

Prozessinduzierte Ausbeutesteigerung von wertgebenden sekundären Pflanzeninhaltsstoffen aus Blaubeeren und Vergleich ihrer Stabilität in Multikapselsystemen gegenüber konventionellen Produkten

(Teilprojekt 1 im DFG/AiF-Cluster 1)

Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle:	Technische Universität Braunschweig Institut für Lebensmittelchemie Prof. Dr. P. Winterhalter/Dr. G. Jerz
Forschungsstelle II:	Technische Universität Berlin Institut für Lebensmitteltechnologie und Lebensmittelchemie, FG Lebensmittelbiotechnologie und -prozessechnik Prof. Dr. D. Knorr/Dipl.-Ing. H. Jäger
Industriegruppen:	Verband der deutschen Fruchtsaft-Industrie e.V., Bonn Milchindustrie-Verband e.V., Berlin Fachverband Pektin e.V., Neuenbürg Bundesverband der obst-, gemüse- und kartoffelverarbeitenden Industrie e.V., Bonn Deutscher Verband der Aromenindustrie e.V., Meckenheim Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der Technischen Universität München
	Projektkoordinator: Prof. Dr. H.-U. Endreß Herbstreith & Fox KG, Neuenbürg
Laufzeit:	2008 – 2011
Zuwendungssumme:	€ 456.650,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

Ausgangssituation:

Die Freisetzung und Erhaltung von Inhaltsstoffen mit gesundheitsfördernden Eigenschaften stehen als Qualitätsmerkmal im Vordergrund der modernen Lebensmittelproduktion. Bioaktive Komponenten der Pflanze sind Produkte des Sekundärstoffwechsels und ihr Gehalt ist stark von verschiedensten Umweltbedingungen abhängig. Ihre Bildung stellt häufig die Reaktion auf Stressfaktoren, wie z. B. klimatische Einflüsse und UV-Bestrahlung, dar. Das Ausmaß dieser Einflüsse sowie die Pflanzensorte selbst bedingen dabei den Schwankungsbereich der Konzentrationen der einzelnen Verbindungen. Die Extraktion und Isolierung von bioaktiven Komponenten sind wesentliche Prozessschritte, um deren Einsatz in anderen Lebensmitteln zu ermöglichen. Der An-

wendung von geeigneten Aufschlussverfahren bei der Verwendung der Früchte zur Gewinnung von Wirkstoffextrakten kommt dabei eine entscheidende Bedeutung zu. Die Ausbeute an den gewünschten Substanzen sowie deren Verhältnis zueinander hängt dabei hauptsächlich von deren Konzentration in der Frucht ab. Technologische Prozessschritte (u.a. die thermische Belastung) beeinflussen zusätzlich die Gehalte bioaktiver Inhaltsstoffe (Polyphenole) und deren Verfügbarkeit.

Ziel des Forschungsvorhabens (Teilprojekt 1 im [DFG/AiF-Cluster „Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen“](#)) war es, ausgehend vom Rohstoff Wildheidelbeere durch Stressinduzierung mittels elektrischer Hochspannungsimpulse (HSI), hydrostatischem

Hochdruck (HP) sowie Ultraschall (US) die Nach-Ernte-Biosynthese von funktionellen Inhaltsstoffen anzuregen und durch Membranpermeabilisierung eine Ausbeutesteigerung zu erzielen.

Insbesondere bei der Herstellung und Lagerung von Heidelbeerprodukten kommt es bislang zu erheblichen Verlusten an wertgebenden Inhaltsstoffen. Die Evaluierung von Prozesskriterien der herkömmlichen Verarbeitung und die Identifizierung von Einflussparametern sind wesentliche Schritte zur Verbesserung des Erhaltes wertvoller Inhaltsstoffe. Zusätzlich kommt neuen, nicht-thermischen Haltbarmachungsverfahren eine wachsende Bedeutung zu. Das Potential dieser Verfahren zur schonenden Haltbarmachung von Heidelbeerprodukten sollte deshalb untersucht werden. Weiterhin sollte die Möglichkeit der Mikroverkapselung von Heidelbeerextrakt bzgl. der Stabilität der Kapselsysteme in der Produktmatrix analysiert und bewertet werden.

Forschungsergebnis:

Es wurde eine HPLC-Methode zur Charakterisierung und Quantifizierung der Heidelbeerpolyphenole entwickelt. Damit wurde die Grundlage zur Erfassung der Ausbeutesteigerung und stressinduzierten Veränderung des Polyphenolprofils bei der Behandlung von Heidelbeeren und Heidelbeertrestern mit Hochspannungsimpulsen, Hochdruck und Ultraschall gelegt. Mit der Methode erfolgte auch die Analytik von frischen Heidelbeerproben, Heidelbeerprodukten und verkapselten Heidelbeerinhaltsstoffen sowie die Überwachung während ihrer Lagerung. Der von den Teilprojekten zur Verkapselung eingesetzte Heidelbeerextrakt wurde ebenfalls charakterisiert. Dieser erwies sich sowohl bei der Lagerung bei Raumtemperatur (25°C) als auch bei Kühlung (-18°C) unter Feuchtigkeits-, Licht- und Sauerstoff-Ausschluss als stabil. Es konnte keine Veränderung des Gesamtanthocyanengehaltes von 27,6 %, der antioxidativen Kapazität 3.540 µmol/g (TEAC) sowie des Gesamtpolyphenolgehaltes 53,5 % (Folin-Ciocalteu) festgestellt werden. Damit konnte gewährleistet werden, dass alle beteiligten Cluster-Arbeitsgruppen mit dem gleichen stabilen Ausgangsprodukt gearbeitet haben. Das Screening frischer Heidelbeerproben aus verschiedenen Regionen Deutschlands zeigte hinsichtlich der Anthocyanprofile und Gehalte (durchschnittlich 0,60 mg/100 g Frischgewicht im Jahr 2008) keine Ortsabhängigkeit. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass das Anthocyanprofil des kommerziellen Extraktes dem von frischen Heidelbeeren

und den daraus hergestellten Extrakten entspricht. Zur Fraktionierung der Extrakte wurde eine membranchromatographische Methode entwickelt und erfolgreich eingesetzt. Dadurch konnten erstmals hochreine Anthocyan-, Polymer- und Copigmentfraktionen im präparativen Maßstab isoliert werden, so dass diese zu Verkapselungszwecken sowie für biologische Studien genutzt werden können. Aus der Copigmentfraktion konnten erstmals 3 neue Verbindungen isoliert und ihre Struktur mittels NMR-Spektroskopie aufgeklärt werden. Ein weiterer wichtiger Punkt war die Erfassung und Isolierung der wertgebenden Komponenten des bei der Saftherstellung anfallenden Heidelbeertresters. Dabei konnte gezeigt werden, dass unter den lipophilen Inhaltsstoffen, wie den hauptsächlich enthaltenen Triglyceriden, auch bioaktive Minorcomponenten, wie z.B. β -Amyrin, β -Sitosterol oder die Oleanolsäure, enthalten sind. Außerdem ließen sich durch Kombination mit der entwickelten membranchromatographischen Methode durch methanolische Extraktion und Abtrennung der lipophilen und semipolaren Komponenten 2,60 g einer reinen Anthocyanfraktion aus 120 g gefriergetrocknetem Trester isolieren.

Die prozessinduzierte Ausbeutesteigerung wertgebender sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe in Säften und Extrakten von Wildheidelbeeren konnte gezeigt werden. Ein Vergleich der Technologien Ultraschall und gepulste elektrische Felder mit herkömmlichen Verfahren der Maischebehandlung bzw. einer Prozessierung ohne Maischevorbehandlung hinsichtlich des Gehaltes an Gesamtpolyphenolen und Anthocyanen konnte eine entsprechende Umsetzung des erzielten Zellaufschlussgrades in einen verbesserten Übergang der Komponenten in Säfte und Extrakte zeigen. Die wässrig und ethanolisch durchgeführte Extraktion von Heidelbeertrester konnte durch einen Zellaufschluss mittels Ultraschall bzw. Hochspannungsimpulsen in ähnlicher Weise verbessert werden. Eine Ultraschallunterstützung des gesamten Extraktionsvorganges gegenüber einem einmaligen Einsatz von Ultraschall zum Zellaufschluss bewirkte eine zusätzliche Steigerung des Gesamtpolyphenolgehaltes und der antioxidativen Kapazität des Extraktes. Die durchgeführten Behandlungen zur Stressinduktion erforderten eine differenzierte Betrachtung der unterschiedlichen Gewebe von Schale und Fruchtfleisch, die eine unterschiedliche Empfindlichkeit hinsichtlich der Membranpermeabilisierung durch Hochspannungsimpulse aufweisen. Es wurde daher die Etablierung einer Heidelbeercellkultur realisiert. Die Entwicklung des Zellkultursystems zielte dabei einerseits auf

die Herstellung von Protoplasten für andere Cluster-Teilprojekte, zum anderen bietet das Modellsystem gute Voraussetzungen zur Untersuchung der stressinduzierten Anthocyanthese.

Die Produktgruppen Heidelbeerkonfitüre, Heidelbeersaft, Heidelbeerkonserven, gefrorene Früchte sowie gefriergetrocknete Früchte wurden hinsichtlich Prozess- und Lagerstabilität der Anthocyane untersucht. Für die Produkte Heidelbeerkonfitüre und Heidelbeersaft wurde eine umfassende Prozessanalyse im industriellen Maßstab inklusive der Erstellung von Temperatur-Zeit-Profilen des Herstellungsprozesses durchgeführt. Es wurden deutliche Produktveränderungen während der thermischen Haltbarmachung der Produkte und während der Lagerzeit festgestellt.

Zur Verringerung der thermischen Belastung und des damit verbundenen Anthocyanabbaus wurde der Einsatz nicht-thermischer Verfahren (isostischer Hochdruck sowie Hochspannungsimpulse) zur Konservierung von Heidelbeersaft bewertet. Insbesondere durch die Behandlung von nativem Heidelbeersaft mittels Hochdruck konnte eine Inaktivierung von Mikroorganismen und Enzymen erreicht und damit ein lagerstabiles Frischprodukt erzielt werden. Die Anthocyane waren gegenüber der Hochdruckbehandlung stabil.

Zur Untersuchung des Einflusses der Verkapselung auf die Lagerstabilität von Anthocyanen wurde ein mikroverkapselter Heidelbeerextrakt in Heidelbeersaft eingebracht. Die Analyse und Bewertung der Stabilität während der anschließenden Lagerung zeigte eine entsprechende Schutzwirkung der Kapsel und enthaltener Proteinkomponenten.

Wirtschaftliche Bedeutung:

Speziell für Betriebe kleiner und mittlerer Größe bietet die Nutzung der kontinuierlichen Kurzzeit-Elektro- bzw. Ultraschallpermeabilisierung als hocheffizientes und universelles Zellaufschlussverfahren eine Vielzahl von Anwendungsmöglichkeiten, die zur Verbesserung der Wettbewerbssituation und des Betriebsablaufes führen können. Die Verbesserung von Extraktionsschritten zur Ausbeutesteigerung ist hier genauso zu nennen wie die gezielte Anreicherung ernährungsphysiologisch wertvoller Substanzen oder die Modifizierung von Reststoffen. Charakteristisch für Unternehmen dieser Größe ist der sai-

sonale Betrieb und häufig anfallende Produktwechsel, zum Teil auch mit unkonventionellen Rohwaren. Die Anwendung der Verfahren kann dabei über dieses Projekt hinaus auch auf andere Rohstoffe erweitert und angepasst werden. Da die untersuchten Technologien zum Zellaufschluss direkt an den Membranen der Zellen wirksam werden, sind Zellaufschlussgrade erreichbar, die sonst nur durch Optimierung rohwarenspezifischer Technologien möglich wären. Apparativ ist der vorgeschlagene Prozessschritt ohne aufwändige Umstrukturierung des bisherigen Betriebsablaufes zu integrieren. Die gewonnenen Daten können Unternehmen als Grundlage für eine Entscheidung zur Investition in neue Technologien dienen.

Im Rahmen des Vorhabens wurden die prozessinduzierte Ausbeutesteigerung von bioaktiven sekundären Pflanzenstoffen und die Überprüfung des Stabilisierungseffektes einer Mikroverkapselung untersucht. Die Anwendung neuartiger Verfahren zur Stressinduktion und damit zur Nach-Ernte-Biosynthese der Stoffe in der Frucht sowie zum Zellaufschluss und zur verbesserten Extraktion eröffnet die Möglichkeit der effektiveren Rohstoffnutzung. Die Verarbeitung landwirtschaftlicher Produkte ist zunehmend an eine ganzheitliche Wertschöpfungskette gekoppelt. Somit ist auch die Verwendung des Tresters als Nebenprodukt aus der Verarbeitung der Blaubeere zu Saft und die Gewinnung von Reststoffen daraus von erheblichem Interesse. Im Projekt wurde der Nachweis geführt, dass durch die Integration neuer Technologien teilweise bestehende Prozessabläufe ergänzt und somit das Prozessergebnis verbessert werden kann. Das Projekt zielt unter anderem auf die Hersteller von Fruchtsäften und -extrakten ab, die ein zukünftiges Verfahren in ihre Prozessabläufe aufnehmen können. Die Mehrzahl der in Deutschland tätigen 429 Fruchtsafthersteller sind kleine und mittelständische Unternehmen.

Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2011.
2. Jaeger, H., Schulz, M., Lu, P. und Knorr, D.: Adjustment of milling, mash electroporation and pressing for the development of a PEF assisted juice production in industrial scale. *Inn. Food Sci. Emerg. Technol.* 14, 46-60 (2012).
3. Barba, F.J., Jaeger, H., Meneses, N., Esteve, M.J., Frigola, A. und Knorr, D.: Evaluation of quality changes of blueberry juice

during refrigerated storage after high-pressure and pulsed electric fields processing. *Inn. Food Sci. Emerg. Technol.* 14, 18-24 (2012).

4. Juadjur, A. und Winterhalter, P.: Development of a novel adsorptive membrane chromatographic method for the fractionation of polyphenols from bilberry. *J. Agric. Food Chem.* 60, 2427-2433 (2012).
5. Juadjur, A. und Winterhalter, P.: Neue membran chromatographische Methode zur Isolierung von Anthocyanen, *Dt. Lebensmittel-Rund.* 108, 236-244 (2012).
6. Meneses, N., Jaeger, H. und Knorr, D.: Computational Fluid Dynamics Applied in Pulsed Electric Field Preservation of Liquid Foods. In: *Innovative Food Processing Technologies – Advances in Multiphysics Simulation* (eds. Knoerzer, K., Juliano, P., Roupas, P., Versteeg, C.), ISBN 978-0-813817-54-5, Wiley-VCH Weinheim, 193-208 (2011).
7. Meneses, N., Jaeger, H. und Knorr, D.: Basics for Modeling of Pulsed Electric Field Processing of Foods. In: *Innovative Food Processing Technologies – Advances in Multiphysics Simulation* (eds. Knoerzer, K., Juliano, P., Roupas, P., Versteeg, C.), ISBN 978-0-813817-54-5, Wiley-VCH Weinheim, 171-192 (2011).
8. Knorr, D., Froehling, A., Jaeger, H., Reineke, K., Schlueter, O. und Schoessler, K.: Emerging technologies in food processing. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 2, 203-235 (2011).
9. Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen - Zentrale Ergebnisse des gleichnamigen DFG/AiF-Clusterprojektes. (Hrsg. FEI). ISBN 978-3-925032-49-3 (2011).

Weiteres Informationsmaterial:

Technische Universität Braunschweig
 Institut für Lebensmittelchemie
 Schleinitzstr. 20, 38106 Braunschweig
 Tel.: +49 531 391-7202
 Fax: +49 531 391-4577
 E-Mail: p.winterhalter@tu-bs.de

Technische Universität Berlin
 Institut für Lebensmitteltechnologie und Lebensmittelchemie
 FG Lebensmittelbiotechnologie und -prozessentechnik
 Königin-Luise-Straße 22, 14195 Berlin
 Tel.: +49 30 314-71250
 Fax: +49 30 8327-663
 E-Mail: Dietrich.Knorr@TU-Berlin.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
 Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn
 Tel.: +49 228 3079699-0
 Fax: +49 228 3079699-9
 E-Mail: fei@fei-bonn.de

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

gefördert durch/via:

