdem mittels einer Aufreinigung über Polyamid-Festphasenkartuschen abgetrennt werden konnten.

Die Flavonolglykoside wurden aus 150 mg gefriergetrocknetem Gemüsepulver mit 10 ml Methanol (70 % in Wasser; v/v) in einem 10 ml-Pyrexglas extrahiert, die Suspension 15 min auf einer Horizontalschüttelmaschine geschüttelt und anschließend 15 min bei 3600 · g zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein weiteres 10 ml-Pyrexglas überführt und 30 min unter Stickstoff auf ein Restvolumen von etwa 3 ml abgeblasen. Dieses wurde auf 10 ml mit bidest. Wasser aufgefüllt, wovon 5 ml (2 mal 2,5 ml) auf eine mit 3 ml Methanol und anschließend mit 6 ml Wasser vorkonditionierte Festphasen-Kartusche aufgegeben wurden. Es wurde eine 3 ml-Kartusche (Chromabond®, Macherey & Nagel, Düren; Füllmaterial: 500 mg Polyamid 6) verwendet. Die Kartusche wurde nach Aufgabe mit 6 ml Wasser gewaschen und die neutrale Fraktion der Flavonolglykoside mit 2 mal 2,5 ml Methanol und die saure Fraktion der Flavonolglukuronide mit 2 mal 2,5 ml Methanol/Ammoniak (25 %) (99,5:0,5; v/v) eluiert. Die Fraktionen wurden unter Stickstoff bis zur Trockene abgeblasen, in 1,5 ml Dimethylformamid/Wasser (33:66; v/v) aufgenommen und in einem Braungläschen in eine HPLC-DAD-MS-Anlage (1100 Serie Hewlett-Packard (Palo Alto, USA), siehe Tabelle 31 und 33, Anhang 9.6.) gestellt. Die Identifizierung erfolgte mittels Co-Chromatographie, anhand der Retentionszeiten, der UV- und der Massenspektren. Als Trennsäule wurde die Säule Prodigy® 100 A, 250 x 3 mm, 5 µm (Phenomenex, Aschaffenburg) verwendet, die bei 35 °C thermostatisiert wurde. Als Fließmittel wurden die Eluenten 1 (2 % Tetrahydrofuran und 0,1 % TFA in Wasser; v/v/v) und 2 (100 % Acetonitril, für die HPLC) verwendet; das Gradienten-Programm ist in Tab. 32 in Anhang 9.6. dargestellt. Der MS-Detektor bestand aus einer Elektrospray-Quelle und wurde im positiven Modus betrieben. Die an dem MS-Detektor optimierten Bedingungen sind in Tab. 33 in Anhang 9.6. beschrieben.

Die Quantifizierung wurde mittels zweier interner Standards durchgeführt, die beide im Untersuchungsmaterial nicht nachgewiesen wurden. Dies waren für die Kämpferolglykoside Kämpferol-3-*O*-glucopyranosid und für die Quercetinglykoside Quercitrin.

Es wurde bei allen Lagerstadien mindestens eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

#### **4.4.4.2. Bestimmung der antioxidativen Kapazität**

Die Bestimmung der antioxidativen Kapazität erfolgte in Erbsen, Bohnen und Karotten durch Quantifizierung des Gesamtpolyphenolgehalts nach Folin-Ciocalteu und durch Anwendung des FRAP-Tests (Bub et al., 2000).

Die Bestimmung nach Folin-Ciocalteu wurde folgendermaßen an die Matrix angepasst: 200 mg gefriergetrocknetes Gemüsepulver wurden in ein 10 ml-Pyrexglas eingewogen und 10 ml bidest. Wasser zugegeben. Die Proben wurden 20 min auf einer Schüttelmaschine bewegt, anschließend 15

min bei 3500 · g zentrifugiert und der Überstand in 7,5 ml Kunststoff-Schnappdeckelgläser überführt und bis zur Analyse bei -45 °C eingefroren. Daraus wurden vor der Analyse nach 25-minütigem Auftauen 30-400 µl (je nach Gemüseart) in eine Kunststoff-Küvette gefüllt und 200 µl käuflich erworbene Folin-Ciocalteu-Lösung zugegeben. Nach Durchmischen und 8 min Reaktionszeit wurde 1 ml Natriumcarbonatlösung (7,5 %; w/v) und 2,6-2,97 ml (je nach Gemüseart um auf ein Gesamtvolumen von 4 ml zu kommen) zupipettiert. Nach 120 min wurde die Extinktion der Probenlösung gegen einen Blindwert bestimmt. Zur quantitativen Auswertung wurde parallel eine Gallussäure-Standardreihe bestimmt, da Gallussäure ein starkes Antioxidationsmittel ist und bei der Ermittlung der antioxidativen Kapazität häufig zum Einsatz kommt. Ein Pipettierschema der Ermittlung der antioxidativen Kapazität nach der Folin-Ciocalteu-Methode ist in Anhang 9.7.1. wieder gegeben.

Zur Erfassung der antioxidativen Kapazität nach dem FRAP-Test wurden die, für die Bestimmung mit dem Test nach Folin-Ciocalteu hergestellten wässrigen Extrakte verwendet. Zur Herstellung des FRAP-Reagenzes wurden ein Acetatpuffer (3,1 g Natriumacetat-trihydrat in Wasser vorlösen, 16 ml Eisessig zugeben, mit Wasser auf 1 l auffüllen, pH = 3,6), eine 2,4,6-Tri-2-pyridinyl-1,3,5-triazin (TPTZ-)Lösung (0,3123 g TPTZ in 4 ml 1 mmol/l Salzsäure lösen, mit Wasser auf 100 ml auffüllen) und eine Eisen(III)-chloridlösung (0,5406 g Eisen(III)-chlorid-hexahydrat in Wasser lösen, auf 100 ml auffüllen) vorbereitet. Das FRAP-Reagenz wurde aus 100 ml Acetatpuffer, 10 ml TPTZ-Lösung und 10 ml Eisen(III)-chloridlösung frisch gemischt. Zu 5-50 µl Probenextrakt (abhängig von der untersuchten Gemüseart) wurden in 96-er Mikrotiterplatten bis zum Volumen von 50 µl bidest. Wasser zugeben. Dazu wurden 150 µl FRAP-Reagenz zugegeben und nach 4 min bei 590 nm gegen einen Blindwert (50 ml Wasser und 150 µl FRAP-Reagenz) photometriert. Zur Quantifizierung diente eine in den 96-er Mikrotiterplatten parallel angesetzte AA-Standardreihe (5-50 µl einer 0,2 mmol/l Stammlösung nach Anhang 9.7.2.).

## 5 Ergebnisse

Dargestellt sind zunächst zu dem jeweiligen Parameter die notwendigen Methodenanpassungen. Daran anschließend werden die gefundenen Gehalte vorgestellt. Soweit von Signifikanzen die Rede ist, wurden diese mittels mehrfaktorieller ANOVA (ANalysis Of VAriance) berechnet (SPSS für Windows, Version 11.5.2). Der Test auf Homogenität der Varianzen wurde mit dem „Verfahren nach Levene“ (Kromidas, 1999) durchgeführt. Um herauszufinden welche Gruppen voneinander verschieden sind, bzw. welche Gruppe(n) sich von der/den anderen signifikant unterscheidet/en wurde im Anschluss an die ANOVA ein „Post hoc Test“ durchgeführt. Der hier gewählte „Post hoc Test nach Scheffé“ (Kromidas, 1999) wurde mit einem Signifikanzniveau von 95 % bzw.  $\alpha = 0,05$  ausgewertet. Die Daten dazu finden sich im Anhang 9.9.

### 5.1. Vitamin C-Analytik

#### 5.1.1. Methodenoptimierung

Okamura (1980) ermittelte für die Reduktion der DHAA mit DTT pH-Wert-Optima von pH 6,5 bis 8,0. Eine genauere Angabe fand sich bei Steffan (1999), der dieses mit pH 7,0 angab. Sánchez-Mata et al. (2000) gaben ebenfalls einen pH-Wert von 7,0 an. Dieser pH-Wert wurde hier eingestellt und die Zeit der DTT-Einwirkung sowie der DTT-Überschuss optimiert. Die Ergebnisse sind in Abb. 10 dargestellt.

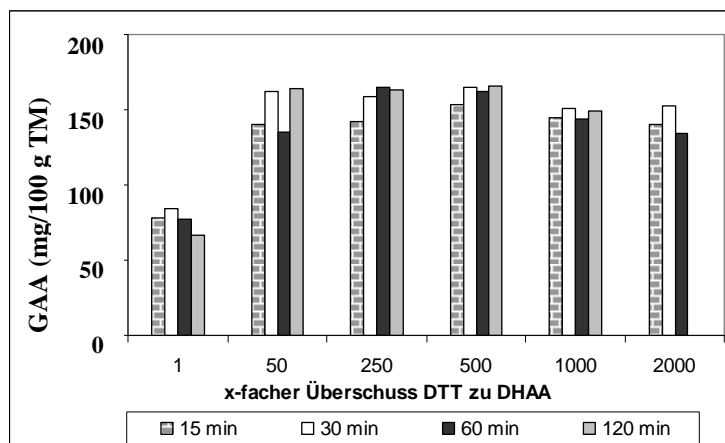


Abb. 10:

GAA-Ausbeuten bei verschiedenen DTT-Überschüssen (relativ zur DHAA) und verschiedenen Reduktionszeiten

Ein Überschuss von einem Teil zugegebenen DTT zu einem Teil vorhandener DHAA erbrachte die

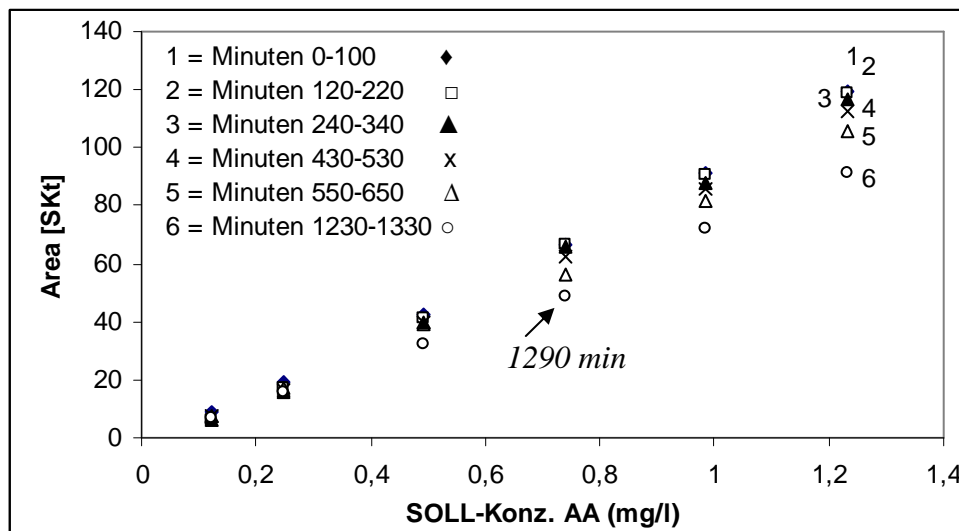
geringsten Ausbeuten an GAA. Hier war von einem Anteil nicht quantitativ umgesetzter DHAA auszugehen, da eine Erhöhung des DTT-Überschusses (bezogen auf den in Vorversuchen ermittelten DHAA-Anteil) auf 50 deutliche Steigerungen der GAA-Ausbeuten erbrachte. Bei höheren DTT-Überschüssen (bezogen auf den in Vorversuchen ermittelten DHAA-Anteil) war keine weitere Steigerung der GAA-Ausbeute zu beobachten (Abb. 10).

Die Dauer der Einwirkung von DTT auf das im Gemüse vorhandene DHAA spielte ebenfalls eine Rolle für die Ausbeute an GAA: Bei 15 min Einwirkzeit DTT waren die GAA-Ausbeuten tendenziell

geringer als bei 30, 60 und 120 min, ab 30 min war keine signifikante Steigerung der GAA-Ausbeute mehr zu verzeichnen (Abb. 10). Es wurde außerdem an dieser Stelle (in Abb. 10 nicht dargestellt) der Einfluss der Temperatur getestet, wobei sich herausstellte, dass ab 45 °C ein Verlust an AA eintrat. Somit wurden fortan alle zur Messung der GAA-Anteile in Gemüse durchgeführten Reduktionen bei RT, mit einem 50-fachen DTT-Überschuss (bezogen auf den in Vorversuchen ermittelten DHAA-Anteil) und mit einer Reduktionszeit von 15 min durchgeführt.

Der Einfluss einer Extraktion mit Oxalsäure im Gegensatz zu einer Extraktion mit *m*-Phosphorsäure/Perchlorsäure (2,5 %ige (w/v) *m*-Phosphorsäure in 3 %iger (v/v) Perchlorsäure) auf die Stabilität von AA wurde für einen Zeitraum von 0 bis 1330 min bestimmt. Es wurde eine AA-Standardreihe (0,12 bis 1,2 mg/l) aus derselben Stammlösung einmal mit *m*-Phosphorsäure-Perchlorsäure-Mischung und einmal mit 2 %iger Oxalsäure (Tillmans et al., 1932) hergestellt und nach verschiedenen Zeiten chromatographiert (alle 20 min eine Injektion).

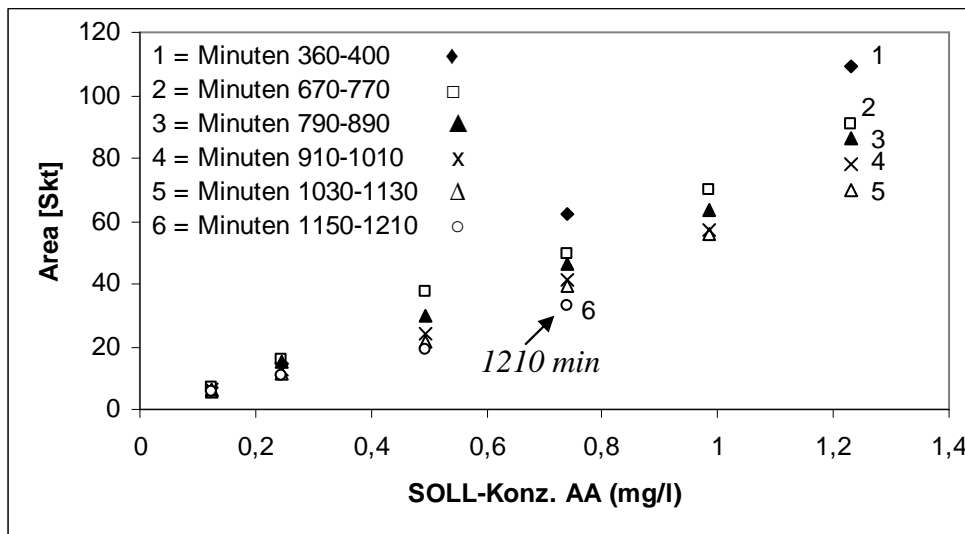
Abb. 11: Stabilität von AA in der *m*-Phosphorsäure/Perchlorsäure-Lösung (Standardreihe)



In Abb. 11 ist die Stabilität der AA-Standardreihe in *m*-Phosphorsäure-Perchlorsäure-Mischung dargestellt. Man erkennt, dass nach 430 bis 530 min eine Abnahme gegenüber der Standardreihe 0-100 min festzustellen war, die sich auf etwa 6 % belief. Eine verlässliche Analyse einer Bestimmungsreihe muss demnach möglichst nach 6 h beendet sein. Allerdings könnte ein temperaturgesteuerter Autosampler oder ein Arbeiten unter strenger Stickstoffatmosphäre diese Analysenzeit verlängern.

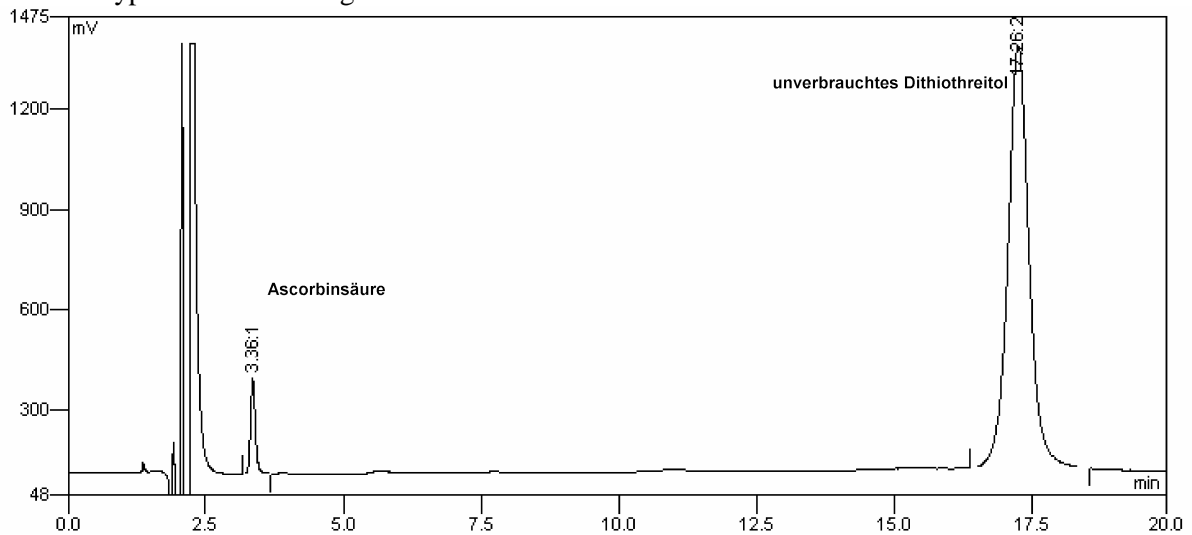
In Abb. 12 (S. 44) ist die Stabilität der AA-Standardreihe in Oxalsäure dargestellt. Die Stabilität der in Oxalsäure gelösten AA war deutlich geringer, was ein Vergleich bei etwa gleichen Zeitdifferenzen in Abb. 11 und 12 verdeutlicht: Bei der Konzentration 0,74 (mg/l AA) zum Zeitpunkt 1210 min bei der Oxalsäure-Extraktion betrug die Peakfläche ca. 32 Skalenteile gegenüber ca. 48 bei der *m*-Phosphorsäure-Extraktion nach 1290 min).

Abb. 12: Stabilität von AA in Oxalsäurelösung (Standardreihe)



Ein typisches Chromatogramm einer GAA-Analyse eines Bohnen-Extrakts ist in Abb. 13 dargestellt.

Abb. 13: Typisches Chromatogramm eines AA-Extrakts von Bohnen



Der qualitative Nachweis der AA wurde durch Co-Chromatographie und durch einen Test mittels eines Ascorbatoxidase-Spatels aus einem Enzym-Testkit (zur AA-Bestimmung) geführt. Dazu wurde eine für die AA-Bestimmung aufgearbeitete Probenlösung zunächst ohne weitere Zusätze in die HPLC injiziert. Danach wurde ein Aliquot derselben Lösung 10 min mit einem Ascorbatoxidase-Spatel bei 37 °C behandelt und anschließend ebenfalls injiziert. Eine vollständige Löschung des AA-Peaks war zu beobachten.

Die Detektions-Bedingungen des ECD (Zellpotential, Zell-Temperatur, Zellabstand) wurden von Steffan (1999) optimiert und sind hier übernommen worden.

Da aus Kapazitätsgründen eine Messung an einem DAD notwendig war, wurde zur Validierung der Methode ein ECD und ein DAD verglichen: Eine gut homogenisierte Probe an gefriergetrocknetem Bohnenpulver wurde je 3 mal für die Bestimmung der GAA am ECD und für die Bestimmung am



DAD extrahiert. Nach Ermittlung der Mittelwerte und der Standardabweichungen der GAA aus je 3 verschiedenen Extrakten bei den zwei Detektionsarten wurde ein Differenzen-t-Wert (paarweiser Vergleich) berechnet. Ist der errechnete t-Wert kleiner als der tabellierte t-Wert, so konnte nach Kromidas (1999) davon ausgegangen werden, dass kein Unterschied bei den erhaltenen Ergebnissen bei den Detektionsarten bestand. Da in Tab. 7  $t\text{-Wert}_{\text{gefunden}} < t\text{-Wert}_{\text{tabelliert}}$  ist, sind die beiden Verfahren mit unterschiedlicher Detektion mit 95 %iger Wahrscheinlichkeit gleichwertig.

Tab. 7: Vergleich der GAA-Ergebnisse mit DAD und ECD

	Einwaagen [mg]	Peakflächen [AU* · s bzw. mV · min]	Ergebnis GAA [mg/100 g TM]	Differenz von DAD- und ECD-Ergebnissen	
<b>DAD</b>	87,5	102351 AU · s	111,12		
	92,0	108913 AU · s	112,36		
	98,1	119129 AU · s	115,11		
<b>EC</b>	109,6	47,93 mV · min	118,19	Differenz 1: 7,07 mg/100 g TM	
	98,6	44,07 mV · min	121,21	Differenz 2: 8,85 mg/100 g TM	
	100,4	42,85 mV · min	115,78	Differenz 3: 0,67 mg/100 g TM	
			Mittelwert der Differenzen		5,53 mg/100 g TM
			Standardabweichung		2,98 mg/100 g TM
			Anzahl der Messwerte n		3
			Freiheitsgrade f (= n-1)		2
			t-Wert <sub>gefunden</sub>		3,212 **
			t-Wert <sub>tabelliert</sub>		4,303
			Wahrscheinlichkeit		95 %

\* AU (Absorptionseinheiten),

\*\* nach Berechnung mit der Statistik-Software SPSS für Windows v. 10.0.7

Zur Überprüfung der Langzeit-Stabilität des Vitamin C während einer Gefrierlagerung bei -45 °C nach 17,3 Monaten (entspricht dem Zeitraum zwischen dem 13.08.03 und dem 23.01.05) wurde entsprechend obigem statistischen Verfahren ein paarweiser Vergleich der Messwerte bei einem Lagerstatus (8 Monate -25 °C roh, Bohnen) durchgeführt (Tab. 8).

Tab. 8: Überprüfung der Langzeitstabilität von Vitamin C bei -45 °C-Lagerung:

Analyse Datum	Einwaagen [mg]	Peakflächen [AU* · s]	Ergebnisse GAA [mg /100 g TM]	Differenzen der GAA-Ergebnisse 13.08.03-23.01.05	
<b>13.08.03</b>	96,80	31,35	334,34		
	98,60	30,92	331,57		
	97,71	30,99	331,98		
<b>23.01.05</b>	104,63	33,12	326,03	Differenz 1: 8,31 mg/100 g TM	
	91,86	30,67	345,11	Differenz 2: 8,85 mg/100 g TM	
	105,04	34,85	333,10	Differenz 3: -1,12 mg/100 g TM	
			Mittelwert der Differenzen		5,53 mg/100 g TM
			Standardabweichung		5,35 mg/100 g TM
			Anzahl der Messwerte n		3
			Freiheitsgrade f (= n-1)		2
			t-Wert <sub>gefunden</sub>		3,891 **
			t-Wert <sub>tabelliert</sub>		4,303
			Wahrscheinlichkeit		95 %

Da auch in Tab. 8  $t\text{-Wert}_{\text{gefunden}} < t\text{-Wert}_{\text{tabelliert}}$  ist, war beim Vitamin C-Gehalt keine statistisch signifikante Veränderung innerhalb von 17,3 Monaten bei einer durchgängigen Lagerung bei  $-45\text{ °C}$  festzustellen. Eine derartige Gefrierlagerung nach dem Gefriertrocknen bis zur Analyse ist also möglich ohne dass mit Verlusten zu rechnen ist.

Die weiteren statistischen Kenndaten zur Vitamin C-Analytik (der im Methodenteil beschriebenen Methode) sind im Anhang 9.4. dargestellt.

### 5.1.2. Vitamin C-Bestimmung in Abhängigkeit von der Lagerung

Alle Untersuchungsergebnisse sind in Säulengrafiken dargestellt. Eine Aufschlüsselung der Lagerstadien-Abkürzungen ist in Tab. 15 in Anhang 9.1. dargestellt. Es werden immer die Vitamin C-Gehalte des Gemüses während der Lagerung in rohem und gegartem Zustand getrennt von einander dargestellt, da die Gehalte beim Vergleich rohes/gegartes Gemüse so unterschiedlich sind, dass sie in einer Grafik nicht mehr übersichtlich dargestellt werden können. Alle Stadien der  $4\text{ °C}$  und  $20\text{ °C}$ -Lagerung werden vereinfacht der FR-Lagerung zugerechnet und als FR-Stadien bezeichnet, während die bei  $-18\text{ °C}$  und  $-25\text{ °C}$  gelagerten Stadien als TK-Stadien bezeichnet werden.

#### 5.1.2.1. Vitamin C in Erbsen

Abb. 14 zeigt bei den rohen Erbsen (FR roh) der 1. Saison nach 7 Tagen ( $20\text{ °C}$ ) einen um 22 % signifikant niedrigeren Vitamin C-Gehalt im Vergleich zum Ausgangsstatus (FR roh 1T), während dieser sich bei einer  $4\text{ °C}$ -Lagerung bis zu 14 Tage nicht signifikant (um 9 %) verringert. Weiterhin fällt eine Abnahme des Vitamin C-Gehaltes bei der TK-Lagerung der rohen Erbsen nach 4, 8 und besonders nach 12 Monaten bei  $-18\text{ °C}$  (um 31 %) auf. Der Vitamin C-Gehalt bei der TK-Lagerung bei  $-25\text{ °C}$  ändert sich nicht signifikant (um 10 %) zum Ausgangsstatus (TK roh 0M) beim Vergleich von 0M (blanchiertes Produkt sofort analysiert bzw. bei  $-45\text{ °C}$  bis zur Analyse eingefroren) und 24M.

Abb. 14: Vitamin C-Gehalte in rohen Erbsen der 1. Saison (mg/100 g TM)

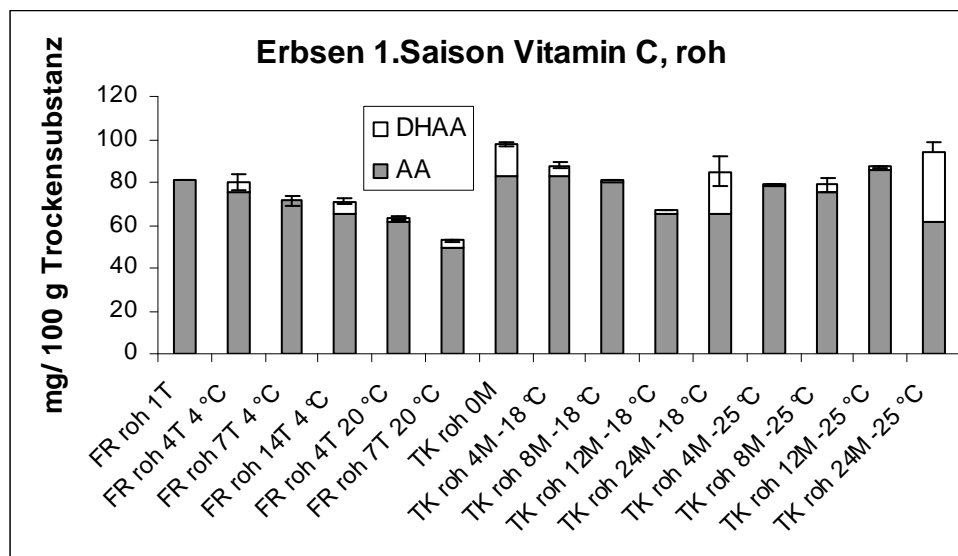
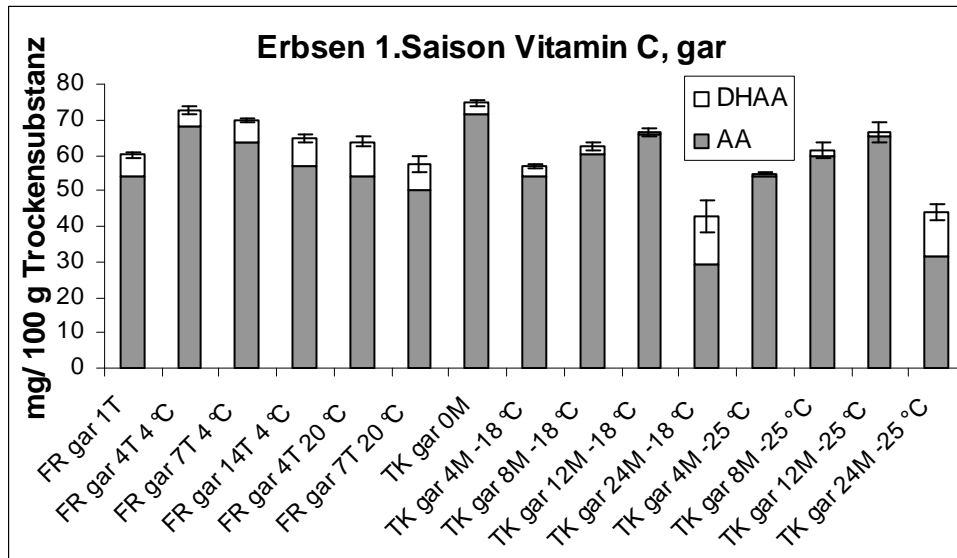


Abb. 15: Vitamin C-Gehalte in gegarten Erbsen der 1. Saison (mg/100 g TM)

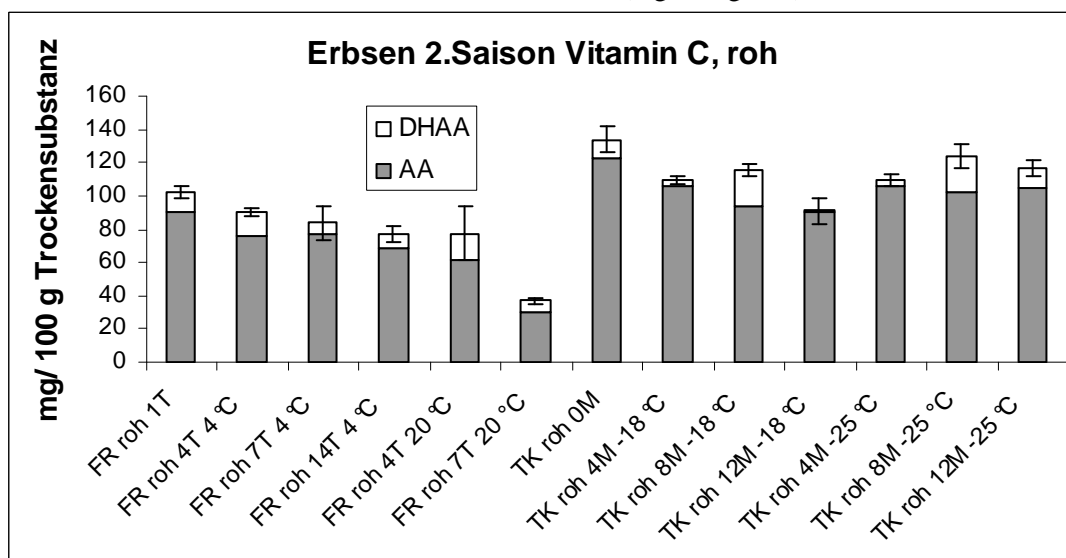


In den gegarten Erbsen der 1. Saison ist in Abb. 15 bei den FR-Erbsen am 7. Tag (20 °C) auch ein schnell eintretender Vitamin C-Verlust (gegenüber 4T 4 °C um 21 %) während der FR-Lagerung zu erkennen. Der Wert des Ausgangsstatus FR gar 1T scheint tendenziell zu niedrig bestimmt.

Die gegarten TK-Erbsen enthalten 41 % weniger Vitamin C nach einer 24M-Lagerung (bei -25 °C) im Vergleich zum Ausgangsstatus (TK gar 0M).

Die DHAA-Anteile an der GAA fallen bei den gegarten Erbsen der 1. Saison höher (zum Beispiel 16 % beim Status FR gar 4T 20 °C) aus als bei den rohen Erbsen der 1. Saison (zum Beispiel 2 % beim Status FR roh 4T 20 °C).

Abb. 16: Vitamin C-Gehalte in rohen Erbsen der 2. Saison (mg/100 g TM)

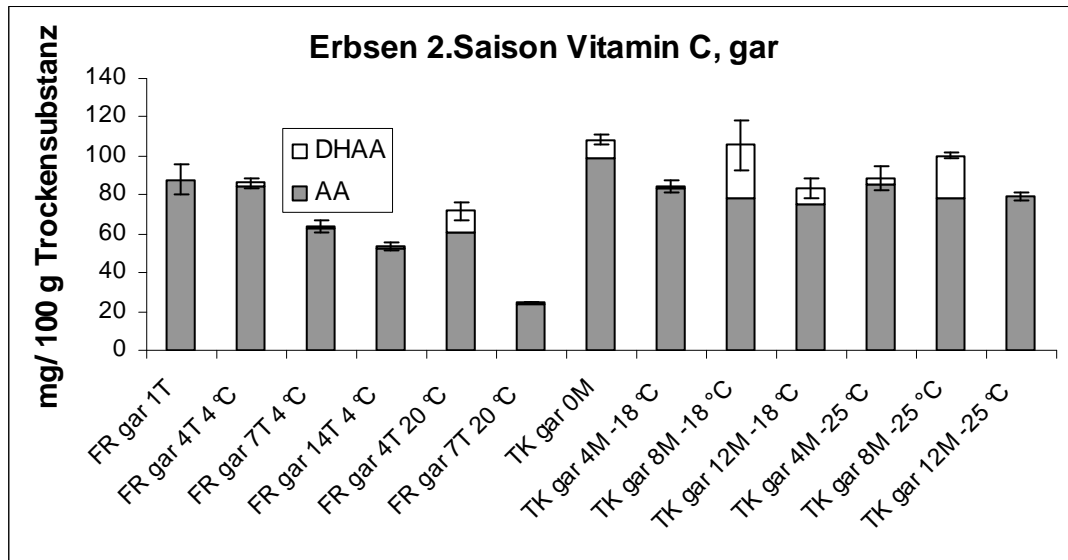


Die Gehalte an Vitamin C in rohen Erbsen der 2. Saison nehmen bei der FR-Lagerung schnell ab (Abb. 16); nach 7 Tagen 20 °C sind bereits mehr als 60 % des Anfangsgehalts abgebaut, während die Vitamin C-Gehalte in TK-Erbsen über 12 Monate auf deutlich höherem Niveau bleiben.

Tendenziell sorgt die Temperatur -25 °C für eine höhere Stabilität des Vitamin C als -18 °C (bei 12M -18 °C 32 %, bei 12 M -25 °C 23 % weniger Vitamin C im Vergleich zu TK roh 0M).

Die Anteile der DHAA an der GAA sind bei den rohen und den gegarten Erbsen der 2. Saison etwa gleich groß und unsystematisch bei einigen Lagerstadien (zum Beispiel FR roh/gar 4T 20°C) größer als bei anderen, in denen gar keine DHAA bestimmbar war (zum Beispiel FR gar 1T).

Abb. 17: Vitamin C-Gehalte in gegarten Erbsen der 2. Saison (mg/100 g TM)



Auch bei der Untersuchung der gegarten Erbsen (Abb. 17) der 2. Saison fällt auf, dass eine Lagerstabilität nach 7 Tagen nicht mehr gewährleistet ist. Allerdings schwanken die gefundenen Vitamin C-Gehalte durch den Garprozess (wie in der 1. Saison) stärker als bei der Rohware. Die Gehalte während der TK-Lagerung liegen durchweg höher als die der FR-Lagerung und vermindern sich erst ab dem 12. Monat signifikant (bei einer -25 °C-Lagerung) um 27 % (im Vergleich zum Ausgangsstatus TK 0M) gegenüber 72 % (nach 7 Tagen bei 20 °C im Vergleich zum Ausgangsstatus FR gar 1T).

Generell sind die Vitamin C-Gehalte durchschnittlich um etwa 20 % durch das Garen erniedrigt (vergleicht man die Gehalte aus Abb. 16 mit denen aus Abb. 17).

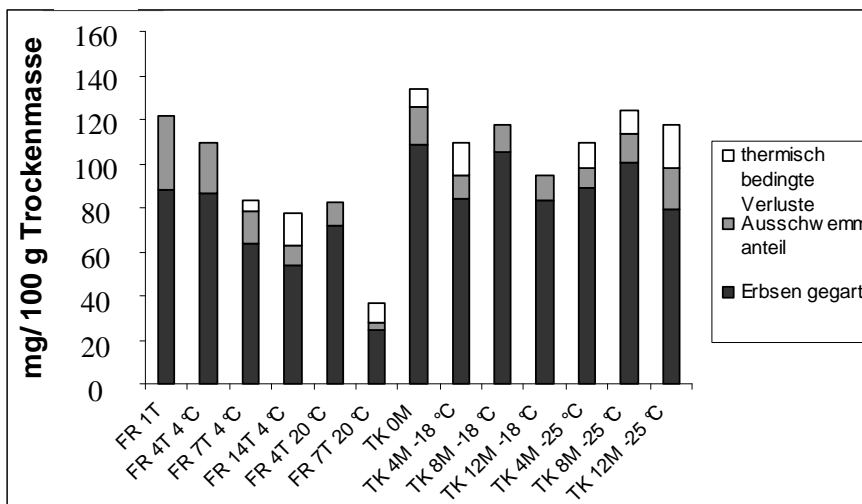


Abb.: 18

Vitamin C-Bilanz der Erbsen der 2. Saison beim

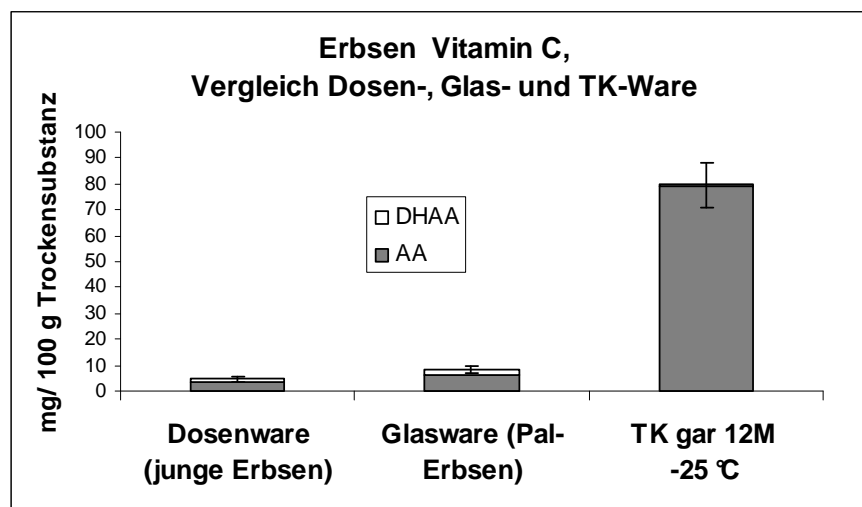
Die gesamten Vitamin C-Veränderungen einschließlich der Verluste beim Zubereiten, aufgliedert in Ausschwemm- und thermisch

bedingte Verluste, sind Abb. 18 zu entnehmen. Der Ausschwemmanteil wird berechnet aus der gefundenen Vitamin C-Konzentration im Kochwasser, wobei die beim Kochen verwendete Gemüsemenge für die Berechnung auf 100 g TM berücksichtigt wurde. Der thermisch bedingte Vitamin C-Verlust ist dann die Differenz aus dem Gehalt vor dem Kochen (also der jeweilige rohe Status) und dem Ausschwemmanteil.

Beim Vergleich der einzelnen Lagerstadien in Bezug auf die Vitamin C-Verluste beim Kochen zeigt sich bei den Erbsen ein heterogenes Bild. Einige Stadien weisen keine bestimmaren thermischen Abbauverluste auf (zum Beispiel FR roh 1T), während in anderen Lagerstadien (zum Beispiel FR roh 7T 20) mehr Vitamin C einem thermischen Abbau als einem Verlust durch Auslaugen unterliegt. Dabei ist kein einheitlicher Trend während der Lagerung zu erkennen. In der Gesamtübersicht sind die Vitamin C-Verluste aber auch unter Berücksichtigung des Ausschwemmanteils bei der FR-Ware deutlich höher als bei der TK-Ware.

Zum einfachen Vergleich wurden handelsübliche Dosenerbsen untersucht, die in Abb. 19 der gegarten TK-Ware nach 12 Monaten Lagerung bei -25 °C gegenübergestellt sind.

Abb. 19: Vergleich von Vitamin C in Dosen-, Glas- und TK-Ware

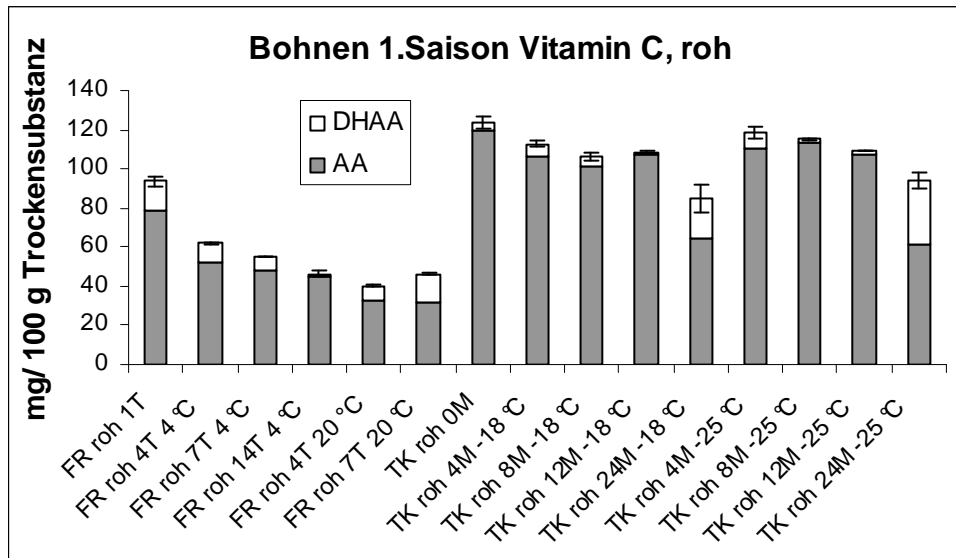


Es zeigt sich, dass die handelsüblichen Dosen- und Glaserbsen signifikant weniger Vitamin C (90 % bei Palerbsen und 94 % bei jungen Erbsen) gegenüber der gegarten TK-Ware nach 12 Monaten Lagerung enthalten.

### 5.1.2.2. Vitamin C in Bohnen

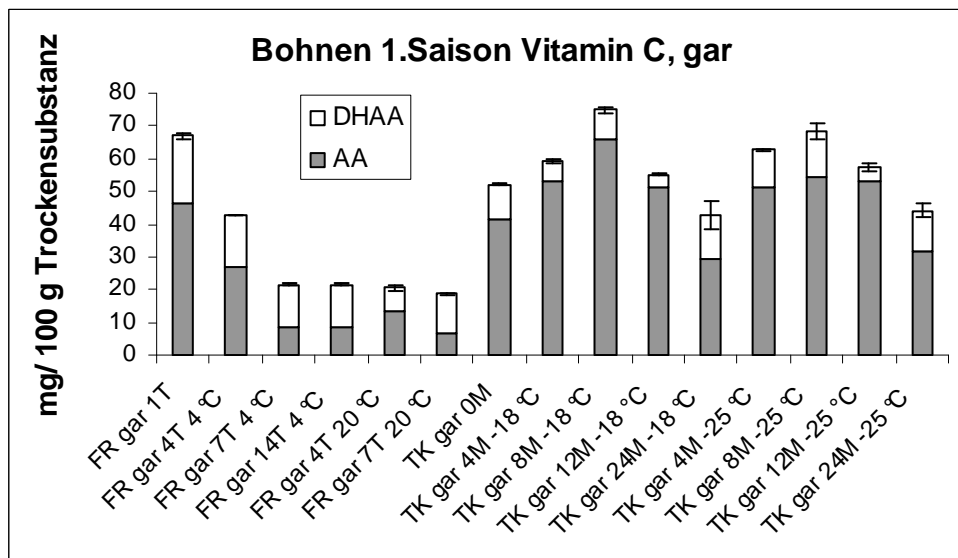
Beim Vergleich der FR- und TK-Ware fällt sowohl bei den rohen (Abb. 20) als auch bei den gegarten Bohnen (Abb. 21) der 1. Saison ein höherer Vitamin C-Gehalt in der TK-Ware auf, der wesentlich langsamer absinkt als der Vitamin C-Gehalt der FR-Ware: Bei einer Lagerung der Bohnen bei 4 °C ist nach 4 Tagen bei den rohen Bohnen (FR roh) ein signifikanter GAA-Verlust gegenüber dem Ausgangsstatus (FR roh 1T) von 34 % zu erkennen. Nach 4 Tagen Lagerung bei 20 °C ist der Vitamin C-Verlust mit 57 % noch drastischer (Abb. 20). Die Verluste während einer 24-monatigen Lagerung sind bei -18 °C (mit 28 %) und -25 °C (mit 25 %) niedriger.

Abb. 20: Vitamin C-Gehalte in rohen Bohnen der 1. Saison (mg/100 g TM)



Die Vitamin C-Verluste in den gegarten Bohnen der 1. Saison (Abb. 21) betragen nach 7 Tagen bei 20 °C 48 % gegenüber dem Ausgangsstatus. Die Gehalte in den TK-Bohnen fallen nach 24 Monaten Lagerung auf 97 % (bei -25 °C) bzw. 95 % (bei -18 °C) des Ausgangsstatus (TK roh 0M) ab und befinden sich damit auf deutlich höherem Niveau als die FR-Bohnen nach der längsten Lagerperiode. Die Vitamin C-Gehalte bei den gegarten Bohnen sind generell erwartungsgemäß niedriger als die Vitamin C-Gehalte der rohen Bohnen (um 21 % beim Vergleich FR 1T von Abb. 20 und 21).

Abb. 21: Vitamin C-Gehalte in gegarten Bohnen der 1. Saison (mg/100 g TM)

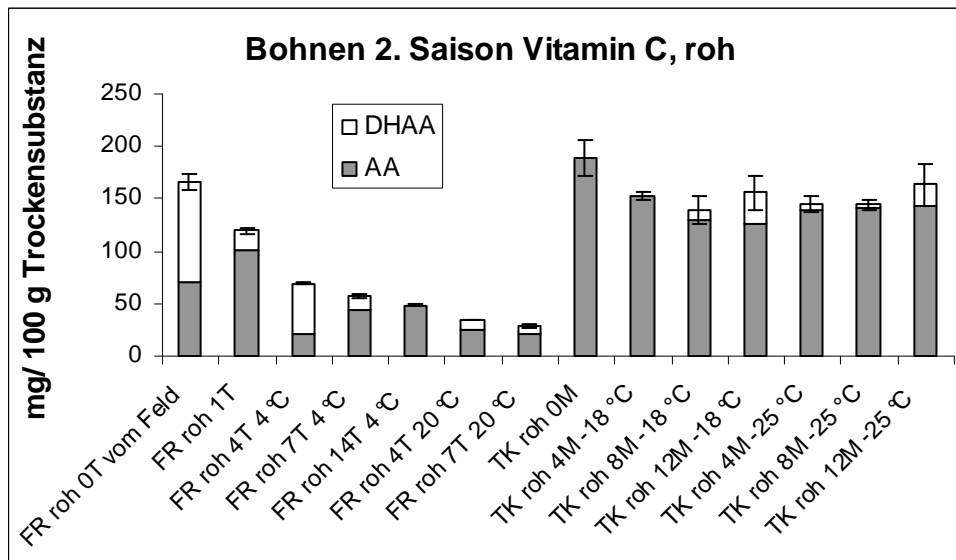


Bei den Bohnen wurde in der 2. Saison (Abb. 22) erstmalig der „Feldstatus“ (0T) untersucht, das heißt der Erntehelfer hat vor Ort eine Probe gezogen und bis zur Weiterbehandlung sofort tiefgekühlt. Hier sieht man, dass der Vitamin C-Gehalt beim Status 1T durch Probennahme, -bereitstellung und -transport (im Vergleich zum Status 0T) um 28 % erniedrigt ist. Es ergeben sich signifikante Abnahmen im Verlauf der FR-Lagerung (um bis zu 93 % beim Vergleich 0T mit 7T 20 °C), während

die Vitamin C-Gehalte im Verlauf der TK-Lagerung stabiler bleiben (18 % beim Vergleich 0M mit 12M -18°C); eine Abnahme des Vitamin C-Gehalts ist bereits nach 4 Monaten im Vergleich zum Status 0M bestimmbar, anschließend bleibt der Vitamin C-Gehalt konstant.

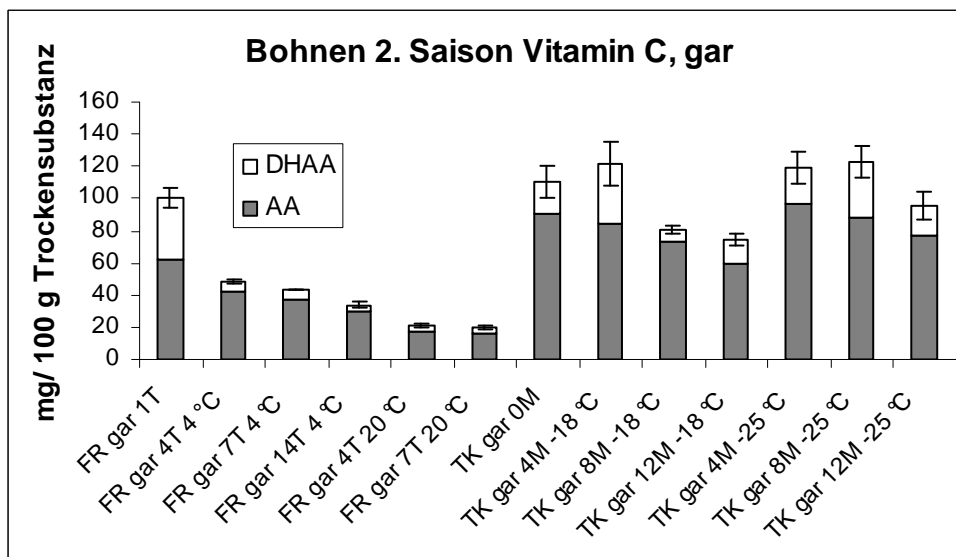
Die Anteile der DHAA an der GAA sind bei den gegarten FR-Bohnen der 1. Saison auffällig hoch (40-65 %), was bei den rohen FR-Bohnen der 1. Saison nicht zu beobachten ist (Abb. 20).

Abb. 22: Vitamin C-Gehalte in rohen Bohnen der 2. Saison (mg/100 g TM)



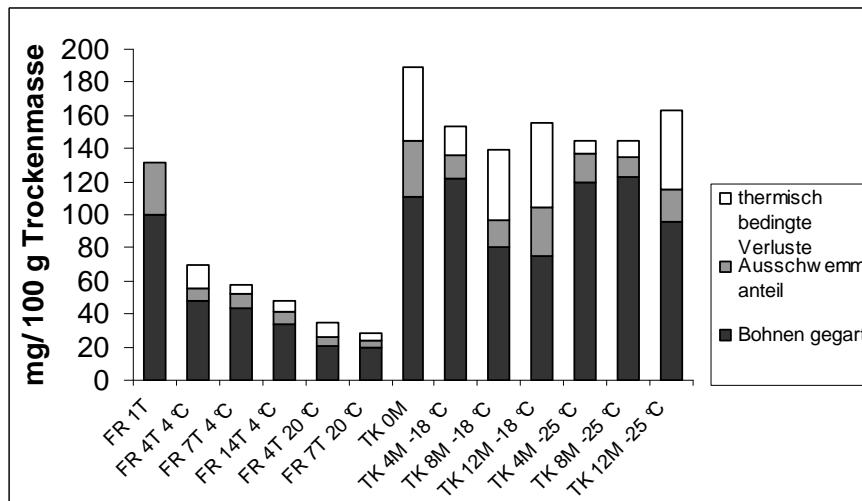
Die Vitamin C-Gehalte in gegarten Bohnen (Abb. 23) liegen wieder rund 20 % unter den Gehalten der rohen Bohnen (beim Vergleich Abb. 22 und Abb. 23). Die Verluste fallen bei den gegarten TK-Bohnen der 2. Saison nach 12 Monaten mit 32 % stärker aus (beim Vergleich von TK gar 12M -18 °C mit TK gar 0M) als bei den rohen Proben (18 % beim Vergleich TK roh 0M mit TK roh 12M -18°C). Der Unterschied des Vitamin C-Gehalts zwischen gegarten Bohnen, die bei -18 °C und -25 °C (12M) gelagert wurden, ist auch nach statistischer Prüfung mittels Post-hoc-Tests nach Scheffé nur tendenziell.

Abb. 23: Vitamin C-Gehalte in gegarten Bohnen der 2. Saison (mg/100 g TM)



Die Anteile der DHAA am Vitamin C-Gehalt sind bei den rohen und den gegarten Bohnen der 2. Saison ähnlich, wobei der Status FR 1T den höchsten DHAA-Anteil hat und die blanchierten und gegarten TK-Bohnen der 2. Saison im Vergleich zu den rohen TK-Bohnen der 2. Saison ebenfalls höhere DHAA-Anteile aufweisen.

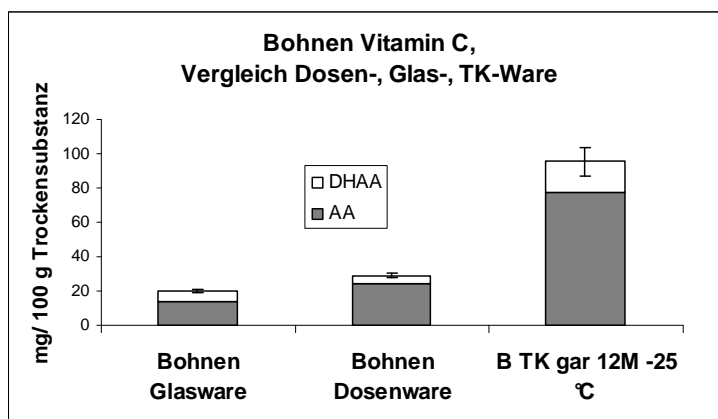
Die Gesamt-Vitamin C-Bilanz bei Bohnen der 2. Saison ist in Abb. 24 dargestellt.



< Abb. 24: Vitamin C-Bilanz der Lagerstadien in Bohnen der 2. Saison

Die durch thermischen Abbau bedingten Vitamin C-Anteile sind bei der TK-Ware (mit bis zu 31 %) tendenziell höher als bei der FR-Ware (mit

maximal 22 %). Die Gesamtverluste (unter Berücksichtigung der Ausschwemm- und der thermisch bedingten Vitamin C-Verluste) sind bei den TK-Proben auf deutlich niedrigerem Niveau als die der FR-Proben nach wenigen Tagen Lagerung.



< Abb. 25: Vergleich der Vitamin C-Gehalte von Dosen-, Glas- und TK-Bohnen

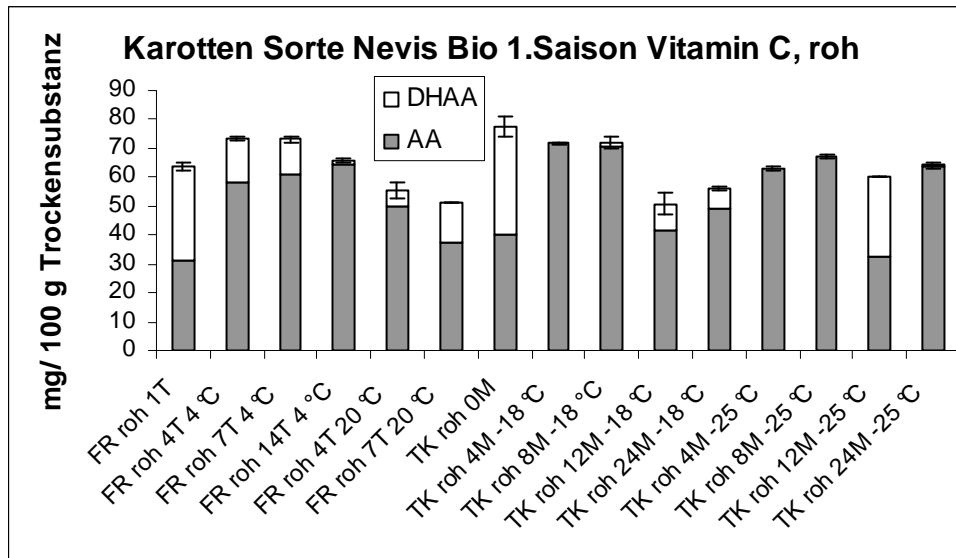
Bei einem direkten Vergleich der Vitamin C-Gehalte von Dosen-, Glas- und TK-Bohnen wurde in Glas- und Dosenware 79 % bzw. 70 % weniger Vitamin C im Vergleich zu den TK-Bohnen (TK gar 12M -25 °C) gefunden.

### 5.1.2.3. Vitamin C in Karotten

Die Gehalte an Vitamin C in Karotten nehmen in der 1. Saison im Verlauf der FR-Lagerung deutlich ab (Abb. 26): Beispielsweise werden nach 7 Tagen Lagerung bei 20 °C 20 % weniger Vitamin C im Vergleich zum 1. Tag gefunden. Im Verlauf der TK-Lagerung (beim Vergleich TK roh 0M zu TK roh 12M -18°C) betragen die Verluste sogar 36 %. Allerdings sind auch unter Einbeziehung eines zusätzlich bestimmten 24. Monats in der 1. Saison bei einigen Lagerstadien große Streuungen und uneinheitliche Tendenzen im zeitlichen Verlauf der Lagerung zu beobachten.

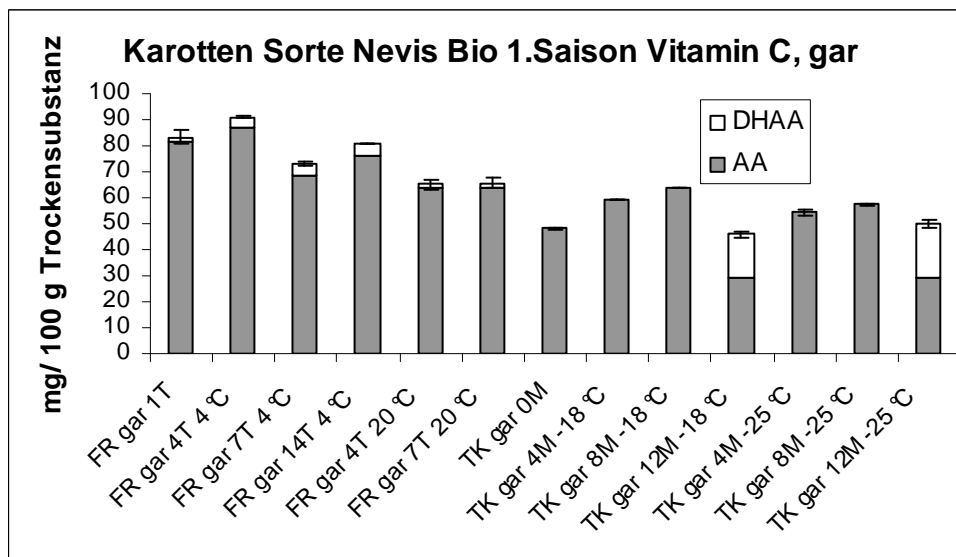


Abb. 26: Vitamin C-Gehalte in rohen Karotten der 1. Saison (mg/100 g TM)



Bei den gegarten Karotten (Abb. 27) der 1. Saison erkennt man einen stetigen Abbau des Vitamin C im Verlauf der FR-Lagerung (von 21 % nach 7 Tagen 20 °C im Vergleich zum 1. Tag). Die TK-Ware zeigt im Vergleich dazu signifikant erniedrigte Gehalte (der Status 0M enthält nur 44 % Vitamin C im Vergleich zum Status 1T), die allerdings im Laufe der Lagerung nicht weiter abfallen (4 % beim Vergleich von 0M und 12M -18 °C).

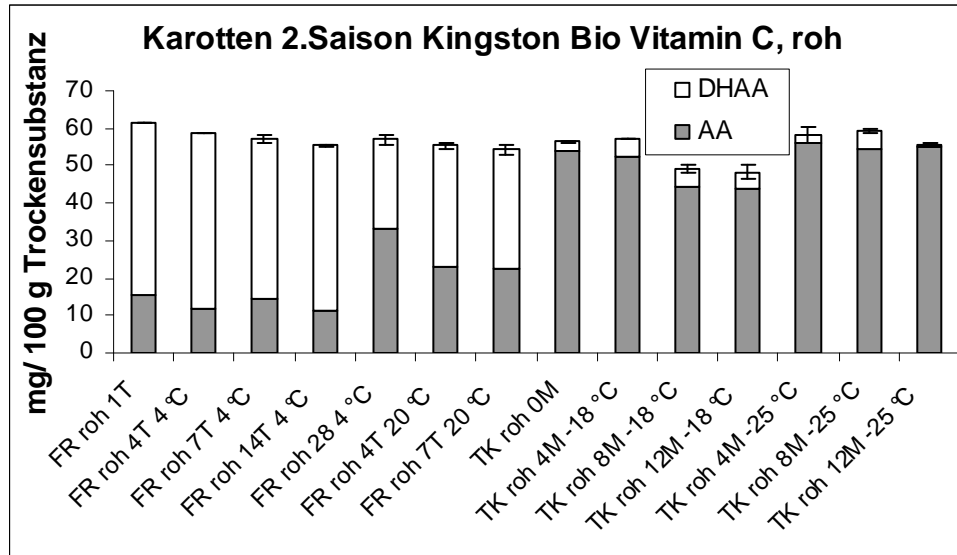
Abb. 27: Vitamin C-Gehalte in gegarten Karotten der 1. Saison (mg/100 g TM)



Die Vitamin C-Gehalte der Sorte Kingston (die in der 2. Saison angebaut wurde) zeigen gegenüber denen der Sorte Nevis aus der ersten Saison um 4 bzw. 27 % niedrigere Gesamtgehalte an Vitamin C (Vergleich von 1T bzw. 0M), sind aber -besonders bei der FR-Lagerung- stabiler im zeitlichen Verlauf (Abb. 28). Es zeigt sich während der TK-Lagerung eine Tendenz zur Abnahme des Vitamin C-Gehalts im Verlauf der 12 Monate, die bei der -18 °C-Lagerung (um 15 %) tendenziell stärker ausgeprägt ist als bei der -25 °C-Lagerung (um 2 %).

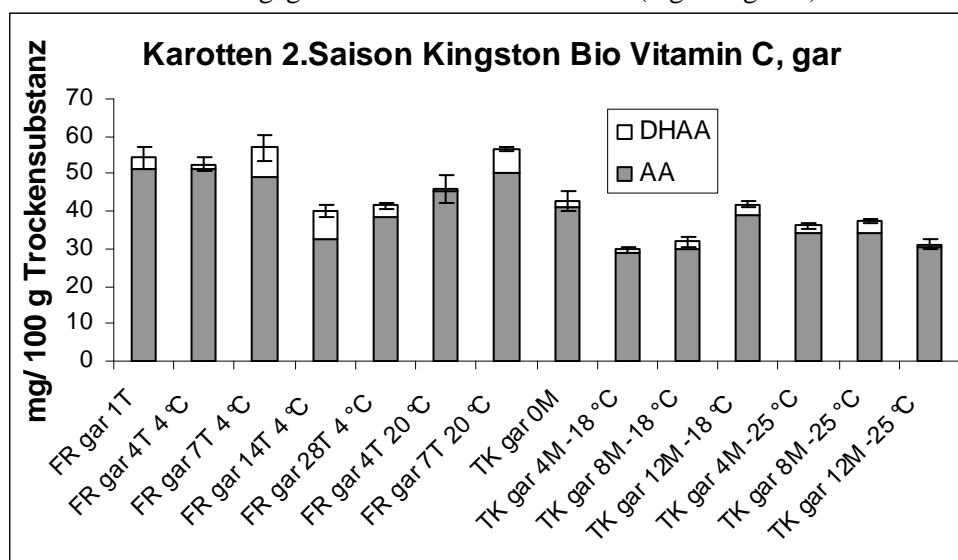
Bemerkenswert ist, dass bei der Sorte Kingston aus der 2. Saison bei den FR-Stadien in rohen Karotten höhere DHAA-Anteile an der GAA (42 bis 82 %) festzustellen sind als in der 1. Saison (0 bis 53 %).

Abb. 28: Vitamin C-Gehalte in rohen Karotten der 2. Saison (mg/100 g TM)



Auch bei den gegarten Karotten des zweiten Untersuchungsjahres (Abb. 29) werden bis zum Status FR gar 7T 20 °C keine und dann ab 14 Tagen bei 4 °C signifikante Vitamin C-Abnahmen (im Vergleich zum Status FR gar 1T) von 26 % bestimmt. Die Gehalte an Vitamin C in den TK-Stadien sind wieder deutlich unterhalb derer der FR-Karotten (der Status 0M weist 22 % weniger Vitamin C im Vergleich zum Status 1T auf). Die Anteile der DHAA (am GAA-Gehalt) sind im Vergleich zur Rohware (Abb. 28) zugunsten der AA zurückgegangen.

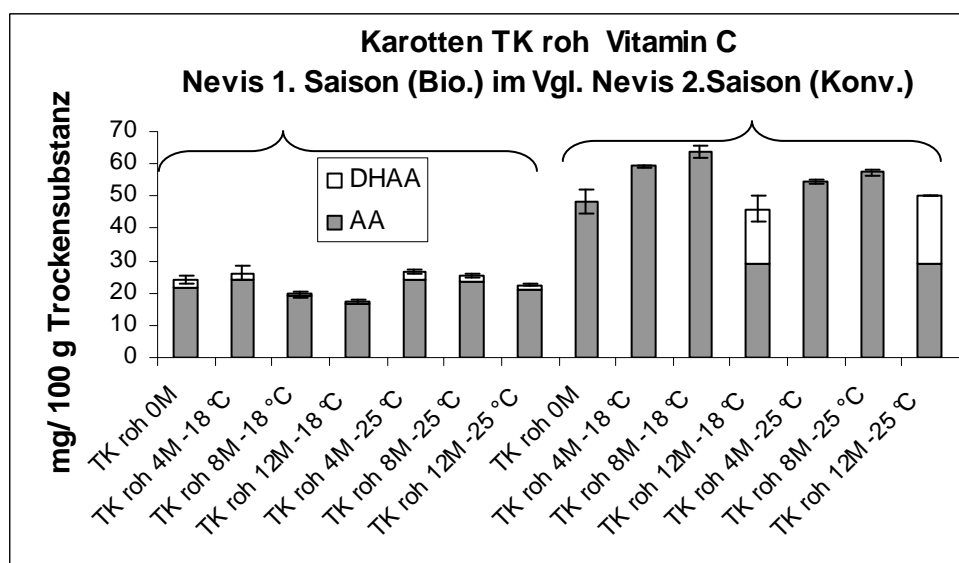
Abb. 29: Vitamin C-Gehalte in gegarten Karotten der 2. Saison (mg/100 g TM)



Die TK-Stadien der Karottensorte der 1. Saison (Nevis) wurden zusätzlich in der 2. Saison analysiert und denen der 1. Saison in Abb. 30 gegenübergestellt. Da aber auf konventionellen Anbau

zurückgegriffen werden musste, sind die Ergebnisse nicht allein durch den Effekt der unterschiedlichen Witterung erklärbar. Generell werden höhere Vitamin C-Gehalte in den konventionell, im trockenen Erntejahr 2003 angebauten Karotten der Sorte Nevis gefunden. Es ist anzunehmen, dass die Witterung eine weniger wichtigere Rolle spielt, denn beim Vergleich der Vitamin C-Gehalte der Karottensorte Nevis der 2. Saison (konventionell angebaut; in Abb. 30 rechts) mit denen der Karottensorte Kingston der 2. Saison (biologisch angebaut; nur mit TK roh in Abb. 28 zu vergleichen), die beide bei identischen klimatischen Bedingungen (im Sommer 2003) angebaut wurden, fällt auf, dass hier keine signifikanten Unterschiede im Vitamin C-Gehalt (beide ca. 60 mg/100 g TM) vorherrschen.

Abb. 30: Vitamin C-Gehalte roher TK-Karotten, Vergleich von 1. und 2. Saison (mg/100 g TM)



Bei der Betrachtung der Vitamin C-Bilanz (hier am Beispiel Erntejahr 2002, Abb. 31) einschließlich Kochschritt ergeben sich (besonders bei den FR-Lagerstadien) zum Teil keine bzw. negative „thermisch bedingte Vitamin C-Verluste“ während des Kochens von Karotten, was darauf zurückzuführen ist, dass zum Teil der Vitamin C-Gehalt der garen Stadien über dem der entsprechenden rohen Stadien liegt. Vitamin C ist aber trotzdem immer im Kochwasser bestimmbar.

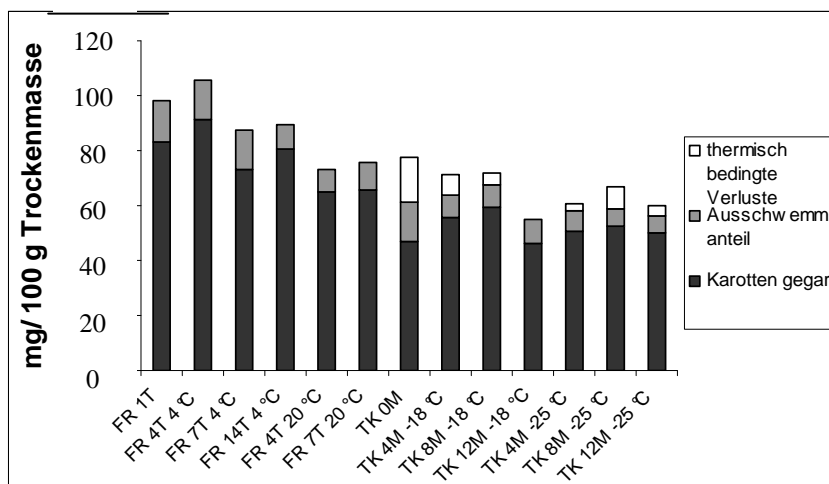


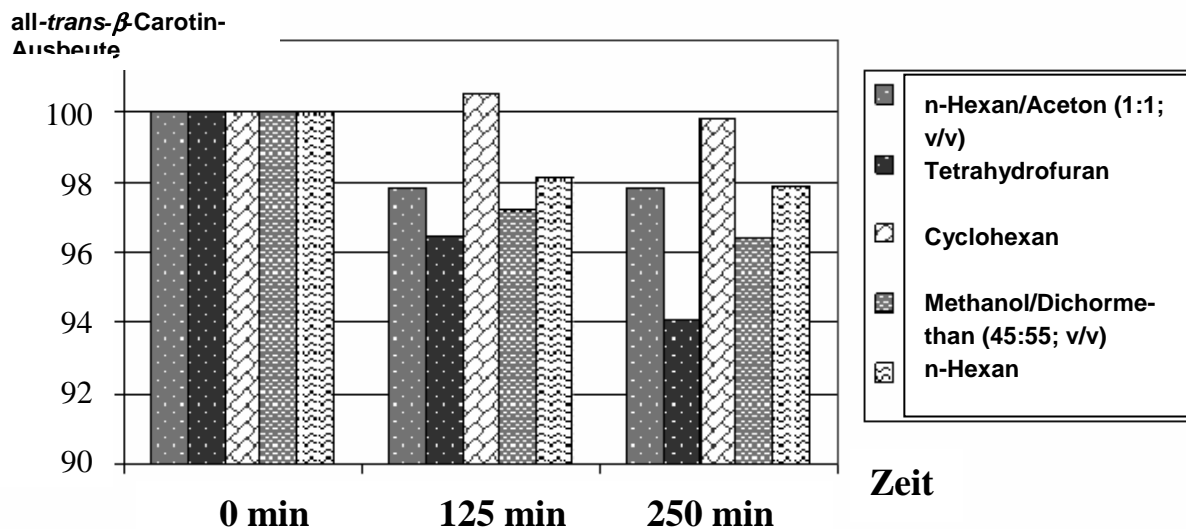
Abb. 31: Vitamin C-Bilanz in Karottenkochwasser der verschiedenen Lagerstadien

## 5.2. Carotin-Analytik

### 5.2.1. Methodenentwicklung

Zur Entwicklung einer Methode zur Carotin-Analyse wurden zunächst verschiedene Einflüsse auf die Gesamtcarotinausbeute ermittelt. Dazu wurden die Stabilitäten von *all-trans*- $\beta$ -Carotin in unterschiedlichen Extraktionsmitteln (Abb. 32) nach 0, 125 und 250 min bestimmt. Dabei zeigte sich, dass *all-trans*- $\beta$ -Carotin in allen Extraktionsmitteln zu über 90 % erhalten blieb, wobei es in Cyclohexan am stabilsten war. Allerdings wurden mit Cyclohexan Schwierigkeiten in der Mischbarkeit mit dem HPLC-Fließmittel festgestellt, wodurch es im Chromatogramm zu vielen Störsignalen und Einbrüchen des Grundsignals kam. Als chromatographisch geeignet erwiesen sich n-Hexan alleine und n-Hexan/Aceton (1:1; v/v).

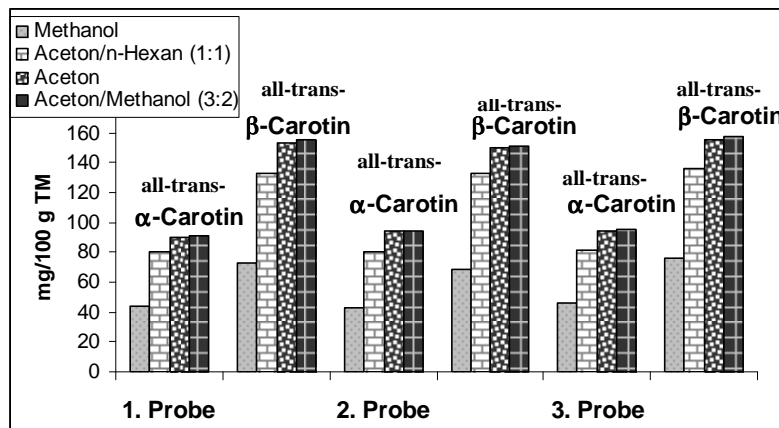
Abb. 32: *all-trans*- $\beta$ -Carotin-Stabilität (in % der ursprünglichen Menge) in 5 verschiedenen Lösungsmitteln nach 0, 125 und 250 min



In weiteren Vorversuchen zeigte sich, dass unvermischt eingesetzte, chlorierte Extraktionsmittel (zum Beispiel Dichlormethan) zur *cis-trans*-Isomerisierung des *all-trans*- $\beta$ -Carotins führten und daher für eine Analyse der einzelnen Carotin-Isomere nicht in Betracht kamen.

In einer Mehrfachextraktion wurde überprüft, wie oft bei einer Einwaage von 75 mg gefriergetrocknetem Karottenpulver extrahiert werden musste, um sicher kein weiteres Carotin zu extrahieren (Abb. 33). Dazu wurden jeweils 3 Karottenproben mit 2 mal 3 ml Methanol extrahiert, der Rückstand mit 2 mal 3 ml Aceton/n-Hexan (1:1; v/v), der daraus resultierende Rückstand mit 2 mal 3 ml 100 % Aceton und der letzte resultierende Rückstand mit 2 mal 3 ml Aceton/Methanol (3:2; v/v) behandelt (15 min lang im Ultraschallbad und nach Quetschen mit einem Glasstab in einem 10 ml-Pyrexglas).

Abb. 33: Ausbeuten an all-*trans*- $\alpha$ - und all-*trans*- $\beta$ -Carotin nach verschiedenen hintereinander erfolgten Extraktionen aus drei Karottenextraktionen mit vier verschiedenen Lösungsmitteln



Alle Extrakte wurden einzeln analysiert. Die Carotingehalte sind in Abb. 33 als Summe mit den jeweiligen vorherigen Extraktionsschritten dargestellt.

Die Ergebnisse der 3 untersuchten Proben waren vergleichbar.

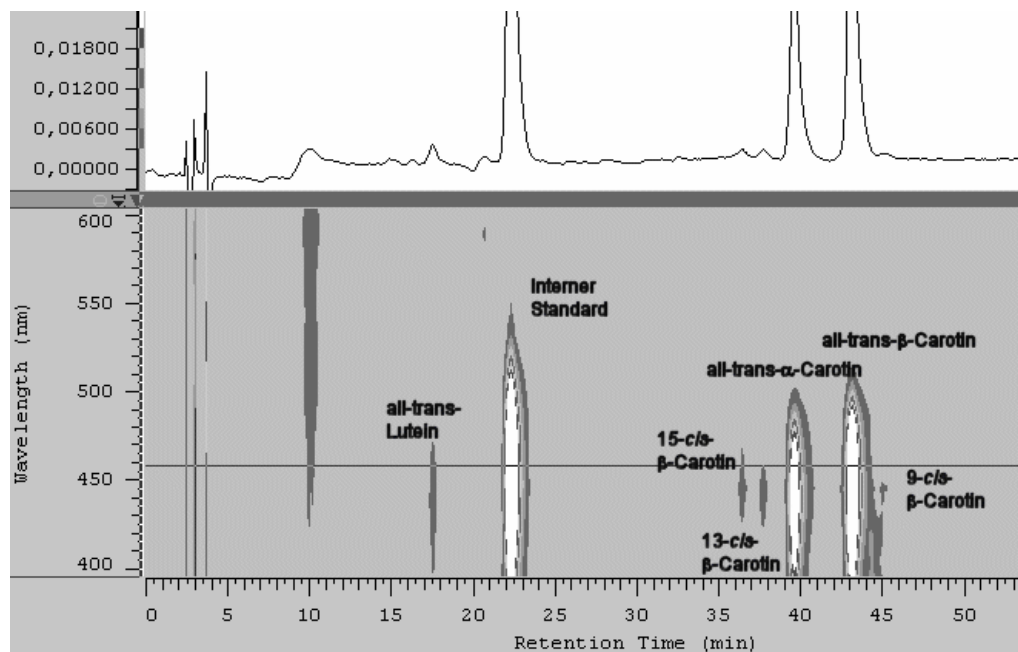
In Abb. 33 ist zu erkennen, dass

Methanol all-*trans*- $\alpha$ - und - $\beta$ -Carotin in Mengen extrahierte, die durch weitere Extraktionsschritte mit Aceton/n-Hexan zu steigern waren. Die 3. Extraktion mit 100 % Aceton führte zu weiteren 5-10 %  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin. Die 4. Extraktion mit Aceton/Methanol (3:2; v/v) führte zu vernachlässigbaren zusätzlich extrahierten all-*trans*- $\alpha$ - und - $\beta$ -Carotingehalten. Da das gefriergetrocknete Pulver zudem rein weiß war, konnte von einer erschöpfenden Extraktion ausgegangen werden.

Desweiteren wurden Versuche angestellt, ob ein Zusatz eines Trocknungs- und Entsäuerungsmittels Einfluss auf die Ausbeuten an Carotin aus den Proben hatte. Dabei wurde auf eine von Marx et al. (2000) für Karottensaft entwickelte Methode zurückgegriffen: Zu 7,5 g Karotten (die bei -45 °C eingefroren gemixt wurden) wurden in einem Scheidetrichter 25 ml n-Hexan, 25 ml Aceton und 25 ml Natriumchloridlösung (10 % in Wasser; w/v) gegeben, die organische Phase 2 mal mit Wasser gewaschen und die vereinigten organischen Phasen über 2 g getrocknetem Natriumsulfat 15 min getrocknet. Danach wurde filtriert und unter Nachspülen des Scheidetrichters mit n-Hexan, die gesammelte getrocknete organische Phase bis zur Trockne bei maximal 30 °C am Rotationsverdampfer eingengt. Der Rückstand wurde in 2 ml Fließmittel A (Methanol/*tert*-Butylmethylether/Wasser 81:15:4; v/v/v) aufgenommen. Bei der Methode nach Marx et al. (2000) ergaben sich generell um bis zu 17 % niedrigere Gesamtcarotinmengen (mit höheren Standardabweichungen und Verfahrensvariationskoeffizienten; Tab. 26, Anhang 9.5.) im Vergleich zu der unter 4.4.3. beschriebenen Methode. Nachteilig bei der Methode nach Marx et al. (2000) waren außerdem der hohe Lösungsmittelverbrauch, der Übergang von all-*trans*- $\beta$ -Carotin in die Wasserphase (was ein langwieriges Umschütteln notwendig machte) und Verluste durch Adsorption an Glaswandungen und besonders am Natriumsulfat (was auch schon von Kimura und Rodriguez-Amaya, 1999, beobachtet wurde). Der einzige Vorteil bei der Methode nach Marx et al. (2000) bestand darin, auf den Gefrier Trocknungsschritt verzichten zu können.

Eine stärkere Aufreinigung war aufgrund der langen chromatographischen Läufe und guten Trennungen nicht notwendig. Ein Beispiels-Chromatogramm mit DAD als Detektor ist in Abb. 34 zu sehen.

Abb. 34: DAD-Chromatogramm eines Karottenextrakts



Bei identischen HPLC-Bedingungen wie nach Marx et al. (2000) konnten die *cis*-Carotin-Isomere 9-, 13- und 15-*cis*- $\beta$ -Carotin identifiziert werden (Abb. 34). Als Literaturvergleich für die Peak-Zuordnung wurden Chromatogramme von Emenhiser et al. (1996a) und Lessin et al. (1997) herangezogen. Die ermittelten Maxima der Spektren stimmten mit den Literaturdaten überein.

Zur Abschätzung, ob während der Aufarbeitung eine lichtbedingte *cis-trans*-Isomerisierung von *all-trans*- $\alpha$ - und - $\beta$ -Carotin auftrat, wurde der Einfluss unterschiedlicher Lichtverhältnisse untersucht (Abb. 35). Dazu wurde eine reine *all-trans*- $\beta$ -Carotin-Lösung in n-Hexan/Aceton (1:1; v/v) -nach verschiedenen Zeiten bei unterschiedlichen Temperaturen unter Neonlicht (Abstand etwa 2 m) oder im abgedunkelten Abzug gelagert- mittels HPLC-DAD untersucht. Innerhalb von 6 h bei Raumtemperatur wurden nur geringfügige *cis*-Isomere in Höhe der Bestimmungsgrenze ermittelt (Abb. 35), wobei Neonlicht keinen Einfluss hatte. Nach 96 h bei Raumtemperatur waren dunkel gelagerte Proben weniger stark isomerisiert (5 % des Gesamtcarotins) als Proben die 96 h unter Neonlicht gelagert wurden (7 %). Den größten Einfluss hatte allerdings die Erhöhung der Temperatur: Bei 60 °C wurden schon nach 6 h Dunkel-Lagerung über 14 % des Gesamtcarotins als *cis*-Isomere wieder gefunden.

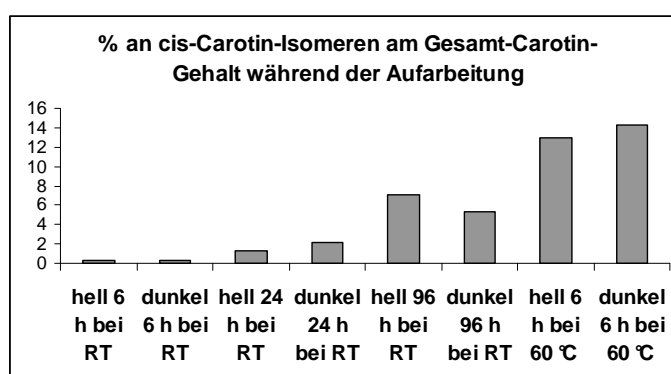


Abb. 35: Licht- und Temperatureinfluss bei der Carotin-Extraktion von Karotten

Ein Einfluss der Temperatur auf das Carotinspektrum wurde auch bei Verseifungsversuchen festgestellt. Dabei

zeigte sich außerdem, dass die Gesamt- $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotingehalte durch einen Verseifungsschritt in Karotten nicht anstiegen. Lutein, das nur in geringen Mengen gefunden wurde (weitere in der Literatur vorkommende Carotine wie  $\chi$ -Carotin und Cryptoxanthin wurden nicht nachgewiesen), wurde nicht quantifiziert, da es nicht Vitamin-A-aktiv ist. Auf eine Verseifung der Karottenextrakte konnte deshalb bei der Untersuchung aller Lagerstadien verzichtet werden.

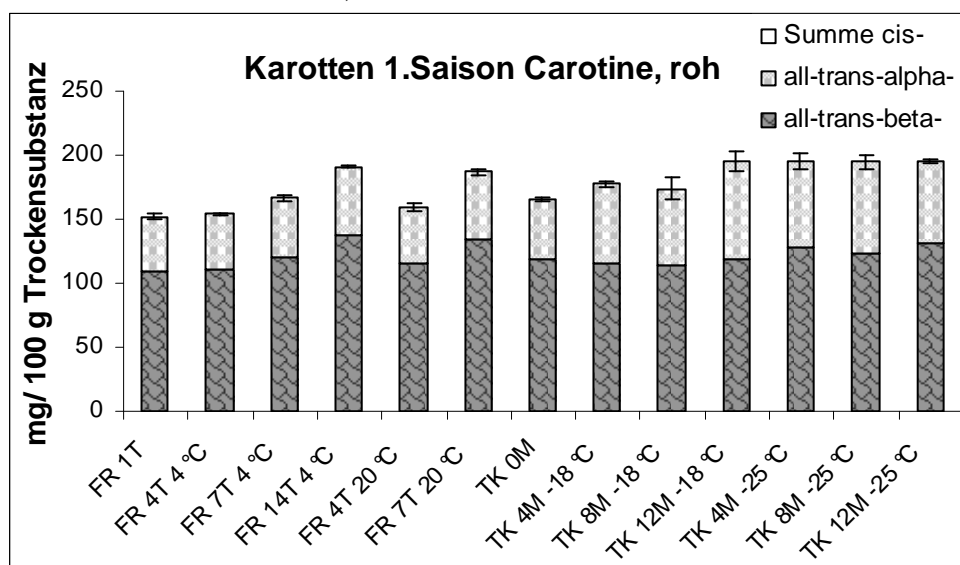
Da bei einer Quantifizierung mit dem internen Standard  $\beta$ -Apo-8'-carotenal Wiederfindungen von nur 68-82 % resultierten, wurde mittels täglich frisch angesetzter externer Standardreihe ausgewertet.

### 5.2.2. Carotin-Bestimmung in Abhängigkeit von der Lagerung

Hier werden nur die Ergebnisse für die Untersuchung der Carotingehalte in Karotten dargestellt. Für Erbsen und Bohnen konnten all-*trans*- $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin nachgewiesen werden. Da aber die Carotingehalte bei den verschiedenen Lagerstadien unsystematisch verteilt waren (eine ähnliche Beobachtung bei Bohnen machten Aparicio-Cuesta et al., 1989), sind diese hier nicht dargestellt.

Die folgenden Abbildungen geben den all-*trans*- $\beta$ - (unterer dunkelster Balken), den all-*trans*- $\alpha$ - (mittlerer Balken) und - soweit vorhanden - den Gesamt-*cis*-Carotingehalt (oberster Balken) in Karotten wieder.

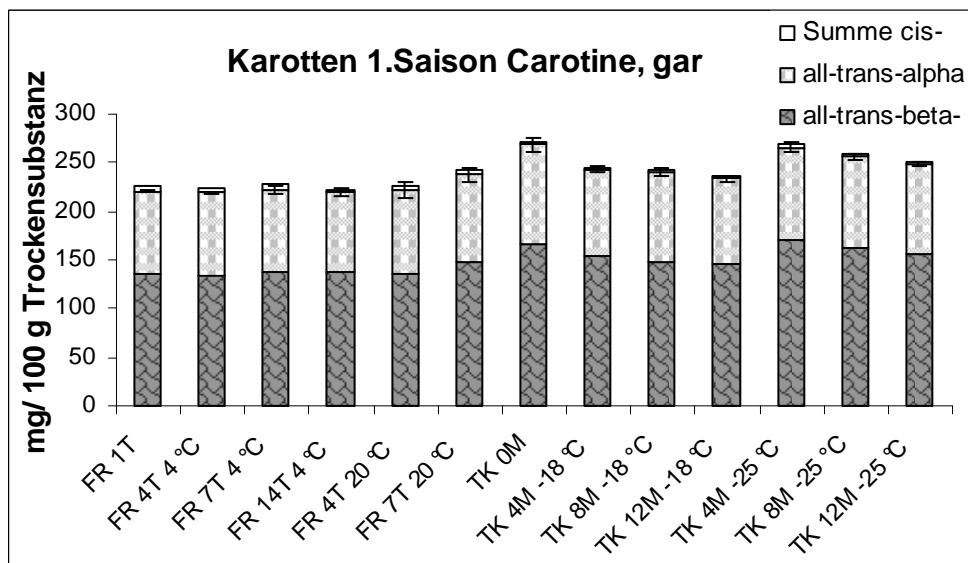
Abb. 36: Carotine in Karotten 1. Saison, roh



In Abb. 36 sind die Carotingehalte in rohen Karotten der 1. Saison dargestellt. *Cis*-Isomere wurden nicht nachgewiesen, welche aber in den garen Lagerstadien (Abb. 37) detektierbar waren. Der Blanchierschritt allein führte nicht zu Isomerisierungen, was sich an den Ergebnissen der rohen TK-Karotten zeigte, in welchen ebenfalls keine *cis*-Carotin-Isomere nachweisbar waren.

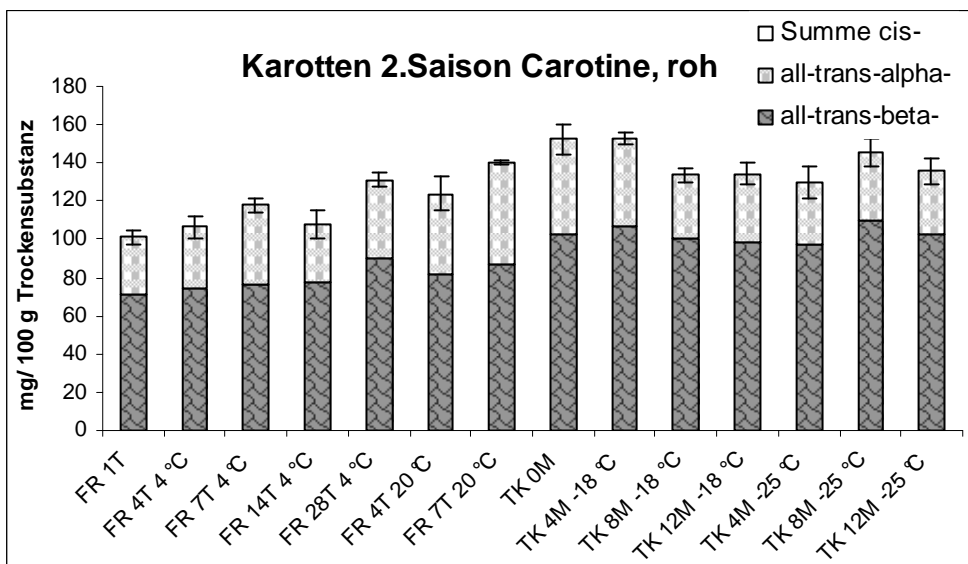
Beim Vergleich von rohen und garen Karotten waren deutlich erhöhte Gehalte an Gesamtcarotin durch den Garschritt von bis zu 64 % (beim Vergleich des Status 0M roh und 0M gar) festzustellen. Außerdem geht aus Abb. 36 ein signifikant ansteigender Gehalt des Gesamtcarotins im Verlauf der FR-Lagerung (um 23 % beim Vergleich von FR 1T mit FR 7T 20) hervor.

Abb. 37: Carotine in Karotten 1. Saison, gar



Der Gesamtcarotingehalt der gegarten FR-Karotten der 1. Saison (Abb. 37) stieg ebenfalls signifikant an (um 8 % beim Vergleich des Status 1T mit dem Status 7T 20); bei der TK-Lagerung ergab sich ein signifikanter Verlust von 13 % (beim Vergleich von 0M mit 12M -18 °C). Durch die Erhöhung der bestimmaren Carotingehalte durch den Blanchierschritt (vergleiche FR 1T und TK 0M) waren aber keine Verluste gegenüber dem Ausgangsstatus (FR 1T) nach einer 12-monatigen Lagerung bei -18 °C festzustellen.

Abb. 38: Carotine in Karotten 2. Saison, roh



Bei den rohen Karotten (Kingston Bio) der 2. Saison (Abb. 38) zeigte sich ein niedrigerer Carotingehalt (100-150 mg/100 g TM) im Vergleich zu den rohen Karotten der 1. Saison (150-200 mg/100 g TM; Nevis Bio, Abb. 36). Die Ergebnisse waren bei den rohen Karotten der 2. Saison durchweg uneinheitlicher und es war wieder eine tendenzielle Zunahme im Verlauf der FR-Lagerung



zu beobachten (39 % beim Vergleich von FR 1T und FR 7T 20). Die Gesamtcarotingehalte der TK- und der FR-Stadien waren nicht signifikant verschieden.

Abb. 39: Carotine Karotten 2. Saison, gar

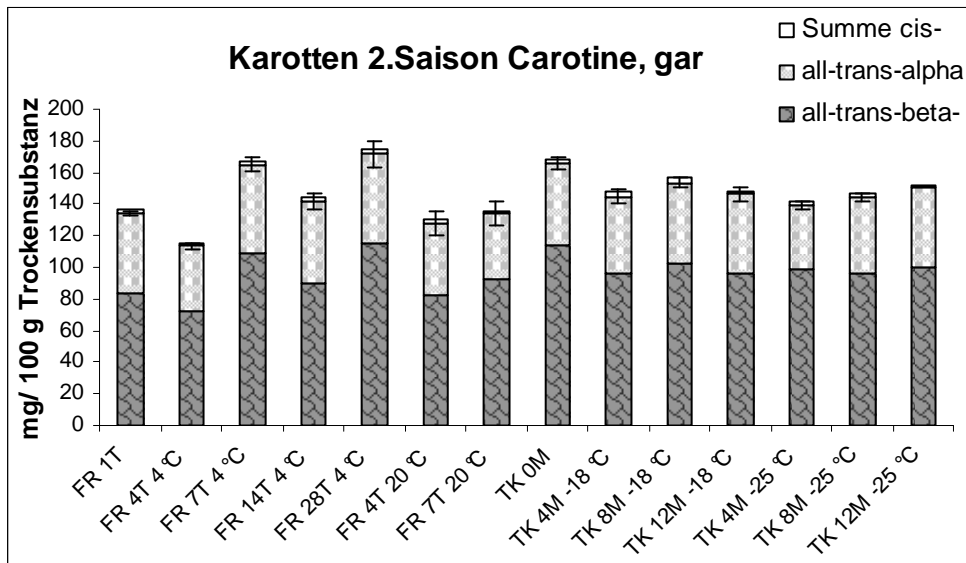


Abb. 39 zeigt den Gesamtcarotingehalt bei der Lagerung der gegarten Karotten der 2. Saison. Es ergaben sich breitere Streuungen der Messwerte, eine klare Tendenz war nicht erkennbar. Der Gesamtcarotingehalt der Bohnen aus der 2. Saison wich nicht maßgeblich von dem Gesamtcarotingehalt der Bohnen der 1. Saison ab. Auch in der 2. Saison zeigte sich ein Gesamtcarotin-Anstieg nach der längsten Lagerzeit (28 % beim Vergleich von FR 28T 4 °C mit 1T). Die Gesamtcarotingehalte in den Kochwässern wurden auch bestimmt. Da sich aber keine nennenswerten Tendenzen durch den Lagerungseinfluss ergaben (zudem wurden ja höhere Gehalte bei den gegarten Produkten bestimmt, was die Berechnung von Auswasch- und thermischen Abbauverlusten hinfällig machte), wurde hier auf eine Darstellung verzichtet.

### 5.3. Polyphenol-Analytik

#### 5.3.1. Flavonol-Analytik mit HPLC

##### 5.3.1.1. Methodenoptimierungen

Die Hydrolysebedingungen der Flavonolglykoside, die in der 1. Saison als Aglykone bestimmt wurden, mussten an die Matrix und die Art der in Bohnen enthaltenen Glykoside angepasst werden. Zur Flavonol-Analytik der Karotten und Erbsen wird auf den Schluss dieses Abschnitts (5.3.1.1.) verwiesen.

Eine Optimierung der Extraktionsdauer für die Hydrolyse der Flavonolglykoside von Quercetin und Kämpferol mit 1,2 mol/l Salzsäure ist in Abb. 40 dargestellt. Als Untersuchungsmaterial wurde ein gefriergetrocknetes (FR roh 1T, 1. Saison) Bohnenpulver verwendet. Dabei wurde festgestellt, dass bei einer Hydrolyse mit 1,2 mol/l Salzsäure das Erreichen der maximalen Aglykon-Ausbeuten wesentlich

länger dauerte im Vergleich zu einer Behandlung mit 2 mol/l Salzsäure. Allerdings ergab die Auswertung des erhaltenen Chromatogramms zur Messung der Flavonole nach Hydrolyse mit 2 mol/l Salzsäure (2 h mit 1,2 mol/l Salzsäure und 30 min mit 2 mol/l Salzsäure), dass einige Flavonolglykosid-Bindungen mit 2 mol/l Salzsäure bei 90 °C gespalten wurden und dass die Aglykone selbst bereits nach 30 min abgebaut wurden. Dies deckte sich mit Beobachtungen von Hertog et al. (1992b).

Abb. 40: Extraktionsausbeute von Quercetin und Kämpferol aus gefriergetrockneten Bohnen nach unterschiedlicher Hydrolysedauer mit 1,2 M Salzsäure bei 90 °C

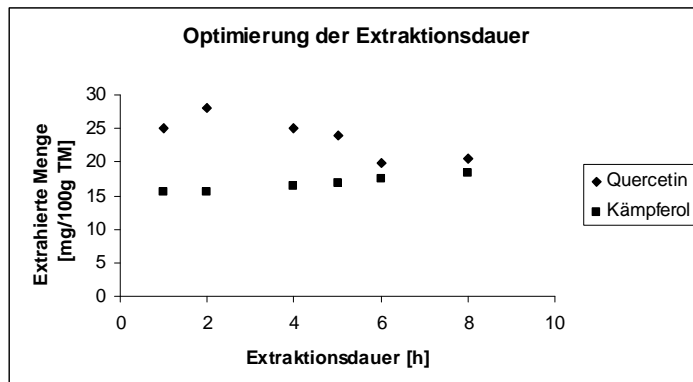


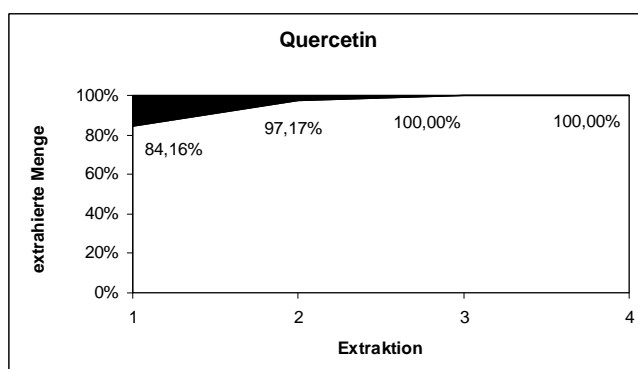
Abb. 40 zeigt, dass die maximale Ausbeute an Quercetin nach einer Kochdauer von 2 h erreicht wurde. Danach fiel die Quercetin-Ausbeute ab und stabilisierte sich nach 6 h. Die Ausbeute an Kämpferol stieg während eines Zeitraums von 7 h um lediglich

18,2 % an. Da das Quercetin quantitativ überwog und dessen Ausbeute nach 2 h Kochzeit am größten war, wurde 2 h als Optimum festgelegt und für die Hydrolyse von Quercetin- und Kämpferol-Glykosiden in den Gemüselagerstadien angewandt.

Ein Temperatureinfluss (im Bereich 60-90 °C) auf die Stabilität von Quercetin und Kämpferol konnte nicht festgestellt werden. Auch eine Veränderung im mechanischen Extraktionsverfahren (Schütteln, Ultraschallbehandlung oder keinerlei Agitation) brachte keine signifikant verschiedenen Flavonolaglykon-Ausbeuten.

Zur Überprüfung der Vollständigkeit der Extraktion wurde das gefriergetrocknete Bohnenpulver derselben Extraktion mit salzsaurem Methanol (Anhang 9.6.) mehrfach unterworfen. Dabei wurde unter den erwähnten Bedingungen jeweils 4 mal 2 h lang extrahiert, zentrifugiert und jeder Extrakt einzeln mit HPLC aufgetrennt und quantifiziert (Anhang 9.6.). Die Summe aller Auszüge wurde auf 100 % festgelegt und die prozentualen Verteilungen auf die verschiedenen Extraktionen sowohl für die Quercetin- (Abb. 41), wie auch für die Kämpferol-Ausbeuten (Abb. 42) berechnet.

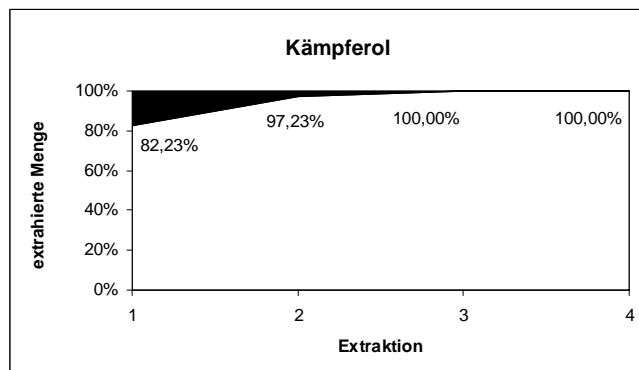
Abb. 41: Extraktionsausbeuten von Quercetin nach 1-4 Extraktionen mit salzsaurem Methanol (je 2 h)



Dabei war zu beobachten, dass eine Einfachextraktion zur Erfassung der Gesamtmenge beider Flavonolaglykone nicht ausreichte. Erst mit dem dritten Auszug konnte von einer vollständigen Extraktion ausgegangen werden.

Zwischen den Ausbeuten des Kämpferols und des Quercetins gab es eine Korrelation.

Abb. 42: Extraktionsausbeuten von Kämpferol mit salzsaurem Methanol nach 1-4 Extraktionen



Bereits nach der zweiten Extraktion war mit Ausbeuten von 97,17 % (Quercetin) und 97,23 % (Kämpferol) aller bestimmten Extraktionsschritte von einer nahezu vollständigen Extraktion auszugehen; in der jeweils dritten Extraktion ließen sich die Flavonol-Grundkörper Quercetin und Kämpferol nicht mehr nachweisen.

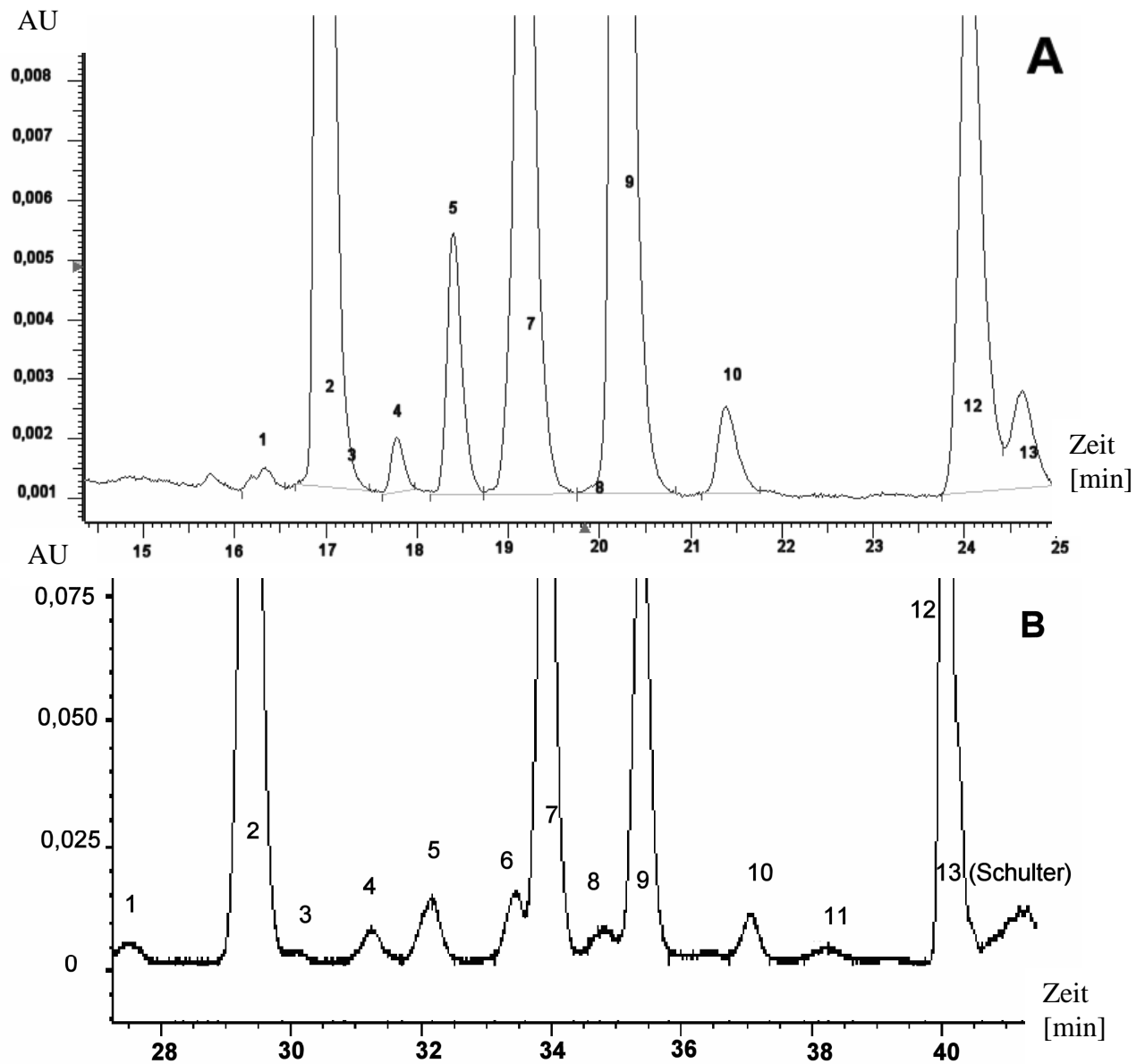
Um eine möglichst schonende Extraktion und damit möglichst sichere Quantifizierungen zu erreichen und Unterschiede im Profil einzelner nativ vorhandener Flavonolglykoside in den Lagerstadien von Bohnen zu erkennen, wurden die Gehalte in der 2. Saison an nativen Flavonolglykosiden bestimmt. Dazu wurde die unter 4.4.4.1.2. beschriebene SPE-Methode angewandt, die durch eine Variation der Methode von Hempel und Böhm (1996) entwickelt wurde. Da ein geeignetes Lösungsmittel für die anstehende Festphasenextraktion erhalten werden musste, wurde ein Abblasen des Methanols mit Stickstoff nach der Extraktion durchgeführt und der verbleibende Wasseranteil auf eine Polyamid-SPE-Kartusche gegeben. Im Wasch- und Aufgabewasser wurden keine Flavonolglykoside gefunden. Nach der SPE-Aufreinigung wurde der abgeblasene Rückstand erneut abgeblasen. Dimethylformamid (66 %; v/v in Wasser) erwies sich bei gutem Lösen des Rückstandes für die nachfolgende HPLC als vorteilhafter (weniger Tailing der Flavonolglykosid-Peaks) als Methanol/Wasser-Mischungen.

Die Quantifizierung erfolgte mit den oben erwähnten internen Standards Quercitrin und Kämpferol-3-*O*-glukosid. Die durchschnittlichen Responsefaktoren für Rutin (Quercetin-3-*O*-rutinosid) betragen dabei 0,94 und 1,05 für Kämpferol-3-*O*-rutinosid, welche unter Berücksichtigung des genauen Molekulargewichts in Ermangelung einiger Referenzsubstanzen auch zur Quantifizierung der anderen identifizierten Flavonolglykoside verwendet wurden.

Die Wiederfindungen lagen bei der gesamten Analyse zwischen 79 und 102 %.

Der HPLC-Gradient wurde mehrfach variiert, da sich herausstellte, dass zusätzlich zu den schon bei Hempel und Böhm (1996) und Price et al. (1998) erwähnten 4 Flavonolglukosiden (Quercetin-3-*O*-rutinosid, Kämpferol-3-*O*-rutinosid, Quercetin-3-*O*-xylosylrutinosid und Kämpferol-3-*O*-xylosylrutinosid) und den in der sauren Fraktion enthaltenen 3-*O*-Glukuroniden von Quercetin und Kämpferol, weitere noch nicht identifizierte Minor-Komponenten enthalten waren. In Abb. 43 sind 2 Ausschnitte von Chromatogrammen dargestellt, die die Auswirkung unterschiedlich zusammengesetzter Gradienten demonstrieren. Die zugehörigen Zusammensetzungen der Gradienten finden sich in Tab. 9.

Abb. 43: Chromatogramm-Ausschnitte aus unterschiedlichen Gradientenläufen (Tab. 9) zur Trennung der Flavonolglykoside in Bohnen; Peakzuordnung gemäß Tab. 10 auf S. 66.



Tab. 9: Gradientenprogramme zu den Chromatogrammen aus Abb. 43

**Lauf A:**

**Lauf B:**

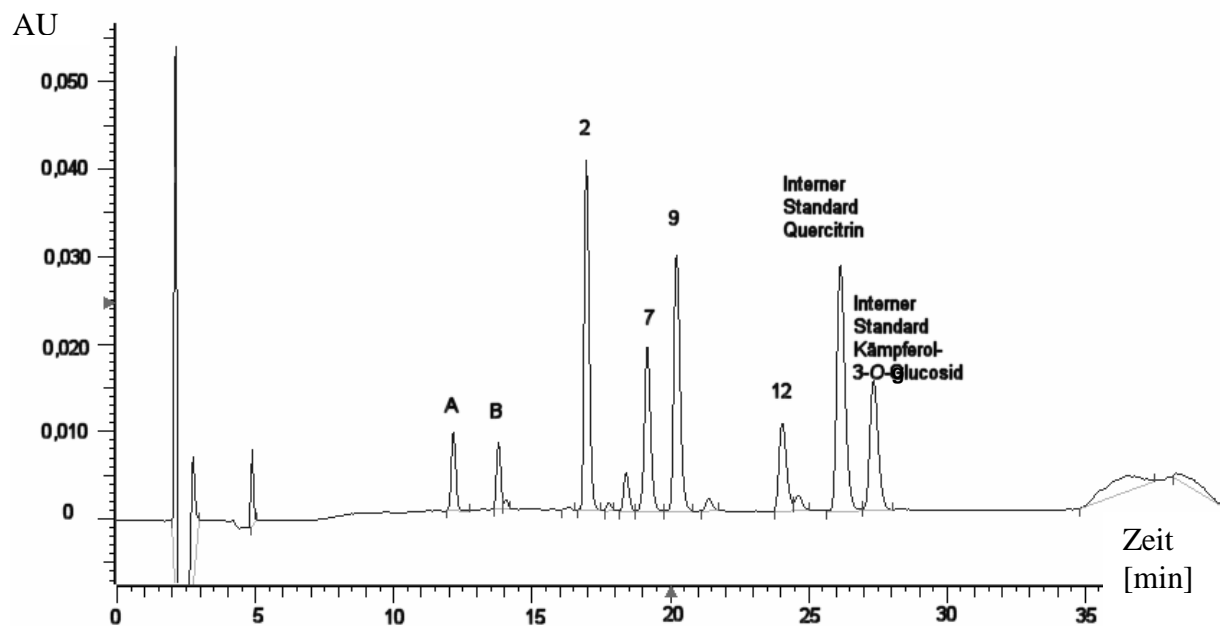
Zeit [min]	Wasser/THF/TFA (siehe unter 4.4.4.1.2.) [%]	Acetonitril [%]	Zeit [min]	Wasser/THF/TFA (siehe unter 4.4.4.1.2.) [%]	Acetonitril [%]
0	95	5	0	95	5
2	95	5	2	95	5
10	84	16	35	75	25
13	83	17	40	65	35
20	82	18	45	10	90
30	79	21	46	95	5
35	70	30	55	95	5
36	95	5			
40	95	5			

Die Schulter (mit Peak 13 gekennzeichnet) in Chromatogramm B konnte in Chromatogramm A als vollständiger Peak aufgelöst werden, während die Peaks 3, 6 und 8 mit anderen Peaks zusammenfielen.

Mit den chromatographischen Bedingungen aus dem Lauf A (Tab. 9) wurden die gesamten Proben quantifiziert, während mit denen aus Lauf B die Identifizierung erfolgte.

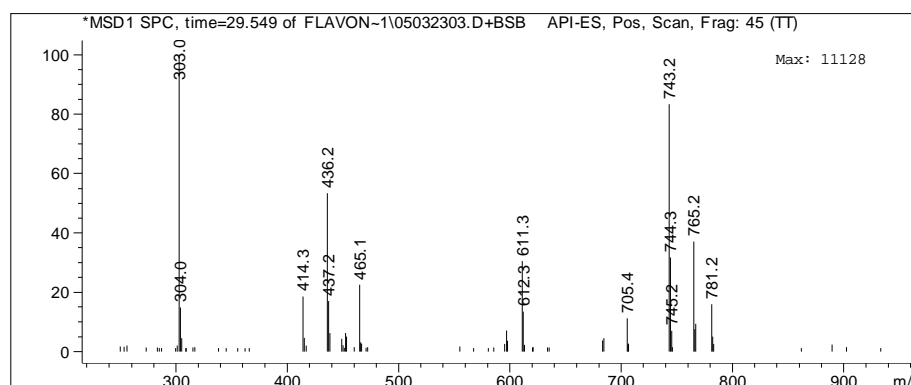
Das komplette Chromatogramm A eines Bohnenextrakts (Fraktion 1 aus der SPE-Aufreinigung) mit den beiden internen Standards Quercitrin und Kämpferol-3-*O*-glucosid ist in Abb. 44 dargestellt.

Abb. 44: Gesamtchromatogramm eines Bohnenextrakts auf Flavonolglykoside



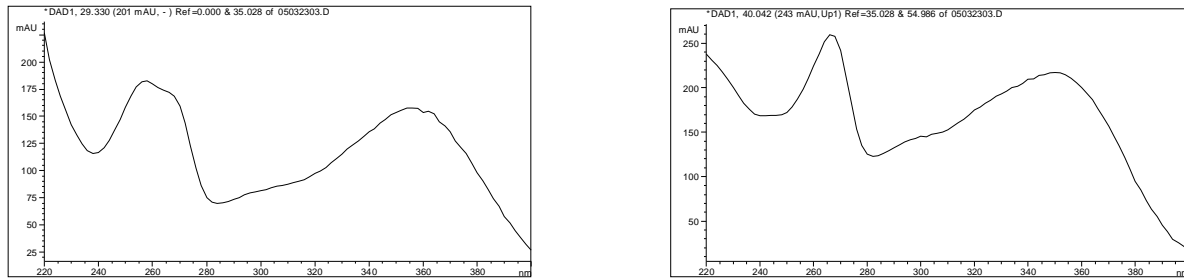
Die Massenspektren der Peaks 2, 7, 9 und 12 konnten den Verbindungen Quercetin-3-*O*-xylosylrutinosid, Kämpferol-3-*O*-xylosylrutinosid, Quercetin-3-*O*-rutinosid und Kämpferol-3-*O*-rutinosid zugeordnet werden. Beispielhaft sind das Massen-, UV-Spektrum von Quercetin-3-*O*-xylosylrutinosid und das UV-Spektrum von Kämpferol-3-*O*-xylosylrutinosid dargestellt (Abb. 45).

Abb. 45: Massenspektrum von Quercetin-3-*O*-xylosylrutinosid (Peak 2) in einem Bohnenextrakt



Die UV-Spektren von Kämpferolglykosiden sind von den UV-Spektren von Quercetinglykosiden anhand der Form des ersten Maximums zu unterscheiden (Abb. 46).

Abb. 46: UV-Spektren von Quercetin-3-*O*-xylosylrutinosid (Peak 2, linke Abbildung) und von Kämpferol-3-*O*-xylosylrutinosid (Peak 7, rechte Abbildung) in einem Bohnenextrakt



Die UV-Spektren von Kämpferolglykosiden sind von den UV-Spektren von Quercetinglykosiden anhand der Form des ersten Maximums zu unterscheiden (Abb. 46).

In Tab. 10 sind die Ergebnisse der MS-Detektion tabellarisch zusammengefasst.

Tab. 10: Zuordnung der gefundenen MS-Spektren zu bestimmten Flavonolglykosiden

Peak	Substanz	m/z	%uale Mengen	Zuordnungsmasse
1	Keine Zuordnung möglich	328, 350, 605, 779	-	-
2	Quercetin-3- <i>O</i> -xylosyl-rutinosid	303 743 436 765 611 465	100 84 53 35 30 22	QueH <sup>+</sup> MH <sup>+</sup>  MNa <sup>+</sup> [Que+Glc+Rha]H <sup>+</sup> [Que+Glc]H <sup>+</sup>
3	Keine Zuordnung möglich	328, 748, 605, 303		
4	Quercetin-Isomer (wie 2, ein Triglukosid)	765 492 781 303 743	100 51 39 37 6	MNa <sup>+</sup>  MK <sup>+</sup> QueH <sup>+</sup> MH <sup>+</sup>
5	Quercetin-Isomer (möglicherweise ein Xylosylacetyl-glukosid)	619 661 820 303 465 597 639	100 91 75 38 7 8 5	[Que+Glc+Xyl]Na <sup>+</sup> MNa <sup>+</sup>  QueH <sup>+</sup> [Que+Glc]H <sup>+</sup> [Que+Glc*Xyl]H <sup>+</sup> MH <sup>+</sup>
6	Anderes Aglykon (eventuell Petunidin*) oder Artefakt, keine Zuordnung	720 317	100 19	PetH <sup>+</sup>
7	Kämpferol-3- <i>O</i> -xylosyl-rutinosid	287 727 749 595 449	100 74 52 31 22	KaeH <sup>+</sup> MH <sup>+</sup> MNa <sup>+</sup> [Kae+Glc+Rha]H <sup>+</sup> [Kae+Glc]H <sup>+</sup>
8	Keine Zuordnung möglich	333, 456, 724		
9	Quercetin-3- <i>O</i> -rutinosid	702 633 303 465	100 18 17 5	Artefakt MNa <sup>+</sup> QueH <sup>+</sup> [Que+Glc]H <sup>+</sup>
10	Kämpferol-Isomer	775, 603, 811, 833, 287, 449	100, 66, 45, 38, 22, 10	
11	Keine Zuordnung möglich			
12	Kämpferol-3- <i>O</i> -rutinosid	595 287 449	100 81 29	MH <sup>+</sup> KaeH <sup>+</sup> [Kae+Glc]H <sup>+</sup>
13	Kämpferol-Isomer	662, 815, 924, 946, 287	100, 95, 64, 46 18	KaeH <sup>+</sup>

M = Hauptmasse, Que = Quercetin-Aglykon, Kae = Kämpferol-Aglykon, Na = Natrium, K = Kalium, Rha = Rhamnose, Glc = Glucose, Xyl = Xylose, Ac = Acetat, Pet = Petunidin

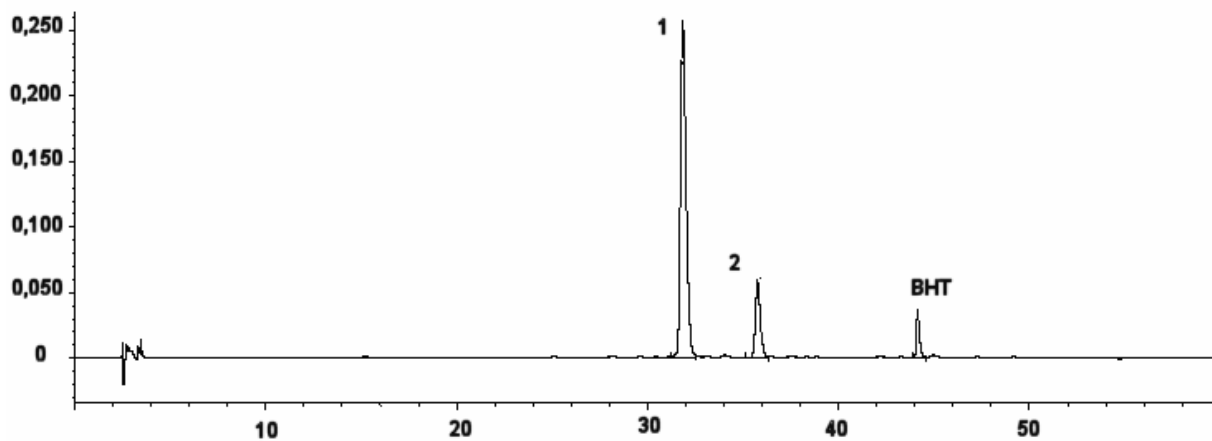
\* zum Beispiel Petunidin-3-*O*-glukosid in der Samenschale von Bohnen gefunden (Beninger und Hosfield, 2003)

Mithilfe von MS-Daten aus der Literatur wurden den Peaks aus Lauf B (des ersten Eluats der SPE-Aufreinigung) in Spalte 5 -soweit möglich- die vermuteten Massen zugeordnet.

Die Peaks 2, 4, 5, 7, 9, 10, 12 und 13 wurden für die Berechnung des Flavonolglykosid-Profiles herangezogen.

Aus der 2. Fraktion der Festphasenextraktion wurden die zwei Substanzen Quercetin-3-*O*-glukuronid und Kämpferol-3-*O*-glukuronid in Übereinstimmung mit Ergebnissen von Price et al. (1998) identifiziert. Ein Beispiels-Chromatogramm aus einer Bohnenextraktion ist in Abb. 47 dargestellt.

Abb. 47: Flavonolglukuronid-Chromatogramm aus Fraktion 2 eines Bohnenextrakts mit 1 = Quercetin-3-*O*-glukuronid und 2 = Kämpferol-3-*O*-glukuronid



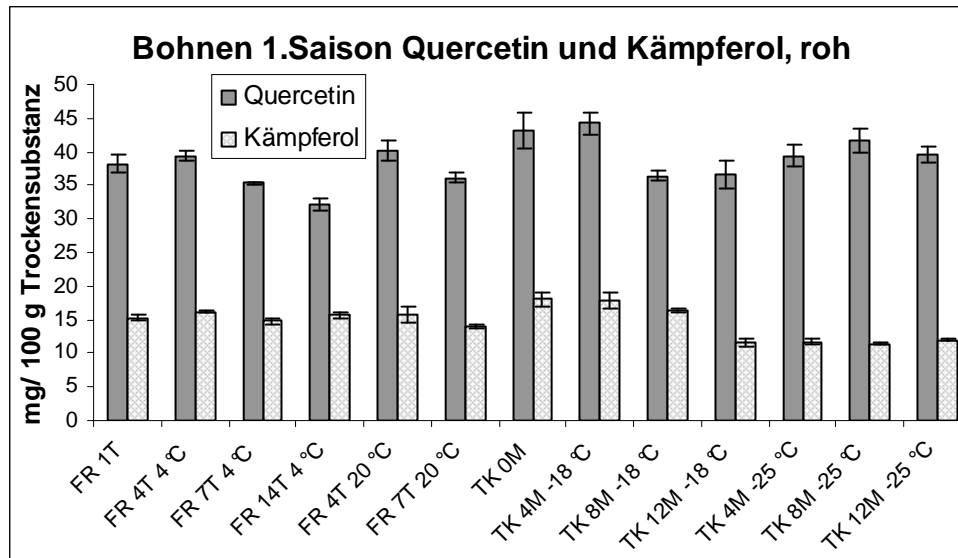
In Karotten wurden weder native Flavonolglykoside noch ein bekanntes Aglykon (mit typischem Flavonol-UV-Spektrum) gefunden.

In Erbsen wurde selbst bei einer Einwaage von 800 mg nur in Mengen unterhalb der Bestimmungsgrenze (0,5 mg/l) eine Substanz gefunden, die möglicherweise ein Kämpferolglykosid war ( $m/z$  584 (100 %), 606 (67 %), 795 (60 %), 287 (29 %), 622 (20 %), 931 (9 %)), aber nicht genauer identifiziert werden konnte.

### 5.3.1.2. Flavonol-Bestimmung mit HPLC in Abhängigkeit von der Lagerung

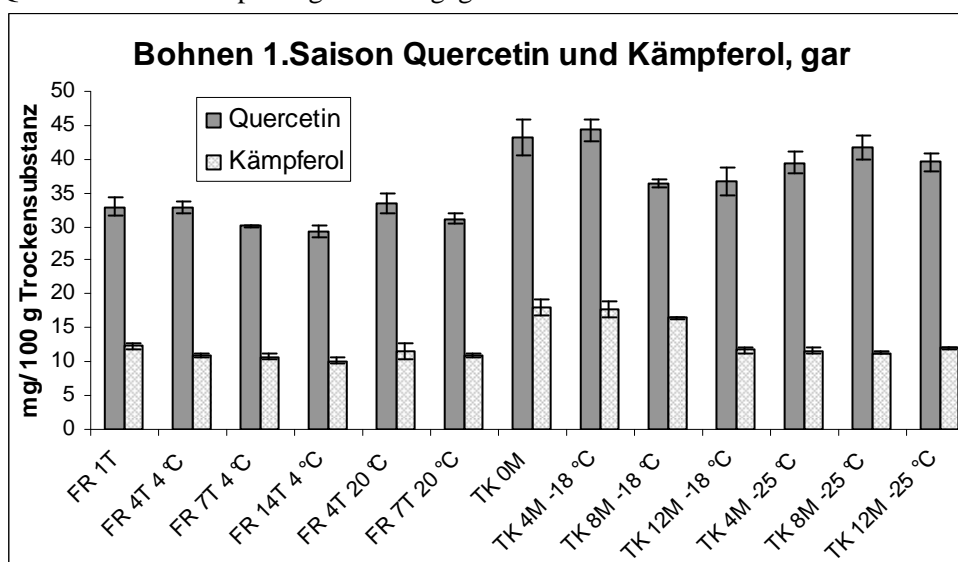
Zunächst werden die Quercetin- und Kämpferolgehalte der rohen Bohnen der 1. Saison nach der Methode zur Bestimmung der Aglykon-Gehalte nach salzsaurer Hydrolyse vorgestellt (Abb. 48). Die Gehalte an Quercetin und Kämpferol nahmen im Verlauf der FR-Lagerung tendenziell bis zum Status 7T 20 °C (5 % für Quercetin und 35 % für Kämpferol im Vergleich zum Status FR 1T) ab und nach 14 Tagen 4 °C-Lagerung wurde ein signifikant niedrigerer Quercetin-Gehalt (von 16 % im Vergleich zum Ausgangsstatus FR 1T) gefunden. Bei der Bestimmung der TK-Lagerstadien ergaben sich nicht signifikante Abnahmen (zum Beispiel um 15 % Quercetin nach 12 Monaten bei -18 °C im Vergleich zum Ausgangsstatus TK 0M) der Flavonole bei einem uneinheitlichen Lagerverlauf und größeren Streuungen der gefundenen Gehalte (mit einer Standardabweichung von bis zu 14 % beim Status TK roh 0M).

Abb. 48: Quercetin- und Kämpferolgehalte in rohen Bohnen der 1. Saison



Während der FR-Lagerung der gegarten Bohnen der 1. Saison kam es bei beiden Flavonolen und beiden Temperaturen (4 °C und 20 °C) zu keinen signifikanten Veränderungen (Abb. 49). Es ist wiederum ein tendenzieller Rückgang des Quercetin-Gehalts während der FR-Lagerung bei beiden Temperaturen zu beobachten gewesen (beim Vergleich von FR 1 T und FR 14T 4°C um 11 %). Bei der TK-Lagerung ergaben sich tendenzielle Abnahmen nach 12 Monaten Lagerung von bis zu 9 % (beim Vergleich von TK 0M mit 12M -18°C). Einen Unterschied im Flavonolgehalt zwischen der -18 °C-Lagerung und der -25 °C-Lagerung gab es weder bei den rohen (Abb. 48) noch bei den gegarten (Abb. 49) Bohnen der 1. Saison.

Abb. 49: Quercetin- und Kämpferolgehalte in gegarten Bohnen der 1. Saison

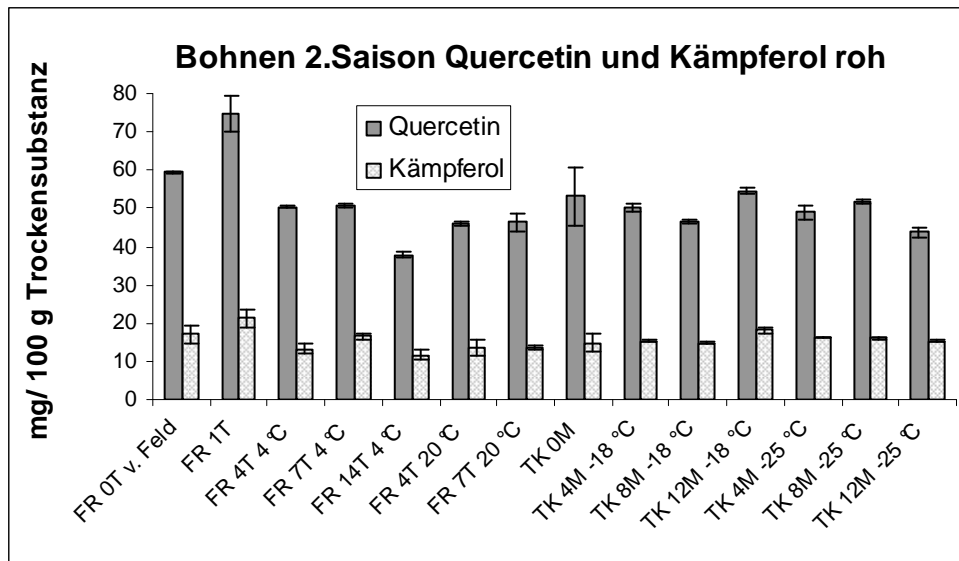


Die Quercetin- und Kämpferolgehalte der 2. Saison wurden ohne Hydrolyse als Summe der Einzelglykoside bestimmt (Abb. 50). Es war eine signifikante Abnahme der Flavonolgehalte nach 14 Tagen Lagerung bei 4 °C festzustellen (36 % für Quercetin und 31 % für Kämpferol beim Vergleich von FR



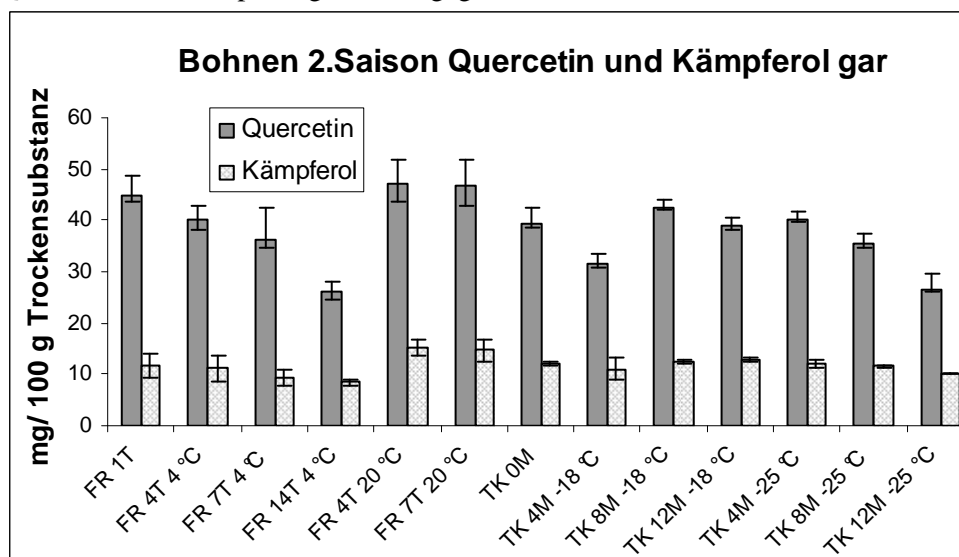
OT vom Feld mit 14T 4°C), der gefundene Quercetin- bzw. Kämpferolgehalt beim Status FR 1T ist zu hoch bestimmt worden. Der Flavonolgehalt während der TK-Lagerung nahm nur tendenziell ab.

Abb. 50: Quercetin- und Kämpferolgehalte in rohen Bohnen der 2. Saison



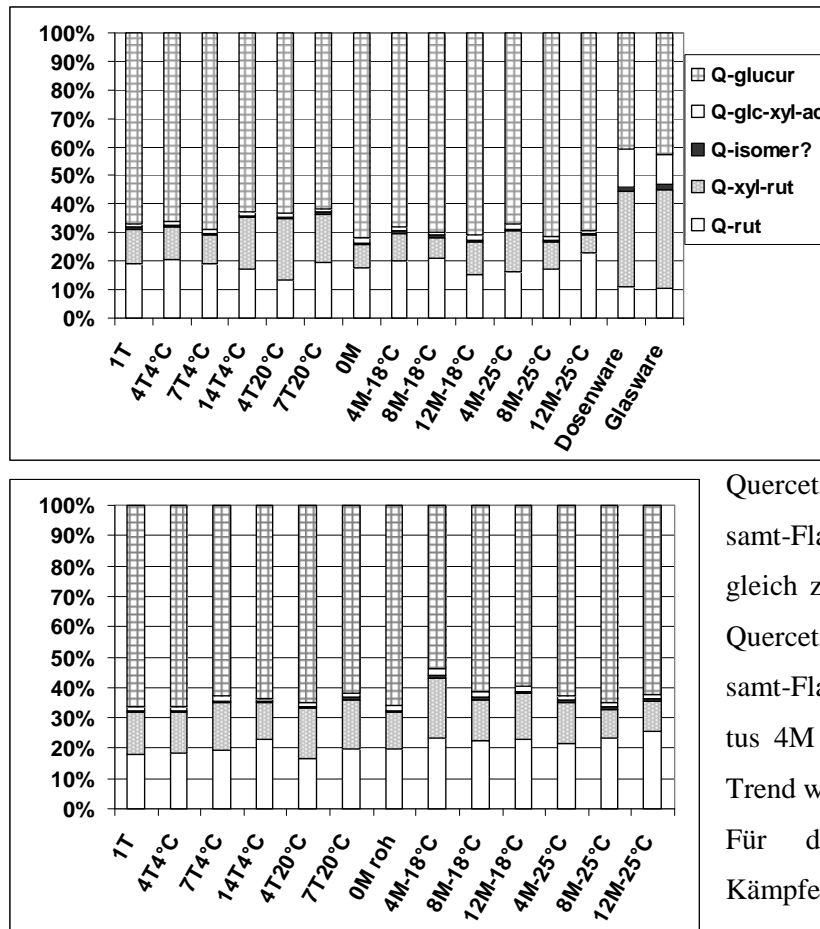
Die Flavonolgehalte der gegarten Bohnen (Abb. 51) der 2. Saison wiesen stärkere Abnahmen während der Lagerung auf als die der rohen Bohnen (Abb. 50). Nach dem 14. Tag 4 °C war eine signifikante Differenz (von 42 %) zum Ausgangsstatus (FR 1T) zu beobachten, wogegen eine Temperatur von 20 °C während 7 Tagen nicht zu einer signifikanten Veränderung im Vergleich zum Ausgangsstatus führte. Die Flavonolgehalte nach einer TK-Lagerung zeigten sich uneinheitlich.

Abb. 51: Quercetin- und Kämpferolgehalte in gegarten Bohnen der 2. Saison



Die Isomeren-Verteilung der Flavonolglykoside während der Lagerung verschob sich nur geringfügig (Abb. 52).

Abb. 52: Quercetinglykosid-Profile in rohen (obere Grafik) und in gegarten (untere Grafik) Bohnen der 2. Saison: Quercetin-3-*O*-glukuronid (Q-glucur), Quercetin-xylosylacetyl-glukosid (Q-glc-*xyl-ac*), nicht näher identifiziertes Quercetin-tri-glykosid (Q-isomer), Quercetin-3-*O*-xylosyl-rutinosid (Q-*xyl-rut*), Quercetin-3-*O*-rutinosid (Q-*rut*)



Die Quercetinglykosid-Verteilung der rohen Proben (untere Grafik) war weitgehend dieselbe bei den gegarten Proben (obere Grafik), der Gehalt an Glukuroniden nahm durch das Garen tendenziell ab (beim Status 4M -18 °C roh ca. 70 % des

Quercetin-glukuronid-Gehalts am Gesamt-Flavonolglykosid-Gehalt im Vergleich zu 4M -18 °C gar mit 55 % des Quercetin-glukuronid-Gehalts am Gesamt-Flavonolglykosid-Gehalt beim Status 4M -18 °C gegart), ein eindeutiger Trend war nicht auszumachen.

Für die hier nicht dargestellten Kämpferolglykoside ergab sich das gleiche Ergebnis.

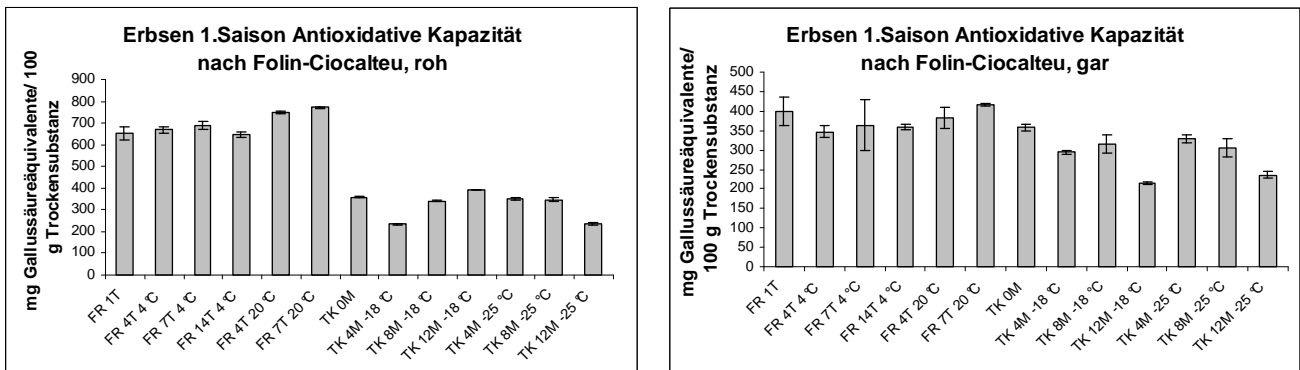
### 5.3.2. Ergebnisse der Analytik der antioxidativen Kapazität

Die antioxidative Kapazität wurde nur in Erbsen und in Bohnen ermittelt, da sich aus eigenen Versuchen und aus Literaturdaten (Kähkönen et al., 1999; Halvorsen et al., 2002; Höner und Cervelatti, 2002) ergab, dass in Karotten von niedrigen antioxidativen Eigenschaften auszugehen war und eine umfangreiche Quantifizierung aller Lagerstadien nur zu geringen tendenziellen Unterschieden geführt hätte. Nach Halvorsen et al. (2002) wurde mittels des hier angewandten FRAP-Tests in Karotten der niedrigste Wert (mit 0,01 mg AA-Äquivalente/100 g FG) für die antioxidative Kapazität von mehr als 100 untersuchten, verzehrbaren Pflanzenteilen gefunden. Auch mit anderen Tests zur Ermittlung der antioxidativen Kapazität ergaben sich ähnliche Ergebnisse in Karotten. Bei Kähkönen et al. (1999) fanden sich zum Beispiel nur 0 bzw. 10 % Inhibition der Oxidation von 500 mg/kg und 5000 mg/kg Methylinoleat bei Karotten, während bei Erbsen mit demselben Autoxidationstest 37 % Inhibition gemessen wurden. Nach dem Test von Folin-Ciocalteu wurden nur 0,6 mg Gallussäureäquivalente/g TM in Karotten gegenüber 1,6 mg Gallussäureäquivalente/g TM in Erbsen gefunden (Kähkönen et al., 1999).

### 5.3.2.1. Antioxidative Kapazität in Erbsen

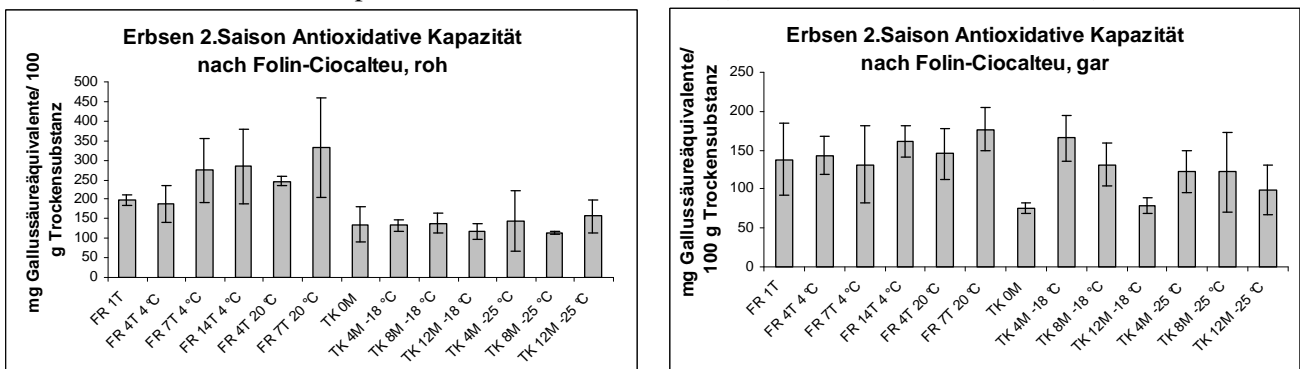
In den Erbsen und Bohnen der 1. und 2. Saison wurden die antioxidativen Kapazitäten nach Folin-Ciocalteu ermittelt. Der FRAP-Test wurde erst ab der 2. Saison durchgeführt.

Abb. 53: Antioxidative Kapazität in Erbsen der 1. Saison (bestimmt nach Folin-Ciocalteu):



Rohe Erbsen wiesen die höchsten antioxidativen Kapazitäten auf. Ein Blanchierschritt (bei den TK-Stadien) führte zu Verlusten von zum Beispiel 58 % beim Vergleich von FR 1T mit 0M. Nach dem Garen (Abb. 53, rechts) war dieser Unterschied nicht mehr vorhanden. Während der TK-Lagerung kam es in gegarten Erbsen zu Verlusten an antioxidativer Kapazität von 41 % (beim Vergleich von TK 0M mit TK 12M -18°C) bzw. 34 % (beim Vergleich von TK 0M mit TK 12M -25°C), während Verluste im Verlauf der Lagerung weder bei den rohen noch bei den gegarten Bohnen nach der FR-Lagerung festzustellen waren.

Abb. 54: Antioxidative Kapazität in Erbsen der 2. Saison (bestimmt nach Folin-Ciocalteu)

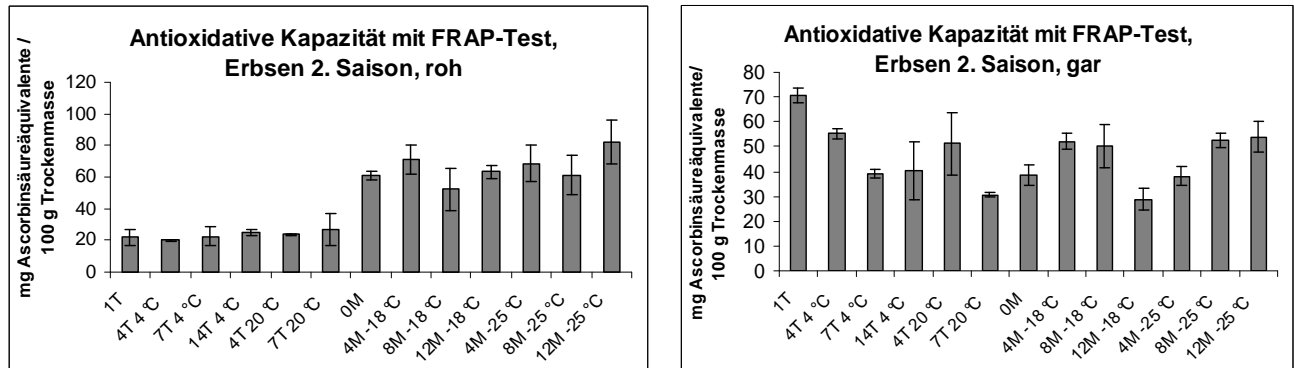


Bei den Erbsen der 2. Saison (Abb. 54) waren im Vergleich zu den Erbsen der 1. Saison höhere Standardabweichungen bei der Ermittlung der antioxidativen Kapazität festzustellen. Daher waren die antioxidativen Kapazitäten der FR-Stadien im Vergleich zu den TK-Stadien nur tendenziell höher. Bei der Untersuchung der antioxidativen Kapazität nach dem Garen (Abb. 54, rechts) wurden bis auf zwei aus dem Rahmen fallende Stadien (TK 0M und TK 12M -18°C) keine signifikanten Unterschiede zwischen allen Bestimmungen gefunden.

Bei der Ermittlung der antioxidativen Kapazität in Erbsen mit dem FRAP-Test (bei dem mit AA als externen Standard quantifiziert wurde) ergaben sich andere Ergebnisse: So wurden bei einer FR-

Lagerung niedrige antioxidative Kapazitäten ermittelt, während die TK-Stadien (die vorher einem Blanchierschritt unterworfen waren) um bis zu 372 % höhere AA-Äquivalente (zum Beispiel beim Vergleich 1T roh mit 12M -25°C roh) zeigten (Abb. 55, links).

Abb. 55: Antioxidative Kapazität in Erbsen der 2. Saison (bestimmt mit dem FRAP-Test)

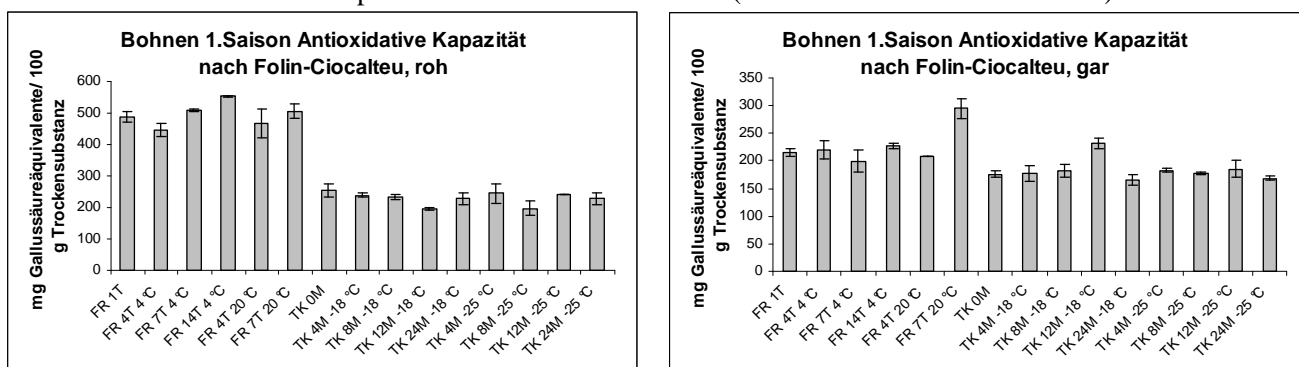


Die antioxidative Kapazität nach dem Garschritt (Abb. 55, rechts) war bei beiden Lagerarten (FR- und TK-) wieder gleich hoch und es zeigten sich ein Trend zur Abnahme im Verlauf der Lagerung bei den FR-Erbsen (56 % weniger antioxidative Kapazität beim Status 7T 20 °C gegenüber dem Ausgangsstatus 1T) und ein Trend zur Zunahme bei den TK-Erbsen, die bei -25 °C gelagert wurden (um 45 % im Vergleich zum Ausgangsstatus 0M) wobei hohe Standardabweichungen (von bis zu 51 % beim Status 4 T20) festzustellen waren.

### 5.3.2.2. Ergebnisse der antioxidativen Kapazität in Bohnen

Die antioxidative Kapazität (ermittelt nach dem Test von Folin-Ciocalteu) aller rohen FR-Lagerstadien (Abb. 56, links) war bei den Bohnen -wie bei den Erbsen (Abb. 53)- durchweg höher als die der TK-Lagerstadien (zum Beispiel 120 % höher beim Vergleich der Stadien TK 0M und FR 1T).

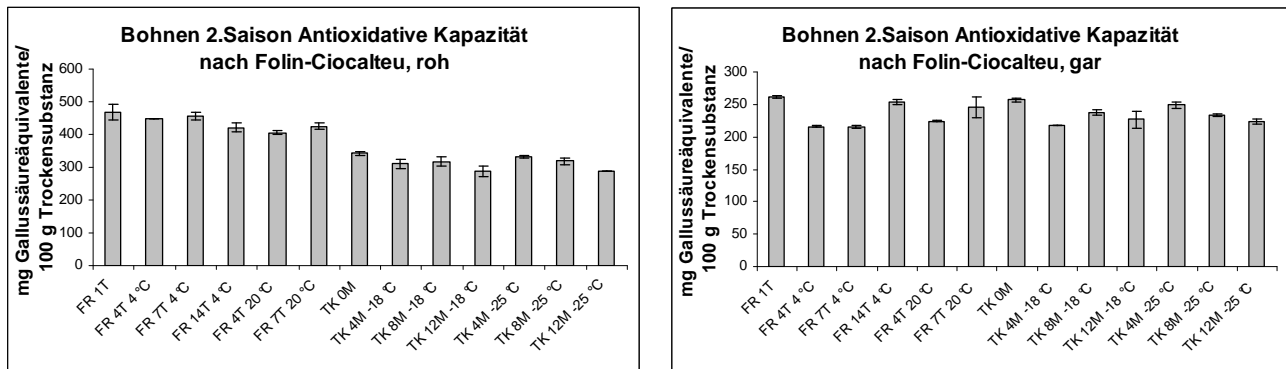
Abb. 56: Antioxidative Kapazität in Bohnen der 1. Saison (bestimmt nach Folin-Ciocalteu)



Durch einen Garschritt (Abb. 56, rechts) wurden die FR-Bohnen signifikant in ihrem Gehalt an antioxidativer Kapazität gemindert. Die Garverluste waren bei den TK-Lagerstadien im Vergleich zu den Garverlusten bei der FR-Lagerung gering (beim Status TK 0M 26 % gegenüber 55 % beim Status FR 1T), wodurch sich die beiden unterschiedlich gelagerten Waren in ihrer antioxidativen Kapazität nicht mehr unterschieden.

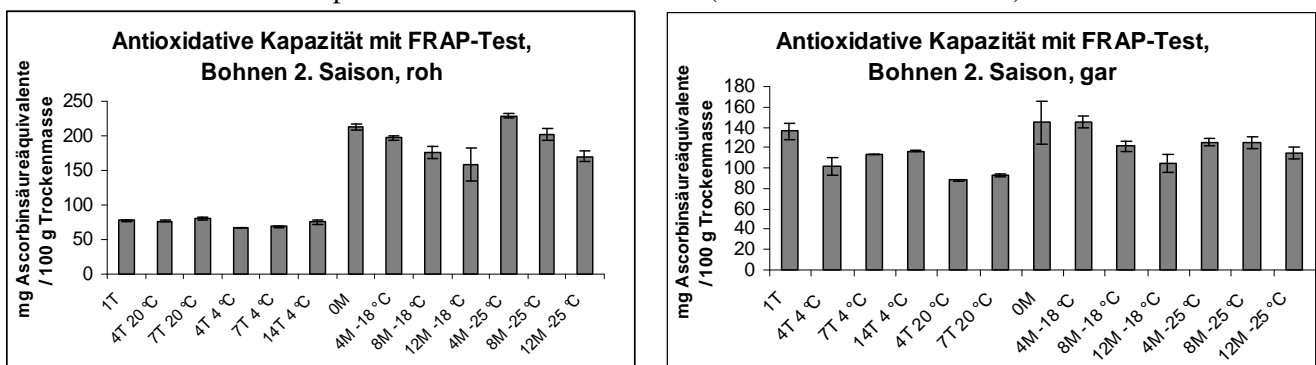
Bei den Bohnen der 2. Saison (Abb. 57) waren diese Ergebnisse weniger stark ausgeprägt: So unterschieden sich die FR- und TK-Lagerstadien vor dem Garen (Abb. 57, links) um maximal 40 % (beim Vergleich der Lagerstadien FR 1T und TK 12M -18 °C). Nach dem Garschritt (Abb. 57, rechts) waren die antioxidativen Kapazitäten (ermittelt nach dem Test von Folin-Ciocalteu) der FR- und der TK-Lagerung wieder gleich hoch.

Abb. 57: Antioxidative Kapazität in Bohnen der 2. Saison (bestimmt nach Folin-Ciocalteu)



Die Bohnen der 2. Saison, mit dem FRAP-Test auf ihre antioxidative Kapazität untersucht, wiesen wie die Erbsen bei den ungegarten FR-Proben die niedrigsten Gehalte auf (Abb. 58, links). Bei den rohen Bohnen war ein deutlicher Trend während der TK-Lagerung zu erkennen: Eine TK-Lagerung ergab einen signifikanten Verlust an antioxidativer Kapazität von 24 % bzw. 17 % innerhalb von 12 Monaten bei -18 °C bzw. bei -25 °C. Bei den gegarten Bohnen (Abb. 58, rechts) waren tendenzielle Rückgänge der antioxidativen Kapazität während des Lagerverlaufs bei allen Temperaturen festzustellen (bei 4 °C um 16 %, bei 20 °C um 31 %, bei -18 °C um 20 % und bei -25 °C um 15 %, jeweils beim Vergleich des Ausgangsstatus mit dem Status nach der längsten Lagerzeit).

Abb. 58: Antioxidative Kapazität in Bohnen der 2. Saison (bestimmt mit FRAP-Test)



## 6. Diskussion

### 6.1. Vitamin C

Zunächst sollen an dieser Stelle die gefundenen Gehalte der Parameter (Vitamin C, Carotine, Flavonole und antioxidative Kapazität) in den Gemüsearten Bohnen, Erbsen und Karotten vergleichbaren Ergebnissen aus der Literatur gegenüber gestellt werden.

Zur korrekten Interpretation der Tab. 11 sei angemerkt, dass Gehalte an Lagerparametern, die nicht auf die TM bezogen wurden und somit Austrocknungsverluste nicht berücksichtigten, zum Teil zu widersprüchlichen Ergebnissen (zum Beispiel unregelmäßige Anstiege und Verluste) führten: So ist beispielsweise bei Trail et al. (1992) nach 10 Tagen Lagerdauer bei 10 °C in verpackten Bohnen eine scheinbare Zunahme des Vitamin C-Gehalts von 2 % festgestellt worden (in Tab. 11 nur Lagerung bei 5 °C aufgeführt), was nahezu allen anderen Literaturangaben widerspricht.

Tab. 11: Literaturvergleich der lagerungsbedingten Veränderungen der Vitamin C-Gehalte in Bohnen

Veränderung von	bei einer Lagerdauer von	bei Temperaturen von	bei weiteren Lagerbedingungen oder Weiteres zur Bestimmungsmethode	Literaturstelle
-51 %	2 Tage	20 °C		Martin, 1977
-48 %	2 Tage	20 °C		Zaccharias, 1962
-22 %	1 Tag	4 °C		Fennema, 1977
-36 %	3 Tage	20 °C		
-50 %	3 Tage	20 °C	aus Grafik extrapoliert, keine Angabe der Methode	Bognár, 1987
-33 %	3 Tage	4 °C		Martin, 1977
-42 %	4 Tage	8 °C	bei 98 % Luftfeuchte, auf FG bezogen berechnet Analyse mit <i>m</i> -Phosphorsäure-Extraktion und HPLC-UV	Sánchez-Mata et al., 2003
-60 %	7 Tage	4 °C	aus der gleichen Studie, mit 2,6-Dichlorindophenol-Methode	Favell, 1998
-40 %	7 Tage	20 °C		
-51 %	8 Tage	4 °C	aus Grafik extrapoliert (mit einem Konfidenzintervall von ca. 10 %), kolorimetrische Methode nach Emmerie	Böttcher, 1986
-39 %	16 Tage	5 °C	low-density-polyethylen-verpackte Bohnen, mit 2,6-Dichlorindophenol-Methode, auf FG bezogen berechnet	Trail et al., 1992
-84 %	21 Tage	2 °C	bei 95-100 % Luftfeuchte	Albrecht et al., 1990
-91 %	21 Tage	2 °C	auf FG bezogen berechnet, mit 2,6-Dichlorindophenol-Methode	Albrecht et al., 1991
-65 %	3 Monate	-18 bzw. -6,6 °C	2 Monate bei -18 °C, im letzten Monat bei -6,6 °C	Derse und Teply, 1958
-40 %	2 Monate	-18 °C	nicht angegeben ob oder wie blanchiert	
-22 %	3 Monate	-18 °C		Martin, 1977
-17 %	5 Monate	-20 °C	mit HPLC, bei schnellem Einfrieren	Charoenrein und Reid, 1989
-32 %	5 Monate	-20 °C	bei langsamem Einfrieren	
-20 %	12 Monate	-20 °C	fragwürdig weil ohne Blanchierverluste	Favell, 1998
-13 %	9 Monate	-18 °C	ausreichend blanchiert	Böttcher, 1975
-40 %	9 Monate	-18 °C	ungenügend blanchiert auf TM bezogen, mit 2,6-Dichlorindophenol-Methode bestimmt	
-25 % *	12 Monate	-18 °C	Veränderungen dabei von -10 bis -52 % unter vergleichbaren Bedingungen	Spieß, 1984
-25 %	12 Monate	-18 °C		Kramer, 1974
-30 %	12 Monate	-18 °C	keine weiteren Angaben	Cremer und Aign 1966
-68 %	30 Monate	-22 °C	mit 2,6-Dichlorindophenol-Methode, auf TM bezogen berechnet	Aparicio-Cuesta et al., 1989

Soweit nicht anders erwähnt, wurde rohe Ware untersucht und es wurden GAA-Gehalte bestimmt.

Tab. 12: Literaturvergleich der lagerungsbedingten Veränderungen der Vitamin C-Gehalte in Erbsen

Veränderung	bei Lagerdauer	bei Temperatur	bei weiteren Lagerbedingungen oder Bedingungen der Bestimmungsmethode	Literaturstelle
-18 %	2 h	RT		Morrison, 1974
-36 %	2 Tage	20 °C		Zaccharias, 1962
-36 %	2 Tage	20 °C		Spieß, 1984
-7 %	2 Tage	4 °C		Fennema, 1977
-44 %	3 Tage	20 °C	aus Grafik extrapoliert, keine Angabe der Methode	Bognár, 1987
-12 %	3 Tage	4 °C		
-40 %	7 Tage	4 °C	mit 2,6-Dichlorindophenol-Methode	Favell, 1998
-35 %	21 Tage	2 °C	bei 95-100 % Luftfeuchte auf FG bezogen berechnet, mit 2,6-Dichlorindophenol-Methode	Albrecht et al., 1991
-47 bis 50 %	3 Monate	-18 bzw. -6,6 °C	2 Monate bei -18 °C, im letzten Monat bei -6,6 °C	Derse und Tepy, 1958
-7 %	2 Monate	-18 °C	nicht angegeben ob oder wie blanchiert	
-11 %	11 Monate	-18 °C	nicht angegeben ob oder wie blanchiert	
-12 %	3 Monate	-18 °C	aus Grafik extrapoliert, keine Angabe der Methode	Bognár, 1987
-32 %	12 Monate	-18 °C		
-11 %	12 Monate	-18 °C		
-13 %	9 Monate	-18 °C	ausreichend blanchiert	Böttcher, 1975
-40 %	9 Monate	-18 °C	ungenügend blanchiert auf TM bezogen, mit 2,6-Dichlorindophenol-Methode bestimmt	
-9 %	12 Monate	-20 °C	mit 2,6-Dichlorindophenol-Methode	Favell, 1998
-49 %	12 Monate	-18 °C	nur AA untersucht	Guerrant und O'Hara, 1953
-10 %	12 Monate	-18,3 °C		Kramer, 1974
-17 % *	12 Monate	-18 °C		Spieß, 1984

Tab. 13: Literaturvergleich der lagerungsbedingten Veränderungen der Vitamin C-Gehalte in Karotten

Veränderung	bei Lagerdauer	bei Temperatur	bei weiteren Lagerbedingungen oder Bedingungen der Bestimmungsmethode	Literaturstelle
-1,5 %	Pro Tag	7-15 °C	bei 60-76 % Luftfeuchte	Bognár und Zacharias, 1998 *
-42 %	7 Tage	4 °C	in Plastikbeuteln, mit <i>m</i> -Phosphorsäure-Extraktion und HPLC-UV analysiert; allerdings viele Schwankungen und unregelmäßiger Lagerverlauf	Howard et al., 1999
+50 %	7 Tage	4 °C		
-30 %	8 Tage	20 °C	mit 2,6-Dichlorindophenol-Methode	Favell, 1998
-10 %	8 Tage	4 °C		
-50 %	12 Monate	-20 °C	siehe oben	Howard et al., 1999

\* hier Median aus verschiedenen Studien

Außerdem ist zu beachten, dass in einigen Studien keine GAA- sondern nur AA-Gehalte bestimmt wurden. Da viele unterschiedliche Methoden (und nur sehr wenige mit HPLC) gefunden wurden, ist eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse in vielerlei Hinsicht problematisch. Zum Teil sind bereits von einer Forschergruppe (Albrecht et al., 1990 und 1991 bei Bohnen; beim Vergleich zweier Erntejahre bei Karotten in der Studie von Howard et al., 1999; Tab. 13) innerhalb einer Untersuchungsreihe unterschiedliche Gehalte angegeben worden. Zudem muss der an anderer Stelle bereits erwähnte Einfluss unterschiedlicher Sorten auf den Gehalt der untersuchten Parameter betont werden (Nicolle et al., 2004).

Bemerkenswert ist, dass bei den Vitamin C-Gehalten in Erbsen bereits innerhalb von 2 h Lagerzeit Verluste bestimmbar waren (Morrison, 1974; Tab. 12), was auch durch die in dieser Studie erhaltenen Vitamin C-Gehalte in Bohnen bestätigt wurde: Diese betragen beim Status 0. Tag vom Feld etwa 166 mg/100 g TM gegenüber 120 mg/100 g TM beim Status 1. Tag (was durch die 4 h dauernde Ernte erklärbar ist).

Insgesamt lagen die hier gefundenen Vitamin C-Verluste innerhalb der Streuung der gefundenen Werte aus Tab. 11, 12 und 13. Gegenüber den bisherigen Lagerstudien aus der Literatur zu Karotten (mit oft uneinheitlichen Tendenzen oder überraschenden Zunahmen) konnte in der 1. Saison dieser Studie erstmalig ein Trend während der Lagerung bei 4 und bei 20 °C gezeigt werden.

EU-Länder mit gemäßigttem Klima sprachen sich in der Vergangenheit des Öfteren für eine gesetzliche Herabsetzung der TK-Lagertemperatur von -18 °C auf -25 °C aus, was von EU-Ländern mit Mittelmeerklima und damit verbundenen höheren Kosten für die Gefrierlagerung abgelehnt wurde. Ob die Temperatur von -25 °C gegenüber -18 °C tatsächlich zu einem signifikant höheren Vitamin C-Erhalt bei der Lagerung beiträgt, konnte durch die hier vorliegenden Daten nicht geklärt werden. Dazu hätten mehr Daten einer mindestens 36-monatigen Studie erhoben werden müssen. Das Verhältnis von DHAA und AA unterlag in den Studien aus der Literatur ebenfalls beträchtlichen Schwankungen: So fanden Mills et al. (1949) einen 6,6 %igen DHAA-Anteil (am GAA-Gehalt) in FR-Bohnen und einen 14,5 %igen DHAA-Anteil (am GAA-Gehalt) in TK-Bohnen (beide waren aber nur typische Handelswaren, es erfolgte kein Vergleich derselben Sorte), während bei Sánchez-Mata et al. (2003) 36-40 % DHAA (am GAA-Gehalt) in Bohnen angegeben wurden. Bei Morrison (1975) fand sich in Bohnen ein Anteil von 15-45 % DHAA (am GAA-Gehalt).

In den hier vorgestellten Ergebnissen wurden zum Teil Schwankungen im DHAA-Anteil von 0-70 % gefunden, was möglicherweise mit zusätzlichen Einflüssen wie verstärktem Lichteinfluss während der Verarbeitung oder verschiedenen Sauerstoffgehalten bei der Lagerung zusammenhing, die das empfindliche Redoxgleichgewicht veränderten. Denkbar ist auch, dass unterschiedliche Aktivitäten der Ascorbatoxidase während der Lagerung auftraten. Es konnte dabei im Verlauf der Lagerung kein Trend festgestellt werden und auch ein Erhitzungsschritt veränderte das AA-DHAA-Verhältnis unter den gewählten Untersuchungsparametern bei Erbsen nicht, während bei Bohnen der DHAA-Anteil durch das Garen zunahm. In Erbsen wurden geringere DHAA-Anteile von durchschnittlich 12 % gefunden; es ergaben sich weniger Schwankungen, viele Stadien zeigten (unsystematisch verteilt) DHAA-Anteile von 0 %, was auf einen besseren Oxidationsschutz unzerkleinerter Erbsen während der Lagerung (im Vergleich zu Bohnen) hindeutet.

Von Lehnard (1979) wurde der DHAA-Anteil (am GAA-Gehalt) in Karotten untersucht, wobei sich ergab, dass weniger die Probenvorbereitung (Extraktion mit einer Oxalsäurelösung) als vielmehr vorhandene Störstoffe in der Matrix (zum Beispiel nach unzureichender Zentrifugation vor der Zugabe des Reduktionsmittels DTT) den Grund für unterschiedliche DHAA-Anteile (am GAA-Gehalt) darstellten. Ein Arbeiten unter Stickstoff oder Kühlung während der Extraktion erwies sich als nicht



notwendig zur Konservierung der DHAA-Anteile (Lehnard, 1979). Es wurde unter anderem von Lehnard (1979) postuliert, dass DHAA nach Abzug der durch Störstoffe entstandenen Anteile in erntefrischen pflanzlichen Produkten nicht vorlag, obwohl er nicht ausschloss, dass eine Bildung zum Beispiel während übermäßig langer Lagerzeit, durch eine Verletzung der Oberfläche oder durch Fraßschäden und sonstige Schädigungen hervorgerufen werden könne.

In den hier vorliegenden Ergebnissen wurden DHAA-Anteile in Karotten der 1. Saison von etwa 0-50 % gefunden, während nur bei der Lagerung der Karotten der 2. Saison durchweg hohe Gehalte von bis zu 80 % DHAA (am GAA-Gehalt) gefunden wurden. Lehnard (1979) fand einen DHAA-Anteil (am GAA-Gehalt) von 50 % in Möhren. Lee und Kader (2000) verwiesen darauf, dass Glutathion in Pflanzen in der Lage ist, durch eine direkte chemische Reaktion unterschiedliche Mengen AA zu DHAA zu reduzieren. Eine derartige Reaktion wurde in Spinat-Chloroplasten tatsächlich bei pH 7 nachgewiesen.

Von Selman (1994) wurde allerdings festgestellt, dass DHAA selbst beim Erhitzen (im Gegensatz zu AA) nicht stabil war. Er postuliert, dass beim Blanchieren von Gemüse die kurzen Zeiträume, bis die Kerntemperatur im Inneren die Blanchiertemperatur erreicht hatte, ausreichen, enzymatisch katalysierte Umlagerungen zur DGKS zu bewirken.

Vitamin C könnte als redoxaktive Substanz eine natürliche Schutzfunktion für andere, redoxaktive Substanzen (zum Beispiel organische Säuren oder Polyphenole) einnehmen, dabei oxidiert es und wird bei entsprechendem Milieu abgebaut (Rababah et al., 2005). Umgekehrt wäre aber auch denkbar, dass andere Substanzen wie Polyphenole (früher als „Vitamin P“ bezeichnet) die Vitamin C-Mengen im Gemüse konservieren könnten und es damit verschiedene komplexe Einflüsse auf die Vitamin C-Bilanz in Gemüse gibt.

Zudem war zu beobachten, dass die Gemüsestruktur (vergleiche Verluste bei eher faserig-harten Karotten im Vergleich zu Verlusten in weicheren Bohnen) Einfluss auf den Vitamin C-Erhalt hatte.

Die Vitamin C-Verluste bei den Kochversuchen bewegten sich bei der vorliegenden Studie im Bereich der Literaturwerte. Bognár (1995a) gab Vitamin C-Verluste beim Kochen von durchschnittlich 35 % für Gemüse an. Die Verluste durch Auswaschen betragen etwa 15-20 %, wonach die Verluste durch thermischen Abbau beim Kochen 20-15 % betragen (Bognár, 1995a). Beim Dämpfen traten Vitamin C-Verluste von 25 % auf, wovon nur 7 % Verluste durch Auswaschen darstellten. Beim Dünsten ergaben sich ausschließlich thermisch bedingte Abbauverluste von ca. 20 %. Die genauen Wassermengen des Koch-, Dämpf- und Dünstvorgangs wurden von Bognár (1995a) nicht angegeben. In der hier vorliegenden Studie wurden Erbsen und Bohnen gedünstet und es ergaben sich Kochverluste (Summe an Verlusten durch Auswaschen und an Verlusten durch thermischen Abbau) an Vitamin C von 9-33 % (Erbsen) und 16-75 % (Bohnen). Die gegenüber Bognár (1995a) zum Teil höheren Vitamin C-Gehalte im Kochwasser könnten damit erklärbar sein, dass nicht vollständig ausgeglichene Wasser-Verluste (durch Verdampfen beim Kochen) vor der Probennahme der Kochwässer zu einer Aufkonzentration des Vitamin C im Kochwasser geführt haben.

Weitere kritische Punkte der Vitamin C-Analyse während der Zubereitung des Gemüses waren eine unterschiedliche Hitzeabgabe der Kochplatten (trotz Kontrolle der Temperatur- und Leistungsabgabe sowie Modellgleichheit) und eine unterschiedliche Hitzeverteilung innerhalb des Gargutes. Schon die Verwendung eines Deckels (hier immer mit) und das Topfmodell können Auswirkungen auf die Kochstabilität von Vitamin C haben (Nursal und Yücecan, 2000).

Der hier durchgeführte Vergleich der Vitamin C-Gehalte von Dosen-, Glas-, FR- und TK-Ware wurde bereits häufig angestellt. Höhere Vitamin C-Gehalte bei der TK-Ware gegenüber den anderen Lagerarten fanden sich in einer Vielzahl dieser Studien. Auf eine Literaturübersicht soll hier verzichtet werden, da nur ein Vergleich derselben Rohware aussagekräftig wäre und eine Studie die diese Arten der Lagerung, ausgehend vom selben Ausgangsmaterial vergleicht, fehlt bisher. Es sei aber in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen, dass auch in Sterilprodukten nach einer mehrmonatigen Lagerung (zusätzlich zu den Verlusten durch den Sterilisierschritt) durch Auslaugprozesse in das Abtropfwasser geringere Vitamin C-Gehalte im Gemüse festzustellen waren: In einer Studie von Bloeck et al. (1985) wurde zum Beispiel ein weiterer Verlust an Vitamin C von 37 % in Bohnen festgestellt, welche in Dosen bei 0 °C 18 Monate lang lagerten.

Vitamin C erwies sich als idealer Lagerparameter, da eine enge Korrelation seiner Abnahme mit der Lagerdauer gegeben war. In einigen aktuellen Studien (Giannakourou und Taoukis, 2002; Reid et al. 2003) wurden auf Basis ähnlicher wie der hier vorliegenden Datensätze, Studien zur Kinetik und zur rechnerisch ermittelbaren Vorhersagbarkeit des Vitamin C-Gehalts (und somit zur Lagerfähigkeit) nach Lagerzeiträumen von 1-365 Tagen in Gemüse durchgeführt. Dabei wurden anstatt der früher üblichen einfachen Betrachtungen von Temperatur-Zeit-Verläufen als Reaktionen 1. Ordnung (Labuza, 1984) so genannte Arrhenius-Modelle verwendet.

## 6.2. Carotin

Zunächst werden verschiedene Literaturwerte für das Verhalten von Carotinen während der Lagerung vorgestellt (Tab. 14). Eine ausführliche Zusammenstellung findet sich bei Rodriguez-Amaya (1997). Einige wenige Autoren berichteten neben den hier gefundenen Carotinen (all-*trans*- $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin, 9-13-, 15-*cis*- $\beta$ -Carotin und Lutein) über das Vorkommen anderer Carotine ( $\chi$ -Carotine, Kryptoxanthin und all-*trans*- $\beta$ -Zeaxanthin) in Karotten. Da aber nur geringe Gehalte dieser Carotine gefunden wurden, wurde davon ausgegangen, dass der ernährungsphysiologische Wert (bzw. die Vitamin A-Aktivität) auch ohne Berücksichtigung vorhandener Minor-Carotinoide nicht stark variiert hätte.

Vorab ist anzumerken, dass die hier gefundenen all-*trans*- $\beta$ -Carotingehalte (zum Beispiel beim Status FR 1 T roh in der 1. Saison 110 mg all-*trans*- $\beta$ -Carotin/100 g TM bei der Sorte Nevis) am oberen Ende des Streubereichs von Literaturdaten in Karotten (von 43 mg/100 g TM bei Bajaj et al., 1978 bis 142 mg/100 g TM berechnet aus angenommenen 9 % TM bei Surlles et al., 2004) anzusiedeln waren.

Dies ließ sich auf verschiedene Extraktionsausbeuten oder auf den Sortenunterschied (Surles et al., 2004) zurückführen.

Nach einem chronologischen Überblick (von 1940-2005) der Literatur zu all-*trans*- $\beta$ -Carotingehalten in Karotten fanden sich große Unterschiede, die auf die voranschreitende Züchtung höherer all-*trans*- $\beta$ -Carotingehalte in markttypischen, orange-farbenen Karotten zurückzuführen waren (daneben gibt es nahezu carotinfreie, weiße Karotten, dunkelrote oder schwarze Züchtungsvarianten mit sehr hohen Carotingehalten; Heinonen, 1990, Surles et al., 2004).

Die Stabilitäten verschiedener Carotine bzw. des Gesamtcarotins in Karotten im Verlauf der Lagerung aus verschiedenen Literaturstudien sind in Tab. 14 dargestellt.

Tab. 14: Literaturvergleich der Carotin-Veränderungen während der Lagerung von Karotten

Veränderung	Lagerdauer	bei Temperaturen von	bei weiteren Lagerbedingungen oder Bedingungen der Bestimmungsmethode	Literaturstelle
-2 % pro Tag	(1-21 Tage)	16-26 °C	bei 50-75 % rF	Bognár, 1995c
-0,7 % pro Tag	(1-21 Tage)	4-8 °C	bei 60-80 % rF	
+8 %	2 Tage	21 °C	Gesamtcarotin, photometrisch	Booth, 1951
+11 %	60 Tage	Kühl- *	Gesamtcarotin, photometrisch	
-62 %	8 Tage	7,5-8,5 °C	in Netlon-Beuteln, photometrisch, auf TM bezogen	Negi und Roy 2000
-2 % bis +17 %	3 Tage	4 °C	in vier Handelsprodukten, photometrisch	Bustos Rubio et al., 1992
+9 % bis -44 %	15 Tage	-18 °C	in vier Handelsprodukten, photometrisch	
$\pm 0$ %	12 Tage	4 °C	all- <i>trans</i> - $\beta$ -Carotin bei Licht gelagert, mit HPLC	Kopas-Lane und Warthesen, 1995
+18 %	12 Tage	4 °C	all- <i>trans</i> - $\beta$ -Carotin bei Licht gelagert, mit HPLC	
+306 %	14 Tage	2,5 °C	Gesamtcarotin bei 88,5 % rF, photometrisch	Niendorf et al., 1982
+10 %	14 Tage	4 °C	all- <i>trans</i> - $\beta$ -Carotin, mit HPLC	Howard et al., 1999
+43 %	15 Tage	RT	$\beta$ -Carotin auf FG bezogen, Sorte Sel. 233 (orange) jeweils photometrisch	Bajaj et al., 1978
-17 %	15 Tage	RT	$\beta$ -Carotin auf TM bezogen, Sorte Sel. 233 (orange)	
-9 %	27 Tage	8-9 °C	$\beta$ -Carotin auf FG bezogen, Sorte Sel. 233 (orange)	
+18 %	27 Tage	8-9 °C	$\beta$ -Carotin auf TM bezogen, Sorte Sel. 233 (orange)	
+8 %	28 Tage	ohne Temperaturkontrolle Anfang November auf dem Feld mit Stroh und Erde bedeckt gelagert, photometrisch bestimmt		Leclerc und Miller, 1992
+20 %	30 Tage	2,2-4,4 °C **	k.A.	Brown, 1947
+6 %	35 Tage	0-4,4 °C **	Gesamtcarotin, photometrisch in Sorte French Forcing, auf TM bezogen, Luftfeuchte > 85 %, in Eimern mit trockenen Sand in einem Keller gelagert	
+8 %	30 Tage	-7,8 $\pm$ 2,2 °C	Gesamtcarotin, photometrisch	Khan et al., 1975
+55 %	3 Monate	4,4 °C	Gesamtcarotin, photometrisch	Smith und Otis, 1941***
+5 bis +24 %	3 Monate	0-1 °C	Gesamtcarotin, photometrisch	Zozulevich et al., 1975
-14 bis -20 %	6 Monate	0-1 °C	Gesamtcarotin, photometrisch	
+21 %	100 Tage	2 °C	all- <i>trans</i> - $\alpha$ -Carotin, 90 % rF, photometrisch	Lee, 1986
+14 %	100 Tage	2 °C	all- <i>trans</i> - $\beta$ -Carotin, 90 % rF, photometrisch	
+63 %	100 Tage	2 °C	all- <i>trans</i> - $\gamma$ -Carotin, 90 % rF, photometrisch	
+71 %	100 Tage	2 °C	all- <i>trans</i> - $\beta$ -Zeacarotin, 90 % LF, photometrisch	
-25 %	4 Monate	-40 °C	ohne Blanchieren, photometrisch, auf TM bezogen	Shaheen et al., 1977
-38 %	4 Monate	-40 °C	ohne Blanchieren, photometrisch, auf TM bezogen	
-4 %	pro Monat	-18 °C	k.A.	Bognár und Wolf, 2002
-20 bis -30 %	12 Monate	-18 °C	k.A.	
-0 bis -20 %	12 Monate	-18 °C	Gesamtcarotin angegeben als allgemeingültiger Gehalt in Gemüse	Cremer und Aign, 1966
-0 bis -40 %	12 Monate	-20 °C	Gesamtcarotin in Karotten	Spieß, 1984

\* keine Angabe über die genaue Temperatur (möglicherweise 4 °C)

\*\* Temperatur konnte nicht vollständig konstant gehalten werden

\*\*\* ähnliche Ergebnisse bei weiteren Studien aus den Vierziger Jahren (Magruder, 1941; Pepkowitz, 1943; Lee und Tapley, 1947; McKillican, 1948; Brown, 1949; Rygg, 1949) zu finden

Anm.: Wenn nicht anders angegeben, wurden die Veränderungen auf Basis des FG berechnet

Photometrische Methoden immer im Anschluss an eine säulenchromatographische Aufreinigung der Extrakte nach der Methode der AOAC (1983)

Es zeigte sich bei dieser Auswahl, dass -wie hier- des Öfteren bereits unerwartete Zunahmen der Carotine bei der FR-Lagerung von Karotten beobachtet wurden: So fanden Kopas-Lane und Warthesen (1995) zum Beispiel 18 % mehr all-*trans*- $\beta$ -Carotin bei 4 °C nach 12 Tagen im Vergleich zu 25 % in der hier vorliegenden Studie nach 14 Tagen bei 4 °C (in der Rohware), allerdings wurden die Werte bei Kopas-Lane und Warthesen (1995) nicht auf die TM bezogen. Bei Bezug auf die TM wurden auch von Brown (1947) Anstiege des Gesamtcarotingehalts gefunden.

Nach Rodriguez-Amaya (1997) ist in Blattgemüse und anderem Gemüse von einer Abnahme des Gesamtcarotins während der Lagerung auszugehen, wogegen in intaktem Fruchtgemüse und Wurzelgemüse Zunahmen zu erwarten sind.

Zum Teil fanden sich in einer Lagerstudie nacheinander Zu- und Abnahmen: So wurden von Bajaj et al. (1978), bezogen auf das FG, eine Zunahme des Gesamt- $\beta$ -Carotingehalts (eine Aufschlüsselung nach all-*trans*- und *cis*-Isomeren erfolgte hier nicht) von 43 % in 15 Tagen bei RT-Lagerung, bezogen auf die TM eine Abnahme des Gesamt- $\beta$ -Carotingehalts von 17 % nach 15 Tagen festgestellt. Bei einer Lagerung bei 8-9 °C beobachteten Bajaj et al. (1978) dann eine Zunahme des Gesamt- $\beta$ -Carotingehalts von 18 % (bezogen auf die TM).

Lagerstudien zu Veränderungen des Gesamt- $\beta$ -Carotingehalts bei TK-Temperaturen ließen sich nur vereinzelt finden: Bei Bognár und Wolf (2002) wurde eine widersprüchliche Angabe von 4 % Verlust an Gesamt- $\beta$ -Carotingehalts (ohne Unterscheidung von all-*trans*- und *cis*-Isomeren) pro Monat und 20-30 % Verlust pro Jahr (also 1,7-2,5 % pro Monat) bei einer -18 °C-Lagerung angegeben. Eine Angabe zu Blanchierbedingungen und deren Auswirkungen auf den Gesamt- $\beta$ -Carotingehalt fand sich dort nicht. Shaheen et al. (1977) stellten eine Abnahme von 24,5 % des Gesamt- $\beta$ -Carotingehalts - einschließlich der Verluste als Folge des Blanchierens - nach einem Zeitraum von 4 Monaten bei -40 °C-Lagerung in Karotten fest. Von Bustos Rubio et al. (1992) wurden 4 FR-Produkte vom Wochenmarkt (ohne Kenntnis der Sorten) bei 4 °C und bei -18 °C gelagert; bei -18 °C ergaben sich bei zwei Proben Zunahmen (1,5 und 9 %) und bei zwei anderen Proben Abnahmen (-44 % und -20 %) im Gesamt- $\beta$ -Carotingehalt. In der hier vorliegenden Studie ergab sich eine Zunahme des all-*trans*- $\beta$ -Carotingehalts von 28 % in 12 Monaten (bei -18 °C in rohen Karotten, 1. Saison; vergleiche Diskussion bezüglich Zunahmen durch einen Blanchierschritt, S. 81).

Eine aktuelle Studie (Kidmose et al., 2004) bestätigte, dass die all-*trans*- $\beta$ -Carotingehalte nach 4 Monaten Lagerdauer bei -24 °C nicht abnahmen. Da der Gefrierprozess nach Park (1987) keine maßgeblichen Verluste an Carotinen bewirkte, konnten die Abnahmen an Gesamt- $\beta$ -Carotin in TK-Karotten bei einigen Autoren (Baloch et al., 1981 und 1986; McCance, 1991; Yadav und Sehgal, 1995; Bognár, 2003; in Tab. 14 zum Teil nicht aufgeführt) somit lediglich auf Restenzymaktivitäten zurückzuführen sein. Andererseits traten bei einer Studie von Kidmose et al. (2004) ohne einen Blanchierschritt nach 4 Monaten Lagerdauer keine Verluste an all-*trans*- $\beta$ -Carotin auf.

Hierzu muss angemerkt werden, dass die meisten Bestimmungen mit veralteten photometrischen Methoden durchgeführt wurden. Eine moderne Studie mittels HPLC (mit einer C30-Phase zur

chromatographischen Auflösung der  $\alpha$ - und  $\beta$ -*cis*-Carotin-Isomere), die alle hier vorgestellten Lagerarten beschreibt, fand sich nicht.

Zunahmen des Gesamt- $\beta$ -Carotins während der Lagerung wurden auch in anderen carotinhaltigen Pflanzenteilen gefunden: Zum Beispiel wurde in Kürbissen nach 3-monatiger Lagerung bei RT ein Gesamt- $\beta$ -Carotingehalt von mehr als 1263 % gegenüber dem Ausgangswert gefunden (Chavasit et al., 2002) und in Mangos wurde nach 9 Tagen bei RT über eine Gesamt- $\beta$ -Carotin-Zunahme von 1471 % (Kalra und Tandon, 1983) berichtet. Verschiedene Forschergruppen (zum Beispiel Al-Shaibani und Greig, 1979) bestätigten unabhängig voneinander eine Lycopin-Zunahme während der Lagerung von unreifen Tomaten.

Bei der Untersuchung zur Veränderung des Carotingehalts durch Koch- bzw. Blanchiervorgänge zeigten sich einheitlichere Forschungsergebnisse: Die Zunahme der Gesamtcarotinmengen bzw. einzelner Isomere während eines Erhitzungsschrittes von Karotten wurde von einer Vielzahl von Autoren festgestellt: So fanden Hart und Scott (1995) nach 10-minütigem Kochen in TK-Karotten eine 4 %ige, in Erbsen nach 10-minütigem Kochen eine 52 %ige und in Bohnen nach 5-minütigem Kochen eine 26 %ige Gesamt- $\beta$ -Carotin-Zunahme. Khachik et al. (1991) berichteten über einen 15 %igen Anstieg des Gesamtcarotins in grünen Bohnen beim Kochen (9 min, 60 g Bohnen mit 1 l Wasser) und über einen 11 %igen Anstieg des Gesamtcarotins beim Mikrowellengaren (4 min, 60 g Bohnen mit 25 ml Wasser). Für FR-Karotten berichteten Khachik et al. (1987) über eine nicht signifikante Zunahme von 8 % all-*trans*- $\beta$ -Carotin bei schonender 5,5-minütiger Zubereitung im Mikrowellenofen. Shaheen et al. (1977) stellte fest, dass nach 3-minütigem Blanchieren in kochendem Wasser 35 % höhere Carotingehalte in Karotten vorhanden waren.

Die in dieser Studie gefundenen Zunahmen an all-*trans*- $\beta$ -Carotin durch das Dampfblanchieren von 8 % in der 1. Saison und 44 % in der 2. Saison (jeweils beim Vergleich von 1T und 0M) liegen im Bereich der all-*trans*- $\beta$ -Carotin-Zunahmen der hier aufgeführten Studien.

Auch in der hier vorliegenden Studie ergaben sich beim Vergleich von roher und gegarter Ware höhere Werte nach dem Garen (zum Beispiel 22 % mehr all-*trans*- $\beta$ -Carotin beim Vergleich von 1T roh mit 1T gar, 1. Saison); bei Granada et al. (1992) fanden sich dazu nach 33-minütigem Kochen von 500 g Gemüse mit 500 ml Wasser (hier: 300 g Karotten auf 500 ml Wasser für 14 bzw. 18 min) 23 % mehr all-*trans*- $\beta$ -Carotin, wobei aber auf das FG bezogen wurde. Bei Bezug auf die TM ergaben sich dort Zunahmen um über 100 % im all-*trans*- $\alpha$ - und all-*trans*- $\beta$ -Carotingehalt. Weitere Beobachtungen über Zunahmen (von 24 bis 88 %) des Carotingehalts beim Kochen von Karotten fanden sich unter anderem bei Reeve (1943a), Panalaks und Murray (1970), Bushway und Wilson (1985) und Bognár (2003). Nur vereinzelt wurde über Abnahmen des Carotingehalts (Sweeney und Marsh, 1971; Dietz et al., 1988) berichtet, wobei lange gekocht wurde oder übermäßig viel Wasser zum Kochen verwendet wurde (zum Beispiel 33 min bei 10-fachem Wasser/Karotten-Überschuss bei Dietz et al., 1988).

In einigen Studien wurden verstärkt *cis-trans*-Umlagerungen von Carotinen bei hohen Temperaturen beobachtet (Pepkowitz, 1943, Sweeney und Marsh, 1971; Marx et al., 2000), wobei der Anteil der

entstandenen *cis*-Isomere am ursprünglich vorhandenen Gesamtcarotin gering war: Bei Kopas-Lane und Warthesen (1995) fanden sich unter ähnlichen Bedingungen wie in der hier vorliegenden Studie 99,2 % *all-trans-β*-Carotin-, 0,7 % *9-cis*- und 0,1 % *13-cis-β*-Carotin-Anteile am Gesamtcarotin, was sich mit den Ergebnissen der hier vorliegenden Studie deckt.

Die Erhöhung der Carotingehalte in Karotten durch einen Erhitzungsschritt wurde mit einer verstärkten Extrahierbarkeit der Carotine aus der Karottenmatrix (Carotine liegen nach Kidmose et al., 2004 als Protein-Komplexe vor), mit der Inaktivierung Carotin-oxidierender Enzyme (zum Beispiel Lipoxygenasen) oder mit dem Verlust von TM (Übergang in die Flüssigkeit) erklärt.

Auf molekularbiologischer Ebene ist das Pflanzen-Carotin grüner Pflanzen in Chloroplasten der Thylakoidmembranen an so genannte Lichtsammelkomplexe (aus Chlorophyllen und Proteinen) gebunden, welche in Abb. 59 veranschaulicht werden.

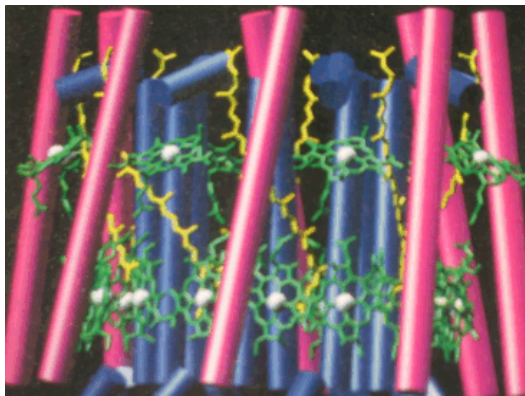


Abb. 59: Röntgenkristallstruktur eines Lichtsammelkomplexes; blau:  $\alpha$ -Protein-Untereinheit (56 Aminosäuren), rosa:  $\beta$ -Protein-Untereinheit (45 Aminosäuren), grün: Chlorophyll a, gelb: Lycopin (Voet et al., 2002)



In Karotten und anderen photosynthetisch inaktiven Pflanzenteilen werden Carotine in Chromoplasten gebildet und sie liegen auch dort (an Lipidglobuli oder in so genannten „Kristallen“) gebunden vor (Abb. 60). Diese „Kristalle“ sind nur zu 20-56 % aus Carotinen zusammengesetzt, der Rest besteht aus Proteinen und Lipiden (Nultsch, 1996), was auch daran zu erkennen ist, dass oft unregelmäßige, kristalluntypische Formen vorkommen (Abb. 60).

Abb. 60: Formen von Carotin-Kristallen in Karotten (Braune et al., 1999; S. 61)

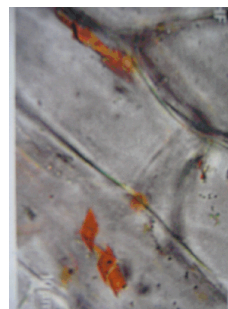
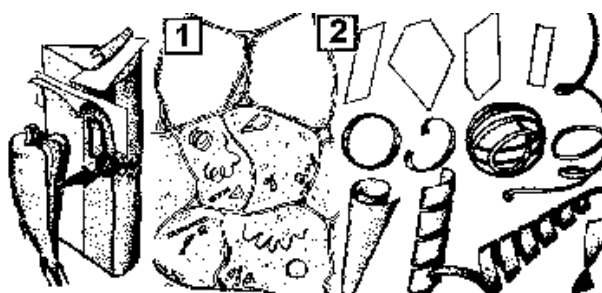


Abb. 61  
kristallöser Carointyp  
(Wanner, 2004; S. 79)

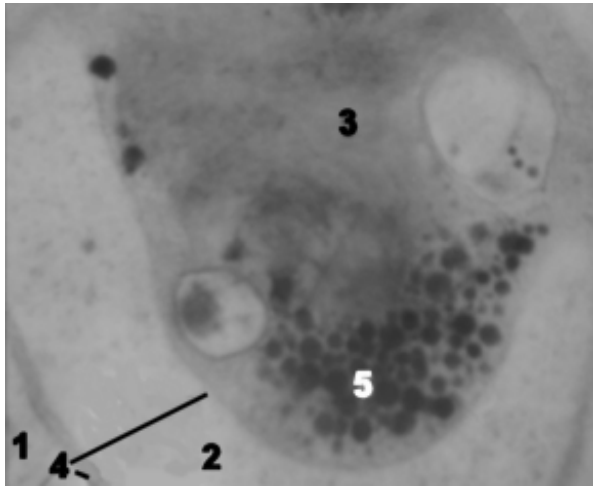


Abb. 62: Plastoglobuli (Lipidglobuli) von Karottenzellen (5), außerdem: Cytoplasma (1), Cytoplasmatasche (2), Plastidenstroma (3), Plastidenhülle (4). (Bowes, 2001; S. 47).

In Karotten sind beide Carotinformen nebeneinander (kristallöser Typ in Abb. 61 und globulärer Typ in Abb. 62) gefunden worden; ebenso wurden Umwandlungen von der globulären in die kristallöse Form beobachtet.

Wie erwähnt, vermuteten Kidmose et al. (2004), dass es durch einen Erhitzungsschritt zu einer leichteren Extrahierbarkeit des Carotins kam. Erklärbar wäre dies durch Beobachtungen von Purcell und Walter (1969), die eine Aufspaltung der Proteinkomplexe und den Übergang „kristallgebundenen“ Carotins in leichter lösliche Lipidglobuli während des Kochens von Karotten feststellten (was auf mikroskopischer Ebene von Reeve, 1943a und b nachgewiesen wurde).

Die Beobachtung, dass die Gesamtcarotingehalte während der Lagerung bei 4 °C oder 20 °C anstiegen, wird folgendermaßen erklärt: zum einen könnten durch enzymatische Aktivitäten (die nur bei der blanchierten TK-Ware unterbunden wurden) Proteine und Lipide in den Carotin-Komplexen abgebaut und Carotine verstärkt während der Lagerung freigesetzt worden sein. Zum anderen könnte während der Lagerung „kristallgebundenes“ Carotin in leicht lösliches Lipidglobuli-Carotin (Abb. 62), welches nach Reeve (1943a) besser vor einer Oxidation geschützt ist, überführt worden sein.

Einige Autoren, die auch die Beobachtung einer Zunahme des Gesamtcarotingehalts machten, gingen dagegen von einer Bildung von Carotinen in geernteten Karotten aus (Booth, 1951; Bustos Rubio et al., 1992; Rodriguez-Amaya, 1997). Eine Carotin-Biosynthese nach der Ernte ist in vielen klimakterischen Früchten wie zum Beispiel der Tomate oder der Mango (Aina et al., 1990) und auch in Knollengemüsearten wie Süßkartoffeln (Ezell et al., 1952) nachgewiesen worden. Lee (1986) vermutete, dass die Carotin-Biosynthese in Karotten derer von Tomaten ähnelt, da das Herbizid 2-(4-Chlorophenylthio)-triethylamin in beiden Gemüsearten die gleiche Inhibitionswirkung für die Carotinbiosynthese hatte. Dabei wurden die Stoffwechselwege aber nicht erforscht und eine direkte Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Fruchttypen (verschiedene Entwicklung der Chromoplasten, in Karotten aus farblosen Leukoplasten und in Tomaten aus Chloroplasten) muss mit Vorsicht bedacht werden.

Neben den absoluten Gesamtcarotingehalten ist dessen Bioverfügbarkeit nach unterschiedlicher Lagerung und Verarbeitung (Kochen, Blanchieren) von maßgeblicher Bedeutung für den

ernährungsphysiologischen Wert des Gemüses: Rock et al. (1998) fanden zum Beispiel 3-fach höhere Carotin-Bioverfügbarkeiten von gekochten im Vergleich zu rohen Karotten. Bei Edwards et al. (2002) fanden sich 2-fach höhere Serum-Konzentrationen an Gesamt- $\beta$ -Carotin in der Triacylglycerid-Lipoprotein-Fraktion von Chylomikronen nach Verzehr von hochoverhitztem Karottenpüree im Vergleich zu den Serum-Konzentrationen an Gesamt- $\beta$ -Carotin in der Triacylglycerid-Lipoprotein-Fraktion nach dem Verzehr von frisch gekochten, zerstampften Karotten (nach Sies und Stahl, 1998 werden dabei *cis*-Isomere weniger stark resorbiert als die *all-trans*-Formen).

Zur Methodendiskussion wird auf die statistischen Kenndaten der Verfahren (Anhang 9.5.) verwiesen. Der Verzicht auf eine Verseifung bei der Extraktion der Carotine aus Karotten wurde in der Literatur favorisiert: Zum Beispiel bemerkten Lesellier und Tchalpa (1993), dass Verluste an dem internen Standard  $\beta$ -Apo-8'-carotenal durch eine Aldolkondensation mit methanolischer Kaliumhydroxid-lösung entstanden waren. Zur Extraktion sei noch angemerkt, dass Mikrowellenaufschlüsse und enzymatische Extraktionen oder eine Extraktion mit überkritischem CO<sub>2</sub> (wie bei Favati et al., 1988 in Alfalfa) denkbare Alternativen darstellen, die zur Aufklärung der Fähigkeit zur Extraktion von Carotin aus der Karottenmatrix beitragen können.

Um eine verbesserte HPLC-Quantifizierung durchzuführen und Aufarbeitungsverluste genauer beziffern zu können, müsste ein möglichst ähnlicher, neuer interner Standard benutzt werden. Besonders hilfreich wäre dabei die zum Beispiel in der Folsäure-Analytik übliche Verwendung eines isopenmarkierten Standards, wofür als Bestimmungsmethode die HPLC-APCI-MS in Betracht käme. Für eine genauere Quantifizierung der *cis*-Isomere wäre außerdem eine präparative Isolierung (die hier in Vorversuchen zu keinen verwertbaren Mengen an reinen *cis*-Isomeren geführt hat) besser geeignet gewesen, als eine Quantifizierung über *all-trans*- $\beta$ -Carotin-Standardreihen.

Zur Aufklärung der molekularbiologischen Vorgänge während der Lagerung bei 4 °C und 20 °C müssten während der Lagerung mikroskopische Versuche durchgeführt und eine Verteilung des Carotins auf verschiedene Kompartimente und auf Lipidglobuli und Kristalle ermittelt werden, wie Braumann et al. (1982) dies für Spinat getan haben. Dort konnte mittels SDS-PAGE und RP-HPLC aufgeklärt werden, dass in rohem ungelagertem Spinat 31 % des gesamten in Spinat gefundenen  $\beta$ -Carotins (ohne Unterscheidung in *cis*- und *all-trans*-Formen) an Chlorophyll-Komplexe in Chloroplasten-Thylakoiden gebunden war, während 33 % als freies  $\beta$ -Carotin vorkam.

### 6.3. Flavonole

Dieser Studie vergleichbare Veränderungen des Flavonolgehalts bzw. der verschiedenen Flavonolglykoside zueinander in grünen Bohnen ließen sich in der Literatur nicht finden. Gehalte lagen sortenabhängig im Bereich von 5 bis 19,4  $\mu\text{g/g}$  FG (Quercetin) und von 0,8 bis 2,1  $\mu\text{g/g}$  FG (Kämpferol) bei Price et al. (1998) bzw. von 9,5 bis 90,8  $\mu\text{g/g}$  FG (Quercetin) und von 2,7 bis 7,1  $\mu\text{g/g}$  FG (Kämpferol) bei Hempel und Böhm (1996). In der vorliegenden Studie wurden (mit den



erhaltenen TM umgerechnet auf 1 g FG) beim Status 1T (roh) 33,3 µg/g FG (Quercetin) und 13,25 µg/g FG (Kämpferol) in der 1. Saison (Sorte Paulista) und 64,9 µg/g FG (Quercetin) bzw. 1,84 µg/g FG (Kämpferol) in der 2. Saison (Sorte Cadillac) gefunden. Hertog et al. (1992b) fanden abhängig vom Erntezeitpunkt 32-45 µg/g FG (Quercetin) und 2-14 µg/g FG (Kämpferol). Die hier bestimmten Flavonolgehalte lagen somit im Mittel der von diesen und anderen Autoren gefundenen Gehalte.

Außerdem fanden sich Studien zur Stabilität der Flavonole während des Kochens und Blanchierens: So berichteten Andlauer et al. (2002) von etwa 30 % Kochverlusten an Rutin (bei Verwendung von 300 ml Wasser auf 300 g Bohnen), allerdings mit hohen Standardabweichungen, sodass nicht von signifikanten Unterschieden ausgegangen werden konnte. Bei Price et al. (1998) ergaben sich Verluste an einzelnen Flavonolglykosiden von 8,8 bis 24,2 % durch einen Garschritt (ohne Angabe der Wassermenge oder Dauer) und 21,5 bzw. 14,8 % Kochverluste des Gesamt-Quercetin- bzw. -Kämpferolgehalts. Bei der hier vorliegenden Studie wurden 39,9 % Quercetin- und 9,5 % Kämpferol-Kochverluste in der 2. Saison beim Status 1T bestimmt, während der durchschnittliche Kochverlust aller Lagerstadien 23,8 % (Quercetin) und 3,9 % (Kämpferol) betrug. Die hier gefundenen Kochverluste an Flavonolen bewegten sich also im Schwankungsbereich, der auch von anderen Autoren angegeben wurde. Die höheren Quercetin- im Vergleich zu Kämpferol-Kochverluste bestätigten sich bei Price et al. (1998), die diese Beobachtung auch in anderen Gemüsearten (Brokkoli und Zwiebeln) machten (Price et al., 1997; Price et al., 1998). Außerdem wurde bei Price et al. (1998) berichtet, dass die Stabilitäten von Glukuroniden generell höher seien, was sich nur für das Kämpferol-, nicht für das Quercetin-Isomer bestätigte. In der vorliegenden Studie wurden keine signifikanten Unterschiede der Stabilitäten der einzelnen Quercetin- bzw. Kämpferol-Isomere festgestellt.

Die zusätzlich analysierten Dosen- und Glasbohnen aus dem Handel wiesen gegenüber allen Lagerstadien der FR- und TK-Lagerung eine gänzlich andere Verteilung der Flavonolglykoside auf. Ein Grund könnte die Verschiedenheit der Sorte sein, die einen großen Einfluss auf das Flavonolglykosid-Muster von Bohnen hat (Price et al., 1998). Allerdings wäre es auch möglich (besonders in Hinblick darauf, dass sich Glas- und Dosenware selbst -obwohl wahrscheinlich nicht die gleiche Sorte- sehr ähnlich sind), dass ein stärkerer Erhitzungsschritt (Sterilisation) zu einer Umlagerung oder zu einem Abbau der Glukuronide in Bohnen geführt hat.

Während der Lagerung wurden in der vorliegenden Studie geringe Unterschiede der einzelnen Stadien in grünen Bohnen festgestellt. Eine ähnlich umfassende Studie in Bezug auf die Lagerung fand sich nur für die Flavonolgehalte in Himbeeren (Mullen et al., 2002), bei der es in 4 verschiedenen Lagerarten (frisch 3 h nach der Ernte (1), frisch eingefroren bei -30 °C (2), 3 Tage bei 4 °C-Lagerung (3) und 1 Tag bei 18 °C nach 3 Tagen bei 4 °C-Lagerung (4)) keine Anzeichen auf Veränderungen des Quercetin- und Kämpferolgehalts während der Lagerung gab.

Herrmann (1976) erwähnte, dass Flavonolglykoside gegenüber einem enzymatisch katalysierten Abbau (zum Beispiel durch O-Phenoloxidase) stabil sind und erst durch Radikalüberträger wie

Chlorogensäure oder Caffeoyl-chinasäure und Catechinen polymerisiert wurden und damit niedrigere Gehalte nach einer Lagerung aufwiesen. Ein anderer Abbaumechanismus der Flavonole erfolgte über eine Komplexbildung mit nachfolgender Oxidation mit Eisen(III).

Die Identifizierung der 6 Haupt-Isomere der Flavonolglykoside (Quercetin- und Kämpferol-3-*O*-xylosylrutinosid, Quercetin- und Kämpferol-3-*O*-rutinosid, sowie in der sauren Fraktion Quercetin- und Kämpferol-3-*O*-glukuronid) wurde durch einige Literaturstudien (zum Beispiel Price et al., 1997) bestätigt, zur Identifizierung von Minorkomponenten hätten weitere Identifizierungen zum Beispiel mit Tandem-MS durchgeführt werden müssen. Zum Teil wurde in der Literatur bei der Analyse von Samenschalen oder Hülsen über andere Minorkomponenten wie zum Beispiel ein Kämpferolglukosid, ein Kämpferol-xylosylglukosid und einige weitere Isomere berichtet (Dueñas et al., 2004). Nach Escarpa und González (2000) sollten in Bohnen auch Catechin- und Epicatechin- und Procyanidinstrukturen als Aglykone vorkommen. Laut Macz-Pop et al. (2006) fanden sich geringe Mengen an Anthocyanin-Aglykonen. Je nach Bohnensorte weicht das Flavonoid-Spektrum stark von dem hier für grüne Bohnen gefundenem ab (Franke et al., 1994).

Eine grundlegende Analyse der Bestandteile Hülsen, Samenschalen, Samen auf weitere Aglykon-Substanzen wie Formonetin, Coumestrol, Daidzein, Genistein könnte es erlauben, weitere Minorkomponenten auch in den untersuchten Bohnensorten nachzuweisen und im Verlauf der Lagerung zu quantifizieren.

Die Ergebnisse von Harper et al. (1969), Hertog et al. (1992b) und Ewald et al. (1999; mittels einer DC-Methode), die bei Erbsen über das Vorkommen des freien Kämpferolglykons berichteten, konnten durch diese und die meisten anderen Studien aus der Literatur nicht bestätigt werden, zumal die genannten Autoren keine Identifizierung mittels MS durchführten.

In Hinblick auf eine ernährungsphysiologische Wirkung der Flavonole muss neben den absoluten Mengen das Vorhandensein anderer interagierender Stoffe berücksichtigt werden. Besonders der Einfluss von weiteren Polyphenolen (vor allem Phenolcarbonsäuren) wäre ein wichtiger Untersuchungsgegenstand für zukünftige Lagerstudien von Gemüse. Bei Vallejo et al. (2003) wurden große Verluste abhängig von der Zubereitungsart von Brokkoli auf den Gehalt an Sinapin- und Caffeoyl-chinasäure-Derivaten festgestellt.

Durch in-vitro-Studien wurde eine Abhängigkeit der Stabilität der Flavonole von Vitamin C-Gehalten und Gehalten anderer Polyphenole festgestellt (Clementon, 1966 und Herrmann, 1976). Diese so genannte Multi-Komplex-Theorie sollte in Zukunft stärker als bisher in den Fokus der Lageruntersuchungen von Gemüse rücken.

#### **6.4. Antioxidative Kapazität**

Ein Verlust an antioxidativer Kapazität durch den Blanchierschritt wurde in Erbsen bereits von Hunter und Fletcher (2002) festgestellt; dort wurden 30 % Verlust an antioxidativer Kapazität nach dem FRAP-Test (unter vergleichbaren Bedingungen wie bei der vorliegenden Studie) -berechnet als AA-

Äquivalente- bestimmt. In den hier vorgestellten Ergebnissen ergab sich durch den Test nach Folin ein Blanchierverlust von beispielsweise 45 % für den Status 1T roh im Vergleich zum Status 0M roh bei Erbsen der 1. Saison. Mittels des FRAP-Tests ergaben sich nur bei den TK-Erbsen Erhitzungsverluste; beispielsweise 32 % Kochverluste beim Vergleich der Lagerstadien 0M roh und 0M gar. Wie in den Ergebnissen gezeigt, wurden aber grundsätzlich andere antioxidative Eigenschaften der FR-Proben beim FRAP-Test im Vergleich zur Methode nach Folin-Ciocalteu gefunden. Auch Ou et al. (2002) fanden in den hier untersuchten Gemüsearten (Erbsen, Bohne und Karotten) keine Korrelation der nach verschiedenen Arten bestimmten antioxidativen Kapazität. Bei Turkmen et al. (2005) fand sich (nach der DPPH-Methode) wie in der hier vorliegenden Studie bei Bohnen ein Anstieg der antioxidativen Kapazität (nach dem FRAP-Test) durch einen Garschritt. Die zum Teil in der Literatur widersprüchlichen Ergebnisse zeigten die Schwierigkeit, mithilfe einer Methode die Anteile der tatsächlich vorhandenen, antioxidativ wirksamen Substanzen zu erfassen. Es konnte in der vorliegenden Studie nicht ausgeschlossen werden, dass bestimmte Matrixeinflüsse die photometrische bzw. fluorimetrische Reaktion derartig stark beeinflussen, dass auch innerhalb einer Bestimmungsreihe trotz reproduzierbarer und linear auswertbarer Standardreihen stark streuende Werte bestimmt wurden.

Als Methodenalternative zur genaueren Bestimmung der radikalstabilisierenden Wirkung eines Extrakts sollte an dieser Stelle die ESR genannt werden, die bereits erfolgreich von einigen Autoren unter ähnlichen Bedingungen angewandt wurde (Madsen et al., 1996; Russell et al., 2005).

Zur Prüfung, ob durch alternative Blanchierschritte niedrigere Verluste an antioxidativer Kapazität (ermittelt nach der Methode von Folin-Ciocalteu) in Erbsen und Bohnen erhalten werden können, müssten zum Beispiel Untersuchungen mit noch weniger Wasserzugabe durchgeführt werden.

## **7 Korrelation mit den Ergebnissen der sensorischen Untersuchungen**

Die gegarten Gemüseproben (zu 300-500 g) wurden in 2 gleiche Teile geteilt, wobei der eine Teil den hier dargestellten chemisch-analytischen Untersuchungen zugeführt wurde, während der andere Teil an der Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg/Bergedorf auf Veränderungen der sensorischen Eigenschaften während der Lagerung hin untersucht wurde. Um zu entscheiden, ob zwischen den Veränderungen der chemisch-analytischen Parameter und der sensorischen Attribute während der Lagerung eine Korrelation bestand, wurden die Ergebnisse bei den gegarten Lagerstadien, wie unter 7.2. beschrieben, miteinander in Beziehung gesetzt und ausgewertet.

Die Daten zur sensorischen Prüfung, die der hier vorgestellten Korrelation zugrunde liegen, sind bei Maaßen (2006) zu finden.

### **7.1. Prinzip und Methodik der sensorischen Untersuchungen**

Die Vielzahl der sensorischen Untersuchungen und die aufwändige Prüferauswahl und Schulung wurde im Laufe des Forschungsprojektes in regelmäßigen Abständen wiederholt. Dabei wurden die Untersuchungen von einer wissenschaftlichen Mitarbeiterin durchgeführt, die in der Probenvorbereitung und Vorbereitung der Verkostungen von je zwei studentischen Hilfskräften unterstützt wurde.

Die Datenerfassung erfolgte mittels EDV in 12, mit EDV ausgestatteten Prüfkabinen (nach DIN 10962). Darüber hinaus wurden 2 weitere mobile Prüfplätze eingerichtet, welche ebenfalls mit EDV-Lizenzen des Programms ausgestattet waren, um insgesamt 14 Prüfer einsetzen zu können.

Zur Ermittlung der für die Korrelation notwendigen sensorischen Daten wurde die Quantitative Deskriptive Analyse (QDA; konventionelle Profilprüfung nach DIN 10967-1), die die Art und die Intensität von Produkteigenschaften erfasst, verwendet. Die Methode der Profilprüfung wurde angewandt, da FR-Ware (1T), FR-gelagerte Ware, TK-Ware (0M) und gelagerte TK-Ware nicht gleichzeitig zur Verfügung standen, so dass nur mit der Quantitativ Deskriptiven Analyse zu unterschiedlichen Zeitpunkten umfassend vergleichbare Daten über die sensorische Qualität der Ware und deren Veränderung erarbeitet werden konnten.

Es wurden 14 Studierende ausgewählt, die eine Grundschulung (nach DIN 10961) erhielten und für jede Gemüseart eine Begriffsliste mit Parametern erarbeiteten, welche die Frische und mögliche Abweichungen in Farbe, Form, Geruch, Geschmack und Textur charakterisiert. Mit ca. 30 Begriffen wurde das sensorische Profil für jede Gemüseart erarbeitet. Danach erfolgte eine Schulung (nach DIN 10961) auf diese Begriffe, damit jedes Panelmitglied unter dem Begriff und der dazugehörigen Intensität das gleiche verstand. Nach Schulung und Eichung des Panels wurden alle Gemüsearten in drei Wiederholungsbewertungen sensorisch bewertet, um die Daten statistisch abzusichern. Das Panel musste nach etwa der Hälfte des Untersuchungszeitraums zu einem großen Teil ergänzt werden, da nicht alle Studierende über 2 Jahre für eine Mitarbeit zur Verfügung standen.

Die Prüfpersonen hatten die Aufgabe, die Proben anhand der erarbeiteten Attribute zu beurteilen, indem sie die Intensität jedes Merkmals bestimmten. Es wurde eine Linienskala (Verhältnisskala) von 0-10 verwendet, die zur Orientierung in der Mitte einmal unterteilt war (Abb. 63). Das linke Ende der Skale spiegelt die schwächste Intensität des jeweiligen ausgewählten Attributes wieder, das rechte Ende die stärkste.

Die bei der Profilprüfung ermittelten Daten wurden in Spinnennetzgrafiken dargestellt, welche sich bei Maaßen (2006) finden. Durch die Berechnung des arithmetischen Mittelwertes (aus 14 Einzelurteilen in 3 Wiederholungsprüfungen) ergab sich ein Profil, in dem für jedes Attribut der Mittelwert auf den Strahlen einer Spinnennetzgrafik aufgetragen wurde.

Abb. 63: Einzelprotokoll Profilprüfung (Ausschnitt) nach DIN 10967-1

Merkmalseigenschaften	Intensitäten
aromatisch	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <span>schwach</span> <span>stark</span> </div>
saftig	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <span>schwach</span> <span>stark</span> </div>

Die Ermittlung signifikanter Produktunterschiede erfolgte mit Hilfe der Varianzanalyse ANOVA mit einem Signifikanzniveau der Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha = 0,05$  (Liptay-Reuter und Ptach, 1998). Um herauszufinden, welche Proben sich signifikant unterscheiden, wurde mit Hilfe des LSD-(least-significant difference) Tests der geringste signifikante Unterschied zwischen zwei Mittelwerten ermittelt.

## 7.2. Werte der Korrelation chemisch-analytischer und sensorischer Untersuchungen

Die Korrelation der sensorischen Attribute und der chemisch-analytischen Parameter wurde mit der Partial Least Squares Regression (PLSR) durchgeführt. Die PLSR ist ein Verfahren, das zunehmend eingesetzt wird bei der Interpretation umfangreicher Datenbestände und eine Kombination aus modifizierter Hauptkomponentenanalyse (PCA) und multipler Korrelation darstellt. Als Ergebnis liefert die PLSR Faktorladungen (Loadings) für die Variablen und Faktorwerte (Scores) für die Objekte (zum Beispiel Produkte). Zusätzlich werden Prozentwerte geliefert, die beschreiben, zu welchem Anteil die Variation der abhängigen Variablen durch die unabhängigen Variablen beschrieben werden kann (Meier, 2002).

Die PLSR wurde nun verwendet, um Zusammenhänge zwischen den sensorischen und den chemisch-analytischen Daten aufzuzeigen. Für die Berechnung wurden sensorische Daten eines deskriptiven Panels und die chemisch-analytischen Daten der untersuchten Proben verwendet. Da diese Daten aus unterschiedlichen Quellen stammten und unterschiedliche Spannweiten besaßen, war es notwendig,

die Daten auf die gleiche Standardabweichung zu transformieren. Durch diese Standardisierung wurde jedem Attribut mathematisch der gleiche Einfluss auf die Modellbildung ermöglicht (Meier, 2002).

Die Korrelation wurde mit der Software „The Unscrambler®“ (Firma Camo 2004) berechnet. Da die Größenordnungen der Variablen (sensorische Attribute, Analysedaten) durch die verschiedenen Bestimmungsverfahren unterschiedlich waren, wurden die Daten mithilfe des „Uncertainty Tests“ der Software „The Unscrambler®“ (Firma Camo 2004) standardisiert. Dadurch konnten die Variablen ausgewählt werden, die einen signifikanten Einfluss auf das Modell hatten.

Für die Durchführung der PLSR wurden nur sensorische und chemisch-analytische Daten herangezogen, die sich im Laufe der Lagerung signifikant verändert hatten. Als sensorische Daten für die PLSR wurden die Mittelwerte der Profilprüfungen verwendet. Ergaben sich durch die PLSR nach Anwendung des „Uncertainty Tests“ keine signifikanten Regressionen, wurden die Ergebnisse verworfen, das heißt im Folgenden werden nur signifikante Regressionen dargestellt.

Zur Interpretation der PLSR-Abbildungen ist anzumerken, dass chemische Parameter, sensorische Attribute und die Lagerstadien mit anderen chemischen Parametern, sensorischen Attributen und den Lagerstadien korrelieren, wenn diese nahe beieinander liegen. Die Darstellungen (im Folgenden „Plots“ genannt) sind in 4 Quadranten eingeteilt (1. Quadrant: rechts oben, 2. Quadrant: rechts unten, 3. Quadrant: links oben, 4. Quadrant: links unten).

Um Lagerstadien (Produkte) -dargestellt in so genannten „Score-Plots“- mit chemisch-analytischen Parametern und sensorischen Attributen -dargestellt in so genannten „Loading-Plots“- zu vergleichen, muss die jeweilige 2-dimensionale Position in den anderen „Plot“ projiziert werden. Dabei ist allerdings die aus Gründen der Darstellbarkeit unterschiedliche Skalierung der verschiedenen „Plots“ zu berücksichtigen.

Zur Veranschaulichung der Unterschiede TK-FR sind die Lagerstadien in einer ersten Abbildung nur unterschiedlich eingefärbt ohne genauere Angabe des Lagerstatus (blau TK und rot FR) dargestellt („Score Plot 1“). In der zweiten Abbildung ist jeweils die genaue Lagerdauer und -temperatur der Lagerstadien angegeben („Score-Plot 2“). In der dritten Abbildung („Loading-Plot“) finden sich die signifikant korrelierenden Eigenschaften, wobei rot eingefärbt der chemische Parameter und blau dargestellt die sensorischen Parameter (Attribute) erscheinen.

In den „Loading-Plots“ sind links unten die Faktoren (in %) für die berechneten Erklärtheiten abgebildet; diese beziehen sich im Falle für die X-Erklärtheit (X-explanation) auf den Grad, wie gut die X-Variable(n) (hier: sensorische Attribute) mit Hilfe der Y-Variable(n) (hier: chemisch-analytischer Parameter) rechnerisch erklärt wird bzw. werden und im Falle der Y-Erklärtheit (Y-explanation) umgekehrt, wobei zwei Werte (Hauptkomponenten) für die 2-dimensionale Art der Darstellung erhalten werden. Die X-Achse stellte die Skala der 1. Hauptkomponente (PC1) und die Y-Achse die Skala der 2. Hauptkomponente (PC2) dar. Durch Zusammenzählen der beiden Zahlen der Y-Erklärtheit ergibt sich die gesamte Erklärtheit der Varianz eines chemischen Parameters durch die sensorischen Eigenschaften innerhalb der hier vorliegenden Korrelationsberechnungen. In einer

vierten Abbildung sind die für die berechnete Korrelation ermittelten Regressionskoeffizienten graphisch dargestellt. Der Regressionskoeffizient ist das Maß für eine positive oder negative Korrelation zwischen den sensorischen Merkmalen und den chemisch-analytischen Parametern. Zusätzlich zu den Abbildungen wird von dem Programm „The Unscrambler®“ (Firma Camo 2004) ein Wert für die gesamte Korrelation ausgegeben, der im Folgenden als Korrelationskoeffizient bezeichnet wird und ebenso wie die X- und Y-Erklärtheit möglichst hoch liegen sollte, um eine gesamte Korrelation (aller sensorischen Attribute mit dem chemisch-analytischen Parameter) auszudrücken. Hier nicht dargestellte Produkte (Erbsen, 1. Saison) wiesen hierfür einen zu niedrigen Wert auf und es konnte nicht von einer Korrelation ausgegangen werden.

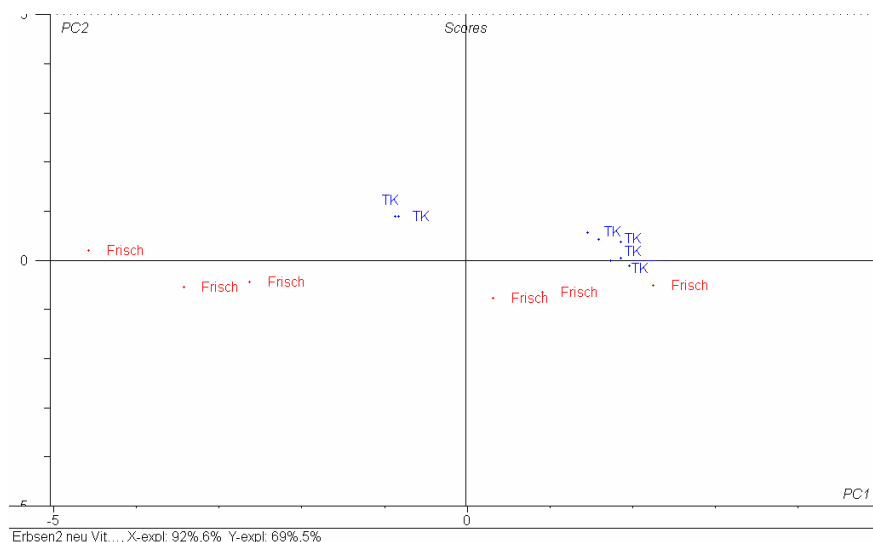
Abkürzungen der sensorischen Attribute: Ge (Geruch), Gm (Geschmack), Au (Aussehen), Te (Textur)

### 7.2.1. Erbsen, 2. Saison (Korrelation mit dem Vitamin C-Gehalt)

Bei den FR-Erbsen wurden 3 Stadien im Vergleich zu 3 anderen FR-Erbsen-Stadien sehr unterschiedlich bewertet. Die TK-Erbsen wurden einheitlicher beschrieben (Abb. 64).

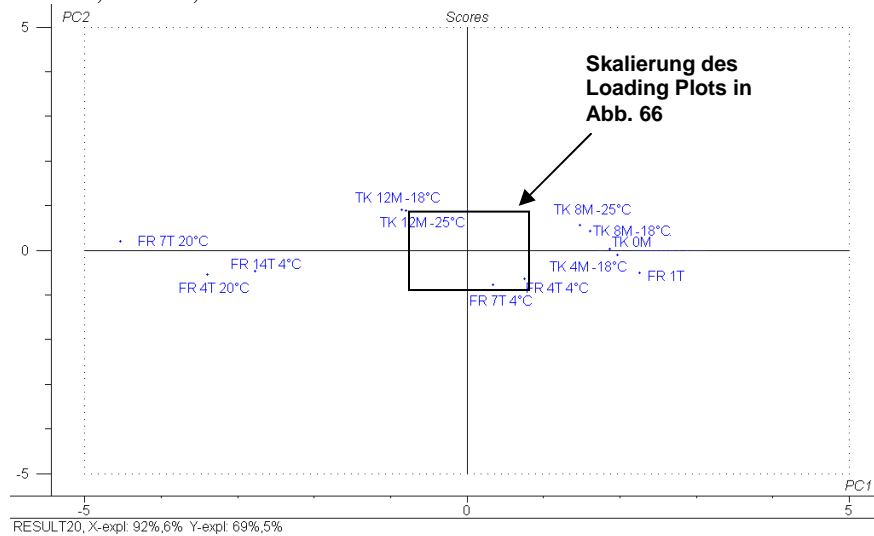
Erbsen, die bei 20 °C gelagert wurden, wiesen hohe negative Werte für die 1. Hauptkomponente (PC1; X-Achse) auf und lagen weit entfernt von den anderen Produkten (Abb. 65): Das heißt, es gab große Unterschiede zwischen Erbsen, die bei 20 °C gelagert wurden und denen, die bei anderen Temperaturen gelagert wurden. Die Erbsen FR 14T 4 °C tendierten in die Richtung der bei 20 °C gelagerten Erbsen.

Abb. 64: Score Plot 1, Erbsen, 2. Saison



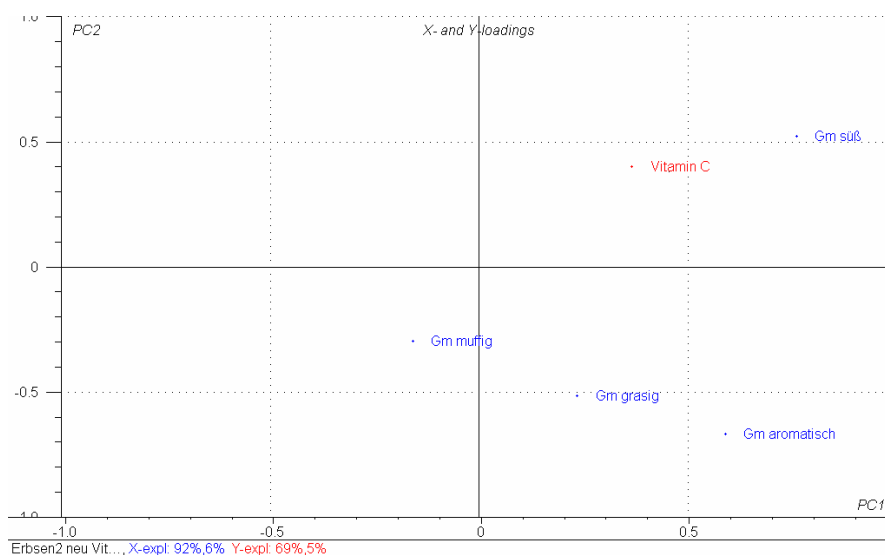
Die TK-Erbsen lagen dicht beieinander, waren untereinander also ähnlich. Einzige Ausnahme bildeten die 12 Monate bei -18 °C und -25 °C gelagerten Erbsen. Sie wurden signifikant anders bewertet als die ungelagerten, 4 und 8 Monate lang gelagerten TK-Erbsen. TK-Produkte mit gleicher Lagerdauer waren jeweils ähnlich, da sie in der Grafik nahe beieinander lagen.

Abb. 65: Score Plot 2, Erbsen, 2. Saison



Der Vitamin C-Gehalt korrelierte positiv mit den Attributen Gm süß (gleicher Quadrant), Gm aromatisch und Gm grasig (gleiche Hälfte des Loading Plots, Abb. 66). Eine negative Korrelation bestand zum Attribut Gm muffig, da dieses Attribut auf einem gegenüber liegenden Quadranten (im Vergleich zum Parameter Vitamin C) angesiedelt war. Die Produkte, mit einem süßen, aromatischen und grasigen Geschmack hatten also einen höheren Vitamin C-Gehalt als Erbsen, deren Ausprägung bezüglich dieser Attribute nur gering war.

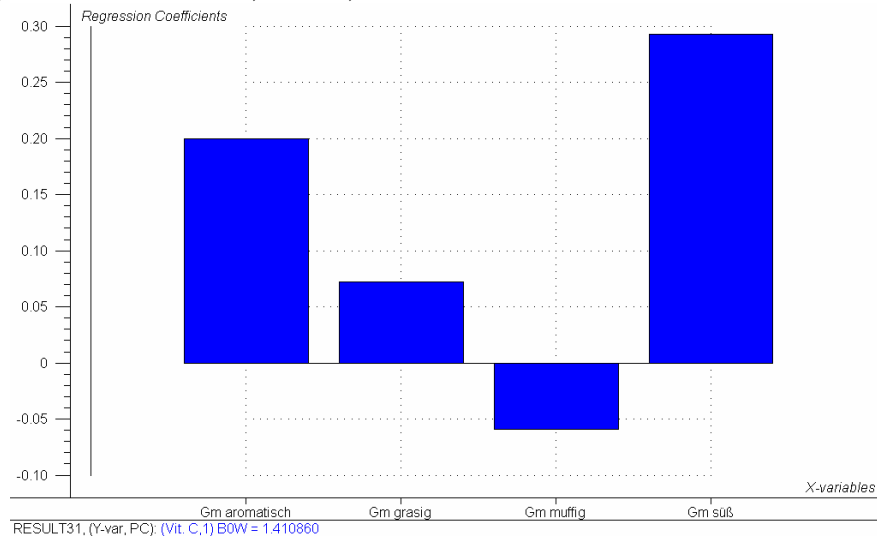
Abb. 66: Loading Plot, Erbsen, 2. Saison



Beim grasigen Geschmack war die Korrelation jedoch nicht so stark ausgeprägt (Abb. 67). Besonders hoch war die Korrelation mit dem Attribut Gm süß. Durch die PLSR wurden 74 % der Varianz des Vitamin C-Gehalts erklärt, der Korrelationskoeffizient betrug 0,83.



Abb. 67: Regressionskoeffizienten, Erbsen, 2. Saison



### 7.2.2. Bohnen, 1. Saison (Korrelation mit dem Vitamin C-Gehalt)

Die FR-Bohnen der 1. Saison wurden im Score Plot 1 (Abb. 68) bis auf einen Status auf der linken Seite (3. und 4. Quadrant) angesiedelt, die TK-Bohnen lagen dagegen in den Quadranten 1 und 2 (rechts oben und rechts unten). Bei den FR-Bohnen ergab sich: je länger die Lagerdauer und je höher die Lagertemperatur, desto größer wurden die Unterschiede zu den ungelagerten Bohnen (Abb. 69). Bei den TK-Bohnen trat ab einer 4-monatigen Lagerung ein Unterschied zum ungelagerten Produkt (TK 0M) auf, der im Verlauf der TK-Lagerung größer wurde.

Abb. 68: Score Plot 1, Bohnen, 1. Saison

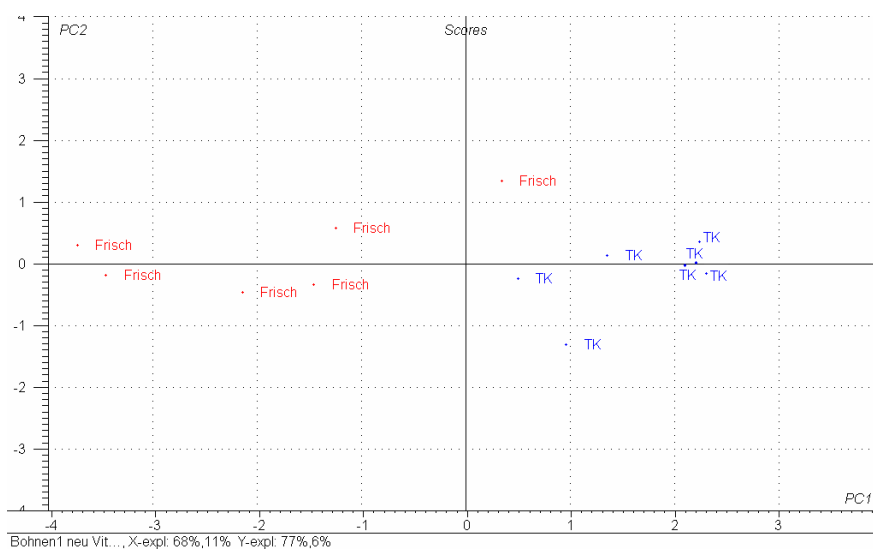
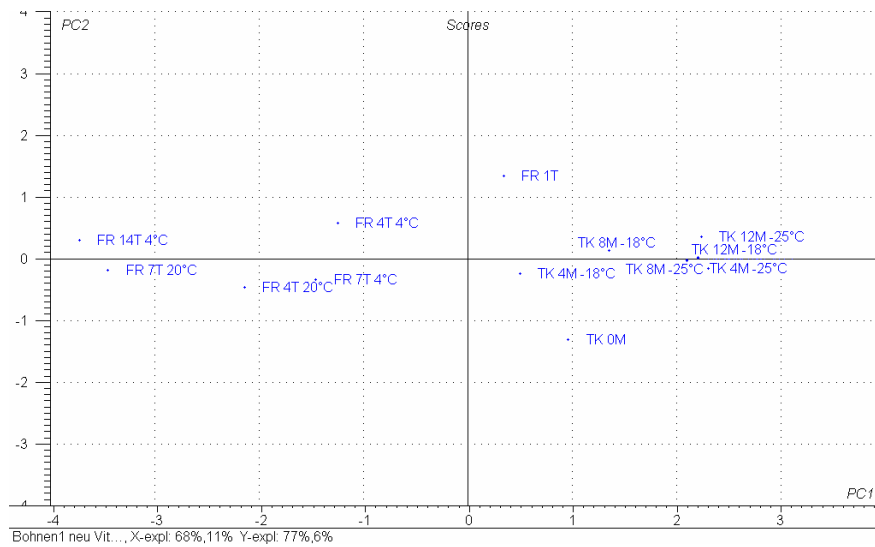
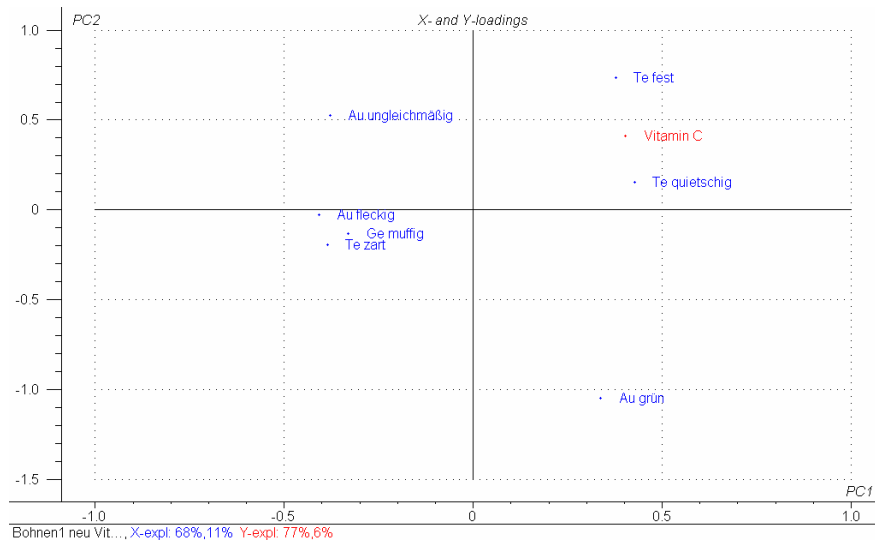


Abb. 69: Score Plot 2, Bohnen, 1. Saison



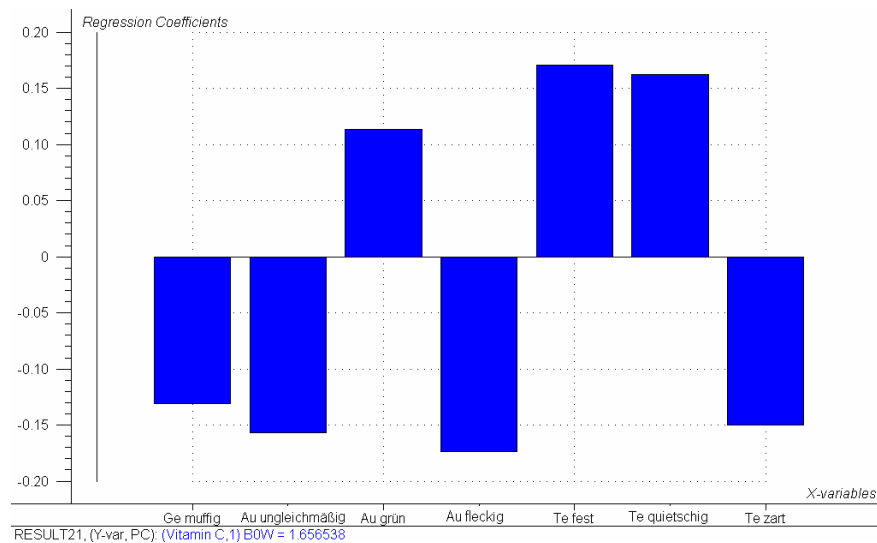
Der Vitamin C-Gehalt wurde im Loading Plot im oberen rechten (1.) Quadranten angesiedelt und korrelierte positiv mit den Attributen Te fest, Te quietschig und in geringerem Maße mit Au grün (Abb. 70 und 71). Eine negative Korrelation bestand zu den Attributen Au ungleichmäßig, Au fleckig, Ge muffig und Te zart. Bohnen mit einem hohen Vitamin C-Gehalt waren fester und quietschiger und besaßen eine intensivere Grünfärbung. Bohnen mit einem niedrigen Vitamin C-Gehalt wurden als fleckiger und ungleichmäßiger, muffiger im Geruch und zarter beschrieben. Die ungelagerten FR-Bohnen (FR 1T) sowie die gelagerten TK-Bohnen wiesen die höchsten Vitamin C-Gehalte auf.

Abb. 70: Loading Plot, Bohnen, 1. Saison



Die FR-Lagerung bei 4 °C und bei 20 °C bewirkte eine rapide Abnahme des Vitamin C-Gehalts (vergleiche Positionen in Abb. 69 mit Vitamin C in Abb. 70).

Abb. 71: Regressionskoeffizienten, Bohnen, 1. Saison

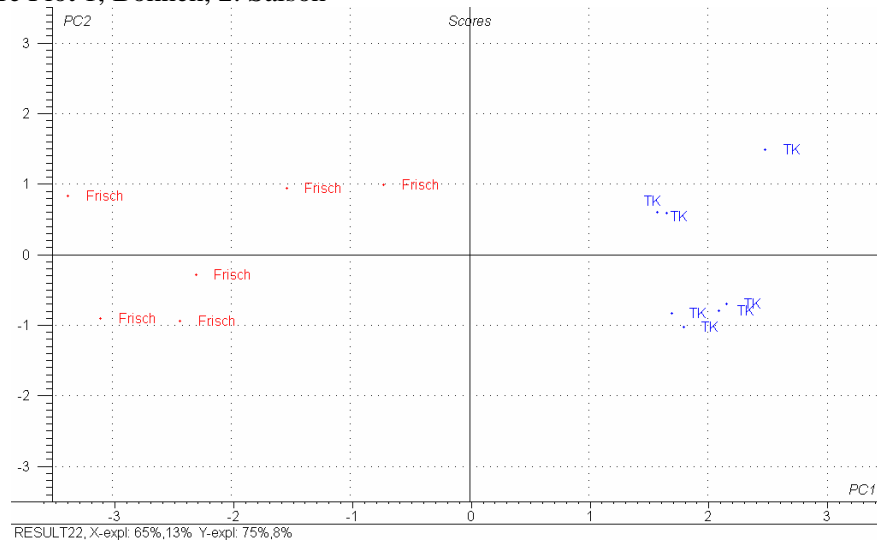


Die höchste Regression gab es bei der Korrelation zwischen dem Vitamin C-Gehalt und dem Attribut Te fest (Abb. 70). Durch die PLSR wurden 83 % der Y-Variable, also des Vitamin C-Gehalts erklärt, der Korrelationskoeffizient betrug 0,88.

### 7.2.3. Bohnen, 2. Saison (Korrelation mit dem Vitamin C-Gehalt)

Die Lage der FR- und der TK-Bohnen ohne genaue Zuordnung der Lagerdauer und Lagertemperatur zeigt, dass alle FR-Bohnen der 2. Saison unterschiedlich im Vergleich zu den TK-Bohnen der 2. Saison bewertet wurden (Abb. 72).

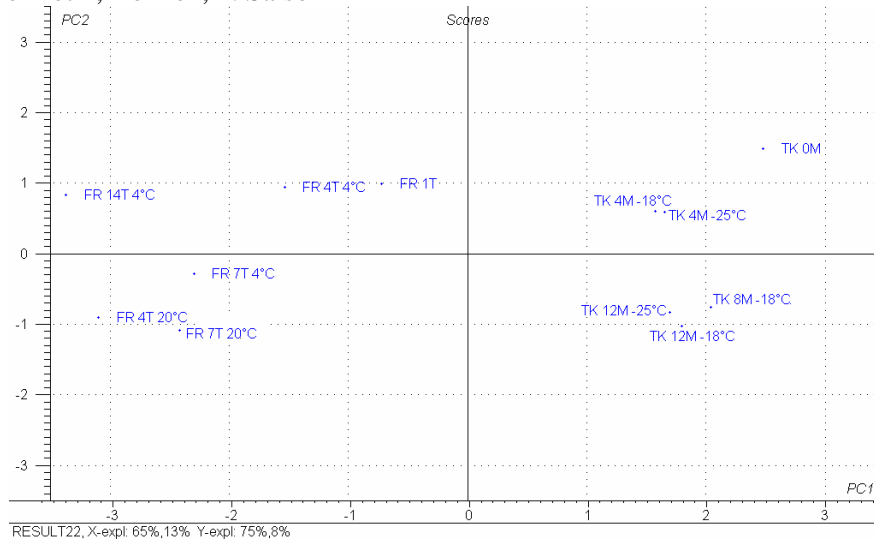
Abb. 72: Score Plot 1, Bohnen, 2. Saison



Bei den FR-Bohnen galt: je länger die Lagerdauer und je höher die Lagertemperatur, desto größer wurden die Unterschiede zu den ungelagerten Bohnen (1T). Bei den TK-Bohnen nahmen die Unterschiede zum ungelagerten Produkt 0M nach 8-monatiger Lagerung zu. Die Bohnen TK 0M lagen

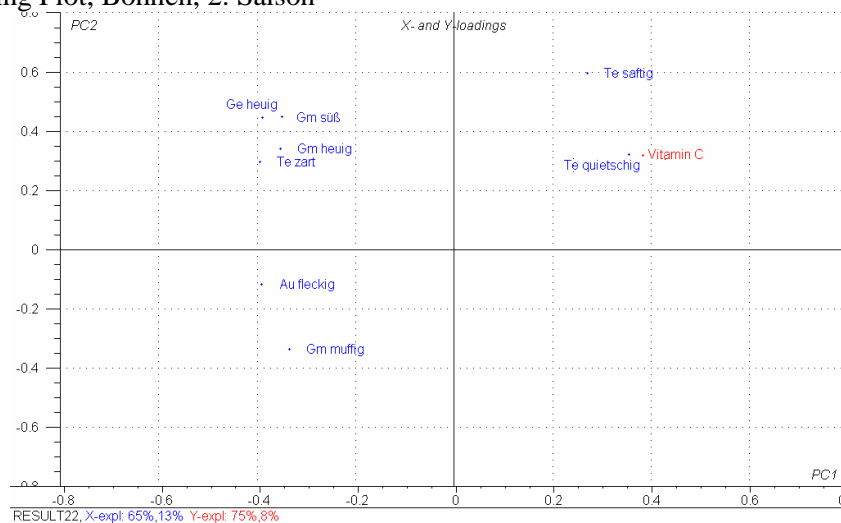
im ersten Quadranten und somit weit entfernt von den Bohnen FR 1T. Daher gab es signifikante Unterschiede bezüglich dieser beiden Produkte.

Abb. 73: Score Plot 2, Bohnen, 2. Saison



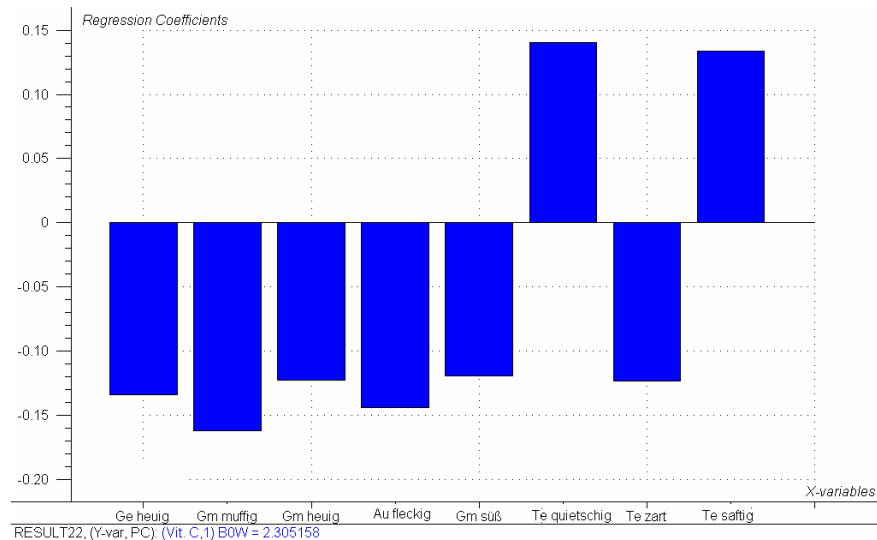
Vitamin C wurde im 1. Quadranten (rechts oben) des Loading Plots (Abb. 74) angesiedelt, korrelierte also positiv mit den Attributen Te saftig und quietschig. Eine negative Korrelation bestand zu den Attributen Gm und Ge heug, Gm süß, Te zart, Au fleckig und Gm muffig. Bohnen mit einem hohen Gehalt an Vitamin C waren saftig und quietschig, aber weniger süß, heug, zart, fleckig und muffig. Die ungelagerten (TK 0M) und 4 Monate lang gelagerten TK-Bohnen enthielten den höchsten Vitamin C-Gehalt. Bei den FR-Bohnen nahm der Vitamin C-Gehalt mit zunehmender Lagerdauer rapide ab, besonders bei der 20 °C-Lagerung. Im Vergleich mit der 1. Saison stimmten die Ergebnisse weitgehend überein. Die stärkste positive Korrelation war zwischen dem Parameter Vitamin C-Gehalt und dem Attribut Te quietschig, die stärkste negative Korrelation zwischen dem Parameter Vitamin C-Gehalt und dem Attribut Gm muffig festzustellen (Abb. 75).

Abb. 74: Loading Plot, Bohnen, 2. Saison



Durch die PLSR wurden 83 % der Y-Variable, also des Vitamin C-Gehalts durch die sensorischen Attribute erklärt, der Regressionskoeffizient betrug 0,87.

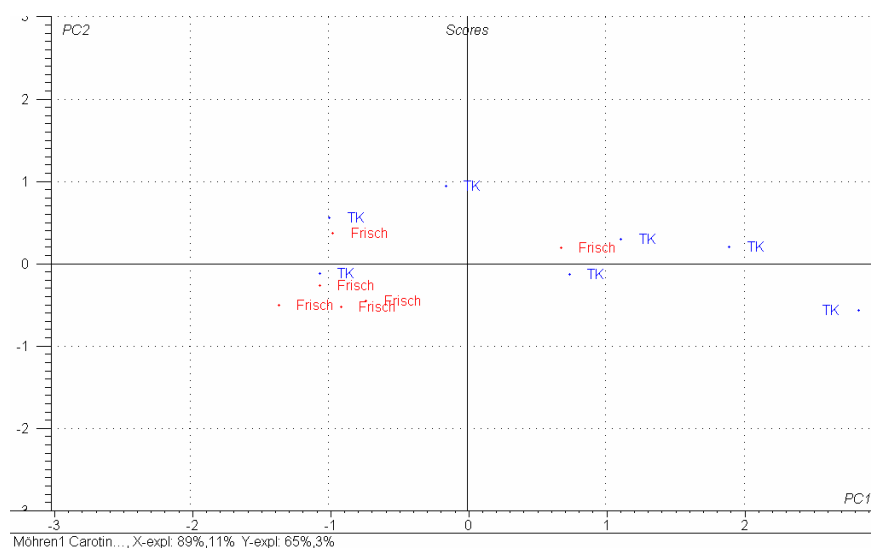
Abb. 75: Regressionskoeffizienten, Bohnen, 2. Saison



#### 7.2.4. Karotten, 1. Saison (Korrelation mit dem Gesamtcarotiningehalt)

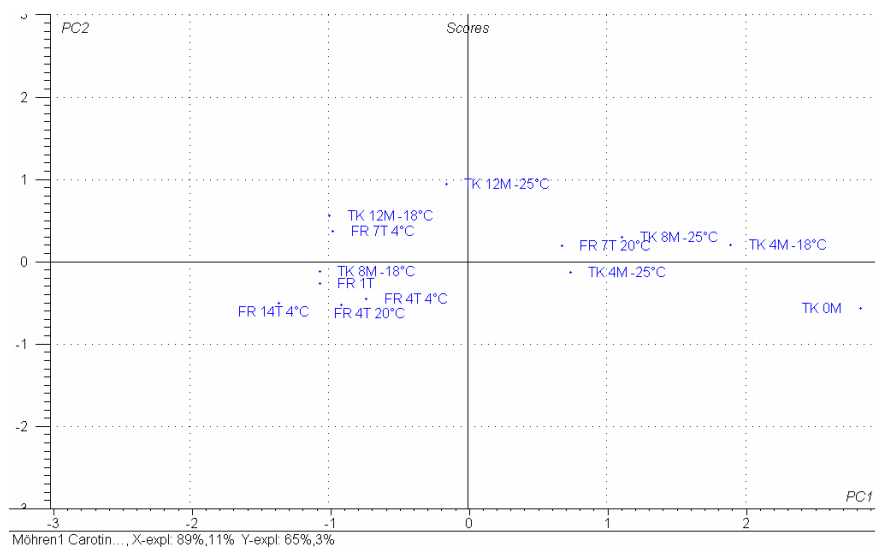
Die FR- und die TK-Karotten der 1. Saison (Abb. 76) wurden weniger unterschiedlich bewertet als die Erbsen und Bohnen (Abb. 64 und 68), da diese im Score Plot 1 optisch nicht klar getrennt waren.

Abb. 76: Score Plot 1, Karotten, 1. Saison



Die FR-Karotten veränderten sich erst nach 7-tägiger Lagerung bei 20 °C. Alle anderen FR-Karotten wurden auf dem Score Plot 2 (Abb. 77) nahe bei einander angeordnet, das heißt sie wurden ähnlich bewertet. Die gelagerten TK-Karotten lagen auf dem Score Plot 2 weit verstreut und es zeigte sich im Laufe der Lagerdauer ein zunehmender Unterschied der TK-Karotten zum Ausgangsstatus TK 0M.

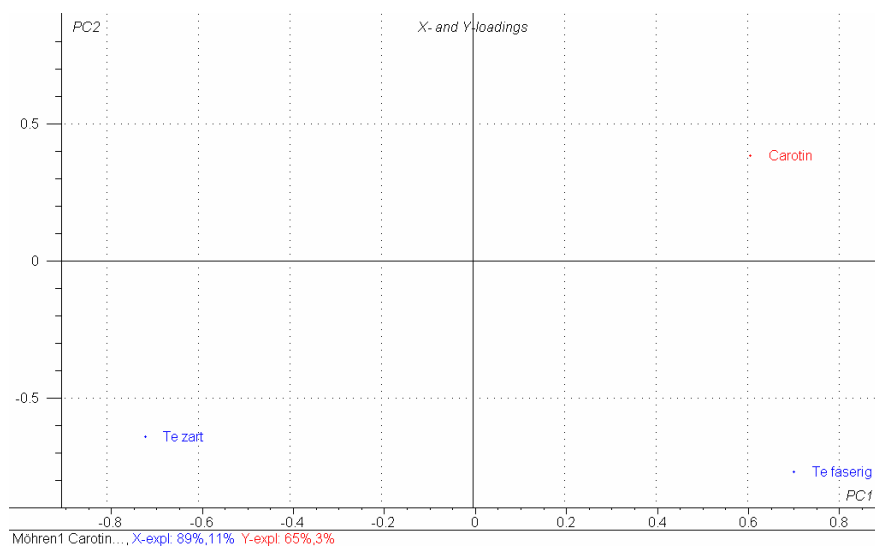
Abb. 77: Score Plot 2, Karotten, 1. Saison



Der Gesamtcarotingehalt wurde im rechten oberen Quadranten des Loading Plots (Abb. 78) angesiedelt. Er korrelierte positiv mit dem Attribut faserig (die Distanz auf Abb. 77 kommt durch die Skalierung zustande) und negativ mit dem Attribut zart (Abb. 78 und 79).

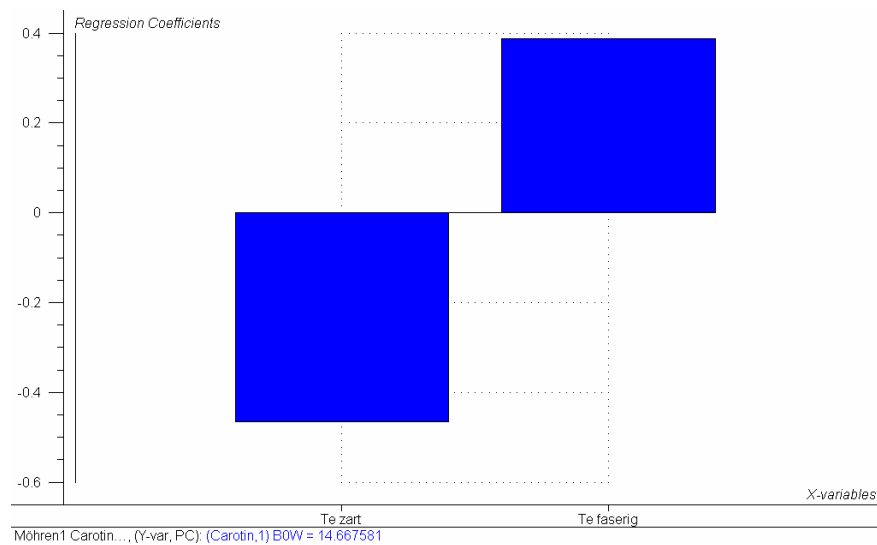
Karotten mit einem hohen Gehalt an Gesamtcarotin waren fester und weniger zart. Die TK-Karotten besaßen den höchsten Gesamtcarotingehalt. Bei den FR-Karotten blieb der Gesamtcarotingehalt während der Lagerung zunächst stabil, nach 7 Tagen Lagerung bei 20 °C stieg er sogar leicht an (zum Vergleich der sensorischen Attribute und des Gesamtcarotingehalts mit den Lagerstadien muss Abb. 78 unter Berücksichtigung der Skalierung in Abb. 77 projiziert werden).

Abb. 78: Loading Plot, Karotten, 1. Saison



Durch die PLSR-Regression wurden 68 % der Y-Variable, also 68 % des Gesamtcarotingehalts durch die Attribute Te zart und faserig erklärt. Der Regressionskoeffizient betrug 0,80 (Abb. 79).

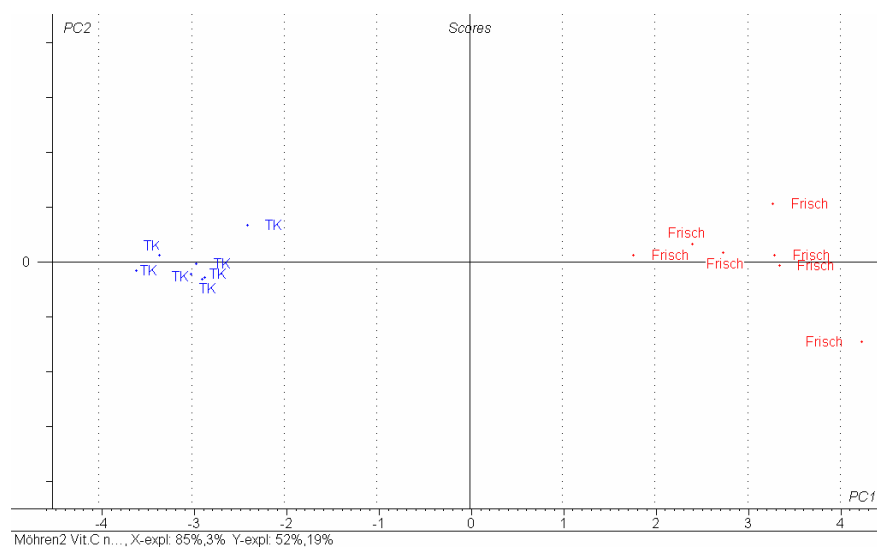
Abb. 79: Regressionskoeffizienten, Karotten, 1. Saison



### 7.2.5. Karotten, 2. Saison (Korrelation mit dem Vitamin C-Gehalt)

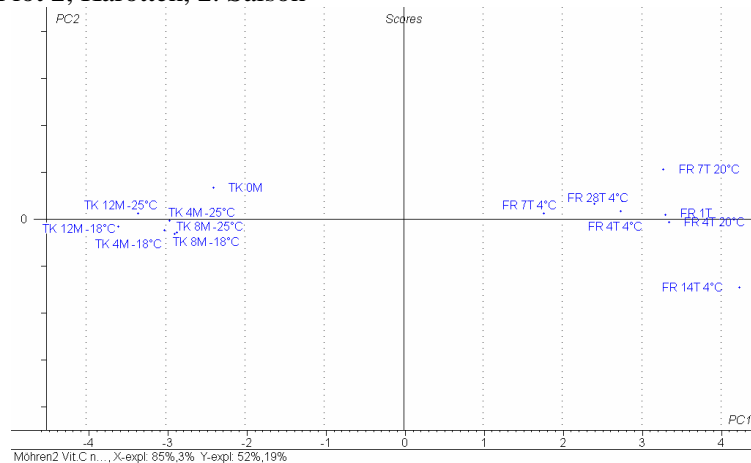
In der 2. Saison wurden TK- und FR-Karotten sehr unterschiedlich bewertet (Abb. 80): Die TK-Karotten wurden auf der linken Seite des Score Plots 1 angeordnet (was negativen Werten für die 1. Hauptkomponente entsprach), die FR-Karotten auf der rechten Seite.

Abb. 80: Score Plot 1, Karotten, 2. Saison



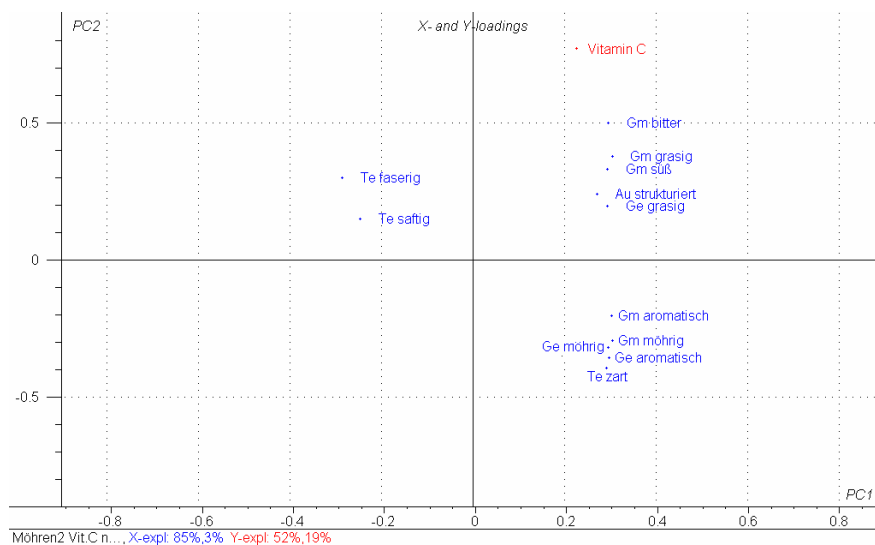
Die gelagerten TK-Karotten waren sich ähnlicher (als die FR-Karotten untereinander), das ungelagerte TK-Produkt wurde leicht abweichend bewertet (Abb. 81). Die FR-Karotten hatten sich während der Lagerung bei 20 °C nach 7 Tagen verändert, wobei keine Reihenfolge nach der Lagerdauer nach einer Berechnung mittels PLSR auftrat.

Abb. 81: Loading Plot 2, Karotten, 2. Saison



Der Vitamin C-Gehalt wurde im 1. Quadranten (rechts oben) angeordnet (Abb. 82), korrelierte demnach positiv mit den Attributen Gm bitter, Gm grasig, Gm süß, Au strukturiert, Ge grasig, Gm aromatisch, Gm möhrig, Ge möhrig, Ge aromatisch und Te zart. Eine negative Korrelation bestand zu den Attributen Te faserig und Te saftig (Abb. 82 und 83). Das hieß, dass Karotten mit einem hohen Vitamin C-Gehalt bitter, süß und grasig im Geschmack waren, einen grasigen Geruch und eine deutlich sichtbare Struktur des Mittelrings besaßen. Sie waren wenig faserig und saftig.

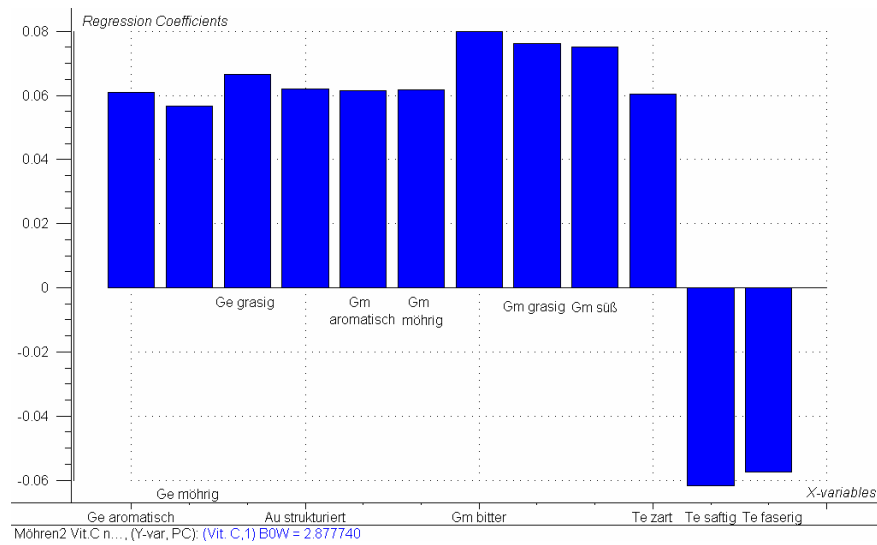
Abb. 82: Loading Plot, Karotten, 2. Saison



Die Vielzahl an korrelierenden Attributen sollte nicht darüber hinweg täuschen, dass nur geringe Regressionskoeffizienten für die einzelnen Attribute resultierten (Abb. 83).



Abb. 83: Regressionskoeffizienten, Karotten, 2. Saison



Mittels der PLSR-Regression wurden 71 % der Y-Variable, also des Vitamin C-Gehalts durch die X-Variablen (sensorische Attribute) erklärt, der Regressionskoeffizient betrug 0,98.

## 8 Ausblick

Neben den hier vorgestellten Untersuchungen wären viele weitere Untersuchungen zur Lagerfähigkeit der hier vorgestellten Gemüsearten lohnenswert. Weitere Parameter die in Gemüse schon vereinzelt untersucht wurden, sind zum Beispiel das Zuckerprofil, Veränderungen der Chlorophyllzusammensetzung (vor allem in Bohnen) oder die bereits in der Einleitung erwähnte Bestimmung von organischen Säuren (welche zumeist zunahmten während der Lagerung); interessant wäre hier besonders auch die Veränderung verschiedener Säuren zueinander (statt des oftmals nur bestimmten Gehalts an titrierbarer Gesamtsäure). Andere wichtige Parameter, die auf Veränderungen während der Lagerung untersucht werden sollten, sind andere wasserlösliche Vitamine wie vor allem Folsäure oder in Erbsen und Bohnen vorhandene Vitamine des B-Komplexes. Dabei wäre eine Quantifizierung verschiedener Vitamin-aktiver Verbindungen wie zum Beispiel beim Pyridoxin (Vitamin B<sub>6</sub>) die phosphorylierten Formen oder das an Proteine gebundene Pyridoxin einzuschließen. Die parallele Untersuchung von Vitamin C und B-Vitaminen in Gemüse während der Lagerung ist eine weitere aussichtsreiche Thematik.

Durch die Bestimmungen ausgewählter enzymatischer Aktivitäten wären weitere Aussagen über den Qualitätsverlust von FR- und TK-Gemüse möglich.

Bei Erbsen und Bohnen würden sich bestimmte Saponine und Lectine als physiologisch wirksame Substanzen zur Untersuchung anbieten, welche ebenfalls Qualitätsveränderungen während der Lagerung anzeigen könnten. Gleiches gilt für Veränderungen der Aminosäurezusammensetzung (vor allem Glutaminsäure, Asparaginsäure,  $\gamma$ -Aminobuttersäure oder andere speziell nur in Gemüse vorkommende exotische Aminosäuren; Eriksson und Sydow, 1964).

Eine Untersuchung über mögliche Korrelationen von Aromastoffen (character impact compounds) mit sensorischen Attributen ist eine Möglichkeit, die Qualitätsverluste von FR- und TK-Gemüse während der Lagerung zu beleuchten. Eine Studie mit (nur gekühlt gelagerten) Karotten führten Czepa und Hofmann (2003), sowie Seljåsen et al. (2004) durch, wobei 6-Methoxymellein, Eugenin, Falcarindiol als Hauptkomponenten identifiziert wurden, die für einen häufig in gelagerten Karotten gefundenen bitteren Fehl-Geschmack verantwortlich gemacht werden konnten. Kjeldsen et al. (2003) konnten bei der 1 °C-Lagerung von Karotten zeigen, dass Mono- und Sesquiterpene (insgesamt 3,5-fach) zunahmten, während bei einer TK-Lagerung keine Veränderungen bzw. Rückgänge an Aromastoffen bestimmt werden konnten. Ähnliche Studien fehlen bislang für Erbsen und Bohnen.

Als weiterer Ausblick zu Lagerstudien von FR- und TK-Gemüse ist hier die Untersuchung weiterer technologischer Verfahren zum Einfluss auf die Gehalte an sekundären Pflanzeninhaltsstoffen und Vitaminen, zu nennen. Insbesondere neue Methoden wie die Hochdruckbehandlung (zum Beispiel bei Sánchez-Moreno et al., 2003, für Säfte) oder alternative Blanchierverfahren vor der Lagerung erscheinen geeignet auf schonendere Art Langzeit-Lagerstabilitäten zu gewährleisten, was mit umfangreichen Lagerstudien bei unterschiedlichen Temperaturen überprüft werden müsste.

Die Verwendung gasdichter oder so genannter „aktiver“ Verpackungen (active packaging) oder bestimmter Überzüge wäre im Rahmen einer Lagerstudie als Einflussfaktoren auf die hier beschriebenen Lagerparameter (Vitamin C, Carotine, Polyphenole) zu überprüfen. So wurden bereits stärkehaltige Überzüge, Überzüge mit anderen Polysacchariden (wie bei Baloch et al., 1986) oder Überzüge mit speziellen Zuckern und Zuckersirupen (wie bei Fennema, 1966) in Bezug auf einen besseren Erhalt der hier untersuchten Lagerparameter während der FR-Lagerung angewendet. Nach Fennema (1966) ist dabei unter Verwendung geschmacksneutraler Dextrine für Lagerüberzüge bei Gemüse von einem verlängerten Aromastoffgehalt während der Lagerung auszugehen. Die durchschnittliche Haltbarkeit in Karotten verlängerte sich dadurch von 30 auf 123 Tage, wobei es sich in dieser Studie aber um getrocknete Ware handelte.

Weitere technologische Verfahren, deren Einfluss auf Qualitätsparameter in Gemüse-Langzeit-Lagerstudien eingehender zu untersuchen wäre, sind die Lagerung unter CA, die Verwendung von Hochfrequenzmagnetfeldern und bestimmter Bestrahlungstechniken.

Viel versprechend wäre auch die Untersuchung des Einflusses von alternativen Anbaumethoden (zum Beispiel von modernen Hydrokulturen) oder gentechnologischen Veränderungen auf die Lagerstabilität von Gemüse.

In der hier vorgestellten Studie wäre eine verbesserte Stabilität bzw. eine genauere Kontrolle der Einflussfaktoren vermutlich durch die Verwendung speziell gekühlter Erntemaschinen, durch noch schnellere Gefrierverfahren und mittels alternativer Zubereitungsmethoden (zum Beispiel Mikrowelle) möglich gewesen; so soll eine Salzzugabe erst nach dem Kochen verbesserten Erhalt der untersuchten Parameter ermöglichen (Adam und Eyer, 1965). Auch könnten in diesem Zusammenhang neueste haushaltswissenschaftliche Entwicklungen an Kochgeräten auf ihre Tauglichkeit überprüft werden.

Ein weitergehender Vergleich von Glas-, Dosen-, (eventuell getrockneter) FR- und TK-Ware mit ein und demselben Ausgangsmaterial wäre ebenfalls wünschenswert, um weitere (hier nur angedeutete) Vergleiche verschiedener Dauerwaren des gleichen Materials zu ermöglichen. Es wäre auch interessant, eine (bisher noch nicht durchgeführte) direkt vergleichende Studie von immer häufiger angebotenen Gemüse-Öllaken mit TK-Ware durchzuführen.

Es sei noch einmal auf den Gesundheitswert von Gemüse (erntefrisch oder TK) eingegangen: Nach wie vor ist eine genaue Bewertung des Einflusses von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen auf die Gesundheit schwierig. Kooperationsprojekte, wie das so genannte Flavo-Network und spezielle Datensammlungen (Kroon und Williamson, 2005) versuchen derzeit weitere Hintergründe zu dieser Problematik zu erfassen. Eine nach Küpper (2003) in den USA und Großbritannien von 2003-2007 durchgeführte multizentrische labormedizinische Studie beschäftigt sich zum Beispiel mit dem Einfluss von Vitamin E und C auf schwangerschaftsinduzierten Bluthochdruck mit Gefäßverengungen, Ödembildungen und Fibrinablagerungen (Präeklampsie).

Außerdem sind eine Reihe von Studien über Prostatakrebsbehandlungen mit Lycopin und Vitamin E geplant (Küpper, 2003), da durch gewisse Mischungen verschiedener Antioxidantien (und anderer

Carotine, verschiedene Präparate aus Soja und grünem Tee, Phytosterole, Vitamin E und Selen) eine Senkung des Testosteronspiegels und eine Verzögerung des Auftretens des so genannten prostataspezifischen Antigens (PSA; Tumormarker) beobachtet worden sein soll. Eine weitere potentielle medizinische Anwendung (mit einer Hochdosierung von Vitamin C von 500 mg zusammen mit 400 I.E. Vitamin E, 15 mg  $\beta$ -Carotin und 2 mg Kupferoxid) soll im Rahmen eines weiteren aktuellen Verbundforschungsprojektes den Einfluss auf den Krankheitsverlauf von AMD (altersabhängige Makula-Degeneration) erforschen.

Es ist schon durch diese wenigen aktuellen Beispiele ersichtlich, dass auch weiterhin die hier untersuchten chemisch-analytischen Parameter einen hohen Stellenwert in der Gesundheits-Forschung einnehmen werden und es nach wie vor notwendig ist, laufend aktuelles Datenmaterial über deren Stabilität in Lebensmitteln zu vorweisen zu können.

## 9 Anhang

### 9.1. Beschreibung der untersuchten Lagerstadien

Tab. 15: Überblick über alle untersuchten Stadien

rohes Gemüse (FR roh)			TK-Gemüse (TK roh)		
Lagertemperatur	Lagerdauer	Abkürzung	Lager-temperatur	Lager-dauer	Abkürzung
-	0 Tage*	FR roh 0T	-	0 Monate	TK roh 0M
ohne Lagerung	1 Tag	FR roh 1T	-18 °C	4 Monate	TK roh 4M -18
4 °C	4 Tage	FR roh 4T 4	-18 °C	8 Monate	TK roh 8M -18
4 °C	7 Tage	FR roh 7T 4	-18 °C	12 Monate	TK roh 12M-18
4 °C	14 Tage	FR roh 14T 4	-18 °C	24 Monate***	TK roh 24M-18
4 °C	28 Tage**	FR roh 28T 4	-25 °C	4 Monate	TK roh 4M-25
20 °C	4 Tage	FR roh 4T 20	-25 °C	8 Monate	TK roh 8M -25
20 °C	7 Tage	FR roh 7T 20	-25 °C	12 Monate	TK roh 12M-25
-	-	Glasware****	-25 °C	24 Monate***	TK roh 24M-25
-	-	Dosenware****			
rohes Gemüse, gegart (FR gar)			TK-Gemüse, gegart (TK gar)		
Lagertemperatur bis zur Zubereitung	Lagerdauer bis zur Zubereitung	Abkürzung	Lagertemperatur bis zur Zubereitung	Lagerdauer bis zur Zubereitung	Abkürzung
ohne Lagerung	1 Tag	FR gar 1T	-	0 Monate	TK roh 0M
4 °C	4 Tage	FR gar 4T 4	-18 °C	4 Monate	TK roh 4M -18
4 °C	7 Tage	FR gar 7T 4	-18 °C	8 Monate	TK roh 8M -18
4 °C	14 Tage	FR gar 28T 4	-18 °C	12 Monate	TK roh 12M-18
4 °C	28 Tage**	FR gar 14T 4	-18 °C	24 Monate***	TK roh 24M-18
20 °C	4 Tage	FR gar 4T 20	-24 °C	4 Monate	TK roh 4M-25
20 °C	7 Tage	FR gar 4T 20	-24 °C	8 Monate	TK roh 8M -25
			-24 °C	12 Monate	TK roh 12M-25
			-25 °C	24 Monate***	TK roh 24M-25

\* nur in rohen Bohnen der 2. Saison wurde ein Status 0. Tag ohne Transportweg vom Feld untersucht

\*\* nur in Karotten der 2. Saison wurde zusätzlich der 28. Tag bei 4 °C mit untersucht

\*\*\* nur in rohen und gegarten Erbsen, Bohnen der 1. Saison und nur in rohen Karotten der 1. Saison wurden die Lagerstadien 24 Monate bei -18 °C und -25 °C untersucht

\*\*\*\* es wurden ungegarte Glas- und Dosenware von Erbsen und Bohnen aus dem Handel untersucht

## 9.2. Zubereitungen

### 9.2.1. Zubereitung der Erbsen

Erntefrische Erbsen aus der Hülse nehmen (bei TK-Ware schon während der Ernte geschehen)

- mit dem Daumen Druck auf die obere Kante der Erbsenschote ausüben
- Schote öffnet sich und Erbsen können herausgelöst werden

Tab. 16: Zubereitung Erbsen

Mengen	Garzeiten	
	FR	TK
500 g Erbsen		
100 g Wasser	7 min auf Stufe 3	8 min auf Stufe 3
2 g Salz	5 min auf Stufe ½	2 min auf Stufe ½

- Erbsen in einen Topf wiegen
- Kochsalz rüberstreuen (breit verteilen)
- Wasser (20-22°C) zugießen und Erbsen bei geschlossenem Deckel kochen

### 9.2.2. Zubereitung der Bohnen

Bohnen putzen

- Enden der Bohnen abschneiden
- Bohnen in 3-4 cm große Stücke schneiden und 500 g abwiegen
- Bohnen abwaschen, besonders sandige Bohnen zweimal waschen

Tab. 17: Zubereitung Bohnen

- die abgewogenen Bohnen in einen Topf geben und durch Zugabe von Wasser auf 800 g auffüllen
- | Mengen       | Garzeiten          |                    |
|--------------|--------------------|--------------------|
|              | FR                 | TK                 |
| 500 g Bohnen | 8 min auf Stufe 3  | 10 min auf Stufe 3 |
| 300 g Wasser | 15 min auf Stufe ½ | 6 min auf Stufe ½  |
| 2 g Salz     |                    |                    |
- das Salz auf die Bohnen streuen(breit verteilen) und Bohnen bei geschlossenem Deckel kochen

### 9.2.3. Zubereitung der Karotten

Karotten putzen

- Karotten mit Sparschäler schälen und Strunk-Ende großzügig abschneiden
- nur besonders sandige Karotten waschen, ansonsten nur schälen
- Karotten mit Küchenmaschine in 7 mm Scheiben schneiden, soweit nicht schon in Scheiben angeliefert (industrielle TK-Ware)

Tab. 18: Zubereitung Karotten

- Karotten abwiegen
- | Mengen         | Garzeiten          |                   |
|----------------|--------------------|-------------------|
|                | FR                 | TK                |
| 500 g Karotten | 6 min auf Stufe 3  | 8 min auf Stufe 3 |
| 300 g Wasser   | 12 min auf Stufe ½ | 6 min auf Stufe ½ |
| 2 g Salz       |                    |                   |
- Karotten in einen Topf geben und mit Salz bestreuen
  - Wasser weitläufig darüber gießen, so dass das Salz gut verteilt wird und Karotten bei geschlossenem Deckel kochen

### 9.3. Gefriertrocknung

Alle Gerätschaften zur Gefriertrocknung, den anderen Aufarbeitungsschritten und zur HPLC-Analytik sind in Anhang 9.9. explizit aufgeführt.

### 9.3.1. Ablauf der Gefriertrocknung

- ca. 100 g tiefgefrorenes (bei -40 °C) Untersuchungsmaterial in einen Küchenmixer geben und in möglichst kurzer Zeit (mindestens 2 min) homogenisieren (Karottenscheiben vorher mit einem Hammer tiefgefroren in einer Plastiktüte grob zerkleinern um die Küchenmixer nicht zu stark zu belasten) bis der Geräuschpegel beim Mixen merklich abnimmt
- 250 ml Rundkolben leer wiegen
- mit einem Plastikspatel oder Löffel das zerkleinerte Material in den 250 ml Rundkolben über einen Plastiktrichter möglichst schnell überführen bis max.  $\frac{3}{4}$  des Rundkolbens gefüllt sind
- gefüllten Rundkolben auswiegen und in einem Ethanol-Kühlbad 8 min rotierend einfrieren lassen oder 45 min vor der Gefriertrocknung in -45 °C Labor-Kühltruhe belassen
- Rundkolben mit einem Filter als Rücklaufschutz an die Gefriertrocknungsanlage hängen (bis zu 16 Rundkolben insgesamt) bei langsamer Öffnung des Vakuum-Ventils, wobei immer eine Gefriertrocknungs-Temperatur von -50 °C bei mindestens 0,001 mbar vorherrschen muss, bevor der nächste Rundkolben angebracht wird
- nach mindestens 96 h (Karotten nach 72 h) werden die Rundkolben abgehängt und (ohne Filter) ausgewogen
- das getrocknete Pflanzmaterial wird in mehreren, möglichst kleinen Portionen in einem Mörser fein zerkleinert bis optisch nur noch ein Mehl ohne größere Partikel entstanden ist

### 9.3.2. Vergleich Gefriertrocknung mit Trockenmasse-Bestimmung (mit Seesand)

Um zu zeigen, dass die Gefriertrocknung vollständig und reproduzierbar war, wurden verschiedene Chargen miteinander verglichen und der ermittelte Trockenmassegehalt mit der Trockenmasse ermittelt nach der üblichen Trocknung mit Seesand (3 h bei 102 °C mit 6 g gemixtem Pflanzenmaterial und 25 g Seesand) verglichen. Für eine Probenreihe von rohen Bohnen wurden folgende Werte erhalten:

Tab. 19: Trockenmassen von Bohnen auf verschiedene Art bestimmt zu diversen Zeitpunkten

Status rohe Bohnen aus der 1. Saison	Gefrier-trocknung 24.11.03	Gefrier-trocknung 15.02.04	Gefrier-trocknung 19.05.04	Gefrier-trocknung 21.10.04	Seesand-trocknung 17.02.04 (Probe 1)	Seesand-trocknung 17.02.04 (Probe 2)
1T	9,31	9,36	9,11	8,93	9,56	9,74
4T 4°C	10,04	11,21	10,0	9,21	10,55	11,32
7T 4 °C	10,89	11,09	9,89	10,28	11,09	10,67
14T 4 °C	9,39	9,32	9,56	9,30	9,78	9,88
4T 20 °C	9,07	9,12	8,86	8,84	9,02	9,07
7T 20 °C	11,07	11,12	10,89	11,16	10,89	11,13

Die in Tab. 19 dargestellten Trockenmassen zeigen keine signifikanten Unterschiede zwischen einer Trocknung mittels der Gefriertrocknungsanlage und der herkömmlichen Seesandtrocknung (die nur als

Referenz zur Trocknung dient, eine weitere Aufarbeitung kam damit nicht in Frage). Bei beiden Methoden waren Schwankungen zu beobachten, die darauf zurückzuführen waren, dass den in Beuteln abgepackten gefrorenen Gemüseteilproben unterschiedliche Mengen an Eis anhafteten (was bei gegarten Proben größere Schwankungen verursachte). Es ist zu erkennen, dass die TM im Verlauf der Gefriertrocknungen abnimmt, da immer mehr Eis bei der Einwaage hinzukommt. Auch an diesen Messungen kann man die Bedeutung des TM-Bezugs der Ergebnisse erkennen: eine vergleichende Lagerstudie muss die ermittelten Messwerte (obgleich sehr aufwändig) immer auf die TM beziehen.

#### 9.4. Vitamin C Analyse

Extraktion zur Analyse der AA

- 100 mg gefriergetrocknetes Material (bzw. 2 ml bei RT temperiertes Kochwasser) mit 3 ml *m*-Phosphorsäure-Perchlorsäure-Mischung (2,5 %ige (w/v) *m*-Phosphorsäure in 3 %iger (v/v) Perchlorsäure – frisch angesetzt) in einem 10 ml-Pyrexglas versetzen
- 10 ml-Pyrexglas zuschrauben und 1 min schütteln und 10 sec vortexen
- 10 ml-Pyrexglas im Metall-Reagenzglasständer (48 Stück) 15 min bei RT unter Abdunkelung mit einem umgedrehten Karton in ein Ultraschallbad geben
- anschließend 15 min bei höchster Stufe auf einer Laborschüttelmaschine unter Abdunkelung mit einem umgedrehten Karton schütteln lassen
- 7 ml *m*-Phosphorsäure-Perchlorsäure-Mischung zugeben, schütteln und 10 sec vortexen, anschließend 5 min bei 3600 · g zentrifugieren
- 100 µl des Überstandes mit 900 µl *m*-Phosphorsäure-Perchlorsäure-Mischung in einem 2 ml Braungläschen (mit Gummidichtung) versetzen und in den Autosampler der HPLC stellen; bei Karotten ohne Verdünnung 1,5 ml des Überstandes in ein 2 ml Braungläschen überführen

Extraktion zur Analyse der Summe an AA und DHAA

- 100 mg gefriergetrocknetes Material (bzw. 2 ml bei RT temperiertes Kochwasser) in einem 10 ml-Pyrexglas mit 2,6 ml Dikaliumhydrogenphosphat-trihydrat Lösung (1 mmol/l in Wasser, nach Auflösen mit 85 %iger *o*-Phosphorsäure auf pH 7 eingestellt) versetzen
- 0,4 ml DTT-Lösung (500 mg DTT in 25 ml Di-Kaliumhydrogenphosphat-trihydrat Lösung lösen – 10 Tage Haltbarkeit) zugeben, 10 ml-Pyrexglas zuschrauben und 1 min schütteln, dann 10 sec vortexen
- 10 ml-Pyrexglas im Metall-Reagenzglasständer (48 Stück) 15 min bei RT unter Abdunkelung mit einem umgedrehten Karton in ein Ultraschallbad geben
- anschließend 15 min bei höchster Stufe auf einer Laborschüttelmaschine unter Abdunkelung mit einem umgedrehten Karton schütteln lassen



- 7 ml *m*-Phosphorsäure-Perchlorsäure-Mischung zugeben, schütteln und 10 sec vortexen, anschließend 5 min bei 3600 · g zentrifugieren
- 100 µl des Überstandes mit 900 µl *m*-Phosphorsäure-Perchlorsäure-Mischung in einem 2 ml-Braungläschen (mit Gummidichtung) versetzen und in den Autosampler der HPLC stellen; bei Karotten ohne Verdünnung 1,5 ml des Überstandes in ein 2 ml-Braungläschen überführen

## AA-Standardreihe

- 50-60 mg AA werden in einen 50 ml-Messkolben eingewogen und mit etwa 3 ml einer weiteren Säuremischung (1,25 g *m*-Phosphorsäure werden mit 3 % Perchlorsäure auf 50 ml aufgefüllt, täglich frisch hergestellt) angelöst
- mit *m*-Phosphorsäure-Perchlorsäure-Mischung auf 50 ml auffüllen (= Stammlösung)
- 100 µl der Stammlösung werden mit 900 µl *m*-Phosphorsäure-Perchlorsäure-Mischung verdünnt (= vorverdünnte Stammlösung I)
- 100 µl der vorverdünnten Stammlösung I werden abermals mit 900 µl *m*-Phosphorsäure-Perchlorsäure-Mischung verdünnt (= vorverdünnte Stammlösung II)
- 20, 40, 60, 80 und 100 µl der vorverdünnten Stammlösung II werden mit 980, 960, 940, 920 bzw. 900 µl *m*-Phosphorsäure-Perchlorsäure-Mischung im 2 ml-Braungläschen verdünnt; zur Herstellung von Standard 1 wird der höchste Standard (100 µl + 900 µl) wieder 1:10 mit *m*-Phosphorsäure-Perchlorsäure-Mischung in einem 2 ml Braungläschen verdünnt

Tab. 20: HPLC-Bedingungen mit dem ECD, Analyse von Vitamin C

Gerät/Parameter	Typ/Einstellung
HPLC-Pumpe	L-6000 (Merck-Hitachi, Darmstadt) mit nach geschalteter Sättigungssäule: CS Multospher® 100, 5 µm, 125 x 4,6 mm
Fließmittel	45 mmol/l Natrium-dihydrogenphosphat Puffer (eingestellt auf pH 2,0 mit <i>o</i> -Phosphorsäure)
Flussrate	1 ml/min
HPLC-Säule	Trennmaterial: LiChrospher® 100, 5 µm, 250 x 4,6 mm (Merck-Hitachi, Darmstadt), Vorsäule: LiChrospher® 100, 5 µm, 20 x 4,6 mm (Merck-Hitachi, Darmstadt)
Säulen- und Detektortemperatur	30 °C
Injektionsvolumen	20 µl
Autosampler	Hitachi ISS-101
ECD	EC 2000 (TSP thermo separation products, Egelsbach), Glassy-carbon Arbeitselektrode: 0,85 V, Zelldistanzscheibe: 120 µm, Einstellbereich (Range): 50 nA Zeitfilter: 0,1 s; Offset: 0 %

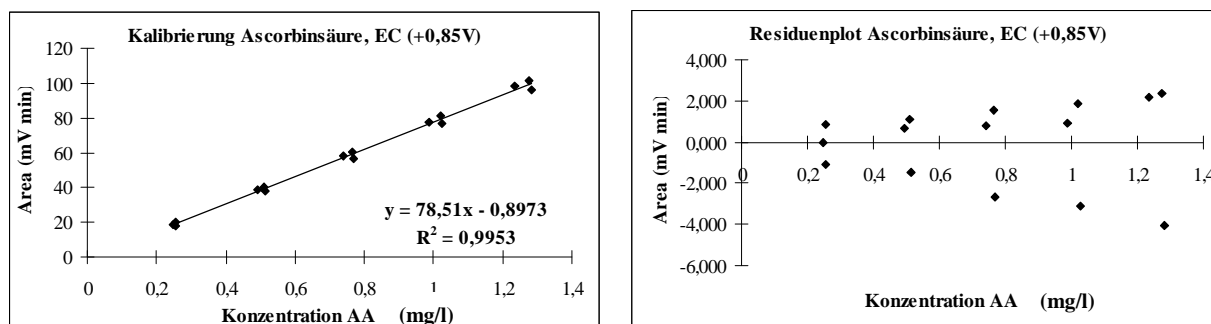
Tab. 21: HPLC-Bedingungen mit dem DAD, Analyse von Vitamin C

Gerät/Parameter	Typ/Einstellung
HPLC-Pumpe	L-7100 (Merck-Hitachi, Darmstadt)
Fließmittel	45 mmol/l Natrium-dihydrogenphosphat Puffer (eingestellt auf pH 2,0 mit <i>o</i> -Phosphorsäure)
Flussrate	1 ml/min
HPLC-Säule	Trennmaterial: LiChrospher® 100, 5 µm, 250 x 4,6 mm (Merck-Hitachi, Darmstadt) Vorsäule: LiChrospher® 100, µm, 20 x 4,6 mm (Merck-Hitachi, Darmstadt)
Säulentemperatur	30 °C
Autosampler	L-7200 (Merck-Hitachi, Darmstadt)
Injektionsvolumen	20 µl
Interface	D-7000 (Merck-Hitachi, Darmstadt)
DAD	L-7455 (Merck-Hitachi, Darmstadt) Messwellenlänge: 243 nm

Verfahrenskenndaten:

Grafisch sind aus Platzgründen nur die Kalibrierreihe und der zugehörige Residuenplot (Darstellung eines evtl. auftretenden Trends bei der Streuung der Einzelwerte um den Mittelwert) bei der Bestimmung mittels ECD dargestellt.

Abb. 84: Kalibrierreihe und Residuenplot der AA-Bestimmung



Es ergaben sich folgende relative Nachweis-(NWG) und Bestimmungsgrenzen (BG) in µg AA/100 g TM - ermittelt aus der Streuung eines Probenblindwertes (Probenextrakt nach Behandlung mit Ascorbatoxidase) und nach obigen unterschiedlichen Verdünnungen:

Tab. 22: NWG und BG von AA in Erbsen, Bohnen und Karotten

Gemüse	EC - NWG*	EC - BG**	DAD - NWG*	DAD - BG**
Erbsen	1,49	4,97	194	647
Bohnen	1,83	6,09	229	763
Karotten***	0,08	0,27	7,2	24

\* hier wurde bei der Aufarbeitung einmal weniger verdünnt

\*\* NWG bestimmt aus dem 3-fachen Grundrauschen

\*\*\* BG bestimmt aus dem 10-fachen Grundrauschen

In den Standardlösungen ergaben sich absolute Nachweisgrenzen beim ECD etwa 0,4 ng AA in 20 µl Injektionsvolumen.

Tab. 23: Statistische Verfahrenskennndaten bei der Grundkalibrierung EC/DAD Vitamin C Analyse

Grundkalibrierung	EC		DAD	
	Peakfläche	Höhe	Peakfläche	Höhe
Achsenabschnitt a	0,897	-4,498	1240,933	135,233
Steigung b	78,51	765,852	19276,244	1263,967
Korrelationskoeffizient r	0,9976	0,9940	0,9987	0,9980
R <sup>2</sup>	0,9953	0,9880	0,9974	0,9960
Reststandardabweichung der Geraden s <sub>y</sub>	2,08 mV·min		2148,52 AU·sec	
Verfahrensstandard-Abweichung s <sub>x</sub>	0,03 mg/l	0,04 mg/l	0,11 mg/l	0,14 mg/l
Verfahrensvariationskoeffizient C <sub>v</sub>	3,49 %	5,59 %	2,67 %	3,22 %
Wiederfindung	96 %		94 %	

### 9.5. Carotin Analyse

Extraktion zur Vermessung der Proben (Standardmethode):

- 70-80 mg gefriergetrocknetes Karottenpulver auf 0,1 mg genau in ein 10 ml-Pyrexglas einwiegen, 3 ml Methanol p.A. zugeben und mit einem Glasstab das Material ausquetschen
- mit Zugabe von weiteren 3 ml Methanol p.A. Glasstab abspülen, 15 min in ein Ultraschallbad stellen und 10 min bei 3600 · g zentrifugieren
- Überstand mit einer Pasteurpipette in einen 20 ml Messkolben überführen
- zum Rückstand 3 ml Aceton p.A./n-Hexan (dest.) (1:1; v/v) zugeben und mit einem Glasstab das Material ausquetschen
- mit Zugabe von weiteren 3 ml Aceton p.A./n-Hexan (dest.) (1:1; v/v) Glasstab abspülen, 15 min in ein Ultraschallbad stellen und 10 min bei 3600 · g zentrifugieren
- Überstand mit obiger Pasteurpipette in den 20 ml-Messkolben überführen
- zum Rückstand 3 ml Aceton p.A. zugeben und mit einem Glasstab das Material ausquetschen
- mit Zugabe von weiteren 3 ml Aceton p.A. Glasstab abspülen, 15 min in ein Ultraschallbad stellen und 10 min bei 3600 · g zentrifugieren
- Überstand mit obiger Pasteurpipette in den 20 ml-Messkolben überführen
- Messkolben mit Methanol p.A. auffüllen und nach Schütteln 0,75 ml in ein 2 ml Braungläschen für die HPLC überführen und Zugabe von weiteren 0,75 ml Fließmittel A (Methanol/*tert*-Butylmethylether/Wasser 81:15:4; v/v/v)

Standardreihe:

- 5 mg  $\beta$ -Carotin auf 0,1 mg genau in einen 100 ml-Messkolben einwiegen
- mit 5 ml Aceton p.A. anlösen und mit 95 ml Aceton p.A./n-Hexan (dest.) (1:1; v/v) auffüllen (= Stammlösung)
- 100, 80, 60, 40, 20  $\mu$ l Stammlösung mit 900, 920, 940, 960, 980  $\mu$ l Fließmittel A (Methanol/*tert*-Butylmethylether/Wasser 81:15:4; v/v/v) im 2 ml-Braungläschen für die HPLC verdünnen

Tab. 24: HPLC-Bedingungen DAD der Carotin-Analyse

Gerät/Parameter	Typ/Einstellung
HPLC-Pumpe	L-7100 (Merck-Hitachi, Darmstadt)
Fließmittel	siehe Tabelle 25
Flussrate	0,5 ml/min
HPLC-Säule	Trennmaterial: C <sub>30</sub> S-5 µm, 3,0 x 250 mm (YMC, Dinslaken) inkl. einer C <sub>30</sub> S-5µm-Vorsäule 3,0 x 10 mm (YMC, Dinslaken)
Säulentemperatur	23 °C
Autosampler	L-7200 (Merck-Hitachi, Darmstadt)
Injektionsvolumen	20 µl
Interface	D-7000 (Merck-Hitachi, Darmstadt)
DAD	L-7455 (Merck-Hitachi, Darmstadt) Messwellenlänge: 440 nm

Tab. 25: Gradientenprogramm zur Carotin-Analyse

Zeit [min]	Eluent A [%] (Methanol/TBME/Wasser, 81:15:4; v/v/v)	Eluent B [%] (Methanol/TBME/Wasser, 90:6:4; v/v/v)
0	100	0
50	44	56
52	25	75
55	100	0

Verfahrenskenndaten:

Tab. 26: Statistische Verfahrenskenndaten bei der Matrixkalibrierung bei der Carotin-Analyse

Grundkalibrierung	Methode nach Marx, 2000	hier entwickelte Standardmethode
Auswertung mit	Peakfläche	Peakfläche
Achsenabschnitt a	12012	13902
Steigung b	78274	107224
Korrelationskoeffizient r	0,9952	0,9998
R <sup>2</sup>	0,9904	0,9996
Reststandardabweichung der Geraden s <sub>y</sub>	8253,5 AU·sec	7429,6 AU·sec
Verfahrensstandard-Abweichung s <sub>x</sub>	0,67	0,07
Verfahrensvariations-Koeffizient C <sub>v</sub>	14,08	1,46
NWG <sup>1</sup>	1,17	0,42
BG <sup>2</sup>	4,63	1,99
Wiederfindung	74 %	94 %

<sup>1</sup> NWG entspricht 3-fachem Grundrauschen

<sup>2</sup> BG entspricht 10-fachem Grundrauschen

## 9.6. Flavonol Analyse

Extraktion zur Analyse der Flavonole nach Hydrolyse:

- Extraktionslösung herstellen: 2 g TBHQ in 625 ml Methanol lösen und mit bidest. Wasser auf 1 l auffüllen (wöchentlich frisch herstellen)
- Hydrolyselösung herstellen: 250 ml Salzsäure (37 %) mit bidest. Wasser auf 500 ml auffüllen
- 200 mg des gefriergetrockneten Gemüsepulvers in ein 10 ml-Pyrexglas einwiegen und mit 8 ml der Extraktionslösung versetzen und das 10 ml-Pyrexglas mit einem gasdichten Deckel verschließen und gut schütteln
- 2 ml Hydrolyselösung hinzugeben und gasdichten Deckel erneut gut verschließen
- 2 h lang auf einem auf 90 °C erhitzten Thermoblock erhitzen und danach durch sofortiges Kühlen in einem Eisbad unterbrechen
- Proben bei 3200 · g zentrifugieren, Überstand in einen 20 ml-Messkolben überführen und den erhaltenen Bodenkörper erneut mit 8 ml der Extraktionslösung und 2 ml der Hydrolyselösung 2 h bei 90 °C extrahieren
- durch sofortiges Kühlen in einem Eisbad Hydrolyse unterbrechen und Proben anschließend bei 3200 · g zentrifugieren
- zweiten Überstand zum ersten im 20 ml-Messkolben geben und auf 20 ml mit Fließmittel 1 (0,1 % TFA in Wasser; v/v) auffüllen
- 700 µl mit 700 µl Methanol (40 %) in einem 2 ml-Braungläschen verdünnen

Tab. 27: HPLC-Bedingungen der Flavonolglykon-Bestimmungen

Gerät/Parameter	Typ/Einstellung
HPLC-Pumpe	L-7100 (Merck-Hitachi, Darmstadt)
Fließmittel	siehe Tabelle 26
Flussrate	0,8 ml/min
HPLC-Säule	Trennmaterial: RP-18 Nova-Pak-Säule® 5 µm, 3,9 x 150 mm (Waters, Eschborn) inkl. einer Vorsäule (gleiches Material) mit 3,9 x 4 mm
Säulentemperatur	30 °C
Autosampler	L-7200 (Merck-Hitachi, Darmstadt)
Injektionsvolumen	20 µl
Interface	D-7000 (Merck-Hitachi, Darmstadt)
DAD	L-7455 (Merck-Hitachi, Darmstadt) Messwellenlänge: 365 nm

Tab. 28: Gradienten-Programm zur Bestimmung der Flavonolaglykone

Zeit [min]	Wasser/TFA (0,1 %;v/v) [%]	Methanol [%]
0	80	20
25	40	60
35	40	60
37	0	100
39	0	100
40	80	20
48	80	20

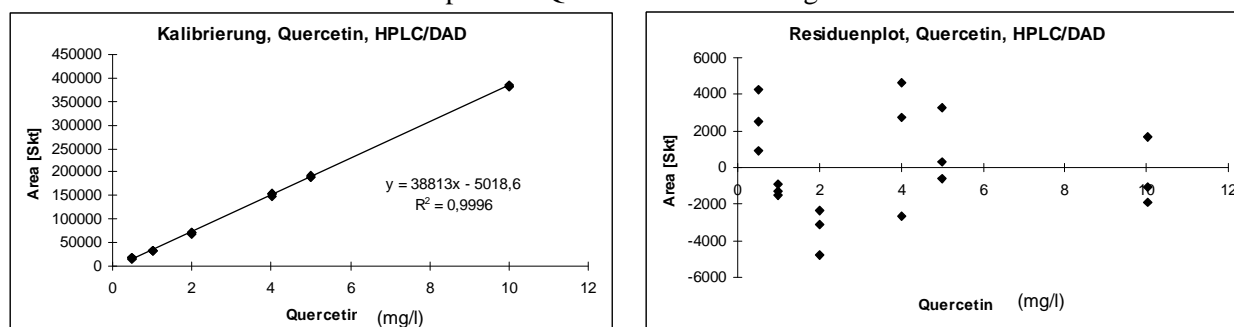
Tab. 29: Statistische Daten aus der Grundkalibrierung Quercetin, DAD

Auswertung nach der	Peakfläche	Höhe
Achsenabschnitt a	-5018,58	-476,05
Steigung b/ Empfindlichkeit E	38813,4	1461,03
Korrelationskoeffizient r	0,9996	0,9992
Reststandardabweichung der Geraden $s_y$	3228,19 Skt	
Verfahrensstandardabweichung $s_x$	0,08 mg/l	0,13
Verfahrensvariationskoeffizient $C_V$	2,02 %	2,56 %
Mittlere Konzentration des Arbeitsbereichs	5,01 mg/l	
Noise (Grundrauschen)		100 AU
NWG <sup>1</sup>		0,1378 mg/l
BG <sup>2</sup>		0,4596 mg/l

<sup>1</sup> NWG entspricht 3-fachem Grundrauschen

<sup>2</sup> BG entspricht 10-fachem Grundrauschen

Abb. 85: Kalibrierreihe und Residuenplot der Quercetin-Bestimmung

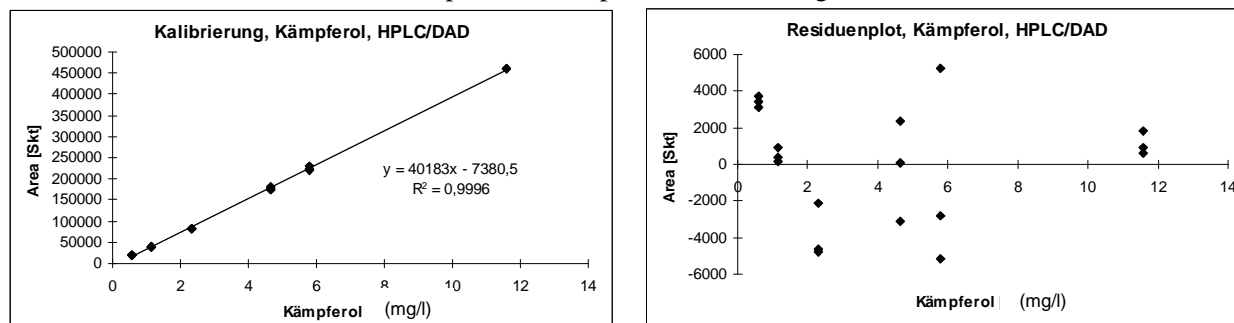


Tab. 30: Statistische Daten aus der Grundkalibrierung Kämpferol, DAD

Auswertung nach der	Peakfläche	Höhe
Achsenabschnitt a	-7380,5354	-480,99
Steigung b/ Empfindlichkeit E	40182,8	1360,21
Korrelationskoeffizient r	0,9998	0,9994
Reststandardabweichung der Geraden $s_y$	3228,19 Skt	
Verfahrensstandardabweichung $s_x$	0,08 mg/l	0,15
Verfahrensvariationskoeffizient CV	1,85 %	2,88 %
Mittlere Konzentration des Arbeitsbereichs	5,80 mg/l	
Noise (Grundrauschen)		110 AU
NWG <sup>1</sup>		0,1718 mg/l
BG <sup>2</sup>		0,4776 mg/l

<sup>1</sup> NWG entspricht 3-fachem Grundrauschen, <sup>2</sup> BG entspricht 10-fachem Grundrauschen

Abb. 85: Kalibrierreihe und Residuenplot der Kämpferol-Bestimmung



## Extraktion zur Analyse der nativen Flavonolglykoside

- 150 mg gefriergetrocknetes Pflanzenmaterial in einem 10 ml-Pyrexglas mit 10 ml Methanol (70 % in Wasser; v/v) versetzen
- 15 min auf einer Horizontalschüttelmaschine schütteln und anschließend 15 min bei 3600 · g zentrifugieren
- Überstand in ein weiteres 10 ml-Pyrexglas überführen und 30 min unter Stickstoff auf ein Restvolumen von etwa 3 ml abgeblasen und auf etwa 10 ml mit bidest. Wasser auffüllen
- 3 ml-Festphasenkartusche Polyamid 6 mit 3 ml Methanol und 6 ml Wasser vorkonditionieren
- 5 ml des Extrakts aufgeben, mit 6 ml Wasser waschen und anschließend 1 min trocken saugen
- mit 5 ml Methanol neutrale Fraktion in ein 10 ml-Pyrexglas eluieren (1 min trocken saugen) und anschließend mit Stickstoff zur Trockne abblasen
- mit 5 ml Methanol/Ammoniak (25%) (99,5:0,5; v/v) saure Fraktion eluieren (1 min trocken saugen) und anschließend mit Stickstoff zur Trockne abblasen
- Rückstände beider Fraktionen mit 1,5 ml Dimethylformamid/Wasser (33:66; v/v) aufnehmen und in einem 2 ml-Barungläschen in die HPLC-Anlage stellen

Tab. 31: HPLC-DAD-MS-Bedingungen bei der Analyse der Flavonolglykoside

Gerät/Parameter	Typ/Einstellung
HPLC-Pumpe	1100 Serie (Agilent, Böblingen)
Fließmittel	siehe Tabelle 32
Flussrate	0,58 ml/min
HPLC-Säule	Prodigy® 100 A, 250 x 3 mm, 5 µm (Phenomenex, Aschaffenburg)
Säulentemperatur	35 °C
Autosampler	1100 Serie (Agilent, Böblingen)
Injektionsvolumen	20 µl
DAD	1100 Serie (Agilent, Böblingen) Messwellenlänge: 360 und 254 nm

Tab. 32: Gradienten-Programm für die Bestimmung der Flavonolglykoside

Zeitpunkt [min]	THF/TFA/Wasser (2:0,1:97,9; v/v/v) [%]	Acetonitril [%]
0	95	5
2	95	5
10	84	16
13	83	17
20	82	18
30	79	21
35	70	30
36	95	5
40	95	5

Tab. 33: Tuning-Parameter des MS-Detektors (1100 Serie Hewlett-Packard, Palo Alto, USA)

Spraygas-Druck	46 psi	Gesamtabschwächung (treshold)	120
Trocknungsgas-Fluss	12,5 ml/min	Einzelverstärkung (gain)	3
Trocknungsgas-Temperatur	290 °C	aufgenommener Massenbereich	200-1000
Kapillar-Spannung	3800V	Modi:	TIC
Fragmentor-Spannung	45V		SIM

TIC: Totalionenstrom und SIM: Einzelionen-Modus (Dabei wurden die Haupt-Gemüse-Aglykon-Massen Apigenin, Kämpferol, Luteolin, Quercetin und Myricetin und die jeweiligen Haupt-Glykoside eingestellt (Xylosylrutinoside, Glucosylrutinoside, Rutinoside, Diglukoside, Monoglukoside, Monorhamnoside).

## 9.7. Bestimmung der antioxidativen Kapazität

### 9.7.1. Bestimmung mittels Test nach Folin-Ciocalteu

1. Probeneinwaage: 0,2 g  $\pm$  5 % in 10 ml-Pyrexglas
2. 10 ml bidest. Wasser zugeben
3. per Hand aufschütteln, danach 20 min auf einem Horizontalschüttler schütteln
4. 15 min (bei 3600 · g) zentrifugieren
5. Überstand in Kunststoffschnappdeckelgefäß überführen, Lagerung bei -45 °C

Lösungen:

Folin-Ciocalteu-Reagenzlösung (FC): unverdünnt vom Hersteller

Natriumcarbonat-Lösung (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>): 7,5 %ig (w/v)

Gallussäurestammlösung (GA): 0,047 g/50 ml  $\pm$  1%

Tab. 34: Pipettierschema - Folin-Ciocalteu

Lösung	Blind [ $\mu$ l]	Kal1 [ $\mu$ l]	Kal2 [ $\mu$ l]	Kal3 [ $\mu$ l]	Kal4 [ $\mu$ l]	Kal5 [ $\mu$ l]	Probe [ $\mu$ l]
GA	0	10	20	30	40	50	0
Probe	0	0	0	0	0	0	30-400
FC	200	200	200	200	200	200	200
gründlich durchmischen							
6–8 min warten							
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Wasser	auf 4000 $\mu$ l auffüllen						
gründlich durchmischen							

1. Lösungen der Reihenfolge nach in die Küvetten pipettieren
2. nach 120 min gegen den Blindwert bei 765 nm photometrisch quantifiziert
3. Angabe der Probenergebnisse in mg/100 g GAE (Gallussäureäquivalente)



### 9.7.2. Bestimmung mittels FRAP-Test

1. Probeneinwaage: 0,2 g  $\pm$  5 % in 10 ml-Pyrexglas
2. 10 ml bidest. Wasser zugeben
3. per Hand aufschütteln, danach 20 min auf einem Horizontalschüttler schütteln
4. 15 min (bei 3600 · g) zentrifugieren
5. Überstand in Kunststoffschnappdeckelgefäß überführen, Lagerung bei -45 °C

#### Arbeitsanweisung FRAP

#### Lösungen:

- Acetatpuffer pH 3,6: 3,1 g Natriumacetat-trihydrat in Wasser vorlösen, 16 ml Eisessig hinzugeben, mit Wasser auf 1 l auffüllen
- TPTZ-Lösung: 0,3123 g TPTZ (2,4,6-Tri-2-pyridyl)-s-triazin in 4 ml 1 mol/l Salzsäure lösen, mit Wasser auf 100 ml auffüllen
- Eisen(III)-chloridlösung: 0,5406 g Eisen(III)-chlorid-hexahydrat in Wasser lösen, auf 100 ml auffüllen
- FRAP-Reagenz: 100 ml Acetatpuffer vorlegen, 10 ml TPTZ-Lösung, 10 ml Eisen(III)-chlorid-hexahydrat-Lösung hinzugeben,
- AA-Stammlösung: 0,044 g  $\pm$  1 % (in die Berechnung mit einbeziehen) AA in Wasser lösen, auf 50 ml auffüllen (5 mmol/l)
- AA-Arbeitslösung: 1 ml der AA-Stammlösung mit Wasser auf 25 ml auffüllen

Tab. 35: Pipettierschema - FRAP

Lösung	Blind [ $\mu$ l]	Kal1 [ $\mu$ l]	Kal2 [ $\mu$ l]	Kal3 [ $\mu$ l]	Kal4 [ $\mu$ l]	Kal5 [ $\mu$ l]	Kal6 [ $\mu$ l]	Probe [ $\mu$ l]
AA	0	5	10	20	30	40	50	0
Probe	0	0	0	0	0	0	0	5 - 50
Wasser	50	45	40	30	20	10	0	0 - 45
FRAP-Reagenz	150	150	150	150	150	150	150	150

1. Lösungen der Reihenfolge nach in die Kavitäten pipettieren
2. nach 4 min bei 590 nm photometrisch bestimmt. Blindwert nachträglich von allen Ergebnissen abziehen
3. Angabe der Probenergebnisse in mg AAE (AA-Äquivalente)/100 g TM

### 9.8. Untersuchungsgeräte und Chemikalien

- Küchenmixer Speedy pro Art. 720 (Krups, Solingen)
- Zentrifuge: Rotana/Typ S (Hettich, Tuttlingen)
- Ethanolkühlbad (Rotation) zum Schnellgefrieren vor der Gefriertrocknung (Christ, Osterode)
- Waage, Fein: Kern 770, (Max. Gewicht: 160 g, Genauigkeit: 0,1 mg) digital (Kern, Augsburg)
- Waage, Fein: Sartorius Typ 2842, Max. Gewicht: 160 g, Genauigkeit: 0,05 mg (Sartorius, Göttingen)
- Waage, Grob: Max. Gewicht: 1600 g, Genauigkeit: 10 mg (Sartorius, Göttingen)
- Gefriertrocknungsanlage Loc-2 Beta 1-16 (Christ, Osterode); Bedingungen: -50 °C, 0,001 mbar über 96 h
- Vortexer, Vortex™ Genie 2 (Scientific Instruments, New York, USA)

- Heizblock SR 32 (Liebisch, Bielefeld)
- Metall-Reagenzglasständer (48er)
- Labor-Kühltruhe EL 21 LT (237 l Volumen), kühlbar bis -45 °C (Kältetechnik Rauschenbach GmbH, Bergneustadt)
- Ultraschallbad (VWR, Darmstadt)
- Mörser (Ø 15 cm) und Pistill (15 cm lang)
- Laborschüttelmaschine, horizontal, Swip KL-2 (Edmund Bühler, Tübingen)
- Festphasen-Kartuschen 3 ml Volumen mit 500 mg Polyamid 6 (Chromabond®, Macherey & Nagel, Düren)

Tab. 36: Chemikalien

Chemikalie	Hersteller	CAS-Nr.	Gefahrstoffsymbol	R-Sätze	S-Sätze
Aceton	Merck (Darmstadt)	76-64-1	F, Xi	11-36-66-67	9-16-26
Acetonitril	Merck	75-05-8	F, Xn	11-20/21/22	16-36/37
all- <i>trans</i> - $\alpha$ -Carotin	Carote-Nature (Lupsingen, CH)	7488-99-5			
all- <i>trans</i> - $\beta$ -Carotin	Fluka (Buchs, CH)	7235-40-7			
Aluminiumchlorid	Merck	7446-70-0	C	34	7/8-28.1-45
Ameisensäure	Merck	64-18-6	C	35	23.2-26-45
Ammoniak, 25 %	Merck	1336-21-6	C, N	34-50	26-36/37/39-45-61
L-(+)-Ascorbinsäure	Sigma (Seelze)	50-81-7	A		
$\beta$ -Apo-8'-carotenal	Fluka	1107-26-2			
<i>tert</i> -Butylhydrochinon	Fluka	1948-33-0	Xn	20/22-36/37/38	
Citronensäure	Merck	77-92-9	Xi	36	26
Cyclohexan	Merck	110-82-7	F	11-38-50/53-65-67	9-16-33-60-61-62
Dichlormethan	Merck	75-09-2	Xn	40	23-24/25-36/37
N,N-Dimethylformamid	Merck	68-12-2	T	61-E20/21-36	53-45
1,4-Dithiothreitol	Sigma	3483-12-3	Xn	22-36/38	
Essigsäure	Merck	64-19-7	C	10-35	23.2-26-45
Ethylacetat	Merck	141-78-6	F, Xi	11-36-66-67	16-26-33
Ethylendiamintetraessigsäure	Merck	6381-92-6	Xi	36-52/53	61
n-Hexan	Merck	110-54-3	F, Xn, N	11-38-48/20-51/53-62-65	9-16-29-33-36/37-61-62
Kämpferol	Fluka	520-18-3			
Kämpferol-3-glukosid	Extrasynthese	480-10-4			
Kämpferol-3-rutinosid	Extrasynthese (Génay, F)	17650-84-9			
Dikaliumhydrogenphosphat-trihydrat	Merck	16788-57-1	A		
Methanol	Merck	67-56-1	F, T	11-23/25	7-16-24-45
Myricetin	Fluka	529-44-2			
Natriumdihydrogenphosphat-monohydrat	Merck	10049-21-5	A		
Perchlorsäure, 60 %	Fluka		O,C		1/2-23-26-36-45
<i>m</i> -Phosphorsäure	Sigma		C	34	
<i>o</i> -Phosphorsäure, 85 %	Merck		C	34	(1/2-)26-45
Quercetin	Sigma	6151-25-3			

Quercetin-3-glukosid	Extrasynthese	482-35-9			
Quercitrin	Extrasynthese	522-12-3			
Rutin	Merck	12768-44-4			
Salpetersäure, 65 %	Merck		C	35	
Salzsäure, 37%	Merck		C	34-37	26-36/37/39-45
<i>tert</i> -Butylhydrochinon	Fluka		Xn	20/22-36/37/38	
<i>tert</i> -Butylmethylether	Merck	1634-04-4	F, Xn, N	11-38-48/20-51/53-62-65-67	9-16-29-33-36/37-61-62
Tetrahydrofuran	Merck	109-99-9	F, Xi	11-19-36/37	16-29-33
Trifluoressigsäure	Merck	76-05-1	C	20-35-52/53	9-26-27-28.1-45-61
(2,4,6-Tri-2-pyridyl)-s-triazin	Merck				

### 9.9. Einzelaufstellung der Messdaten (mit Statistik)

Hier sind die jeweiligen den im Ergebnisteil zugrunde liegenden Messdaten dargestellt. Diese wurden mittels mehrfaktorieller ANOVA (ANalysis Of VAriance) auf signifikante Unterschiede geprüft (SPSS für Windows, Version 11.5.2).

Die Anzahl der Bestimmungen wird durch die Zahl für n ausgedrückt und mit 1 – x sind die verschiedenen Signifikanzgruppen bezeichnet. Statistisch signifikant unterschiedliche Lagerstadien müssen in unterschiedlichen Signifikanzgruppen eingeordnet sein. Ist ein Status (bzw. der in der Tabelle dargestellte mittlere Gehalt) in mehreren Signifikanzgruppen vertreten, so ist dieser Lagerstatus zu allen Lagerstadien die in der gleichen Signifikanzgruppe zu finden sind, nicht signifikant verschieden. Die mittleren Gehalte werden dabei aufsteigend angeordnet. Jeder Gruppe kann dann noch ein Faktor für die Signifikanz in Bezug auf die anderen Gruppen zugeordnet werden und findet sich jeweils in der letzten Zeile.

### 9.9.1. Vitamin C

Alle Messwerte für Vitamin C sind in mg/100 g TM angegeben.

Tab. 37: Messwerte der Vitamin C Bestimmungen in Erbsen, Bohnen und Karotten:

Erbsen, 1. Saison:

roh		$\alpha = 0,05$							
Lagerstadien	n	1	2	3	4	5	6	7	8
FR roh 7T 20 °C	2	52,65							
FR roh 4T 20 °C	2		63,42						
TK roh 12M -18 °C	2		67,15						
FR roh 14T 4 °C	2		70,80	70,80					
FR roh 7T 4 °C	2		71,12	71,12	71,12				
FR roh 1T	2			77,88	77,88	77,88			
TK roh 8M -25 °C	2			78,76	78,76	78,76	78,76		
TK roh 4M -25 °C	2			79,00	79,00	79,00	79,00	79,00	
FR roh 4T 4 °C	2				79,92	79,92	79,92	79,92	
TK roh 8M -18 °C	2					80,93	80,93	80,93	
TK roh 24M -18 °C	3					81,33	81,33	81,33	
TK roh 12M -25 °C	2						86,98	86,98	
TK roh 4M -18 °C	2							87,81	
TK roh 24M -25 °C	3							88,33	88,33
TK roh 0M	2								97,51
Signifikanz		1,00	0,13	0,09	0,06	0,98	0,09	0,06	1,00
gar		$\alpha = 0,05$							
Lagerstadien	n	1	2	3	4	5	6	7	
TK gar 24M -18 °C	3	43,12							
TK gar 24M -25 °C	3	43,89							
TK gar 4M -25 °C	2		54,86						
TK gar 4M -18 °C	2		56,89	56,89					
FR gar 7T 20 °C	2		57,39	57,39					
FR gar 1T	2		60,15	60,15	60,15				
TK gar 8M -25 °C	2		61,36	61,36	61,36	61,36			
TK gar 8M -18 °C	2		62,64	62,64	62,64	62,64			
FR gar 4T 20 °C	2			63,93	63,93	63,93			
FR gar 14T 4 °C	2			64,66	64,66	64,66	64,66		
TK gar 12M -25 °C	2					66,44	66,44	66,44	
TK gar 12M -18 °C	2					66,56	66,56	66,56	66,56
FR gar 7T 4 °C	2						69,60	69,60	69,60
FR gar 4T 4 °C	2							72,74	72,74
TK gar 0M	2								74,74
Signifikanz		1,00	0,07	0,08	0,22	0,05	0,06	0,05	0,05

## Erbsen, 2. Saison:

roh		$\alpha = 0,05$							
Lagerstadien	n	1	2	3	4	5	6	7	8
FR roh 7T 20 °C	3	36,84							
FR roh 14T 4 °C	3		77,18	77,18					
FR roh 4T 20 °C	3		77,47	77,47					
FR roh 7T 4 °C	3		83,66	83,66					
FR roh 4T 4 °C	3		90,62	90,62					
TK roh 12M -18 °C	3		90,84	90,84					
FR roh 1T	3			102,32					
TK roh 4M -18 °C	3			109,54					
TK roh 4M -25 °C	3			109,63					
TK roh 8M -18 °C	3			115,68					
TK roh 12M -25 °C	3			117,16					
TK roh 8M -25 °C	3			123,86					123,86
TK roh 0M	3								134,01
Signifikanz		1,00	0,09	0,06	0,10				
gar		$\alpha = 0,05$							
Lagerstadien	n	1	2	3	4	5	6	7	8
FR gar 7T 20 °C	3	24,51							
FR gar 14T 4 °C	3		53,49						
FR gar 7T 4 °C	3			63,79					
FR gar 4T 20 °C	3			71,77	71,77	71,77			
TK gar 12M -25 °C	3				79,58	79,58	79,58		
TK gar 12M -18 °C	3				83,60	83,60	83,60		
TK gar 4M -18 °C	3					84,42	84,42		
FR gar 4T 4 °C	3					86,13	86,13		
TK gar 4M -25 °C	3					88,94	88,94		
FR gar 1T	3						87,98		
TK gar 8M -25 °C	3						100,19	100,19	
TK gar 8M -18 °C	3						105,54	105,54	105,54
TK gar 0M	3								108,54
Signifikanz		1,00	1,00	0,10	0,08	0,07	0,06	0,17	0,25

## Bohnen, 1. Saison:

roh		$\alpha = 0,05$							
Lagerstadien	n	1	2	3	4	5	6	7	
FR roh 4T 20 °C	3	40,24							
FR roh 14T 4 °C	2	46,23							
FR roh 7T 20 °C	3	46,44							
FR roh 7T 4 °C	3		55,35						
FR roh 4T 4 °C	2		62,16						
TK roh 24M -18 °C	3			88,91					
TK roh 24M -25 °C	3			93,12					
FR roh 1T	3			94,23					
TK roh 8M -18 °C	3				106,72				
TK roh 12M -18 °C	2				108,72	108,72			
TK roh 12M -25 °C	2				109,25	109,25			
TK roh 4M -18 °C	3				112,60	112,60	112,60		
TK roh 8M -25 °C	3					115,19	115,19		
TK roh 4M -25 °C	3						118,39	118,39	
TK roh 0M	2								123,80
Signifikanz		0,11	0,06	1,00	0,16	0,08	0,17	0,25	

gar		$\alpha = 0,05$								
Lagerstadien	n	1	2	3	4	5	6	7	8	9
FR gar 4T 20 °C	3	17,68								
FR gar 7T 20 °C	3	18,73	18,73							
FR gar 14T 4 °C	3	20,50	20,50							
FR gar 7T 4 °C	3		21,47							
TK gar 24M -18 °C	3			41,99						
FR gar 4T 4 °C	3			42,85						
TK gar 24M -25 °C	3			44,12						
TK gar 0M	7				52,43					
TK gar 12M -18 °C	2				55,07	55,07				
TK gar 12M -25 °C	6					57,72	57,72			
TK gar 4M -18 °C	3						59,19			
TK gar 4M -25 °C	7							62,60		
FR gar 1T	3								66,99	
TK gar 8M -25 °C	6								68,24	
TK gar 8M -18 °C	2									74,98
Signifikanz		0,12	0,15	1,00	0,20	0,19	0,94	1,00	0,98	1,00

## Bohnen, 2. Saison:

roh		$\alpha = 0,05$								
Lagerstadien	n	1	2	3	4	5	6	7	8	9
FR roh 7T 20 °C	3	28,48								
FR roh 4T 20 °C	3		34,34							
FR roh 14T 4 °C	3			47,85						
FR roh 7T 4 °C	3				57,42					
FR roh 4T 4 °C	3					69,46				
FR roh 1T	4						119,67			
TK roh 8M -18 °C	3						139,41	139,41		
TK roh 4M -25 °C	3						144,17	144,17		
TK roh 8M -25 °C	3						144,95	144,95		
TK roh 4M -18 °C	3						153,28	153,28	153,28	
TK roh 12M -18 °C	3						155,87	155,87	155,87	155,87
TK roh 12M -25 °C	3						163,26	163,26	163,26	163,26
FR roh 0T	4								166,25	166,25
TK roh 0M	3									188,89
Signifikanz		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,05	0,06	0,08	0,10

gar		$\alpha = 0,05$							
Lagerstadien	n	1	2	3	4	5	6	7	8
FR gar 7T 20 °C	3	20,04							
FR gar 4T 20 °C	3	21,06							
FR gar 14T 4 °C	3		33,92						
FR gar 7T 4 °C	3			43,42					
FR gar 4T 4 °C	3				48,10				
TK gar 12M -18 °C	4					74,84	74,84		
TK gar 8M -18 °C	3					80,64	80,64		
TK gar 12M -25 °C	4						95,29	95,29	
FR gar 1T	3							100,52	100,52
TK gar 0M	4							110,65	110,65
TK gar 4M -25 °C	3							119,29	119,29
TK gar 4M -18 °C	5							121,20	121,20
TK gar 8M -25 °C	3							122,50	122,50
Signifikanz		0,50	1,00	1,00	1,00	0,50	0,25	0,06	0,07

## Karotten, 1. Saison:

roh		$\alpha = 0,05$							
Lagerstadien	n	1	2	3	4	5	6	7	8
TK roh 12M -18 °C	3	50,33							
FR roh 7T 20 °C	2	51,01							
FR roh 4T 20 °C	2	55,34	55,34						
TK roh 24M -18 °C	3	57,02	57,02						
TK roh 12M -25 °C	3	58,82	58,82	58,82					
TK roh 4M -25 °C	2		60,61	60,61					
TK roh 24M -25 °C	3		60,98	60,98					
FR roh 1T	2		63,82	63,82	63,82				
FR roh 14T 4 °C	2			65,50	65,50	65,50			
TK roh 8M -25 °C	2			66,78	66,78	66,78			
TK roh 4M -18 °C	2				70,96	70,96			70,96
TK roh 8M -18 °C	2				71,91	71,91			71,91
FR roh 7T 4 °C	2					73,20			73,20
FR roh 4T 4 °C	2					73,59			73,59
TK roh 0M	2								77,63
Signifikanz		0,07	0,06	0,06	0,07	0,06			0,08
gar		$\alpha = 0,05$							
Lagerstadien	n	1	2	3	4	5	6	7	8
TK gar 12M -18 °C		45,10							
TK gar 0M	2	46,81							
TK gar 12M -25 °C	3	48,11							
TK gar 4M -25 °C	2	50,59	50,59						
TK gar 8M -25 °C	2	52,71	52,71						
TK gar 4M -18 °C	2		55,58	55,58					
TK gar 8M -18 °C	2			59,16	59,16				
FR gar 4T 20 °C	2				65,12	65,12			
FR gar 7T 20 °C	2					65,77			
FR gar 7T 4 °C	2						73,32		
FR gar 14T 4 °C	2							80,85	
FR gar 1T	2							83,43	
FR gar 4T 4 °C	2								91,08
Signifikanz		0,07	0,16	0,53	0,06	1,00	1,00	0,86	1,00

## Karotten, 2.Saison:

roh		$\alpha = 0,05$			
Lagerstadien	n	1	2	3	4
TK roh 12M -18 °C	3	48,33			
TK roh 8M -18 °C	5	49,29			
FR roh 7T 20 °C	4	54,27	54,27		
FR roh 4T 20 °C	3	55,34	55,34		
FR roh 14T 4 °C	3	55,42	55,42		
TK roh 12M -25 °C	3	55,61	55,61		
FR roh 28T 4 °C	5	56,38	56,38		
TK roh 0M	3	57,03	57,03		
TK roh 4M -18 °C	3	57,24	57,24		
FR roh 7T 4 °C	3	57,25	57,25		
TK roh 4M -25 °C	3	58,40	58,40	58,40	
TK roh 8M -25 °C	3		59,26	59,26	
FR roh 4T 4 °C	3			58,83	
FR roh 1T	3			61,49	61,49
Signifikanz		0,06	0,06	0,15	0,86

gar	n	$\alpha = 0,05$					
		1	2	3	4	5	6
Lagerstadien							
TK gar 4M -18 °C	3	29,71					
TK gar 12M -25 °C	3	31,22	31,22				
TK gar 8M -18 °C	3	31,89	31,89				
TK gar 4M -25 °C	3		36,14	36,14			
TK gar 8M -25 °C	3			37,46	37,46		
FR gar 14T 4 °C	3			39,99	39,99	39,99	
FR gar 28T 4 °C	4				41,44	41,44	
TK gar 12M -18 °C	3				41,95	41,95	
TK gar 0M	5					42,80	
FR gar 4T 20 °C	3					45,97	45,97
FR gar 4T 4 °C	3						52,49
FR gar 1T	3						54,28
FR gar 7T 20 °C	3						56,53
FR gar 7T 4 °C	3						57,07
Signifikanz		0,14	0,14	0,12	0,08	0,06	0,04

### 9.9.2. Carotine

Tab. 38: Gesamtcarotingehalte in Karotten; alle Messwerte sind in mg/100 g TM angegeben.

1. Saison roh		$\alpha = 0,05$			
Lagerstadien	n	1	2	3	4
FR roh 1T	5	152,3			
FR roh 4T 4 °C	3	153,9			
FR roh 4T 20 °C	4	159,7	159,7		
TK roh 0M	6		165,4		
FR roh 7T 4 °C	3		166,5		
TK roh 8M -18 °C	3		174,0	174,0	
TK roh 4M -18 °C	3		177,6	177,6	
FR roh 7T 20 °C	3			186,9	186,9
FR roh 14T 4 °C	3				191,0
TK roh 8M -25 °C	4				194,6
TK roh 12M -25 °C	4				195,4
TK roh 4M -25 °C	3				195,4
TK roh 12M -18 °C	4				195,5
Signifikanz		0,35	0,25	0,52	0,12
1. Saison gar					
Lagerstadien	n	1	2	3	4
FR gar 14T 4 °C	4	222,0			
FR gar 4T 4 °C	3	224,4			
FR gar 1T	3	225,3			
FR gar 4T 20 °C	3	225,8	225,8		
FR gar 7T 4 °C	4	229,1	229,1		
TK gar 12M -18 °C	4		236,6		
FR gar 7T 20 °C	3		242,8		
TK gar 8M -18 °C	3		243,2		
TK gar 4M -18 °C	3		245,3		
TK gar 12M -25 °C	3		251,4		
TK gar 8M -25 °C	4			258,5	
TK gar 4M -25 °C	3			268,7	268,7
TK gar 0M	5			271,9	271,9
Signifikanz		0,06	0,05	0,15	0,20



2. Saison roh	n	$\alpha = 0,05$					
Lagerstadien		1	2	3	4	5	6
FR roh 1T	4	101,0					
FR roh 4T 4 °C	2	106,3	106,3				
FR roh 14T 4 °C	3	107,4	107,4				
FR roh 7T 4 °C	3		117,9	117,9			
FR roh 4T 20 °C	3		123,7	123,7	123,7		
TK roh 4M -25 °C	4			129,7	129,7	129,7	
FR roh 28T 4 °C	3				131,3	131,3	
TK roh 8M -18 °C	3				133,4	133,4	
TK roh 12M -18 °C	3				134,8	134,8	
TK roh 12M -25 °C	3				136,0	136,0	
FR roh 7T 20 °C	3					140,3	
TK roh 8M -25 °C	4					145,6	145,6
TK roh 4M -18 °C	3						152,4
TK roh 0M	5						152,5
Signifikanz		0,18	0,11	0,12	0,08	0,06	0,25
2. Saison gar	n	$\alpha = 0,05$					
Lagerstadien		1	2	3	4	5	6
FR gar 4T 4 °C	3	115,8					
FR gar 4T 20 °C	3	129,8	129,8				
FR gar 7T 20 °C	3		135,9				
FR gar 1T	3		136,3	136,3			
TK gar 4M -25 °C	3			141,3	141,3		
FR gar 14T 4 °C	3			144,6	144,6		
TK roh 8M -25 °C	3			146,9	146,9		
TK gar 4M -18 °C	4				147,9		
TK gar 12M -18 °C	3				148,1	148,1	
TK gar 12M -25 °C	3				152,4	152,4	
TK gar 8M -18 °C	3					156,6	
FR gar 7T 4 °C	3						167,1
TK gar 0M	4						168,6
FR gar 28T 4 °C	4						174,4
Signifikanz		0,22	0,16	0,12	0,08	0,08	1,00

### 9.9.3. Flavonole

Für Flavonole werden nur die Gehalte in Bohnen dargestellt, da in den anderen Gemüsearten keine nennenswerten Mengen an Flavonolen bestimmt werden konnten. Der 24. Monat wurde bei der Bestimmung der Flavonolgehalte im Gegensatz zur Vitamin C-Bestimmungen in der 1. Saison nicht mehr berücksichtigt.

Alle Messwerte für den Flavonolgehalt sind in mg/100 g TM angegeben.

Tab. 39: Messwerte der Flavonolgehalte in Bohnen

Bohnen, Quercetin, 1. Saison, roh:

$\alpha = 0,05$					
Lagerstadien	n	1	2	3	4
FR roh 14T 4 °C	3	32,08			
FR roh 7T 4 °C	3	35,28	35,28		
FR roh 7T 20 °C	3	36,14	36,14	36,14	
TK roh 8M -18 °C	3	36,43	36,43	36,43	
TK roh 12M -18 °C	3	36,58	36,58	36,58	
FR roh 1T	3		38,20	38,20	38,20
TK roh 4M -25 °C	3		39,37	39,37	39,37
FR roh 4T 4 °C	3		39,41	39,41	39,41
TK roh 12M -25 °C	3		39,57	39,57	39,57
FR roh 4T 20 °C	3		40,28	40,28	40,28
TK roh 8M -25 °C	3			41,79	41,79
TK roh 0M	3				43,24
TK roh 4M -18 °C	3				44,29
Signifikanz		0,36	0,21	0,10	0,05

Bohnen, Quercetin, 1. Saison, gar

$\alpha = 0,05$				
Lagerstadien	n	1	2	3
FR gar 14T 4 °C	3	29,31		
FR gar 7T 4 °C	3	30,09	30,09	
FR gar 7T 20 °C	3	31,18	31,18	
FR gar 4T 4 °C	3	32,80	32,80	32,80
FR gar 1T	3	32,88	32,88	32,88
FR gar 4T 20 °C	3	33,56	33,56	33,56
TK gar 12M -18 °C	3	33,79	33,79	33,79
TK gar 8M -18 °C	3	33,96	33,96	33,96
TK gar 4M -25 °C	3	35,84	35,84	35,84
TK gar 12M -25 °C	3		36,56	36,56
TK gar 0M	3		37,18	37,18
TK gar 8M -25 °C	3			39,14
TK gar 4M -18 °C	3			39,48
Signifikanz		0,11	0,06	0,09

Bohnen, Kämpferol, 1. Jahr, roh:

$\alpha = 0,05$						
Lagerstadien	n	1	2	3	4	5
TK roh 8M -25 °C	3	11,37				
TK roh 4M -25 °C	3	11,68	11,68			
TK roh 12M -18 °C	3	11,71	11,71			
TK roh 12M -25 °C	3	12,05	12,05			
FR roh 7T 20 °C	3		14,01	14,01		
FR roh 7T 4 °C	3			14,74		
FR roh 1T	3			15,24	15,24	
FR roh 4T 20 °C	3			15,74	15,74	15,74
FR roh 14T 4 °C	3			15,76	15,76	15,76
FR roh 4T 4 °C	3			16,18	16,18	16,18
TK roh 8M -18 °C	3			16,45	16,45	16,45
TK roh 4M -18 °C	3				17,82	17,82
TK roh 0M	3					18,09
Signifikanz		1,00	0,12	0,09	0,05	0,11

## Bohnen, Kämpferol, 1. Jahr, gar:

$\alpha = 0,05$		1	2	3	4	5	6
Lagerstadien	n						
TK gar 12M -18 °C	3	7,68					
TK gar 4M -25 °C	3	8,12	8,12				
TK gar 8M -25 °C	3	8,52	8,52	8,52			
TK gar 12M -25 °C	3	8,62	8,62	8,62			
FR gar 14T 4 °C	3	10,09	10,09	10,09	10,09		
FR gar 7T 4 °C	3		10,76	10,76	10,76	10,76	
FR gar 7T 20 °C	3			10,91	10,91	10,91	10,91
FR gar 4T 4 °C	3			10,93	10,93	10,93	10,93
FR gar 4T 20 °C	3				11,44	11,44	11,44
FR gar 1T	3				12,35	12,35	12,35
TK gar 8M -18 °C	3					13,09	13,09
TK gar 4M -18 °C	3					13,44	13,44
TK gar 0M	3						13,61
Signifikanz		0,15	0,08	0,15	0,22	0,07	0,06

## Bohnen, Quercetin, 2. Saison, roh:

$\alpha = 0,05$		1	2	3	4	5	6	7	8
Lagerstadien	n								
FR roh 14T 4 °C	2	37,89							
TK roh 12M -25 °C	3		43,84						
FR roh 4T 20 °C	2		46,27	46,27	46,27				
FR roh 7T 20 °C	2		46,35	46,35	46,35	46,35			
TK roh 8M -18 °C	3		46,61	46,61	46,61	46,61			
TK roh 4M -25 °C	3				49,12	49,12			
TK roh 4M -18 °C	3				50,04	50,04			
FR roh 4T 4 °C	2				50,32	50,32			
FR roh 7T 4 °C	2				50,78	50,78			
TK roh 8M -25 °C	3				51,80	51,80			
TK roh 0M	5					53,41	53,41	53,41	
TK roh 12M -18 °C	3						54,56	54,56	
FR roh 0T vom Feld	3							59,50	
FR roh 1T	5								74,67
Signifikanz		1,00	0,10	0,12	0,07	0,08	0,80	0,65	1,00

## Bohnen, Quercetin, 2. Saison, gar:

$\alpha = 0,05$		1	2	3	4	5
Lagerstadien	n					
FR gar 14T 4 °C	2	25,97				
TK gar 12M -25 °C	3	26,61	26,61			
TK gar 4M -18 °C	3		31,74			
TK gar 8M -25 °C	3			35,64		
FR gar 7T 4 °C	2			36,09	36,09	
TK gar 12M -18 °C	3			38,96	38,96	
TK gar 0M	5			39,22	39,22	
FR gar 4T 4 °C	2				40,07	
TK gar 4M -25 °C	3				40,22	
TK gar 8M -18 °C	3				42,59	42,59
FR gar 1T	4					44,85
FR gar 7T 20 °C	2					46,65
FR gar 4T 20 °C	2					47,01
Signifikanz		0,15	0,15	0,06	0,07	0,08

Bohnen, Kämpferol, 2. Jahr, roh:

$\alpha = 0,05$					
Lagerstadien	n	1	2	3	4
FR roh 14T 4 °C	2	11,75	11,75		
FR roh 4T 4 °C	2	13,31	13,31		
FR roh 4T 20 °C	2	13,55	13,55		
FR roh 7T 20 °C	2	13,78	13,78		
TK roh 8M -18 °C	3		14,80		
TK roh 0M	5		14,89	14,89	
TK roh 4M -18 °C	3		15,37	15,37	
TK roh 12M -25 °C	3		15,40	15,40	
TK roh 8M -25 °C	3		16,07	16,07	
TK roh 4M -25 °C	3		16,25	16,25	
FR roh 7T 4 °C	2		16,60	16,60	
FR roh 0T vom Feld	3			17,03	17,03
TK roh 12M -18 °C	3			18,19	18,19
FR roh 1T	5			21,20	21,20
Signifikanz		0,08	0,06	0,07	0,12

Bohnen, Kämpferol, 2. Jahr, gar:

$\alpha = 0,05$				
Lagerstadien	n	1	2	3
FR gar 14T 4 °C	2	8,41		
FR gar 7T 4 °C	2	9,40	9,40	
TK gar 12M -25 °C	3	10,09	10,09	
FR gar 4T 4 °C	2	11,24	11,24	11,24
TK gar 4M -18 °C	3		11,00	11,00
TK gar 8M -25 °C	4		11,59	11,59
FR gar 1T	3		11,73	11,73
TK gar 4M -25 °C	3		12,01	12,01
TK gar 0M	5		12,09	12,09
TK gar 8M -18 °C	3			12,57
TK gar 12M -18 °C	3			12,80
FR gar 7T 20 °C	2			14,72
FR gar 4T 20 °C	2			15,16
Signifikanz		0,16	0,07	0,08

#### 9.9.4. Antioxidative Kapazität

Die einzelnen Messwerte der antioxidativen Kapazität sind hier aus Platzgründen und da sich nur sehr wenige signifikante Unterschiede ergaben, nicht dargestellt.

## 10 Literatur

Aaby, K.; Hvattum, E.; Skrede, G.: Analysis of flavonoids and other phenolic compounds using high-performance liquid chromatography with coulometric array detection: relationship to antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 52, 4595-4603 (2004).

Adam, A.; Eyer, H.: Untersuchungen über den Mechanismus der Mineralstoffauslaugung aus Gemüse bei üblicher küchentechnischer Zubereitung. *Z. Lebensm.-Untersuchungen* 126, 249-253 (1965).

Adom, K.K.; Liu, R.H.: Rapid peroxy radical scavenging capacity (PSC) assay for assessing both hydrophilic and lipophilic antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* 53, 6572-6580 (2005).

Advancedfreezer: Produktinformation der Firma Advanced I.Q.F. Freezer, Homepage Advanced Equipment Inc. Richmond BC. Overview of Advanced IQF Freezers. Fundstelle: [www.advancedfreezer.com/overview.html](http://www.advancedfreezer.com/overview.html), Stand 10.09.2006.

Aina, J.; Physico-chemical changes in African mango (*Irvingia gabonensis*) during normal storage ripening. *Food chem.*, 36, 205-212 (1990).

Albanes, D.; Heinonen, O.P.; Taylor, P.P.:  $\alpha$ -Tocopherol and  $\beta$ -carotene supplements and lung cancer incidence in the  $\alpha$ -tocopherol,  $\beta$ -carotene cancer prevention study: effect of base-line characteristics and study compliance. *J. Natl. Cancer Inst.* 88, 1560-1570 (1996).

Albert, K.: Correlation between chromatographic and physicochemical properties of stationary phases in HPLC C30 bonded reversed-phase silica. *Trends Anal. Chem.* 17, 648-658 (1988).

Albrecht, J.A. Schafer, H.W.; Zottala, E.A.: Relationship of total sulphur to initial and retained ascorbic acid in selected cruciferous and non-cruciferous vegetables. *J. Food Sci.* 55, 181-183 (1990).

Albrecht, J.A.; Schafer, H.W.; Zottala, E.A.: Sulfhydryl and ascorbic acid relationships in selected vegetables and fruits. *J. Food Sci.* 56, 427-430 (1991).

Al-Shaibani, A.M.H.; Greig, J.K.: Effects of stage of maturity, storage, and cultivar on some quality attributes of tomatoes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 104, 880-882 (1979).

Andlauer, W.; Stumpf, C.; Hubert, M.; Rings, A.; Fürst, P.: Influence of cooking on phenolic compounds in vegetables. *Ernaehr. Umsch.* 49, 475-479 (2002).

AOAC, American Organisation of Analytical Chemists: Carotenes in fresh plant materials and silages. Spectrophotometric methods, final action. Horwitz, W. (Hrsg.): *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Changes in official methods of analysis. 4. Aufl., Washington DC, 834-835 (1983).

Apak, R.; Güclü, K.; Özyürek, M.; Karademir, S.E.: Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J. Agric. Food Chem.* 52, 7970-7981 (2004).

Aparicio-Cuesta, P.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Santos-Buelga, C.; Garcia-Moreno, C.: Quality of frozen green beans (*Phaseolus vulgaris*) subjected to different storage conditions. *J. Sci. Food Agric.* 48, 249-259 (1989).

Arts, M.J.T.J.; Dallinga, J.S.; Voss, H.-P.; Haenen, G.R.M.M; Bast, A.: A new approach to assess the total antioxidant capacity using the TEAC assay. *Food Chem.* 88, 567-570 (2004).

- Arya, S.S.; Natesan, V.; Parihar, D.B.; Vijayaragha-Van, P.K.: Stability of carotenoids in dehydrated carrots. *J. Food Technol.* 14, 579-586 (1979).
- Astier-Dumas, M.; Garominy, N.; Laurent, B.: Évolution de la teneur en vitamine C, en minéraux et en fibres dans des haricots verts appertisés et dans des haricots verts surgelés. *Med. et Nut.* 21, 273-276 (1985).
- Augustin, J.: Variations in the nutritional composition of fresh potatoes. *J. Food Sci.* 40, 1295-1299 (1975).
- Bajaj, K.L.; Kaur, G.; Brar, J.S.; Sukhija, B.S.: Chemical composition and keeping-quality of carrot (*Daucus carota* L.) varieties. *Plant Foods Man* 2, 159-165 (1978).
- Baloch, A.K.; Buckle, K.A.; Edwards, R.A.: Effect of chemical treatment on stability of dehydrated carrot. *J. Chem. Soc. Pak.* 24, 203-211 (1981).
- Baloch, A.K.; Buckle, K.A.; Edwards, R.A.: Effect of coating with starch and nordihydroguaiaretic acid on the stability of carotenoids of dehydrated carrot. *J. Chem. Soc. Pak.* 8, 59-62 (1986).
- Banga, O.; Bruyn, J.W. de: Effect of temperature on the balance between protein synthesis and carotenogenesis in the roots of carrot. *Euphytica* 17, 168-172 (1968).
- Banga, O.; Bruyn, J.W. de: Selection of carrots for carotene content. *Euphytica* 3, 203-211 (1984).
- Bastos, E.L.; Romoff, P.; Eckert, C.R.; Baader, W.J.: Evaluation of antiradical capacity by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-hemin-induced luminol chemiluminescence. *J. Agric. Food Chem.* 51, 7481-7488 (2003).
- Baumann J.; von Bruchhausen, F.; Wurm, G: Flavonoids and related compounds as inhibition of arachidonic acid peroxidation. *Prostaglandins* 20, 627-39 (1980).
- Ben-Amotz, A.; Fishler, R.: Analysis of carotenoids with emphasis on 9-cis- $\beta$ -carotene in vegetables and fruits consumed in Israel. *Food Chem.* 62, 515-520 (1988).
- Beninger, C.W.; Hosfield, G.L.: Antioxidant activity of extracts, condensed tannin fractions, and pure flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. seed coat color genotypes. *J. Agric. Food Chem.* 51, 7879-7883 (2003).
- Benzie, I.F.F., Strain, J.J.: The reducing ability of plasma as a measure of 'antioxidant power' – the FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239, 70-76 (2003).
- Berg, R. van den; Haenen, G.R.M.M.; Berg, H. van den; Vijgh, W. van der; Bast, A.: The predictive value of the antioxidant capacity of structurally related flavonoids using the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay. *Food Chem.* 70, 391-395 (2000).
- Betti, A.; Lodi, G.; Fuzzati, N.: Analysis of flavonoid compounds by planar chromatography. A chemometric approach. *J. Plan. Chrom.* 6, 232-237 (1993).
- Biesalski, H.K.; Frank, J.: Antioxidants in nutrition and their importance in the anti-/oxidative balance in the immune system. *Immun. Infekt.* 23, 166-173 (1995).
- Bilyk, A.; Cooper, P.L.; Sapers, G.M.: Varietal differences in distribution of quercetin and kaempferol in onion (*Allium cepa* L.) tissue. *J. Agric. Food Chem.* 32, 274-276 (1984).
- Bjeldanes, L.F.; Chang, G.W.: Mutagenic activity of quercetin and related compounds. *Science* 197, 577-578 (1977).

- Bloeck, M.; Iseli-Winter, S.; Perren, M.; Escher, F.; Solms, J.: Quality changes during storage of heat-sterilized vegetables. Shelf life food beverages. *Dev. Food Sci.* 12, 393-411 (1985).
- Block, G; Nutrient sources of provitamin A carotenoids in the American diet. *Amer. J. Epidem.* 139, 290-293 (1994).
- BMVEL: Obst und Gemüse – ein buntes Vergnügen, *Compass Ernährung*, Informationen für Verbraucher, 1/2005 (2005).
- Bognár, A; Zacharias, R.: Nährwert tiefgefrorener Speisen für die Schulverpflegung. *Mitteilungsblatt der GdCh-Fachgruppe Lebensmittelchemie und gerichtliche Chemie* 29, 18-30 (1975).
- Bognár, A.: Bestimmung von Vitamin B6 in Lebensmitteln mit Hilfe der Hochdruckflüssig-Chromatographie (HPLC). *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 181, 200-205 (1985).
- Bognár, A.: Vitamin-Veränderungen bei der küchenmäßigen Zubereitung von Gemüse. *Ernähr. Umsch.* 32, 177-181 (1985).
- Bognár, A.A.: Vitaminabbau bei der Be- und Verarbeitung von Gemüse. *Lebensmitteltechnik* 10, 541-554 (1987).
- Bognár, A.A.: Bestimmung von Vitamin C in Lebensmitteln mittels Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC). *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 84, 73-76 (1988).
- Bognár, A.; Zacharias, R.: Qualitätsveränderungen bei der Vorratshaltung von Lebensmitteln im privaten Haushalt. Teil 1: Frische tierische und pflanzliche Lebensmittel. *Verbraucherdienst* 43, 508-514 (1988).
- Bognár, A.A.: Vitaminverluste bei der Lagerung und Zubereitung von Lebensmitteln. *Ernährung/Nutrition* 19, 411-416 (1995a).
- Bognár, A.A.: Vitaminverluste bei der Lagerung und Zubereitung von Lebensmitteln. *Ernährung/Nutrition* 19, 478-483 (1995b).
- Bognár, A.A.: Vitaminverluste bei der Lagerung und Zubereitung von Lebensmitteln. *Ernährung/Nutrition* 19, 551-554 (1995c).
- Bognár, A.A.: Qualitätsveränderungen bei der Vorratshaltung im Haushalt. *fundus* 2, 8-12 (1999).
- Bognár, A.A.; Wolf, W.: Zur Lagerstabilität und Qualität tiefgefrorener Lebensmittel. *Ernährung im Fokus* 2, 143-149 (2002).
- Bognár, A.: Vitaminveränderungen bei der Lebensmittelverarbeitung im Haushalt. *Ernährung im Fokus* 3, 330-335 (2003).
- Booth, V.H.: Chromogenesis in stored carrots. *J. Sci. Food Agric.* 2, 353-358 (1951).
- Böttcher, H.: Zur Frage von Fermentaktivität und Qualität von Gemüsegefrierkonserven 2. Mitt. Einfluß auf die Qualität des gefrorenen Gemüses. *Nahrung* 19, 245-253 (1975).
- Böttcher, H.: Qualitätsveränderungen während der Lagerung von Gemüsebohnen (*Phaseolus vulgaris* L. var. Juslen. Aschers.). 2. Mitt. Ernährungsphysiologische Qualität. *Nahrung* 30, 921-939 (1986).
- Böttcher, H.: Handbuch der Lebensmitteltechnologie. Frischhaltung und Lagerung von Gemüse. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 257 S. (1996).

- Bowes, B.G.: Farbatlas Pflanzenanatomie, Formen, Gewebe, Strukturen. Parey Buchverlag, Berlin, 192 S. (2001).
- Bramley, P.M.: Is lycopene beneficial to human health? *Phytochemistry* 54, 233-236 (2000).
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C.: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* 28, 25-30 (1995).
- Braumann, T.; Weber, G.; Grimme, L.H.: Carotenoid and chlorophyll composition of light-harvesting and reaction center proteins of the thylakoid membrane. *Photobiochem. Photobiophys.* 4, 1-8 (1982).
- Braune, W.; Leman, A.; Taubert, H.: Pflanzenanatomisches Praktikum I., 8. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin, 368 S. (1999).
- Brown, G.B.: The effect of maturity and storage on the carotene content of carrot varieties. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 50, 347-352 (1947).
- Brown, G.B.: The effect of winter storage on the carotene content of carrot varieties. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 54, 304-306 (1949).
- Bub, A.; Watzl, B.; Abrahamse, L.; Delincée, H.; Adam, S.; Wever, J.; Müller, H.; Rechkemmer, G.: Moderate intervention with carotenoid-rich vegetable products reduces lipid peroxidation in men. *J. Nutr.* 130, 2200-2206 (2000).
- Burns, J.; Fraser, P.D.; Bramley, P.M.: Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophylls in commonly consumed fruits and vegetables. *Phytochem.* 62, 939-947 (2003).
- Bushway, R.J.: Separation of carotenoids in fruits and vegetables by high performance liquid chromatography. *J. Liq. Chrom.* 8, 1527-1547 (1985).
- Bustos Rubio, A.; Matallana González M.C.; Orzáez Villanueva, M.T.; Marquina, D.: Incidencia de la acción del frío sobre el contenido en  $\beta$ -caroteno en vegetales. *Alimentaria* 35, 35-39 (1992).
- Caldwell, C.R.: Alkylperoxyl radical scavenging activity of red leaf lettuce (*Lactuca sativa* L.) phenolics. *J. Agric. Food Chem.* 51, 4589-4595 (2003).
- Cano, M.P.; Monreal, M.; Ancos, B. de; Alique, R.: Effects of oxygen levels on pigment concentrations in cold-stored green beans (*Phaseolus vulgaris* L. Cv. Perona). *J. Agric. Food Chem.* 46, 4164-4170 (1988).
- Cao, G.; Alessio, H.M.; Cutler, R.G.: Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. In: *Free Radic. Biol. Med.* 14, 303-311 (1993).
- Cavallini, G.: Comparative evaluation of antiperoxidative action of silymarin and other flavonoids. *Pharmacol. Res. Commun.* 10, 133-137 (1978).
- Charoenrein, S.; Reid, D.S.: Effect of freezing conditions and storage temperature on the stability of frozen green beans. *ACS Sym. Ser.* 405, 226-238 (1989).
- Chavasit, V.; Pisaphab, R.; Sungpuag, P.; Jittinandana, S.; Wasantwisut, E.: Changes in  $\beta$ -carotene and vitamin A contents of vitamin A-rich foods in Thailand during preservation and storage. *J. Food Sci.* 67, 375-379 (2002).
- Chen, H.E.; Peng, H.Y.; Chen, B.H.: Stability of carotenoids and vitamin A during storage of carrot juice. *Food Chem.* 57, 497-503 (1996).



- Clementon, R.I.: Influence of reductones on the stability of certain antioxidants in vegetables. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 136, 339-345 (1966).
- Collins, P.J.; Dobson, A.D.W.; Field, J.A.: Reduction of the 2,2'-azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonate) cation radical by physiological organic acids in the absence and presence of manganese. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 2026-2031 (1998).
- Cremer, H.D.; Aign, W.: Nähr- und Wirkstoffverluste bei Lagerung, Zubereitung und Transport. In: Somogyi, J.C. (Hrsg.): Neue Erkenntnisse in der Gemeinschaftsverpflegung. Schriftenreihe Ernährung und Gemeinschaftsverpflegung 1, Forster, Zürich, 27-47 (1966).
- Czepa, A.; Hofmann, T.: Structural and sensory characterization of compounds contributing to the bitter off-taste of carrots (*Daucus carota* L.) and carrot puree. *J. Agric. Food Chem.* 51, 3865-3873 (2003).
- Darnoko, D.; Cheryan, M.; Moros, E.; Jerrel, J.; Perkins, E.G.: Simultaneous HPLC analysis of palm carotenoids and tocopherols using a C-30 column and photodiode array detector. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* 23, 1873-1885 (2000).
- Davey, M.W.; Montagu, Marc van; Inze, D.; Sanmartin, M.; Kanellis, A.; Smirnoff, N.; Benzie, I.J.J.; Strain, J.J.; Favell, D.; Fletcher, J.: Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *J. Sci. Food Agric.* 80, 825-860 (2000).
- Del Caro, A.; Piga, A.; Pinna, I.; Fenu, P.M.; Agabbio, M.: Effect of drying conditions and storage period on polyphenol content, antioxidant capacity, and ascorbic acid of prunes. *J. Agric. Food Chem.* 52, 4780-4784 (2004).
- Derse, T.H.; Teply, L.J.: Effect of storage conditions on nutrients in frozen green beans, peas, orange juice, and strawberries. *J. Agric. Food Chem.* 6, 309-312 (1958).
- Deutsches Institut für Normung e.V. (Hrsg.): Bestimmung von Vitamin C mit HPLC. Beuth, Berlin-Wien-Zürich, (2001).
- Dietz, J.M.; Kantha, S.S.; Erdman, J.W., Jr.: Reversed-phase HPLC analysis of  $\alpha$ - and  $\beta$ -carotene from selected raw and cooked vegetables. *Plant Foods Human Nutr.* 38, 333-341 (1988).
- Dueñas, M.; Estrella, I.; Hernández, T.: Occurrence of phenolic compounds in the seed coat and the cotyledon of peas (*Pisum sativum* L.). *Eur. Food Res. Technol.* 219, 116-123 (2004).
- DuPont, M.S.; Mondin, Z.; Williamson, G.; Price, K.R.: Effect of variety, processing, and storage on the flavonoid glycoside content and composition of lettuce and endive. *J. Agric. Food Chem.* 48, 3957-3964 (2000).
- Edelenbos, M.; Christensen, L.P.; Grevsen, K.: HPLC determination of chlorophyll and carotenoid pigments in processed green pea cultivars (*Pisum sativum* L.). *J. Agric. Food Chem.* 49, 4768-4774 (2001).
- Edwards, A.J.; Nguyen, C.H.; You, C.-S.; Swanson, J.E.; Emenhiser, C.; Parker, R.S.:  $\alpha$ - and  $\beta$ -carotene from a commercial carrot puree are more bioavailable to humans than from boiled-mashed carrots, as determined using an extrinsic stable isotope reference method. *J. Nutr.* 132, 159-167 (2002).
- El-Hattab, A.H.; Hassan, E.A.; Shaban, S.A.; Abo-El-Suod, M.R.: Effect of some growth factors and glyphosate herbicide on pigments and protein in faba beans (*Vicia faba* L.). *J. Agron. Crop Sci.* 158, 250-258 (1987).

- Emenhiser, C.; Englert, G.; Sander, L.C.; Ludwig, B.; Schwartz, S.J.: Isolation and structural elucidation of the predominant geometrical isomers of  $\alpha$ -carotene. *J. Chromatogr. A* 719, 333-343 (1996).
- Emenhiser, C.; Simunovic, N.; Sander, L.C.; Schwartz, S.J.: Separation of geometrical carotenoid isomers in biological extracts using a polymeric C30 column in reversed-phase liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 44, 3887-3893 (1996).
- Eriksson, C.; Sydow, E. von: Postharvest metabolism of green peas (*Pisum sativum*) with special reference to glutamic acid and related compounds. *J. Food Sci.* 29 58-64 (1964).
- Erlund, I.; Kosonen, T.; Alfthan, G.; Mäenpää, J.; Perttunen, K.; Kenraali, G.; Parantainen, J.; Aro, A.: Pharmacokinetics of quercetin from quercetin Aglykone and rutin in healthy volunteers. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 56, 545-553 (2000).
- Escarpa, A.; González, M.C.: Identification and quantification of phenolics from green beans by high-performance liquid chromatography. *Chromatographia* 52, 33-38 (2000).
- Europäische Norm Lebensmittel - Bestimmung von Vitamin C mit HPLC. Entwurf prEN 14130. Brüssel 2001.
- Ewald, C; Fjellkner-Modig, S; Johansson, K; Sjöholm, I; Åkesson, B.: Effect of processing on major flavonoids in processed onions, green beans, and peas. *Food Chem.* 64, 231-235 (1999).
- Ezell, B.D.; Wilcox, M.S.; Crowder, J.N.: Pre- and post-harvest changes in carotene, total carotenoids, and ascorbic acid content of sweet potatoes. *Plant Physiol.* 27, 355-369 (1952).
- Favati, F.; King, J.W.; Friedrich, J.P. and Eskins, K.; Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of carotene and lutein from leaf protein concentrates. *Journal of Food Science* 53, 1532-1536 (1988).
- Favell, D.J.: A comparison of the vitamin C content of fresh and frozen vegetables. *Food Chem.* 62, 59-64 (1989).
- Fennema, O.: An over-all view of low temperature food preservation. *Cryobiol.* 3, 197-213 (1966).
- Fennema, O.: Freezing preservation. *Food Sci.* 4, 173-215 (1975).
- Fennema, O.: Loss of vitamins in fresh and frozen foods. *J. Food Technol.* 31, 623-632 (1977).
- Ferrerres, F.; Castaner, M.; Tomas-Barberan, F.A.: Acylated flavonol glykosides from spinach leaves (*Spinacia oleracea*). *Phytochem.* 45, 1701-1705 (1997).
- Fiksdahl, A.; Mortensen, J.T.; Liaaen-Jensen, S.: High-pressure liquid chromatography of carotenoids. *J. Chromatogr.* 157, 111-117 (1977).
- Foda, Y.H.; El-Waraki, A.; Zaid, M.A.: Effect of dehydration, freeze-drying and packaging on the quality of green beans. *Food Technol.* 21, 1021-1024 (1967).
- Folin, O.; Marenzi, A.D.: Tyrosine and tryptophane determinations in one-tenth gram of protein. *J. Biol. Chem.* 83, 89-102 (1929).
- Franke, A.A.; Custer, L.J.; Cerna, C.M.; Narala, K.K.: Quantitation of phytoestrogens in legumes by HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 42, 1905-1913 (1994).
- Frankel, E.N.; Meyer, A.S.: The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *J. Sci. Food Agric.* 80, 1925-1941 (2000).

- Fritz, D.; Habben, J.: Einfluß des Erntezeitpunktes auf die Qualität verschiedener Möhrensorten. The quality of different carrot cultivars as affected by the harvesting date. *Gartenbauwiss.* 42, 185-190 (1977).
- Fuchigami, M.; Hyakumoto, N.; Miyazaki, K.: Programmed freezing affects texture, pectic composition and electron microscopic structures of carrots. *J. Food Sci.* 60, 137-141 (1995).
- Gaziano, J.M.; Hatt, A.; Flynn, M.; Johnson, E.J.; Krinsky, N.I.; Ridker, P.M.; Hennekens, C.H.; Frei, B.: Supplementation with  $\beta$ -carotene in vivo and in vitro does not inhibit low density lipoprotein oxidation. *Atherosclerosis* 112, 187-195 (1995).
- Gee, J.M.; DuPont, M.S.; Rhodes, M.J.; Johnson, I.T.: Quercetin glucosides interact with the intestinal glucose transport pathway. *Free Radical Biol. Med.* 25, 19-25 (1998).
- Giannakourou, M.C.; Taoukis, P.S.: Systematic application of time temperature integrators as tools for control of frozen vegetable quality. *J. Food Sci.* 67, 2221-2228 (2002).
- Granado, F.; Olmedilla, B.; Blanco, I.; Rojas-Hidalgo, E.: Carotenoid composition in raw and cooked spanish vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 40, 2135-2140 (1992).
- Guerrant, N.B.; Vavich, M.G.; Fardig, O.B.; Ellenberger, H.A.; Stern, R.M.; Coonen, N.H.: Nutritive value of canned foods. Effect of duration and temperature of blanch on vitamin retention by certain vegetables. *Ind. Eng. Chem.* 39, 1000-1008 (1947).
- Guerrant, N.B.; O'Hara, M.B.: Vitamin retention in peas and lima beans after blanching, freezing, processing in tin and in glass, after storage and after cooking. *Food Technol.* 7, 473-477 (1953).
- Gugler, R.; Leschik, M.; Dengler, H.J.: Disposition of quercetin in man after simple oral and intravenous doses. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 9, 229-234 (1975).
- Gutschmidt, J.: Nährwert und organoleptische Veränderungen beim Gefrieren und der Gefrierlagerung. *Wiss. Veröffentlichung der Deutschen Gesellschaft für Ernährung* 10, 163-168 (1964).
- Gutschmidt, J.: Tiefgefrorene Lebensmittel. *Z. Allgemeinmedizin* 45, 1523-1529 (1969).
- Halvorsen, B.L.; Holte, K.; Myhrstad, M.C.W.; Barikmo, I.; Hvattum, E.; Remberg, S.F.; Wold, A.-B.; Haffner, K.; Baugerod, H.; Andersen, L.F.; Moskaug, J.O.; Jacobs Jr., D.R.; Blomhoff, R.: A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *J. Nutr.* 132, 461-471 (2002).
- Harborne, J.B.: Plant polyphenols XIV. Characterization of flavonoid glykosides by acidic and enzymic hydrolyses. *Phytochem.* 4, 107-120 (1965).
- Hardigree, A.A.; Epler, J.L.: Comparative mutagenesis of plant flavonoids in microbial systems. *Mutat Res.* 58, 231-239 (1978).
- Harper, D.B.; Smith, H.: Analytical and preparative thin-layer chromatography of flavonol glykosides and their acylated derivatives from pea tissues. *J. Chrom.* 41, 138-140 (1969).
- Harper, D.B.; Austin, D.J.; Smith, H.: The photocontrol of precursor incorporation into the pismus sativum flavonoids. *Phytochem.* 9, 497-505 (1970).
- Hart, D.J.; Scott, K.J.: 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 Chem.* 54, 101-111 (1995).

- Hein, G.: Tiefkühlkost. *Ther. Ggw.* 35, 1458-1471 (1971).
- Heinonen, M.I.: Carotenoids and provitamin A activity of carrot (*Daucus carota* L.). *J. Agric. Food Chem.* 38, 609-612 (1990).
- Heiss, R.; Eichner, K.: Haltbarmachen von Lebensmitteln: chem., physikal. u. mikrobiol. Grundlagen d. Verfahren. Springer, Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo, 233 S (1984).
- Hempel, J.; Böhm, H.: Quality and quantity of prevailing flavonoid glykosides of yellow and green french beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Agric. Food Chem.* 44, 2114-2116 (1996).
- Henry, L.K.; Puspitasari-Ninaber, N.L.; Jarén-Galán, M.; Breemen, R.B. van; Catigiani, G.L.; Schwartz, S.J.: Effects of ozone and oxygen on the degradation of carotenoids in an aqueous model system. *J. Agric. Food Chem.* 48, 5008-5013 (2000).
- Herrmann, K.: Einfluß von Lagerung, Zubereitung und Konservierung auf den Vitamingehalt von Gemüse. *Ernaehr. Umsch.* 15, 81-83 (1968).
- Herrmann, K.: Tiefgefrorene Lebensmittel, Band 12 der Grundlagen und Fortschritte der Lebensmitteluntersuchung, Hrsg. Schormüller, J., Melchior, H., Paul Parey Verlag, Berlin-Hamburg, 249 S. (1970).
- Herrmann, K.: Über tiefgefrorenes Gemüse und Obst. *Zahnärztl. Mitt.* 62, 79-82 (1972).
- Herrmann, K.: Flavonols and flavones in food plants: a review. *J. Food Technol.* 11, 433-448 (1976).
- Hertog, M.G.L.; Hollman, P.C.H.; Venema, D.P.: Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *J. Agric. Food Chem.* 40, 1591-1598 (1992).
- Hertog, M.G.L.; Hollman, P.C.H.; Katan, M.B.: Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J. Agric. Food Chem.* 40, 2379-2383 (1992).
- Hertog, M.G.L.; Hollman, P.C.H.; Putte, B. van de: Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. *J. Agric. Food Chem.* 41, 1242-1246 (1993).
- Hideaki, O.; Tsui, S.-Y.; Ishii, T.; Nogata, Y.; Kusumoto, K.: High-performance liquid chromatographic determination of physiologically functional 5 flavanoid aglycones in Japanese plant food materials. In: 2<sup>nd</sup> International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (ECSOC-2), <http://www.mmpi.org/ecsoc/>, September 1-30 (1998).
- Hollman, P.C.H.; Dijkshoorn, H.; Venema, D.P.; Katan, M.B.: Proceedings of the ILSI international symposium on antioxidants and disease prevention, Sweden, 30.6-30.7.1993.
- Hollman, P.C.H.; Vries, J.H.M. de; Leeuwen, S.D. van; Mengelers, M.J.B.; Katan, M.B.: Absorption of dietary quercetin glykosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *Am. J. Clin. Nutr.* 62, 1276-1282 (1995).
- Hollman, P.C.H.; Gaag, M. v.d.; Mengelers, M.J.B.; Trijp, J.M.P. van; Vries, J.H.M. de; Katan, M.B.: Absorption and disposition kinetics of the dietary antioxidant quercetin in man. *Free Rad. Biol. Med.* 21, 703-707 (1996).
- Hollman, P.C.H.; Trijp, J.M.P. van; Buysman, M.N.C.P.; Gaag, M.S. v.d.; Mengelers, M.J.B.; Vries, J.H.M. de; Katan, M.B.: Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. *FEBS Letters* 418, 152-156 (1997).

- Holmquist, J.W.; Clifcorn, L.E.; Heberlein, D.G.; Schmidt, C.F.; Ritche L.E.C.; Steam blanching of peas. *Food Technol.* 8, 437-441 (1954).
- Höner, K.; Cervellati, R.: Measurements of the antioxidant capacity of fruits and vegetables using the BR reaction method. *Eur. Food. Res. Technol.* 215, 437-442 (2002).
- Hötzel, D.; Zittermann, A.: Qualitätsvergleich zwischen frischen und tiefgekühlten Lebensmitteln. *Ernaehr. Umsch.* 39, 95-101 (1992).
- Hötzel, D.; Zittermann, A.: Vitamin C - Gesundheit und Frische aus dem Eis. Pressemitteilung des Deutschen Tiefkühlinstitutes e.V. Köln (1994).
- Hötzel, D.; Zittermann, A.: Qualitätsunterschiede zwischen Tiefkühlkost und sogenannten frischen Lebensmitteln. Sonderdruck aus der Vortragsreihe der 46. Hochschultagung der Landw. Fakultät der Universität Münster vom 22. Februar 1994, Münster, S. 171-182 (1994).
- Howard, L.A.; Wong, A.D.; Perry, A.K.; Klein, B.P.:  $\beta$ -carotene and ascorbic acid retention in fresh and processed vegetables. *J. Food Sci.* 64, 929-936 (1999).
- Hsieh Y.-P.C.; Karel M.: Rapid extraction and determination of  $\alpha$ - and  $\beta$ -carotenes in foods. *J. Chromatogr.* 259, 515-518 (1983).
- Huang, C.-J.; Tang, Y.-L.; Chen, C.-Y.; Chen, M.-L.; Chu, C.-H.; Hseu, C.-T.: The bioavailability of  $\beta$ -carotene in stir- or deep-fried vegetables in men determined by measuring the serum response to a single ingestion. *J. Nutr.* 130, 534-540 (2000).
- Huang, D.; Ou, B.; Hampsch-Woodill, M.; Flanagan, J.A.; Deemer, E.K.: Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated  $\alpha$ -cyclodextrin as the solubility enhancer. *J. Agric. Food Chem.* 50, 1815-1821 (2002).
- Huang, D.; Ou, B.; Hampsch-Woodill, M.; Flanagan, J.A.; Deemer, E.K.: High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *J. Agric. Food Chem.* 50, 4437-4444 (2002).
- Hudson, M.A.; Sharples, V.J.; Pickford, E.; Leach, M.: Quality of home frozen vegetables. *J. Food Technol.* 2, 95-103 (1974).
- Hunter, K.J.; Fletcher, J.M.: The antioxidant activity and composition of fresh, frozen, jarred and canned vegetables. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 3, 399-406 (2002).
- Hurst, W.J. (Hrsg.): Methods of analysis for functional foods and nutraceuticals. Functional foods and nutraceuticals series, CRC Press, Boca Raton (Fla.), 400 S., (2002).
- Hvattum, E.; Ekeberg, D.: Study of the collision-induced radical cleavage of flavonoid Glykosides using negative electrospray ionization tandem quadrupole mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* 38, 43-49 (2003).
- Isler, O.; Brubacher, G.; Kiss, J.: Vitamin C. Vitamine II: Wasserlösliche Vitamine, 1. Aufl., G. Thieme Verlag, Stuttgart (1988).
- Ismail, A.; Marjan, Z.M.; Foong, C.W.: Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chem.* 87, 581-586 (2004).
- Iwase, H.; Ono, I.: Determination of ascorbic acid in soups by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *J. Agric. Food Chem.* 45, 4664-4667 (1997).

- Johjima, T.; Ogura, H.: Analysis of carotenoids by thin-layer chromatography and a *cis*-form of  $\alpha$ -carotene newly identified in tangerine tomato. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 52, 200-209 (1983).
- Jurics, E.W.: Vergleichende Untersuchungen über den Vitamin C-Gehalt von tiefgekühltem und frischem Gemüse im rohen und gekochten Zustand. *Nahrung* 14, 107-114 (1970).
- Kader, A.A.: Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres of fruits and vegetables. *Food Technol* 40, 99-104 (1986).
- Kader, A.A.: Biological bases of O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> effects on post-harvest-life of horticultural perishables. Saltveit, M.E. (Hrsg.), Proceedings of the international controlled atmosphere research conference, 4. Aufl., Davis (University of California), 160-163 (1997).
- Kähkönen, M.P.; Hopia, A.I.; Vuorela, H.J.; Rauha, J.-P.; Kalevi Pihlaja, K.; Kujala T.S.; Heinonen, M.: Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 47, 3954-3962 (1999).
- Kalra, S.K.; Tandon, D.K.: Ripening-behaviour of 'Dashehari' mango in relation to harvest period. *Sci. Hort.* 19, 263-269 (1983).
- Keating, R.W.; Haddad, P.R.: Simultaneous determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid by reversed-phase ion-pair high-performance liquid chromatography with precolumn derivatization. *Chromatogr.* 245, 249-255 (1982).
- Khachik, F.; Beecher, G.R.; Whittaker, N.F.: Separation, identification, and quantification of the major carotenoid and chlorophyll constituents in extracts of several green vegetables by liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 34, 603-616 (1986).
- Khachik, F.; Beecher, G.: Application of a C-45- $\beta$ -carotene as an internal standard for the determination of carotenoids in yellow/orange vegetables by liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 35, 732-738 (1987).
- Khachik, F.; Askin, F.B.; Lai, K.: Distribution, bioavailability, and metabolism of carotenoids in humans. In: Bidlack, W.R. (Hrsg.): Phytochemicals. 66VMAL Conference, Lancaster (Maryland), USA, 77-96 (1988).
- Khachik, F.; Beecher, G.; Vanderslice, J.T.; Furrow, G.: Liquid chromatographic artifacts and peak distortion: sample-solvent interactions in the separation of carotenoids. *Anal. Chem.* 60, 807-811 (1988).
- Khachik, F.; Beecher, G.R.; Goli, M.B.: Separation, identification, and quantification of carotenoids in fruits, vegetables and human plasma by high performance liquid chromatography. *Pure Appl. Chem.* 63, 71-80 (1991).
- Khachik, F.; Englert, G.; Daitch, C.E.; Beecher, G.R.; Tonucci, L.H.; Lusby, W.R.: Isolation and structural elucidation of the geometrical isomers of lutein and zeaxanthin in extracts from human plasma. *J. Chromatogr.* 582, 153-166 (1992).
- Khan, N.A.; Khalil, J.K.; Khan, I.: Changes in the carotene content of carrots during maturity, processing and storage under different temperature conditions. *Pakistan J. Sci. R.* 27, 112-114 (1975).
- Kidmose et al., U.; Hansen, S.L.; Christensen, L.P.; Edelenbos, M.; Larsen, E.; Norbaek, R.: Effects of genotype, root size, storage, and processing on bioactive compounds in organically grown carrots (*Daucus carota* L.). *J. Food Sci.* 69, S388-S394 (2004).

- Kim, M.-J.; Oh, J.-M.; Cheon, S.-H.; Cheong, T.-K.; Lee, S.-H.; Choi, E.-O.; Lee, H.G.; Park, C.S.; Park, K.H.: Thermal inactivation kinetics and application of phospho- and galactolipid-degrading enzymes for evaluation of quality changes in frozen vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 49, 2241-2248 (2001).
- Kimura, M.; Rodriguez-Amaya, D.B.; Godoy, H.T.: Assessment of the saponification step in the quantitative determination of carotenoids and provitamins A. *Food Chem.* 35, 187-195 (1990).
- Kimura, M.; Rodriguez-Amaya, D.B.: Sources of errors in the quantitative analysis of food carotenoids by HPLC. *Arch. Latinoam. Nutr.* 49, 58-66 (1999).
- Kimura, M.; Rodriguez-Amaya, D.B.: Carotenoid composition of hydroponic leafy vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 51, 2603-2607 (1999).
- Kjeldsen, F.; Christensen, L.P.; Edelenbos, M.: Changes in volatile compounds of carrots (*Daucus carota* L.) during refrigerated and frozen storage. *J. Agric. Food Chem.* 51, 5400-5407 (2003).
- Klein, B.P.; Perry, A.K.: Ascorbic acid and vitamin A activity in selected vegetables from different geographical areas of the United States. *J. Food Sci.* 47, 941-948 (1982).
- Kopas-Lane, L.M.; Warthesen, J.J.: Carotenoid photostability in raw spinach and carrots during cold storage. *J. Food Sci.* 60, 773-776 (1995).
- Kramer, A.: Storage retention of nutrients. *Food Technol.* 28, 50-56 (1974).
- Krinsky, N.I.; Deneke, S.M.: The interaction of oxygen and oxy-radicals with carotenoids. *Journal of the National Cancer Institute (JNCI)* 69, 205-210 (1982).
- Krinsky, N.I.: Antioxidant functions of carotenoids. *Free Rad. Biol. Med.* 7, 617-635 (1989).
- Krinsky, N.I.: Carotenoids and cancer in animal models. *J. Nutr.* 119, 123-126 (1989).
- Krinsky, N.I.: Carotenoids as chemopreventive agents. *Prev. Med.* 18, 592-602 (1989).
- Kromidas, S.: Validierung in der Analytik, Wiley-VCH Verlag, Weinheim (1999).
- Kroon, P.; Williamson, G.: Perspective polyphenols: dietary components with established benefits to health? *J. Sci. Food Agric.* 85, 1239-1240 (2005).
- Kühnau, J.: The Flavonoids: a class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Rev. Nutr. Diet* 24, 117-191 (1976).
- Küpper, C.: Vitamine und ihre Bedeutung in verschiedenen Lebensphasen. 8. Wissenschaftliches Symposium der Gesellschaft für angewandte Vitaminforschung (GVf). *Ernährung im Fokus* 3, 16-19 (2003).
- Labuza, T.P.: Application of chemical kinetics to deterioration of foods. *J. Chem. Edu.* 61, 348-58 (1984).
- Land und Forst: Gemüseanbau weiter auf Wachstumskurs. Deutscher Landwirtschaftsverlag GmbH (Hrsg. und Verlag), online-Ausgabe 17.02.2005, Hannover, 2005. <http://www.landundforst.de/sro.php?redid=53932&&SID=879b25dbeef3bb203f5b584c95002d07>
- Lane, R.H.; Boschung, M.D.; Abdel-Ghany, M.: Ascorbic acid retention of selected vegetables blanched by microwave and conventional methods. *J. Food Qual.* 8, 139-144 (1985).

- Lebensmittelbrief (ohne Autor): Kühl- und TK-Lagerung von Lebensmitteln im Einzelhandel. *Lebensmittelbrief* 10, 141-145 (1999).
- Leclerc, J.; Miller, M.C.: Evolution des teneurs minérales et vitaminiques de la carotte au cours de la croissance et selon le mode de stockage. *Agrochimica* 36, 19-24 (1992).
- Lee, F.A.; Tapley, W.T.: A comparison of storage by freezing preservation and storage in the root cellar. *Food Technol.* 2, 307-309 (1947).
- Lee, F.A.; Mattick, L.R.: Fatty acids of the lipids of vegetables. *J. Food Sci.* 26, 273-275 (1961).
- Lee, C.Y.; Massey, L.M. Jr.; Buren, J.P. van: Effects of post-harvest handling and processing on vitamin content of peas. *J. Food Sci.* 47, 961-964 (1982).
- Lee, C.Y.: Changes in carotenoid content of carrots during growth and post-harvest storage. *Food Chem.* 20, 285-293 (1986).
- Lee, H.S.: Objective measurement of red grapefruit juice color. *J. Agric. Food Chem.* 48, 1507-1511 (2000).
- Lee, S.K.; Kader, A.A.: Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biol. and Technol.* 20, 207-220 (2000).
- Lehnard, A.: Anteil der L-Dehydroascorbinsäure am Gesamt-Vitamin C-Gehalt pflanzlicher Produkte. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 169, 82-87 (1979).
- Lesellier, E.; Tchalpa, A.: Analysis of carotenoids by high-performance liquid chromatography and supercritical fluid chromatography. *J. Chrom.* 633, 9-23 (1993).
- Lessin, W.J.; Catigani, G.L.; Schwartz, S.J.: Quantification of cis-trans isomers of provitamin A carotenoids in fresh and processed fruits and vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 45, 3728-3732 (1997).
- Liptay-Reuter; Ptach, C.: Sensorische Methoden und ihre statistische Auswertung. Arotop Schriftenreihe 1, NGV Verlag, Dexheim (1998).
- Livny, O.; Reifen, R.; Levy, I.; Madar, Z.; Faulks, R.; Southon, S.; Schwartz, B.:  $\alpha$ -carotene bioavailability from differently processed carrot meals in human ileostomy volunteers. *Eur. J. Nutr.* 42, 338-345 (2003).
- Lykkesfeldt, J.: Determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in biological samples by high-performance liquid chromatography using subtraction methods. *Anal. Biochem.* 282, 89-93 (2000).
- Maaßen, A.: Sensorische Unterschiede und Veränderungen bei Lagerung ausgewählter frischer und tiefgefrorener Gemüsearten, Hochschule für Angewandte Wissenschaften, Hamburg, Dissertation, (2006).
- MacGregor, J.T.; Jurd, L.: Mutagenicity of plant flavonoids: structural requirements for mutagenic activity in *Salmonella typhimurium*. *Mutat Res.* 54, 297-309 (1978).
- Macz-Pop, G.A.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Pérez-Alonso, J.J.; González-Paramás, A.M.: Natural occurrence of free anthocyanin aglycones in beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chem.* 94, 448-456 (2006).



- Madsen, H.L.; Nielsen, B.R.; Bertelsen, G.; Skibsted, L.H.: Screening of antioxidant activity of spices. A comparison between assays based on ESR spin trapping and electrochemical measurement of oxygen consumption. *Food Chem.* 57, 331-337 (1996).
- Magruder, R.: Growing conditions have an important effect on beet and carrot pigmentation. *Canning age* 22, 93-96 (1941).
- Malin, J.D.: Total folate activity in Brussels sprouts: the effects of storage, processing, cooking and ascorbic acid content. *J. Food Technol.* 12, 623-632 (1977).
- Martin, S.: Nutrient value of frozen vegetables as compared to fresh and canned. *Quick frozen foods* 11, 34-245 (1977).
- Martins, R.C.; Silva, C.L.M.: Kinetics of frozen stored green bean (*Phaseolus vulgaris* L.) quality changes: Texture, vitamin C, reducing sugars, and starch. *J. Food Sci.* 68, 2232-2237 (2003).
- Marx, M.; Schieber, A.; Carle, R.: Quantitative determination of carotene stereoisomers in carrot juices and vitamin supplement (ATBC) drinks. *Food Chem.* 70, 403-408 (2000).
- Marx, M.; Stuparic, M.; Schieber, A.; Carle, R.: Effects of thermal processing on *trans-cis*-isomerization of  $\beta$ -carotene in carrot juices and carotene-containing preparations. *Food Chem.* 83, 609-617 (2003).
- McCance, M.: The Composition of Foods. 5. Aufl., Widowson's Verlag Cambridge (1991).
- McKillican, M.E.: The stability of carotene in carrots during storage. *Sci. Agr.* 28, 183-184 (1948).
- Meier, J.: Einsatz von PLS Regression zur Auswertung von Daten aus der Sensorik. In: Praxishandbuch Sensorik in der Produktentwicklung und Qualitätssicherung, (Hrsg.): Busch-Stockfish, M., Behr's Verlag, Hamburg (2002).
- Meyer, A.H. (Hrsg.): Lebensmittelrecht. Textsammlung mit Anmerkungen und Sachverzeichnis. Stand: 100. Ergänzungslieferung, Verlag C.H. Beck, München, Juni 2005, siehe: Leitsätze 2/42 für tiefgefrorenes Obst und Gemüse und Verordnung über tiefgefrorene Lebensmittel, TLMV.
- Mills, M.B.; Damron, C.M.; Roe, J.H.: Ascorbic acid, dehydroascorbic acid, and diketogulonic acid. *Anal. Chem.* 21, 707-709 (1949).
- Mittler, H.: Tiefkühlgemüse, Reihe 365 Tage frische Vitamine Nr. 39, *Lebensmittelpraxis* 21, 1-6 (1998).
- Morrison, M.H.: The vitamin C and thiamin content of quick frozen peas. *J. Food Technol.* 9, 491-500 (1974).
- Morrison, M.H.: The vitamin C content of quick frozen green beans. *J. Food Technol.* 10, 19-28 (1975).
- Mullen, W.; Stewart, A.J.; Lean, M.E.J.; Gardner, P.; Duthie, G.G.; Crozier, A.: Effect of freezing and storage on the phenolics, ellagitannins, flavonoids, and antioxidant capacity of red raspberries. *J. Agric. Food Chem.* 50, 5197-5201 (2002).
- Negi, P.S.; Roy, S.K.: Effect of low-cost storage and packaging on quality and nutritive value of fresh and dehydrated carrots. *J. Sci. Food Agric.* 80, 2169-2175 (2000).

- Nicolle, C.; Simon, G.; Rock, E.; Amouroux, P.; Rémésy, C.: Genetic variability influences carotenoid, vitamin, phenolic, and mineral content in white, yellow, purple, orange, and dark-orange carrot cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 129, 523-529 (2004).
- Niendorf, G.; Nachtigall, M.; Ehwald, R.: Physiologische Parameter und Resistenz bei lagernden Möhren unter Bedingungen starker Transpirationsbelastung. Nacherntphysiologie. *Colloquia Pflanzenphysiologie der Humboldt-Universität zu Berlin* 6, 133-141 (1982).
- Nogata, Y.; Ohta, H.; Yoza, K.-I.; Berhow, M.; Hasegawa, S.: High-performance liquid chromatographic determination of naturally occurring flavonoids in citrus with a photodiode-array detector. *J. Chromatogr. A* 667, 59-66 (1994).
- Nultsch, W.: Allgemeine Botanik, 10. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart, 602 S. (1996).
- Nursal, B.; Yücecan, S.: Vitamin C losses in some frozen vegetables due to various cooking methods. *Nahrung* 44, 451-453 (2000).
- Nuutila, A.M.; Kammiovirta, K.; Oksman-Caldentey, K.-M.: Comparison of methods for the hydrolysis of flavonoids and phenolic acids from onion and spinach for HPLC analysis. *Food Chem.* 76, 519-525 (2002).
- Okamura, M.: An improved method for determination of L-ascorbic acid and L-dehydroascorbic acid in blood plasma. *Clin. Chim. Acta*, 103, 259-268 (1980).
- Ong, A.S.H.; Tee, E.S.: Natural sources of carotenoids from plants and oils. *Meth. Enzymol.* 213, 142-167 (1992).
- Ou, B.; Huang, D.; Hampsch-Woodill, M.; Flanagan, J.A.; Deemer, E.K.: Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. *J. Agric. Food Chem.* 50, 3122-3128 (2002).
- Panalaks, T.; Murray, T.K.: The effect of processing on the content of carotene isomers in vegetables and peaches. *J. Inst. Can. Technol. Aliment.* 3, 145-151 (1970).
- Park, Y.W.: Effect of freezing, thawing, drying, and cooking on carotene retention in carrots, broccoli and spinach. *J. Food Sci.* 52, 1022-1025 (1987).
- Pepkowitz, L.P.: The stability of carotene in acetone and petroleum ether extracts of green vegetables. *J. Biol. Chem.* 149, 465-471 (1943).
- Plumb, G.W.; Price, K.R.; Williamson, G.: Antioxidant properties of flavonol glycosides from green beans. *Redox Report* 4, 123-127 (1999).
- Ponne, C.T.; Baysal, T.; Yuksel, D.: Blanching leafy vegetables with electromagnetic energy. *J. Food Sci.* 59, 1037-1059 (1994).
- Price, K.R.; Bacon, J.R.; Rhodes, M.J.C.: Effect of storage and domestic processing on the content and composition of flavonol glycosides in onion (*Allium cepa*). *J. Agric. Food Chem.* 45, 938-942 (1997).
- Price, K.R.; Colquhoun, I.J.; Barnes, K.A.; Rhodes, M.J.C.: Composition and content of flavonol glycosides in green beans and their fate during processing. *J. Agric. Food Chem.* 46, 4898-4903 (1998).
- Procházka, Ž.: In: Vitamine, Chemie, Biochemie 1, Fragner, J. (Hrsg.), VEB Gustav Fischer Verlag, Jena (1964).

- Proteggente, A.R.; Pannala, A.S.; Paganga, G.; Buren, L. van; Wagner, E.; Wiseman, S.; Put, F. van de; Dacombe, C.; Rice-Evans, C.A.: The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free Rad. Res.* 36, 217-233 (2002).
- Pryor, W.A.; Govindan, C.H.: Decomposition of triphenyl phosphite ozonide in the presence of spin traps. *J. Org. Chem.* 45, 4679-4652 (1981).
- Pryor, W.A.; Cornicelli, J.A.; Devall, L.J.; Tait, B.; Trivedi, B.K.; Witiak, D.T.; Wu, M.: A rapid screening test to determine the antioxidant potencies of natural and synthetic antioxidants. *J. Org. Chem.* 58, 3521-3532 (1993).
- Purcell, A.E.; Walter, W.M. jr.; Thompkins, W.T.: Relationship of vegetable color to physical state of the carotenes. *J. Agric. Food Chem.* 17, 41-42 (1969).
- Rababah, T.M.; Ereifej, K.I.; Howard, L.: Effect of ascorbic acid and dehydration on concentrations of total phenolics, antioxidant capacity, anthocyanins, and color in fruits. *J. Agric. Food Chem.* 53, 4444-4447 (2005).
- Ramesh, M.N.; Wolf, W.; Tevini, D.; Bognár, A.A.: Microwave blanching of vegetables. *J. Food Sci.*, 67, 390-398 (2002).
- Reeve, R.M.: Changes in tissue composition in dehydration of certain fleshy root vegetables. *Food Res.* 8, 146-155 (1943).
- Reeve, R.M.: Microscopy of the oils and carotene bodies in dehydrated carrots. *Food Res.* 8, 137-155 (1943).
- Reid, D.S.; Kotte, K.; Kilmartin, P.; Young, M.: A new method for accelerated shelf-life prediction for frozen foods. *J. Sci. Food Agric.* 83, 1018-1021 (2003).
- Rice-Evans, C.A.: Plant polyphenols: free radical scavengers or chain-breaking antioxidants? *Biochem. Soc. Symp.* 61, 103-116 (1995).
- Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J.; Bolwell, P.G.; Bramley, P.M.; Pridham, J.B.: The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Rad. Res.* 22, 375-383 (1995).
- Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J.; Paganga, G.: Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.* 20, 933-956 (1996).
- Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J.: Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochem. Soc. Transact.* 24, 790-795 (1996).
- Rock, C.L.; Lovalvo, J.L.; Emenhiser, C.; Ruffin, M.T.; Flatt, S.W.; Schwartz, S.J.: Bioavailability of  $\beta$ -carotene is lower in raw than in processed carrots and spinach in women. *J. Nutr.* 128, 913-916 (1998).
- Rodriguez-Amaya, D.B.; Kimura, M.; Godoy, H.T.; Arima, H.K.: Assessment of provitamin A determination by open column chromatography/visible absorption spectrophotometry. *J. Chromatogr. Sci.* 26, 624-629 (1988).
- Rodriguez-Amaya, D.B.: Carotenoids and food preparation: the retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed, and stored foods. [www.mostproject.org/carrots2.pdf](http://www.mostproject.org/carrots2.pdf) Stand 21.10.2003 (1997)
- Rosenfeld, H.J.; Aaby, K.; Lea, P.: Influence of temperature and plant density on sensory quality and volatile terpenoids of carrot (*Daucus carota* L.) root. *J. Sci. Food Agric.* 82, 1384-1390 (2002).

- Rouchaud, J.; Moons, C.; Meyer, J.A.: Effects of pesticide treatments on the carotenoid pigments of lettuce. *J. Agric. Food Chem.* 32, 1241-1245 (1984).
- Russell, W.R.; Scobbie, L.; Chesson, A.: Structural modification of phenylpropanoid-derived compounds and the effects on their participation in redox processes. *Bioorg. & Medicinal Chem.* 13, 2537-2546 (2005).
- Rygg, G.L.: Changes in carotenoid content of harvested carrots. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 54, 307-310 (1949).
- Salah, N.; Miller, N.J.; Paganga, G.; Tijburg, L.; Bolwell, G.P.; Rice-Evans, C.: Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Arch. Biochem. Biophys.* 322, 339-346 (1995).
- Salunkhe, D.K.; Desai, B.B.: Root vegetable. Postharvest biotechnology of vegetables. CRC press, Boca Rato (Fla.), 90-96 (1984).
- Sánchez-Mata et al., M.C.; Cámara-Hurtado, M.; Díez-Marqués, C.; Torija-Isasa, M.E.: Comparison of high-performance liquid chromatography and spectrofluorimetry for vitamin C analysis of green beans (Phaseolus vulgaris L.). *Eur. Food. Res. Technol.* 210, 220-225 (2000).
- Sánchez-Mata et al., M.C.; Cámara, M.; Díez-Marqués, C.: Extending shelf-life and nutritive value of green beans (Phaseolus vulgaris L.), by controlled atmosphere storage: macronutrients. *Food Chem.* 80, 309-315 (2003).
- Sánchez-Mata et al., M.C.; Cámara, M.; Díez-Marqués, C.: Extending shelf-life and nutritive value of green beans (Phaseolus vulgaris L.), by controlled atmosphere storage: micronutrients. *Food Chem.* 80, 317-322 (2003).
- Sánchez-Moreno, C.; Plaza, L.; Ancos, B. de; Cano, M.P.: Vitamin C, provitamin A carotenoids and other carotenoids in high-pressurized orange juice during refrigerated storage. *J. Agric. Food Chem.* 51, 647-653 (2003).
- Schlesier, K.; Harwat, M.; Böhm, V.; Bitsch, R.: Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. *Free Rad. Res.* 36, 177-187 (2002).
- Schmidt-Lorenz, W.: Tiefgefrorene Lebensmittel - hygienisch sichere Frischprodukte!? *tk-report* 5, 10-16 (1991).
- Seljåsen, R.; Hoftun, H.; Selliset, J.; Bengtsson, G.B.: Effects of washing and packing on sensory and chemical parameters in carrots (Daucus carota L.). *J. Sci. Food Agric.* 84, 955-965 (2004).
- Selman, J.D.: Review – vitamin C losses from peas during blanching in water. *Food Chem.* 3, 189-197 (1978).
- Selman, J.D.: Vitamin retention during blanching of vegetables. *Food Chem.* 49, 137-147 (1994).
- Shaheen, A.; Morsi, M.K.S.; Bahgat, M.A.; Rofael, N.: Effect of processing on the  $\beta$ -carotene content of carrots. *J. Drug Res. Egypt* 9, 19-26 (1977).
- Shamaila, M.; Durance, T.; Girard, B.: Water blanching effects on headspace volatiles and sensory attributes of carrots. *J. Food Sci.* 61, 1191-1195 (1996).
- Shrikhande, A.J.; Francis, F.J.: Effect of flavonols on ascorbic acid and anthocyanin stability in model systems. *J. Food Sci.* 39, 904-906 (1974).

- Sies, H.; Stahl, W.: Lycopene and  $\beta$ -carotene. Bioavailability and biological effects. *Nato ASI series*, 296, 315-322 (1998).
- Simon, P.W.; Peterson, C.E.; Lindsay, R.C.: Correlations between sensory and objective parameters of carrot flavor. *J. Agric. Food Chem.* 28, 559-562 (1980).
- Simpson, K.L.: Relative value of carotenoids as precursors of vitamin A. *Proc. Nutr. Soc.* 42, 7-17 (1983).
- Smith, M.C.; Otis, L.: Carotene analysis of vegetables and fruits as a basis for prediction of their vitamin A value. *Food Res.* 6, 143-150 (1941).
- Speek, A.J.; Schrijver, J.; Schreurs, W.H.P.: Fluorometric determination of total vitamin C and total isovitamin C in foodstuffs and beverages by high-performance liquid chromatography with precolumn derivatization. *J. Agric. Food Chem.* 32, 352-355 (1984).
- Spieß, W.E.L.: Veränderung von Inhaltsstoffen während der Herstellung und der Lagerung von tiefgefrorenen Lebensmitteln - eine Literaturübersicht. *Int. Z. Lebensm. Technol. Verfahrenstech.* 35, 625-635 (1984).
- Spieß, W.E.L.: Veränderung von Inhaltsstoffen während der Herstellung und Lagerung von tiefgefrorenen Lebensmitteln (Teil II). *Int. Z. Lebensm. Technol. Verfahrenstech.* 36, 10-14 (1985).
- Spieß, W.E.L.: Frische auf Vorrat. Die richtige Verpackung bewahrt die Qualität. Ausführungen anlässlich der DTI-Tiefkühltagung vom 17.06.1992 in Hamburg (1992).
- Stahl, E.: Thin-layer chromatography – a laboratory handbook, 2. Aufl., Springer, Heidelberg (1969).
- Stahl, W.; Sies, H.: Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. *J. Nutr.* 122, 2161-2166 (1992).
- Statistisches Bundesamt (Hrsg.), Statistisches Jahrbuch 2005 für die Bundesrepublik Deutschland, SFG Servicecenter Fachverlag (part of the Elsevier group), Wiesbaden, (2005).
- Steffan, J.: Bestimmung von L-Ascorbinsäure und Dehydro-L-ascorbinsäure in Humanplasma und Leukozyten mit HPLC/UV und HPLC/EC: Methodenentwicklung, Validierung und Anwendung Paderborn, Dissertation (1999).
- Steinbuch, E.; Blanching as a quality indicating factor for frozen vegetables. *Koeltechnik – Klimaatregeling* 70, 96-98, (1977).
- Strube, M.; Haenen, G.R.M.M.; Berg, H. van den; Bast, A.: Pitfalls in a method for assessment of total antioxidant capacity. *Free Rad. Res.* 26, 515-521 (1997).
- Sulaeman, A.; Keeler, L.; Taylor, S.I.; Giraud, D.W.; Driskell, J.A.: Carotenoid content, physicochemical, and sensory qualities of deep-fried carrot chips as affected by dehydration/rehydration, antioxidant, and fermentation. *J. Agric. Food Chem.* 49, 3253-3261 (2001).
- Sulaeman, A.; Keeler, L.; Giraud, D. W.; Taylor, S. L.; Wehling, R. L.; Driskell, J. A.: Carotenoid content and physicochemical and sensory characteristics of carrot chips deep-fried in different oils at several temperatures. *J. Agric. Food Chem.* 66, 1257-1264 (2001).
- Sulaeman, A.; Keeler, L.; Giraud, D.W.; Taylor, S.L.; Driskell, J.A.: Changes in carotenoid, physicochemical and sensory values of deep-fried carrot chips during storage. *Int. J. Food Sci. Technol.* 38, 603-613 (2003).

- Suojala, T.: Variation in sugar content and composition of carrot storage roots at harvest and during storage. *Sci. Hort.* 85, 1-19 (2000).
- Surles, R.L.; Weng, N.; Simon, P.W.; Tanumihardjo, S.A.: Carotenoid profiles and consumer sensory evaluation of specialty carrots (*Daucus carota*, L.) of various colors. *J. Agric. Food Chem.* 52, 3417-3421 (2004).
- Sweeney, J.P.; Marsh, A.C.: Effect of processing on provitamin A in vegetables. *J. Am. Diet. Assoc.* 59, 238-243 (1971).
- Sweeney, J.P.; Marsh, A.C.: Liver storage of vitamin A in rats fed carotene stereoisomers. *J. Nutr.* 103, 20-25 (1973).
- Tan, B.: Analytical and preparative chromatography of tomato paste carotenoids. *J. Food Sci.* 53, 954-959 (1988).
- Taylor, A.W.; Barofsky, E.; Kennedy, J.A.; Deinzer, M.L.: Hop (*Humulus lupulus* L.) proanthocyanidins characterized by mass spectrometry, acid catalysis, and gel permeation chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 51, 4101-4110 (2003).
- Tillmans, J., Hirsch, P., Hackisch, J.: Das Reduktionsvermögen pflanzlicher Lebensmittel und seine Beziehung zum Vitamin C – V. Die antiskorbutische Wirkung verschiedener Auszüge der Gurke. *Z. Unters. Lebensm.* 63, 276-281 (1932).
- Timm, F., Herrmann, K.: Tiefgefrorene Lebensmittel, 2. Aufl., Hrsg.: Timm, F., Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin-Wien, 337 S., (1996)
- Trail, M.A.; Wahem, I.A.; Bizri, J.N.: Snap bean quality changed minimally when stored in low density polyolefin film package. *J. Food Sci.* 57, 977-979 (1992).
- Trenkle, K.: Frische Lebensmittel? *Verbraucherdienst* 21, 121-129 (1976).
- Trierweiler, B.; Bognár, A.; Tauschner, B.; Ertel, T.: Qualitätserhaltung von Frischgemüse und -obst bei der Lagerung im Kühlschrank. *Ernährung im Fokus* 3, 326-329 (2003).
- Troszynska, A.; Estrella, I.; López-Amóres, M.L.; Hernández, T.: Antioxidant activity of pea (*Pisum sativum* L.) seed coat acetone extract. *Lebensm. Wiss. Technol.* 35, 158-164 (2002).
- Tsukida, K.; Saiki, K.; Takii, T.; Koyama, Y.: Separation and determination of *cis/trans*- $\beta$ -carotenes by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 245, 359-364 (1982).
- Tsukida, K.: Separation of isomers of *cis*- $\beta$ -carotenes. *Meth. Enzymol.* 213, 291-298 (1992).
- Turkmen, N.; Sari, F.; Velioglu, Y.S.: The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chem.* 93, 713-718 (2005).
- Unilever Nutrition Centre, URL Vlaardingen. Frozen vegetables – it's your choice. *Diet and Health News* 1, 1-12 (1996).
- Vallejo, F.; Tomás-Barberán, F.; García-Viguera, C.: Health-promoting compounds in broccoli as influenced by refrigerated transport and retail sale period. *J. Agric. Food Chem.* 51, 3029-3034 (2003).
- Voet, D.; Voet, J.G.; Pratt, C.W.: Lehrbuch der Biochemie, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 1062 S (2002).
- Wanner, G.: Mikroskopisch-botanisches Praktikum. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 246 S (2004).

- Whalley, C.V. de; Rankin, S.M.; Houlst, J.R.S.; Jessup, W.; Leake, D.S.: Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. *Biochem. Pharmacol.* 39, 1743-1750 (1990).
- Williams, P.G.; Ross, H.; Miller, J.C.B.: Ascorbic Acid and 5-Methyltetrahydrofolate Losses in Vegetables with Cook/Chill or Cook/Hot-Hold Foodservice Systems. *J. Food Sci.* 60, 541-546 (1995).
- Yadav, S.K.; Sehgal, S.: Effect of home processing on ascorbic acid and  $\beta$ -carotene content of spinach (*Spinacia oleracea*) and amaranth (*Amaranthus tricolor*) leaves. *Plant Foods Human Nutr.* 47, 125-131 (1995).
- Zacharias, R.: Konservieren durch Gefrieren. *Tiefkühlpraxis* 3, 8-10 (1962).
- Zacharias, R.; Imhoff, U.; Strohecker, R. jr; Zobel, M.: Beitrag zur Bestimmung des Vitamin C-Gehalts in Lebensmitteln. Ergebnisse eines Ringversuchs. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 138, 65-75 (1968).
- Zacharias, R.: Vitaminerhaltung bei der Verarbeitung von Lebensmitteln im Haushalt und in der Großküche. *Wissenschaftliche Veröffentlichungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung* 19, 118-127 (1971).
- Zapata, M.; Garrido, J.L.: Influence of injection conditions in reversed-phase liquid chromatography of chlorophyll and carotene. *Chromatographia* 31, 589-594 (1991).
- Zechmeister, L.: Stereoisomeric provitamins A. *Vitamins and Hormones* 7, 57-81 (1949).
- Zechmeister, L.K.E.: *Cis-trans* isomeric carotenoids, vitamins A and arypolyenes. Springer, Wien, (1962).
- Zenk, Rechtsanwälte: Die "Frische"-Werbung im Licht der früheren Rechtsprechung. *Der Syndikus* 3-4/2000, 41-43 (2000).
- Zenk, Rechtsanwälte: Jüngste Rechtsprechung zur "Frische"-Werbung. *Der Syndikus* 5-6/2000, 38-40 (2000).
- Zozulevich, B.V.; Paukova, E.N.; Ka'yan, B.N.: Konservanaja i ovoscesusil'naja promyslennost' : naucnotechnicesij i proi. *Izd. Pisceprom* 11, 35-37 (1975).

## Persönliche Daten und tabellarischer Lebenslauf

Matthias Sebastian Berger  
\* 25/11/1976 in München  
Staatsangehörigkeit deutsch  
ledig

### Praktische Tätigkeit

- |                   |  |
|-------------------|--|
| 12/2005 – heute   | wissenschaftlicher Angestellter am Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Oberschleißheim  |
| 10/2002 – 09/2005 | wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie, Abteilung Lebensmittelchemie, Universität Hamburg   |
| 02/2002 – 08/2002 | praktische Ausbildung gemäß § 22 der Ausbildungs- und Prüfungsverordnung für staatlich geprüfte Lebensmittelchemiker am Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Dienststelle Oberschleißheim, Abschluss: 2. Staatsexamen: gut |
| 08/2001 – 01/2002 | praktische Ausbildung gemäß § 22 der Ausbildungs- und Prüfungsverordnung für staatlich geprüfte Lebensmittelchemiker am Zentralen Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr München   |
| 05/2001 – 07/2001 | Auslandsaufenthalt am University College Cork (UCC), Mitarbeit in der Forschungsbrauerei, Department of Food Science   |
| 02/2001 – 04/2001 | Krankheitsvertretung bei der Laborarztpraxis, Dr. Kragenings & Partner, Abteilung HPLC und AAS   |

### Studium

- |                   |  |
|-------------------|--|
| 10/1998 – 12/2000 | Hauptstudium Lebensmittelchemie an der Technischen Universität München, Institut für Lebensmittelchemie, Garching, Abschluss: 1. Staatsexamen: gut |
| 10/1996 – 9/1998  | Grundstudium Lebensmittelchemie an der Technischen Universität München, Vorstaatsexamen 20.10.1998: gut  |

### Schulausbildung

- |                   |   |
|-------------------|---|
| 08/1987 – 07/1996 | Michaeli-Gymnasium-München, Abschluss: Allgemeine Hochschulreife, gut (anschließend bis zum Studium: Aushilfstätigkeit bei der Bayerischen Versicherungskammer) |
| 09/1983 – 07/1987 | Grundschule Berg-am-Laim  |