

**Bioaktive Inhaltsstoffe mit gesundheitsförderndem Potenzial aus Nebenprodukten der Apfelsaftherstellung und der Apfelpektinengewinnung:
In-vitro-Charakterisierung des Wirkprofils und Anreicherung wertgebender Komponenten**

Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle I: (bis 31.03.2009)	Karlsruher Institut für Technologie (KIT) Institut für Angewandte Biowissenschaften Abteilung für Lebensmitteltoxikologie Prof. Dr. D. Marko
Forschungsstelle II:	Universität Hohenheim Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie FG Lebensmittel pflanzlicher Herkunft Prof. Dr. Dr. R. Carle/Dr. D. Kammerer
Forschungsstelle III: (ab 01.04.2009)	Universität Wien Institut für Lebensmittelchemie und Toxikologie Prof. Dr. D. Marko
Industriegruppe:	Verband der deutschen Fruchtsaft-Industrie e.V., Bonn
	Projektkoordinator: Prof. Dr. H.-U. Endreß, Herbstreith & Fox KG, Neuenbürg
Laufzeit:	2008 – 2010
Zuwendungssumme:	€ 240.490,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

Ausgangssituation:

Bei der Herstellung von Apfelsaft fallen jedes Jahr saisonal begrenzt große Mengen an Pressrückständen (Apfeltrester) an, deren Entsorgung insbesondere für die mehrheitlich kleinen und mittleren Unternehmen der Fruchtsafthersteller zunehmend zum Problem wird. Apfeltrester wurde bisher vorwiegend zur Tierfütterung sowie zur Gewinnung von Apfelpektin eingesetzt. In zunehmendem Maße werden bei der Produktion von Apfelsaft zur Steigerung der Saftausbeute die Apfelmaischen mit pektinolytischen Enzymen behandelt. Dadurch können die resultierenden Trester nicht mehr für die Pektinengewinnung herangezogen werden. Da sich klarer Apfelsaft nach wie vor großer Beliebtheit erfreut, fallen daneben im Verlauf der Apfelsaftklärung große Mengen an Schönungsstrub an, welche ebenso wie die aus der Gewinnung von Apfelpektin stammenden polyphenolhaltigen Ne-

benprodukte bisher noch keiner sinnvollen Nutzung zugeführt werden konnten. Die genannten Nebenprodukte stellen jedoch eine reichhaltige Quelle für potentiell gesundheitsfördernde bzw. chemopräventive Verbindungen dar, die in Lebensmitteln als natürliche funktionelle Inhaltsstoffe eingesetzt werden könnten.

Ziel des Forschungsvorhabens war es daher, chemopräventive Komponenten der Nebenprodukte der Apfelpektinengewinnung sowie des bei der Saftherstellung anfallenden Schönungsstrubes und der Trester aus Maischeenzymierungsprozessen durch eine aktivitätsgeleitete Fraktionierung zu identifizieren. Durch geeignete Aufreinigungs- und Fraktionierungsschritte im Labor- und Technikumsmaßstab sollten die relevanten Komponenten in entsprechenden Extrakten angereichert und auf ihre Wirkungen in vitro untersucht werden. Darüber hinaus sollte geklärt werden, inwieweit die gastrointestinale Passage

einen Einfluss auf die Wirkqualität der untersuchten Extrakte besitzt.

Die im Verlauf des Forschungsvorhabens gewonnenen Erkenntnisse sollten Wege zu einer zusätzlichen Wertschöpfung aus den im Rahmen der Saft- bzw. Pektinherstellung anfallenden Nebenprodukten aufzeigen und gleichzeitig zu einer Minderung der Abfallproblematik beitragen. Durch die Erschließung bislang ungenutzter Ressourcen sollte so auch die Marktposition mittelständischer Betriebe durch Erweiterung ihres Produktportfolios gestärkt werden.

Forschungsergebnis:

Um chemopräventiv wirksame Komponenten der Nebenprodukte der Apfelpektinengewinnung zu identifizieren, wurden aus dem bei der Produktion von Apfelpektin anfallenden Nebenprodukt polyphenolhaltige Extrakte im Labormaßstab gewonnen. Dabei wurde der Einfluss unterschiedlicher Lösungsmittel, unterschiedlicher pH-Werte sowie verschiedener polarer und apolarer Adsorberharze auf die Polyphenolausbeuten in den generierten Extrakten untersucht, um die Gewinnung bioaktiver Verbindungen zu optimieren. Als sehr vielversprechend erwies sich hierbei die sequentielle Extraktion mit Ethylacetat bei unterschiedlichen pH-Werten. Insbesondere ein mit Ethylacetat bei pH 7 gewonnener Extrakt zeigte nach 24 h Substanzinkubation eine starke Verringerung Menadion-induzierter ROS in humanen Kolonkarzinomzellen. Dieser Anstieg der zellulären antioxidativen Kapazität konnte auf eine Aktivierung des Nrf2/ARE-Signalwegs zurückgeführt werden. Eine Reihe von Genprodukten, die in ihrer Expression durch das antioxidativ-responsive Element (ARE) reguliert werden, spielen für die Regulation des endogenen Redoxstatus eine bedeutende Rolle. In Transkriptionsuntersuchungen konnte die Induktion zahlreicher redoxsensitiver Enzyme beobachtet werden (GCL-C, GCL-M, HO1, NQO1). Eine Weiterleitung des Signals bis zur Proteinebene konnte durch die Messung des zellulären Glutathionspiegels verifiziert werden.

Zusätzlich zum Nebenprodukt der Apfelpektinengewinnung wurden auch aus Schönungsstrub und Trestern enzymierter Maischen Extrakte mit bzw. ohne zusätzliche adsorptive Aufreinigung mittels Lewatit VPOC 1064 MD PH hergestellt und eingehend untersucht. Im Gegensatz zu Extrakten aus dem Pektinnebenprodukt zeigten diese in den durchgeführten Bioassays jedoch

nur eine marginale Bioaktivität in Hinblick auf ein antioxidatives/chemoprotektives Potential.

Um die für die im Nebenprodukt der Pektinengewinnung beobachtete Bioaktivität verantwortlichen Komponenten zu isolieren und zu identifizieren, wurde mit dem potentesten Extrakt u.a. eine Fraktionierung mit Sephadex-LH-20 unter schrittweiser Erhöhung des Volumenanteils an Methanol am Elutionsgemisch durchgeführt. Dadurch war es möglich, mehrere phenolische Major Komponenten, insbesondere Phloretin, Quercetin und Phloridzin, nahezu als Reinkomponenten zu isolieren. In den begleitenden In-vitro-Untersuchungen konnten diese Leitverbindungen allerdings als effektive Wirksubstanzen ausgeschlossen werden. Demzufolge scheinen Minor Komponenten für die Wirkung des Extrakts verantwortlich zu sein. In diesem Zusammenhang kommt drei bislang nicht identifizierten Verbindungen (602 g/mol, 470 g/mol und 308 g/mol) große Bedeutung zu. Basierend auf den UV-Spektren und der massenspektrometrischen Charakterisierung handelt es sich hierbei um strukturell verwandte Verbindungen, die sich nur in ihren Glykosidresten unterscheiden, bislang allerdings noch nicht im Apfel beschrieben wurden. Zur Aufklärung, ob diese Minorkomponenten für die Bioaktivität verantwortlich sind, bedarf es weiterer Untersuchungen.

Zur besseren Übertragbarkeit der Untersuchungsergebnisse auf die In-vivo-Situation wurde der Einfluss der intestinalen Mikroflora auf die biologische Wirkqualität der Extrakte untersucht. Es zeigte sich, dass sich im direkten Vergleich zum unfermentierten Extrakt die Effekte auf die Transkription Nrf2-abhängiger Enzyme von der Wirkung des nativen Extrakts unterscheiden. Die Fermentationsproben erreichten nicht die Wirkqualität des ursprünglichen Extrakts, trotzdem ging die Bioaktivität nicht verloren.

Wirtschaftliche Bedeutung:

Die 425 Fruchtsafthersteller, darunter ca. 202 Direktmitglieder des Verbands der deutschen Fruchtsaftindustrie (VdF), produzieren jährlich ca. 4,3 Mrd. Liter Fruchtsaft, Fruchtnektar und stille Fruchtsaftgetränke. Mit einem Pro-Kopfverbrauch von ca. 40 L hat sich der Markt der Fruchtsäfte und -nektare in den letzten 15 Jahren als äußerst konjunkturstabil erwiesen. Hierbei ist Apfelsaft mit 12 L nach wie vor der beliebteste Fruchtsaft. In Deutschland werden jährlich zwischen 400.000 und 900.000 t Äpfel

zu Saft verarbeitet, wobei ca. 100.000 bis 300.000 t Apfeltrester anfallen. Die Branche ist deutlich mittelständisch strukturiert mit einer großen Zahl nur regional auftretender Betriebe.

Die im Rahmen dieses Forschungsvorhabens erzielten Ergebnisse zeigen Wege auf, wie die bei der Herstellung von Apfelsaft und bei der Apfelpекtingewinnung anfallenden polyphenolhaltigen Nebenprodukte im Sinne einer möglichst ganzheitlichen und ökonomisch sinnvollen Verwertung zugeführt werden können. Durch die gezielte Gewinnung potenter chemopräventiver Extrakte aus diesen vermeintlichen Abfallprodukten kann deren Entsorgungsproblematik entschärft werden. Darüber hinaus bedeutet die Verwendung dieser Extrakte zur Herstellung natürlich angereicherter Lebensmittel eine zusätzliche Wertschöpfung für Fruchtsafthersteller. Durch die Erschließung dieser bislang ungenutzten Ressourcen könnte so die Marktposition insbesondere der mittelständischen Betriebe dieser Branche durch Erweiterung ihres Produktportfolios gestärkt werden. Hinzu kommt, dass durch die Auslobung bioaktiver Inhaltsstoffe von Fruchtsäften und -nektaren deren marktwirtschaftliche Position zusätzlich gestärkt wird, da dies dem Verlangen der Verbraucher nach möglichst naturbelassenen und gesunden Lebensmitteln nachkommt.

Universität Wien
Institut für Lebensmittelchemie und Toxikologie
Währinger Straße 38, 1090 Wien
Tel.: +43 1 4277-52309, Fax: +43 1 4277-9523
E-Mail: doris.marko@univie.ac.at

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn
Tel.: 0228/372031, Fax: 0228/376150
E-Mail: fei@fei-bonn.de

Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2011.

Weiteres Informationsmaterial:

Universität Hohenheim
Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie
FG Lebensmittel pflanzlicher Herkunft
August-von-Hartmann-Str. 3, 70599 Stuttgart
Tel. 0711/4592-2314, Fax 0711/4592-4110
E-Mail: carle@uni-hohenheim.de

... ein Projekt der **Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)**

gefördert durch/via:

