

**UNTERSUCHUNGEN ZUM EINSATZ  
VON NICHTTHERMISCHEN  
ZELLMEMBRANPERMEABILISIERUNGSMETHODEN ZUR  
BEEINFLUSSUNG DES MASSENTRANSPORTS IN  
PFLANZLICHEN LEBENSMITTELN**

vorgelegt von  
Diplom-Ingenieur  
Wahyuningsih Tedjo  
aus Indonesien

Von der Fakultät III – Prozesswissenschaften  
der Technischen Universität Berlin  
zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Ingenieurwissenschaften  
– Dr.-Ing. –

genehmigte Dissertation

Promotionsausschuss:

Vorsitzender : Prof. Dr. R. Tressl  
Gutachter : Prof. Dr. D. Knorr  
Gutachter : Prof. Dr. H. Kunzek

Tag der wissenschaftliche Aussprache: 15 April 2003

Berlin 2003

D 83

## ABSTRACT

The influence of different non-thermal processes, such as high electric field pulses (HELP), high hydrostatic pressure (HP), compressed (cCO<sub>2</sub>) and/or supercritical carbon dioxide (ScCO<sub>2</sub>), high intensity ultrasound (US) on cell membrane permeabilisation of selected fruits and vegetables (grapes, plums, mango, red beet, asparagus, red paprika) was examined and compared with conventional thermal and/or enzymatic methods. In addition, the impact of these non-thermal methods on processing kinetics and product quality during juice extraction, osmotic dehydration, air dehydration and fermentation was evaluated.

The extent of permeabilisation during thermal treatment was found to be time and temperature dependent. A minimum temperature of 50 °C for 15 min resulted in a permeabilisation equivalence of  $Z_p \geq 0.1$ . Field strength, pulse number, energy input and material were found to significantly influence extent of permeabilisation during HELP treatment. Varying field strength from 0.7 to 3 kV/cm and pulse number from 10 to 50 yielded permeabilisation index similar to thermal treatment with 65 °C for 15 min. The required energy input ( $\approx 6.2$  kJ/kg) and treatment time (10 to 50 s,  $f = 1$  Hz) during HELP process were far lower than both the energy input ( $\approx 170$  kJ/kg) and process duration (900s) required during thermal treatment. HP induced permeabilisation was depended on the treatment conditions. The higher the applied pressure, temperature and time, the greater the effect in the permeabilisation depending on the material treated. A HP treatment at 500 MPa, 50 °C for 10 min induced permeabilisation effect similar to a thermal treatment at 65 °C for 15 min. The impact of pressure level was more significant on permeabilisation index during (S)cCO<sub>2</sub> than in HP process. Furthermore, slight changes in temperature during (S)cCO<sub>2</sub>-treatment had remarkable influence on permeabilisation index. Depending on the material handled, a treatment with 7.1 to 30 MPa at 20–28 °C for 10 min resulted in permeabilisation index similar to a thermal treatment with 65 °C for 15 min. Ultrasound power and treatment time influenced extend of permeabilisation. Ultrasound treatment (Power = 30 W, 4 min) of coarsely cut grapes resulted in a permeabilisation index of approx. 0.4.

Pretreating of grapes with non-thermal methods enhanced both the juice yield and the quality parameters. Improved the color pigments and minerals were recorded with non-thermal pre-treatment of red beet in comparison to untreated ones. A linear relationship existed between the extent of permeabilisation and the level of extract obtained.

Enhanced mass transfer rates during osmotic dehydration of HELP, HP, cCO<sub>2</sub> pretreated mango were recorded. All the pre-treatments resulted in increased sugar uptake in comparison to the untreated. cCO<sub>2</sub> pre-treatment resulted in the highest sugar uptake, least water loss and lowest shrinkage in comparison to other pre-treatments. Sensory evaluation (taste, color) revealed that HELP pretreated sample was similar to the untreated.

HELP pre-treatment significantly reduced air drying time to  $\approx 40$  % depending on the material treated and the drying conditions.

Non-thermal pre-treatment of red paprika significantly enhanced fermentation rates with marked reduction (45 %) in fermentation period. No significant difference was found between the pretreated samples except HP which resulted in cellular material leaching in the treatment medium during treatment.

The pre-treatment methods induced tissue softening and color changes, the extent of which were dependent on the material treated, treatment method and conditions.

These observations revealed the potentials of these non-thermal methods as good alternatives in processes to the thermal requiring membrane permeabilisation and/or enzymatic pre-treatments. Mass transport in cellular materials may be attributed to cellular integrity, structural and chemical changes occurring during pre-treatment.

# ZUSAMMENFASSUNG

## UNTERSUCHUNGEN ZUM EINSATZ VON NICHTTHERMISCHEN ZELLMEMBRANPERMEABILISIERUNGSMETHODEN ZUR BEEINFLUSSUNG DES MASSENTRANSPORTS IN PFLANZLICHEN LEBENSMITTELN

W. Tedjo

Der Einfluss von verschiedenen nichtthermischen Verfahren, wie elektrische Hochspannungsimpulsen (HELP), hydrostatischer Hochdruck (HP), komprimiertes ( $c\text{CO}_2$ ) bzw. überkritisches Kohlendioxid ( $\text{ScCO}_2$ ), Hochleistungslaserschall (US) auf die Zellmembran-permeabilisierung von ausgewählten Früchten und Gemüsen (Weinbeeren, Pflaumen, Mango, Rote Beete, Spargel, rote Paprika) wurde untersucht und mit konventionellen thermischen bzw. enzymatischen Permeabilisierungsmethoden verglichen. Zusätzlich wurde der Effekt der nichtthermischen Verfahren auf die anschließenden Verarbeitungsprozesse (Entsaftung, Extraktion, osmotische Trocknung und Warmlufttrocknung sowie Fermentation) im Bezug auf die Prozesskinetik und die Produktqualität untersucht.

Der Grad der thermischen Permeabilisierung hing von der Temperatur und Behandlungsdauer ab. Eine Mindesttemperatur von 50 °C und 15 min war notwendig, um eine geringfügige Permeabilisierung ( $Z_p \geq 0,1$ ) zu erzielen. Der Permeabilisierungseffekt von HELP war von der Feldstärke, Pulszahl, Energieeintrag und Rohware abhängig. Bei einer Feldstärke von 0,7 bis 3 kV/cm und Raumtemperatur konnte nach 10 bis 50 Pulsen ein Permeabilisierungsgrad, der ähnlich einer thermischen Behandlung bei 65 °C für 15 min war, erzielt werden. Der Energieeintrag (ca. 6–20 kJ/kg) und die Behandlungsdauer (10 bis 50 s bei  $f = 1$  Hz) waren deutlich geringer als bei thermischer Permeabilisierung (ca. 170 kJ/kg, 900 s). Ebenfalls war die HP-induzierte Permeabilisierung von den Behandlungsbedingungen abhängig. Die Erhöhung von Behandlungsdruck, -temperatur und -dauer beeinflusste den Permeabilisierungsgrad, abhängig von der eingesetzten Rohware, mehr oder weniger stark. Nach der HP-Behandlung bei 500 MPa, 50 °C für 10 min konnte ein Permeabilisierungsgrad, der ähnlich einer thermischen Behandlung (65 °C, 15 min) war, beobachtet werden. Der Einfluss der ( $\text{S}$ ) $c\text{CO}_2$ -Druckhöhe auf den Permeabilisierungsgrad war deutlich ausgeprägter als bei der HP-Behandlung. Zusätzlich führte eine geringe Temperaturerhöhung während der ( $\text{S}$ ) $c\text{CO}_2$ -Behandlung zu einer deutlichen Erhöhung des Permeabilisierungsgrades. Eine Behandlung bei 7,1 bis 30 MPa bei 20–28 °C für 10 min war, je nach eingesetzter Rohware, ausreichend um einen Permeabilisierungsgrad, der ähnlich einer thermischen Behandlung (65 °C, 15 min) war, zu erzielen. Der Grad der US-Permeabilisierung hing von der Ultraschalleistung und Behandlungsdauer ab. Ultraschallbehandlung (30 W, 4 min) bewirkte einen Permeabilisierungsgrad ( $Z_p$ ) der grobzerkleinerten Weinbeeren von ca. 0,4.

Die Vorbehandlung von Weinbeeren mit nichtthermischen Verfahren führte sowohl zur Erhöhung der Saftausbeute, als auch zur Verbesserung der Saftqualität. Der Farbstoff- und Mineralienaustritt aus den Rote Beete stiegen nach der Vorbehandlung mit nichtthermischen Verfahren im Vergleich zu unbehandelten signifikant an. Ein direkter Zusammenhang zwischen dem Permeabilisierungsgrad und dem anschließendem Stoffaustritt konnte, sowohl bei thermisch als auch bei nichtthermisch-vorbehandelten Rote Beete, festgestellt werden.

Die HELP, HP, cCO<sub>2</sub> beschleunigten die osmotische Trocknung von Mango. Die Zuckeraufnahme stieg bei allen vorbehandelten Proben im Vergleich zu unbehandelten. Die Zuckeraufnahme von cCO<sub>2</sub>-vorbehandelten Proben war am höchsten, die Wasserabgabe am niedrigsten und die geringste Schrumpfung im Vergleich zu anderen Proben. Die HELP-vorbehandelte Probe zeigte die geringste Veränderung der sensorischen Eigenschaften (Geschmack, Farbe) und war den unbehandelten ähnlich.

Bis zur 40 % Trocknungszeitreduzierung, je nach eingesetzter Rohware, Trocknungsart und –temperatur, konnte durch HELP-Vorbehandlung erzielt werden.

Die nichtthermische Verfahren konnte die Fermentationsdauer von rotem Paprika um bis zu 3 Tagen (45 %-ige Verkürzung) beschleunigen. Es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den vorbehandelten Proben gefunden, außer bei HP-vorbehandelten (aufgrund der Auslaugung der Inhaltsstoffe ins Behandlungsmedium während der HP-Behandlung).

Die nichtthermischen Permeabilisierungsmethoden bewirkten bei allen untersuchten Proben eine Texturerweichung und Farbveränderung. Die Höhe hing von der eingesetzten Rohware, Behandlungsmethode und Permeabilisierungsgrad.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigten, dass diese nichtthermischen Verfahren geeignete und produktschonende Alternativen zu thermischen bzw. enzymatischen Zellaufschlussmethoden sind. Der Massentransport ist eine Funktion der zellularen Vollständigkeit ( $Z_p$ ), der strukturellen und der chemischen Veränderungen der pflanzlichen Gewebe während der Vorbehandlung.

# INHALTSVERZEICHNIS

---

Danksagung

Abbildungsverzeichnis

Tabellenverzeichnis

**1 PROBLEMSTELLUNG UND ZIELSETZUNG** 1

## **2 LITERATURÜBERBLICK**

<b>2.1 Pflanzliches Lebensmittel</b>	<b>5</b>
2.1.1 Bedeutung der Obst und Gemüse	5
2.1.2 Pflanzliche Zellen	6
2.1.2.1 Die Zellmembran	7
2.1.2.2 Diffusion und Osmose	9
2.1.2.3 Permeabilität und Transport	11
2.1.3 Kennzeichnung des Umfanges von Zellmembranpermeabilisierung	12
<b>2.2 Lebensmittelverarbeitungsmethode</b>	<b>15</b>
2.2.1 Fruchtsaftgewinnung	15
2.2.2 Extraktion	17
2.2.3 Trocknung	18
2.2.3.1 Warmlufttrocknung	18
2.2.3.2 Osmotische Trocknung	19
2.2.4 Fermentation	21
<b>2.3 Nichtthermisches Verfahren</b>	<b>23</b>
2.3.1 Elektrische Hochspannungsimpulse (HELP)	23
2.3.1.1 Der Mechanismus der Elektropermeabilisierung	23
2.3.1.2 Funktionsprinzip der Hochspannungsanlage	26
2.3.1.3 Spezifischer Energieeintrag und thermische Wirkung	27
2.3.1.4 Anwendung von Hochspannungsimpulse in der Lebensmitteltechnologie	28
2.3.2 Hydrostatischer Hochdruck (HP)	30
2.3.2.1 Prinzip der Hochdruckbehandlung	30
2.3.2.2 Wirkung des hydrostatischen Hochdrucks auf Lebensmittelinhaltsstoffe	31
2.3.2.2.1 Proteine	31
2.3.2.2.2 Polysaccharide	32
2.3.2.2.3 Farbstoffe, Aromen und Vitamine	33
2.3.2.2.4 Wasser	34
2.3.2.2.5 Pflanzliche Struktur	34
2.3.2.2.6 Membranen	35
2.3.2.3 Anwendung des hydrostatischen Hochdrucks in der Lebensmittelindustrie	36

2.3.3	Komprimiertes (cCO <sub>2</sub> ) und überkritisches Kohlendioxid (ScCO <sub>2</sub> )	37
2.3.3.1	Zellaufschluss pflanzlicher Zellen durch Kohlendioxid	37
2.3.3.2	Überkritischer Zustand	38
2.3.3.3	Anwendung von cCO <sub>2</sub> und ScCO <sub>2</sub> in der Lebensmittelindustrie	38
2.3.4	Ultraschall (US)	41
2.3.4.1	Physikalische Grundlagen des US	41
2.3.4.2	Wirkungsweise des US	41
2.3.4.3	Anwendung des US in der Lebensmitteltechnologie	43

### **3 MATERIAL UND METHODEN**

<b>3.1</b>	<b>Rohware</b>	<b>45</b>
<b>3.2</b>	<b>Anlagen</b>	<b>45</b>
<b>3.3</b>	<b>Probenvorbereitung</b>	<b>46</b>
<b>3.4</b>	<b>Versuchsdurchführungen</b>	<b>48</b>
3.4.1	Probenbehandlung	48
3.4.1.1	Elektrische Hochspannungsimpulse (HELP)	48
3.4.1.2	Hydrostatischer Hochdruck (HP)	50
3.4.1.3	Komprimiertes (cCO <sub>2</sub> ) und überkritisches Kohlendioxid (ScCO <sub>2</sub> )	50
3.4.1.4	Ultraschall (US)	51
3.4.1.5	Thermisches Verfahren	51
3.4.1.6	Enzymierung	52
3.4.1.7	Gefrieren	52
3.4.2	Versuchsdurchführung	52
3.4.2.1	Inhaltstoffgewinnung	52
3.4.2.2	Trocknung	53
3.4.2.3	Fermentation	54
<b>3.5</b>	<b>Untersuchungen</b>	<b>55</b>
3.5.1	Bestimmung des Permeabilisierungsgrades	55
3.5.2	Trockensubstanzgehalt	55
3.5.3	Wasserverlust (WL) und Zuckeraufnahme (Sg)	56
3.5.4	Rehydration	56
3.5.5	Vorbereitung der Abschnitte für mikroskopische Prüfung	57
3.5.6	Mikrobiologische Bestimmung	57
3.5.7	Analytik	57
3.5.8	Statistik	59

### **4 ERGEBNISSE UND DISKUSSIONEN**

<b>4.1</b>	<b>Zellmembranpermeabilisierung und Inhaltsstoffgewinnung von Weinbeeren</b>	<b>60</b>
4.1.1	Zellmembranpermeabilisierung	60
4.1.2	Einfluss von verschiedenen Vorbehandlungen auf Saftausbeute und -inhaltsstoffe	68
4.1.2.1	Saftausbeute	68
4.1.2.2	Saftinhaltsstoffe	69
4.1.3	Schlussfolgerungen	74

<b>4.2 Zellmembranpermeabilisierung und Inhaltsstoffgewinnung von Rote Beete</b>	<b>77</b>
4.2.1 Zellmembranpermeabilisierung	77
4.2.2 Einfluss von verschiedenen Vorbehandlungen auf den Stoffübergang	80
4.2.2.1 Farbstoffaustritt	80
4.2.2.2 Leitfähigkeitsmessung	83
4.2.2.3 pH-Wert	85
4.2.2.4 Gewichtsveränderung während des Stoffüberganges	87
4.2.2.5 Textur	89
4.2.3 Schlussfolgerungen	90
<b>4.3 Zellmembranpermeabilisierung und osmotische Trocknung von Mango</b>	<b>92</b>
4.3.1 Zellmembranpermeabilisierung	92
4.3.2 Einfluss von Vorbehandlungen auf den Massentransport während der osmotischen Trocknung	95
4.3.2.1 Wasserverlust und Zuckeraufnahme	95
4.3.2.2 Auslaugen der Zellbestandteile in das osmotische Medium	101
4.3.2.3 Textur	102
4.3.2.4 Farbe	103
4.3.3 Mikroskopische Untersuchung	105
4.3.4 Schlussfolgerungen	106
<b>4.4 Anwendung von Hochspannungsimpulsen auf die Trocknungsrate und Rehydration von pflanzlichen Lebensmitteln</b>	<b>109</b>
4.4.1 Zellmembranpermeabilisierung	109
4.4.2 Trocknungsrate	110
4.4.3 Rehydrationsrate	113
4.4.4 Textur	116
4.4.5 Farbe	119
4.4.6 Schlussfolgerungen	121
<b>4.5 Zellmembranpermeabilisierung und Fermentation von rotem Paprika</b>	<b>123</b>
4.5.1 Zellmembranpermeabilisierung	123
4.5.2 Einfluss von Vorbehandlungen auf die Fermentationskinetik von rotem Paprika	127
4.5.3 Schlussfolgerungen	137

## **5 ZUSAMMENFASSUNG** **138**

### **Literaturverzeichnis**

### **Anhang**

## **DANKSAGUNG**

Meinem Doktorvater Prof. Dr. Dipl. –Ing. Dietrich Knorr danke ich herzlich für die freundliche Überlassung des Themas, die motivierende Unterstützung und die wertvollen Ratschläge sowie für das Geduld und Verständnis bei der Durchführung dieser Arbeit.

Herrn Dr. –Ing. M. N. Eshtiaghi danke ich für die freundliche und intensive Unterstützung und Diskussionen bei der Durchführung der Arbeit, insbesondere für das Vertrauen und Geduld.

Bei Dr. K. A. Taiwo, Dr. B. Ade-Omowaye, Dr. D.-U. Lee und Dr. J. Kuldiloke bedanke ich mich für die freundliche Zusammenarbeit und Motivation.

Herrn Nissen von der ZELLMi, Technische Universität Berlin, danke ich für die Hilfe bei der Durchführung der elektronenmikroskopischen Untersuchungen.

Für die nette Zusammenarbeit und das Korrekturlesen meiner Arbeit danke ich Frau G. Ehrlich, S. Candea, G. Martens, Herrn E. von Garnier, M. Buntzeit, M. Zenker, S. Boguslawski und A. Angersbach.

Für das Gelingen der Arbeit bedanke ich mich herzlich bei allen Mitarbeitern der Lebensmittelbiotechnologie und –prozesstechnik für die gute Zusammenarbeit und freundliche Arbeitsatmosphäre.

Herzlichen Dank an meiner Mutter für Ihre finanzielle Unterstützung, Geduld und wunderbare Liebe und meinen Freunde für die Liebe und Gebet während dieser Arbeit, die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben, insbesondere E. Werther, M. Heinze, J. und P. Johnson, C. Tanuwijaya.

Vor allem danke ich unserem Gott „Der Vater, der Sohn Jesus Christ und der Heilige Geist“, der mir Kraft, Liebe, Hoffnung, Mut und Vertrauen in allen meinen Umstände gibt. Lob, Ehre und Dank sei Ihm.

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

---

Abb. 2.1.1: Die pflanzliche Zellstruktur	6
Abb. 2.1.2: Zellmembranaufbau der Pflanzen (Lipiddoppelschicht mit hydrophilen Hauptgruppen und hydrophoben Endstücken, Proteinen und Glykoproteiden)	8
Abb. 2.1.3: Eine graphische Darstellung des Zustands der Zelle in Abhängigkeit von ihren elektrophysikalischen Eigenschaften von intakter, teilweiser und vollständiger Zerstörung des pflanzlichen Gewebes	13
Abb. 2.2.1: Verarbeitung von Trauben	16
Abb. 2.3.1: Modell der Zellmembranpermeabilisierung	25
Abb. 2.3.2: Prinzip der Hochspannungsanlage	26
Abb. 3.4.1: Aufbau des Versuchssystems	53
Abb. 4.1.1: Einfluss der HELP-Behandlung auf den Permeabilisierungsgrad der Weinbeeren	61
Abb. 4.1.2: Einfluss der Behandlungstemperatur auf den Permeabilisierungsgrad von Weinbeeren bei verschiedenen Vorbehandlungen	62
Abb. 4.1.3: Einfluss der Behandlungsdauer auf den Permeabilisierungsgrad von Weinbeeren	63
Abb. 4.1.4: Einfluss des Behandlungsdrucks auf den Permeabilisierungsgrad von Weinbeeren	64
Abb. 4.1.5: Einfluss der Ultraschallleistung auf den Permeabilisierungsgrad von Weinbeeren	66
Abb. 4.1.6: Einfluss der Enzymierungszeit auf den Permeabilisierungsgrad der grob zerkleinerten Weinbeeren	67
Abb. 4.1.7: Einfluss der Behandlungsmethoden auf die Saftausbeute von Weinbeeren	68
Abb. 4.1.8 : Anthocyangehalt von Traubensaft	70
Abb. 4.1.9 : Einfluss der Behandlungsmethode auf den Säuregehalt (berechnet als Weinsäure) von Traubensaft	72
Abb. 4.2.1 : Einfluss der thermischen Behandlung auf den Permeabilisierungsgrad der Rote Beete	77
Abb. 4.2.2 : Einfluss von HP-Behandlung auf den Permeabilisierungsgrad der Rote Beete	78

Abb. 4.2.3 : Einfluss der HELP-Behandlung auf den Permeabilisierungsgrad der Rote Beete	79
Abb. 4.2.4 : Einfluss der verschiedenen Vorbehandlungen auf den Farbstoffaustritt, ausgedrückt als Extinktion des Extraktionsmediums ( $\lambda = 530 \text{ nm}$ )	81
Abb. 4.2.5 : Einfluss der verschiedenen Vorbehandlungen auf den Mineralstoffaustritt, ausgedrückt als Leitfähigkeit im Extraktionsmedium	84
Abb. 4.2.6 : Einfluss der verschiedenen Vorbehandlungen auf den pH-Wert des Extraktionsmediums	86
Abb. 4.2.7 : Gewicht von Rote Beete-Scheiben (Anfangsgewicht = 50 g) nach dem Stoffübergangsversuch	87
Abb. 4.2.8 : Einfluss der verschiedenen Vorbehandlungen auf die Festigkeit von Rote Beete	89
Abb. 4.3.1 : Einfluss der HELP-Behandlung auf den Permeabilisierungsgrad von Mango	92
Abb. 4.3.2 : Einfluss der Behandlungstemperatur auf den Permeabilisierungsgrad von Mango	93
Abb. 4.3.3 : Einfluss des Behandlungsdrucks auf den Permeabilisierungsgrad von Mango	94
Abb. 4.3.4 : Einfluss der Vorbehandlung auf den Feuchtegehalt von Mango während der osmotischen Trocknungszeit	96
Abb. 4.3.5 : Einfluss der Vorbehandlung auf die Geschwindigkeit der Feuchtegehaltsänderung ( $dMc/dt$ ) von Mango in Abhängigkeit von osmotischer Trocknungszeit	96
Abb. 4.3.6 : Einfluss der Vorbehandlung auf den Wasserverlust von Mango während der osmotischen Trocknungszeit	97
Abb. 4.3.7 : Einfluss der Vorbehandlung und der osmotischen Trocknungszeit auf die Zuckeraufnahme von Mango	99
Abb. 4.3.8 : Einfluss der Vorbehandlung auf die Geschwindigkeit der Zuckeraufnahmeänderung von Mango während der osmotischen Trocknungszeit	100
Abb. 4.3.9 : Einfluss der Vorbehandlung auf die elektrische Leitfähigkeit von osmotischen Lösungen der Mangofrüchte in Abhängigkeit von der osmotischen Trocknungszeit	101

Abb. 4.3.10: Einfluss der Vorbehandlung auf die Textur von Mango während der osmotischen Trocknungszeit	103
Abb. 4.3.11: Einfluss der Vorbehandlung auf die Helligkeit ( <i>L</i> -Werte) von Mango während der osmotischen Trocknungszeit	104
Abb. 4.3.12: Einfluss der Vorbehandlung auf die <i>a</i> -Werte von Mango während der osmotischen Trocknungszeit	104
Abb. 4.3.13: Einfluss der Vorbehandlung auf die <i>b</i> -Werte von Mango während der osmotischen Trocknungszeit	105
Abb. 4.4.1 : Einfluss von HELP und verschiedenen Trocknungsverfahren bei 60 °C auf die Trocknungsdauer von Weinbeeren	110
Abb. 4.4.2 : Einfluss von HELP und verschiedenen Trocknungsverfahren bei 60 °C auf die Trocknungsdauer von Pflaumen	111
Abb. 4.4.3 : Einfluss der Temperatur auf den im Trockenschrank getrockneten Spargel	112
Abb. 4.4.4 : Einfluss von Trocknungsverfahren bei 70 °C auf die Trocknungsdauer von Spargel	113
Abb. 4.4.5 : Rehydrationsgrad unbehandelter bzw. HELP-vorbehandelter Weinbeeren	114
Abb. 4.4.6 : Rehydrationsgrad unbehandelter bzw. HELP-vorbehandelter Pflaumen	114
Abb. 4.4.7 : Rehydrationsgrad unbehandelter bzw. HELP-vorbehandelter Spargel	115
Abb. 4.4.8 : Einfluss von HELP-Behandlung auf die Festigkeit von Weinbeeren	117
Abb. 4.4.9 : Einfluss von HELP-Behandlung auf die Festigkeit von Pflaumen	117
Abb. 4.4.10: Einfluss von HELP-Behandlung auf die Festigkeit von Spargel	118
Abb. 4.5.1 : Einfluss der HELP-Behandlung auf den Permeabilisierungsgrad von rotem Paprika	123
Abb. 4.5.2 : Einfluss der HP-Behandlung auf den Permeabilisierungsgrad von rotem Paprika	125
Abb. 4.5.3 : Einfluss der cCO <sub>2</sub> -Behandlung auf den Permeabilisierungsgrad von rotem Paprika	126
Abb. 4.5.4 : Einfluss von Vorbehandlungen auf den Brix-Wert (n) von rotem Paprika während der Fermentationszeit	128
Abb. 4.5.5 : Einfluss von Vorbehandlungen auf den pH-Wert von rotem Paprika während der Fermentationszeit	129
Abb. 4.5.6 : Einfluss der Vorbehandlungen auf die Keimzahl von rotem Paprika während der Fermentation	130

Abb. 4.5.7 a: Einfluss der Vorbehandlungen auf die L-Milchsäure von rotem Paprika mit Fermentationszeit	131
Abb. 4.5.7 b: Einfluss der Vorbehandlungen auf die D-Milchsäure von rotem Paprika während der Fermentation	132
Abb. 4.5.7 c: Einfluss der Vorbehandlungen auf die titrierbare Säure (berechnet als Milchsäure) von rotem Paprika während der Fermentation	132
Abb. 4.5.8 : Einfluss der Vorbehandlungen auf den Trockensubstanz von rotem Paprika mit Fermentationszeit	133
Abb. 4.5.9 a: Einfluss der Vorbehandlungen auf die <i>L</i> -Werte von rotem Paprika während Fermentation	134
Abb. 4.5.9 b: Einfluss der Vorbehandlungen auf den <i>a/b</i> -Wert von rotem Paprika während der Fermentation	135
Abb. 4.5.10 : Einfluss der Vorbehandlungen auf die Textur von rotem Paprika während der Fermentation	136

## TABELLENVERZEICHNIS

---

Tab. 3.1.1: Die verwendeten Rohwaren	45
Tab. 3.3.1: Zusammensetzung von Rote Beete	47
Tab. 3.3.2: Feuchtegehalt [%] von Mangoscheiben vor und nach der Vorbehandlung bevor OD	47
Tab. 3.3.3: Feuchtegehalt (Mc) von rotem Paprika	48
Tab. 3.4.1: Die angewandten HELP-Bedingungen bei verschiedenen Rohwaren	49
Tab. 3.5.1: Versuchsdurchführung von Textur	58
Tab. 4.1.1: Die verwendeten Behandlungsparameter für die Saftgewinnung	68
Tab. 4.1.2: Einfluss der verschiedenen Vorbehandlungen auf die Saftqualität	73
Tab. 4.1.3: Einfluss der verschiedenen Vorbehandlungen auf die Farbe von Traubensaft	74
Tab. 4.1.4: Vergleich der Ergebnisse von verschiedenen Vorbehandlungen auf den Traubensaft	75
Tab. 4.2.1: Die verwendeten Behandlungsparameter für den Stoffübergang	80
Tab. 4.3.1: Die verwendeten Behandlungsparameter für die mikroskopische Untersuchung bzw. osmotische Trocknung	95
Tab. 4.3.2: Vergleich der Zuckeraufnahme (Sg) und Wasserverlust (WL) von verschiedenen Vorbehandlungen	107
Tab. 4.4.1: Die angewandten HELP-Bedingungen und die daraus resultierende Permeabilisierung ( $Z_p$ ) bei verschiedenen Rohwaren	109
Tab. 4.4.2: Farbe ( $L$ -, $a$ - und $b$ -Wert) von Weinbeeren vor und nach der Rehydration	119
Tab. 4.4.3: Farbe ( $L$ -, $a$ - und $b$ -Wert) von Pflaumen vor und nach der Rehydration	120
Tab. 4.4.4: Farbe ( $L$ -, $a$ - und $b$ -Wert) von Spargel vor und nach der Rehydration	120
Tab. 4.4.5: Trocknungszeitreduzierung	122
Tab. 4.5.1: Die verwendeten Behandlungsparameter für den Fermentationsversuch	126
Tab. 4.5.2: Inhaltsstoffe von rotem Paprika	127

## ABKÜRZUNGEN

---

d	Tage
h	Stunde
HELP	Hochspannungsimpulse
HP	Hydrostatischer Hochdruck
KBE/ml	Kolonie Boden Einheit pro Milliliter
kV/cm	Kilo Volt pro centimeter
Min	Minuten
MPa	Mega Pascal
n [-]	Pulszahl
n [°Bx]	Brix-Wert
OD	Osmotische Trocknung
p	Druck
(S)cCO <sub>2</sub>	Komprimiertes bzw. überkritisches Kohlendioxid
ScF	Überkritische Fluid
T	Temperatur
US	Ultraschall
W	Watt
Zp	Zellmembranpermeabilisierungsgrad

*In Erinnerung an Tedjo Joewono*

# 1 PROBLEMSTELLUNG UND ZIELSETZUNG

---

Die konventionellen Lebensmittelverarbeitungsmethoden sind mit einer Reihe von Nachteilen behaftet, wie chemische, physikalische und sensorische Veränderung der Lebensmittel. Im Vergleich dazu gehen die nichtthermischen Verfahren mit Energie effizienter um und die erzeugten Produkte haben eine bessere Qualität als bei thermischen Verfahren [Zarate-Rodriguez *et al.* 1997, Mertens und Knorr 1992]. Aufgrund ihres Potentials als neue schonende Verfahren zur Lebensmittelherstellung und -haltbarmachung sind nichtthermische Verfahren, wie elektrische Hochspannungsimpulse (HELP), hydrostatischer Hochdruck (HP), komprimiertes ( $c\text{CO}_2$ ) bzw. überkritisches Kohlendioxid ( $\text{ScCO}_2$ ) und Ultraschall (US), als alternative zu konventionellen thermischen Verfahren eingesetzt worden, die den Ansprüchen an eine moderne Lebensmitteltechnik gerecht werden [Angersbach und Knorr 1997b, Hayashi 1989].

An die moderne Lebensmitteltechnik als Teilgebiet der Verfahrenstechnik wird eine Vielzahl an Anforderungen gestellt. Neben der Notwendigkeit, gesundheitlich sichere und geschmacklich einwandfreie Lebensmittel zu produzieren, sind Kriterien wie Qualität, Funktionalität, convenience usw. zu erfüllen. Außer dem Qualitätsanspruch des Verbrauchers sollte auch der für die Industrie relevante ökonomische Aspekt berücksichtigt werden.

In den letzten Jahrzehnten wurden die nichtthermischen Verfahren, insbesondere HP und HELP, intensiv untersucht [Hendrickx und Knorr 2002, Anon 1997]. HELP bietet eine Anzahl von Vorteilen an, z.B. minimale Veränderung von frischen Lebensmitteln, Inaktivierung von vegetativen Mikroorganismen und von vielen Enzymen bei Raumtemperatur bzw. tiefen

---

Temperaturen ( $\geq 4$  °C) sowie eine schonende Zellaufschluss-methode. Somit können Lebensmittel, die hitze- bzw. druckempfindlich sind, durch diese Verfahren haltbar gemacht werden [Barostti *et al.* 2001]. Der Einsatz von HELP zum schonenden Zellaufschluss von pflanzlichem Gewebe zur Inhaltsstoffgewinnung bzw. Beschleunigung des Massentransports ist in den letzten Jahren intensiv untersucht worden [Eshtiaghi und Knorr 2002a, b, Ade-Omawaye *et al.* 2001, Taiwo *et al.* 2001, Eshtiaghi und Knorr 2000, Rastogi *et al.* 1999, Matalla 1994, Geulen *et al.* 1994, McLellan *et al.* 1991, Brodelius *et al.* 1988, Papchenkov *et al.* 1988, Flaumenbaum 1967].

Der Einsatz von HP als Zellaufschlussmethode zur Gewinnung von Inhaltsstoffen ist wenig bekannt [Ohmori 1993, Dörnenburg und Knorr 1993]. Rastogi *et al.* (2000b) und Taiwo *et al.* (2001) haben den Einfluss von HP auf die Zellmembranpermeabilisierung und anschließende osmotische Trocknung von Kartoffeln und Äpfeln untersucht. Die Anwendung von HP verursachte eine drastische Permeabilisierung der Zellmembran, die zur hohen Massentransportkinetik während der osmotischen Trocknung führte. Eshtiaghi (1996) hat den Einsatz von HP für die Herstellung der Fruchtzubereitung aus tiefgefrorenen Erdbeeren untersucht. HP-Behandlung vor der Zuckering führte zu einer Erhöhung der Zuckeraufnahme bzw. des Brixwertes von Erdbeer-Scheiben.

Über den Einsatz von (S)cCO<sub>2</sub> und US als Zellaufschlussmethode zur gezielten Erhöhung des Massentransportes ist wenig bekannt. In der Pharmazie und Biotechnologie kann das komprimierte Kohlendioxid mit schneller Entspannung – „Cell-Cracking“ – zum Zellaufschluss der schwer zugänglichen Inhaltsstoffe eingesetzt werden. Borscheid (1990) hat das Verfahren vorgeschlagen, wobei die entrappten, unzerkleinerten Weinbeeren bei 1,5 bis 4 bar für bis 15 min mit CO<sub>2</sub> beaufschlagt, dann erfolgte eine schnelle Entspannung. Als Vorteile dieses Verfahrens sind – sog. Aroma-safing – nannte der Autor, eine bessere Farb- und Aromastoffausbeute, bessere Vorentsaffung und Oxidationsschutz.

Die Extraktion von organischen Substanzen aus pflanzlichem Material durch Lösungsmittel wurde mittels Hochleistungsultraschall verbessert [Mason *et al.* 1996]. Die mechanische Effekte von US bewirkte eine Zellzerstörung, gleichzeitig ein besseres Durchdringen der Lösungsmittel in die pflanzliche Gewebe und erhöhte den Stofftransport [Mason *et al.* 1996, Wang 1981, Chendke und Fogler 1975].

Die bisher veröffentlichten Arbeiten haben den Permeabilisierungseffekt der einzelnen nichtthermischen Verfahren untersucht. Es fehlt einen Vergleich zwischen verschiedenen nichtthermischen Verfahren untereinander in Bezug auf den Permeabilisierungseffekt und auf den daraus beeinflussten Massentransport.

Die Zielsetzung dieser Arbeit war, die Anwendbarkeit der nichtthermischen Verfahren als neuartige Permeabilisierungsmethode an pflanzlichen Geweben sowie ihren Einfluss auf den Massentransport zu untersuchen. Um den Permeabilisierungseffekt von verschiedenen nichtthermischen Verfahren untereinander vergleichen zu können, wurden exemplarisch ausgewählte Rohwaren (u.a. Weinbeeren, Rote Beete, Mango, Pflaumen und Spargel, rote Paprika) herangezogen.

Der Einfluss verschiedener Behandlungsparameter (Feldstärke und Pulszahl für HELP, Druckhöhe sowie Behandlungsdauer und -temperatur für HP und (S)cCO<sub>2</sub>, Leistung und Behandlungsdauer für US) auf den Permeabilisierungsgrad sollte untersucht werden. Dann sollten der Saft- und der Farbstoffaustritt, die Kinetik der osmotischen und der Warmlufttrocknung sowie die Fermentationskinetik von Proben, die durch verschiedene nichtthermische Verfahren behandelt worden sind und einen ähnlichen Permeabilisierungsgrad (ca. 50 % Permeabilisierung der Gewebe) aufwiesen, untereinander verglichen werden. Schließlich wurden die Qualität von Traubensaft, die sensorischen Eigenschaften (Textur, Farbe) von osmotisch- und warmluftgetrockneten sowie von fermentierten Proben, sowie das Mikroorganismenwachstum und die Säurebildung während der Fermentation untersucht.

Vorliegende Abhandlung ist in fünf Abschnitte aufgeteilt. Die erste Zielsetzung dieser Arbeit war, den Einfluss von nichtthermischen Verfahren (HELP, HP, (S)cCO<sub>2</sub> und US) auf die Zellmembranpermeabilisierung der Weintrauben sowie auf die Saftausbeute bzw. -qualität zu untersuchen (Abschnitt 4.1). Die Zielsetzung von Abschnitt 4.2 war, den Einfluss von HELP bzw. HP auf die Zellmembranpermeabilisierung und den anschließenden Massentransport der Rote Beete zu untersuchen. Beide Kapitel vergleichen die Effekte der nichtthermischen Verfahren mit den konventionellen thermischen bzw. enzymatischen Verfahren auf die Inhaltsstoffgewinnung aus der pflanzlichen Lebensmittel. Der Einfluss von HELP, HP, (S)cCO<sub>2</sub> mit ähnlichem Permeabilisierungsgrad ( $Z_p \approx 0,5$ ) auf den Massentransport der osmotisch getrockneten Mango und auf die Qualitätsparameter des Produkts (Textur und Farbe) wird in Abschnitt 4.3 dargestellt. In Abschnitt 4.4 wird der Einfluss von HELP-Vorbehandlung

auf die Permeabilisierung und Textur der drei ausgewählten Rohwaren (Weintrauben, Pflaumen, Spargel) untersucht. Anschließend wird der Einfluss von HELP-Vorbehandlung auf die Trocknungsgeschwindigkeit, den Rehydratationsgrad sowie auf die Farbe der getrockneten Produkte untersucht und mit unbehandelten Proben verglichen. Schließlich werden die Effekte der nichtthermischen Verfahren (HELP, HP und  $c\text{CO}_2$ ) mit ähnlichem Permeabilisierungsgrad ( $Z_p \approx 0,5$ ) auf die Fermentationskinetik (Mikroorganismen, pH-Wert, Brix-Wert, Auslaugen der Zellbestandteile, *L*- und *D*-Milchsäure sowie titrierbare Säure) und Qualitätskriterien (Textur, Farbe) von fermentiertem rotem Paprika im Abschnitt 4.5 überprüft.

## 2 LITERATURÜBERBLICK

---

### 2.1 Pflanzliches Lebensmittel

#### 2.1.1 Bedeutung der Obst und Gemüse

Als Gemüse werden die frischen, essbaren Pflanzenteile bezeichnet, die roh, gekocht oder konserviert verzehrt werden können. Ausgenommen hiervon sind Früchte mehrjähriger Pflanzen, die zum Obst gehören. Auch nach der Ernte bleiben Obst und Gemüse noch „lebende Organismen.“

Obst und Gemüse sind für die gesunde Ernährung des Menschen unverzichtbar, nicht nur auf Grund des erfrischenden und aromatischen Geschmacks, sondern auch wegen ihrer ernährungsphysiologischen Wertigkeit. An erster Stelle zu nennen ist sein Gehalt an Stoffen, die die Verdauung regeln oder anregen. Organische Säuren (Apfelsäure, Weinsäure, Citronensäure) wirken leicht laxierend und diuretisch (Grundlage der Obstkuren). Pektine und phenolische Verbindungen regeln u.a. den pH im Darm, normalisieren die Darmflora, wirken bakteriostatisch und virostatistisch, entgiften Schwermetalle und werden für diese Zwecke medizinisch verwendet. Manche Obstarten sind reich an Provitamin A (Mango, Papaya), Vitamin C (Zitrus, Guave), usw. [Rehm und Espig 1976]. Zusätzlich sind Obst und Gemüse gute Quellen der diätetischen Fasern, und hoher diätetischer Fasereinlass wird in der Behandlung und Vorbeugung von Diabetes und der gastro-intestinalen Störungen verwendet [Anderson *et al.* 1994].

Der regelmäßige Verzehr von Obst und Gemüse vermindert das Risiko für bestimmte Erkrankungen, so zum Beispiel verschiedene Krebserkrankungen und Erkrankungen der koronaren Herzkranzgefäße [Schobinger 2001].

## 2.1.2 Pflanzliche Zellen

Zellen sind die strukturellen Einheiten der lebenden Organismen, deren Anhäufungen Gewebe bilden. Die meisten der normalen metabolischen Tätigkeiten der Pflanzen laufen im parenchymatischen Gewebe ab. Das meiste Wasser in ausgewachsenen Parenchymzellen befindet sich in der Vakuole, ca. 90 % des pflanzlichen Wassers. Die Vakuole, die mit Flüssigkeit gefüllt ist, enthält die meisten wasserlöslichen, niedermolekularen Gewichtsbestandteile. Die Lösung übt einen hohen osmotischen Druck aus und das Tonoplast, in Vakuole umgebende Membran, ist gestresst [Lewicki 1998]. Die pflanzliche Zellstruktur ist in der Abbildung 2.1.1 dargestellt.

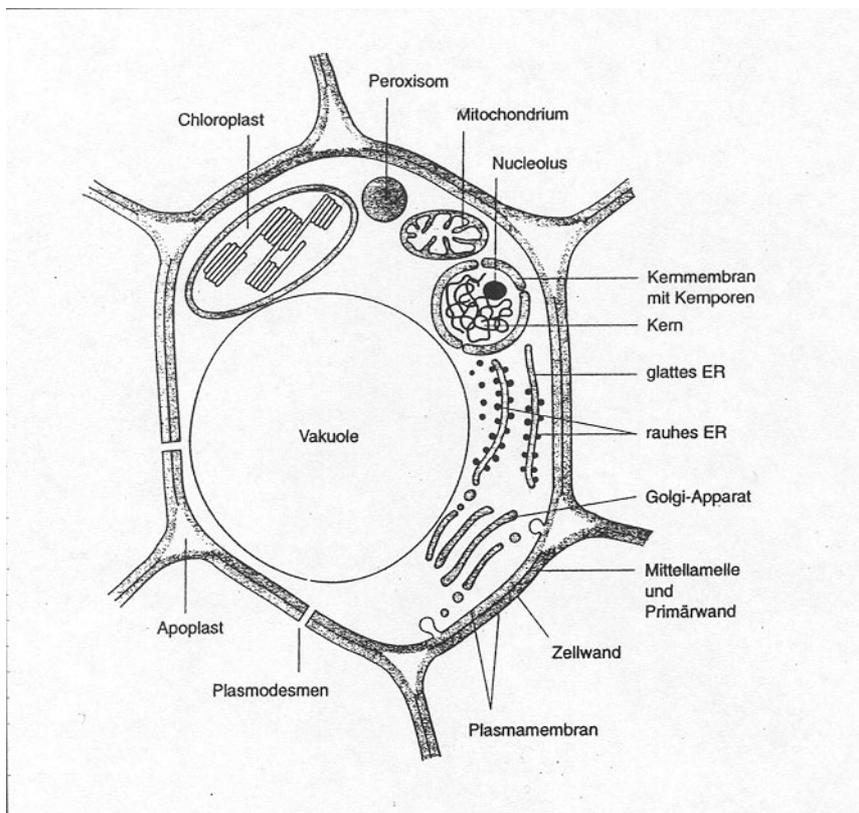


Abb. 2.1.1: Die pflanzliche Zellstruktur [Heldt 1996]

Die pflanzliche Zelle besteht aus einer Zellwand, der semipermeablen Membran und dem leitfähigen Zellinneren, dem sogenannten Zytoplasma. Die Zellwände bestehen aus Mittellamelle und Primärwand, Sekundärwand sowie Tertiärwand. Sie sind vorwiegend aus Cellulose, Hemicellulose, Lignin und Pektin aufgebaut. Pektin Substanzen sind weitgehend in der mittleren Lamelle, im Bereich zwischen benachbarten Zellwänden zu finden. Das Pektin ist für essbare Früchte, Knollen und Stengel die bedeutendste Gerüstsubstanz. Pektin enthält als Baustein hauptsächlich *D*-Galakturonsäure, deren Carboxylgruppe noch teilweise mit Methanol verestert ist. Im Pflanzengewebe kommt Pektin teilweise als unlösliches Protopektin vor, dabei sind die Pektinketten sowohl durch chemische Bindungen untereinander, als auch mit anderen Gerüstsubstanzen der Zellwand verknüpft. Während der Reifung bzw. des Kochens von Obst und Gemüse wird das Protopektin in lösliches Pektin überführt. Dabei tritt eine Auflösung der Bindungen zwischen den Pektinen untereinander und den Cellulosen und Hemicellulosen auf, woraus eine Erweichung des Gewebes resultiert [Ternes 1990]. Die Zellwand stellt der Zelle mechanische Stärke zur Verfügung. Die dünne Plasmamembran kann als einschränkende Sperre zu großen Molekülen betrachtet werden.

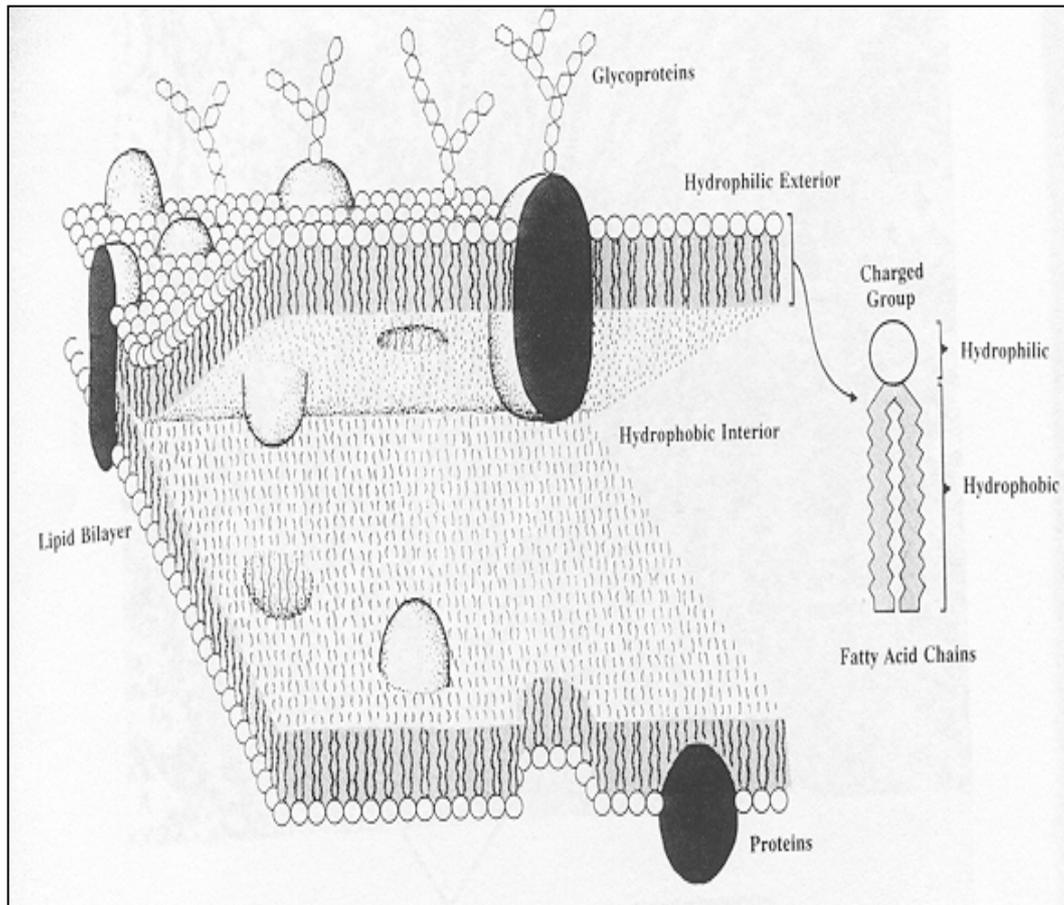
### 2.1.2.1 Die Zellmembran

Jede Zelle ist von einer Plasma- oder Zellmembran umgeben. Die Zellmembran trennt die intrazellulären Bestandteile von der Umgebung und spielt daher eine wichtige Rolle beim interzellulären Transport. Diese semipermeable Membran wirkt limitierend auf Diffusionsvorgänge. Ihre Dicke schwankt je nach Objekt und Membrantypus zwischen 7 und 10 nm.

3 Charakteristika der Zellmembran sind physiologisch (und auch strukturell) unsymmetrisch, in sich geschlossen, d.h. sie ist immer als Vesikel sowie die hohe Unsymmetrie de novo im Zytoplasma einer Zelle. Die Zellmembranen bestehen aus Proteinen und Lipiden, wozu in einigen Fällen noch Kohlenhydrate kommen. Dort sind die Mengenverhältnisse der einzelnen Komponenten von Fall zu Fall sehr verschieden. Bei vielen Membrantypen liegt der Lipidanteil in der Größenordnung von 40 % und der Proteinanteil bei etwa 60 %, doch sind auch Membranen mit wesentlich geringerem (25 %) bzw. höherem (80 %) Proteinanteil isoliert worden.

Die heutige Vorstellung von der Biomembran basiert auf dem "Fluid Mosaic" Model, das

1972 von S.J. Singer und G.L. Nicolson formuliert wurde. Dieses Model besagt, dass das strukturelle Gerüst einer Membran eine flüssig-kristalline Lipiddoppelschicht ist und dass die Membranproteine in dieser Doppelschicht lateral freibeweglich sind (wie „Eisberg in der See“) [Nultsch 1991].



**Abb. 2.1.2:** Zellmembranaufbau der Pflanzen (Lipiddoppelschicht mit hydrophilen Hauptgruppen und hydrophoben Endstücken, Proteinen und Glykoproteiden) [Wolfe 1985]

Die Plasmamembran (Plasmalemma) hat eine dynamische Struktur, die von einer Lipiddoppelschicht gebildet wird. Die Lipidmoleküle, hauptsächlich Phospholipide der Doppelschicht, haben innerhalb ihrer Struktur einen hydrophilen Kopf (polar) und ein hydrophobes (apolares) Endstück. Die Endstückregion bildet die Mitte der Lipiddoppelschicht, indem sie zusammen durch hydrophobe Wechselwirkungen angeschlossen wird (Abb. 2.1.2). Beide Oberflächen der Doppelschicht bestehen aus den hydrophilen Köpfen. Die Doppelschicht ist folglich in einer wässrigen Umgebung stabil, weil

ihre Oberflächen sich mit Wasser verbinden. Die komplizierten Wechselwirkungen der Lipidmembran mit der Proteinmembran sind verantwortlich für die Erhaltung der Membranintegrität und -funktionalität. Die innerhalb der Doppelschicht eingebetteten Proteine sind wesentlich für die Biochemie der Zelle, z.B. stellen Enzyme einen Teil der metabolischen Bahn dar, Protein als selektiv durchlässige Ionenkanäle, usw. Die Proteine können entweder integral auf die Kohlenwasserstoffregion der Lipiddoppelschicht überspannen und einwirken oder -peripherie sein, die im allgemeinen auf integrale Proteine und nicht auf die Doppelschicht direkt einwirken. In den pflanzlichen Geweben steuert das spröde Plasmalemma den Inhalt innerhalb der Zelle und die flexible Zellwand steuert den Turgordruck innerhalb der Zelle und verhindert das Platzen.

### *Membranpotential*

Bei den meisten Zellen besteht zwischen Zytoplasma und extrazellulärer Umgebung, also über die Plasmamembran, eine Potentialdifferenz. Diese Potentialdifferenz wird als Membranpotential  $\Delta E_m$  bezeichnet und ist folgendermaßen definiert.

#### Gl. 2.1.1: Berechnung des Membranpotentials

$$\Delta E_m = E_i - E_a$$

**i = Innen (Plasmatisch)**  
**a = Außen (Extraplasmatisch)**

Bei Pflanzenzellen und auch bei *E. Coli* liegt  $\Delta E_m$  bei -150 mV, wobei die zytoplasmatische Seite gegenüber der Außenseite immer negativ ist. In der Zelle ist das Membranpotential nicht nur für die Plasmamembran charakteristisch, sondern ist auch bei intrazellulären Membranen (Vakuolen, Lysosomen, Chloroplasten u.a.) vorhanden.

Die Konzentrations- und Ladungsverhältnisse an einer Biomembran sind sehr komplex. Hierdurch ist eine mehr oder weniger wirksame Diffusionsbarriere für alle Ionen gegeben, die für die elektrischen Erscheinungen von Bedeutung ist.

#### **2.1.2.2 Diffusion und Osmose**

Diffusion ist das Bestreben eines gasförmigen oder gelösten Stoffes, sich in dem zur Verfügung stehenden Raum bzw. Lösungsmittel gleichmäßig zu verteilen. Sie hat ihre Ursache in der thermischen Bewegungsenergie der Moleküle (Brownsche

Molekularbewegung). Werden zwei Lösungen verschiedener Konzentration übereinandergeschichtet, so diffundieren die Teilchen vom Ort höherer zum Ort niedrigerer Konzentration. Die Diffusion folgt dem *1. Fickschen Diffusionsgesetz*.

**Gl. 2.2.1:** Das erste Ficksche Diffusionsgesetz

$$\frac{dm}{dt} = -D \cdot q \cdot \frac{\delta c}{\delta x}$$

Die Diffusionsrate  $dm/dt$ , d.h. die in der Zeiteinheit  $dt$  diffundierende Substanzmenge  $dm$ , ist proportional dem Konzentrationsgradienten  $\delta c/\delta x$ , wobei  $\delta c$  in  $\text{mol}/\text{cm}^3$  und  $\delta x$  in  $\text{cm}$  angegeben wird.  $q$  ist die Austauschfläche und  $D$  die Diffusionskonstante in  $\text{cm}^2/\text{s}$ . Das negative Vorzeichen beschreibt die Richtung des Vorganges. Werden die beiden Lösungen durch eine permeable Membran getrennt, die sowohl das Lösungsmittel als auch den gelösten Stoff durchlässt, so ist die Gleichung um den Faktor  $P$ , die Permeabilitätskonstante der betreffenden Membran, zu erweitern. Auch in diesem Fall ist die Diffusionsrate dem Konzentrationsgradienten proportional.

Werden jedoch die beiden Lösungen durch eine semipermeable (halbdurchlässige) Membran getrennt, die zwar für das Lösungsmittel, nicht aber für den gelösten Stoff durchlässig ist, so wird dem Diffusionsbestreben der gelösten Moleküle bzw. Ionen Einhalt geboten. Infolgedessen verursacht das bestehende Diffusionspotential den Durchtritt des Lösungsmittels durch die Membran zur Seite der höheren Konzentration, ein Vorgang, den man als Osmose bezeichnet. Der ständige Wassereintritt in das osmotische System verursacht eine Volumenzunahme und damit einen Ausdehnungsdruck, den osmotischen Druck ( $\pi$ ).

Für den osmotischen Druck gilt die Beziehung  $\pi = (c_1 - c_2) \cdot R \cdot T$ , wobei  $c_1$  und  $c_2$  die Konzentrationen von gelösten Stoffen in  $\text{mol}/\text{l}$ ,  $T$  die absolute Temperatur und  $R$  die Gaskonstante ist.  $\pi$  wird in bar ( $1 \text{ bar} = 0,987 \text{ atm}$ ) angegeben. Für die nicht-ideale Lösung gilt entsprechend:  $\pi = (c_1 - c_2) \cdot g \cdot R \cdot T$  bzw., wenn die eine Lösung reines Wasser ist  $\pi = c \cdot g \cdot R \cdot T$ , wobei  $g$  der osmotische Koeffizient ist.

### 2.1.2.3 Permeabilität und Transport

Die Lipiddoppelschicht der Biomembran stellt eine nicht-wässrige Barriere zwischen wässrigen Kompartimenten dar. Der Austausch von wasserlöslichen Moleküle und anorganischen Ionen zwischen den Kompartimenten durch diese Barriere ist stark eingeschränkt. Um trotzdem ganz bestimmte Moleküle und Ionen hindurchzulassen, gibt es in Biomembranen integrale Proteine, die als Translokatoren (Transportproteine, Carrier) dienen. Nur wenige kleine Moleküle wie Wasser, Essigsäure u.a. bis zu einer Mr von etwa 75 können durch eine Zellmembran (ebenso wie durch eine reine Lipiddoppelschicht) frei diffundieren.

Diese Eigenschaft der Zellmembranen, kleine hydrophile Moleküle frei passieren zu lassen, größere jedoch nicht, wird als Semipermeabilität bezeichnet. Auf ihr beruhen alle osmotischen Vorgänge. Um diesen Siebeffekt (Ultrafiltration) erklären zu können, wurden fixe Poren in der Membran von etwa 0,4 nm Durchmesser postuliert. Diese Poren sind als transiente Unregelmäßigkeiten oder Fehlstellen in der fluiden Struktur der Lipiddoppelschicht zu werten.

Vom Mechanismus her unterscheidet man zwei verschiedene Formen des spezifischen Transports: den passiven Transport (katalysierte Diffusion), bei dem keine Energie aufgewendet werden muss, sowie den aktiven Transport, der Energie benötigt.

Katalysierte Diffusion kann – wie die freie Diffusion ohne Translokator – nur zu einem Konzentrationsausgleich für ein Molekül/Ion zwischen zwei Kompartimenten führen. Ein Netto-Transport erfolgt also nur, wenn ein Konzentrationsgradient (chemisches Potential) zwischen den Kompartimenten besteht.

In der Regel erfolgt der Transport von Ionen und Molekülen, die nicht frei durch die Membran diffundieren können, mit Hilfe spezifischer Transportproteine, bei denen wir Kanäle und Carrier (Träger) unterscheiden müssen. Die Ionenkanäle sind Tunnelproteine, die die Membran ganz durchsetzen und einen hydrophilen Weg durch den hydrophoben Innenbereich der Membran bilden. Sie können ständig offen sein, oder sie öffnen und schließen sich spontan in bestimmten Zeitabständen. Das Öffnen und Schließen wird durch das elektrische Membranpotential oder durch die Bindung eines Effektors an den Kanal gesteuert. In allen diesen Fällen erfolgt wie bei der freien Diffusion der Transport vom Ort

höherer zum Ort niedrigerer Konzentration, d.h. die Permeationsrate nimmt mit steiler werdendem Konzentrationsgefälle zu. Bedingt durch die Leistungsfähigkeit der Kanäle bzw. die begrenzte Anzahl von Bindungsstellen erreicht sie jedoch, abweichend von der reinen Diffusion, schließlich einen Sättigungswert (katalytische Permeation), wie im Hinblick auf die ungleich größere Spezifität für das zu transportierende Substrat.

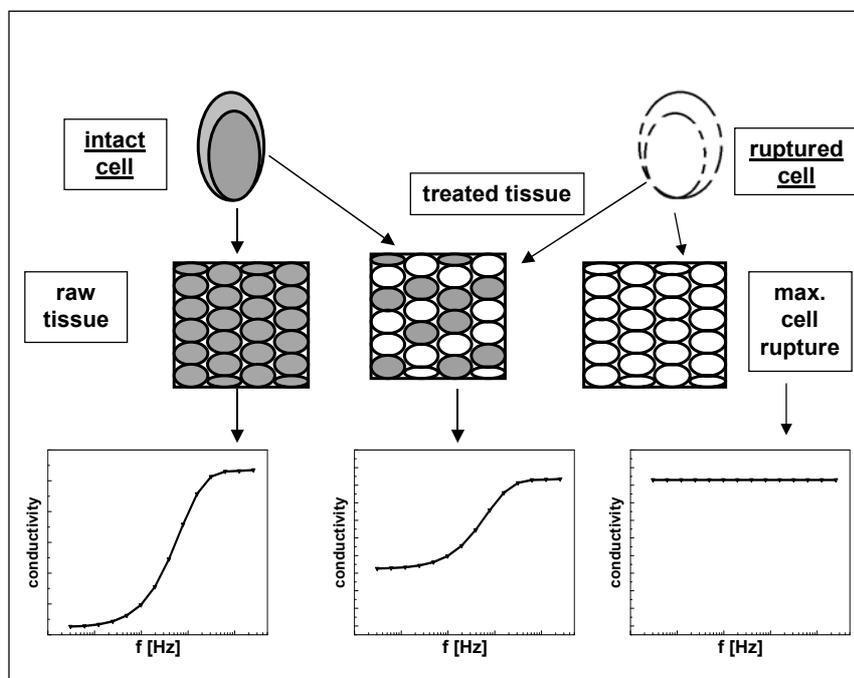
Im Unterschied zur katalysierten Diffusion ist der aktive Transport an einen energieverbrauchenden Prozess gekoppelt. Solch ein System kann daher gegen einen Konzentrationsgradienten arbeiten und zur Anreicherung des betreffenden Moleküls/Ions führen [Kleinig und Sitte 1992]. Aktiver Transport ist ein Transport von ungeladenen organischen Molekülen gegen das Konzentrationsgefälle bzw. von Ionen gegen das elektrochemische Gefälle. Er benötigt Energie und erfolgt meisten mit Hilfe von Carriern. Diese können u.U. sogar die *D*- und *L*-Formen von Hexosen und Aminosäuren erkennen und selektiv transportieren [Nultsch 1991].

### **2.1.3 Kennzeichnung des Umfanges von Zellmembranpermeabilisierung**

Aufgrund seiner Auswirkung auf die Lebensmittelqualität, -funktionalität, -verschlechterung und -sicherheit muss während der Verarbeitung oder Lagerung der Lebensmittel die Aufmerksamkeit auf den Grad der Permeabilisierung der Gewebestruktur gerichtet werden. Verschiedene Autoren haben berichtet, dass die Ermittlung der morphologischen und strukturellen Eigenschaften eines Zellsystems möglich ist, indem man das elektrische Verhalten der biologischen Materialien studiert [Dejmek und Miyawaki 2002, Kuang und Nelson 1998, Pething und Kell 1987, Hayden *et al.* 1969, Schwan 1957]. Elektrische Eigenschaften der pflanzlichen Gewebe können von den Widerstandsmessungen abgeleitet werden. Die Technik ist schnell, zerstörungsfrei und einfach zu benützen [Wilner und Brach 1979].

Lebende Zellen setzen widerstrebende und reagierende Bestandteile fest, die hauptsächlich ein Ergebnis der Zellmembranen und extra- und intrazellulären Lösungen sind [Repo *et al.* 1990]. Wie im vorherigen Kapitel dargelegt, werden die Kompartimenten einer Zelle durch eine Zellmembran von dem umgebenden Medium getrennt, die hauptsächlich aus den in hohem Grade strukturierten elektrisch isolierenden Phospholipiden besteht. Solange

das Medium auf beiden Seiten der Zellmembranen elektrisch leitend ist, zeigt das makroskopische Gewebesystem komplexe Leitfähigkeit, welches von der angewandten Frequenz abhängig ist [Angersbach *et al.* 1999]. Greenham *et al.* (1978) hat bestätigt, dass (1) bei niedrigen Frequenzen der Widerstand des lebenden Gewebes hoch, während der des toten Gewebes niedrig ist. (2) Der Widerstand der Zellwand ist konstant, unabhängig von der Frequenzhöhe, (3) der durch Gleichstrom (Niederfrequenz) beobachtete hohe Widerstand einer lebenden Zelle wurde von der einen bzw. beiden der zwei Zellmembranen verursacht. So kann der Zustand von Biosystemen von dem Zustand der Zellmembran vorausgesagt werden (s. Abb. 2.1.3).



**Abb. 2.1.3:** Eine graphische Darstellung des Zustands der Zelle in Abhängigkeit von ihren elektrophysikalischen Eigenschaften von intakter, teilweiser und vollständiger Zerstörung des pflanzlichen Gewebes [Angersbach *et al.* 1999]

Die Ermittlung der Veränderung der Zellmembranstruktur durch einen Prozess kann nützliche Informationen über Mechanismus und Wirksamkeit der Behandlungsmethoden oder Stressreaktionen auf biologische Materialien geben. Das Vorhandensein der intakten Membranen mit sehr niedriger elektrischer Leitfähigkeit in einer zellularen Probe (mit inneren und äußeren leitenden Phasen) bewirkt eine frequenzabhängige Leitfähigkeit. Die im nativen

---

Zustand intakten Membranen der pflanzlichen Zellen verursachen die komplexe Leitfähigkeit des für zelluläre Materialien typischen Verhaltens in verschiedenen Frequenzbereichen. Im Frequenzbereich 5 Hz bis 15 kHz sind die Leitwerte niedrig, im Hochfrequenzbereich (mehr als 3 MHz) wird der Einfluss der Zellmembranen auf den Ladungstransport immer schwächer und die komplexe Leitfähigkeit erreicht maximale Werte. Die durch eine Behandlung entstehende Zellstrukturänderung lässt sich mit ausreichender Genauigkeit durch das Verhältnis der Leitfähigkeit im NF- (3 kHz) und HF- (bis zu 100 MHz) Bereich abschätzen [Angersbach *et al.* 1997a]. Der Zellmembranpermeabilisierungsindex kennzeichnet den Umwandlungsgrad vom Ausgangszustand des Zellsystems. Er beschreibt also den Übergang einer Zelle vom intakten zum zerstörten Zustand. Er reicht von 0 (intaktes Gewebe) bis 1 (komplette Membranzerstörung). Dieser Index gibt jedoch nur einen ungefähren Wert des Umfangs der Zellmembranpermeabilisierung.

---

## 2.2 Lebensmittelverarbeitungsmethode

Obst und Gemüse sind leicht verderblich. Zudem ist ihre Produktion in der Natur saisonal. So besteht die Notwendigkeit milde oder leichte Verarbeitungsmethoden, Obst und Gemüse zu konservieren und dabei wichtige Nährstoffe so wenig wie möglich zu beeinflussen. In diesem Abschnitt sind die wichtigen Lebensmittelverarbeitungsmethode – Saftgewinnung, Extraktion von Inhaltsstoffe, Trocknung (osmotische und Warmluft) und Fermentation – kurz erläutert.

### 2.2.1 Fruchtsaftgewinnung

Nach dem zweiten Weltkrieg entwickelte sich besonders in Europa und den USA eine Fruchtsaftindustrie, die zunehmend auch für Länder der Dritten Welt ökonomische Bedeutung gewann und gegenwärtig ein beachtlicher Faktor der Weltwirtschaft ist.

Die Fruchtsaftindustrie ist weltweit ein bedeutendes Segment im nichtalkoholischen Getränkemarkt, man rechnet mit einer Produktion von etwa 30 Milliarden Litern pro Jahr und einem Wert von etwa 30 Milliarden US-Dollar. In der Europäischen Union, als einem der Hauptmärkte mit nahezu 380 Millionen Verbrauchern, werden etwa 8,3 Milliarden Liter Fruchtsäfte und Fruchtnektare produziert mit einem Wert von etwa 5 Milliarden Euro. Das ist ein Anteil von etwa 12,5 % an der Gesamtproduktion nichtalkoholischer Getränke in der EU. Deutschland stellt mit etwa 45 bis 50 % den größten Anteil an Produktion und Umsatz von Fruchtsäften und Fruchtnektare [Schobinger 2001].

Ein zentrales Ziel bei der Herstellung von Frucht- und Gemüsesäften ist die Gewinnung der ernährungsphysiologisch wertvollen Zellinhaltsstoffe in der entsprechenden wirtschaftlichen Ausbeute. Dazu ist eine Vorbehandlung der Rohware notwendig. Einerseits sollte das Zellaufschlussverfahren den Qualitätsanspruch der Verbraucher nach Frische und Geschmack, andererseits den für die Industrie relevanten ökonomischen Aspekt berücksichtigen. Die für die Fruchtsaftherstellung bedeutungsvollste Beere ist sicher die Traube. Die Zusammensetzung von Traubensaft ist ähnlich wie die der ganzen Weintrauben, bis auf Rohfaser und Öl. Diese befinden sich hauptsächlich in den Kernen. Die sensorische Qualität von Traubensaft ist chemisch von Farbe (Anthocyanin), Geschmack (Säure, Zucker und phenolische Substanzen) und Geruch (verschiedene Mischung aus flüchtigen sekundären Metaboliten) abhängig [Hrazdina und Moskowitz 1981, Schreier *et al.* 1976, Ribéreau-Gayon

1968]. In der Abbildung 2.2.1 sind die Verarbeitungsprozesse von Trauben schematisch dargestellt.

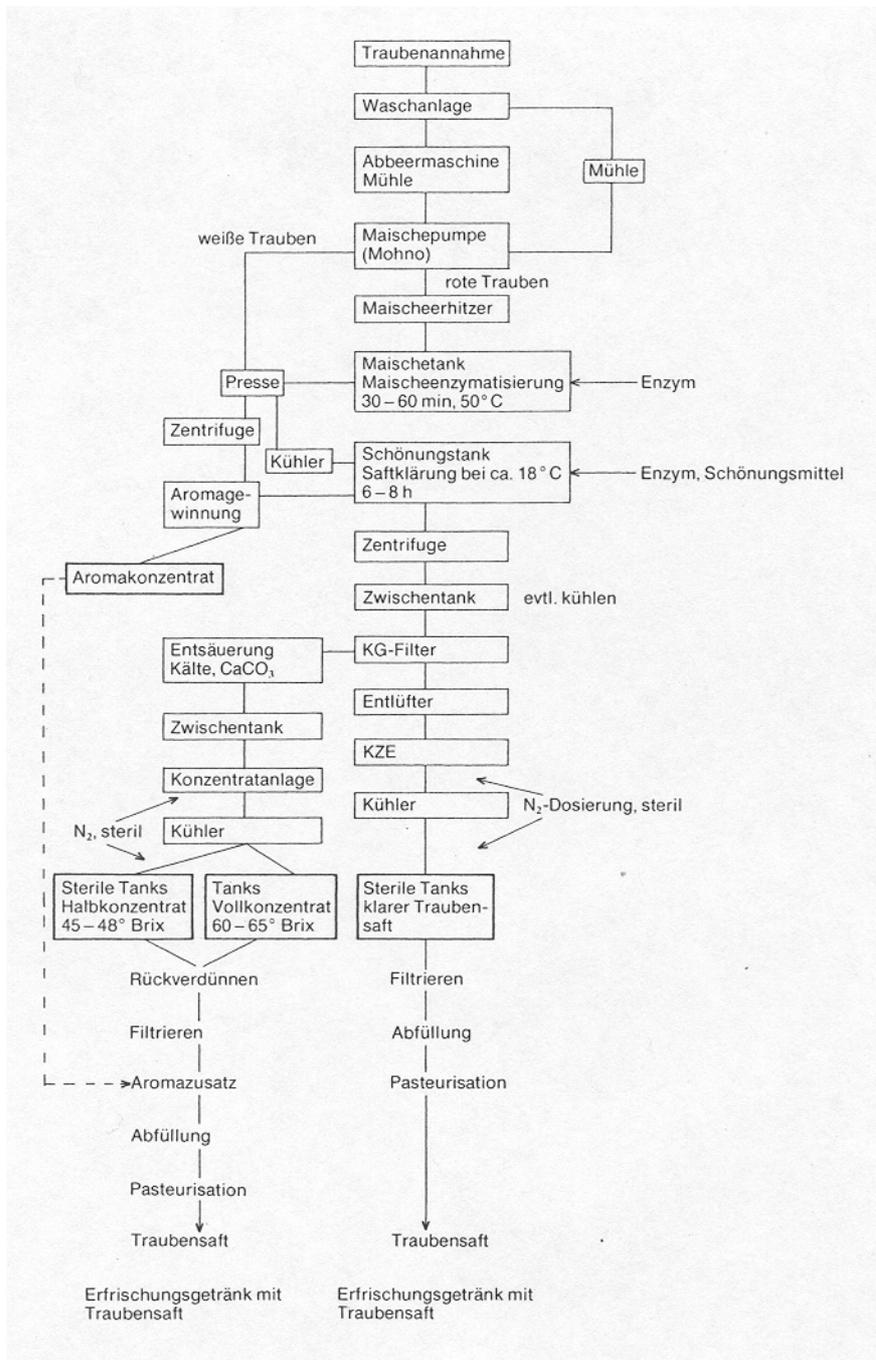


Abb. 2.2.1: Verarbeitung von Trauben

### 2.2.2 Extraktion

In den letzten Jahrzehnten stieg das Interesse an der Verwendung von natürlichen Lebensmittelfarbstoffen. Rote Beete ist eine der am meisten gefragten natürlichen wasserlöslichen Farbstoffquellen. Der Farbstoff der Rote Bete (Betanin) besteht aus zwei Hauptpigmenten: Betacyanin (rote Pigmente) und Betaxanthin (gelbe Pigmente). Die Halbwertszeit der thermischen Zersetzung von Betanin hängt von Temperatur und pH-Wert ab [Havlikova *et al.* 1983]. Ebenfalls beeinflussen Wasseraktivität, Sauerstoffkonzentration, enzymatische Aktivität und Licht die Stabilität des Betanin [Saguy 1983].

Die Fest-Flüssig-Extraktion gehört zu den Grundoperationen der Verfahrenstechnik. Sie ist dadurch definiert, dass der Inhaltsstoff in einer festen, unlöslichen Matrix eingeschlossen ist und analog zu einer Desorption in ein umgebendes Lösungsmittel übertreten soll. Um den Transport der Inhaltsstoffe durch das Gewebe zu ermöglichen, muss die Semipermeabilität der Zellmembranen durch eine thermische Denaturierung aufgehoben werden [Van der Poel *et al.* 2000].

Die technisch zumeist bei 70 °C durchgeführte thermische Denaturierung hat zahlreiche Veränderungen der Zellstruktur zur Folge, die letztlich den Stofftransport der Zellinhaltsstoffe in die Extraktionsflüssigkeit ermöglichen [Van der Poel *et al.* 2000]. Bei 70 °C werden etwa 8 min benötigt, um 90 % der Parenchymzellen abzutöten [Schneider und Hoffmann-Walbeck 1952]. Während größere Moleküle wie Proteine aufgrund des Molekularsiebeffekts der Rübenzellwand zurückgehalten werden, können kleinere Moleküle, z.B. Aminosäuren, diese Barriere leicht passieren [Kleine *et al.* 1992]. Diese Denaturierung durch Wärme führt (im Prinzip) zu einer kontinuierlichen Veränderung des Zellgewebes. Nicht nur das eigentliche technologische Ziel, nämlich die Zerstörung der Zellmembranen wird erreicht, vielmehr verändern auch die Zellwände ihre innere chemische Struktur durch hydrolytische Abbaureaktionen. So nimmt z.B. der Anteil des in den Saft übertretenden Pektins mit der Temperatur stark zu.

### 2.2.3 Trocknung

Die meisten Früchte besitzen einen hohen Wassergehalt und eine Wasseraktivität in der Nähe von 1, so dass diese Produkte durch chemische und enzymatische Reaktionen sowie durch das Wachstum von Mikroorganismen leicht verderblich sind. Zum Haltbarmachen von Früchten stehen verschiedene Trocknungsverfahren zur Verfügung. Das Trocknen beruht darauf, dass durch Zufuhr von Wärme (zum Gut) die Gutfeuchte in Dampf umgewandelt wird und dieser in geeigneter Weise abgeführt wird. Bei der Lebensmitteltrocknung muss der Wassergehalt der Rohstoffe bis auf einen Endwassergehalt erniedrigt werden, bei dem eine ausreichende mikrobiologische und chemische Stabilität der Trockenprodukte gewährleistet ist [Heiss 1984]. Die Reduzierung des Wassergehaltes hat noch weitere Vorteile, u.a. eine Verringerung des Gewichts sowie eine Beeinflussung chemischer und physikalischer Eigenschaften [Karel 1984].

#### 2.2.3.1 Warmlufttrocknung

Das Wasser im Produkt wird unterhalb seines Siedepunktes vom Gut an die Umgebung abgegeben und entfernt. Grundlage dafür ist, dass der Dampfdruck der Feuchtigkeit im Gut über der der Umgebung liegt (Verdunstung bzw. Konvektion). Bei der Warmlufttrocknung hat die Trocknungsluft die Funktion des Wärmetransportes in das Trockengut und des Stofftransportes des verdunsteten Wassers. Durch Erhitzen der Luft wird sowohl deren Kapazität, Feuchtigkeit aufzunehmen, erhöht, als auch die Wärmezufuhr zum Gut und somit der Dampfdruck der Gutfeuchte gesteigert. Beide Faktoren erhöhen die Dampfdruckdifferenz zwischen der Umgebungsluft. Durch eine erzwungene Konvektion (durch Bewegung der Umgebungsluft) wird sowohl der Abtransport der Feuchte aus der Nähe der Gutoberfläche verbessert als auch der Wärmeübergang zwischen Trocknungsmedium und -gut gesteigert. Dies ist im ersten Trocknungsabschnitt geschwindigkeitsbestimmend. Solange das Gut Feuchtigkeit enthält, wird es eine Temperatur annehmen, die unter der Trocknungstemperatur liegt, da durch die Verdunstung ständig Wärme in Form von Verdampfungsenthalpie entzogen wird. Die sich einstellende Oberflächentemperatur ist abhängig von der Partialdruckdifferenz und den Strömungsverhältnissen.

Um die Trocknungskinetik und die Qualität des Produktes zu beeinflussen, werden verschiedene Vorbehandlungen eingesetzt. Eine häufig verwendete Vorbehandlung ist das Wasserblanchieren. Das führt jedoch zu ausgeprägten Qualitätseinbußen (Verlust an wasserlöslichen Inhaltsstoffen wie Aminosäuren, Vitaminen, Zucker und Mineralstoffen). Mudawi *et al.* (1987) und Mazza (1983) sind der Meinung, dass das Wasserblanchieren eine positive Wirkung auf den Feuchtigkeitstransport hat, da die Zellmembranen durch die Hitze permeabel werden. Dampfblanchieren von Basilikum bzw. Oberflächenbehandlung mit (2,5 %) Ethyloleat und (2,5 %) Kaliumcarbonat erhöht die Trocknungsgeschwindigkeit sowie den Erhalt grüner Farbe [Cornish 1978].

Warmlufttrocknung von Gemüse wird durch HELP Vorbehandlung beschleunigt. Angersbach und Knorr (1997b) und Ade-Omowaye *et al.* (2001a) haben eine bis zu 20 – 25 %ige Reduzierung der Trocknungsdauer von Kartoffelwürfeln und Kokosraspeln erzielt. Ade-Omowaye *et al.* (2001b) beschrieben HELP als nichtthermisches Zellmembranpermeabilisierungsverfahren, das das energieintensive, umweltbelastende Blanchier- bzw. chemische Verfahren vor der Trocknung von roten Paprika ersetzen kann.

Die Trocknung von Weintrauben für die Rosinen Produktion ist seit langem bekannt. Es ist nicht genau bekannt, wo die Produktion der Rosinen zuerst auftrat, aber wahrscheinlich ist es, dass diese Praxis auf biblische Zeiten im mittleren Osten zurückgeht. Die Rosinenproduktion verbreitete sich vom mittleren Osten zu anderen Ländern in der Welt und ist zu einer wichtigen Industrie in der Türkei, den USA, Griechenland, Iran, Australia und Südafrika geworden. Die Produktion von Rosinen ist prozessintensiv [Striegler *et al.* 1996].

### **2.2.3.2 Osmotische Trocknung**

Die osmotische Trocknung stellt im Vergleich zu herkömmlichen Trocknungsmethoden ein besonders schonendes Verfahren dar. Darüber hinaus ermöglicht diese Methode Energieeinsparung. Bei der osmotischen Trocknung werden semipermeable Eigenschaften des Produktes genutzt: Die Zellmembran pflanzlicher Gewebe, die die Zellflüssigkeit einschließt, ist semipermeabel. Wenn das Gewebe in Kontakt mit einer ausreichend hoch konzentrierten Lösung gebracht wird, tritt es eine osmotische Druckdifferenz auf. Dies verursacht einen instationären Wassertransport vom biologischen Material in die osmotische Lösung.

Die osmotische Trocknung wird durch einige Faktoren wie Temperatur, Konzentration des osmotischen Mittels, Größe und Geometrie der Proben, Volumenverhältnis zwischen Probe und osmotische Lösung, Bewegungsgrad der osmotischen Lösung, Vorbehandlungen, usw. beeinflusst [Rastogi *et al.* 1999, Panagiotou *et al.* 1999, Sharma *et al.* 1998, Raoult-Wack 1994, Rastogi und Ranghavarao 1994]. Isse (1994) hat folgende Beobachtungen bei der osmotische Trocknung von Mango gemacht: (1) Die Menge an Wasser, die aus der Mangofrucht entzogen werden kann, ist von der Konzentration der Saccharoselösung abhängig. Bei einer Konzentration von 65 Gew. % kann der Wassergehalt von etwa 85 Gew. % auf ca 50 Gew. % gesenkt werden. (2) Ausschlaggebend für die Kinetik der Wasserabgabe durch die Mangofrucht sind die Parameter Temperatur und die Dicke der Mangoscheibe. Für die Aufnahme von gelösten Stoffen sind jedoch die Dicke der Mangoscheibe und die Konzentration der Saccharoselösung entscheidend.

Ein mögliches Problem bei der osmotischen Trocknung ist die sehr große Menge der Restflüssigkeit (verdünnte osmotische Lösung), die beseitigt werden muss, nachdem die osmotische Trocknung abgeschlossen ist [Cohen und Yang 1995]. Diese Flüssigkeit kann entweder wiederaufbereitet [Bolin *et al.* 1983] oder weiter verarbeitet werden zu solchen Produkten wie Püree, Saft, Gelee, Marmelade oder Würzmittel [Cohen und Yang 1995].

Die Vorbehandlung des biologischen Materials führt zur Permeabilisierung der Zellmembran. Die Änderungen des Zustands von der Zellmembran können den Stoffübergang während der osmotischen Trocknung beschleunigen. Je größer die Zellmembranpermeabilisierung, desto höher ist der Stoffübergang [Rastogi *et al.* 1999, Rastogi und Niranjan 1998].

Die Mango ist eine wichtige tropische und subtropische Frucht und mit 56 kcal/234 kJ pro 100 g Fruchtfleisch sehr kalorienarm. Sie hat einen hohen Gehalt an Provitamin A (2,77 mg pro 100 g), der am höchsten unter sämtlichen Obstsorten ist, und spielt für unsere Ernährung eine bedeutende Rolle. Beachtenswert ist auch der Vitamin C-Gehalt mit 38,7 mg pro 100 g. Der Mango wird auch eine appetit- und verdauungsfördernde Wirkung zugeschrieben [Kellermann 1990]. Mango wird allgemein in der getrockneten Form in Asien konserviert. Herkömmlich getrocknete Mango hat nicht die gewünschte Beschaffenheit, schlechte Farbe und gekochtes Aroma sowie geringere Nährstoffe, die ihren ökonomischen Wert verringern [Durance *et al.* 1999].

Die osmotische Trocknung der Lebensmittel (vor der abschließender Trocknung) hat steigendes Interesse wegen der niedrigen Temperatur (minimale Hitzebeschädigung) und des Energiebedarfs gewonnen [Panagiotou *et al.* 1999, Monsalve-Gonzalez *et al.* 1993]. Osmotisch getrocknete Mangoscheiben haben ähnliche Qualität (Aroma, Geschmack, Farbe, Textur) wie die gefriergetrockneten [Ramamurthy *et al.* 1978]. Bis zu 52 % Vitamin C und 82 %  $\beta$ -Carotin konnten nach der osmotischen Trocknung mit anschließender Lufttrocknung, gefunden werden. Torreggiani *et al.* (1999) fanden heraus, dass die teilweise osmotische Trocknung vor dem Gefrieren die Festigkeit der gefrorenen Frucht (Erdbeere, Aprikose) im Vergleich zu einer thermischen Vorbehandlung erhöhen kann.

#### 2.2.4 Fermentation

Durch die Milchsäure-Vergärung erhält man besonders schmackhafte und haltbare Produkte von hohem ernährungsphysiologischem Wert [Lipe und Junger 1984]. Die Herstellung von fermentierten Gemüsesäften ist jedoch ohne die Mitwirkung von Mikroorganismen nicht möglich. In der Gemüsesafttechnologie kann man sich der Spontangärung bedienen oder aber der gezielten Beimpfung mit ausgewählten, geprüften Mikroorganismen [Binnig 1982, Fleming 1981, Kardos 1975]. Der Hauptvorgang bei der Fermentation von Gemüsesäften ist die bakterielle-enzymatische Umsetzung der originär vorhandenen oder zugesetzten Zuckerstoffe in rechts- oder linksdrehende Milchsäure. Die dadurch ausgelöste pH-Senkung im Substrat verleiht den so hergestellten Säften einen angenehm säuerlichen Geschmack und erhöht die Haltbarkeit [Lipe und Junger 1984].

Um hochqualitative milchsauervergorene Gemüsesäfte herstellen zu können, ist es notwendig nicht nur die hochqualitativen Gemüserohstoffe zu verwenden, sondern auch was sehr wichtig ist, eine schnelle und kontrollierte Vergärung der erwähnten Gemüsehalbfabrikate (Gemüsemaischen, Gemüsemarks bzw. Gemüserohsäfte) durchzuführen. Zu diesem Zweck wird heute hauptsächlich das Laktoferment-Verfahren zur Anwendung gebracht. Die verwendete Reinkultur sind z.B. *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus brevis*, usw.

Bei der Milchsäuregärung bildet sich bis zu 1,5 bis 2 % die optisch inaktive DL-Milchsäure, die sogenannte Gärungsmilchsäure, die vor allem rein chemische Wirkung besitzt und zur Konservierung von milchsauervergorenen Gemüsesäften und ihren Nähr- und Vitalstoffen

dient. Die Milchsäure besitzt weiter eine starke Desinfektionswirkung, die hauptsächlich durch ihre sauren Eigenschaften entsteht. So wirkt sie der Fäulnis kräftig entgegen, hemmt das Auskeimen der Buttersäurebakterien und der sporentragenden Fäulnisbazillen und verhindert die Entwicklung von Krankheitskeimen. Das durch den *Bacillus botulinum* erzeugte gefährliche Toxin wird durch Milchsäure unschädlich gemacht. Die Milchsäure unterstützt auch den natürlichen Schutz des Körpers gegen Infektionen verschiedenster Art [S'ulc 1984].

Um den Austritt von Inhaltsstoffen (insbesondere Zuckerstoffe) aus der Zelle zu beschleunigen, müssen die Zellen permeabilisiert werden. Bei der Sauerkrautherstellung geschieht dies durch mechanische Zerstörung (Stampfen) von Rohware vor der Fermentation. Über den Einsatz von nichtthermischen Verfahren zur Zellmembranpermeabilisierung vor der Fermentation ist nichts bekannt.

Paprika (*Capsicum annum L.*) werden in vielen Ländern, z.B. Spanien, der Türkei, Ungarn, den Vereinigten Staaten und Ägypten kultiviert. Diese Gemüse werden für die Verarbeitung zu getrockneten Produkten [Ibrahim *et al.* 1997] oder als fermentierte Mischung verwendet [Wood 1985].

---

## 2.3 Nichtthermisches Verfahren

### 2.3.1 Elektrische Hochspannungsimpulse (HELP)

Ein wichtiges Ziel der elektrischen Hochspannungsimpulsen (HELP), was auch Elektropermeabilisierung genannt wird, ist die Erhöhung der Ausbeute an Zellinhaltsstoffen durch irreversible Permeabilisierung von Pflanzenzellen (Elcrack<sup>®</sup>-Verfahren). Ein weiteres Ziel ist das elektrische Sterilisieren (Pasteurisieren) pumpfähiger, elektrisch leitfähiger Medien (Elsteril<sup>®</sup>-Verfahren). Beide Verfahren, die sich im wesentlichen durch die Anwendung unterschiedlich hoher Feldstärken unterscheiden, arbeiten nach demselben Prinzip. Mit Hilfe von HELP können Zellen aufgeschlossen werden. Dieser Prozess verläuft nichtthermisch. Dadurch werden die Produkte weder durch thermische noch durch enzymatische Effekte in ihrer Zusammensetzung verändert [Sitzmann und Heinz 1996, Nöldechem 1993]. Dies ermöglicht der Lebensmittelindustrie, Zellinhaltsstoffe zu gewinnen, ohne diese selbst zu verändern.

Im Gegensatz zu konventionellen thermischen Verfahren kommt es bei der Anwendung elektrischer Hochspannungsimpulse bereits bei Umgebungstemperaturen zu irreversibler Porenbildung in biologischen Zellmembranen, was zum einen zu verstärktem Aufschluss von Zellen, zum anderen zur Abtötung von Mikroorganismen führt. Es handelt sich also um ein nichtthermisches Verfahren. Neben dem sehr guten Erhalt der Produkteigenschaften gibt es weitere Vorteile bei der Anwendung von HELP in der Lebensmitteltechnologie: kurze Behandlungsdauer, kontinuierliches Arbeiten ist möglich, es werden keine großvolumigen Behälter oder Wärmetauschersysteme benötigt, keine Bildung von unerwünschten oder gar schädlichen Nebenprodukten, Wirtschaftlichkeit [Sitzmann und Heinz 1996].

#### 2.3.1.1 Der Mechanismus der Elektropermeabilisierung

Die pflanzliche Zelle besteht aus einer Zellwand, der semipermeablen Membran und dem leitfähigen Zellinneren, dem sogenannten Zytoplasma. Die semipermeable Membran wirkt limitierend auf Diffusionsvorgänge und isolierend gegenüber elektrischen Strömen. Sie stellt elektrisch gesehen ein Dielektrikum eines Kondensators dar.

Befindet sich eine Zelle in einem elektrischen Feld, so bewirkt das elektrische Feld  $E$  an den den Elektroden zugewandten Polen der Membranoberfläche eine Akkumulation der Ladungen, abhängig von der Feldstärke. Hierdurch wird ein Transmembranpotential ( $\Delta\varphi_g$ ) induziert. Dieses überlagert das vorhandene Membranpotential. Über die Winkelfunktion lässt sich das Potential an jeder Stelle der Membran berechnen:

**Gl. 2.3.1** Berechnung des Membranpotentials [Grahl 1994]

$$\Delta\varphi_g = F \cdot a \cdot E \cdot \cos \alpha$$

**F = Formfaktor [-]**  
**a = Zellradius [m]**  
**E = Elektrische Feldstärke [V/m]**  
 **$\alpha$  = Winkel zwischen einem gegebenen Punkt auf der Zelloberfläche und der Ausrichtung des elektrischen Feldes [°]**

Somit ist das generierte Membranpotential  $\Delta\varphi_g$  vom Radius der Zelle, der Stärke des angelegten elektrischen Feldes, der Form der Zellen und Winkel zwischen der Feldrichtung und dem Betrachtungspunkt auf der Oberfläche der Zellmembran  $\alpha$  abhängig. Die Berechnung des Formfaktors erfolgt nach der Gleichung 2.3.2.

**Gl. 2.3.2** Berechnung des Formfaktors

$$F = \frac{L}{L - 0,67 \times \alpha}$$

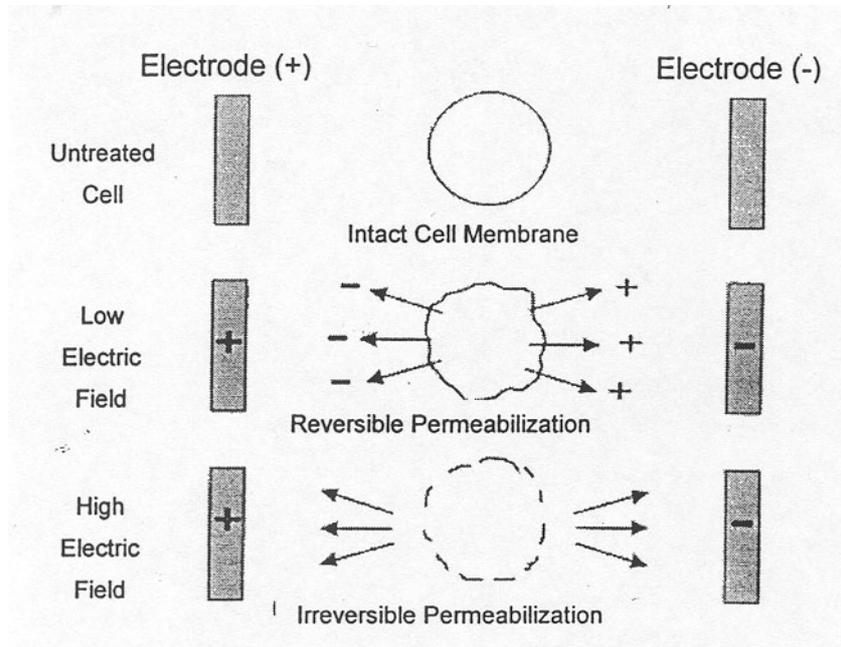
**L = Länge der Zelle**  
 **$\alpha$  = Radius der Zelle**

Wird ein kritischer Wert von  $\Delta\varphi_g = 1V$  [Zimmermann *et al.* 1974] bei der Differenz von äußerer zu innerer Membran überschritten, kann es durch Polarisierungen zu destabilisierenden bzw. zu dauerhaft zerstörenden Effekten an der Membran kommen.

Aus der Formel ist ersichtlich, dass der Radius der Zelle für das Maß der Permeabilisierung von entscheidender Bedeutung ist. Je kleiner der Radius, desto größer muss das elektrische Feld  $E$  sein, um das kritische Membranpotential zu erreichen. Pflanzenzellen benötigen so eine kritische elektrische Feldstärke von 0,5–1,5 kV/cm [Zimmermann *et al.* 1974].

In Abbildung 2.3.1 ist das Modell einer Zellmembranpermeabilisierung dargestellt. Die sich in einem Medium mit der spezifischen Leitfähigkeit  $\kappa_0$  befindliche, als Kugel gedachte Zelle,

wird einem äußeren elektrischen Feld  $E$  ausgesetzt. Das Vorhandensein einer spezifischen Leitfähigkeit  $\kappa_0$  ist wichtig zur Ausbildung des elektrischen Strömungsfeldes.



**Abb. 2.3.1:** Modell der Zellmembranpermeabilisierung

Im obersten Teil (Abb. 2.3.1) befindet sich das elektrische Membranpotential im Gleichgewicht, da auf die Zelle kein elektrisches Feld wirkt. Beim Anlegen eines äußeren elektrischen Feldes wird ein Transmembranpotential ( $\Delta\phi_g$ ) induziert, welches das eigentliche Membranpotential überlagert.

Der Mechanismus des Zellwanddurchbruches wird wie folgt erklärt: Tsong (1996) geht von der Annahme aus, dass die Permeabilisierung der Membran an der Lipidmatrix und bzw. oder entlang der Proteinkanäle stattfinden könnte. Durch Analysen der Permeabilisierungskinetik in pflanzlichen und tierischen Zellsystemen wurde bewiesen, dass der primäre elektrische Durchbruch der Membran an der Lipidmatrix stattfindet. Dabei entstehen durch Energiekonzentration hydrophile Poren an der Membran und Umlagerung der Lipidmoleküle aus den zuvor erzeugten hydrophoben Poren [Chernomordik 1992].

### 2.3.1.2 Funktionsprinzip der Hochspannungsanlage

Eine HELP-Anlage besteht im wesentlichen aus 4 Teilen: Hochspannungsgenerator, Arbeitskondensator, Hochspannungsschalter und Küvette. Das Funktionsprinzip einer Hochspannungsanlage ist in Abbildung 2.3.2 dargestellt.

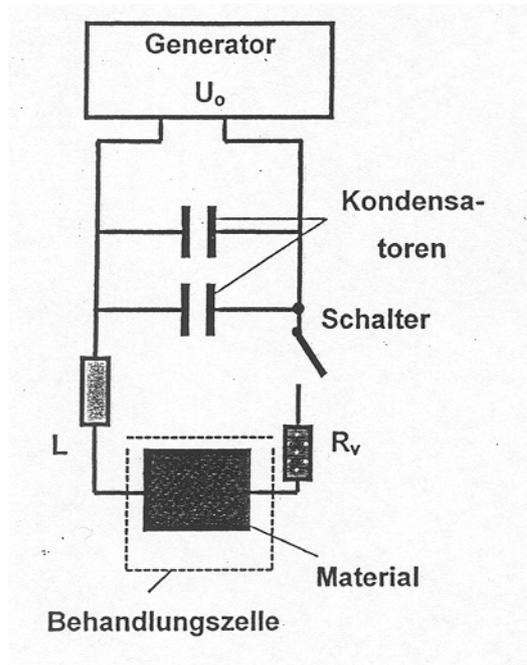


Abb. 2.3.2: Prinzip der Hochspannungsanlage

Eine im Gleichstromgenerator erzeugte hohe elektrische Spannung wird mit der Ladung  $Q$  im Kondensator  $C$  gespeichert. Die Entladestrecke, gebildet durch die Behandlungsküvette, wird als Ohmscher Widerstand  $R_K$  dargestellt. Die Behandlungsküvette besteht aus zwei planparallelen Elektroden aus inertem Material, zwischen welchen sich das zu behandelnde Medium befindet. Die Küvette kann in diskontinuierlicher oder in kontinuierlicher Bauweise, d.h. als Durchflussküvette, eingesetzt werden.

Das Prinzip der Behandlung besteht darin, geregelt durch einen Schalter (HV-Switch), den Kondensator an der Spannungsquelle (HV-Generator) aufzuladen und durch Umschalten die Kondensatorspannung über die Behandlungsküvette zu entladen. Messtechnisch ist der Entladungsprozess über ein Oszilloskop mit Tastkopf erfassbar und über eine PC-Schnittstelle auswertbar. Zur Beeinflussung der Feldstärke in der Küvette kann man den Plattenabstand oder die Ladespannung variieren.

Der Energieeintrag in das zu behandelnde Medium ist abhängig von der Kondensatorkapazität und der Pulsdauer. Die Pulsdauer, d.h. die Entladezeit, liegt im Mikrosekundenbereich ( $\mu\text{s}$ ) und ist von der Kondensatorkapazität und dem Widerstand  $R_K$  der Küvette abhängig. Neben der Möglichkeit des rechteckigen Impulsverlaufs entlädt sich der Kondensator exponentiell.

### 2.3.1.3 Spezifischer Energieeintrag und thermische Wirkung

Die im Kondensator gespeicherte Energie  $W$  (Gl. 2.3.3) entspricht dem Energieeintrag in der Küvette pro Puls.

**Gl. 2.3.3** Berechnung der im Kondensator gespeicherten Energie  $W$  [J]

$$W = \frac{1}{2} \cdot U^2 \cdot C$$

$U = \text{Ladespannung [V]}$   
 $C = \text{Kondensatorkapazität [F]}$

Wird die im Kondensator gespeicherte Energie  $W$  mit der Pulszahl  $n$  multipliziert und auf das Volumen  $V$  der Küvette bezogen, ergibt sich der spezifische Energieeintrag  $Q$ .

**Gl. 2.3.4** Berechnung des spezifischen Energieeintrages  $Q$  [J/l]

$$Q = \frac{W \cdot n}{V}$$

$n = \text{Pulszahl [-]}$   
 $V = \text{Volumen der Küvette [l]}$

Da die Impulsenergie in Wärme umgewandelt wird, kann der Temperaturanstieg  $\Delta T$  folgendermaßen berechnet werden.

**Gl. 2.3.5** Berechnung des Temperaturanstieges  $\Delta T$  [K]

$$\Delta T = \frac{Q}{\rho \cdot c_p}$$

$\rho = \text{spezifische Dichte [kg/dm}^3\text{]}$   
 $c_p = \text{spezifische Wärmekapazität [kJ/kgK]}$

Die induzierte Feldstärke  $E$  pro Puls lässt sich durch Gleichung 2.3.6 berechnen.

**Gl. 2.3.6** Berechnung der induzierten Feldstärke  $E$  [V/cm]

$$E = \frac{U}{d}$$

$U = \text{Spannung an Küvette [V]}$   
 $d = \text{Abstand der Elektroden [cm]}$

### 2.3.1.4 Anwendung von Hochspannungsimpulse in der Lebensmitteltechnologie

Die auf Nahrungsmittel bezogene Anwendung von HELP besteht hauptsächlich in der Inaktivierung von Mikroorganismen sowie (weniger) Enzymen. Der Inaktivierungseffekt von HELP auf Mikroorganismen und Enzyme tritt erst ab Feldstärken  $\geq 20$  kV/cm ein, je nach Art und Geometrie der Mikroorganismen [Qin *et al.* 1997, Wouters und Smelt 1997, Vega-Mercado *et al.* 1997, Qin *et al.* 1995] bzw. Art der Enzyme [Ho *et al.* 1997].

Sato *et al.* (1989) haben den Einfluss von Zellimmobilisierung auf die HELP-induzierte Mikroorganismenabtötung geprüft. Es konnte ein Schutzeffekt von Trägermaterialien gegen Mikroorganismenabtötung beobachtet werden. Außerdem konnte festgestellt werden, dass die frei suspendierten Hefezellen nach HELP Behandlung wie zusammengefallene Ballons aussahen. Dies ist wahrscheinlich auf den Verlust an Zellinhalt zurückzuführen und deutet darauf hin, dass sich elektrische Hochspannungsimpulse zum Aufschluss von Zellen eignen.

Für die Permeabilisierung von pflanzlichen Zellen sind dagegen weitaus geringere Feldstärken (0,1–1,5 kV/cm) ausreichend [Knorr *et al.* 2001, Eshtiaghi und Knorr 2000, Angersbach und Knorr 1997b]. HELP wurde zur Gewinnung von Inhaltsstoffen [Eshtiaghi und Knorr 2002, Ade-Omawaye *et al.* 2001a, Eshtiaghi und Knorr 2000, Matalla 1994, Geulen *et al.* 1994, Dörnenburg und Knorr 1993, McLellan *et al.* 1991, Papchenkov *et al.* 1988, Brodelius *et al.* 1988], sowie zur Beschleunigung von Trocknungsprozessen [Taiwo *et al.* 2001, Ade-Omawaye *et al.* 2001b, Rastogi *et al.* 1999, Angersbach und Knorr 1997b] erprobt.

Flaumenbaum (1968) berichtete, dass 10–12 % Erhöhung der Apfelsaftausbeute durch Elektropermeabilisierung erzielt werden konnte, während McLellan *et al.* (1991) über limitierte Effektivität berichtete. Jedoch fanden diese Autoren heraus, dass die mit HELP vorbehandelten Produkte eine hellere Farbe besaßen und weniger oxidiert waren als die mit Enzym bzw. Hitze vorbehandelten Proben. Geulen, Teichgräber und Knorr (1994) haben durch HELP Vorbehandlung (2,6 kV/cm, 50 Pulse) von Möhren eine Ausbeutesteigerung  $> 30$  % erzielt. Der Einsatz von HELP zur Zuckergewinnung aus Zuckerrüben bei Raumtemperatur wurde von Eshtiaghi und Knorr (2002) untersucht. Mittels HELP kann eine

---

kontrollierte Permeabilisierung der pflanzlichen Zellmembranen während kurzer Prozesszeiten (10 s) bei Raumtemperatur erreicht werden [Eshtiaghi und Knorr 2000].

Dörnenburg und Knorr (1993) haben den Einsatz von HELP zur Permeabilisierung und Gewinnung der sekundär Metaboliten aus Pflanzenzellkulturen untersucht. Fast 100% Amaranthin-Austritt ins Medium konnte durch HELP Behandlung bei 1,6 kV/cm, 10 Pulse und Raumtemperatur beobachtet werden. Die Erhöhung der Feldstärke hatte deutlicheren Einfluss auf Zellmembranpermeabilisierung und Stoffaustritt als die Erhöhung der Pulszahl. Die Effektivität von HELP als Permeabilisierungsmethode ist zellspezifisch und hängt von der Stellung der gelagerten Sekundärmetaboliten in der Zelle ab (Zytoplasma oder Vakuole).

Ade-Omawaye *et al.* (2001a) haben festgestellt, dass durch HELP-Vorbehandlung (2,5 kV/cm, 20 Pulse, 575  $\mu$ s) der Kokosnus raspeln im Vergleich zu unbehandelten eine bis zu 20 % höhere Kokosnusmilch gewonnen werden kann. Auch die Trocknungsdauer von Kokosraspeln konnte durch HELP-Vorbehandlung deutlich verkürzt werden (ca. 22 %). Die osmotische Trocknung von Möhren, Äpfeln und Erdbeeren wird durch HELP-Vorbehandlung wesentlich erhöht [Rastogi *et al.* 1999, Taiwo *et al.* 2001, 2002].

### 2.3.2 Hydrostatischer Hochdruck (HP)

Temperatur und Druck sind zwei dominierende Größen, die in der Thermodynamik eine entscheidende Rolle spielen. Die Anwendung von Wärme in der Lebensmitteltechnologie ist bestens untersucht, während die thermodynamischen und kinetischen Effekte des Druckes bisher wenig genutzt wurden. Druck beeinflusst wie die Temperatur, chemische Reaktionen jeglicher Art, seien es Denaturierungsvorgänge, organisch-chemische Reaktionen oder Dissoziationsvorgänge. Hydrostatischer Druck vermag auch vegetative Mikroorganismen abzutöten. Bei chemischen Reaktionen beeinflusst der Druck das Gleichgewicht sowie die Reaktionsgeschwindigkeit. Eine chemische Reaktion oder ein Phasenübergang, bei dem das Endprodukt ein kleineres Volumen einnimmt als die Ausgangsvolumen, wird nach dem Le Chatelier-Braun'schen Prinzip unter Druck bevorzugt ablaufen [Butz und Tauscher 1998]. Wesentlicher Unterschied zwischen thermischer und Hochdruckbehandlung ist, dass unter Druck keine chemischen Veränderungen induziert werden. Das bedeutet nicht, dass bei hohem Druck keine chemische Reaktionen vorhanden wären. Vielmehr sind die bei hoher Temperatur infolge der stärkeren Molekülbewegung vermehrt auftretenden Brüche kovalenter Bindungen bei hohem Druck nicht zu befürchten [Ludwig 1993].

#### 2.3.2.1 Prinzip der Hochdruckbehandlung

Jede Anwendung von hydrostatischem Druck beruht auf zwei Prinzipien. Zum einen besagt das Prinzip von Le Chatelier und Braun, dass das Gleichgewicht jeder Reaktion, die mit einer Volumenveränderung einhergeht, unter Druck in Richtung des kleineren Volumens verschoben wird. Ein zweites wesentliches Merkmal der Hochdruckanwendung ist das isostatische Prinzip. Dies besagt, dass der Druck unmittelbar und gleichmäßig im gesamten Produkt wirkt, unabhängig von seiner geometrischen Form oder Größe [Vardag und Körner 1995, Knorr 1993].

Die Druckerzeugung kann entweder innerhalb oder außerhalb der Probenkammer stattfinden. Der Druck wird dann über ein Rohr in die Probenkammer geleitet. Die Kraft wird über einen Stempel auf ein druckübertragendes Medium ausgeübt. Zur Druckübertragung wird ein Medium mit geringer Kompressibilität, niedriger Viskosität und geringer Scherfestigkeit verwendet.

Für eine Hochdruckbehandlung bei 600 MPa wird eine Kompressionsenergie von etwa 40 kJ/kg benötigt. Da es sich um elektrische Energie handelt, ergibt sich für die benötigte spezifische Primärenergie etwa der 3fache Wert [Kessler 1996] von 120 kJ/kg. Wird zusätzlich ein Füllgrad von  $f = 0,5$  für ein verpackt behandeltes Produkt berücksichtigt, ergibt das einen spezifischen Primärenergiebedarf von 240 kJ/kg. Daher ist das Hochdruck-Verfahren nur im Vergleich zum Batch-Erhitzen ohne Wärmerückgewinnung energetisch günstiger [Hinrichs 2000].

### 2.3.2.2 Wirkung des hydrostatischen Hochdrucks auf Lebensmittelinhaltsstoffe

Da Lebensmittelsysteme sehr komplex sind und unterschiedliche Kompressibilität aufweisen, ist die Vorhersage von synergistischen und antagonistischen Effekten von Druck und Temperatur auf Lebensmittel schwierig. Hoover *et al.* (1989) haben festgestellt, dass hohe hydrostatische Drücke eine Reihe von Veränderungen in der Morphologie (durch Zerstörung der intrazellulären Gasvakuolen und Enzym(in)aktivierung aufgrund der pH-Wert-Änderung), bei biochemischen Reaktionen (Kettenreaktion wird verstärkt, Wasserstoffbrückenbindungen werden erhöht) sowie an Zellmembran und -wänden (Membranpermeabilität wird verändert) bewirken.

#### 2.3.2.2.1 Proteine

Der fundamentale Unterschied zwischen druck- und temperatur-induzierten Prozessen ist, dass eine Veränderung der kovalenten Bindung durch Druckeinwirkung nicht stattfindet [Masson 1992]. Weitere deutliche Unterschiede bestehen zwischen der Struktur der mit druck-induzierter Denaturierung von Protein und der mit temperatur-induzierter Denaturierung von Protein: Die Struktur des mit Druckinduktion denaturierten Proteins ist relativ kompakt und behält die Elemente der sekundären Struktur, während das mit Temperaturinduktion denaturierte Protein vergrößerte, fast willkürliche spirale Konfigurationen aufweist [Ghosh *et al.* 2001].

In Lebensmitteln beeinflusst die Anwesenheit der anderen Proteine, Salze, Zucker usw. den Mechanismus und die Kinetik der Proteindenaturierung durch HP. Zum Beispiel: Druck-induzierte Denaturierung bei niedriger Proteinkonzentration (0,05–0,2 %) ist oft zum Teil

oder vollständig reversibel. Dagegen sind die intermolekularen Wechselwirkungen und die irreversible Koagulation bei höherer Proteinkonzentration ( $\geq 10\%$ ) begünstigt [Wong und Heremans 1988].

#### 2.3.2.2.2 Polysaccharide

Kato *et al.* (1997) haben berichtet, dass HP-Behandlung kaum Auswirkung auf die reduzierenden Zucker und die Degradation von Pektinen haben. Die Viskositätseigenschaften der Pektine werden jedoch durch die Druckbehandlung beeinflusst. Seyderhelm (1996) hat den Einfluss der HP-Behandlung bei verschiedenen Früchten und Gemüsen sowie die Pektinzusammensetzung und das Kochverhalten untersucht. Es konnte festgestellt werden, dass bei Kartoffelgewebe die Erweichung durch Kochen nach der HP-Behandlung verzögert wird. Während die Pektinzusammensetzung bei Erdbeerpüree sich durch die HP-Behandlung nicht veränderte, zeigte Kiwipüree eine Verschiebung hin zum Oxalat-löslichen Pektin.

Thevelein *et al.* (1981) und Gekko (1992) haben festgestellt, dass die Gel-Sol-Umwandlung unter Druck beeinflusst wird. Im Falle Methylcellulose, Stärke und Agarose steigt die Übergangstemperatur mit steigendem Druck an. Dagegen wurde bei Carragenanlösungen eine Abnahme der Übergangstemperatur unter Druck beobachtet.

Die verschiedenen Stärken unterscheiden sich in ihrem Verhalten bei der Druckbehandlung. Stute *et al.* (1996) haben den Einfluss von HP auf 25 verschiedene Stärken untersucht. Sie haben festgestellt, dass die Hochdruckverkleisterung von Stärken in Gegenwart von Wasserüberschuss vor allem vom Behandlungsdruck abhängig war. Der Bereich für die druckinduzierte Verkleisterung lag bei 400 (Weizenstärke) bis 900 MPa (Kartoffelstärke). Zusätzlich konnte beobachtet werden, dass die enzymatische Abbaubarkeit von Stärke durch HP-Behandlung beeinflusst wird. Verschiedene Autoren [Jahnke 1993, Hayashi and Hayashida 1989] haben festgestellt, dass, je höher der angewandte Druck war, desto besser Stärke durch  $\alpha$ - und  $\beta$ -Glucoamylase angegriffen werden konnte. Der Einfluss von Druck auf die Stärke ist jedoch außer von Druckhöhe, Behandlungstemperatur und -dauer auch von der Stärkeart abhängig [Ezaki and Hayashi 1992].

### 2.3.2.2.3 Farbstoffe, Aromen und Vitamine

Lebensmittelfarbstoffe wie Carotinoide, Chlorophyll und Anthocyane sind druckstabil [Hinrichs 2000]. Der Chlorophyllabbau in Broccoli durch eine HP-Behandlung mit 600 MPa/5–20 min/20 °C ist etwas geringer als durch Blanchieren [Knorr 1997]. Die Farbe und das Aroma von HP-behandeltem Orangensaft bleibt nach 17-monatiger-Lagerung fast vollständig erhalten [Donsi *et al.* 1996, Ogawa *et al.* 1992]. Issacs *et al.* (1995) haben berichtet, dass zwar Anthocyanidine unter HP abgebaut werden, wahrscheinlich in Aglycone, jedoch ist während der Behandlungsdauer, die für die Sterilisation von Lebensmitteln durch HP notwendig ist, dieser Verlust von Farbe äußerst gering. Ebenfalls haben Bruna *et al.* (1998) keinen signifikanten Abbau beim Anthocyangehalt von Erdbeerpüree bis zu einem Druck von 700 MPa/Raumtemperatur/40 min festgestellt.

Clever und Tauscher (1994) haben den Einfluss von HP (66 Stunden bei 30° C und 300 MPa) auf die Carotinoide von Paprika untersucht. Es konnte keine Veränderung der Pigmente, die in verschiedenen Lösungsmitteln mit HP behandelt wurden, festgestellt werden. Über den Einfluss von HP auf die Farbstoffe Betanin (Rote Beete Farbstoff) ist nichts bekannt.

Butz *et al.* (1994) haben gezeigt, dass Drücke über 100 MPa zu starker Bräunung von frischen Zwiebeln führten. Sie führen diese Bräunung auf die Polyphenoloxidase- (PPO) Restaktivität zurück. In intakten Zellen ist die phenolische Komponente, das Substrat der PPO, in Vakuolen eingeschlossen und somit getrennt vom Enzym. Wenn die Zelle und der Tonoplast (Biomembran von Vakuolen) zerstört werden, kommt das Substrat mit dem Enzym in Kontakt, und die enzymatische Oxidation von Phenolen findet statt [Butz *et al.* 1994]. Die gleiche Beobachtung wurde bei hochdruckbehandelten Birnen und Kartoffeln, die in Polyethylenbeuteln bei +4°C gelagert wurden, gemacht [Eshtiaghi 1996, Asaka und Hayashi 1991].

Die Vitamine scheinen durch die Druckbehandlung ursächlich nicht beeinflusst zu werden. Hitze und Druck scheinen jedoch einen synergistischen Effekt zu haben [Pfister *et al.* 2001]. In druckbehandelter Erdbeermarmelade liegt der Vitamin C-Gehalt sofort nach der HP-Behandlung höher als in konventionell hergestellter Marmelade [Kimura *et al.* 1994]. Butz und Tauscher (1998 a) haben den Einfluss von HP-Behandlung auf die Vitamine A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> und C untersucht. Es wurde festgestellt, dass diese Vitamine bei niedriger

Behandlungstemperatur stabil sind. Bei höherer Behandlungstemperatur (70 °C) und langer Behandlungsdauer (60 min) war eine Abnahme von Vitaminen auf 50 % zu verzeichnen.

#### 2.3.2.2.4 Wasser

Die Erkenntnisse über das Verhalten von Wasser unter Druck sind nicht nur deshalb wichtig, weil es als Druckübertragungsmedium für die Druckbehandlung von Lebensmitteln eingesetzt wird, sondern auch deshalb, weil es bei den meisten frischen Lebensmitteln, insbesondere Früchten und Gemüse, bis zu 80–90 % des Gesamtgewichts ausmacht.

Für die Interpretation und das Verständnis der auf molekularer Ebene ablaufenden Vorgänge haben die Viskosität, der Diffusionskoeffizient und die statische Dielektrizitätskonstante von Wasser eine Bedeutung [Hinrichs 2000]. Die Viskosität von Wasser ändert sich unter Druck geringfügig und hat ihr Minimum bei 100–200 MPa [Sawamura *et al.* 1993]. Die Dielektrizitätskonstante nimmt linear mit dem Druck zu. Da der pH-Wert von Wasser durch Druck beeinflusst wird [Kitamura und Itoh 1987, Neuman Jr. *et al.* 1973], muss bei allen HP-Anwendungen von ungepufferten biologischen Materialien beachtet werden, dass eine drastische pH-Wert Abnahme mit steigender Temperatur und zunehmendem Druck auftreten kann.

Der Gefrierpunkt von Wasser sinkt mit steigendem Druck bis 200 MPa auf -20 °C. Dieses Phänomen wird für das Auftauen von gefrorenen Lebensmitteln und die Lebensmittelhaltbarmachung unter tieferen Temperaturen ohne Gefrieren verwendet. Das Druckauftauen erfolgt gleichmäßig, sowohl in äußeren als auch in inneren Bereichen der gefrorenen Probe [Deuchi und Hayashi 1992].

#### 2.3.2.2.5 Pflanzliche Struktur

Fuchigami *et al.* (1995) haben den HP-Effekt bei verschiedenen Temperaturen und Drücken auf die Texturfestigkeit von Karotten untersucht. Die Festigkeit von Proben nahm nach der HP-Behandlung nur geringfügig ab. Nach sechsminütigem Kochen wurde im Gegensatz zur unbehandelten Probe keine Separierung der Mittellamelle beobachtet. Kasai *et al.* (1994) haben festgestellt, dass die Texturfestigkeit mit steigendem Behandlungsdruck und steigender Behandlungsdauer ansteigt. Sie vermuten, dass die druckinduzierte Zellmembranpermeabilisierung ähnlich wie beim Vorheizen (pre-heating) eine uneingeschränkte Diffusion

von Ionen aus dem Zellsaft in die Zellwandregionen ermöglicht. Yamamoto *et al.* (1993) geben als die Ursache für die Texturfestigkeit von HP-behandeltem pflanzlichen Gewebe die Pektinmethylesterase-(PME) Restaktivität an. Die PME-Restaktivität verringerte den Veresterungsgrad der Pektinstoffe, die dann mit  $\text{Ca}^{++}$ -Ionen in ein in Wasser unlösliches Pektin umgewandelt wurde. Außerdem haben Kasai *et al.* (1994) und Yamamaoto *et al.* (1993) gefunden, dass sich diese Veränderungen nach der Druckbehandlung beim Stehenlassen fortsetzen.

#### 2.3.2.2.6 Membranen

Die HP-induzierte Zellmembranpermeabilisierung von pflanzlichem Gewebe kann wahrscheinlich auf zwei Faktoren zurückgeführt werden:

- (1) Mechanische Permeabilisierung: Früchte mit hohem interzellulären Luftanteil (z.B. Erdbeeren, Äpfel) werden während der HP-Behandlung stark komprimiert, weil Luft viel kompressibler ist als Wasser. Dies führt zur Permeabilisierung der Zellen infolge mechanischer Zerstörung der Zellmembranen.
- (2) Physikalische Permeabilisierung: Induzierte Phasenumwandlung von Membranphospholipiden und Abnahme der Membranfluidität aufgrund der Denaturierung der membrangebundenen Proteine [Kato und Hayashi 1999].

Der physikalische Zustand der um die Proteine immobilisierten Lipide, die die Aktivität von membrangebundenen Enzymen steuern, beeinflussen die Membraneigenschaften entscheidend [McDonald 1992, Heremans und Wuytack 1980]. Durch HP ändert sich der physikochemische Zustand der Lipide und demzufolge die Aktivität von membrangebundenen Enzymen ( $\text{Na}^+$ -,  $\text{K}^+$ -ATPase). Buchheim *et al.* (1999) haben festgestellt, dass der Primäreffekt von HP auf Lipide die Verschiebung der Phasenumwandlung flüssig-fest für Milch- und Kokosfett um ca. 16 K/100 MPa verursacht.

Ohmori (1993) hat den Einfluss von Hochdruck auf verschiedene Biomembranen untersucht. Zellmembranen und verschiedene Organellen wurden bei Drücken von 10–100 MPa zerstört. Er hat zusätzlich festgestellt, dass nach Hochdruckbehandlung der passive Ionentransport durch die Zellmembran erhöht und das aktive Transportsystem inhibiert wird. Butz *et al.* (1994) haben festgestellt, dass bei der Zwiebel Drücke über 100 MPa Zellstruktur und -membran beschädigen und dass es somit zu einer massiven Ausschüttung von Enzymen kommt, die eine Vielzahl enzymatischer Reaktionen hervorrufen.

### 2.3.2.3 Anwendung des hydrostatischen Hochdrucks in der

#### Lebensmittelindustrie

In den letzten Jahren ist das Interesse an den Einsatzmöglichkeiten der Hochdrucktechnologie in der Lebensmittelverarbeitung weltweit erheblich gewachsen. Die Hochdruckbehandlung kann bei wasserhaltigen Lebensmitteln wie Milch und Fruchtsäften zu einer vollständigen oder zumindest teilweise Inaktivierung von Mikroorganismen, aber auch Enzymen führen. Weiterhin kann die HP-Behandlung auch strukturelle Veränderungen bei den Hauptinhaltsstoffen wie Proteinen und Lipiden, aber auch bei den Polysacchariden bewirken, die wiederum charakteristische Veränderungen physikalischer Eigenschaften des jeweiligen Lebensmittels (z.B. Viskosität, Sol/Gel-Umwandlungen) zur Folge haben [Buchheim *et al.* 1993]. Da nur nicht-kovalente Bindungen beeinflusst werden, können wichtige Qualitätskriterien des Rohmaterials, wie Aroma und Farbe von Lebensmitteln während der Verarbeitung unter Hochdruck weitgehend erhalten bleiben [Knorr 1993].

Die HP-Behandlung dient entweder zur Haltbarmachung oder zur Bearbeitung, um bestimmte physikalische Eigenschaften zu erzielen [Eshtiaghi 2000]. Es sind bereits einige durch HP hergestellte Produkte auf dem Markt, z.B. Fruchtsaft, Konfitüre, Milchprodukte und Reisgerichte, und die Forschung und Entwicklung weiterer neuer Produkte beim Einsatz von HP wird vorangetrieben [Yasuda und Mochizuki 1992, Kimura 1992, Hayashi 1989, Elgasim und Kennick 1980].

Über den Einsatz der Hochdruckbehandlung zum Zellaufschluss zur gezielten Gewinnung von Inhaltsstoffen ist wenig bekannt. Ohmori (1993) sowie Dörnenburg und Knorr (1993) haben den Einfluss von Hochdruck auf verschiedene Biomembranen und den Einsatz von HP zur Permeabilisierung und Gewinnung der Sekundärmetaboliten aus pflanzlichen Zellkulturen untersucht. Zellmembranen und verschiedene Organellen wurden bei Drücken von 10–100 MPa zerstört. Weiterhin wurde festgestellt, dass nach Hochdruckbehandlung der passive Ionentransport durch die Zellmembran erhöht und das aktive Transportsystem inhibiert wird.

### 2.3.3 Komprimiertes (cCO<sub>2</sub>) und überkritisches Kohlendioxid (ScCO<sub>2</sub>)

Das überkritisches Kohlendioxid kann als Alternative zur konventionellen thermischen Extraktion mit organischem Lösungsmittel eingesetzt werden. Industrielle pflanzliche Lebensmittel, wie Hopfen, Kaffee und Tee werden mittels ScCO<sub>2</sub> extrahiert [Parkinson und Johnson 1989]. Die Qualität (Geschmack und Geruch) der Extrakte ist vergleichbar mit frischer Rohware. Es gibt viele mögliche Anwendung für die Lebensmittel und biologischen Materialien. Die Motivationen der Anwendung von SCF sind (1) die Umweltregelungen bezüglich der konventionellen Lösungsmittelreste, (2) Fragwürdigkeit der Verwendung chemischer Lösungsmittel in der Lebensmittelindustrie, (3) Steigerung der Qualität von Produkten, die durch konventionelle Prozesse nicht erzielt werden kann, (4) Einsparung der Energiekosten [Arreola *et al.* 1994].

#### 2.3.3.1 Zellaufschluss pflanzlicher Zellen durch Kohlendioxid

Theoretische Grundlage der Zellaufschlussmethode ist das Henry'sche Gesetz, wonach die Sättigungsaktivität eines Gases in einer flüssigen Phase proportional zum Gasdruck über der Lösung ist. Zusätzlich sind Diffusionsvorgänge durch die Zellmembranen von Bedeutung. Wird ein pflanzliches Material einem Gas unter hohem Druck ausgesetzt, tritt eine Anreicherung des Gases in den Zellen der Probe ein. Bei plötzlicher Druckentlastung kann das in den Zellen aufgenommene Gas nicht schnell genug entweichen. Der resultierende Überdruck wird in mechanische Energie umgesetzt, welche die Zellwand zerstört und zur Zerkleinerung des Materials führt. Die in den Zellen komprimierte Gasmenge und die damit verbundene "Crackwirkung" beim plötzlichen Entspannen hängt von vielen Faktoren, wie Beschaffenheit und Feuchtigkeitsgehalt des Pflanzenmaterials, der Art des Gases, von der Kontaktzeit sowie vom Druck und der Temperatur ab. Die bevorzugte Verwendung von CO<sub>2</sub> beim Cell-Cracking ist auf zwei Gründe zurückzuführen: zum einen ist CO<sub>2</sub> preiswert und ungefährlich zu handhaben, zum anderen ist die Löslichkeit von CO<sub>2</sub> in lipophilen Substanzen um eine Größenordnung höher als beispielsweise diejenige von Luft oder Stickstoff. In wässrigen Medien ergibt sich sogar ein Faktor von 100 [Stahl *et al.* 1987].

### 2.3.3.2 Überkritischer Zustand

Der überkritische Zustand einer Substanz ist eine Phase, die im Druck- und Temperaturbereich über dem kritischen Punkt liegt [Stahl *et al.* 1987]. Die Eigenschaften eines Gases in seinem überkritischen Zustand sind druck- und temperaturabhängig und können durch Variation derselben zur Erhöhung der Selektivität des Prozesses gesteuert werden [Rizvi *et al.* 1986].

Das Kohlendioxid spielt in der Lebensmittelindustrie eine besondere Rolle. Das Kohlendioxid ist nicht toxisch, inert, chemisch stabil, zudem lebensmittelrechtlich zugelassen und es hinterlässt keine Lösungsmittelrückstände im Produkt. Zudem ist es leicht und in großen Mengen verfügbar und somit wirtschaftlich, es ist weder explosiv noch feuergefährlich und kennzeichnet sich durch das Fehlen von Umweltproblemen und Beseitigungskosten aus. Es ist darüber hinaus keimfrei, bakteriostatisch wirksam und stellt eine sauerstofffreie Atmosphäre her [Stahl *et al.* 1987, Bundschuh *et al.* 1986, Willson 1985]. Außerdem sind die kritischen Punkte von Kohlendioxid relativ niedrig:  $T_c = 31 \text{ °C}$  und  $P_c = 7,38 \text{ MPa}$ , daher ist es besonders für die Anwendung bei thermisch labilen Produkten geeignet.

### 2.3.3.3 Anwendung von $c\text{CO}_2$ und $\text{ScCO}_2$ in der Lebensmittelindustrie

$\text{ScCO}_2$  wird zur Gewinnung von Aromen und ätherischen Ölen, der Entkoffeinierung sowie zur Desodorierung und Entsäuerung pflanzlicher Fette und Öle eingesetzt [Bundschuh *et al.* 1986]. Die Anwendung von Kohlendioxid beschränkt sich nicht nur auf die Extraktion von lipophile Substanzen. Weitere Effekte von  $\text{CO}_2$  sind Entwesung, Keimreduktion, Blähen, Aufschluss, Zerkleinern [Stahl *et al.* 1987] und Enzymreduktion [Tedjo 1998, Marty *et al.* 1990, Sankar 1989, Zhao *et al.* 1987, Taniguchi *et al.* 1987, Hammond *et al.* 1985]. Die Wirkung von  $\text{ScCO}_2$  ist jedoch u. a. von Druckhöhe und Temperatur abhängig.

Die Keimbelastung von Arznei- und Gewürzpflanzen stellt im pharmazeutischen Bereich und in der Lebensmittelverarbeitung ein besonderes Problem dar. Der Mechanismus von Mikroorganismen-Inaktivierung durch  $\text{CO}_2$  ist nicht vollständig geklärt. Die REM-Aufnahme von *E. Coli*, die bei  $35 \text{ °C}$  und  $5 \text{ MPa}$  mit  $\text{CO}_2$  behandelt wurde, zeigte einige Veränderungen

der Zellwand mit möglichen Austritt von Zytoplasma. Während 25 % der Zellen eine intakte Zellwand aufwiesen, lag die Mikroorganismeninaktivierung bei 99 %. Dies zeigt, dass die Zellzerstörung durch CO<sub>2</sub> nicht der einzige Grund für die Inaktivierung von Mikroorganismen ist. Während der CO<sub>2</sub> Behandlung diffundiert das Gas in die Zelle. Je höher der Druck während der CO<sub>2</sub> Behandlung, desto höher ist auch das diffundierte Gas in der Zelle. Die Diffusion von CO<sub>2</sub>-Gasmenge in die Zelle bei Drücken unterhalb 5 MPa steigt mit steigender Behandlungstemperatur [Ballestra *et al.* 1996].

Dagegen sind Enomoto *et al.* (1997) der Meinung, dass die Mikroorganismeninaktivierung durch CO<sub>2</sub> hauptsächlich aufgrund der Expansion des Gases in die Zelle und des daraus resultierende Zerplatzen der Zellen zustande kommt. *E. coli* wurde signifikant durch schlagartiges Entspannen von CO<sub>2</sub>-Gas von 3,4 MPa auf atmosphärischem Druck zerstört. Diese Methode wurde zur Inhaltsstoffgewinnung aus Zellen (Interzellulare Enzyme und Nukleinsäure aus Mikroorganismen) eingesetzt. Die Autoren haben den Einfluss von verschiedenen Gasen mit unterschiedlicher Wasserlöslichkeit (CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O, N<sub>2</sub> und Argon) auf die Zellzerstörung untersucht. Es konnte festgestellt werden, dass Druckbehandlung (4 MPa, 40 °C, 4 h) von *Saccharomyces cerevisiae* mit wasserlöslichen Gasen (CO<sub>2</sub> und N<sub>2</sub>O) und anschließender schneller Entspannung zu einer deutlichen Inaktivierung der untersuchten Mikroorganismen führte. Wenig wasserlösliche Gase (N<sub>2</sub> und Argon) bewirkten dagegen keine Mikroorganismeninaktivierung. Die Löslichkeit von CO<sub>2</sub> Gas in Hefezellen (*Saccharomyces cerevisiae*) ist druck und temperaturabhängig. Mit steigendem Druck (bei konstanter Temperatur = 30 °C) von 4 auf 10 MPa steigt die CO<sub>2</sub> Löslichkeit von ca. 22 auf 70 g/kg an [Kumagai *et al.* 1997]. Ebenfalls ist die CO<sub>2</sub> Löslichkeit in Wasser innerhalb 10 bis 20 min stark von der Kontaktdauer abhängig.

Hong und Park (1999) haben über die Anwendung von cCO<sub>2</sub> als nichtthermischen Prozess zur Haltbarmachung von Baechu-Kimchi (koreanisches fermentiertes Gemüse) berichtet. Die Hochdruck-CO<sub>2</sub>-Behandlung konnte die Lebensdauer der Baechu-Kimchi Produkte auf ungefähr das Zweifache im Vergleich unbehandelten Produkten verlängern.

Borscheid (1990) hat über „aroma-safing“ Verfahren berichtet. Dabei wird die Rohware (z.B. Traube) mit CO<sub>2</sub> Gas bis max. 1,2 MPa behandelt. Durch die schlagartige Dekompression zerplatzen die Zellen, die Zellverbände reißen von innen her auseinander und

geben ihre Inhaltsstoffe frei. Mit dieser Methode konnte eine bessere Vorentsaffung aufgrund intensiven Zellaufschlusses sowie eine höhere Farbausbeute beobachtet werden. Durch die intensive Imprägnierung der Maische mit CO<sub>2</sub> während des Entspannungsvorganges wird Sauerstoff ausgetrieben. Bis zur Pressung bleibt die Maische auf diese Weise geschützt.

### 2.3.4 Ultraschall (US)

Menschen können nur die Töne hören, deren Frequenzen zwischen 20 Hz und höchstens 20 kHz liegen. Als Ultraschall wird der Frequenzbereich oberhalb von 20 kHz bezeichnet. Ultraschall ist schon seit mehr als einem Jahrhundert bekannt. Die intensive Erforschung des Ultraschalleinsatzes im Bereich der Lebensmittelverarbeitung begann jedoch erst 1930, nachdem ein letaler Effekt auf Mikroorganismen festgestellt wurde [Sala *et al.* 1995].

#### 2.3.4.1 Physikalische Grundlagen des US

Die Ursache sowohl der mechanischen als auch der chemischen Wirkung des Ultraschalls liegt in der Kavitation. Darunter versteht man „die Bildung und Dynamik von Hohlräumen in Flüssigkeiten“ [Young 1989]. Bei der Implosion solcher Kavitations Hohlräume entstehen Schockwellen, die zusammen mit den damit verbundenen Scherkräften mechanische Zerstörungen bewirken, z.B. von Polymeren (Stärke, Gelatine, Gummi arabicum) [Sala 1993, Kruus *et al.* 1988].

Geräte zur Einkopplung von Ultraschall aus mechanischer oder elektrischer Energie nennt man Sonotroden. Es sind grundsätzlich 3 verschiedene Arten der Ultraschallerzeugung zu unterscheiden (flüssigkeitsbetriebene, magnetische und piezoelektrische Sonotroden). Die flüssigkeitsbetriebenen und die magnetischen Ultraschallgeneratoren haben einen robusten Aufbau, jedoch ist ihr Frequenzbereich beschränkt.

Die häufigste Bauart von Ultraschallgeneratoren ist die piezoelektrische [Masson 1998]. Ein Piezoelement wird von einer gepulsten Spannungsquelle zum Schwingen angeregt. Der Spannungsimpuls hat eine Dauer von ca. 100 ns. Durch den piezoelektrischen Effekt wird ein kurzer, ca. 1  $\mu$ s langer Schallimpuls erzeugt, abhängig vom Material des Schallerzeugers [Cartwright 1998].

### 2.3.4.2 Wirkungsweise des US

In Flüssigkeiten ist der Haupteffekt des Leistungsumschalls die Kavitation. Außerdem ist eine Anzahl von anderen Effekten zu bemerken. Einige Effekte werden hier erläutert.

#### *Kavitation*

Treten in Flüssigkeitsströmen Stellen auf, an denen der statische Druck den temperaturabhängigen Dampfdruck der Flüssigkeit unterschreitet, so verdampft die Flüssigkeit und es entsteht ein örtlich scharf begrenzter, dampfgefüllter Hohlraum. Kavitation kennzeichnet eine Prozessreihe von der Bildung, dem Wachstum und dem heftigen Einsturz der kleinen Luftblasen in der Flüssigkeit, resultierend aus akustischen Druckschwankungen [Suslick 1988]. Im allgemeinen kann Kavitation in der Flüssigkeit schnelle und komplette Entgasung verursachen, begleitet von verschiedenen physikalischen, chemischen und biologischen Reaktionen, wie Beschleunigung der chemischen Reaktionen, Erhöhung der Diffusionsrate, einheitliche Dispersion der Partikel oder Zusammenbruch der Enzyme und Mikroorganismen. Das Auftreten von Kavitation hängt vom aufgelösten Gas, Temperatur und hydrostatischem Druck des flüssigen Mediums ab. Jedoch ist die Frequenz des Ultraschalls der wesentliche Faktor der Kavitationsbildung. Je höher die Frequenz (ab ca. 1 MHz), desto schwieriger ist das Erzeugen von Kavitation. Ab 2,5 MHz findet Kavitation nicht mehr statt [Sala *et al.* 1995]. Der interessante Leistungsumschall in der Lebensmittelindustrie hat einen Frequenzbereich von 20 – 100 kHz.

#### *Hitze*

Als Ergebnis spezifischer Absorption der akustischen Energie durch Membranen und Biomaterialien findet eine lokale Temperaturerhöhung statt [Floros und Liang 1994]. Dieser Hitzeeffekt wurde als Ursache für die signifikante Erhöhung der Diffusion von Natriumionen durch lebende Froschhaut angenommen [Lehmann und Krusen 1954]. Die Zunahme der Permeabilität der lebenden Membrane war so groß, dass seine Selektivität vollständig verloren ging.

#### *Strukturelle Effekte*

Während der Behandlung von Flüssigkeiten mit Hochleistungsumschall werden aufgrund der erzeugten dynamischen Bewegung und der Scherbeanspruchung die strukturellen Eigenschaften, insbesondere die Viskosität, beeinflusst. Normalerweise behalten Newton'sche

Flüssigkeiten ihre Newton'schen Eigenschaften bei. Dilatante bzw. thixotrope Flüssigkeiten neigen dazu, sich zu versteifen, bzw. weniger zähflüssig zu werden [Floros und Liang 1994].

### *Turbulenz*

Hochleistungsschall erzeugt in den niedrigviskosen Flüssigkeiten und in den Gasen heftige Bewegung, die ausgenutzt werden kann, um Partikel zu zerstreuen. In den Grenzflächen zwischen Flüssigkeit/Feststoff oder Gas/Feststoff verursachen akustische Wellen extreme Turbulenz, bezeichnet als „acoustic streaming“ oder „micro streaming“. Diese reduziert die Diffusionsgrenzschicht, erhöht den konvektiven Massentransport und beschleunigt die Diffusion, die zur Verkürzung der Trocknungs- oder Rehydratationszeit beitragen kann [McClements 1995].

### **2.3.4.3 Anwendung des US in der Lebensmitteltechnologie**

Die Anwendung des US in der Lebensmittelverarbeitung kann in zwei Kategorien eingestuft werden: der Niedrigleistungs- und der Hochleistungsschall. Der Niedrigleistungsschall benutzt sehr niedrige Energieniveaus, gewöhnlich weniger als  $1 \text{ W/cm}^2$ , mit dem Frequenzbereich 5–10 MHz [Masson 1998, McClements 1995]. Wegen der geringen Energieniveaus verursacht der US keine physikalischen und chemischen Änderungen in den Eigenschaften des Materials, so dass die Textur, der Aufbau, die Viskosität der Nahrung nicht beeinflusst werden.

Demgegenüber benötigt der Hochleistungsschall viel höhere Energieniveaus, gewöhnlich im Bereich  $10\text{--}1000 \text{ W/cm}^2$ , mit der Frequenz 20–100 kHz [Masson 1998, McClements 1995]. Er verursacht physikalische Veränderungen des Materials, an dem sie angewendet werden, und fördert bestimmte chemische Reaktionen. Gegenwärtig wird Hochleistungsschall vornehmlich zum Säubern, flüssiger Entgasung, Homogenisation und zum Schweißen eingesetzt.

Ultraschall unterstützt Extraktionsprozesse. Die klassische Extraktion von organischen Substanzen aus pflanzlichem Gewebe mittels organischer Lösungsmittel wird durch die Anwendung von Hochleistungsschall deutlich verbessert. Der mechanische Effekt von US bewirkt eine bessere Diffusion von Lösungsmittel in die Gewebe und verbessert den

---

Stofftransport. Ein zusätzlicher Vorteil von US bei der Extraktion von Inhaltsstoffe aus dem pflanzlichen Gewebe ist die mechanische Schädigung (Kavitation) von biologischer Zellwand und erhöhter Austritt von Zellinhaltsstoffen aus den Zellen [Masson *et al.* 1996]. Dies wurde bei Zuckerrüben festgestellt [Masson *et al.* 1996]. Ebenfalls wurde eine erhöhte Extrahierbarkeit des Enzyms Rennin aus Kalbmagen durch Anwendung von US berichtet [Zayas 1986]. Ultraschall ist wahrscheinlich das einfachste und vielseitigste Verfahren zum Zellaufschluss und zur Herstellung von Extrakten [Kim und Zayas 1989]. Proteinextraktion aus entfetteter Sojabohnen-Suspension mittels US-Behandlung wurde von Wang (1975, 1981) untersucht. Eine kontinuierliche US-Behandlung von Suspensionen bei 550 W und 20 kHz führte zu einer deutlichen Verbesserung der Proteinextraktion, die erkennbar höher lag als bei allen anderen bisher verfügbaren Technologien. Masson und Zhao (1994) beobachteten eine beschleunigte Extraktion von Inhaltsstoffen aus Teeblättern bei 60 °C und Anwendung von US um bis zu 20 % im Vergleich zu Proben ohne US.

Die Einsatzmöglichkeiten des Hochleistungslultraschalls bei der Lebensmittelverarbeitung umfassen auch die Inaktivierung der Mikroorganismen und der Enzyme, die osmotische Trocknung, Filtration, die Herstellung von Emulsionen und die Beschleunigung bestimmter chemischer Reaktionen. Der Hochleistungslultraschall wird in der Zukunft als eine nichtthermische Verarbeitungsmethode in der Lebensmittelindustrie eine wichtige Rolle spielen.

---

## 3 MATERIAL UND METHODEN

### 3.1 Rohware

Die Rohwaren wurden bis zu ihrem Verbrauch in einer Kühlzelle bei +4 °C gelagert. Die verwendeten Rohwaren sind in der Tabelle 3.1.1 aufgelistet.

**Tabelle 3.1.1:** Die verwendeten Rohwaren

Abschnitt	Rohware	Versuch	Vorbehandlung
4.1	Weinbeeren	Saftgewinnung	HELP, HP, ScCO <sub>2</sub> , US, Enzyme
4.2	Rote Beete	Stoffübergang	HELP, HP, Gefroren, Thermisch
4.3	Mango	Osmotische Trocknung	HELP, HP, (S)cCO <sub>2</sub>
4.4	Kernlose Weinbeeren	Warmlufttrocknung	HELP
	Pflaumen Spargel		
4.5	Rote Paprika	Fermentation	HELP, HP, (S)cCO <sub>2</sub>

### 3.2 Anlagen

1. Die Hochspannungsanlage der Fa. COOL PURE™ [PURE PULSE Technologies Inc., 8888 Balboa AVE, San Diego CA 92123] mit einer max. Spannung von 10 kV und einer Kondensatorkapazität von 4 µF wurde für die Versuche eingesetzt

(Anhang 3.2.1). Für die experimentellen Arbeiten wurde eine Plexiglasküvette mit Edelstahlplatten (Elektrodenfläche  $A = 140 \text{ cm}^2$ , Elektrodenabstand  $d = 3 \text{ cm}$ ) verwendet. Für Stoffübergangsversuche von Rote Beete wurde ein Elektrodenabstand von 7 cm eingehalten. Der exponentiale Verlauf des Impulses wurde mit einem Oszillographen überwacht (Fa. Philips, Typ P.M. 3335, 60 MHz, Holland).

2. Für die Durchführung der Hochdruckversuche wurde eine Hochdruckanlage (Fa. National Forge, St. Niklaas, Belgien) mit einem max. Arbeitsdruck von 600 MPa, einer max. Arbeitstemperatur von 90 °C und einem Volumen von 590 ml eingesetzt. Die Temperatur innerhalb des Druckbehälters wurde durch einen externen Wärmeaustauscher gesteuert (Anhang 3.2.2). Als Übertragungsmedium wurde eine Flüssigkeitsmischung aus 97 % destilliertem Wasser und 3 % Spezialpressöl verwendet. Die Proben wurden in den Polyäthylen-Beutel gelegt, dieser versiegelt und in die Hochdruckanlage gegeben. Der maximale Druck (500 MPa) wurde innerhalb von 2 min erreicht. Die Dekompressionszeit betrug ca. 10 s. Der Temperaturanstieg während des adiabatischen Druckaufbaus betrug ca. 2–3 °C pro 100 MPa, je nach Anfangstemperatur, fiel jedoch innerhalb kurzer Zeit (max. 5 min) auf die eingestellte Behandlungstemperatur zurück.
3. Für die (S)cCO<sub>2</sub>-Behandlung wurde eine Pilotanlage der Fa. Newport Scientific Inc. (Jessup, Maryland, USA) mit einem max. Arbeitsdruck von 62,1 MPa, einer max. Arbeitstemperatur von 95 °C und einer Kapazität von 250 ml eingesetzt (Anhang 3.2.3). Druckaufbau und -abbau für die Proben benötigten 2 und 12 min.
4. Zur Ultraschallbehandlung stand eine Anlage der Fa. Bandelin (Berlin) mit einer max. Schallleistung von 30 W (in Wasser) und einer Amplitude von 180 µm (Schallleistungsdichte = 106 W/cm<sup>2</sup>) zur Verfügung (Anhang 3.2.4).

### 3.3 Probenvorbereitung

1. Unzerkleinerte dunkelblaue Weinbeeren wurden für die Saftgewinnung verwendet (Ausnahme: Enzymierung).

2. Für den Stoffübergangsversuch wurden die Rote-Beete-Knollen zuerst bei Raumtemperatur temperiert, dann mittels eines Kupferrohrs mit  $\varnothing = 27$  mm in Zylinder geschnitten. Um ein homogenes Ausgangsmaterial zu gewährleisten, wurden 8 Knollen ausgestanzt. Die erhaltenen Rote Beete-Zylinder wurden gemischt und anschließend mittels eines Haushaltsbrotschneiders in Scheiben von  $2 \pm 0,1$  mm Dicke geschnitten. Danach wurden sie kurz mit destilliertem Wasser abgespült und auf Saugpapier oberflächlich getrocknet. Die Zusammensetzung von Rote Beete ist in Tabelle 3.3.1 wiedergegeben.

**Tabelle 3.3.1:** Zusammensetzung von Rote Beete

	unverdünnt	1:20 verdünnt
Brix ( $^{\circ}\text{Bx}$ )	13,2	$\approx 0,6$
Leitfähigkeit (mS/cm)	-	0,728
pH-Wert	6,3	6,25
Extinktion (bei 530 nm)	-	2,747 (1:40 verdünnt)

3. Für die osmotische Trocknung (OD) wurde der parenchymatische Teil von Mango in kreisförmige Scheiben von 38 mm Durchmesser und 8 mm Dicke mit einem Korkbohrer und einem Messer geschnitten. Das Gewicht der Proben vor und nach der Vorbehandlung wurde notiert. Die frischen Mango hatten einen durchschnittlichen Anfangsfeuchtegehalt von  $87 \pm 1$  %. Für die Bestimmung des Feuchtegehalts wurden die Proben bei  $+80$  °C in einem Trockenschrank bis zur Gewichtskonstante getrocknet. In Tabelle 3.3.2 ist der Wassergehalt von Proben vor und nach der Vorbehandlung wiedergegeben.

**Tabelle 3.3.2:** Feuchtegehalt [%] von Mangoscheiben vor und nach der Vorbehandlung bevor OD

unbehandelt	HELP	HP	cCO <sub>2</sub>
$87,24 \pm 1,14$	$88,24 \pm 1,17^a$	$88,29 \pm 1,07^a$	$87,84 \pm 2,47^a$

Wobei: a = kein signifikanter Unterschied zu unbehandelten Proben

b = signifikanter Unterschied zu unbehandelten Proben

4. Für die Versuchsreihe „Warmlufttrocknung“ wurden kernlose Weinbeeren (Thomson seedless) als ganze, Pflaumen als halbe und Spargelstangen als 1 cm lange Zylinder eingesetzt.
5. Von der Mitte jeder roten Paprikaschote wurden Streifen in Quadrate (20 × 20 mm) geschnitten. Oberflächenwasser wurde mittels Papiertuch entfernt. In jedem Experiment wurden 30 g der roten Paprika (8 Streifen) verwendet. Die Proben wurden nach der Vorbehandlung (HELP, HP, cCO<sub>2</sub>) mit Papiertuch oberflächlich getrocknet, dann gewogen und in 60 ml 0,5 %-Natriumchloridlösung gegeben. Die frischen Proben hatten einen durchschnittlichen Anfangsfeuchtegehalt von 92,79 ± 3,9 %. Diese Werte änderten sich zwar je nach der Behandlung, aber es gab keinen signifikanten Unterschied zu unbehandelten Proben (Tabelle 3.3.3). Der Feuchtegehalt wurde wie oben (Punkt 3) festgestellt, jedoch bei +70 °C.

**Tabelle 3.3.3:** Feuchtegehalt (Mc)

Vorbehandlung	unbehandelt	HELP	HP	cCO <sub>2</sub>
Feuchtegehalt [%]	92,79 ± 3,90	92,94 ± 2,84 <sup>a</sup>	94,47 ± 2,55 <sup>a</sup>	92,36 ± 2,39 <sup>a</sup>

## 3.4 Versuchsdurchführungen

### 3.4.1 Probenbehandlung

#### 3.4.1.1 Elektrische Hochspannungsimpulse (HELP)

Das Behandlungsmedium war Leitungswasser mit einer Leitfähigkeit von 785 ± 45 µS/cm. Alle HELP Versuche wurden bei 20 ± 1 °C durchgeführt.

#### *Inhaltsstoffgewinnung aus Weinbeeren / Saftgewinnung*

Unzerkleinerte dunkelblaue Trauben ( $\varnothing = 2,2 \pm 0,2$  cm) wurden in die HELP-Küvette gegeben. Zur Ermittlung des Einflusses von HELP-Bedingungen auf den Permeabilisierungsgrad wurden die Proben bei einer Feldstärke (E) von ca. 0,3–3,0 kV/cm

und einer Pulszahl von 1 bis 100 behandelt. Für den Saftgewinnungsversuch wurden 400 g Trauben bei einer Feldstärke von 3 kV/cm und einer Pulszahl von 50 behandelt.

#### *Inhaltsstoffgewinnung aus Rote Beete / Stoffübergang*

Es wurde je 50 g Rote-Bete-Scheiben verwendet. Für die Permeabilisierungsversuche wurden verschiedene Feldstärken ( $E = 0,29\text{--}1,36$  kV/cm) und 20 Pulse bzw. verschiedene Pulszahlen (5–100) und 0,64 kV/cm eingesetzt. Die Rote Beete-Scheiben wurden bei 0,64 kV/cm, 10 (HELP 10); 20 (HELP 20) oder 50 Pulse (HELP 50) HELP behandelt. Die Pulsbreite betrug bei auf 4,5 kV eingestellter Spannung ( $E = 0,64$  kV/cm) ca. 786–992  $\mu\text{s}$ .

#### *Osmotische Trocknung von Mango*

Um einen Permeabilisierungsgrad ( $Z_p$ ) von 0,5–0,58 zu erhalten, wurden die Mangofrüchte bei verschiedenen Feldstärken (0,91–2,96 kV/cm) oder Pulszahlen (10–100) behandelt. Für den OD-Versuch wurden je 30 g Mango-Scheiben bei 2,67 kV/cm und 100 Pulsen ( $Z_p = 0,54$ ) behandelt.

#### *Warmlufttrocknung von Weinbeeren, Pflaumen und Spargel*

Für die Trocknungsversuche wurden jeweils die unzerkleinerten Weinbeeren, die halbierten Pflaumen und der in 1-cm-Stücke geschnittene Spargel in die HELP-Küvette gegeben. Die angewendeten HELP-Bedingungen sind in der Tabelle 3.4.1 wiedergegeben.

**Tabelle 3.4.1:** Die angewandten HELP-Bedingungen bei verschiedenen Rohwaren

Rohware	HELP-Bedingungen		
	Feldstärke [kV/cm]	Pulszahl [-]	Pulsfrequenz [Hz]
Weinbeeren	1,5	100	1
Pflaumen	1,0	100	1
Spargel	1,0	50	1

#### *Fermentation von rotem Paprika*

Rote Paprika wurde mit HELP bei verschiedenen Feldstärken (0,67–3,33 kV/cm) oder Pulszahlen (10–70) behandelt. Anschließend wurde der  $Z_p$  ermittelt. Etwa 30 g rote Paprikastücke wurden bei 2,67 kV/cm und 50 Pulse ( $Z_p = 0,46$ ) behandelt und für den anschließenden Fermentationsversuch verwendet.

Nach der Behandlung wurden die Proben sofort aus der Küvette geholt, auf einem Sieb abgetropft und zur Ermittlung des Permeabilisierungsgrades bzw. für die Weiterverarbeitung herangezogen.

### 3.4.1.2 Hydrostatischer Hochdruck (HP)

Für die „Saftgewinnung“ und den „Stoffübergangsversuch“ wurden die dunkelblauen Weinbeeren bzw. Rote Beete-Scheiben in PE-Beutel vakuumverpackt, im Wasserbad bei der gewünschten Arbeitstemperatur für 5 min temperiert und anschließend in die HP-Anlage gegeben. Zur Ermittlung des Einflusses von HP auf den Permeabilisierungsgrad der Proben wurden sie bei 100–500 MPa, 20 °C und 10 min oder bei 20–50 °C, 500 MPa und 10 min sowie bei 500 MPa, 50 °C und 0–30 min (nur für Weinbeeren) behandelt. Für den weiteren Versuch wurden Weinbeeren bei 500 MPa, 50 °C für 10 min behandelt. Für den Stoffübergangsversuch wurden die Rote Beete-Scheiben bei 500 MPa, 20 °C (HP 20) / 40 °C (HP 40) / 50 °C (HP 50), 10 min mit HP behandelt.

Um einen  $Z_p$  von ca. 0,5 zu erreichen, wurden die Proben (Mango und Paprika) bei verschiedenen Behandlungsdrücken und -temperaturen für 10 min mit HP behandelt. Für den OD-Versuch wurden ca. 30 g in PE-Beutel verpackte Mango bei 500 MPa, 40 °C und 10 min ( $Z_p = 0,58$ ) behandelt. Für den Fermentationsversuch wurden die ca. 30 g rote Paprika mit destilliertem Wasser (1:1 w/w) in PE-Beutel verpackt und bei 500 MPa, 50 °C und 10 min ( $Z_p = 0,49$ ) behandelt.

Nach der Behandlung wurden die Proben (Weinbeeren, Rote Beete, Mango, Paprika) aus dem PE-Beutel genommen, mittels Papiertuch getrocknet und zur Ermittlung des Permeabilisierungsgrades oder zur Weiterverarbeitung herangezogen.

### 3.4.1.3 Komprimiertes (cCO<sub>2</sub>) und überkritisches Kohlendioxid (ScCO<sub>2</sub>)

Die unzerkleinerten Weinbeeren wurden in die ScCO<sub>2</sub>-Anlage gegeben und bei verschiedenen Druckhöhen (10–60 MPa) / 35 °C / 10 min, bei verschiedenen Behandlungstemperaturen (25–50 °C) / 60 MPa / 10 min bzw. bei einer unterschiedlichen Behandlungsdauer (10–30 min) / 60 MPa, 35 °C behandelt und der  $Z_p$  ermittelt. Für den weiteren Versuch (Entsaftung) wurde die Probe in die Anlage, die vorher auf die Behandlungstemperatur (35 °C) eingestellt war, gegeben und bei 60 MPa, 35 °C für 10 min behandelt. Die

Entspannungsdauer war konstant und betrug ca. 10 min. Nach der Behandlung wurden die Proben aus der Anlage geholt, mittels Papiertuch getrocknet und zur Ermittlung des Permeabilisierungsgrades bzw. zur Saftgewinnung verwendet.

Für die Permeabilisierungsversuche wurden Mango bzw. rote Paprika in die ScCO<sub>2</sub>-Anlage gegeben und bei verschiedenen Behandlungsdrücken (7,1–35 MPa / 35 °C für Mango bzw. 10–40 MPa / 20 °C für roten Paprika) und -temperatur (28–35 °C / 7,1 MPa für Mango) für 10 min behandelt. Für die Weiterverarbeitungsversuche (osmotische Trocknung und Fermentation) wurden Mango bei 7,1 MPa, 28 °C für 10 min ( $Z_p = 0,55$ ) und rote Paprika bei 30 MPa, 20 °C für 10 min ( $Z_p = 0,45$ ) behandelt. Der Druckaufbau betrug ca. 1–2 min, der Abbau ca. 12 min.

#### **3.4.1.4 Ultraschall**

Weinbeeren wurden grob in einem Haushaltsmixer (Fa. Braun, Germany) 8 s lang bei Stufe I zerkleinert (Fruchstücke mit ca. 2 mm Kantenlänge) und in einem Becherglas bei unterschiedlichen Schalleistungen (6, 21, 30 W), Behandlungsdauer (max. 4 min) und bei 20 °C mit Ultraschall behandelt. Aufgrund der kurzen Behandlungsdauer lag die Temperaturerhöhung während der Ultraschallbehandlung unterhalb 4 °C. Nach der Behandlung wurden die Proben entweder zur Ermittlung des Permeabilisierungsgrades oder zur Saftgewinnung (400 g) eingesetzt.

#### **3.4.1.5 Thermisches Verfahren**

Die in Scheiben geschnittenen Roten Beete wurden in PE-Beutel gegeben und vakuumverschweißt. Anschließend erfolgte die thermische Behandlung in einem Wasserbad. Die Proben wurden entweder bei verschiedenen Behandlungstemperaturen (40–80 °C), 15 min lang oder bei verschiedenen Behandlungszeiten (3–15 min) und 60 °C thermisch behandelt. Anschließend wurden sie zur Bestimmung des Permeabilisierungsgrades herangezogen. Für den Stoffübergangversuch wurden die Rote-Beete-Scheiben bei 60 °C/7 min, 65 °C/15 min oder 80 °C/15 min thermisch behandelt. Nach der Behandlung wurden die Proben sofort im kalten Wasser abgekühlt, aus dem PE-Beutel genommen und für den Stoffübergangversuch eingesetzt.

### 3.4.1.6 Enzymierung

Grob zerkleinerte Beeren (siehe 3.4.1.4) wurden mit 0,5 % Enzym Pectinex 100-L (Fa. Novo Nordisk Ferment Ltd., Schweiz) versetzt und bei 50 °C bis max. 180 min enzymiert und zur Ermittlung des Permeabilisierungsgrades bzw. zur Saftgewinnung (400 g Proben) herangezogen.

### 3.4.1.7 Gefrieren

Die Weinbeeren und Rote-Beete-Scheiben wurden als eine Schicht auf einem Tablett verteilt. Anschließend wurden die Scheiben bei –20 °C in einer Tiefkühlzelle (Fa. Linde) eingefroren.

## 3.4.2 Versuchsdurchführung

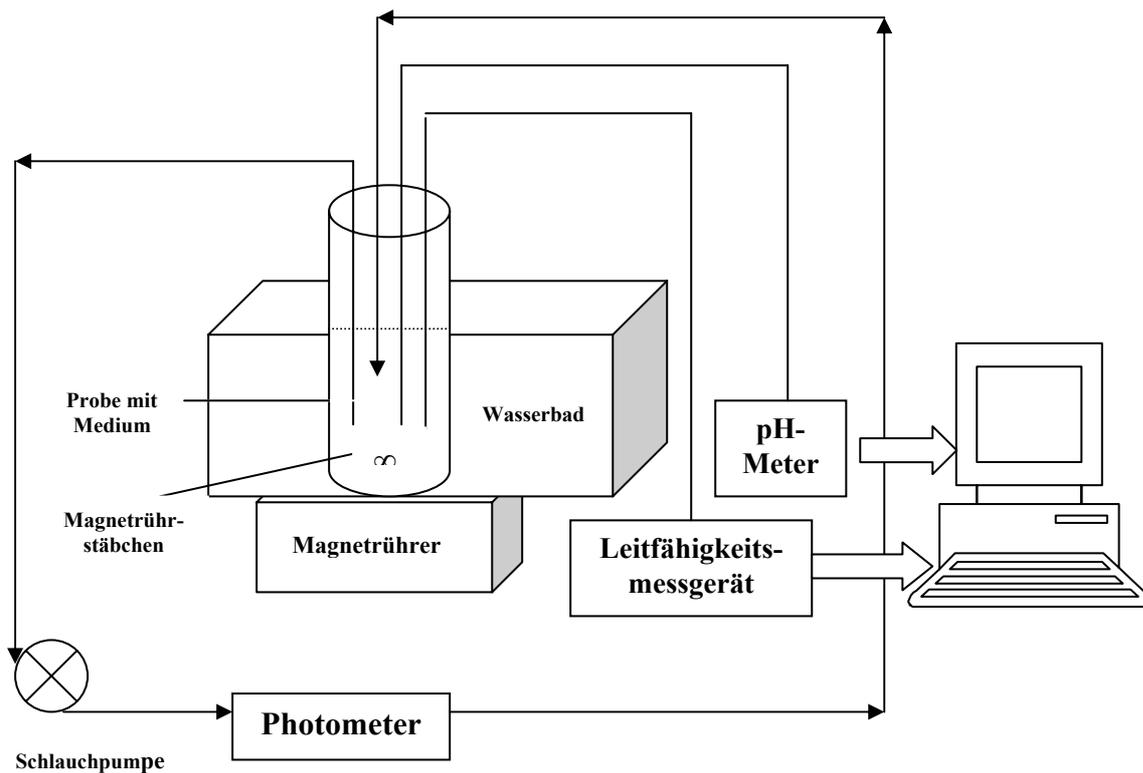
### 3.4.2.1 Inhaltsstoffgewinnung

#### *Saftgewinnung durch Pressen*

Die Proben wurden sofort nach der Vorbehandlung direkt (enzymierte bzw. US-behandelte Proben) bzw. nach der groben Zerkleinerung in einem Haushaltsmixer (HELP, HP, ScCO<sub>2</sub> behandelte Proben) mittels einer hydraulischen Kolbenpresse (HST-Tinkturenpresse, Fa. Hubert Schwanke-2 liter-Modell, Germany) abgepresst (15 MPa für 15 min). Der Saft wurde entweder sofort analysiert (Brix-Wert, Leitfähigkeitsmessung, Farbe) oder für die weitere Untersuchung bei –20 °C im Gefrierschrank (Fa. Linde, Germany) aufbewahrt.

#### *Stoffübergangsversuch (Extraktion)*

Je genau 50 g von vorbehandelten (HP, HELP, Gefrieren und thermisch behandelten bzw. unbehandelten) Rote-Beete-Scheiben wurden in einem Messzylinder (1000 ml Volumen), der mit einem Magnetrührstäbchen versehen war, in ein Wasserbad mit konstanter Temperatur ( $20 \pm 1$  °C), gegeben. Das Wasserbad war auf einen kräftigen Magnetrührer gestellt (s. Abb. 3.4.1). In dem Messzylinder befand sich 950 ml destilliertes Wasser (Leitfähigkeit = 0,04 mS/cm). Die Leitfähigkeit sowie der pH-Wert während des Stoffübergangsversuchs wurden mittels Leitfähigkeitsmessgeräts bzw. pH-Elektrode aufgenommen. Die Leitfähigkeit und der pH-Wert wurden mittels eines Computer-Programms (Fa. Yokogawa, Japan) jede 10. Sekunde aufgenommen.



**Abb. 3.4.1:** Aufbau des Versuchssystems

Zur Extinktionsmessung während des Stoffübergangsversuchs wurde ein Spektralphotometer (Fa. Hitachi, Japan) eingesetzt. Die Flüssigkeit im Messzylinder wurde mittels einer Schlauchpumpe in eine Durchflussküvette, die im Photometer platziert war, hineingepumpt und wieder in den Messzylinder zurückgeführt (Durchflussrate  $\approx 80$  ml/min). Die Extinktion wurde bei 450 bis 550 nm für jede Minute (bis 30 min) bzw. alle 5 Minuten (danach bis Ende des Versuches bis zu 3 Stunden) erfasst. Die Bestimmung der Extinktionswerte als Maß für den Farbstoffaustritt während des Stoffübergangs erfolgte bei  $\lambda_{\max} = 530$  nm.

### 3.4.2.2 Trocknung

#### *Osmotische Trocknung (OD)*

Um den Einfluss der Vorbehandlungen auf die Wasser- und Zuckerdiffusionskinetik in Mango zu untersuchen, wurden alle anderen Prozessparameter (Temperatur, Zeit, Zuckerkonzentration, Verhältnis zwischen Probe und Lösung,  $Z_p$ ), die den Stoffübergang beeinflussen, konstant gehalten. Das kommerzielle Nahrungsmittel Saccharose wurde als osmotisches Lösungsmittel (50 °Brix) verwendet. Die Immersionsdauer betrug 0,5 h, 1 h, 2–

5h. Das Gewicht vor und nach der Vorbehandlung wurde notiert. Die Proben wurden in einen Glasbecher, das osmotische Lösungsmittel enthaltend, eingetaucht. Dieser wurde in ein geschütteltes Wasserbad von 40 °C gestellt. Das Verhältnis der Mango-Scheiben zum Sirup (w/w) betrug 1 : 25. Die Probe wurde am Ende des OD-Prozesses (0,5–5h) aus der osmotischen Lösung herausgenommen, kurz unter Leitungswasser abgespült, mit einem Papiertuch getrocknet und gewogen. Anschließend wurde sie zur Ermittlung der sensorischen Eigenschaften (Textur und Farbe) bzw. zur Bestimmung des Feuchte- und Trockensubstanzgehalts sowie zur mikroskopischen Prüfung verwendet.

#### *Warmlufttrocknung*

Für die Trocknung unbehandelter bzw. HELP-vorbehandelter Proben stand ein Wirbelschichttrockner (ATP, Berlin) zur Verfügung. Die Temperatur und die Luftgeschwindigkeit während der Warmlufttrocknung waren für alle Versuche gleich und betragen 70 °C bzw. 1,5 m/s. Die Wägung der Proben während der Trocknung erfolgte nach jeweils 5 min Trocknungsdauer außerhalb des Trockners. Die Temperaturabnahme, die nach jeder Wägung infolge des kurzen Ausschaltens des Trockners auftrat, betrug ca. 5 °C. Der Sollwert der Trocknungstemperatur wurde nach ca. 10 s wieder erreicht.

Für die Trocknung im Trockenschrank stand ein Labortrockner (Heraeus Instrument, Baureihe 6000, Deutschland) zur Verfügung. Die Vakuumtrocknung erfolgte in einem Vakuumtrockner mit ca. 10 l Volumen (Fa. Heraeus, Deutschland) bei 93,3 mbar und einer Trocknungstemperatur von 60 °C für Weinbeeren und Pflaumen bzw. 70 °C für Spargel.

#### **3.4.2.3 Fermentation**

Für den Fermentationsprozess wurden *Lactobacillus Plantarum* (DMS 20174) verwendet. 30 g von unbehandelten bzw. vorbehandelten (HELP, HP, (S)cCO<sub>2</sub>) roten Paprika wurden in 60 ml 0,5 %iger Natriumchloridlösung getränkt. Die Fermentation wurde bei 20 °C im Dunkeln durchgeführt. Die Fermentationszeiten waren 0,5d, 1d, 2d, 3d, 4d, 5d, 6d und 7d. Am Ende des Fermentationsprozesses wurden die Proben aus der Salzlösung herausgenommen, mit einem Papiertuch getrocknet, gewogen und für Textur- und Farbmessung sowie Trockensubstanzbestimmung herangezogen. Die Fermentationslösung wurde für die Bestimmung des Mikroorganismenwachstums sowie von pH-Wert, Brix-Wert, Leitfähigkeit, Gesamtsäuregehalt sowie L- und D-Milchsäure verwendet.

## 3.5 Untersuchungen

### 3.5.1 Bestimmung des Permeabilisierungsgrades

Zur Ermittlung des Permeabilisierungsgrades ( $Z_p$ ) von unbehandelten bzw. vorbehandelten Proben wurde die frequenzabhängige elektrische Leitfähigkeit ermittelt. Zur Messung der frequenzabhängigen elektrischen Leitfähigkeit  $\kappa$  wurde ein Breitband-Impedanzmessgerät [Fa. EMM, Berlin] eingesetzt (Gl. 3.5.1). Der Hochfrequenz (HF)-Generator liefert eine rechteckförmige Ausgangsspannung mit Frequenzen im Bereich von 3 kHz bis zu 100 MHz. Der Anteil an aufgeschlossenen Zellen ( $Z_p$ ) wurde nach Gleichung 3.5.2 [Angersbach *et al.* 1997a] ermittelt.

**Gl. 3.5.1:** Berechnung der frequenzabhängigen elektrischen Leitfähigkeit ( $\kappa$ )

$$\kappa = \frac{L \cdot \frac{1}{R}}{A \cdot \text{Tarrierung}}$$

$\kappa$  = Leitfähigkeit [mS/cm]  
 $L$  = Länge der Probe [cm]  
 $R$  = Standardwiderstand  
 $A$  = Fläche der Probe [cm<sup>2</sup>]  
 Tarrierung [V]  
 Messwert [V]

**Gl. 3.5.2:** Berechnung des Zellmembranpermeabilisierungsgrades ( $Z_p$ )

$$Z_p = \left[ 1 - \left( \frac{K_{11} - K_0 \cdot \frac{K_{11}}{K_{11}}}{K_{11} - K_0} \right) \right]$$

$K_0 ; K_{11}$  = Leitfähigkeit von unbehandelter Probe bei Frequenzstufe 0 und 11 [mS/cm]  
 $K_0' ; K_{11}'$  = Leitfähigkeit von behandelter Probe bei Frequenzstufe 0 und 11 [mS/cm]

### 3.5.2 Trockensubstanzgehalt

Die Probe wurde vor der Trocknung gewogen und anschließend bei 70 oder 80 °C bis zur Gewichtskonstanz im Trockenschrank bei atm. Druck getrocknet. Nach dem Abkühlen im Exsikkator wurden die Proben erneut gewogen. Der Trockensubstanzgehalt wurde aus der Gleichung 3.5.3 rechnerisch ermittelt.

**Gl. 3.5.3:** Berechnung des Trockensubstanzgehalts

$$TS \text{ [\%]} = \frac{m_t}{m_o} \times 100$$

$m_o$  = Gewicht der Probe vor der Trocknung

$m_t$  = Gewicht der Probe nach der Trocknung

### 3.5.3 Wasserverlust (WL) und Zuckeraufnahme (Sg)

Zwei Größen stellen den osmotischen Trocknungsprozess dar: der Wasserverlust (WL) und die Zuckeraufnahme (Sg). Die Berechnung des Wasserverlustes und der Stoffaufnahme während der osmotischen Trocknung basierten auf der Annahme, dass keine Änderung im unlöslichen festen Bestandteil der Proben während der osmotischen Trocknung auftrat [Del Valle *et al.* 1998]. Die Zuckeraufnahme in der Probe (Sg) sowie der Wasserverlust (WL) wurden nach den Gleichungen 3.5.3 und 3.5.4 berechnet.

**Gl. 3.5.4:** Berechnung der Zuckeraufnahme in der Probe (Sg)

$$Sg = \frac{(M_f - S_t)}{S_t}$$

$Sg$  = Zuckeraufnahme in gram pro gram Trockensubstanz der Rohware

$M_f$  = Gewicht der luftgetrockneten Probe nach OD [g]

$S_t$  = Trockensubstanz der Probe nach der Vorbehandlung [g]

**Gl. 3.5.5:** Berechnung des Wasserverlusts der Probe (WL)

$$WL = \frac{(M_t - S_t) - (M_{OD} - M_f)}{S_t}$$

$WL$  = Wasserverlust in gram pro gram Trockensubstanz der Rohware

$M_t$  = Probegewicht nach der Vorbehandlung vor OD [g]

$M_{OD}$  = Probegewicht nach OD zu Zeit t [g]

Für die Bestimmung von  $Sg$  und  $WL$  unbehandelter Proben wurden ähnliche Gleichungen aufgestellt, jedoch wurden  $S_t$  und  $M_t$  durch  $S_0$  und  $M_0$  ersetzt.

### 3.5.4 Rehydration

Die Bestimmung des Rehydrationsgrades erfolgte nach der Methode Adler (1971). Für die Rehydration von getrocknetem Gemüse wurde je 5 g der getrockneten Proben in 100 ml siedendes destillierte Wasser gegeben und unter Verwendung eines Rückflusskühlers für bestimmte Zeit (5–15 min) rehydratisiert. Nach Beendigung der Siedephase wurde die Probe

auf ein Sieb gebracht, abgetropft und gewogen. Für die Berechnung des Rehydrationsgrades ( $R_e$  in g Wasseraufnahme/g getrocknete Probe) wurde die Gleichung 3.5.6 herangezogen.

Gl. 3.5.6: Berechnung des Rehydrationsgrades ( $R_e$ )

$$R_e = \frac{(G_r - G_p)}{G_p}$$

$G_r$  = Gewicht der rehydratisierten Probe

$G_p$  = Gewicht der getrockneten Probe

### 3.5.5 Vorbereitung der Abschnitte für mikroskopische Prüfung

Die unbehandelten und vorbehandelten Mangofrüchte (vor und nach der osmotischen Trocknung) wurden bei  $-20\text{ °C}$  für 48 h gefriergetrocknet (Fa. Christ, Osterode). Vor der Bildanalyse mit dem Rasterelektronenmikroskop (REM) wurden diese getrockneten Proben mit Gold bedampft. Die REM-Aufnahme erfolgte mittels eines Rasterelektronmikroskops (Hitachi-S-2700, Japan) mit einer Beschleunigungsspannung von 20 kV. Fotografien wurden mit einem 125 Kodak plus - Japan 35 mm-Schwarzweißfilm aufgenommen.

### 3.5.6 Mikrobiologische Bestimmung

Für die Keimzahlbestimmung von Lactobacillen wurde ROGOSA-Agar (Merck 1.05413) verwendet. Gelbrich (1965) gab in seinen Untersuchungen an, dass Milchsäurebakterien auf ROGOSA-Nährboden unter aerober Bedingung gut wachsen können.

### 3.5.7 Analytik

- Die relative Dichte wurde mittels eines Biegeschwingers-Dichtemessgeräts (DMA 55; Anton Paar KG, Österreich) gemessen.
- Die Leitfähigkeitsmessung erfolgte mittels eines Konduktometers (WTW-LF 95, Weilheim).
- Die Bestimmung des Brixwertes erfolgte mittels eines Refraktometers (digital refractometer, RFM 80, Bellingham + Stanley Limited, U.K.) bei  $+20\text{ °C}$ .
- Die pH-Werte wurden mit pH-Elektroden gemessen (Fa. Hanna Instrument, Italien).

- Für die Bestimmung von L- und D-Milchsäure in der Fermentationslösung sowie von Glukose und Fruktose in Traubensaft wurde die enzymatische Methode von Boehringer (Mannheim) herangezogen.
- Titrierbare Säure wurde nach der Methode IFU-Analyse Nr. 3 (1985) festgestellt und als Gesamtmilchsäure (Fermentation) und als Weinsäure (Saftgewinnung) berichtet.
- Die Pektin-Bestimmung wurde nach der Methode IFU-Analyse Nr. 26 (1985) durchgeführt.
- Mit Hilfe eines Spektralphotometers (U-3000; Hitachi Ltd., Japan) wurde der Anthocyangehalt von klarem Traubensaft (bei 13215 · g, 5 min zentrifugiert) bei einer Wellenlänge von 525 nm bestimmt. Die Farbmessung während des Stoffübergangsversuchs wurde beim Wellenlängenbereich 450–550 nm durchgeführt.
- Die Festigkeit der Probe wurde mit einem Texturmessgerät (Stable Microsystem Modell TA-XT2, Surrey, U.K.) gemessen. Die maximale Kraft bei jeder Messung wurde für die Bestimmung der Texturwerte herangezogen. In Tabelle 3.5.1 sind die eingesetzten Messköpfe für die Texturmessungen wiedergegeben.

**Tabelle 3.5.1:** Versuchsdurchführung von Textur

Probe	Proben- abmessung [mm]	Zylinder Messeinsatz [mm]	Geschwindigkeit des Messeinsatzes [mm/s]	Eindringtiefe [mm]
Rote Paprika	20 x 20 x 5	Ø = 5	1	2
Mango	Ø = 38; d = 8	Ø = 5	1	5
Rote Beete	Ø = 27; d = 10	Ø = 11,3	1	2
Weintrauben	Ø = 10-15	Ø = 12	1	2
Pflaumen	d = 10	Ø = 12	1	2
Spargel	d = 10	Ø = 12	1	2

Wobei : Ø = Durchmesser  
D = Probendicke

- Für die Farbmessungen wurde ein Remissionsfarbmessgerät (Chroma-Meter CR-200, Fa. Minolta, Japan) verwendet. Dabei wurde die Helligkeit (*L*-Wert) und der Farbton (*a*- und *b*-Wert) für jede Probe ermittelt. *a*-Wert bedeutet rote Farbe, wenn er einen positiven Wert hat, und grün, wenn er einen negativen Wert hat, und *b*-Wert bedeutet gelbe

Farbe, wenn positiv, und blaue Farbe, wenn er negativ ist. Der  $a/b$ -Wert charakterisiert die Verschiebung des Farbeindrucks Orange zum Rot (Zunahme) bzw. zum Gelb (Abnahme).

Die Farbsättigung  $C$  ergibt sich aus der Gleichung  $C = \sqrt{a^2 + b^2}$ .

### **3.5.8 Statistik**

Die Bestimmungen wurden in mindestens 4- bis 8-facher Wiederholung durchgeführt und daraus der Mittelwert berechnet. Die Stoffübergangsversuche (pH-, Extinktions- und Leitfähigkeitsmessung) wurden zweimal, die Trocknungs- und Rehydrationsversuche dreimal wiederholt. Die Auswertung der Daten erfolgte mittels Quattro-Pro (1991) und Plot-It 3.2 (SPE 1993). Signifikanz-Tests wurden für  $P < 0,05$  definiert.

## 4 ERGEBNISSE UND DISKUSSIONEN

---

### 4.1 Zellmembranpermeabilisierung und Inhaltsstoffgewinnung von Weinbeeren

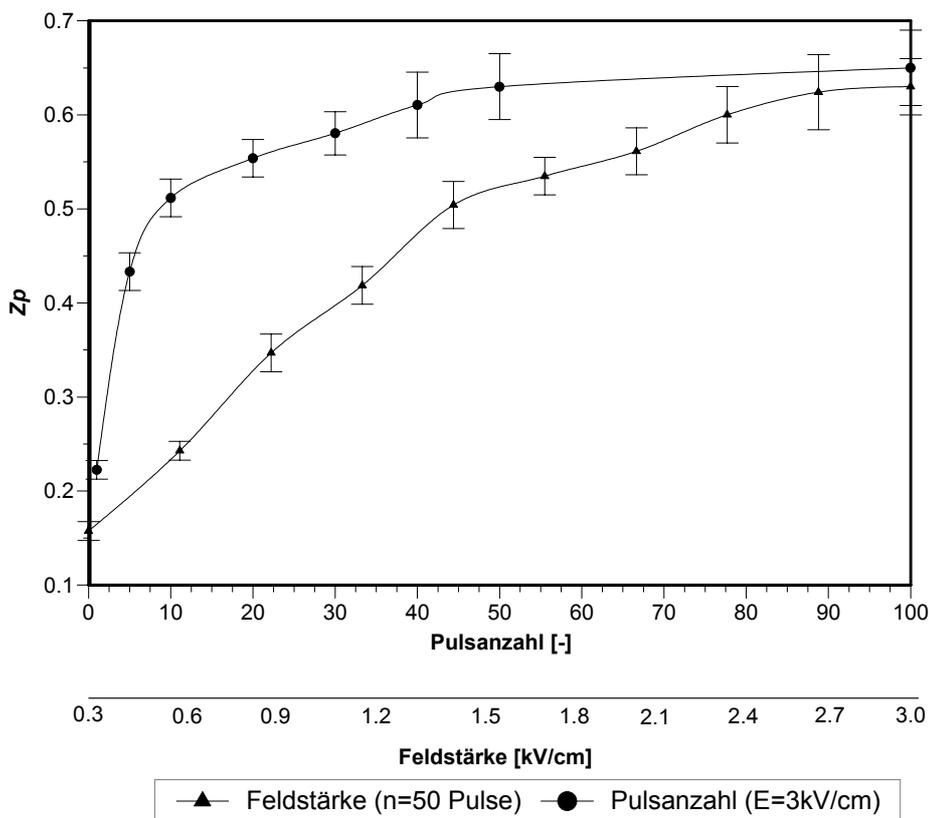
#### 4.1.1 Zellmembranpermeabilisierung

Zellmembranpermeabilisierung ist ein wesentliches Kennzeichen neuer nichtthermischer Verfahren, wie HELP, HP, ScCO<sub>2</sub> und US. Um die quantitative Zellmembranpermeabilisierung darzustellen, wurde ein Permeabilisierungsgradmessgerät, das auf relativer Veränderung von Leitfähigkeit der Probe bei niedrigen (3 kHz) und hohen (ca. 100 MHz) Frequenzen basiert, entwickelt [Angersbach *et al.* 1997].

##### *Charakterisierung der Zellmembranpermeabilisierung durch Hochspannungsimpulse*

Aus Abbildung 4.1.1 ist zu erkennen, dass die Steigerung der Feldstärke von 0,3 auf 1,5 kV/cm einen starken Einfluss auf den Permeabilisierungsgrad hat. Eine weitere Erhöhung der Feldstärke von 1,5 auf 3,0 kV/cm bewirkte ebenfalls eine weitere, jedoch weniger ausgeprägte Steigerung des Permeabilisierungsgrades. Eine ähnliche Beobachtung wurde von Eshtiaghi und Knorr (2000) berichtet, wobei durch HELP-Behandlung von Weinbeeren bei 2,67 kV/cm und 40 Pulsen ( $C = 3,5 \mu\text{F}$ ) ein Permeabilisierungsgrad von  $Z_p \approx 0,5$  erzielt wurde.

Während die Feldstärke einen großen Einfluss auf den Permeabilisierungsgrad der Weinbeeren hatte, zeigte die Pulszahlen  $\geq 20$  einen geringen Einfluss. Die Steigerung der Pulsanzahl von 1 auf 20 Pulse bewirkte einen sehr starken Anstieg des Permeabilisierungsgrades. Die Erhöhung der Pulszahl von 20 auf 100 Pulse führte ebenfalls zu einer weiteren, jedoch weniger ausgeprägten Steigerung des Permeabilisierungsgrades. Ähnliche Beobachtung wurde von Brodelius *et al.* (1988) und Ade-Omawaye *et al.* (2001b) gemacht.

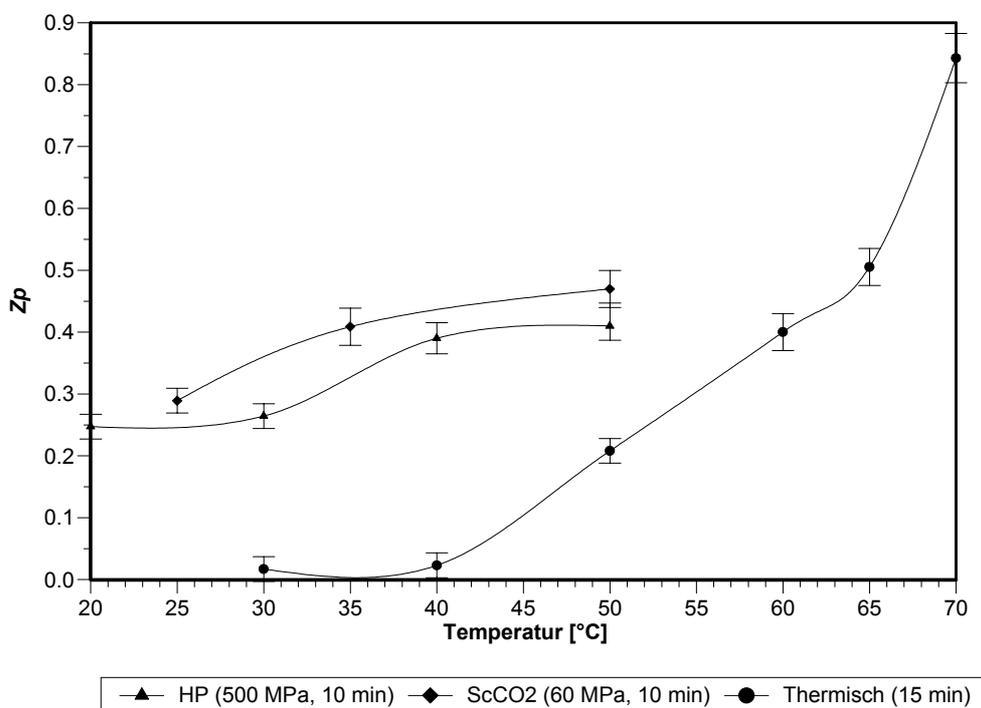


**Abb. 4.1.1:** Einfluss der HELP-Behandlung auf den Permeabilisierungsgrad der Weinbeeren

#### *Charakterisierung der Zellmembranpermeabilisierung von Weinbeeren durch Behandlungstemperatur*

Der Einfluss der Behandlungstemperaturen auf den Permeabilisierungsgrad ist in Abbildung 4.1.2 dargestellt. Der Permeabilisierungseffekt der Hochdruckbehandlung wurde durch Erhöhung der Behandlungstemperatur von 20 °C auf 50 °C (bei konstantem Druck von 500 MPa, 10 min) um das fast 2-Fache erhöht. Ähnlich wie bei der Hochdruckbehandlung bewirkte die Temperaturerhöhung während der ScCO<sub>2</sub>-Behandlung eine erkennbare Erhöhung des Permeabilisierungsgrades.

Die thermische Permeabilisierung von Weinbeeren (bei atmosphärischem Druck) bis zu 40 °C hatten keinen Permeabilisierungseffekt. Erst ab Temperaturen  $\geq 50$  °C wurde eine rapide Steigerung des Permeabilisierungsgrades beobachtet. Die thermische Behandlung bei 50 °C für 15 min verursachte eine 20 %ige Permeabilisierung der Weinbeeren. Durch Anwendung von HP oder ScCO<sub>2</sub> bei gleicher Behandlungstemperatur konnte der Permeabilisierungsgrad verdoppelt werden.



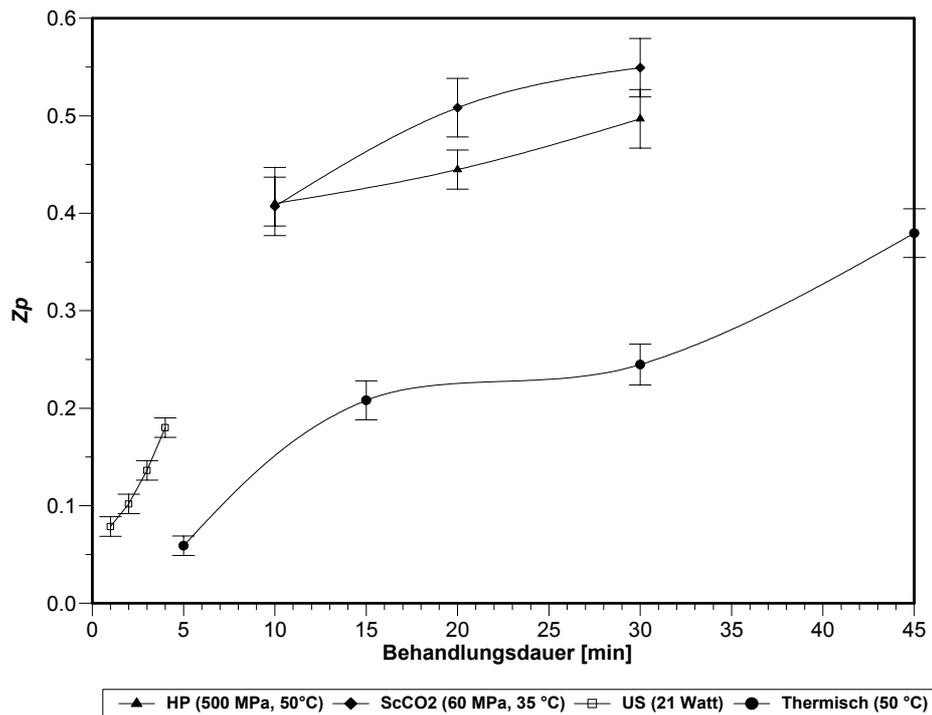
**Abb. 4.1.2:** Einfluss der Behandlungstemperatur auf den Permeabilisierungsgrad von Weinbeeren bei verschiedenen Vorbehandlungen

#### *Charakterisierung der Zellmembranpermeabilisierung von Weinbeeren durch Behandlungsdauer*

Während die Druckhöhe bei der HP-Behandlung einen erheblichen Einfluss auf den Permeabilisierungsgrad der Weinbeeren hatte, bewirkte die Verlängerung der Behandlungsdauer von 10 auf 30 min nur eine geringfügige Steigerung des Permeabilisierungsgrades.

Der Einfluss von Behandlungsdauer durch ScCO<sub>2</sub>-Behandlung bei konstantem Druck (60 MPa) und Temperatur (35 °C) auf den Permeabilisierungsgrad der Weinbeeren ist auch in

Abbildung 4.1.3 dargestellt. Eine Erhöhung der Behandlungsdauer von 10 auf 20 min bewirkte eine ausgeprägte Steigerung des Permeabilisierungsgrades von 40 auf 50 %. Eine weitere Verlängerung der Behandlungsdauer bis auf 30 min führte zu weiterer, jedoch nur geringfügiger Erhöhung des Permeabilisierungsgrades.



**Abb. 4.1.3:** Einfluss der Behandlungsdauer auf den Permeabilisierungsgrad von Weinbeeren

Zum erforderlichen Überdruck im Inneren der Zelle ist zu bemerken, dass 0,35 bis 3,5 MPa für eine Zellwandsprengung ausreichend sind, sofern das Druckmedium, wie beispielsweise CO<sub>2</sub>, kompressibel ist und beim Abbau des Überdrucks expandieren kann.

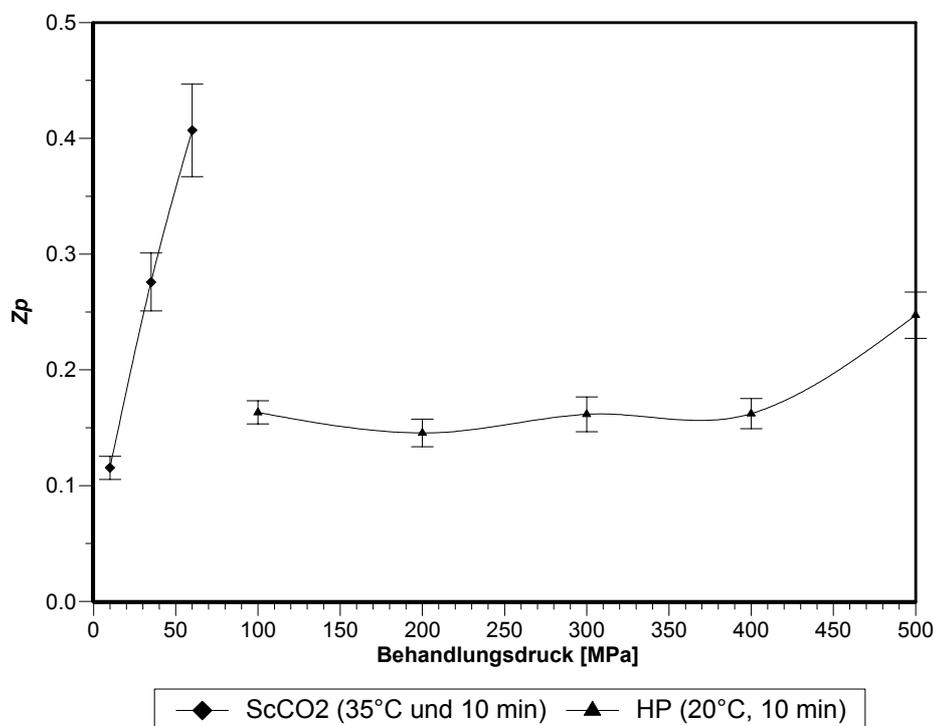
Die zum Erreichen der entsprechenden Gasmenge im Zellinneren benötigte Verweilzeit des Pflanzenmaterials im Druckbehälter hängt von der Diffusionsgeschwindigkeit ab [Stahl *et al.* 1987]. Eine Modellrechnung für Pflanzenzellen ohne Risse und Poren hat ergeben, dass CO<sub>2</sub> für eine Diffusionsstrecke von 1 cm 8–9 min benötigt [Kohlensäurewerk Deutschland GmbH 1981]. Risse und Poren beschleunigen zwar das Eindringen des Gases, sind die Öffnungen jedoch zu groß und die Diffusionswege zu kurz, ist beim Entspannen ein problemloser Druckausgleich möglich und der kurzzeitig erforderliche Überdruck kann nicht

aufgebaut werden. Um diese Situation möglichst zu vermeiden, ist ein schneller zeitlicher Druckabfall von großer Bedeutung [Stahl *et al.* 1987].

Ebenfalls konnte eine geradlinige Steigerung des Permeabilisierungsgrades mit steigender US-Behandlungsdauer verzeichnet werden. Der Permeabilisierungseffekt der US-Behandlung wurde durch Erhöhung der Behandlungsdauer von 1 auf 4 min bei konstanter US-Leistung von 21 W um das mehr als 2-Fache erhöht.

Die Verlängerung der Behandlungsdauer während der thermischen Behandlung bei 50 °C bewirkte ebenfalls eine Zunahme des Permeabilisierungsgrades. Während nach 15 min bei 50 °C ca. 20 % der Zellen permeabilisiert waren ( $Z_p = 0,21$ ) konnten nach 45 min thermischer Behandlung bei 50 °C bis zu 38 % der Zellen permeabilisiert werden.

#### *Charakterisierung der Zellmembranpermeabilisierung von Weinbeeren durch Behandlungsdrücke*



**Abb. 4.1.4:** Einfluss des Behandlungsdrucks auf den Permeabilisierungsgrad von Weinbeeren

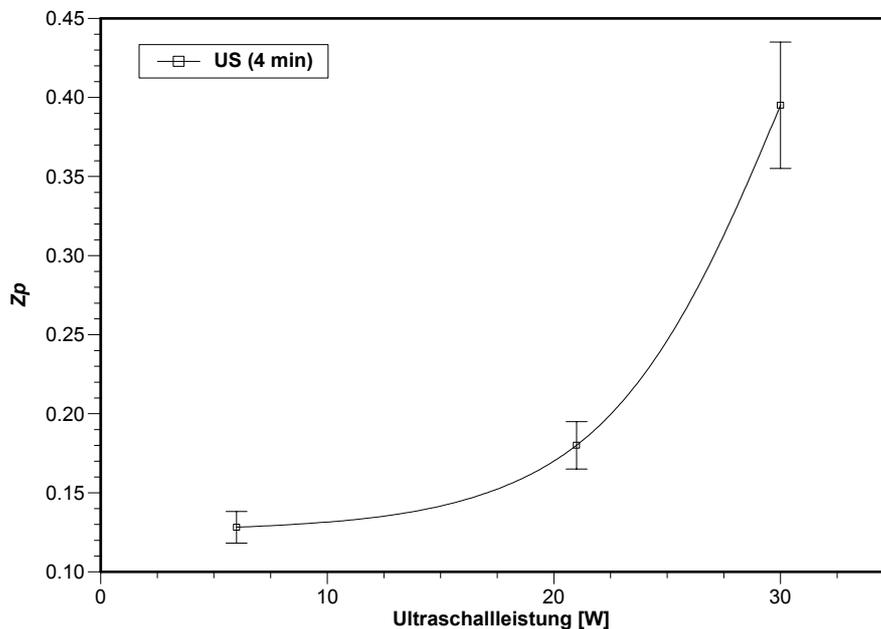
In Abbildung 4.1.4 ist der Einfluss der HP- und ScCO<sub>2</sub>-Behandlungsdrücke auf den Permeabilisierungsgrad der Weinbeeren zu erkennen. Eine Erhöhung des HP-Drucks von 100 auf 400 MPa führt zur geringfügigen Erhöhung des Permeabilisierungsgrades. Weitere Erhöhung des Drucks von 400 auf 500 MPa hatte jedoch eine erkennbare Erhöhung des Permeabilisierungsgrades zur Folge ( $Z_p = 0,25$ ).

Durch den Einsatz von ScCO<sub>2</sub> kann bei deutlich niedrigerem Druck (35 MPa) der gleiche Permeabilisierungsgrad wie bei der HP-Behandlung erzielt werden. Die Erhöhung des Behandlungsdrucks von 10 auf 35 MPa führte zur deutlichen Erhöhung des Permeabilisierungsgrades ( $Z_p = 0,12$  auf  $0,28$ ). Eine weitere Steigerung des Behandlungsdrucks auf 60 MPa (bei 35 °C, 10 min) hatte sogar eine bis zu 40 %ige Permeabilisierung ( $Z_p = 0,41$ ) zur Folge. Dies entspricht einer Permeabilisierung durch HP-Behandlung bei 500 MPa, 50°C und 10 min ( $Z_p = 0,42$ ).

Die in den Zellen komprimierte Gasmenge und die damit verbundene „Crackwirkung“ beim plötzlichen Entspannen hängt von vielen Faktoren, wie von der Beschaffenheit des Pflanzenmaterials und der Art des Gases, von der Kontaktzeit sowie vom Druck und der Temperatur ab. Die bevorzugte Verwendung von CO<sub>2</sub> beim „Cell-Cracking“ (Zellaufschluss) ist auf zweierlei Gründe zurückzuführen. Einerseits ist CO<sub>2</sub> preiswert und unbedenklich, andererseits ist die Löslichkeit von CO<sub>2</sub> in lipophilen Substanzen um eine Größenordnung höher als beispielsweise diejenige von Luft oder Stickstoff. Im wässrigen Medium ergibt sich sogar ein Faktor von 100 [Stahl *et al.* 1987].

#### *Charakterisierung der Zellmembranpermeabilisierung durch Ultraschalleistung*

Der Einfluss von verschiedenen Ultraschalleistungen bei sonst konstanten Bedingungen (4 min, 20 °C) auf die Zellmembranpermeabilisierung ist in Abbildung 4.1.5 dargestellt. Mit steigender Ultraschalleistung stieg der Permeabilisierungsgrad zuerst langsam (bis 21 W), dann aber stark an ( $Z_p = 0,40$ ).



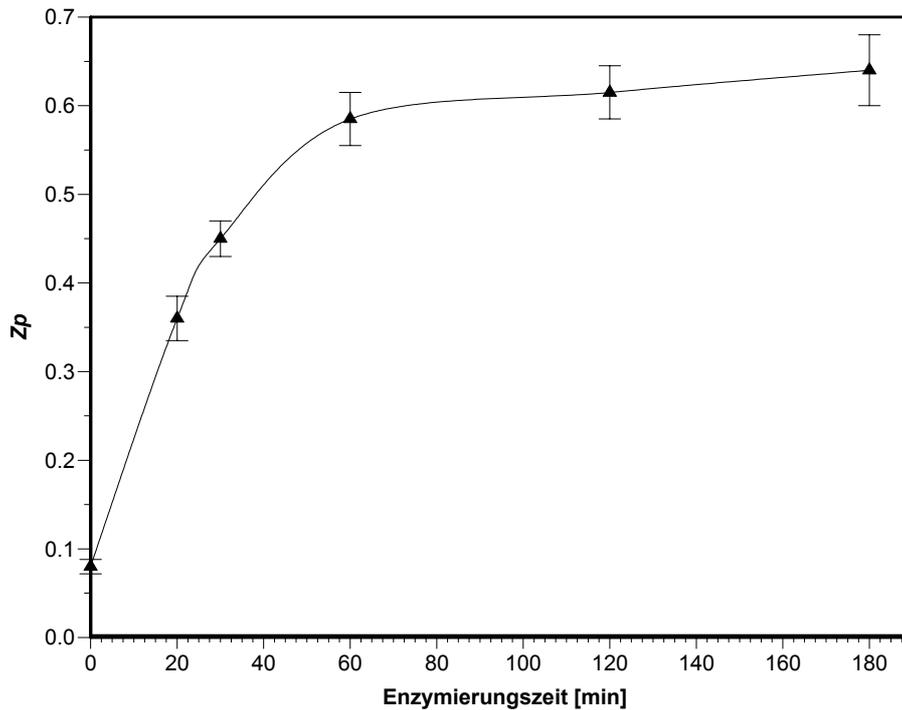
**Abb. 4.1.5:** Einfluss der Ultraschalleistung auf den Permeabilisierungsgrad von Weinbeeren

Die gemeinsame Ursache sowohl der mechanischen als auch der chemischen Wirkung des Ultraschalls liegt in der Kavitation [Chendke und Fogler 1975]. Darunter versteht man die Bildung und Dynamik von Hohlräumen in Flüssigkeiten. Bei der Implosion solcher Kavitationsräume entstehen Schockwellen, die zusammen mit den damit verbundenen Scherkräften mechanische Zerstörungen bewirken [Mason *et al.* 1996].

#### *Charakterisierung der Zellmembranpermeabilisierung durch Enzymierugszeit*

In Abbildung 4.1.6 ist der Einfluss der Enzymierugsdauer auf den Permeabilisierungsgrad dargestellt. Während die ersten 60 min enzymatischer Behandlung (Pectinex 100-L: 0,5 %) zu einem starken Anstieg des Permeabilisierungsgrades von  $Z_p = 0,08$  auf  $Z_p = 0,6$  führten, hatte eine weitere Verlängerung der Behandlungsdauer keine nennenswerte Steigerung der Permeabilisierung zur Folge.

Die Enzymierung der Maische führte zwar zum gleichen Permeabilisierungsgrad wie HP-vorbehandelte, aber sie beanspruchte die dreifache Behandlungsdauer.



**Abb. 4.1.6:** Einfluss der Enzymierungszeit auf den Permeabilisierungsgrad der grob zerkleinerten Weinbeeren

#### *Charakterisierung der Zellmembranpermeabilisierung durch Gefrieren - Auftauen*

Bekanntlich führt das langsame Gefrieren von Früchten zu starker Kristallbildung in Zellzwischenräumen, die zur massiven mechanischen Schädigung der Zelle und demzufolge zu effektiver Zellmembranpermeabilisierung führt [Grout *et al.* 1991]. Gefrieren mit anschließendem Auftauen von Weinbeeren führte zu einer bis zu 83 %igen Permeabilisierung, die weitaus höher ist als die Permeabilisierung durch HELP, HP bzw. ScCO<sub>2</sub>. Es ist jedoch zu erwähnen, dass es durch die enzymatische Aktivität von pflanzeigenen Enzymen während des Auftauvorgangs zu einer starken Geschmacksveränderung von Weinbeeren kam (fader Geschmack).

#### *Die verwendeten Behandlungsparameter für den Saftgewinnungsversuch*

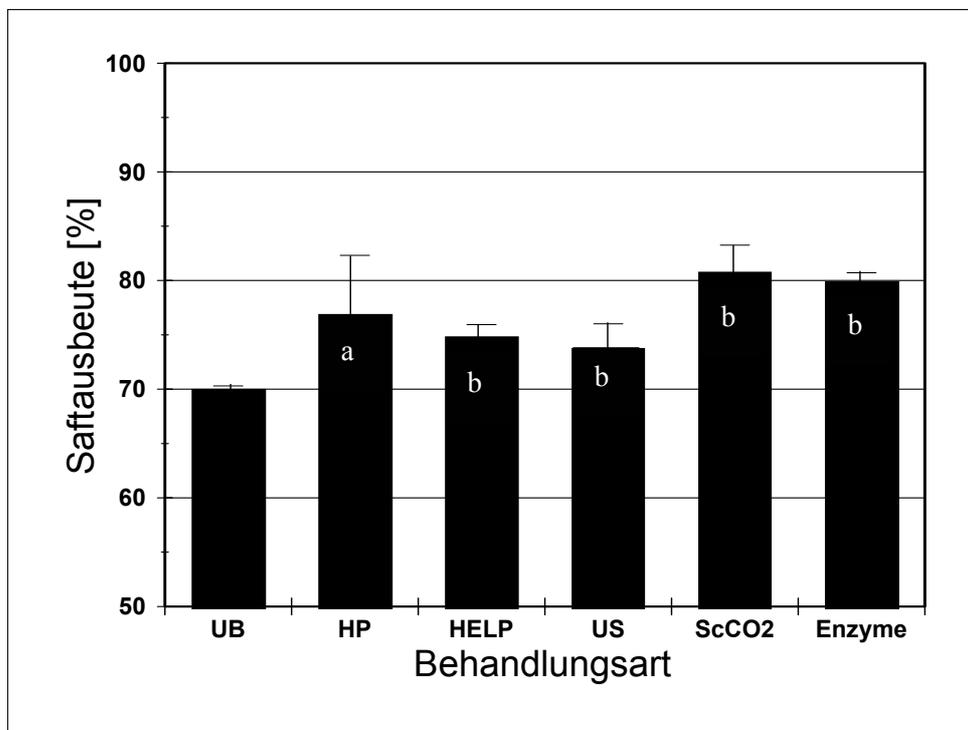
In der Tabelle 4.1.1 sind die verwendeten Behandlungsparameter für die Saftgewinnung dargestellt.

**Tabelle 4.1.1:** Die verwendeten Behandlungsparameter für die Saftgewinnung

Verfahren	Behandlungsparameter	Zp
unbehandelt (Ub)	-	0
Enzyme	0,5 % Pectinex 100-L, 50 °C, 30 min	0,45
HELP	3 kV/cm, 50 Pulse, 1 Hz	0,62
HP	500 MPa, 50 °C, 10 min	0,42
ScCO <sub>2</sub>	60 MPa, 35 °C, 10 min	0,41
US	30 W, 20 °C, 4 min	0,4

## 4.1.2 Einfluss von verschiedenen Vorbehandlungen auf Saftausbeute und -inhaltsstoffe

### 4.1.2.1 Saftausbeute

**Abb. 4.1.7:** Einfluss der Behandlungsmethoden auf die Saftausbeute von Weinbeeren

Wobei: a = kein signifikanter Unterschied zu unbehandelten Proben

b = signifikanter Unterschied zu unbehandelten Proben

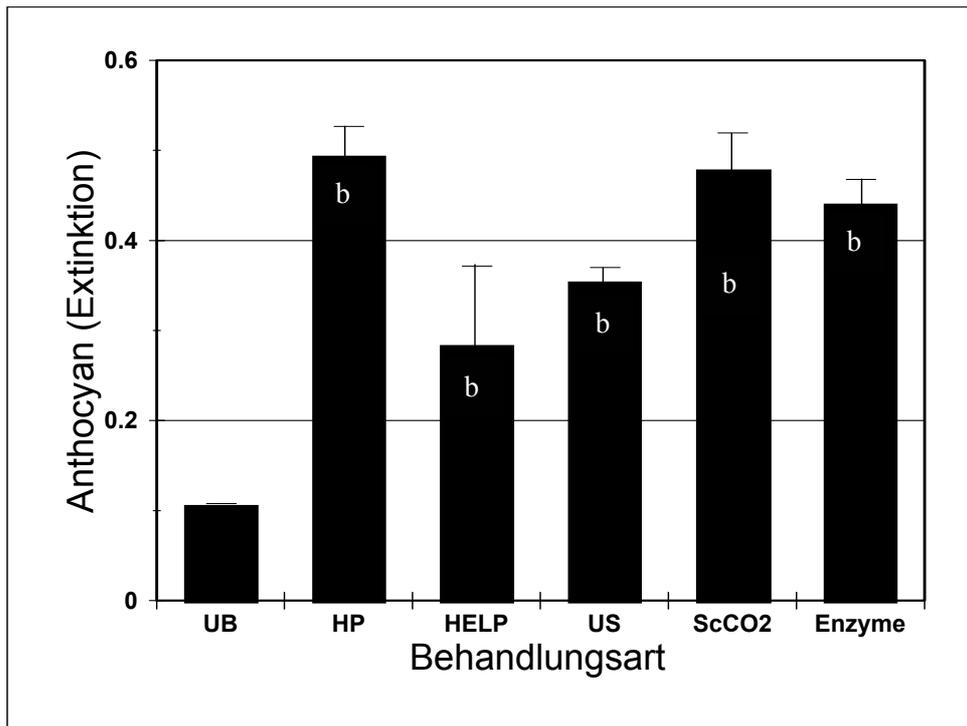
Aus Abbildung 4.1.7 ist eine Erhöhung der Saftausbeute sowohl bei mit HP als auch bei mit HELP, US und ScCO<sub>2</sub> vorbehandelten sowie enzymierten Weinbeeren im Vergleich zu unbehandelten erkennbar. Durch die HELP-Behandlung konnte die Saftausbeute (ca.  $75 \pm 2$  %) im Vergleich zu unbehandelten Proben ( $70 \pm 0,5$  %) signifikant gesteigert werden. Die Ausbeute der HP-vorbehandelten Proben lag sogar geringfügig höher (ca.  $77 \pm 5,5$  %) als bei den HELP- bzw. US- vorbehandelten Proben (ca.  $74 \pm 3$  %). Die höchste Ausbeute konnte durch ScCO<sub>2</sub> erzielt werden ( $81 \pm 3$  %) und war vergleichbar mit der enzymierten Probe ( $80 \pm 1,3$  %). Reduktion der Temperatur bzw. Zeit können bei den nichtthermischen Verfahren (HELP, HP, ScCO<sub>2</sub>, US) bei der Safftherstellung von Vorteil sein. Außerdem wurden die chemische Veränderungen und der Vitaminabbau im fertigen Produkt durch HELP reduziert [Geulen *et al.* 1994].

Die nichtthermische Vorbehandlung verursachte die wesentliche Veränderung des Weinbeerengewebes. Die Zellmembranen der behandelten Zellen wurden permeabilisiert und gestatteten den Saftaustritt. Geulen *et al.* (1994) sowie Bazhal und Vorobiev (2000) haben ebenfalls eine Erhöhung der Saftausbeute von Äpfeln und Möhren durch HELP berichtet. Ähnliche Ergebnisse wurden von Bouzrara und Vorobiev (2000) sowie Eshtiaghi und Knorr (2002, 1999) durch HELP-Vorbehandlung auf Zuckerrüben beobachtet.

#### 4.1.2.2 Saftinhaltsstoffe

##### *Anthocyane*

Die Messung des Anthocyangehaltes in Traubensaft zeigte einen ausgeprägten Einfluss der Vorbehandlungen auf den Anthocyangehalt. Die nichtthermisch-vorbehandelten Proben wiesen höheren Anthocyangehalt als die unbehandelten auf. Durch die Vorbehandlung fand eine Diffusion der Farbe von Schale in innerem Bereich statt. Die enzymatisch-vorbehandelten Weinbeeren zeigten einen deutlich geringeren Anthocyangehalt im Saft als die HP- und ScCO<sub>2</sub>-vorbehandelten (Abb. 4.1.8).



**Abb. 4.1.8:** Anthocyan Gehalt von Traubensaft

Anthocyane sind die wasserlöslichen Farbstoffe der roten Trauben. Im allgemeinen sind sie keine stabilen Farbstoffe und verlieren bei der Be- und Verarbeitung sowie der Lagerung leicht ihre Farbe. Die Temperatur spielt dabei die größte Rolle, außerdem beeinflussen der pH-Wert, der Sauerstoff und die Interaktionen mit anderen Inhaltsstoffe (z.B. Komplexbildung mit Metallen) den Abbau von Anthocyane [Ternes 1990, Priestley 1979].

Beim Druckaufbau diffundiert das CO<sub>2</sub>-Gas in die Gewebe. Bei der Druckentlastung kam es zur starken Ausdehnung von CO<sub>2</sub>-Gas in der Zelle, dies führte zur mechanischen Zerstörung der Zellen (Cell-cracking). Dadurch können die Zellinhaltsstoffe (u.a. Anthocyan) ungehindert aus der Zelle austreten. Zusätzlich könnte ein besserer Anthocyanerhalt aufgrund des Sauerstoffauschlusses während der ScCO<sub>2</sub>-Behandlung erzielt werden.

Die Zellmembranen werden aufgrund der Proteindenaturierung permeabilisiert. Dies führte zur besseren Extraktion der Inhaltsstoffe (u.a. Anthocyan) aus der Zelle. Aus der Literatur ist bekannt, dass die in dem pflanzlichen Gewebe enthaltenen Enzyme zum oxidativen Abbau von Anthocyan führten. Diese Enzyme sind Glukosidase (Glc) und Polyphenoloxidase (PPO). Glukosidase hydrolysiert die glykosidische(n) Bindung(en) von Anthocyan zu Zucker und Aglycone, die weiter in farblose Derivate umgewandelt werden. PPO reagiert mit Anthocyan

in der Anwesenheit von *o*-Diphenol durch einen gekoppelten Oxidationsmechanismus [Hendry und Houghton 1992]. Zusätzlich zu Glc und PPO haben Grommeck und Markakis (1964) berichtet, dass Peroxidase (POD) den Anthocyanabbau katalysiert. Bekanntlich wird die Enzymaktivität durch eine HP-Behandlung beeinflusst [Seyderhelm *et al.* 1996]. Vermutlich werden die Anthocyan-abbauenden Enzyme während der HP-Behandlung zum Teil und vollständig inaktiviert. Rastogi *et al.* (1999) haben festgestellt, dass sowohl PPO und POD von Weinbeeren durch HP-Behandlung zum Teil inaktiviert werden.

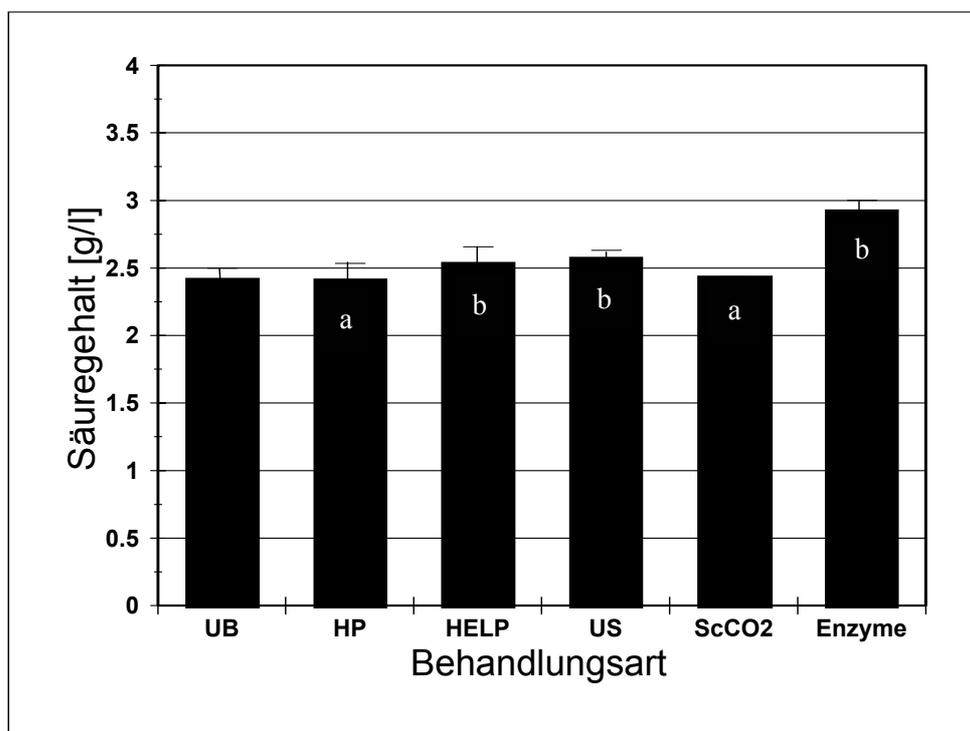
Isaacs *et al.* (1995) haben die Veränderung von Anthocyaninen unter Hochdruck untersucht. Die ersten Befunde deuten an, dass diese Komponenten unter Hochdruck abgebaut werden, wahrscheinlich in Aglycone, jedoch ist dieser Verlust von Farbe während der für die Sterilisation von Lebensmitteln durch HP notwendigen Behandlungsdauer äußerst gering. Bruna *et al.* (1998) haben berichtet, dass der Anthocyangehalt in Erdbeeren nach einer HP-Behandlung bei 700 MPa, 20 °C und 40 min keine signifikante Änderung zeigte.

HELP-Behandlung von Weinbeeren führte zur Permeabilisierung und zur Aufhebung der Kompartimentierung der Zellen. Das führt dazu, dass die Zellinhaltsstoffe (u.a. Anthocyan) mit Anthocyan-abbauenden Enzymen in Kontakt kommen. Vermutlich sind die durch HELP erzeugten Poren nicht groß genug, um die relativ großen Moleküle, wie Anthocyan, ungehindert durch die Membran aus der Zelle diffundieren zu lassen.

Durch Enzymierung werden die Zellwände durch zugesetzte pektolytische Enzyme abgebaut. Dies führte zur Erhöhung der Saftausbeute (s. Abb. 4.1.7). Das Anthocyan könnte durch die pflanzeigenen Enzyme (insbesondere Glc, PPO, POD) und/oder hohe Temperaturen (50 °C) sowie Anwesenheit von Sauerstoff zum Teil abgebaut werden.

### *Säuregehalt*

In Abbildung 4.1.9 ist der Einfluss von nichtthermischen Verfahren (HELP, HP, US, ScCO<sub>2</sub>) auf die Extrahierbarkeit von den organischen Säuren im Vergleich zu unbehandelten bzw. enzymatisch-vorbehandelten Proben dargestellt. Es ist zu erkennen, dass die Vorbehandlungen keine signifikante Steigerung des Säuregehalts zur Folge haben. Der höhere Säuregehalt in den enzymierten Säften ist auf den Abbau von Pektinstoffen zu Galakturonsäure zurückzuführen [Cliff *et al.* 1991].



**Abb. 4.1.9:** Einfluss der Behandlungsmethode auf den Säuregehalt (berechnet als Weinsäure) von Traubensaft

### *Saftqualität*

Der Brix-Wert und die relative Dichte der vorbehandelten Säfte waren vernachlässigbar geringer als die der unbehandelten. In Tabelle 4.1.2 ist auch der Einfluss von verschiedenen Vorbehandlungen auf den Glukose- und Fruktosegehalt (berechnet als g/100g eingesetzte Rohware) wiedergegeben. Die vorbehandelten Proben zeigten ähnlichen bzw. geringfügig höheren Glukose- und Fruktosegehalt im Saft als die unbehandelten. Wenn man die Summe der extrahierten Glukose und Fruktose berechnet, ist deutlich zu sehen, dass die Vorbehandlungen höhere Zuckerwerte im Saft zur Folge haben.

Erwartungsgemäß lag der pH-Wert enzymatisch vorbehandelter Traubensäfte tiefer als der anderer Säfte. Durch die pektolytische Enzyme wurden die Pektinstoffe in ihre Bausteine (Galakturonsäure) abgebaut. Der pH-Wert von unbehandelten und nichtthermisch-vorbehandelten Proben war ähnlich. Ade-Omawaye *et al.* (2001c) haben die gleiche Beobachtung im Fall roter Paprika gemacht. Sie vermuteten, dass die HELP-Behandlung nicht

zur Freisetzung der Säure im Saft führte bzw. der Effekt nicht mit Hydrolyse der Polysaccharide begleitet wurde.

**Tabelle 4.1.2:** Einfluss der verschiedenen Vorbehandlungen auf die Saftqualität

Methode	pH	[°Bx]	Relative Dichte [g/ml]	Leitfähigkeit [mS/cm]	Glukose [g/100 g]	Fruktose [g/100 g]	Pektin [g/100 g]
	MW ± X	MW ± X	MW ± X	MW ± X	MW ± X	MW ± X	MW ± X
<b>Ub</b>	4,00±0,04	13,4±0,28	1,056±0,008	3,29±0,04	4,48±0,01	4,45±0,02	0,58±0,007
<b>HP</b>	3,93±0,05 <sup>a</sup>	13,0±0,56 <sup>a</sup>	1,055±0,002 <sup>a</sup>	3,54±0,40 <sup>a</sup>	4,85±0,40 <sup>a</sup>	4,87±0,42 <sup>a</sup>	0,470±0,011 <sup>b</sup>
<b>HELP</b>	3,97±0,06 <sup>a</sup>	12,3±0,38 <sup>b</sup>	1,053±0,002 <sup>b</sup>	3,87±0,07 <sup>b</sup>	4,33±0,12 <sup>b</sup>	4,43±0,11 <sup>a</sup>	0,500±0,005 <sup>b</sup>
<b>US</b>	4,01±0,03 <sup>a</sup>	12,7±0,38 <sup>b</sup>	1,053±0,001 <sup>b</sup>	3,63±0,10 <sup>b</sup>	4,41±0,35 <sup>b</sup>	4,58±0,37 <sup>a</sup>	0,494±0,067 <sup>b</sup>
<b>ScCO<sub>2</sub></b>	3,97±0,06 <sup>a</sup>	13,2±0,42 <sup>a</sup>	1,056±0,004 <sup>a</sup>	3,66±0,31 <sup>a</sup>	4,86±0,10 <sup>b</sup>	4,95±0,08 <sup>b</sup>	0,484±0,010 <sup>b</sup>
<b>Enzym</b>	3,87±0,05 <sup>a</sup>	12,4±0,44 <sup>b</sup>	1,052±0,002 <sup>b</sup>	4,73±0,14 <sup>b</sup>	4,57±0,31 <sup>b</sup>	4,70±0,28 <sup>a</sup>	0,490±0,006 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> = kein signifikanter Unterschied zu unbehandelten Probe

<sup>b</sup> = signifikanter Unterschied zu unbehandelten Probe ( $P < 0,05$ )

Die höchste Leitfähigkeit wurde bei den enzymatisch-vorbehandelten Proben beobachtet (Tabelle 4.1.2). Die Vorbehandlung mit verschiedenen nichtthermischen Verfahren führte ebenfalls zu einer höheren Leitfähigkeit des Saftes im Vergleich zu unbehandeltem Saft. Die HELP-Behandlung bewirkte eine höhere Leitfähigkeit im Saft als in mit anderen nichtthermischen Verfahren gewonnenen Säften.

Die unbehandelte Probe hatte den höchsten Pektingehalt. Den geringsten Pektingehalt wies der mit HP-hergestellte Saft auf (Tab. 4.1.2). Vermutlich ermöglicht die durch Druck hervorgerufene Zellmembranpermeabilisierung eine Diffusion von zweiwertigen Ionen, insbesondere Ca<sup>++</sup>-Ionen in die Zellwandregionen. Durch Pektinesteraseaktivität wird hochverestertes Pektin in niederverestertes umgewandelt. Ca<sup>++</sup>-Ionen reagieren mit niederverestertem Pektin, was zur Abnahme des wasserlöslichen Pektins führt [Yamamoto *et al.* 1993]. Die wasserlöslichen Pektine werden während der HP-Behandlung durch Chelatbildung mit Ca<sup>++</sup>-Ionen in unlösliche Pektine umgewandelt und bleiben im Trester zurück.

**Tabelle 4.1.3:** Einfluss der verschiedenen Vorbehandlungen auf die Farbe von Traubensaft

<b>Methode</b>	<b>L-Wert</b>	<b>a-Wert</b>	<b>b-Wert</b>	<b>a/b-Wert</b>	<b>C-Wert</b>
<b>Ub</b>	30.00	9.66	10.93	0.88	14.59
<b>HP</b>	26.59	12.05	5.52	2.18	13.25
<b>HELP</b>	28.03	11.19	5.85	1.91	12.63
<b>US</b>	26.46	9.97	4.01	2.49	10.75
<b>ScCO<sub>2</sub></b>	23.17	14.97	3.03	4.94	15.27
<b>Enzym</b>	24.67	16.21	6.27	2.59	17.38

Während der Saft aus unbehandelten Weinbeeren sehr hell (hoher *L*-Wert) und wenig rot (geringer *a*-Wert) war, zeigten die nichtenzymatisch-vorbehandelten Säfte eine deutlich intensivere Farbe (kleinerer *L*- und höherer *a*-Wert). Die *a*-Werte der HP-, ScCO<sub>2</sub>- und enzymatisch-vorbehandelter Säften sind hoch, was den hohen Anthocyangehalt der Probe bestätigt. Die *a/b*-Werte lagen bei nicht-enzymatisch-vorbehandelten Säften ebenfalls höher als bei unbehandelten.

### 4.1.3 Schlussfolgerungen

Um den Vergleich zwischen den verschiedenen nichtthermischen Verfahren zu vereinfachen wurde in der Tabelle 4.1.4 der Einfluss der verschiedenen Vorbehandlungen auf die Saftausbeute und –inhaltsstoffe symbolisch dargestellt. Die verschiedenen nichtthermischen Verfahren erwiesen sich als geeignete Methode zur Erhöhung der Saftausbeute und zur Verbesserung der Saftqualität.

Die Behandlung der Weinbeeren mit HP und ScCO<sub>2</sub> zerstörte die Semipermeabilität der Zellen auf das zweifache der thermisch-vorbehandelten. Der Permeabilisierungsgrad hing von den Behandlungsparametern (Feldstärke, Pulszahl bei HELP, Druck, Temperatur, Zeit bei HP und ScCO<sub>2</sub> sowie Leistung und Zeit bei US) ab. Der Permeabilisierungsgrad erhöhte sich mit steigender Behandlungsparameter.

**Tabelle 4.1.4:** Vergleich der Ergebnisse von verschiedenen Vorbehandlungen auf den Traubensaft

	unbehandelt	HELP	HP	US	ScCO <sub>2</sub>	Enzym
<b>pH-Wert</b>	<b>O</b>	-	--	<b>O</b>	<b>O</b>	---
<b>Dichte und Brix</b>	<b>O</b>	-	-	-	<b>O</b>	--
<b>Leitfähigkeit</b>	<b>O</b>	++	+	+	+	+++
<b>Glukose/Fruktose</b>	<b>O</b>	<b>O</b>	+++	<b>O</b>	+++	++
<b>Weinsäure</b>	<b>O</b>	+	<b>O</b>	+	+	++
<b>Anthocyan</b>	<b>O</b>	+	+++	++	+++	++
<b>Farbe</b>	<b>O</b>	++	++	++	+++	+++
<b>Pektin</b>	<b>O</b>	--	---	--	--(-)	--
<b>Saftausbeute</b>	<b>O</b>	+	++	+	++	++

Wobei: Die Säfte aus unbehandelten Proben als Basis (0) genommen wurden.

+: Erhöhung

- : Reduzierung

Durch Vorbehandlung mit nichtthermischen Verfahren konnten die Saftausbeute und -qualität im Vergleich zu unbehandelten Proben erhöht werden, sowie vergleichbar mit den enzymatisch-vorbehandelten. Resultierende Reduktion der Prozesstemperatur und -zeit sowie die Produktreinheit („frei von Zusätzen“) der nichtthermischen-vorbehandelten Säften (HELP, HP, ScCO<sub>2</sub>, US) sind von Vorteil.

Die Vorbehandlung mit verschiedenen nichtthermischen Verfahren führte zusätzlich zur Erhöhung der Saftausbeute, zu einer höheren Leitfähigkeit des Saftes im Vergleich zu unbehandeltem. Die Saftausbeute von ScCO<sub>2</sub>-vorbehandelter Probe war höher als die von enzymatisch-vorbehandelte. Der Anthocyan Gehalt in der ScCO<sub>2</sub>- und HP-vorbehandelten Proben war am höchsten, gefolgt von enzymatisch-, US- und HELP-vorbehandelten. Die Pektinkonzentration bei nichtthermisch-vorbehandelten Proben war deutlich geringer als bei unbehandelten und fast vergleichbar mit enzymatisch-gewonnenen Säften.

Der Brix-Wert und die relative Dichte von nichtthermisch-hergestellten Säften waren zwar geringfügig kleiner als von unbehandelten, aber vergleichbar bzw. leicht höher als die von

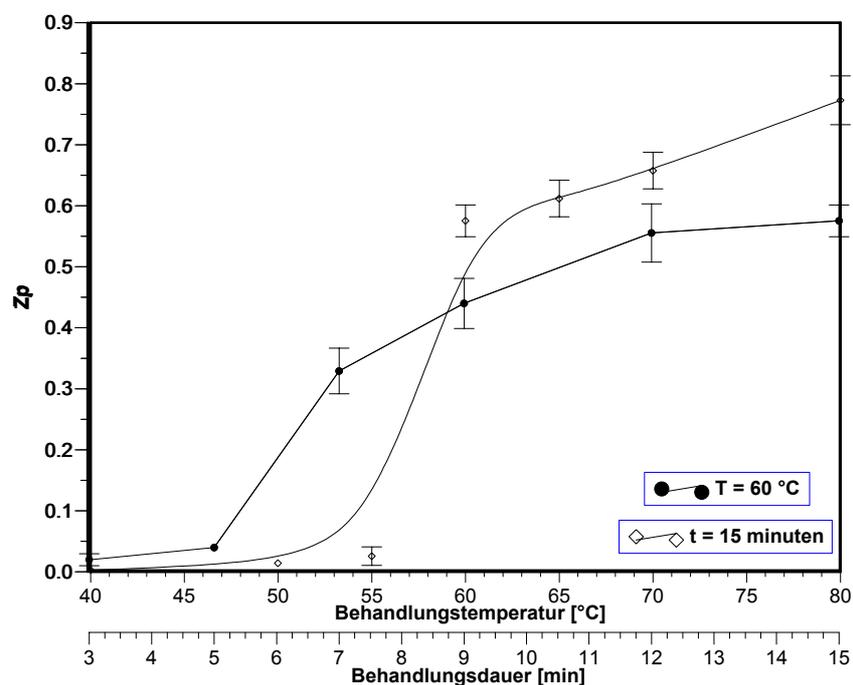
enzymiertem Saft. Ebenfalls war der Säuregehalt bei nichtthermisch vorbehandelten Säften vergleichbar (HP-Behandlung) bzw. signifikant höher als bei unbehandelten. Der höhere Säuregehalt in enzymierten Säften ist auf die pektolytischen Abbau von Pektinstoffen in Galakturonsäure während des Enzymierungsprozesses zurückzuführen. Die Farbe (*a*-Wert) der nichtthermisch-vorbehandelten Traubensäfte war deutlich intensiver als die der unbehandelten. Dies wurde durch den hohen Anthocyangehalt im Saft der vorbehandelten Proben bestätigt, was in Hinsicht auf die Nutzung von Fruchtsäften als funktionelles Lebensmittel von Interesse erscheint.

---

## 4.2 Zellmembranpermeabilisierung und Inhaltsstoffgewinnung von Rote Beete

### 4.2.1 Zellmembranpermeabilisierung

*Charakterisierung der Zellmembranpermeabilisierung durch Hitzebehandlung*



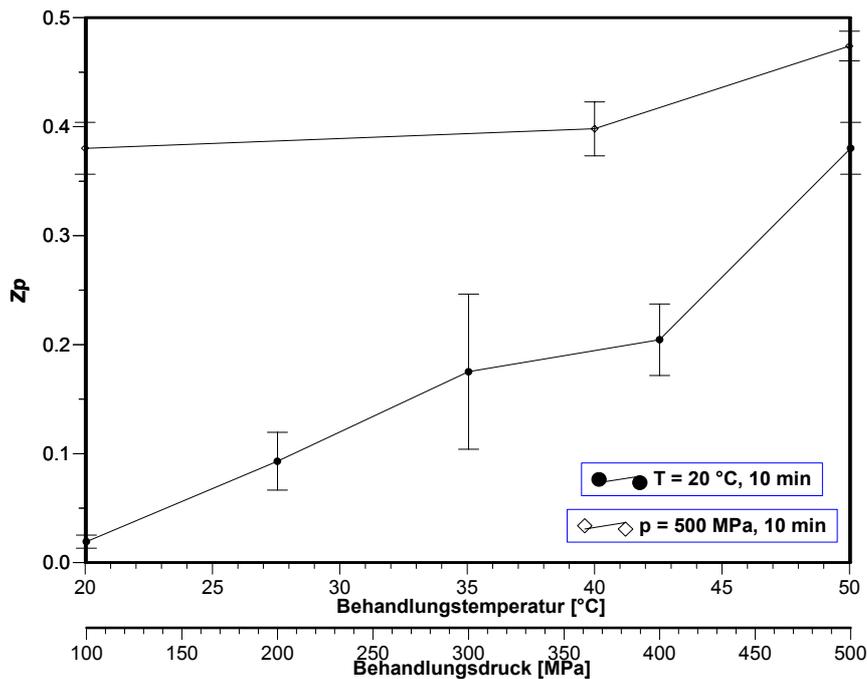
**Abb. 4.2.1:** Einfluss der thermischen Behandlung auf den Permeabilisierungsgrad der Rote Beete

Abbildung 4.2.1 zeigt die thermische Denaturierung von Rote Beete. Temperaturen unterhalb 55 °C bewirken keine thermische Denaturierung der Zellen. Erst ab Temperaturen über 55 °C trat Permeabilisierung auf. Sie erhöht sich mit steigender Temperatur zuerst rasch (55–65 °C), dann langsamer (65–80 °C). Nach 15-minütiger-thermischer Behandlung bei 80 °C wird eine bis zu 80 %ige Zellmembranpermeabilisierung ( $Z_p = 0,8$ ) erreicht.

Ebenfalls konnte mit steigender Behandlungsdauer eine stetige Steigerung des Permeabilisierungsgrades bei 60 °C beobachtet werden. Es wurde eine bis zu 60 %ige

Permeabilisierung nach 15 min thermischer Behandlung erzielt. Die Behandlungen bei 60 °C und 5 min und darunter bewirkten dagegen fast keine Permeabilisierung.

#### *Charakterisierung der Zellmembranpermeabilisierung durch hydrastatischen Hochdruck*



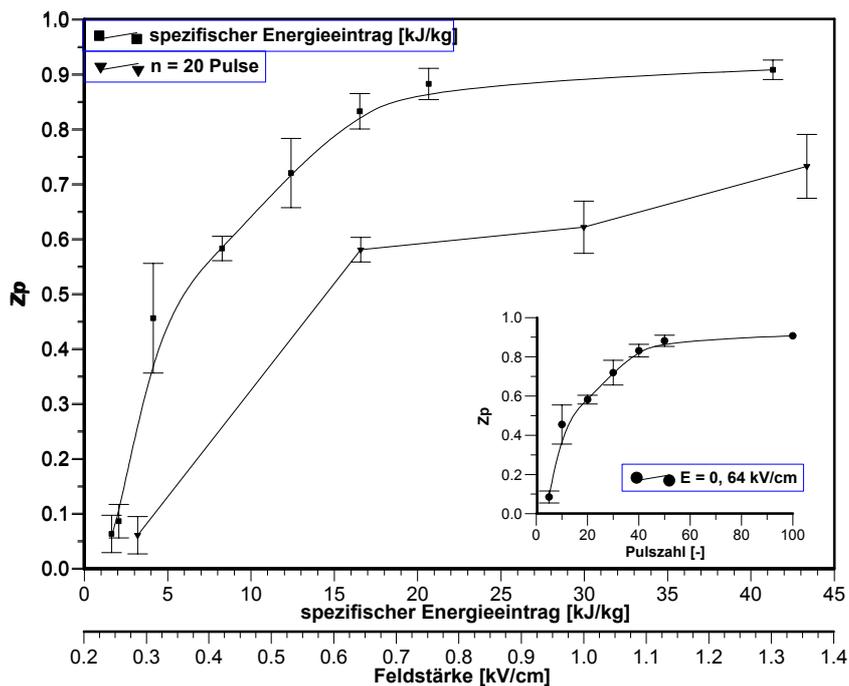
**Abb. 4.2.2:** Einfluss von HP-Behandlung auf den Permeabilisierungsgrad der Rote Beete

In Abbildung 4.2.2 ist der Einfluss der Behandlungstemperatur (20–50 °C) bei konstantem Druck und Dauer (500 MPa, 10 min) auf die druckinduzierte Permeabilisierung dargestellt. Die Temperaturerhöhung von 40 auf 50 °C führte zu einem erkennbaren Anstieg des Permeabilisierungsgrades ( $Z_p = 0,47$ ).

HP-Behandlung von Rote Beete bei Raumtemperatur (20 °C) führte je nach eingesetzter Druckhöhe zu einer sehr geringfügig ( $Z_p < 0,05$  bei 100 MPa) bzw. deutlich erkennbaren ( $Z_p = 0,4$  bei 500 MPa) Zellmembranpermeabilisierung innerhalb von 10 min Druckbehandlung. Es ist zu erkennen, dass dieser Effekt ein Hochdruckeffekt und kein Temperatureffekt ist (siehe Abb. 4.2.1).

*Charakterisierung der Zellmembranpermeabilisierung durch Hochspannungsimpulse*

Eine Pulszahl von 5 bis 40 Pulsen bei einer Feldstärke von 0,64 kV/cm führte zu einem starken Anstieg des Permeabilisierungsgrades. Eine weitere Erhöhung der Pulszahl auf 100 Pulse führte ebenfalls zum weiteren, jedoch langsameren Anstieg des Permeabilisierungsgrades (Abb. 4.2.3). Der Permeabilisierungsgrad der HELP-vorbehandelten Rote Beete war von der angewandten Feldstärke abhängig. Er erhöhte sich mit der steigenden Feldstärke bis auf 0,64 kV/cm bei konstanter Pulszahl. Der Permeabilisierungsgrad bei  $E = 1,36$  kV/cm, Pulszahl = 20, Pulsfrequenz = 1 Hz ( $Z_p = 0,73$ ) lag sogar höher als der der thermisch- (65 °C, 15 min,  $Z_p = 0,61$ ) bzw. HP- (500 MPa, 50 °C, 10 min,  $Z_p = 0,47$ ) vorbehandelten. Dazu kommt, dass die HELP-Behandlung in wesentlich kürzerer Zeit (20 s) erfolgte und deshalb ein sehr zeitsparendes Verfahren ist. Ebenfalls nimmt der Permeabilisierungsgrad mit der Erhöhung des spezifischen Energieeintrages zu.



**Abb. 4.2.3:** Einfluss der HELP-Behandlung auf den Permeabilisierungsgrad der Rote Beete  
Energieeintrag ist als gesamter Energieeintrag (Energieeintrag pro Pulszahl  $\times$  Anzahl der Pulse) pro kg Produkt dargestellt.

*Charakterisierung der Zellmembranpermeabilisierung durch Gefrieren - Auftauen*

Aufgrund der in den interzellulären Räumen wachsenden Eiskristalle werden die Zellmembranen beim Tiefgefrieren von pflanzlichen Zellen zerstört. Demzufolge verlieren sie

ihre Semipermeabilität [Grout *et al.* 1991]. Angersbach *et al.* (1997) haben eine nahezu vollständige Zellmembranpermeabilisierung ( $Z_p \approx 1,0$ ) durch langsamem Gefrieren von Kartoffeln bei  $-10\text{ °C}$  nach dem Auftauen festgestellt. Gefrieren mit anschließendem Auftauen von Rote Beete führte zu einer bis zu 90 %igen Permeabilisierung.

#### *Die verwendeten Behandlungsparameter für den Stoffübergangsversuch*

In Tabelle 4.2.1 sind die verwendeten Behandlungsparameter für den Stoffübergang dargestellt.

**Tabelle 4.2.1:** Die verwendeten Behandlungsparameter für den Stoffübergang

<b>Verfahren</b>	<b>Behandlungsparameter</b>	<b><math>Z_p</math></b>
<b>unbehandelt (Ub)</b>	-	<b>0</b>
<b>HELP</b>	0,64 kV/cm, 1 Hz, 10 Pulse	0,46
	<b>0,64 kV/cm, 1 Hz, 20 Pulse</b>	<b>0,58</b>
	0,64 kV/cm, 1 Hz, 40 Pulse	0,83
<b>HP</b>	500 MPa, 20 °C, 10 min	0,38
	500 MPa, 40 °C, 10 min	0,40
	<b>500 MPa, 50 °C, 10 min</b>	<b>0,47</b>
<b>Thermisch</b>	<b>60 °C, 7 min</b>	<b>0,33</b>
	<b>65 °C, 15 min</b>	<b>0,61</b>
	80 °C, 15 min	0,77
<b>Gefroren</b>	<b>Gefroren, aufgetaut</b>	<b>0,9</b>

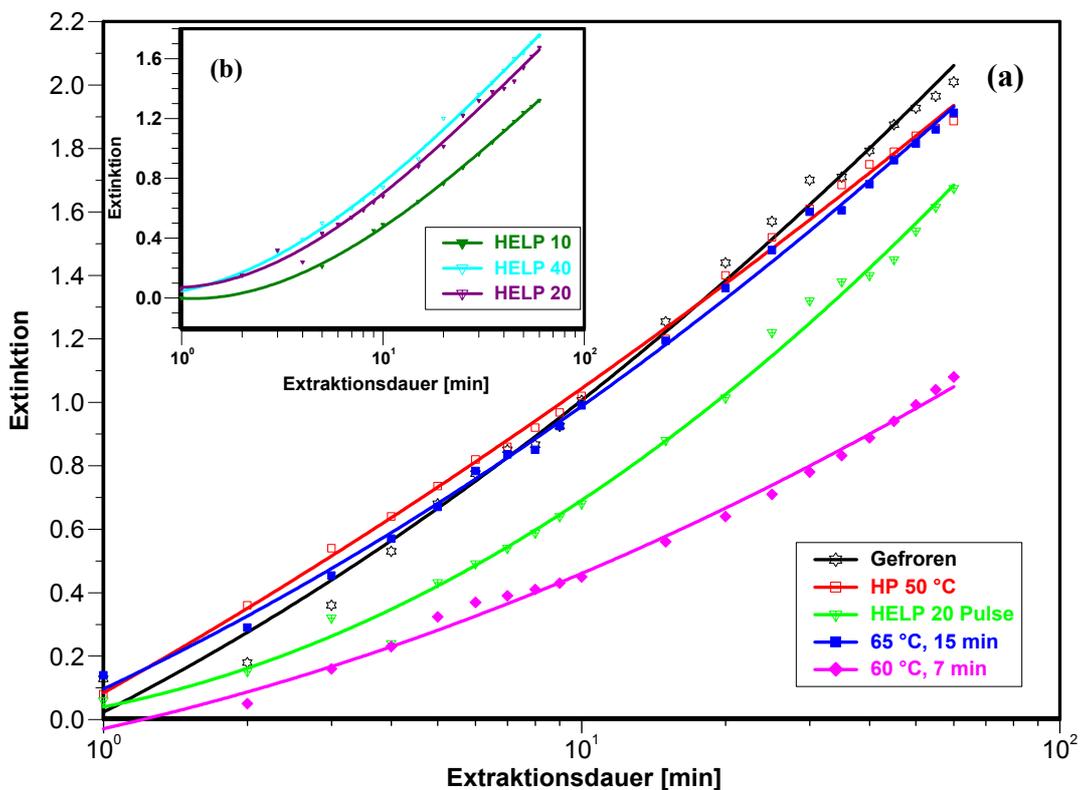
## **4.2.2 Einfluss von verschiedenen Vorbehandlungen auf den Stoffübergang**

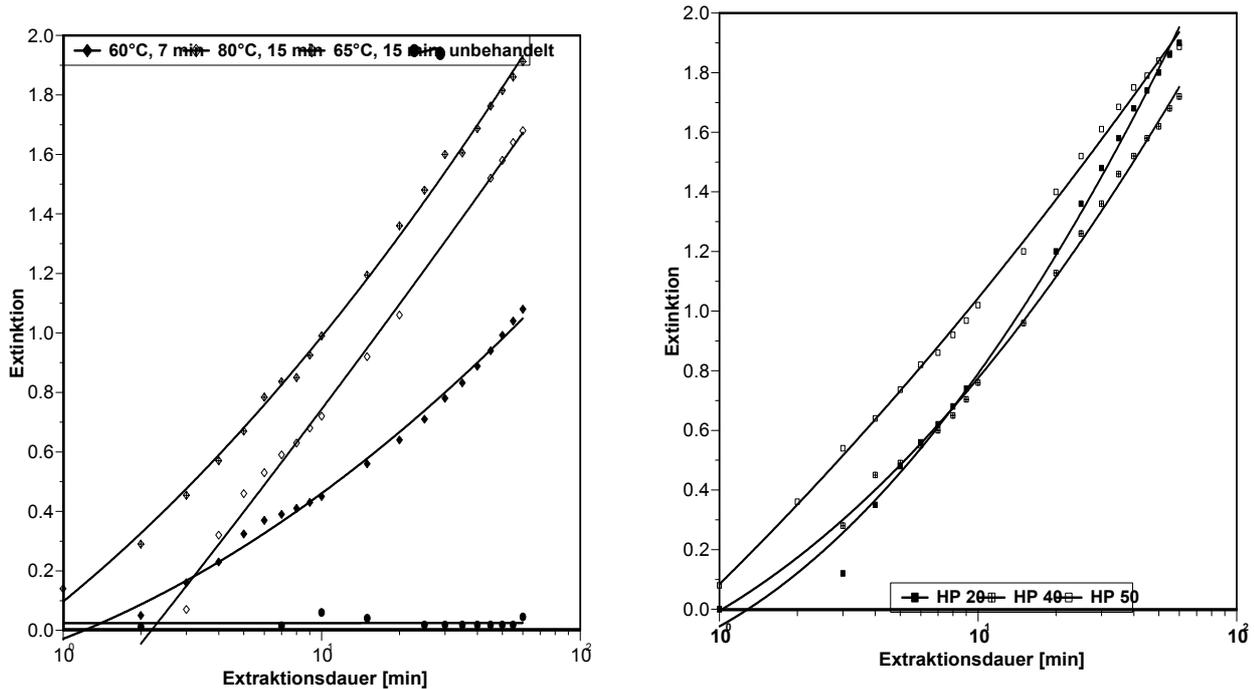
### **4.2.2.1 Farbstoffaustritt**

Die unbehandelten Proben zeigten fast keinen Farbstoffaustritt während des 60 minütigen Stoffübergangsversuchs bei  $20\text{ °C}$  (Abb. 4.2.4b). Aufgrund der semipermeablen Eigenschaft von Plasmamembran in intakten Zellen konnte kein Stoff aus der Zelle austreten. Der Stoffübergang kann nur durch aktiven Stofftransport stattfinden (s. Einleitung). Durch eine thermische Behandlung ( $T \geq 60\text{ °C}$ ) wird die Zellmembran permeabilisiert und der passive

Stofftransport kann stattfinden. Nach der thermischen Denaturierung verliert das Gewebe seine Festigkeit [Feng *et al.* 1989] und der Zellsaft kann ausgepresst werden [Buttersack 1994], da der über die Membranen auf die Zellwand ausgeübte osmotische Druck fehlt.

Während der Farbstoffaustritt von hitzevorbehandelten Proben bei 80 °C, 15 min und 60 °C, 7 min vergleichbar war, wurde bei mit 65 °C, 15 min behandelten Proben ein deutlich höherer Farbaustritt beobachtet (Abb. 4.2.4b). Der geringe Stofftransport bei der 80 °C, 15 min behandelten Probe im Vergleich zu 65 °C, 15 min Probe ist wahrscheinlich auf die Veränderung der Zellwand und/oder die thermische Zersetzung des Betanin zurückzuführen. Die Mittellamelle der Zellwand besteht vorwiegend aus Pektine. Sie quellen bei hohen Temperaturen auf und agieren als eine Barriere für den Stoffaustritt aus der thermisch permeabilisierten Probe [Buttersack und Schliephake 1999].





**Abb. 4.2.4:** Einfluss der verschiedenen Vorbehandlungen auf den Farbstoffaustritt, ausgedrückt als Extinktion des Extraktionsmediums ( $\lambda = 530 \text{ nm}$ )

(a) Vergleich verschiedener Vorbehandlungsmethoden;

(b) HELP: 0,64 kV/cm, 10, 20 oder 40 Pulse (HELP 10, 20 oder 40);

(c) Unbehandelt und thermisch: 60 °C, 7 min; 65 °C, 15 min und 80 °C, 15 min;

(d) HP: 500 MPa, 10 min, 20 °C, 40 °C oder 50 °C (HP 20, 40, 50)

Durch die Anwendung von HELP konnte der Farbstoffaustritt der Rote Beete deutlich erhöht werden. Eshtiaghi und Knorr (2002a, b) haben festgestellt, dass durch HELP-Vorbehandlung der Zuckerrüben sowohl die Abpressbarkeit als auch die Extraktion von Zuckerrübenschnitzeln im Vergleich zu unbehandelten Proben deutlich erhöht wird.

Ein Vergleich zwischen HP-, HELP- sowie hitzevorbehandelten (65 °C, 15 min) und gefroren-aufgetauten Proben zeigte, dass HP und HELP gut geeignet für die nichtthermische Zellmembranpermeabilisierung und Erhöhung des Stoffübergangs von Rote Beete sind (Abb. 4.2.4a).

Trotz des geringeren Permeabilisierungsgrades wies die HP-vorbehandelte Probe ( $Z_p = 0,47$ ) im Vergleich zu die HELP-vorbehandelte ( $Z_p = 0,58$ ) höheren Farbstoffaustritt bei sonst konstanter Stoffübergangsdauer auf. Diese Ergebnisse unterstützen die Ergebnisse von Abschnitt 4.1. Obwohl die HP-vorbehandelten Weinbeeren einen niedrigeren

Permeabilisierungsgrad als die HELP-vorbehandelten aufwiesen, hatten sie höhere Saftausbeute bzw. Saftinhaltsstoffe. Wahrscheinlich liegt es an den unterschiedlichen Permeabilisierungsmechanismen, die zur unterschiedlichen strukturellen und chemischen Veränderung der Probe führten.

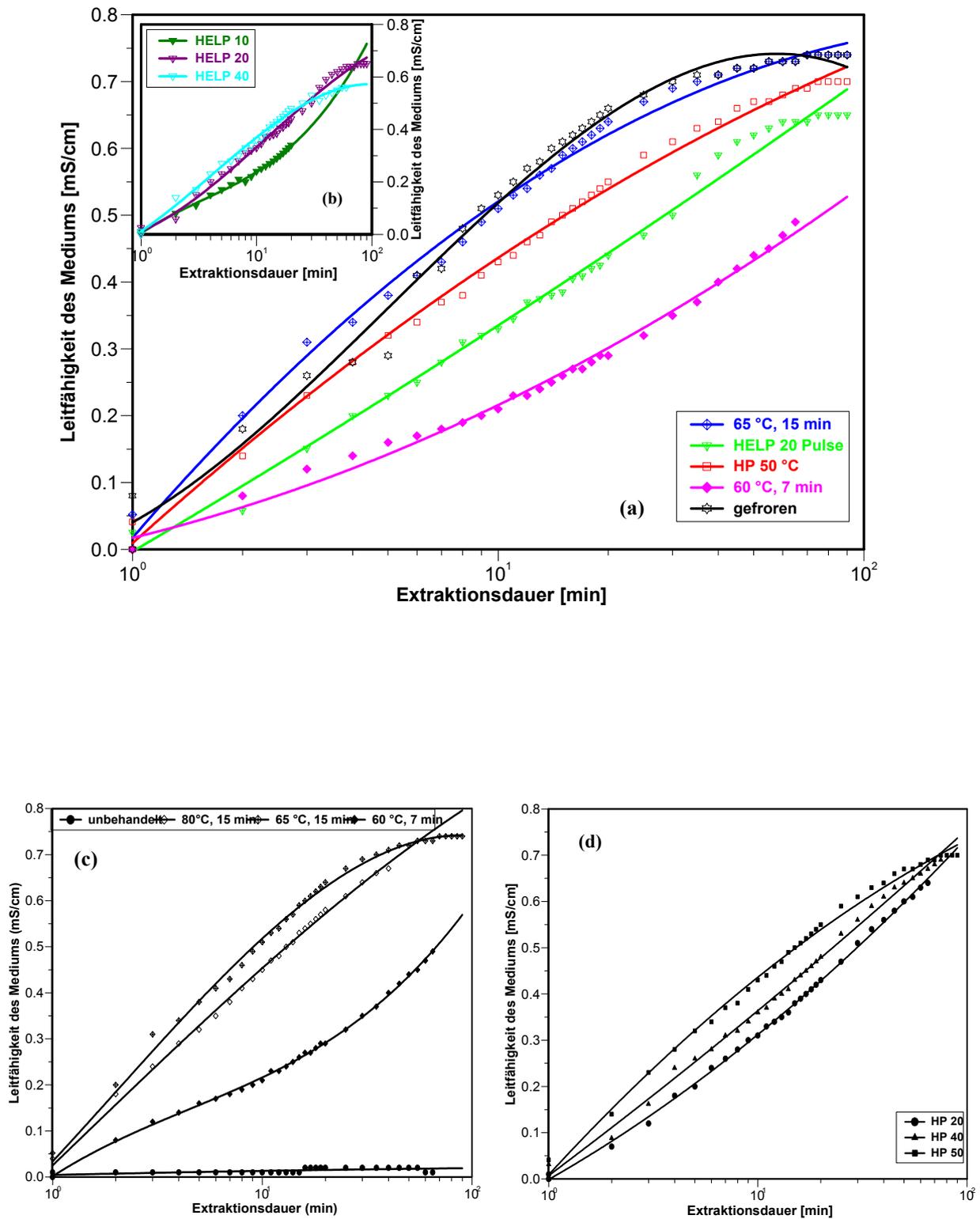
Grahl (1994) hat berichtet, dass es als Folge der Elektrobepulsung tatsächlich zu einer Poration der Zellhülle kommt. Die sich ausbildenden Poren haben jedoch derart geringen Durchmesser, dass nur kleinere Moleküle passieren können. Größere Moleküle, z.B. Enzyme werden hingegen in den Zellen zurückgehalten.

Beim Vorversuch wurden bei allen Proben zwei Extinktionspeaks (bei 480 für Betaxanthine und 530 nm für Betacyane) beobachtet. Die Extinktionsmessung fand in ihrem Extinktionsmaximum ( $\lambda_{\max} = 530 \text{ nm}$ ) statt. Nach der Hitzebehandlung von Rote Beete-Scheiben (80 °C, 15 min) war eine Verschiebung seines Extinktionsmaximums von 530 nm auf 480 nm zu sehen, die vermutlich auf thermische Zersetzung des Farbstoffes (Betacyane) hindeutet (s. Anhang 4.2.1). Dagegen wurde bei HELP- bzw. HP-vorbehandelten sowie gefroren-aufgetauten Proben keine Verschiebung des Extinktionsmaximum beobachtet. Letztere ist aber energieintensiv und zeitaufwendig.

#### 4.2.2.2 Leitfähigkeitsmessung

Die Vorbehandlungen verursachte eine Zellmembranporation, die zu einer Erhöhung der elektrischen Leitfähigkeit im Medium durch den Austritt von Zellinhaltsstoffen führte. In den Abbildungen 4.2.5 a, b, c ist der Einfluss der verschiedenen Vorbehandlungen (HP, HELP, Hitze, Gefroren-aufgetaut) auf den Stoffübergang (Mineralien, ausgedrückt als Leitfähigkeit) dargestellt.

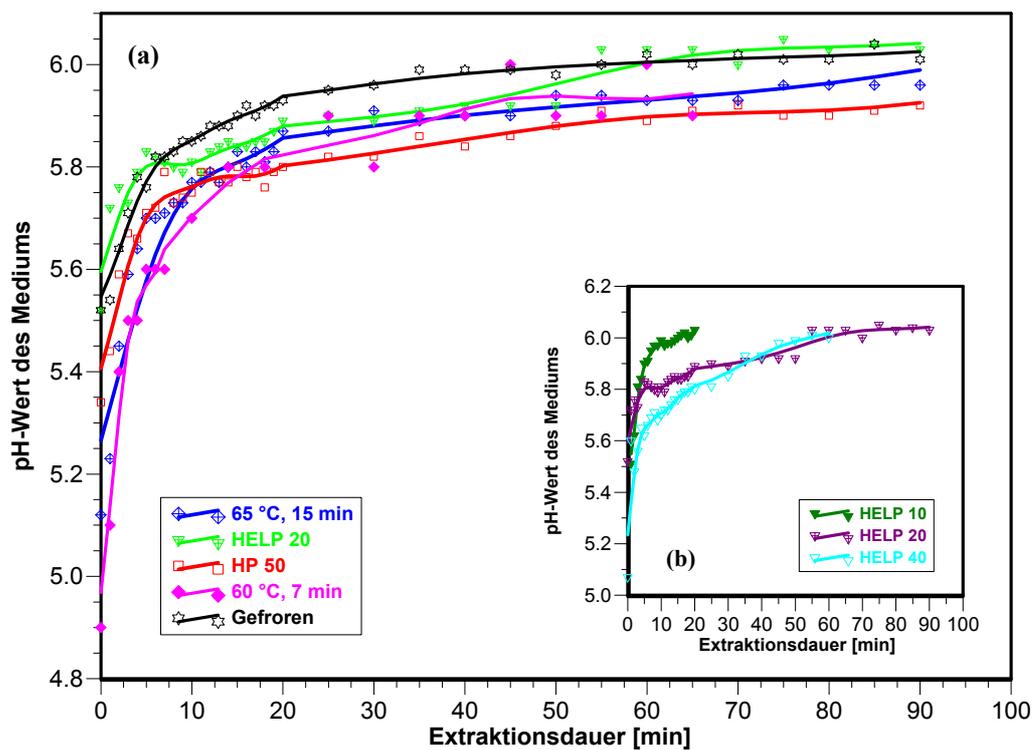
Der Stoffübergang bei unbehandelten Proben war vernachlässigbar. Innerhalb der hitzebehandelten Proben stieg der Stoffübergang mit steigendem Permeabilisierungsgrad ( $Z_p$ ) an (Ausnahme: 80 °C, 15 min) (Abb. 6.2.5c). Der geringfügig kleinere Stoffübergang von den bei 80 °C hitzevorbehandelten Proben im Vergleich zu den bei 65 °C vorbehandelten ist wahrscheinlich auf die Aufquellung der Pektinstoffe in Zellwandregionen und demzufolge teilweiser "Verstopfung" der Poren zurückzuführen.

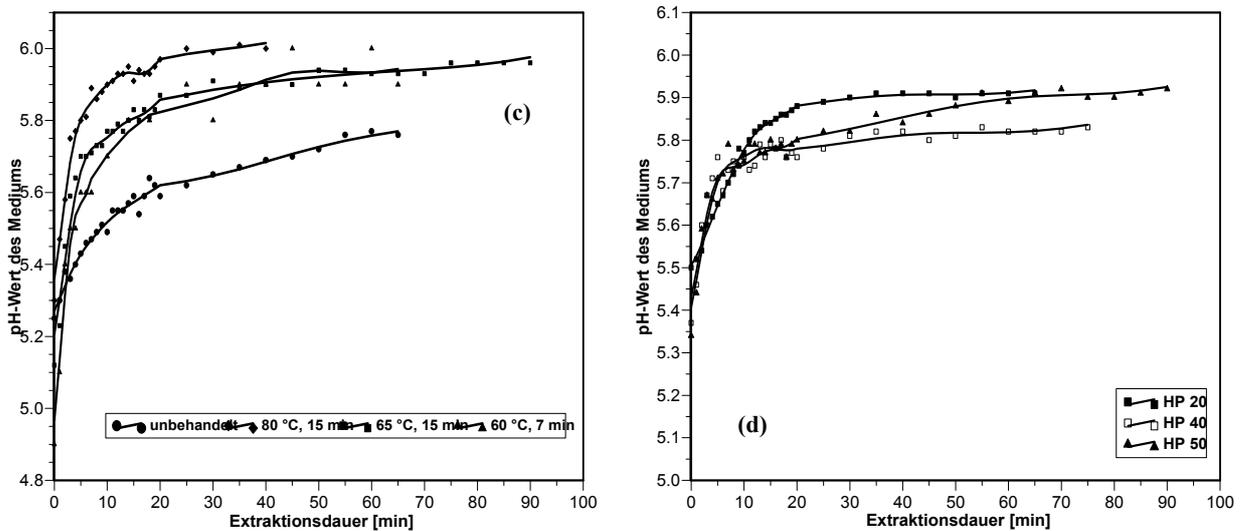


**Abb. 4.2.5:** Einfluss der verschiedenen Vorbehandlungen auf den Mineralstoffaustritt, ausgedrückt als Leitfähigkeit im Extraktionsmedium

Bei den HP- und HELP-vorbehandelten Proben konnte ein deutlicher Zusammenhang zwischen Permeabilisierungsgrad und Mineralaustritt beobachtet werden. Je höher die angewandte Behandlungstemperatur (HP) und Pulszahl (HELP) war, desto höher war der Permeabilisierungsgrad und nachfolgend schnellerer Stoffübergang (Abb. 4.2.5a, b). Der Stoffübergang von gefroren-aufgetauten Rote Beete-Scheiben war vergleichbar mit thermisch behandelten (65 °C, 15 min) bzw. geringfügig höher als die HP-vorbehandelten (50 °C, 500 MPa).

### 4.2.2.3 pH-Wert





**Abb. 4.2.6:** Einfluss der verschiedenen Vorbehandlungen auf den pH-Wert des Extraktionsmediums

In Abbildung 4.2.6 ist der Einfluss von verschiedenen Vorbehandlungsverfahren auf die pH-Wert-Verschiebung während des Stoffübergangsversuchs dargestellt. Während des Stoffübergangsversuchs war die pH-Wert-Verschiebung von den HP-vorbehandelten bzw. gefrorenen-aufgetauten Proben ausgeprägter als bei den Hitze- bzw. HELP-vorbehandelten. Die unbehandelten Proben zeigten die geringste pH-Wert-Verschiebung während des Stoffübergangsversuchs.

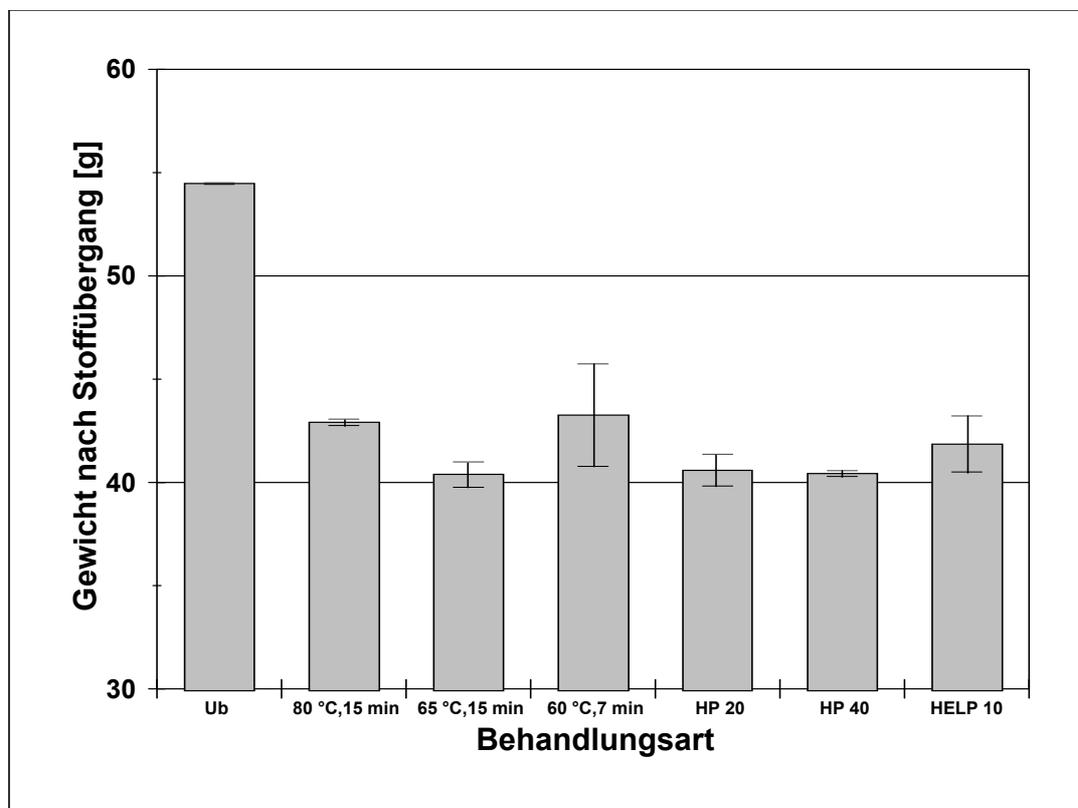
Der Austritt von Kationen, vorwiegend  $K^+$ -Ionen, führt zu einer deutlichen Zunahme des pH-Wertes bei ungepuffertem Medium (hier destilliertes Wasser). Die Zunahme des pH-Wertes ist von Art und Menge der austretenden Materialien abhängig. Die HP-vorbehandelte Probe mit geringer Leitfähigkeit zeigte ebenfalls geringe pH-Zunahme.

Der Mechanismus der Zellmembranpermeabilisierung bei Hitze- bzw. HP- und HELP-vorbehandelten Proben erscheint ganz unterschiedlich. Während die Zellmembranpermeabilisierung bei der Hitze- bzw. HP-vorbehandelten Probe aufgrund der hitze- bzw. druckinduzierten Proteindenaturierung zustande kommt, beruht die durch HELP-induzierte Zellmembranpermeabilisierung auf nichtthermischer Porenbildung. Die Zellmembran-

permeabilisierung bei gefrorenen-aufgetauten Proben basiert vor allem auf der mechanischen Schädigung der Zellen durch Eiskristalle.

#### 4.2.2.4 Gewichtsveränderung während des Stoffüberganges

In Abbildung 4.2.7 ist das Gewicht von Rote Beete-Scheiben (Anfangsgewicht = 50 g) nach dem Stoffübergangsversuch (60 min) wiedergegeben. Das Gewicht von unbehandelten Rote Beete-Scheiben überstieg nach 60 min Kontaktdauer mit destilliertem Wasser bis zu ca. 10 % des Anfangsgewichtes. Pflanzliche Zellen besitzen im nativen Zustand eine semipermeable Zellmembran und aktiven Stofftransport, wobei Wasser aus dem Medium mit kleinerem osmotischen Druck in die Zelle mit höherem osmotischen Druck hineintransportiert wird [Nultsch 1991]. Dies führt dazu, dass das Gewicht der unbehandelten Probe während des Stoffübergangsversuchs anstieg. Schliephake und Wolf (1968) haben ebenfalls festgestellt, dass im Wasser das Volumen der frisch hergestellten und kalten Zuckerrübenschnitzel bei Raumtemperatur bis auf 10 % zunahm.



**Abb. 4.2.7:** Gewicht von Rote Beete-Scheiben (Anfangsgewicht = 50 g) nach dem Stoffübergangsversuch

Dagegen wurde sowohl bei hitzebehandelten als auch bei HP, HELP sowie gefroren-aufgetauten Rote Beete-Scheiben eine drastische Gewichtsabnahme während des Stoffübergangs beobachtet. Bekanntlich führt Hitzebehandlung zur Aufhebung der Semipermeabilität der Zellmembran und zum Turgorverlust aufgrund Proteindenaturierung.

Infolgedessen treten die Zellsaftinhaltsstoffe (Salz, Zucker, hochmolekulare Stoffe) aus den vorbehandelten (HP, HELP, Hitze) Zellen und es kommt zu einem osmotischen Ausgleich zwischen Zellsaft und umgebenden Medium. Der Saftaustritt aus den Rote Beete-Scheiben aufgrund des Turgorverlusts sowie Austausch von Inhaltsstoffen, die eine höhere Dichte als destilliertes Wasser haben, führt zum Gewichtsverlust von hitzebehandelten Proben während des Stoffübergangsversuchs. Delavier und Siewert (1965) haben berichtet, dass die thermische Behandlung der Rübenschnitzel zu ca. 10 % Gewichtsabnahme führte.

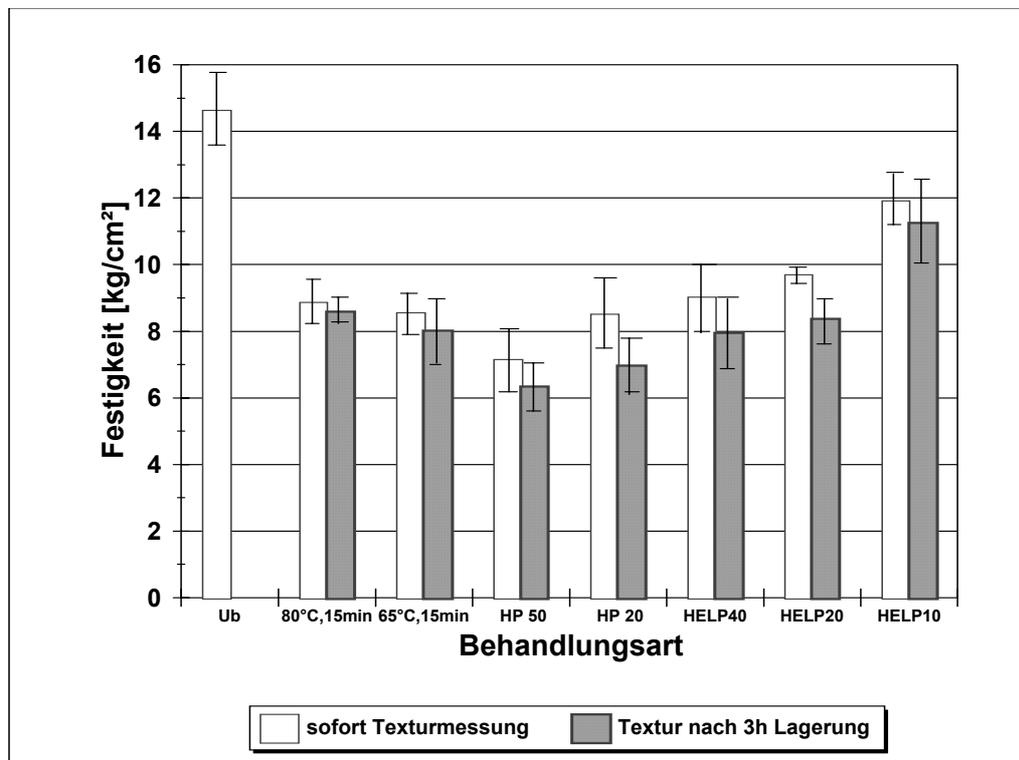
Die bei 80 °C hitzebehandelte Probe zeigt einen leicht geringeren Gewichtsverlust im Vergleich zu der bei 65 °C hitzebehandelten. Vermutlich quellen die Pektinstoffe in Zellwänden bei höheren Temperaturen besser auf und können demzufolge mehr Wasser einschließen. Es konnte ein deutlicher Zusammenhang zwischen Permeabilisierungsgrad und Gewichtsverlust festgestellt werden (Abb. 4.2.7). Die bei 60 °C, 7 min hitzebehandelten Rote Beete-Scheiben ( $Z_p = 0,32$ ) zeigten einen deutlich kleineren Gewichtsverlust (ca. 13,4 %) als die bei 65 °C, 15 min hitzebehandelten ( $Z_p = 0,6$ ) (ca. 19,2 % Gewichtsverlust).

Der Einfluss von HP auf verschiedene Biomembranen wurde von Ohmori (1993) untersucht. Er hat festgestellt, dass nach einer Hochdruckbehandlung der passive Ionentransport durch die Zellmembran erhöht und das aktive Transportsystem inhibiert wird. Durch HP-Behandlung wird die Zellmembran permeabel und der Saftaustritt beschleunigt, was zu einer Gewichtsabnahme der Probe führte [Eshtiaghi 1996].

Die Temperaturerhöhung innerhalb des untersuchten Bereiches (20–40 °C) bei konstantem Druck (500 MPa) hatte, ähnlich wie auf den Permeabilisierungsgrad, fast keinen Einfluss auf den Gewichtsverlust von HP-vorbehandelten Proben. Der Gewichtsverlust von HP-vorbehandelten Proben lag bei ca. 19%, der vergleichbar mit den hitzevorbehandelten (65 °C, 15 min) war. Ebenfalls führte die HELP-Behandlung zu einem deutlichen Gewichtsverlust (ca. 16 %), der vor allem auf den Turgorverlust der Zellen zurückzuführen ist (Abb. 4.2.7).

#### 4.2.2.5 Textur

Die eingesetzten Vorbehandlungen (Hitze, HP, HELP) führten im allgemeinen zu Texturerweichungen von Rote Beete-Scheiben (Abb. 4.2.8). Die bei 80 °C hitzebehandelten Probe zeigte höhere Texturwerte im Vergleich zu bei 65 °C hitzebehandelten. Dies bestätigt die bisherige Vermutung, dass bei 80 °C die Pektinstoffe in der Zellwand aufgequollen waren, was zu geringem Gewichtsverlust und höheren Texturwerten im Vergleich zu den bei 65 °C vorbehandelten führte.



**Abb. 4.2.8:** Einfluss der verschiedenen Vorbehandlungen auf die Festigkeit von Rote Beete

Die Texturwerte der mit HP vorbehandelten Rote Beete waren deutlich von der Behandlungstemperatur abhängig. Je höher die Temperatur während der HP-Behandlung, desto weicher auch die Probe. Ein klarer Zusammenhang zwischen angewandter Pulszahl der HELP-vorbehandelten Probe und den Texturwerten wurde beobachtet. Mit steigender Pulszahl nahmen die Texturwerte rapide ab. Ein Vergleich zwischen dem Permeabilisierungsgrad der vorbehandelten Proben und deren Texturwerten zeigte, dass die mit HP behandelten Proben trotz des geringeren Permeabilisierungsgrades eine weichere

Textur aufwiesen als die hitze- bzw. HELP-vorbehandelten. Es konnten fast vergleichbare Texturwerte zwischen mit HELP und mit Hitze vorbehandelten Proben bei ähnlichem Permeabilisierungsgrad festgestellt werden.

### 4.2.3 Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen, dass die nichtthermischen Verfahren (HELP und HP) für die Permeabilisierung von pflanzlichen Zellen besonders gut geeignet sind. Innerhalb einer Behandlungsart konnte ein erkennbarer Zusammenhang zwischen ermitteltem Permeabilisierungsgrad und Stoffübergang festgestellt werden. Die Vorbehandlung von Rote Beete mit HELP oder HP bewirkte eine Verbesserung der Inhaltsstoffgewinnung im Vergleich zu Unbehandelten.

Die HELP-Behandlung beansprucht nur kurze Zeit, ist mit geringem Energieeinsatz (1,6–41,3 kJ/kg) und bei moderater Temperatur (20 °C) erreichbar. Der Permeabilisierungsgrad hängt von elektrischer Feldstärke, Pulszahl und spezifischem Energieeintrag ab. Eine bis zu 91 %ige ( $Z_p = 0,91$ ) Permeabilisierung konnte durch HELP-Behandlung bei 0,64 kV/cm und 100 Pulse (Energieeintrag = 41,3 kJ/kg) erreicht werden. Die HELP-vorbehandelten Proben (0,64 kV/cm, 20 Pulse, 8,27 kJ/kg,  $Z_p = 0,58$ ) zeigte einen höheren Stoffübergang als die unbehandelten oder die Hitze-vorbehandelten (60 °C, 7 min,  $Z_p = 0,33$ ). Dazu kommt, dass die Permeabilisierung durch HELP bei 20 °C und innerhalb kurzer Zeit (20 s) erfolgte.

Der Permeabilisierungsgrad von HP-vorbehandelter Rote Beete hängt von Behandlungsdruck und -temperatur ab. Ein deutlicher Zusammenhang zwischen ermitteltem Permeabilisierungsgrad und Stoffübergang konnte bei der HELP-, HP- und hitzevorbehandelter Rote Beete festgestellt werden. Die Stoffübergangskinetik von nichtthermischen Verfahren beträgt ca. das Eineinhalbfache der bei 60 °C für 7 Minuten thermisch behandelten Proben. Der Gewichtsverlust und die Texturerweichung sind ebenfalls eine Funktion des Permeabilisierungsgrades. Je höher der Permeabilisierungsgrad innerhalb einer Behandlung, desto größer war die Texturerweichung (Festigkeitsabnahme) der Roten Beete (Ausnahme: die 80 °C, 15 min hitze-vorbehandelten Proben).

Ein Permeabilisierungsgrad von 0,47 konnte durch HP-Behandlung bei 500 MPa, 50 °C und 10 min erreicht werden. Obwohl diese Probe einen geringen Permeabilisierungsgrad besaß,

zeigte sie höheren Stoffübergang als die hitze- (65 °C, 15 min,  $Z_p = 0,61$ ) und HELP-vorbehandelten (0,64 kV/cm, 1 Hz, 20 Pulse,  $Z_p = 0,58$ ) bzw. vergleichbar den gefroren-aufgetauten ( $Z_p = 0,9$ ). Der Stoffübergang ist wahrscheinlich nicht nur eine Funktion des Permeabilisierungsgrades, sondern auch der chemischen und strukturellen Veränderung infolge des unterschiedlichen Mechanismus des Permeabilisierungsprozesses.

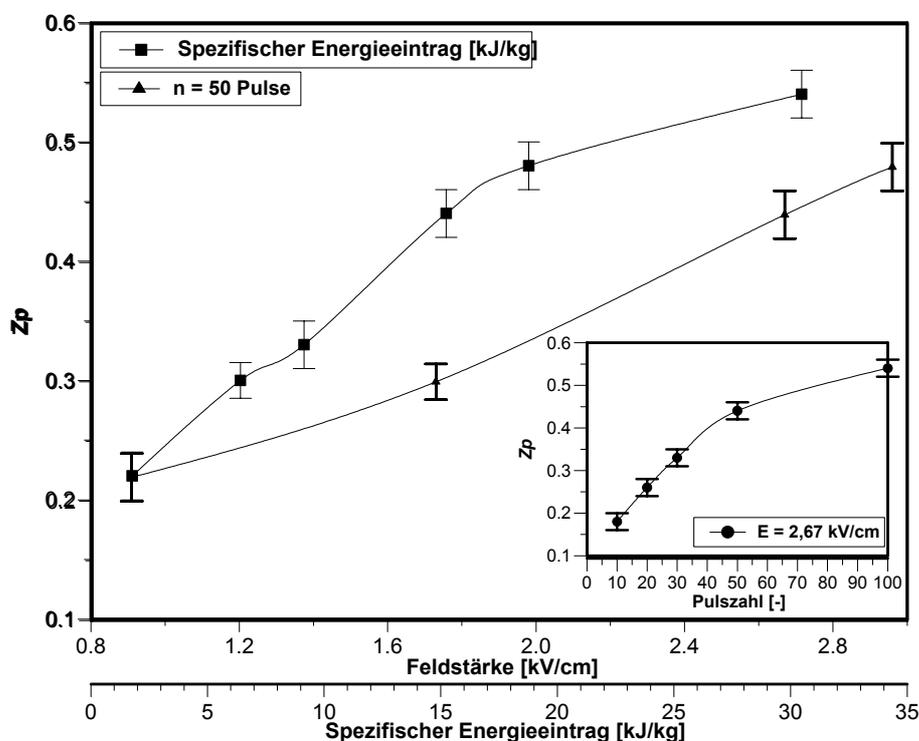
Die Anwendung von nichtthermischen Verfahren ermöglicht somit einen schonenden Zellaufschluss ohne thermische Belastung der pflanzlichen Gewebe, wobei Permeabilisierungsgrad und Inhaltsstoffgewinnung bei den nichtthermisch-vorbehandelten Proben vergleichbar bzw. höher waren als der thermisch-permeabilisierten Gewebe. Dazu erfolgte die nichtthermische Behandlung in kürzerer Zeit und brauchte weniger Energie.

---

## 4.3 Zellmembranpermeabilisierung und osmotische Trocknung von Mango

### 4.3.1 Zellmembranpermeabilisierung

*Charakterisierung der Zellmembranpermeabilisierung durch Hochspannungsimpulse*



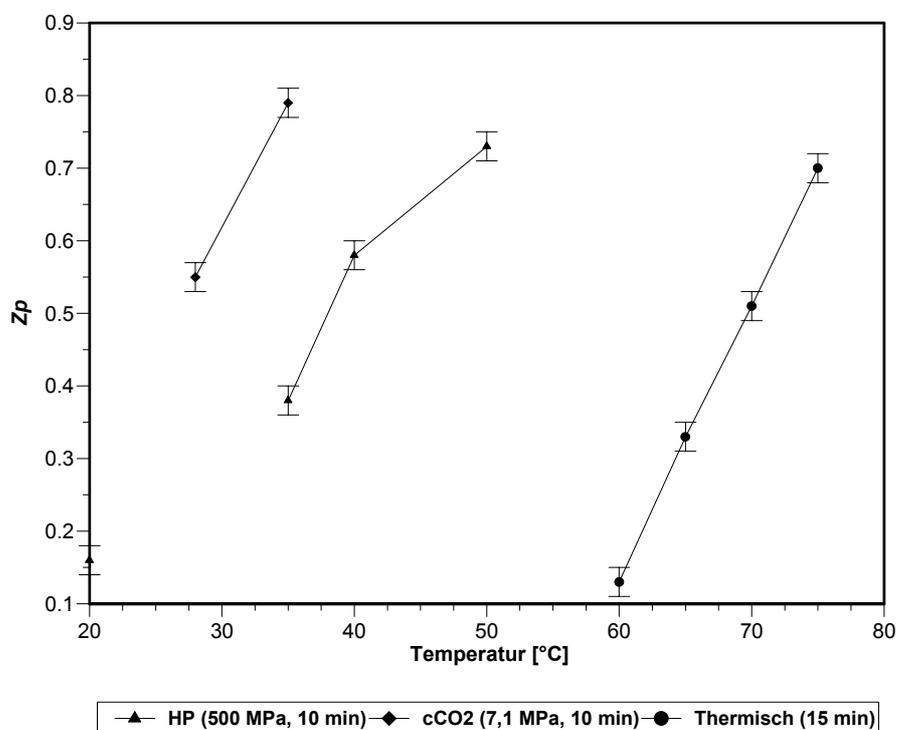
**Abb. 4.3.1:** Einfluss der HELP-Behandlung auf den Permeabilisierungsgrad von Mango

Um einen Permeabilisierungsgrad ( $Z_p$ ) im Bereich von 0,5 bis 0,58 zu erzielen, wurden die Mango-Scheiben bei verschiedenen Feldstärken ( $E = 0,91\text{--}2,96\text{ kV/cm}$ ,  $n = 50$  Pulse) und Pulszahlen (10–100 Pulse,  $E = 2,67\text{ kV/cm}$ , Frequenz = 1 Hz) Hochspannungsimpuls behandelt. Bei konstanter Pulszahl ( $n = 50$ ) stieg der Permeabilisierungsgrad mit zunehmender Feldstärke fast linear an. Ebenfalls konnte eine Zunahme des Permeabilisierungsgrades mit steigender Pulszahl bei konstanter Feldstärke ( $E = 2,67\text{ kV/cm}$ ) festgestellt werden. Der Permeabilisierungsgrad erhöhte sich stark mit steigender Pulszahl bis

auf 50 Pulse. Eine weitere Erhöhung der Pulszahl führte zur weiteren, jedoch weniger ausgeprägten Zunahme des Permeabilisierungsgrades.

Der Einfluss von Feldstärke und Pulszahl auf die Permeabilisierung von Mango stimmt mit der Permeabilisierung von Möhren durch HELP überein [Rastogi *et al.* 1999]. Die HELP-Behandlung von Mango bei einer Feldstärke von 2,67 kV/cm, 100 Pulse (Pulsfrequenz = 1 Hz, Pulsbreite = 840  $\mu$ s) und spezifischem Energieeintrag von 3,58 kJ/kg ergab einen  $Z_p$ -Wert von 0,54.

#### Charakterisierung der Zellmembranpermeabilisierung durch Behandlungstemperatur



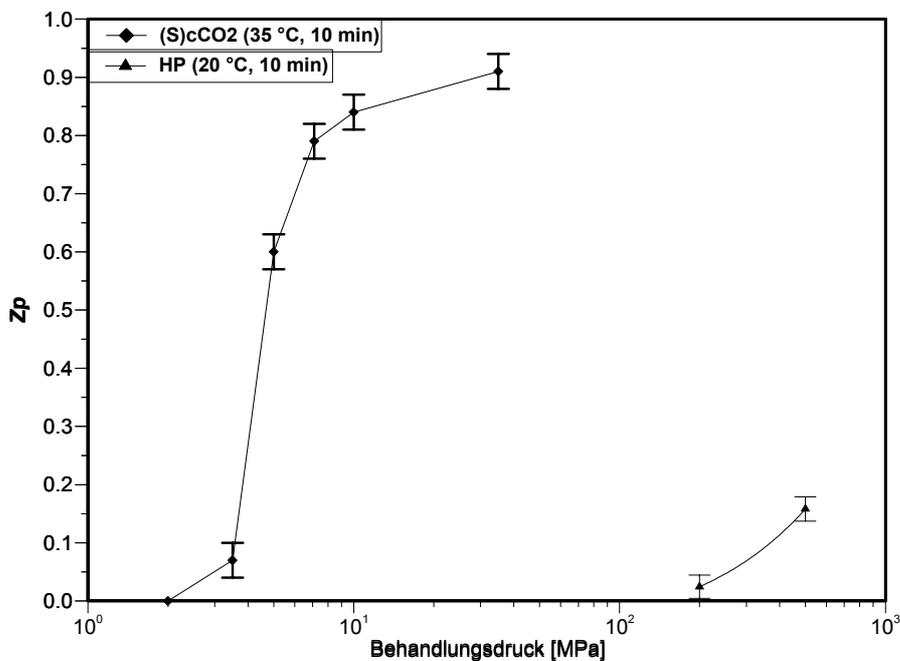
**Abb. 4.3.2:** Einfluss der Behandlungstemperatur auf den Permeabilisierungsgrad von Mango

Der Einfluss der Behandlungstemperatur auf den Permeabilisierungsgrad während der HP-Behandlung (500 MPa, 10 min) ist in Abbildung 4.3.2 dargestellt. Je höher die Temperatur während der HP-Behandlung war, desto höher war auch der Permeabilisierungsgrad. Rastogi *et al.* (2000b) haben den Einfluss von HP auf die Permeabilisierung von Ananas untersucht. Die Autoren haben ebenfalls einen Zusammenhang zwischen Behandlungstemperatur und Permeabilisierungsgrad von HP-behandelter Ananas festgestellt. Die mit HP

bei 40 °C behandelten Mangofrüchte (500MPa, 10 min) zeigten einen  $Z_p$ -Wert von 0,58.

Die thermische Behandlung von Mango bei Temperaturen von 60–75 °C für 15 min bei atm. Druck führte zu einem steilen Anstieg des Permeabilisierungsgrades (Abb. 4.3.2). Unterhalb 60 °C trat kaum ein Permeabilisierungseffekt auf (Daten nicht gezeigt). Eine thermische Behandlung bei 70 °C für 15 min resultierte einen  $Z_p$  von 0,51, der der Permeabilisierung durch HP- (500 MPa, 40 °C, 10 min), HELP- (2,67 kV/cm, 100 Pulse) bzw. cCO<sub>2</sub>-Behandlung (7,1 MPa, 28 °C, 10 min) entsprach.

#### Charakterisierung der Zellmembranpermeabilisierung durch Behandlungsdrücke



**Abb. 4.3.3:** Einfluss des Behandlungsdrucks auf den Permeabilisierungsgrad von Mango

Während eine Druckerhöhung von 200 auf 500 MPa durch HP-Behandlung (20 °C) nur zu einer geringfügigen Erhöhung des Permeabilisierungsgrades der Mangofrüchte führte, konnte ein deutlicher Effekt der Druckerhöhung auf den Permeabilisierungsgrad im Falle cCO<sub>2</sub>-Behandlung bei 35 °C, 10 min beobachtet werden. Druckerhöhung während der cCO<sub>2</sub>-Behandlung von 3,5 MPa auf 7,1 MPa (d.h. ScCO<sub>2</sub>) bewirkte einen starken Anstieg des Permeabilisierungsgrades (Abb. 4.3.3). Weitere Erhöhung des Drucks auf 35 MPa hatte nur eine geringfügige Zunahme des Permeabilisierungsgrades zur Folge. Um einen

Permeabilisierungsgrad von ca. 0,55 zu erzielen, genügt eine 10-minütige cCO<sub>2</sub>-Behandlung bei 7,1 MPa und 28 °C (Abb. 4.3.2). Die Permeabilisierung der Zellen hing von Behandlungsdruck und -temperatur ab.

Stahl *et al.* (1987) haben berichtet, dass die CO<sub>2</sub>-Diffusion in pflanzlichem Gewebe von Druckhöhe und Temperatur abhängig ist. Für eine Diffusionsstrecke von 1 cm wird nach einer Modellrechnung [Kohlensäurewerk Deutschland 1981] für Pflanzenzellen ohne Risse und Poren 8–9 Minuten benötigt.

#### *Die verwendeten Behandlungsparameter für die osmotische Trocknung*

In Tabelle 4.3.1 sind die Behandlungsbedingungen, bei denen einen Permeabilisierungsgrad von 0,54–0,58 erzielt werden konnten, wiedergegeben. Es ist ersichtlich, dass die Permeabilisierung von Mangofrüchte durch Anwendung von nichtthermischen Verfahren bereits bei deutlich niedrigen Temperaturen (20–40 °C) erfolgte (thermisch bei 70 °C).

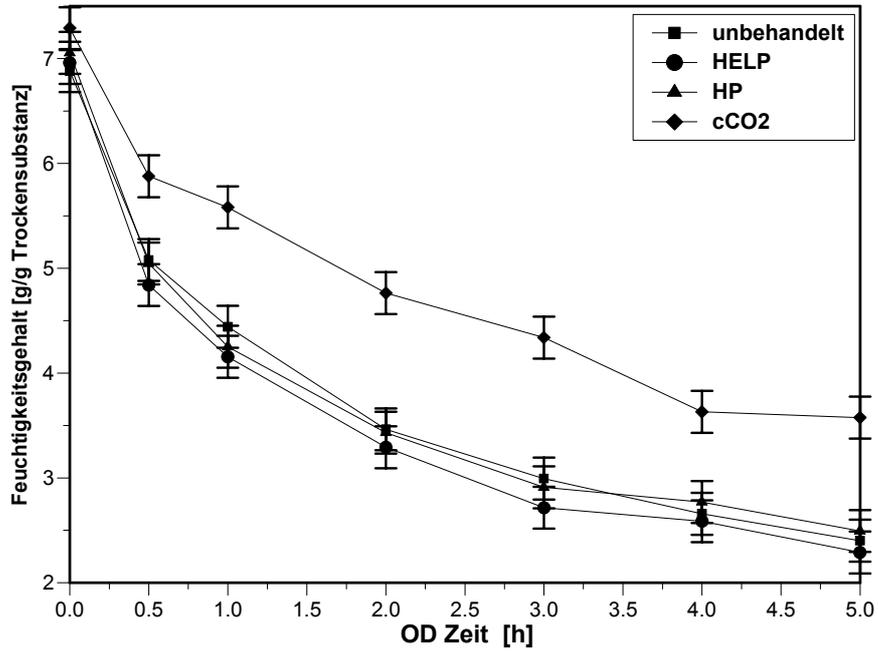
**Tabelle 4.3.1:** Die verwendeten Behandlungsparameter für die mikroskopische Untersuchung bzw. osmotische Trocknung

<b>Methode</b>	<b>Behandlungsparameter</b>	<b>Z<sub>p</sub></b>
unbehandelt (Ub)	-	0
HELP	2,67 kV/cm, 100 Pulse, 1 Hz	0,54
HP	500 MPa, 40 °C, 10 min	0,58
cCO <sub>2</sub>	7,1 MPa, 28 °C, 10 min	0,55

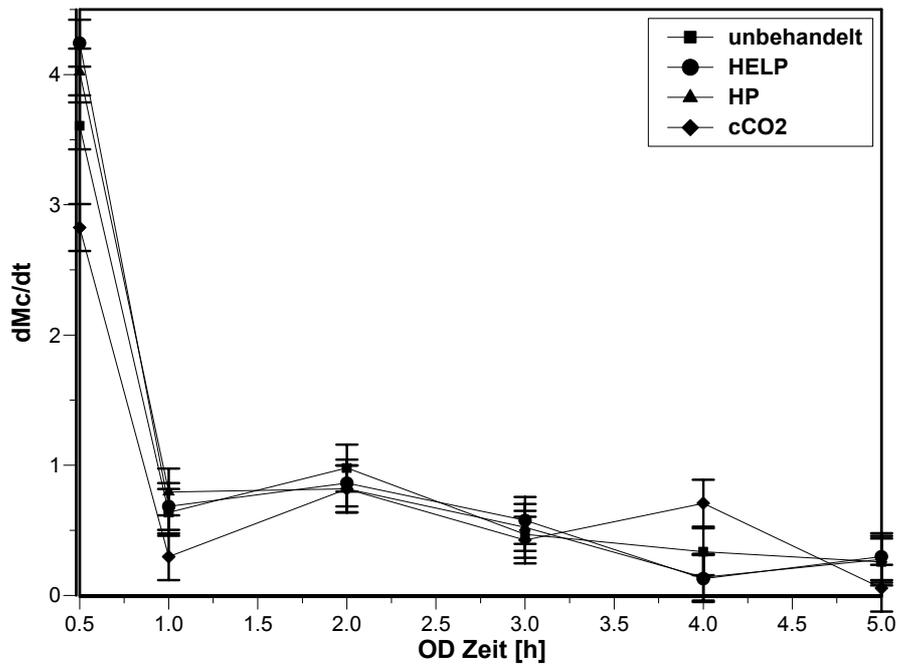
## **4.3.2 Einfluss von Vorbehandlungen auf den Massentransport während der osmotischen Trocknung**

### **4.3.2.1 Wasserverlust und Zuckeraufnahme**

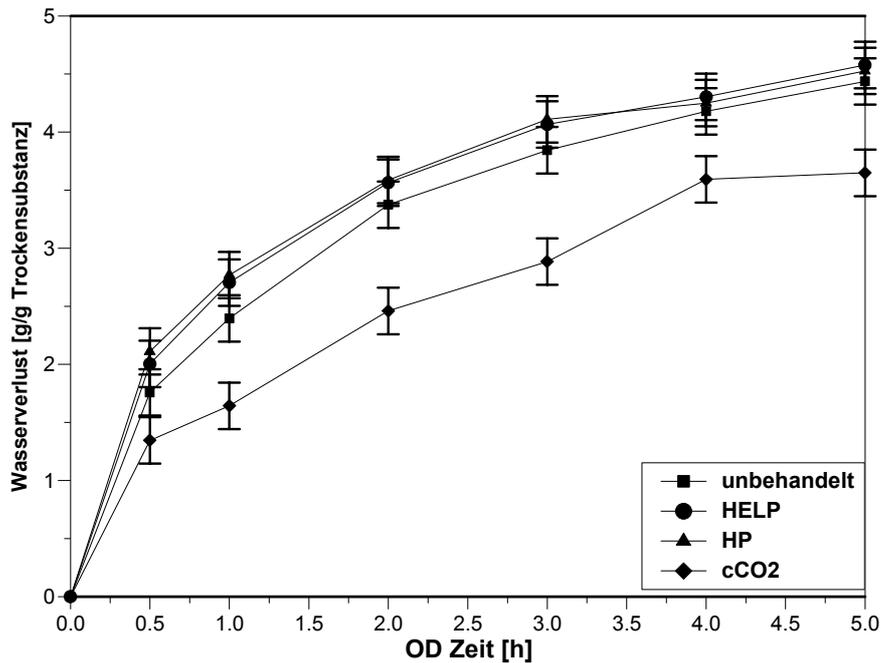
Die Menge des Feuchtegehalts verringerte sich mit der OD-Zeit (Abb. 4.3.4), die Rate des Feuchtigkeitsverlustes (Abb. 4.3.5) verlangsamte sich jedoch nach der ersten Stunde. Vermutlich bewirkt die Zuckeraufnahme in Mango, die die Zuckerschicht an der Oberfläche der Probe bildet, als Barrierschicht für die Wasserdiffusion aus der Zellen. Dadurch wurde der Feuchtigkeitsverlust aus Probe verlangsamt.



**Abb. 4.3.4:** Einfluss der Vorbehandlung auf den Feuchtegehalt von Mango während der osmotischen Trocknungszeit



**Abb. 4.3.5:** Einfluss der Vorbehandlung auf die Geschwindigkeit der Feuchtegehaltsänderung ( $dMc/dt$ ) von Mango in Abhängigkeit von osmotischer Trocknungszeit



**Abb. 4.3.6:** Einfluss der Vorbehandlung auf den Wasserverlust von Mango während der osmotischen Trocknungszeit

In Abbildung 4.3.6 ist der Einfluss von verschiedenen Vorbehandlungen auf den Wasserverlust von Mango während der osmotischen Behandlung dargestellt. Die gemessenen Werte waren anfänglich hoch. Mit steigender Trocknungsdauer verlangsamten sie sich bei allen Proben.

Der höchste Wasserverlust während der osmotischen Trocknung wurde bei HP- und HELP-vorbehandelten Mangofrüchten beobachtet. Innerhalb HP- und HELP-vorbehandelter Proben gab es keinen Unterschied in Bezug auf Wasserverlust. Dagegen wurde bei cCO<sub>2</sub>-vorbehandelter Mango der geringste Wasserverlust während OD beobachtet. Der Wert lag sogar deutlich unterhalb der unbehandelten osmotisch getrockneten Proben. Der Wasserverlust hängt nicht nur von  $Z_p$  und Zuckeraufnahme (Abb. 4.3.5) ab, sondern auch von dem Mechanismus der Behandlung ab.

CO<sub>2</sub> ist ein wasserlösliches Gas. Die Löslichkeit von CO<sub>2</sub> im flüssigen Medium ist u.a. stark von Druck und Temperatur abhängig. Während der cCO<sub>2</sub>-Behandlung bei hohem Druck diffundiert CO<sub>2</sub>-Gas in die pflanzliche Gewebe und löst sich dort im Zellsaft. Bei der

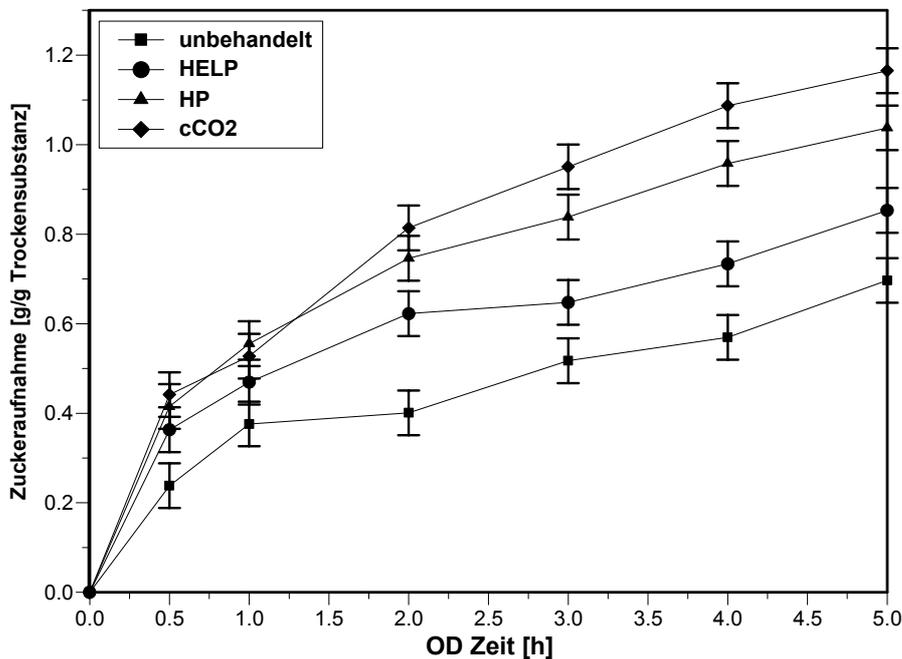
Druckentlastung entspannt sich das CO<sub>2</sub>-Gas und diffundiert aus der Zelle. Während dieses Vorgangs kann es aufgrund der spontanen Ausdehnung des Gases zu einer mechanischen Schädigung der Zellmembran kommen. Eine beträchtliche Menge an CO<sub>2</sub>-Gas bleibt unmittelbar nach der Druckentlastung im Gewebe zurück. Vermutlich verlangsamt dieses CO<sub>2</sub>-Gas die Diffusion von Wasser auf der Oberfläche der Mango, daraus resultiert der niedrige Wasserverlust.

Der höhere Wasserverlust bei HELP-vorbehandelten Proben ist auf die Permeabilisierung der Zellmembran von Mango zurückzuführen. Dadurch kann das Wasser ungehindert aus der Zelle diffundieren. Ho und Mittal (1996) haben berichtet, dass die angewandten Feldstärke die Zellwandstruktur beeinflussen, die eine Erhöhung des Wasserverlusts verursachen.

Rastogi und Niranjan (1998) haben auch festgestellt, dass durch HP-Behandlung die Zellstruktur von Ananas zerstört und der Massentransport erhöht wird. Während der HP-Behandlung kommt es zusätzlich zur Zellmembranpermeabilisierung und einer Verdrängung der Luft aus der interzellulären Räumen. Das Gewebe wird kompakter und die Zellen liegen dicht aneinander [Angersbach *et al.* 2002, Eshtiaghi 1996].

Die Zuckeraufnahme von Mango während der osmotischen Trocknung ist in Abbildung 4.3.7 dargestellt. Allgemein hatten die vorbehandelten Proben aufgrund der Permeabilisierung ihrer Zellmembran eine höhere Zuckeraufnahme als unbehandelten.

Jedoch unterschied sich die Zuckeraufnahme je nach Art der Vorbehandlung. Innerhalb der vorbehandelten Proben lag die Zuckeraufnahme bei HP-vorbehandelten Proben erkennbar höher als bei HELP-vorbehandelten. Vermutlich haben die HELP-vorbehandelten Proben trotz des gleichen Permeabilisierungsgrades wie HP kleinere Poren an der Plasmamembran. Der Mechanismus der Zellmembranpermeabilisierung durch HP und HELP ist unterschiedlich (s. Einleitung). Durch HP-Behandlung entstehen vermutlich aufgrund der Proteindenaturierung und eventuell einer mechanischen Schädigung der Gewebe große Poren, die sowohl Wassermoleküle als auch größere Moleküle wie Saccharose durchlassen.



**Abb. 4.3.7:** Einfluss der Vorbehandlung und der osmotischen Trocknungszeit auf die Zuckeraufnahme von Mango

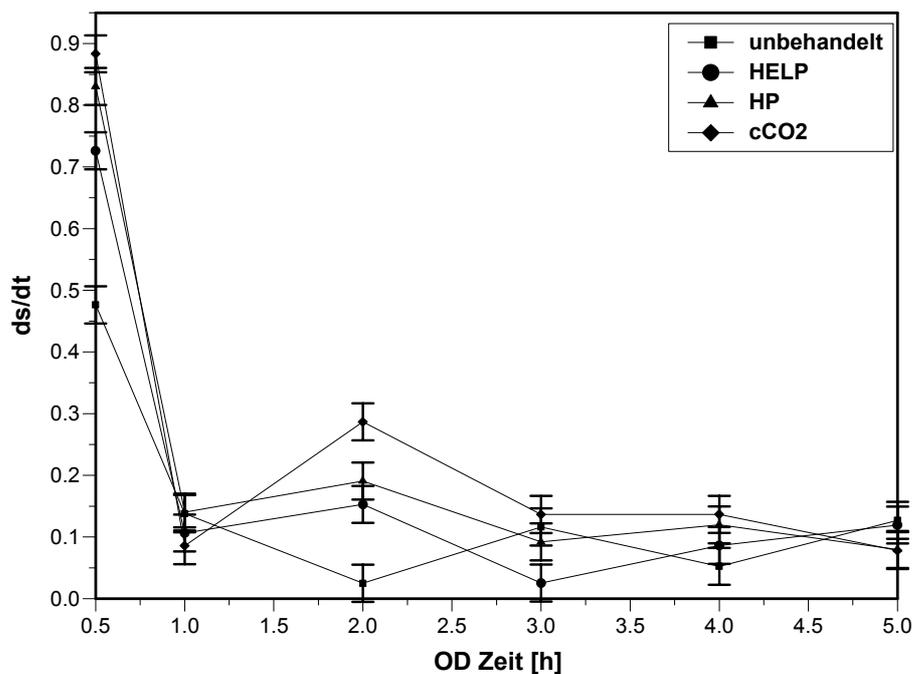
Der höhere Wasserverlust mit gleichzeitig geringer Zuckeraufnahme verstärkte die Vermutung, dass die Poren, die durch HELP-Vorbehandlung an der Plasmamembran entstehen, zwar den passiven Wasseraustritt aus der Zelle erleichtern, jedoch nicht groß genug sind, um die Zuckermoleküle (hier Saccharose) uneingeschränkt in die Zelle hineinzulassen. Dies führte zu einer minimalen Änderung im Produktgeschmack.

Grahl (1994) hat ebenfalls berichtet, dass es als Folge der Elektrobepulsung tatsächlich zu einer Poration der Zellhülle kommt. Die sich ausbildenden Poren haben jedoch derart geringen Durchmesser, dass nur kleinere Moleküle passieren können. Größere Moleküle, z.B. Enzyme werden hingegen in den Zellen zurückgehalten.

Bekanntlich führen die nichtthermischen Verfahren zur Aufhebung der Semipermeabilität von Plasmamembran. Daraus folgt, dass der aktive Stofftransport aufgehoben und die Diffusion der gelösten Stoffe erhöht wird [Rastogi und Niranjana 1998, Del Valle *et al.* 1998, Robbers *et al.* 1997].

Die höchste Zuckeraufnahme während der osmotischen Trocknung wurde bei  $c\text{CO}_2$ -vorbehandelten Proben beobachtet. Die Zellmembranpermeabilisierung während der  $c\text{CO}_2$ -Behandlung ist auf mechanische Schädigung der Zellen während der Entspannung zurückzuführen. Das während der  $c\text{CO}_2$ -Behandlung in Gewebe diffundierte  $\text{CO}_2$ -Gas entspannt sich sehr rasch bei Entspannung des Drucks. Es kommt zu einer starken Ausdehnung des Gases in den Zellen. Dies führt zu Ausdehnung und "mechanischem Zerplatzen" der Zellen und der Entstehung großer Poren.

Wahrscheinlich besitzen die während der  $c\text{CO}_2$ -Behandlung entstehenden Poren einen größeren Durchmesser als die Poren, die während der HELP- bzw. HP-Behandlung zustande kommen. Dadurch können die Zuckermoleküle in der Probe diffundieren.

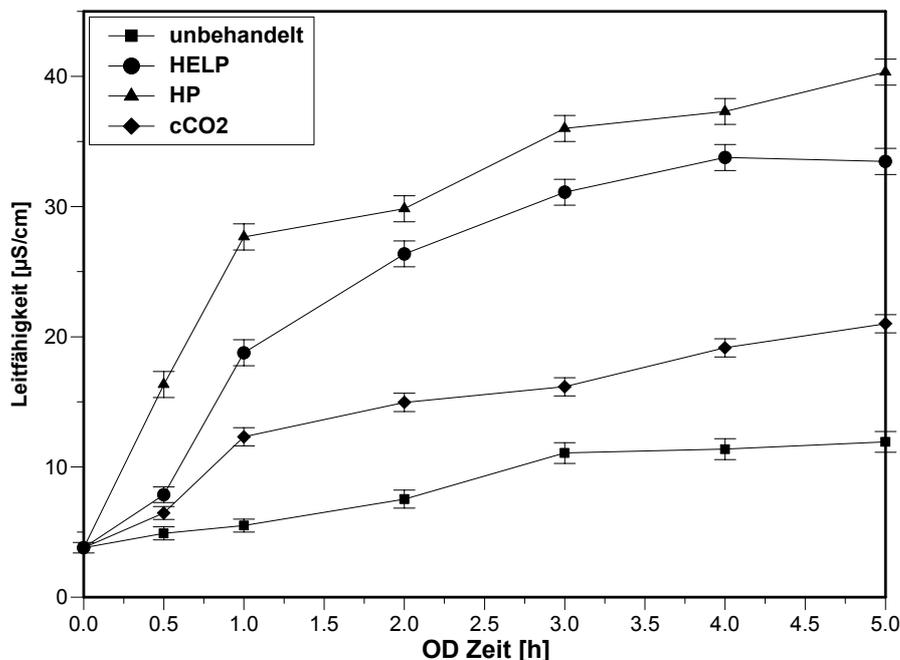


**Abb. 4.3.8:** Einfluss der Vorbehandlung auf die Geschwindigkeit der Zuckeraufnahmeänderung von Mango während der osmotischen Trocknungszeit

Vial *et al.* (1991) berichteten über eine allmähliche Ansammlung von Zucker auf der Peripherie der Kiwifrucht. Taiwo *et al.* (2001) schlugen vor, dass während der osmotischen Trocknung die Zuckerschicht an der Oberfläche der Probe ansteigt. Dies führt zur Erhöhung der Viskosität an der Probenoberfläche und Verzögerung des Wasseraustritts aus der Probe.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Zuckeraufnahme während der osmotischen Trocknung nicht allein eine Funktion von  $Z_p$  ist, sondern auch von den chemischen und strukturellen Veränderungen während der Vorbehandlung herrührt. Bei allen Proben stieg die Zuckeraufnahme mit der Zeit zuerst stark an (innerhalb der ersten Stunde), verlangsamte sich jedoch mit der OD-Zeit (Abb. 4.3.8). Aus der Literatur ist bekannt, dass der Massentransport bei der osmotischen Trocknung hauptsächlich während der ersten Stunden auftritt. Bei weiterem Verlauf der osmotischen Trocknung nahm der Stoffübergang nach und nach ab [Raoult-Wack 1994].

#### 4.3.2.2 Auslaugen der Zellbestandteile in das osmotische Medium



**Abb. 4.3.9:** Einfluss der Vorbehandlung auf die elektrische Leitfähigkeit von osmotischen Lösungen der Mangofrüchte in Abhängigkeit von der osmotischen Trocknungszeit

In Abbildung 4.3.9 ist der Einfluss von verschiedenen Vorbehandlungen auf die Auslaugung von Ionen während der osmotischen Trocknung dargestellt. Die Leitfähigkeit des osmotischen Mediums erhöhte sich mit der Dauer der osmotischen Trocknung. Dies war insbesondere bei HP- und HELP-vorbehandelten Proben ausgeprägt. Die unbehandelten Proben zeigten eine nur geringfügige Erhöhung der Leitfähigkeit während der osmotischen Trocknung. Es ist bekannt, dass bei unbehandelten Proben aufgrund der Semipermeabilität von Plasmamembran

und aktivem Stofftransport nur Wassermoleküle aus der Zelle heraustreten können, Ionen dagegen werden in der Zelle zurückgehalten. Der geringfügige aber stetige Anstieg der Leitfähigkeit deutete darauf hin, dass die unbehandelte Probe aufgrund des osmotischen Stresses während der OD zum Teil permeabilisiert wurde.

Da die Ionen (Elektrolyten) während des Wasseraustritts ins osmotische Medium gelangen, wird erwartet, dass die Leitfähigkeit der Lösung in Korrelation mit dem Wasseraustritt steht. Dies wird durch die in Abbildung 4.3.9 dargestellten Daten bestätigt. Obwohl HP- und HELP-vorbehandelte Proben keinen signifikanten Unterschied in Bezug auf Wasserverlust während der osmotischen Trocknung hatten, zeigten die mit HP vorbehandelten Proben geringfügig eine höhere Leitfähigkeit ins osmotische Medium als die HELP-vorbehandelten.

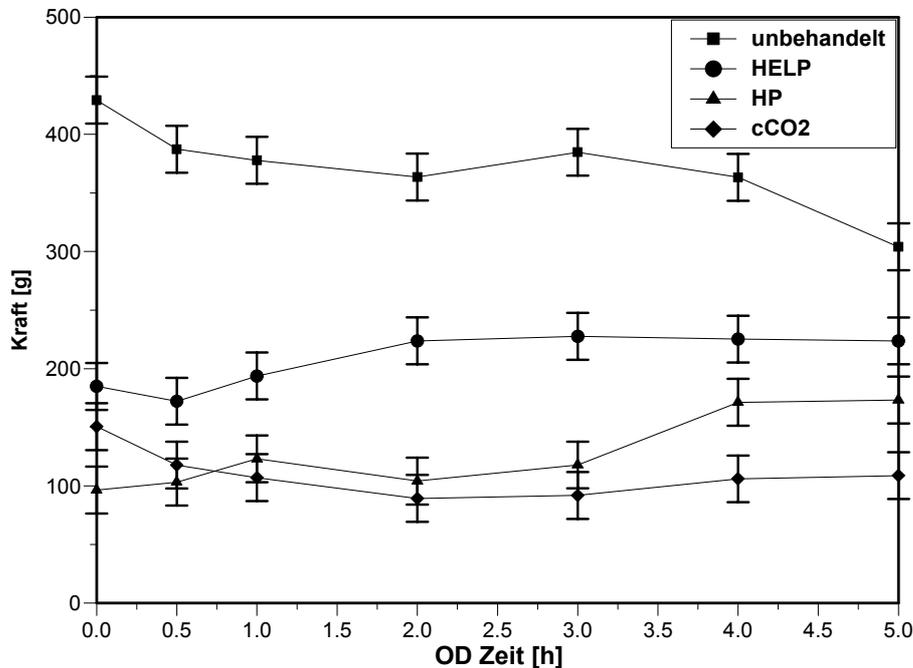
Elektrische Leitfähigkeit ist als Index der zellularen Vollständigkeit hinweisend auf das Auslaugen der intrazellulären Ionen und somit auf die Beschädigung der Zellmembranen [Tregunno und Goff 1996]. Die Leitfähigkeit ist eine Funktion der Viskosität, des Aufbaus und der Konzentration der gelösten Ionen [Schneider 1968].

Obwohl die vorbehandelten Proben einen ähnlichen Ausgangspermeabilisierungsgrad hatten, beeinflussten die Vorbehandlungen die Elektrolytfreigabe unterschiedlich. Vermutlich ist das Auslaugen von Ionen nicht nur eine Funktion der zellularen Vollständigkeit, sondern hängt auch von strukturellen und chemischen Veränderungen der pflanzlichen Gewebe während der Vorbehandlung ab.

#### 4.3.2.3 Textur

Im allgemeinen führten die Vorbehandlungen zu einer Texturerweichung (Abb. 4.3.10). Eine Festigkeitsabnahme durch Vorbehandlung bei Früchten (Kiwi, Apfel) wurde ebenfalls von Robbers *et al.* (1997) und Monsalve-Gonzales *et al.* (1993) berichtet. Vorbehandlung mit HP, HELP und cCO<sub>2</sub> bewirkte strukturelle Veränderungen, die die Textur des Produktes beeinflusste. Innerhalb der vorbehandelten Proben wiesen die HP-behandelten die geringste Festigkeit auf, gefolgt von den cCO<sub>2</sub>-vorbehandelten. Während der osmotischen Trocknung stieg die Festigkeit von den HELP- bzw. HP-vorbehandelten Proben erkennbar an. Dagegen nahmen die Festigkeit der unbehandelten (deutlich) bzw. cCO<sub>2</sub>-vorbehandelten geringfügig ab

(Abb. 4.3.10). Dies zeigt, dass die Texturänderung hauptsächlich nach der Vorbehandlung auftritt und die osmotische Trocknung nur geringfügig die Textur beeinflusst.

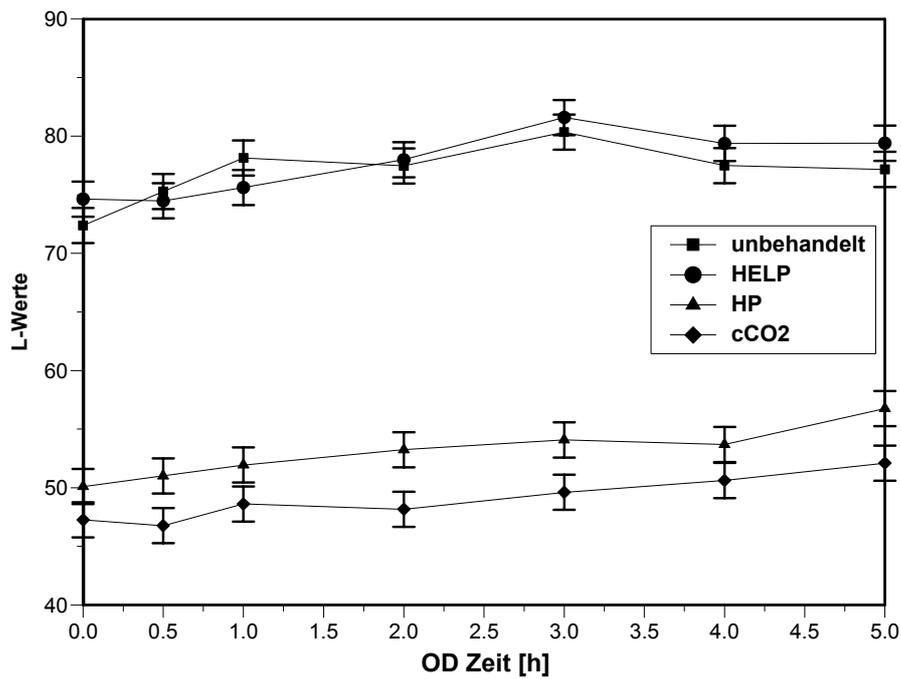


**Abb. 4.3.10:** Einfluss der Vorbehandlung auf die Textur von Mango während der osmotischen Trocknungszeit

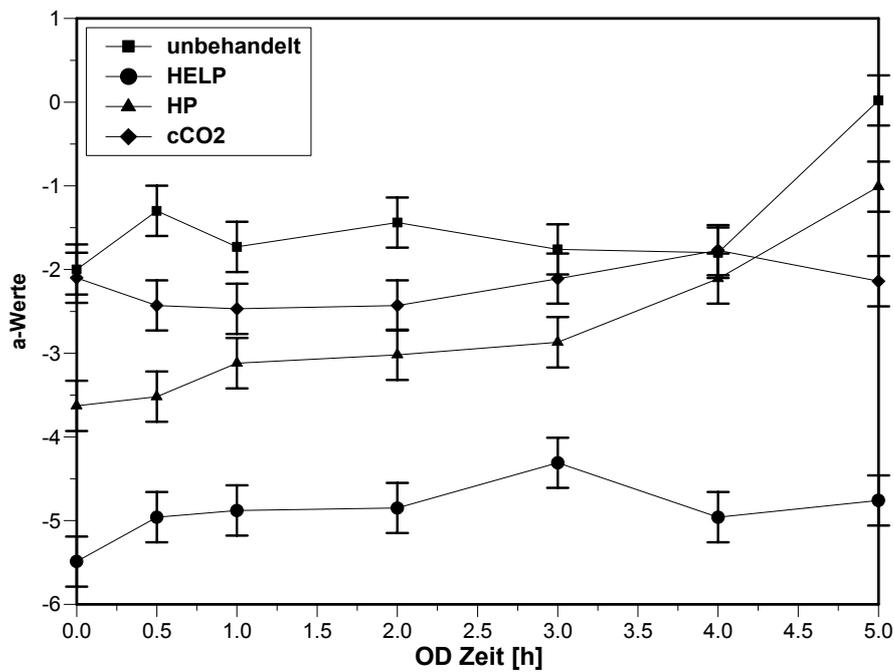
#### 4.3.2.4 Farbe

In Abbildungen 4.3.11 bis 4.3.13 sind die gemessenen  $L$ -,  $a$ - und  $b$ -Werte der osmotisch getrockneten Mango dargestellt.  $L$ - und  $b$ -Werte der HELP-behandelten Proben waren vergleichbar mit denen der unbehandelten. Die  $L$ - und  $b$ -Werte der HP- bzw.  $c\text{CO}_2$ -vorbehandelten Proben waren tiefer ( $P > 0,05$ ) als die unbehandelten. Die HP- oder  $c\text{CO}_2$ -vorbehandelten Proben hatten höhere  $a$ -Werte als die HELP-vorbehandelten. Während der OD stiegen die  $L$ -,  $a$ - und  $b$ -Werte nur geringfügig an.

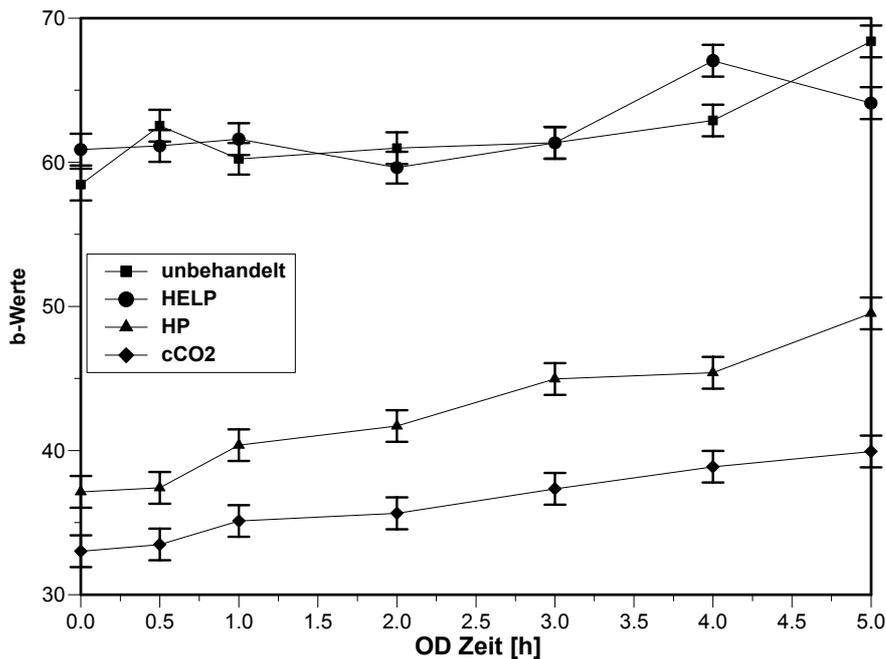
Clever und Tauscher (1994) haben den Einfluss von HP (300 MPa, 30 °C, 66 h) auf die Carotinoide von Paprika untersucht. Es konnte keine Veränderung der Pigmente, die in verschiedenen Lösungsmitteln mit HP behandelt wurden, festgestellt werden.



**Abb. 4.3.11:** Einfluss der Vorbehandlung auf die Helligkeit ( $L$ -Werte) von Mango während der osmotischen Trocknungszeit



**Abb. 4.3.12:** Einfluss der Vorbehandlung auf die  $a$ -Werte von Mango während der osmotischen Trocknungszeit



**Abb. 4.3.13:** Einfluss der Vorbehandlung auf die  $b$ -Werte von Mango während der osmotischen Trocknungszeit

### 4.3.3 Mikroskopische Untersuchung

Die Mikrostruktur der vorbehandelten Mangofrüchte mit fast ähnlichem Permeabilisierungsgrad ist den Anhang (A. 4.3.1 (frisch), A. 4.3.2 (HELP), A. 4.3.3 (HP) und A. 4.3.4 (cCO<sub>2</sub>)) zu entnehmen. Die Mangofrüchte mit dem gleichen Permeabilisierungsgrad durch verschiedene Vorbehandlungen wiesen unterschiedliche Zellstrukturen auf. Die Strukturänderungen von osmotisch getrockneter Mango (OD = 5 h) sind aus den Anhang (4.3.5–4.3.8) zu entnehmen. Hier ist das netzartige Muster der interzellulären Räume in Anhang (4.3.1–4.3.4) nicht mehr eindeutig, es scheint, dass die interzellulären Räume mit Zucker gefüllt worden sind.

Durch die nichtthermischen Behandlungen werden die Zellmembranen permeabilisiert. Diese Permeabilisierung durch verschiedene nichtthermische Verfahren führte zur unterschiedlichen Veränderung der Gewebestruktur. Die HP-behandelten Mangofrüchte zeigten die

kompakteste Struktur. Die  $c\text{CO}_2$ -behandelte Proben wiesen eine ähnliche Struktur wie die unbehandelte auf und hatte die kleinste Schrumpfung.

Aus der Literatur ist bekannt, dass die interzelluläre Räume durch HP verdrängt werden, die Dichte der HP-behandelten Probe steigt und das Gewebe weist eine kompakte Struktur auf [Angersbach *et al.* 2002, Eshtiaghi 1996, Koch 1995 und Yamamoto 1993]. Es gibt leider keinen Hinweis in der Literatur über den Vergleich von verschiedenen nichtthermischen Verfahren auf die Struktur von pflanzlichen Lebensmitteln. Der Einfluss von HELP bzw. HP einzeln bzw. kombiniert auf die Struktur von Lachs- und Hähnchenmuskeln wurde von Gudmundsson und Hafsteinsson (2001) untersucht. Durch HELP-Vorbehandlung schrumpften die Muskelzellen und die Zellzwischenräume waren erkennbar größer und mit Zellsaft gefüllt. Diese Erscheinung trat bei Lachsmuskeln deutlicher auf als bei Hähnchenmuskeln. Auch die HP-Behandlung führte zu einer Zellschrumpfung und zur Entstehung von großen Zellzwischenräumen, die mit Zellsaft gefüllt wurden. Es wurde vermutet, dass durch HP bzw. HELP die Zellmembran permeabilisiert wurde.

#### 4.3.4 Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass der Einfluss von zellulärer Vollständigkeit auf die Diffusionskinetik der Mango zweifach sein kann. Der Wasserverlust während der osmotischen Trocknung hing vom Zustand der Zellen ab (bei den gleichen  $Z_p$ -Werte zeigten die HELP- und HP- vorbehandelten Proben keinen signifikanten Unterschied im Bezug auf den Wasserverlust), jedoch spielte der Permeabilisierungsgrad bei der Zuckeraufnahme nur eine begrenzte Rolle.

Der Massentransport ist eine Funktion von der zellulären Vollständigkeit, der strukturellen und chemischen Veränderungen der pflanzlichen Gewebe während der Vorbehandlung. Es konnte festgestellt werden, dass die Vorbehandlungsart einen größeren Einfluss auf die Zuckeraufnahme hatte als der Umfang der Zellmembranpermeabilisierung. Die  $c\text{CO}_2$ -vorbehandelten Proben zeigten den geringsten Wasseraustritt während der osmotischen Trocknung (Tab. 4.3.2). Dagegen war die Zuckeraufnahme von  $c\text{CO}_2$ -vorbehandelten Proben am höchsten und wies die geringste Schrumpfung nach der OD auf. Dies ist interessant

aufgrund ihres geringen Wasseraustritts bei gleichzeitiger höchsten Zuckeraufnahme und großen Volumens.

**Tabelle 4.3.2:** Vergleich der Zuckeraufnahme (Sg) und Wasserverlust (WL) von verschiedenen Vorbehandlungen

<b>Methode</b>	<b>HELP</b>	<b>HP</b>	<b>cCO<sub>2</sub></b>
<b>Sg (im Vergleich von unbehandelte)</b>	+ 22,5 %	+ 48,9 %	+ 67,3 %
<b>WL (im Vergleich von unbehandelte)</b>	+ 3,2 %	+ 2,0 %	- 17,8 %

Wobei: +: Erhöhung

- : Reduzierung

Der Einsatz von HELP erhöhte den Wasserverlust bei gleichzeitiger Minderung der Zuckeraufnahme während der OD. Die Zuckeraufnahme lag niedriger als bei den HP- bzw. cCO<sub>2</sub>-vorbehandelten. Die HELP-vorbehandelte Probe hatte die geringste Veränderung der sensorischen Eigenschaften (Geschmack, Farbe) und war den unbehandelten ähnlich.

Die Vorbehandlungen führten zu einer mehr oder weniger starken Texturerweichung. Dies war insbesondere bei HP- bzw. cCO<sub>2</sub>-vorbehandelten Proben zu beobachten. Während der OD sank die Festigkeit der unbehandelten Probe deutlich ab. Dagegen wurde bei vorbehandelten Mangofrüchte eine geringfügige Festigkeitsabnahme (cCO<sub>2</sub>-vorbehandelten) bzw. leichte Festigkeitszunahme (HP- und HELP-vorbehandelten) beobachtet.

Die Farbe von HELP-vorbehandelten Mangofrüchte war der der unbehandelten sehr ähnlich, während durch HP- bzw. cCO<sub>2</sub>-Behandlung eine erkennbare Veränderung der Farbe zu beobachten war. Der Unterschied wies auf die unterschiedlichen induzierten chemischen Prozesse durch die verschiedenen nichtthermischen Verfahren hin. Die Farbe von osmotisch getrockneten Mangos wurde durch die Vorbehandlungsart beeinflusst, jedoch kaum von der OD Zeit.

Die Anwendung der verschiedenen nichtthermischen Verfahren vor der osmotischen Trocknung von Mangofrüchten führte zu unterschiedlicher Veränderung der Produkteigenschaften, die je nach gewünschten Produkthanforderungen von Interesse sein können. Die

nichtthermisch-vorbehandelten und osmotisch getrockneten Proben können als „intermediate moisture product“ angeboten bzw. für die Weiterverarbeitung verwendet werden.

Diese Untersuchung zeigte, dass durch die nichtthermischen Behandlungen die Zellmembranen permeabilisiert wurden. Diese Permeabilisierung durch verschiedene nichtthermische Verfahren führte zur Beschleunigung des Massentransportes und zur unterschiedlichen Veränderung der Gewebestruktur. Die HP-behandelten Mangofrüchte zeigten die kompakteste Struktur. Die cCO<sub>2</sub>-behandelten Proben wiesen eine ähnliche Struktur wie die unbehandelten auf und hatten die kleinste Schrumpfung.

---

## 4.4 Anwendung von Hochspannungsimpulsen auf die Trocknungsrate und Rehydration von pflanzlichen Lebensmitteln

### 4.4.1 Zellmembranpermeabilisierung

Die HELP-Bedingungen und die daraus resultierenden Permeabilisierungsgrade ( $Z_p$ ) für die Rohwaren sind in Tabelle 4.4.1 dargestellt.

**Tabelle 4.4.1:** Die angewandten HELP-Bedingungen und die daraus resultierende Permeabilisierung ( $Z_p$ ) bei verschiedenen Rohwaren

Rohware	HELP-Bedingungen				$Z_p$ nach der HELP-Behandlung
	Feldstärke [kV/cm]	Pulszahl [-]	Pulsfrequenz [Hz]	Spezifischer Energieeintrag [kJ/kg]	
Weinbeeren	1,4	100	1	14	0,38
Pflaumen	1,0	100	1	13,6	0,82
Spargel	1,0	10	1	1,36	0,11
	1,0	20	1	2,72	0,17
	1,0	50	1	6,8	0,44

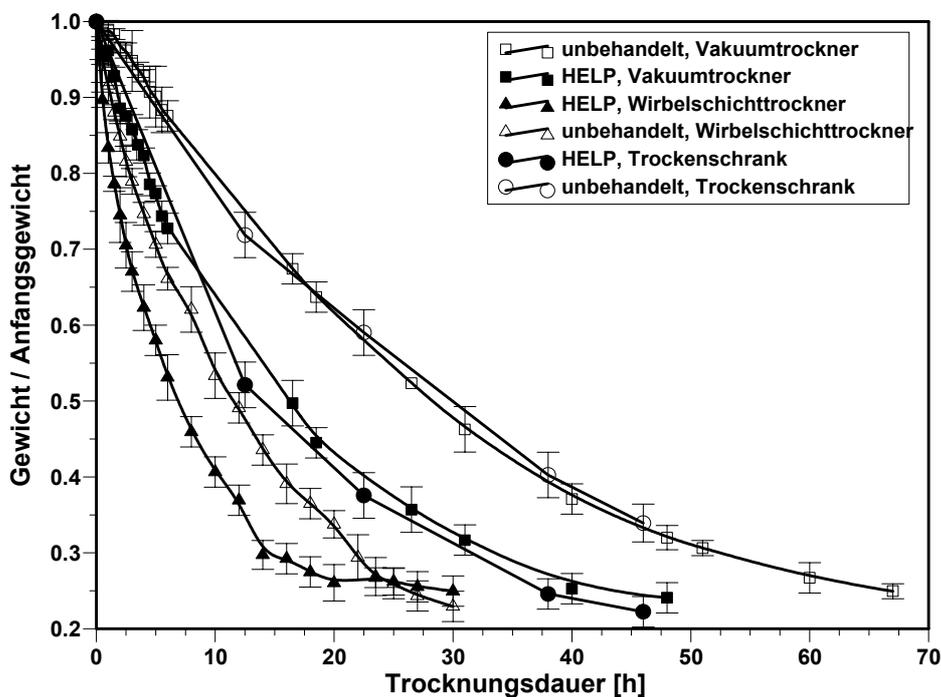
Zimmermann *et al.* (1974) zeigte, dass für Pflanzenzellen die kritische elektrische Feldstärke im Bereich von  $E = 0,5\text{--}1,5$  kV/cm liegt. Die ausgewählten Feldstärken liegen innerhalb dieses Bereiches.

Mit der Erhöhung der Pulszahl nimmt der Permeabilisierungsgrad stetig zu. Dieser Effekt wurde bei HELP-Behandlung pflanzlicher Materialien von verschiedenen Autoren berichtet [Eshtiaghi und Knorr 2002, Ade-Omawaye *et al.* 2001b, Rastogi *et al.* 1999, Geulen *et al.* 1994].

## 4.4.2 Trocknungsrate

### Weinbeeren

Durch HELP-Vorbehandlung konnte eine erkennbar höhere Trocknungsrate sowohl bei der Wirbelschichttrocknung als auch bei der Vakuum- bzw. Warmlufttrocknung im Trockenschrank im Vergleich zu unbehandelten Proben festgestellt werden (Abb. 4.4.1). Wirbelschichttrocknung (bei 60 °C) zeigte die höchste Trocknungsrate.



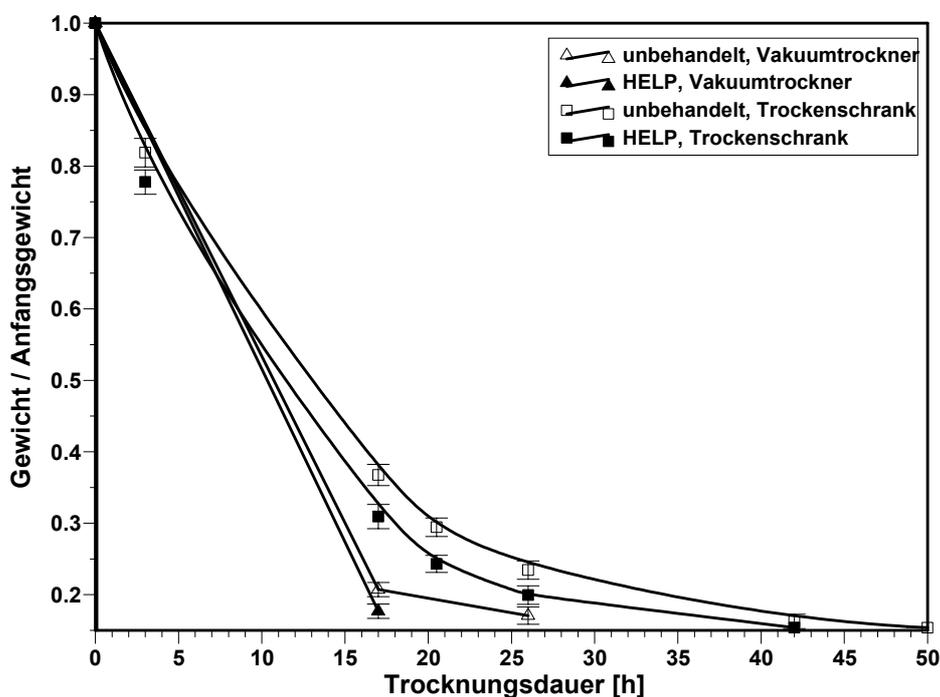
**Abb. 4.4.1:** Einfluss von HELP und verschiedenen Trocknungsverfahren bei 60 °C auf die Trocknungsdauer von Weinbeeren

Für die Wirbelschichttrocknung von unbehandelten Weinbeeren auf 30 % ihres Anfangsgewichts war eine Trocknungsdauer von ca. 22 h notwendig, während die HELP-vorbehandelte Probe schon innerhalb 14 h den gleichen Wert erreicht hatte. Noch deutlicher war der Einfluss von HELP-Vorbehandlung auf die Vakuumtrocknung von Weinbeeren. Im allgemeinen verläuft die Vakuumtrocknung von Weinbeeren sehr langsam. Innerhalb 30 h Vakuumtrocknung bei 60 °C erreichten die HELP-vorbehandelten Proben 32 % ihres Anfangsgewichts. Die unbehandelten Proben benötigten ca. 48 h, um bei sonst gleichen Versuchsbedingungen diesen Wert zu erreichen.

Bei der Trockenschrankmethode konnte ebenfalls eine bis zu 40 % schnellere Trocknung für HELP-vorbehandelte Weinbeeren im Vergleich zu unbehandelten festgestellt werden.

### Pflaumen

Im Gegensatz zu Weinbeeren konnte bei der Trocknung von Pflaumen eine nur geringfügige Beschleunigung der Trocknungsgeschwindigkeit durch HELP-Vorbehandlung festgestellt werden (Abb. 4.4.2). Während die unbehandelten Pflaumen nach 25 h im Trockenschrank und bei 60 °C Trocknungstemperatur auf 25 % ihres Anfangsgewichts getrocknet wurden, betrug die Trocknungsdauer von HELP-vorbehandelten Proben bei den gleichen Trocknungsbedingungen ca. 20 h. Dies bedeutet eine Zeitersparnis von 20 %. Die Trocknungsrate von Pflaumen bei Vakuumtrocknung (60 °C) war im allgemeinen höher als bei Trocknung im Trockenschrank bei 60 °C. Grundsätzlich galt hier auch eine erkennbar höhere Trocknungsrate (ca. 35 % bezogen auf unbehandelte Proben).

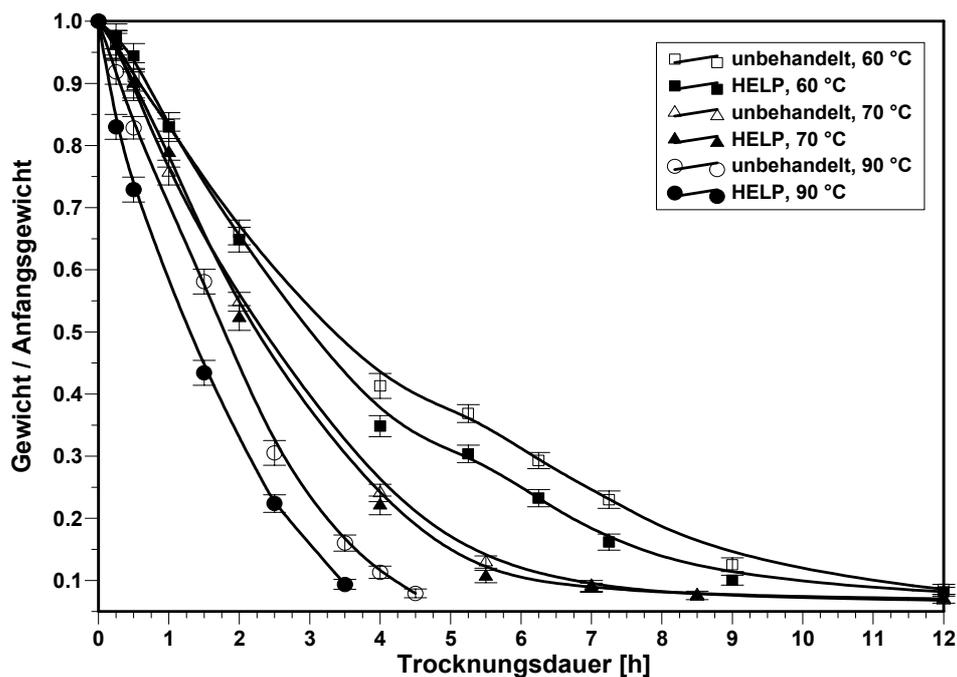


**Abb. 4.4.2:** Einfluss von HELP und verschiedenen Trocknungsverfahren bei 60 °C auf die Trocknungsdauer von Pflaumen

*Spargel*

Der Einfluss von HELP-Vorbehandlung auf die Erhöhung der Trocknungsgeschwindigkeit war bei 60 °C ausgeprägter als bei 70 °C. Dagegen war bei 90 °C der positive Effekt von Vorbehandlung auf die Verkürzung der Trocknungsdauer deutlich erkennbar (Abb. 4.4.3). Durch die HELP-Vorbehandlung konnte die Trocknungsdauer von 260 min (90 °C) der unbehandelten Proben auf 210 min verkürzt werden. Das bedeutet eine Zeitreduzierung von ca. 20 %.

Die Trocknung von Spargel verlief im Trockenschrank bei 70 °C sowohl für unbehandelten als auch für HELP-vorbehandelten Spargel deutlich langsamer als bei Wirbelschichttrocknung bei 70 °C. Die Trocknungsgeschwindigkeit im Vakuumtrockner war am geringsten (Abb. 4.4.4).



**Abb. 4.4.3:** Einfluss der Temperatur auf den im Trockenschrank getrockneten Spargel

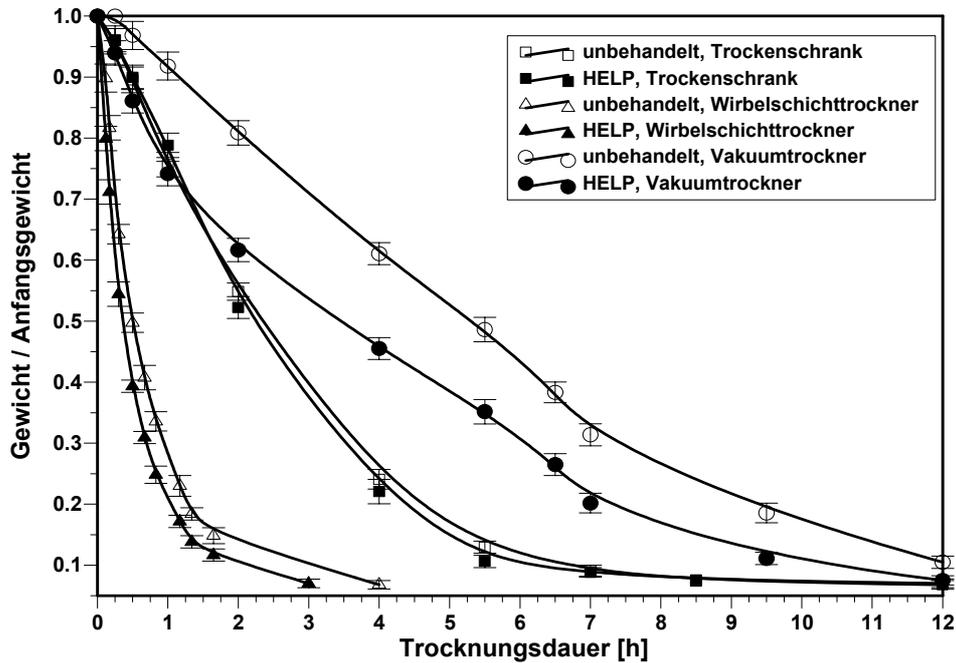


Abb. 4.4.4: Einfluss von Trocknungsverfahren bei 70 °C auf die Trocknungsdauer von Spargel

### 4.4.3 Rehydrationsrate

#### Weinbeeren

Wie aus Abbildung 4.4.5 zu entnehmen ist, zeigt die Rehydrationsrate (Re) von HELP-vorbehandelten Weinbeeren höhere Werte als für unbehandelte Proben. Innerhalb der HELP-vorbehandelten Weinbeeren zeigten die vakuum-getrockneten Proben den höchsten Rehydrationsgrad, gefolgt von wirbelschicht-getrockneten Proben.

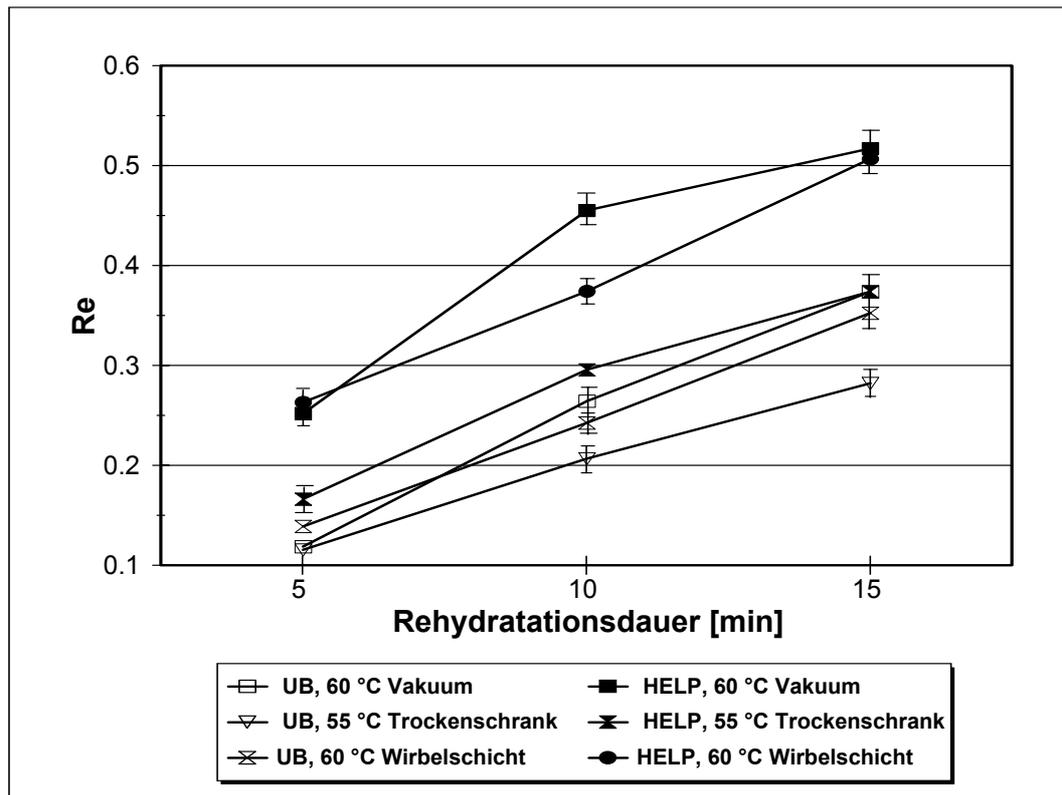


Abb. 4.4.5: Rehydrationsgrad un behandelter bzw. HELP-vorbehandelter Weinbeeren

#### Pflaumen

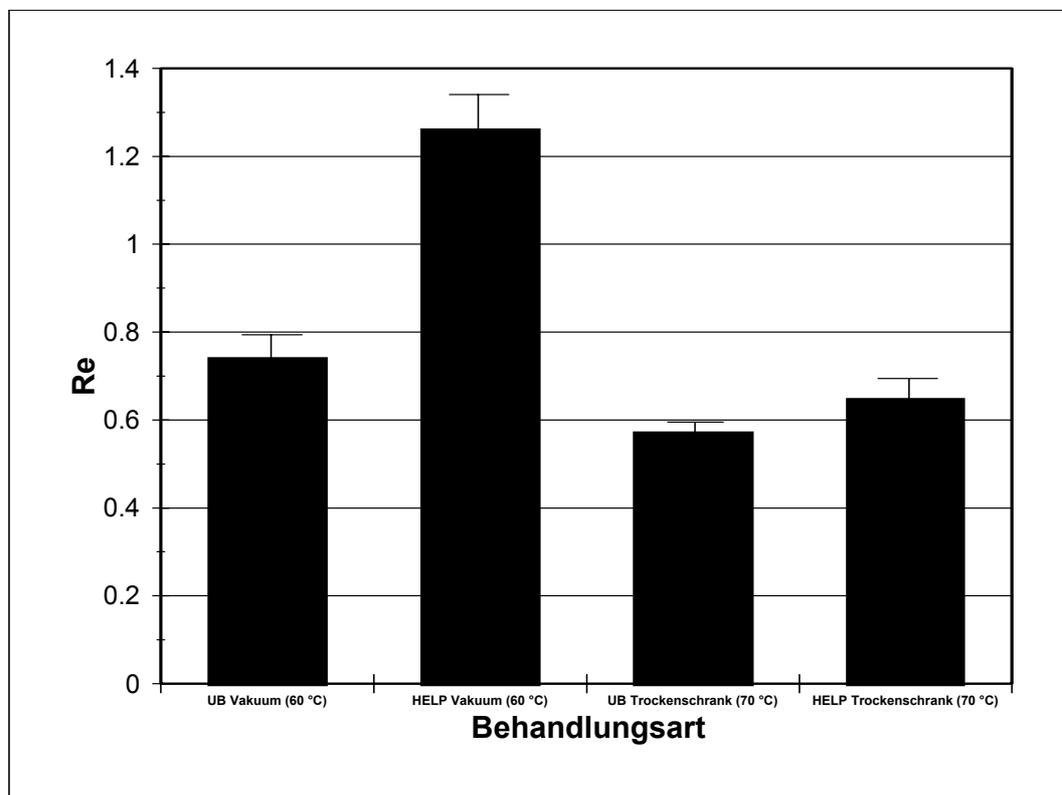


Abb. 4.4.6: Rehydrationsgrad un behandelter bzw. HELP-vorbehandelter Pflaumen

Interessant ist, dass Vakuumtrocknung sowohl bei unbehandelten als auch bei HELP-vorbehandelten Proben eine deutliche Erhöhung der Rehydration im Vergleich zu Trocknung im Trockenschrank bewirkt. Ebenfalls konnte eine Verbesserung der Rehydration durch HELP-Vorbehandlung sowohl bei vakuum-getrockneten als auch bei im Trockenschrank getrockneten Proben beobachtet werden. Der Einfluss von HELP-Vorbehandlung auf den Rehydrationsgrad war bei Vakuumtrocknung ausgeprägter (ca. 65 % Erhöhung des Rehydrationsgrades) als bei Trocknung im Trockenschrank (ca. 14 % Erhöhung) (Abb. 4.4.6).

### Spargel

Im Gegensatz zu Weinbeeren und Pflaumen wurde eine Verschlechterung der Rehydration bei HELP-vorbehandelten Proben im Vergleich zu unbehandelten beobachtet (Abb. 4.4.7). Während die in Wirbelschicht getrockneten Spargel eine geringfügige (ca. 3 %) Verschlechterung der Rehydration der HELP-vorbehandelten Proben im Vergleich zu unbehandelten zeigten, war der Unterschied zu im Trockenschrank getrocknetem Spargel nach der Rehydration signifikant deutlich (ca. 20 %).

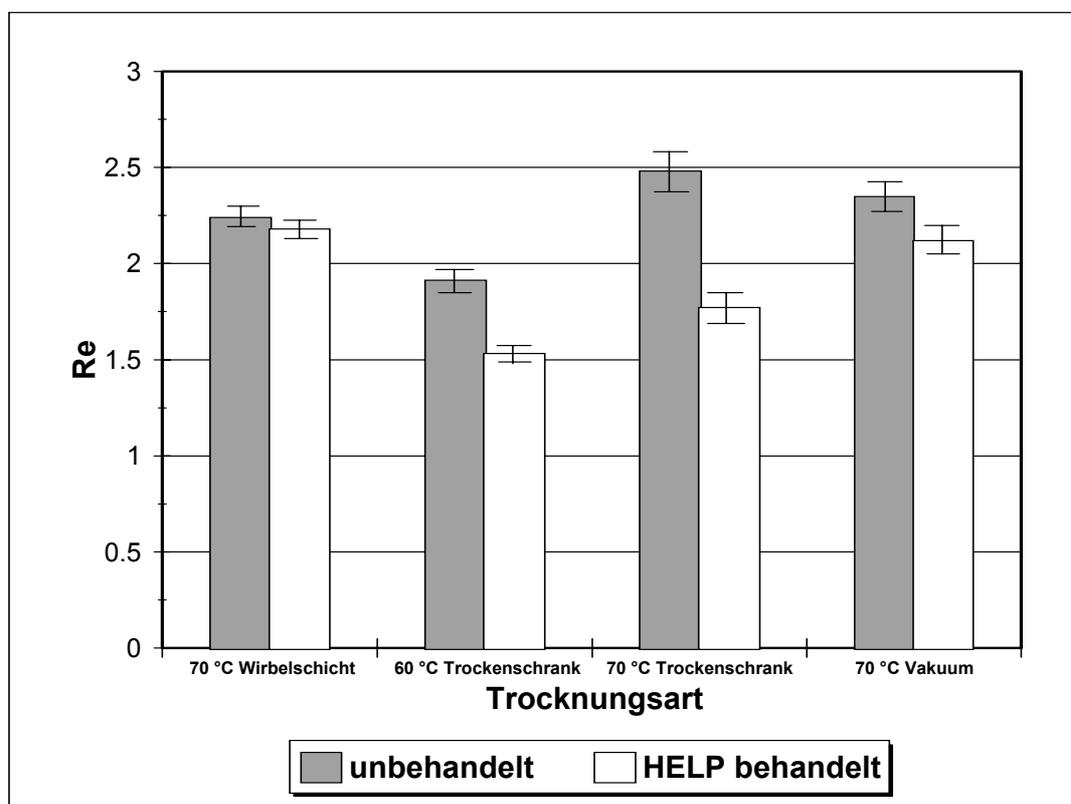


Abb. 4.4.7: Rehydrationsgrad unbehandelter bzw. HELP-vorbehandelter Spargel

Ebenfalls konnte ein Zusammenhang zwischen Art der Trocknung und dem Rehydrationsgrad festgestellt werden (Abb. 4.4.7). Der HELP-vorbehandelte und anschließend in Wirbelschicht getrocknete Spargel zeigte nur eine geringfügige Verschlechterung der Rehydration im Vergleich zu unbehandeltem. Dagegen war die Rehydration von HELP-vorbehandelten und anschließend im Trockenschrank bei 60 °C bzw. 70 °C getrockneten Proben erkennbar schlechter. Ebenfalls konnte festgestellt werden, dass der Rehydrationsgrad von der Trocknungsgeschwindigkeit abhängt. Niedrige Trocknungstemperatur (60 °C) führt zu geringerer Rehydration. Dies gilt sowohl für unbehandelten als auch HELP-vorbehandelten Spargel.

Die Rehydration ist nicht die Umkehrung der Trocknung. Texturveränderungen, Wanderung von Salzen sowie Verluste an flüchtigen Substanzen sind irreversibel. Hitze verringert die Hydratation (Wasseraufnahme) der Stärke sowie die Elastizität von Zellwänden, und die Koagulation von Proteinen führt zu verringertem Wasserbindungsvermögen [Fellows 1988].

Während der Trocknung wandern die phenolischen Substanzen, Monosacchariden und Aminosäuren vom Kernbereich an die Oberfläche der zu trocknenden Probe. Vermutlich wird dort nach Oxidation und Polymerisierung der phenolischen Substanz bzw. nichtenzymatischer Maillardreaktion eine Barrierschicht ausgebildet, die sowohl auf die Trocknungsrate als auch auf die Rehydration einwirkt. Je länger die Trocknungsdauer, desto mehr können die Substanzen an die Oberfläche gelangen, desto stärker ist demzufolge die Entstehung von enzymatischen und nicht-enzymatischen Bräunungsprodukten, desto ausgeprägter ist der Barriereeffekt. Dies führt dazu, dass die Proben, die bei niedrigerer Temperatur getrocknet wurden, geringere Trocknungsraten und Rehydratationen aufweisen.

#### **4.4.4 Textur**

Die HELP-Behandlung bewirkte eine Texturerweichung (Festigkeitsabnahme) sowohl bei Weinbeeren (Abb. 4.4.8) als auch bei Pflaumen (Abb. 4.4.9) und Spargel (Abb. 4.4.10). Die Texturerweichung war bei Pflaumen jedoch geringfügig (ca. 10 %). Eine bis zu ca. 40 %ige Texturerweichung trat bei Weinbeeren nach der HELP-Behandlung auf.

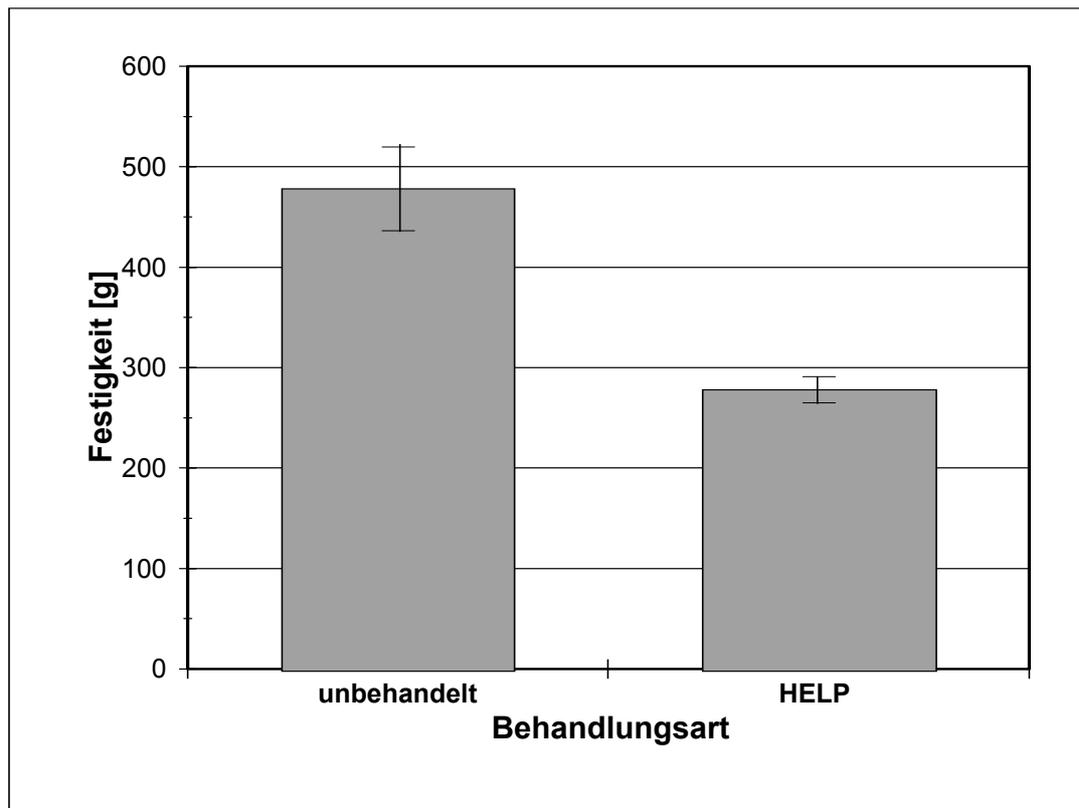


Abb. 4.4.8: Einfluss von HELP-Behandlung auf die Festigkeit von Weinbeeren

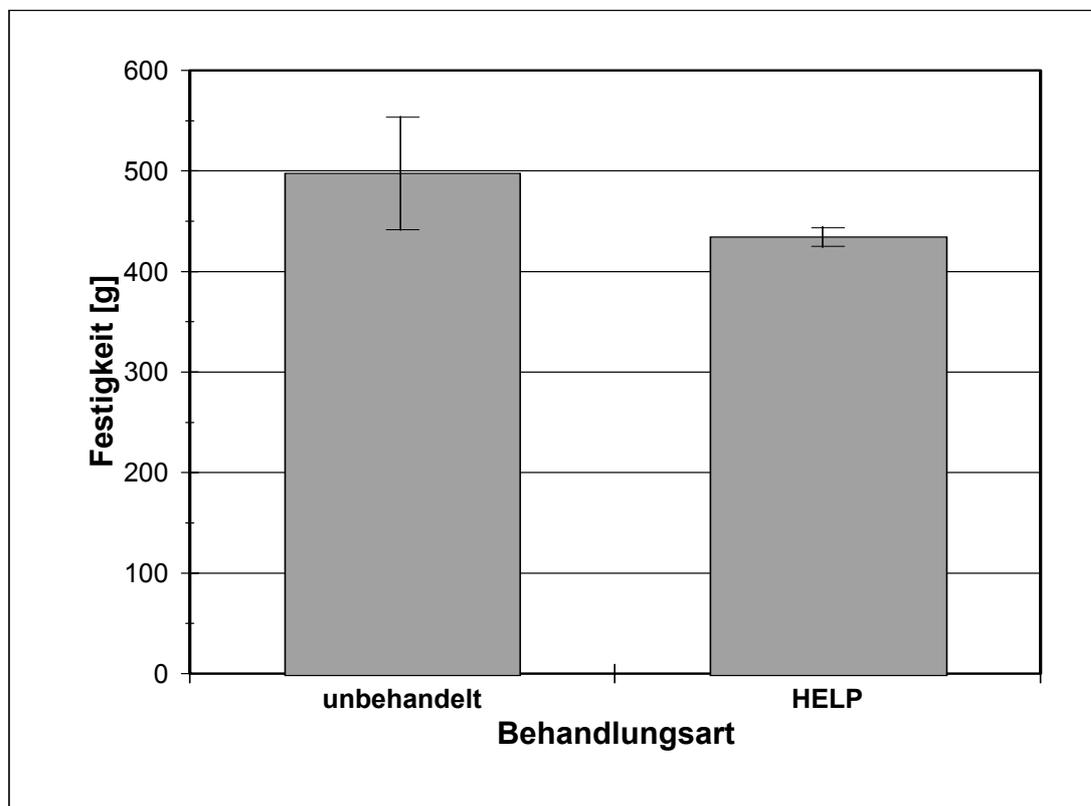
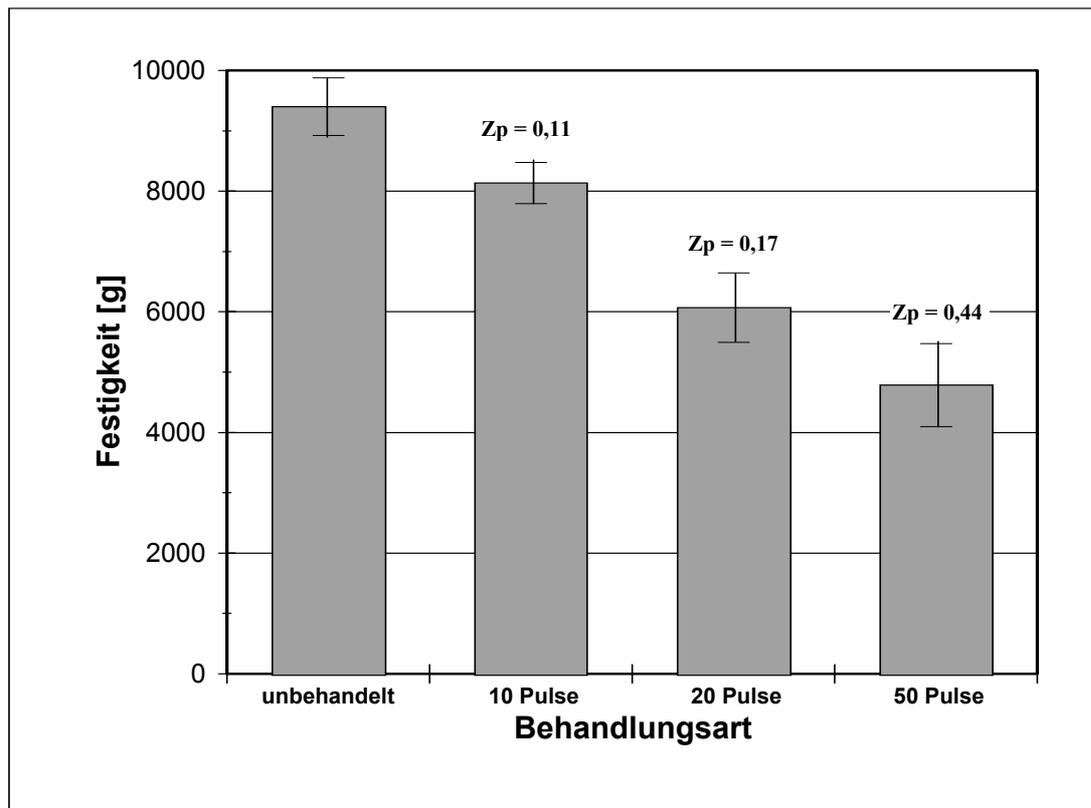


Abb. 4.4.9: Einfluss von HELP-Behandlung auf die Festigkeit von Pflaumen



**Abb. 4.4.10:** Einfluss von HELP-Behandlung auf die Festigkeit von Spargel

In Abbildung 4.4.10 ist der Einfluss der Pulszahl während der HELP-Behandlung auf die Textur von Spargel dargestellt. Mit steigender Pulszahl von 0 auf 50 bzw. steigendem Permeabilisierungsgrad ( $Z_p = 0,11-0,44$ ) nahm die Festigkeit der Proben stetig ab. Rastogi *et al.* (1999) haben ebenfalls eine stetige Texturerweichung innerhalb einer bestimmten Pulszahl im Falle von Möhren festgestellt. Die Vorbehandlung beeinflusste die Struktur und die architektonische Veränderung, was sich auf die Textur des Produkts auswirkte. Interessant ist es, dass die Textur, Trocknungs- und Rehydratations-produktes durch geeigneten Auswahl der HELP-Bedingungen einstellbar sind.

Bekanntlich wird die Texturfestigkeit bei pflanzlichen Zellen durch Zusammensetzung der Zellwand (Pektine, Cellulose, Hemicellulose, usw.) und Turgordruck in nativen Zellen bestimmt [Weipert *et al.* 1993]. Die Texturerweichung von pflanzlichen Materialien ist mit großer Wahrscheinlichkeit auf den Turgorverlust der Zellen infolge der Zellmembran-permeabilisierung und Aufhebung des aktiven Stofftransports der Zellmembran zurückzuführen.

## 4.4.5 Farbe

### Weinbeeren

**Tabelle 4.4.2:** Farbe ( $L$ -,  $a$ - und  $b$ -Wert) von Weinbeeren vor und nach der Rehydratation

Weinbeeren			vor der Rehydratation				nach der Rehydratation			
Trocknungsart	Vorbehandlung	Trocknungstemperatur [°C]	$L$	$a$	$b$	$a/b$	$L$	$a$	$b$	$a/b$
Trockenschrank	ohne	60	29,53±0,86	3,81±0,14	4,67±0,48	0,82	31,28±1,36	4,24±0,35	6,67±0,80	0,64
Trockenschrank	HELP	60	33,26±1,70	5,64±0,89	10,80±1,56	0,52	37,99±1,99	4,35±0,65	13,65±1,62	0,32
Wirbelschicht	ohne	60	32,23±1,94	5,61±1,16	9,30±0,28	0,60	35,30±1,45	5,58±1,51	14,10±0,61	0,40
Wirbelschicht	HELP	60	31,79±0,39	5,55±2,13	11,25±1,14	0,49	41,17±2,38	4,58±1,00	17,65±1,64	0,26
Vakuum	ohne	60	34,86±3,75	5,38±1,08	16,18±2,87	0,33	38,66±2,52	5,26±0,49	17,15±1,31	0,31
Vakuum	HELP	60	31,83±1,99	4,72±1,01	10,67±2,23	0,44	39,61±1,33	8,00±1,25	18,04±1,93	0,44

In Tabelle 4.4.2 sind die Farbwerte ( $L$ -,  $a$ -,  $b$ -Werte) für Weinbeeren nach der Trocknung bzw. Rehydratation wiedergegeben. Die Farbe der getrockneten bzw. rehydratisierten Weinbeeren war von der Vorbehandlung bzw. der Art der Trocknung abhängig. Die HELP-vorbehandelten Weinbeeren zeigten geringere  $a/b$ -Werte (Ausnahme: Vakuumtrocknung) im Vergleich zu unbehandelten Proben bei sonst gleichen Trocknungsbedingungen. Nach der 15-minütigen Rehydratation in siedendem destillierten Wasser stiegen der  $L$ -, und  $b$ -Wert bei allen Proben erkennbar an. Tendenziell wurde auch hier die höchste Helligkeit bei HELP-vorbehandelten Proben festgestellt, gefolgt von unbehandelten vakuumgetrockneten Weinbeeren nach der Rehydratation.

### Pflaumen

Vorbehandlung sowie Art der Trocknung hatte keinen nennenswerten Einfluss auf die Farbe von getrockneten bzw. rehydratisierten Pflaumen (Tabelle 4.4.3). Durch Wasseraufnahme in der Probe wurde eine Zunahme der  $b$ -Werte bzw. Abnahme der  $a/b$ -Werte nach der Rehydratation beobachtet.

**Tabelle 4.4.3:** Farbe ( $L$ -,  $a$ - und  $b$ -Wert) von Pflaumen vor und nach der Rehydratation

Pflaumen			vor der Rehydratation				nach der Rehydratation			
Trocknungsart	Vorbehandlung	Trocknungstemperatur [°C]	$L$	$A$	$b$	$a/b$	$L$	$a$	$b$	$a/b$
Trockenschrank	ohne	60	24,38±0,26	3,58±0,32	1,75±0,42	2,05	22,44±3,52	1,76±0,16	1,17±0,29	1,50
Trockenschrank	HELP	60	23,1±0,94	2,08±0,37	0,72±0,02	2,89	21,81±3,32	3,33±0,97	2,30±0,51	1,45
Vakuum	ohne	60	24,79±3,66	4,39±0,99	1,49±0,58	2,95	26,36±2,37	4,81±0,10	2,61±0,73	1,89
Vakuum	HELP	60	25,02±0,38	4,97±1,15	1,12±0,54	4,44	24,35±2,58	5,30±0,08	4,94±0,92	1,07

*Spargel*

Im Gegensatz zu Pflaumen wurde ein deutlicher Farbunterschied zwischen HELP behandeltem und unbehandeltem Spargel nach der Trocknung beobachtet (Tab. 4.4.4). Zusätzlich waren auch die Art der Trocknung sowie die Temperatur während der Trocknung entscheidend für die Farbe des getrockneten Spargels. Im allgemeinen bewirkte die HELP-Vorbehandlung eine starke Bräunung der Proben (geringer  $L$ -Wert, höherer  $a$ -Wert) während der Trocknung. Eine Erhöhung der Trocknungstemperatur im Trockenschrank verringerte die Farbunterschiede zwischen unbehandelten und HELP-vorbehandelten Proben. Innerhalb HELP-vorbehandelter Proben waren diejenigen, die in Wirbelschicht getrocknet wurden, heller als die im Trockenschrank bzw. Vakuumtrockner getrockneten. Dies zeigt, dass die Trocknungsmethoden bzw. -temperaturen, die zu einer schnelleren Trocknung bei HELP-vorbehandelten Proben führen, geringere Bräunungsreaktionen bewirken.

**Tabelle 4.4.4:** Farbe ( $L$ -,  $a$ - und  $b$ -Wert) von Spargel vor und nach der Rehydratation

Spargel			vor der Rehydratation				nach der Rehydratation			
Trocknungsart	Vorbehandlung	Trocknungstemperatur [°C]	$L$	$a$	$b$	$a/b$	$L$	$a$	$b$	$a/b$
Trockenschrank	ohne	60	51,02±8,00	7,35±1,37	23,32±3,05	0,32	39,36±3,40	8,85±0,74	19,53±2,34	0,45
Trockenschrank	HELP	60	49,61±3,97	8,43±0,68	22,98±1,37	0,37	43,02±5,11	9,55±1,37	21,44±2,29	0,45
Trockenschrank	ohne	70	77,31±0,03	2,13±0,33	22,95±2,45	0,09	52,70±1,24	7,15±0,30	26,38±0,69	0,27
Trockenschrank	HELP	70	55,23±1,27	8,00±0,41	27,40±0,80	0,29	44,83±5,31	10,45±5,0	26,45±3,36	0,40
Trockenschrank	ohne	90	65,33±2,26	6,72±0,31	28,43±0,58	0,24	51,59±3,40	6,76±0,56	27,37±0,69	0,25
Trockenschrank	HELP	90	61,01±3,94	6,94±0,78	27,94±1,2	0,25	50,04±3,93	8,13±1,42	25,71±1,73	0,32
Wirbelschicht	ohne	70	74,11±1,42	3,73±0,79	27,24±1,39	0,14	56,78±2,55	6,36±1,00	28,15±1,06	0,23
Wirbelschicht	HELP	70	64,60±2,38	4,95±0,75	24,74±1,49	0,20	49,35±1,41	8,21±0,95	26,40±1,83	0,31
Vakuum	ohne	70	68,24±7,02	3,96±0,85	26,47±2,54	0,15	57,07±2,74	6,06±1,01	25,32±3,16	0,24
Vakuum	HELP	70	52,19±7,16	7,63±1,84	28,29±2,86	0,27	42,17±4,65	9,52±1,56	23,54±2,32	0,40

Bei unbehandeltem Spargel trat die geringste Bräunung bei einer Trocknungstemperatur von 70 °C auf. Höhere (90 °C) bzw. tiefere (60 °C) Trocknungstemperaturen führten dagegen zu stärkeren Bräunungsreaktionen (Tabelle 4.4.4). Nach der Rehydratation sank der *L*-Wert sowohl für unbehandelte als auch HELP-vorbehandelte Proben stark ab. Hier galt auch, dass der HELP-vorbehandelte Spargel nach der Rehydratation eine dunklere Farbe aufwies als der rehydratisierte unbehandelte getrocknete.

Die HELP-Behandlung führte zur Aufhebung der Zellintegrität. Die membrangebundenen Enzymen, darunter Polyphenoloxidase (PPO) werden aus der Membran freigesetzt, gehen in die Lösung und kommen mit den phenolischen Substanzen in Kontakt, so findet die enzymatische Bräunung statt [Butz *et al.* 1994]. Zusätzlich kann die Maillardreaktion während der Warmlufttrocknung eine entscheidende Rolle bei der Entstehung von brauner Farbe im Produkt spielen.

#### 4.4.6 Schlussfolgerungen

Im allgemeinen war die Trocknungsgeschwindigkeit bei HELP-vorbehandelten Proben höher als bei unbehandelten. Bis zu 40 % Reduzierung der Trocknungszeit von kernlosen Weinbeeren konnte durch HELP erreicht werden (Tab. 4.4.5).

Ein Zusammenhang zwischen der Trocknungsart und dem Rehydrationsgrad konnte festgestellt werden. Die im Vakuum und in Wirbelschicht getrockneten Proben zeigten einen höheren Rehydrationsgrad als die im Trockenschrank getrockneten. Der Rehydrationsgrad hing von der Trocknungsgeschwindigkeit ab. Je höher die Trocknungsgeschwindigkeit war, desto größer war der Rehydrationsgrad. Dies galt sowohl für die unbehandelten als auch für die HELP-vorbehandelten Proben. HELP Vorbehandlung von Weinbeeren und Pflaumen führte zur besseren Rehydratation im Vergleich zu unbehandelten.

Die HELP-Behandlung bewirkte eine Texturerweichung. Texturerweichung war eine Funktion des Permeabilisierungsgrades. Je höher der Permeabilisierungsgrad, desto weicher war die Textur der Proben. Aufgrund der kürzeren Trocknungsdauer hatten die HELP-vorbehandelten Weinbeeren eine hellere Farbe als die unbehandelten. Um die

Bräunungsreaktion von Spargel während der Trocknung zu unterdrücken, sollten die Proben vor der Trocknung in Ascorbin- und/oder Zitronensäurelösung als Antioxidationsmittel eingetaucht werden.

**Tabelle 4.4.5:** Trocknungszeitreduzierung

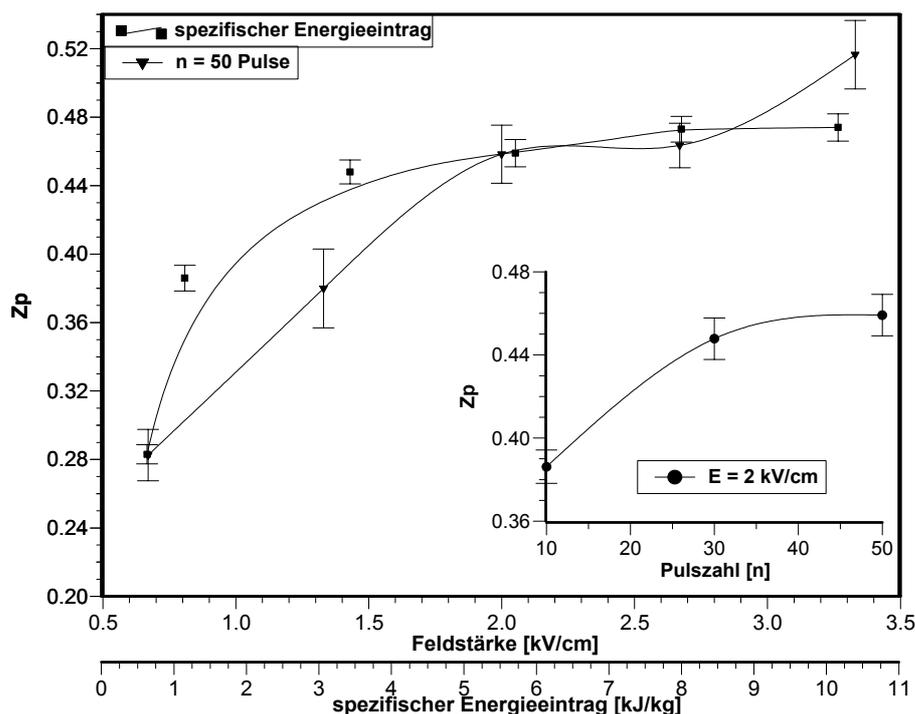
Produkt	HELP-Bedingung	Trocknungsbedingung		Reduzierung der Trocknungszeit [%]
		Trocknungsart	T [°C]	
Weinbeeren	1,4 kV/cm, 100 Pulse, 1 Hz	Trockenschrank	60	40
		Vakuumtrockner	60	29
		Wirbelschichttrockner	60	29
Pflaumen	1 kV/cm, 100 Pulse, 1 Hz	Trockenschrank	60	25
		Vakuumtrockner		35
Spargel	1 kV/cm, 50 Pulse, 1 Hz	Trockenschrank	60	14
			70	9
			90	20
		Vakuumtrockner	70	23
			Wirbelschichttrockner	70

## 4.5 Zellmembranpermeabilisierung und Fermentation von rotem Paprika

### 4.5.1 Zellmembranpermeabilisierung

Um einen  $Z_p$  im Bereich von 0,46 bis 0,49 in den Proben vor der Fermentation zu erzielen, wurden verschiedene Behandlungsparameter für die unterschiedlichen Vorbehandlungen untersucht.

*Charakterisierung der Zellmembranpermeabilisierung durch Hochspannungsimpulse*



**Abb. 4.5.1:** Einfluss der HELP-Behandlung auf den Permeabilisierungsgrad von rotem Paprika

In der Abbildung 4.5.1 ist der Einfluss der Feldstärke (konstante Pulszahl von 50) wiedergegeben. Ein lineares Anwachsen des Permeabilisierungsgrades konnte mit der Steigerung der Feldstärke bis auf 2 kV/cm beobachtet werden. Eine weitere Steigerung der Feldstärke auf 3,3 kV/cm bewirkte eine geringfügige Zunahme des Permeabilisierungsgrades.

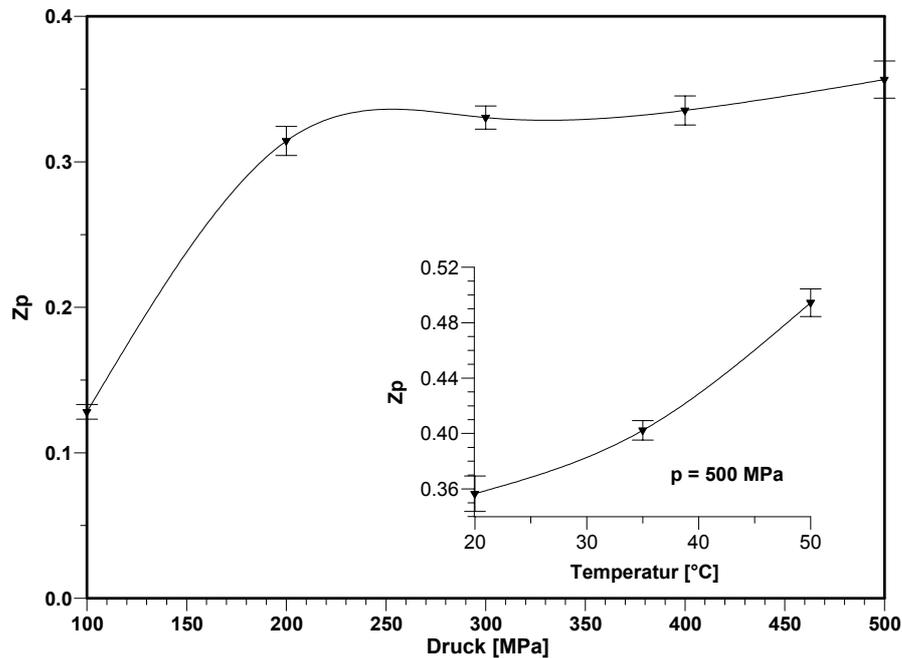
Die Kenntnis über den Energiebedarf zur Permeabilisierung ist aus wirtschaftlicher Hinsicht von großer Bedeutung. Interessanterweise konnte bei der Permeabilisierung von rotem Paprika durch HELP-Behandlung festgestellt werden, dass sich die Erhöhung des spezifischen Energieeintrages bis auf 3,4 kJ/kg den Permeabilisierungsgrad erhöhte. Eine weitere Erhöhung des spezifischen Energieeintrages bewirkte fast keine Erhöhung des Permeabilisierungsgrades. Ebenfalls stieg der Permeabilisierungsgrad mit der steigenden Pulszahl an. Mit der Erhöhung der Pulszahl bis auf 30 Pulse erhöhte sich der Permeabilisierungsgrad linear. Eine weitere Erhöhung der Pulszahl auf 50 Pulse steigerte den Permeabilisierungsgrad nur geringfügig (Abb. 4.5.1).

Rastogi *et al.* (1999) haben ebenfalls eine Erhöhung des Permeabilisierungsgrades von Möhren mit steigender Feldstärke sowie Pulszahl festgestellt. Eine HELP-Behandlung bei 2,67 kV/cm und 50 Pulse bewirkte einen Permeabilisierungsgrad von  $Z_p = 0,48$ .

#### *Charakterisierung der Zellmembranpermeabilisierung durch hydrostatischen Hochdruck*

Der Einfluss von Behandlungsdruck während der HP-Behandlung (20 °C, 10 min) auf den Permeabilisierungsgrad von rotem Paprika ist in Abb. 4.5.2 dargestellt. Die Druckerhöhung auf 200 MPa führte zum linearen Anstieg des Permeabilisierungsgrades. Die weitere Erhöhung des Drucks auf 500 MPa (20 °C, 10 min) hatte keine wesentliche Erhöhung des  $Z_p$  zur Folge. Angersbach *et al.* (2002) haben festgestellt, dass die Druckbehandlung von Äpfeln bis 50 MPa keinen Einfluss auf den Permeabilisierungsgrad hat. Erst bei Drücken  $\geq 75$  MPa konnten die Autoren eine Steigerung des Permeabilisierungsgrades in Zusammenhang mit steigendem Druck feststellen.

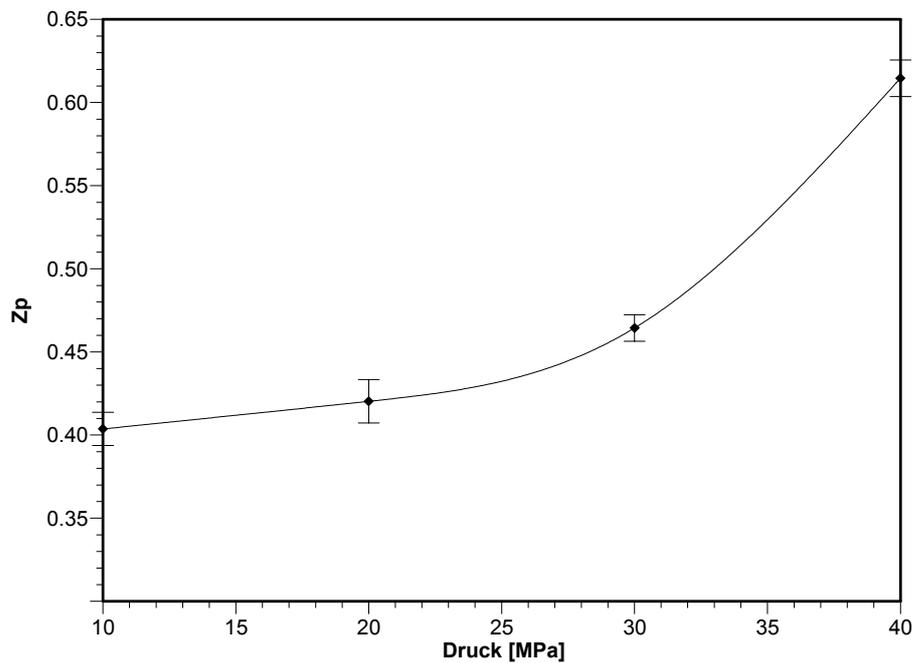
Ebenfalls wirkte die Temperaturerhöhung während der HP-Behandlung positiv auf die Steigerung des Permeabilisierungsgrades. Eine Temperaturerhöhung von 20 auf 50 °C (500 MPa, 10 min) erhöhte den Permeabilisierungsgrad um 50 % (Abb. 4.5.2). Rastogi *et al.* (2000) haben festgestellt, dass der Permeabilisierungsgrad von Ananas von Behandlungsdruck und -temperatur während der HP-Behandlung abhängt. Der Permeabilisierungsgrad von ca. 0,49 wurde durch HP-Behandlung bei 500 MPa, 50 °C und 10 min erzielt.



**Abb. 4.5.2:** Einfluss der HP-Behandlung auf den Permeabilisierungsgrad von rotem Paprika

#### *Charakterisierung der Zellmembranpermeabilisierung durch komprimiertes ( $c\text{CO}_2$ ) Kohlendioxid*

Die Erhöhung des Behandlungsdrucks während der  $c\text{CO}_2$ -Behandlung (20 °C, 10 min) steigerte den Permeabilisierungsgrad von rotem Paprika deutlich (Abb. 4.5.3). Es konnte einen relativ hohen Permeabilisierungsgrad ( $Z_p = 0,4$ ) bei niedrigem Druck von 10 MPa erreicht werden. Die  $c\text{CO}_2$ -Behandlung bei 30 MPa, 20 °C für 10 min resultierte in einen Permeabilisierungsgrad von  $Z_p = 0,46$ .



**Abb. 4.5.3:** Einfluss der cCO<sub>2</sub>-Behandlung auf den Permeabilisierungsgrad von rotem Paprika

*Die verwendeten Behandlungsparameter für die Fermentation*

In Tabelle 4.5.1 sind die Behandlungsbedingungen, bei denen einen Permeabilisierungsgrad von 0,46–0,49 durch die nichtthermischen Verfahren erzielt werden konnten, wiedergegeben.

**Tabelle 4.5.1:** Die verwendeten Behandlungsparameter für den Fermentationsversuch

<b>Methode</b>	<b>Behandlungsparameter</b>	<b>Zp</b>
unbehandelt (Ub)	-	0
HELP	2,67 kV/cm, 50 Pulse, 1 Hz	0,48
HP	500 MPa, 50 °C, 10 min	0,49
cCO <sub>2</sub>	30 MPa, 20 °C, 10 min	0,46

## 4.5.2 Einfluss von Vorbehandlungen auf die Fermentationskinetik von rotem Paprika

Die Inhaltsstoffe von rotem Paprika sind in der Tabelle 4.5.2 wiedergegeben [Souci *et al.* 1981].

**Tabelle 4.5.2:** Inhaltsstoffe von rotem Paprika [Souci *et al.* 1981]

Inhaltsstoff	Menge (in 100 g Rohware)
Wasser	87 – 93 g
Mineralstoffe	0,50 – 0,70 g
Glukose	0,93 – 2,22 g
Fruktose	0,88 – 1,91 g
Saccharose	0,0 – 0,36 g
Apfelsäure	60 mg
Zitronensäure	262 mg

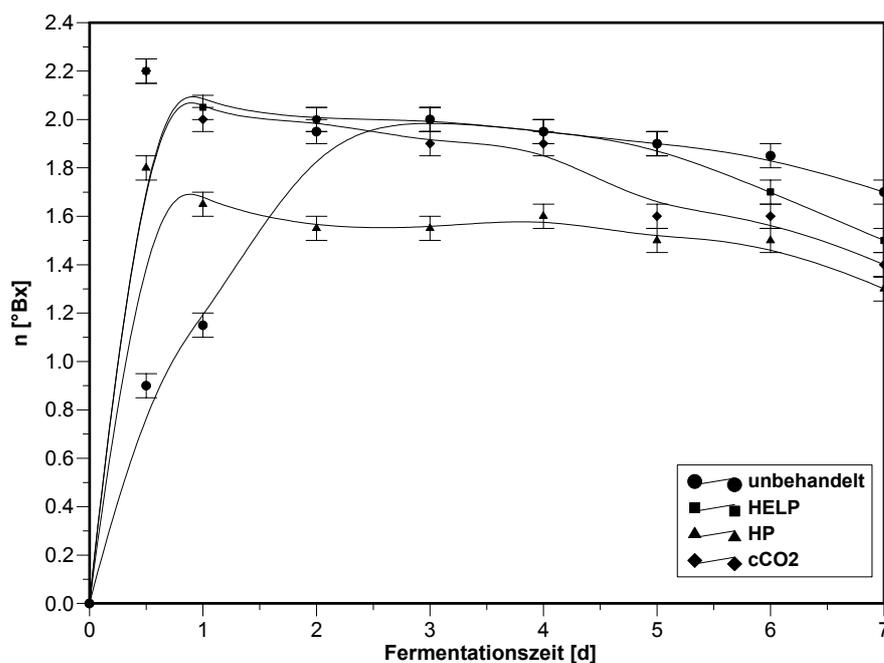
### *Brix-Wert*

In Abbildung 4.5.4 ist der Brix-Wert des Mediums während der Fermentation dargestellt. Daraus kann man erkennen, dass die nichtthermischen Vorbehandlungen zur Zellmembranpermeabilisierung führten. Dadurch wurde der Stoffaustritt beschleunigt. Infolgedessen erreichten die vorbehandelten Proben (HELP, HP, cCO<sub>2</sub>) ihre maximale Brix-Werte (Konzentrationsausgleich zwischen Probe und Medium) schon am ersten Tag, die unbehandelten ( $n = 1,95$  °Bx) erst am dritten Tag.

Die Abnahme der Brix-Werte während der Fermentation ist auf zwei Faktoren zurückzuführen. Zum einen werden die Zuckermoleküle durch homofermentative Mikroorganismen (*Lactobacillen*) in Milchsäure umgesetzt. Das führte dazu, dass der Brix-Wert bei allen fermentierten Proben mit der Fermentationszeit abnahm. Bei vorbehandelten Proben war dies ausgeprägter als bei unbehandelten. Je schneller die Zuckermoleküle aufgrund der Zellmembranpermeabilisierung aus dem Gewebe heraustraten, desto schneller war die Umwandlung der Zuckermoleküle in Säure. Zum anderen beeinflusste auch die Anwesenheit der Säure die refraktometrische Bestimmung des Zuckergehalts in der Lösung. Je höher der

Säuregehalt in einer Lösung, desto tiefer liegt der Brix-Wert bei sonst konstanter Zuckermenge in einer Lösung.

Innerhalb der vorbehandelten roten Paprika lag der Brix-Wert bei HP-vorbehandelten (max. 1,8 °Bx) tiefer als bei HELP- bzw. cCO<sub>2</sub>-vorbehandelten (max. 2,2 °Bx). Dies ist auf das teilweise Auslaugen von Zellinhaltsstoffen ins Behandlungsmedium während der HP-Behandlung zurückzuführen. Eshtiaghi und Knorr (1993) haben festgestellt, dass bei Gemüse, das mit dem gleichen Probe-Wasser-Verhältnis wie beim Wasserblanchieren mit HP behandelt wurde, fast die gleiche Auslaugung von Ionen wie beim Wasserblanchieren aufwies. Bei HP-Behandlung von vakuumverpacktem Gemüse trat dagegen nur sehr geringe Auslaugung auf, die deutlich kleiner als beim Wasserblanchieren war.

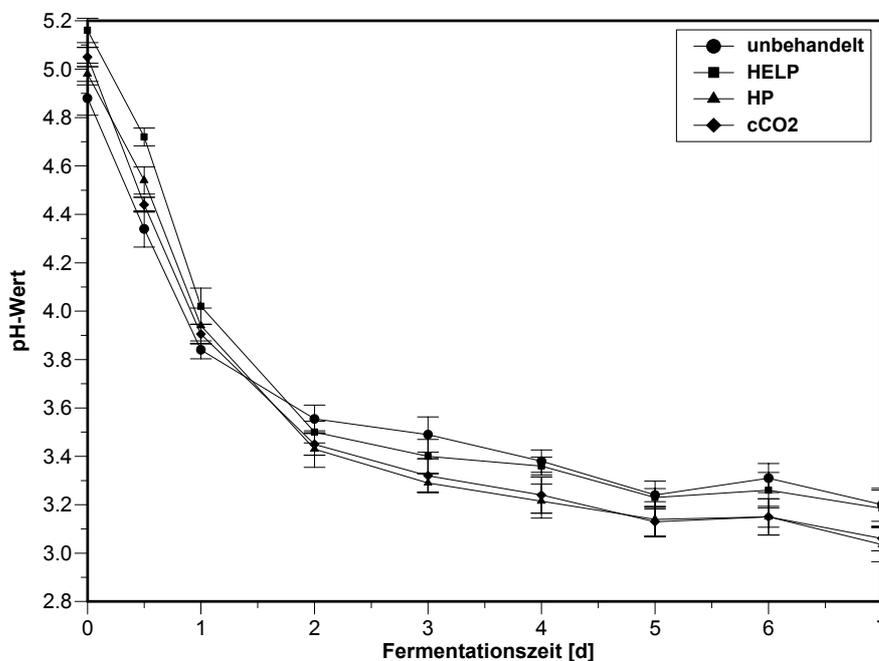


**Abb. 4.5.4:** Einfluss von Vorbehandlungen auf den Brix-Wert (n) von rotem Paprika während der Fermentationszeit

#### *pH-Wert*

Der pH-Wert von fermentiertem roten Paprika sank innerhalb 24 h unterhalb 4,0 (Abb. 4.5.5). Nur Milchsäurebakterien können in diesem pH-Bereich überleben [Lück 1986]. Der verhältnismäßig niedrige Anfangs-pH-Wert bei allen Proben ( $\text{pH} \leq 5,2$ ) ist auf die

Verwendung von 0,5 %iger Natriumchloridlösung als Fermentationsmedium zurückzuführen. Permeabilisierung von rotem Paprika durch HELP, HP und  $c\text{CO}_2$  führt zum erhöhten Austritt der Alkali-Ionen (z.B.  $\text{K}^+$ -Ionen) aus der Zellen in das Fermentationsmedium. Da Kationen zu einer Erhöhung des pH-Werts bei den ungepufferten Lösungen führen, kann so der geringfügig höhere Anfangs-pH-Wert im Fermentationsmedium von vorbehandelten Proben im Vergleich zu unbehandelten erklärt werden. Während der Fermentationszeit sank der pH-Wert aufgrund der Umwandlung von Kohlenhydraten in Säuren durch Milchsäurebakterien stetig ab. Hier ist deutlich zu erkennen, dass der pH-Wert der unbehandelten Probe nach der Fermentation um ca. 0,2 Einheit höher als bei HP- bzw.  $c\text{CO}_2$ -vorbehandelten lag.

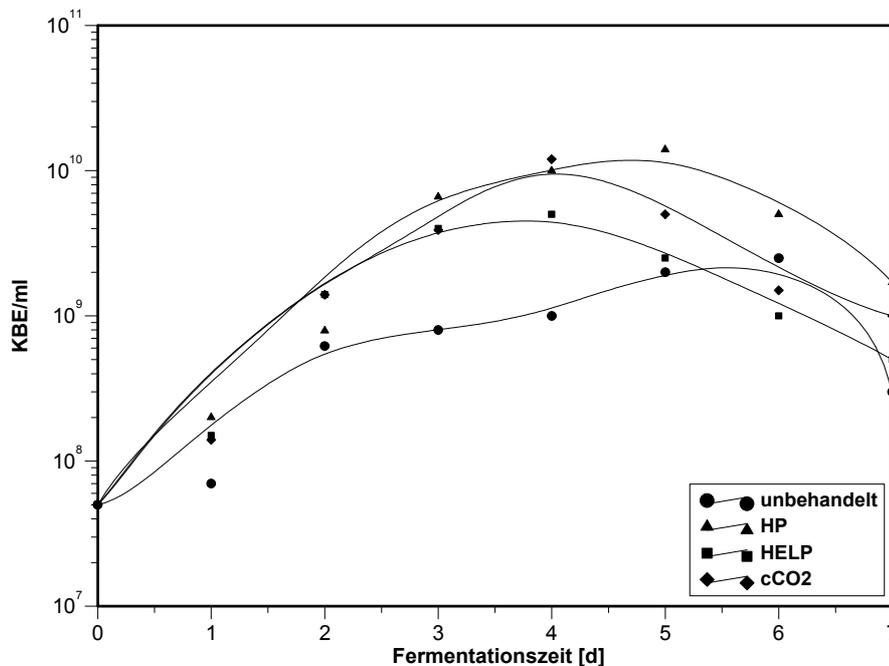


**Abb. 4.5.5:** Einfluss von Vorbehandlungen auf den pH-Wert von rotem Paprika während der Fermentationszeit

#### *Milchsäurebakterien*

Obwohl die eingesetzte Anfangskeimzahl ( $\geq 10^7$ ) hoch war, wurde ein deutlicher Unterschied zwischen unbehandelten und vorbehandelten Proben festgestellt (Abb. 4.5.6). Während die HELP- bzw.  $c\text{CO}_2$ -vorbehandelten Proben ihre maximale Keimzahl ( $4,5 \cdot 10^9$  bzw.  $1 \cdot 10^{10}$  KBE/ml) innerhalb von vier Tagen erreichten, zeigten die unbehandelten Proben erst nach 6 Tagen die maximale Keimzahl ( $2 \cdot 10^9$  KBE/ml). Dies zeigt, dass die maximale Keimzahl unbehandelter Proben durch nichtthermische Vorbehandlung zwei Tage früher

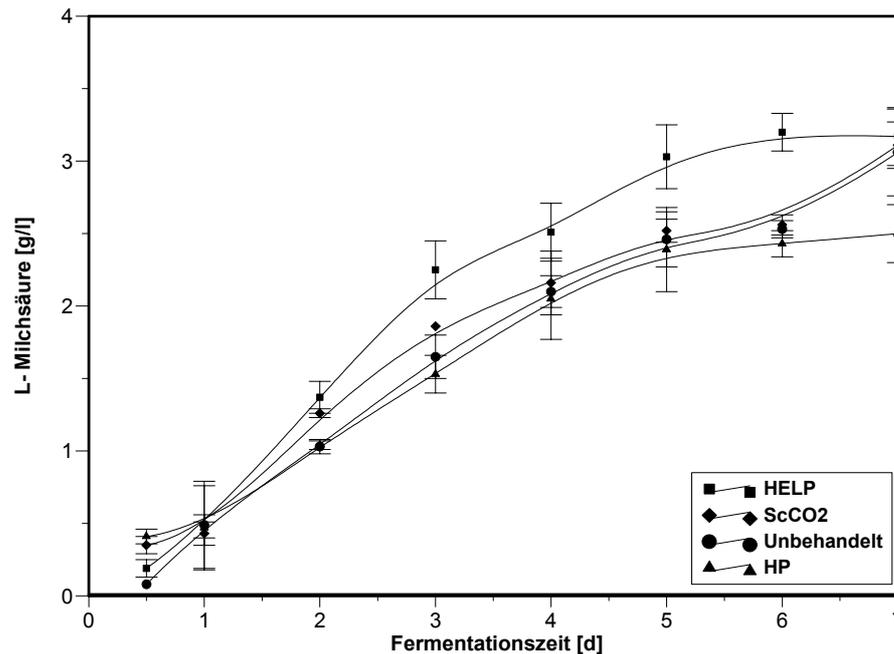
erzielt werden kann. Die Vorbehandlungen verursachten also einen besseren und schnelleren Zellaufschluss als die unbehandelten. Trotz der Inhaltsstoffverluste während der HP-Behandlung (s. 4.5.6) zeigte die Probe eine höhere Keimzahl im Vergleich zu unbehandelten.



**Abb. 4.5.6:** Einfluss der Vorbehandlungen auf die Keimzahl von rotem Paprika während der Fermentation

### Milchsäure

Der rasche Anstieg des Säuregehalts im Medium während der Fermentation ist mit großer Wahrscheinlichkeit auf zwei Faktoren zurückzuführen. Der erste Grund ist die hohe Anfangskeimzahl, die eine schnelle Umsetzung des ausgelaugten Zuckers in Milchsäure hervorruft. Als zweite Grund kann die Verwendung von Starterkultur (anaeroben Milchsäurebakterien) für die Fermentation genannt werden. Die Impfung mit Milchsäurebakterien führt zu einer fast verlustfreien Umwandlung des Zuckers in Milchsäure und zu einer schnellen pH-Wert-Abnahme [Liepe und Junker 1978]. Mit der spontanen Fermentation, wie in einer konventionellen Fermentation von Sauerkraut, wurde ein erheblicher Anteil des Zuckers in der Fermentationslösung durch anwesende Hefen in CO<sub>2</sub> verwertet.



**Abb. 4.5.7 a:** Einfluss der Vorbehandlungen auf die L-Milchsäure von rotem Paprika mit Fermentationszeit

Die Abbildungen 4.5.7 a, b, c zeigen, dass die Vorbehandlung zu einer starken Säurebildung und Verkürzung von Fermentationszeit führt. Aus der Literatur ist bekannt, dass ein Milchsäuregehalt von  $\geq 5$  g/l ausreichend für die Haltbarmachung von Lebensmitteln ist [Lück 1986]. Dieser Säuregehalt wurde bei der unbehandelten Probe in drei Tagen erreicht (Abb. 4.5.7 c). Durch Vorbehandlung mit HELP konnte dieser Säuregehalt bereits in zwei Tagen erreicht werden. Der geringere L-, D-Milchsäure- und Gesamtsäuregehalt von HP-vorbehandelten Probe im Vergleich zu unbehandelten bzw. HELP-, HP-vorbehandelten ist, wie schon im Fall von Brix-Wert erwähnt wurde, auf das Auslaugen von Inhaltsstoffen des roten Paprikas während der HP-Behandlung zurückzuführen.

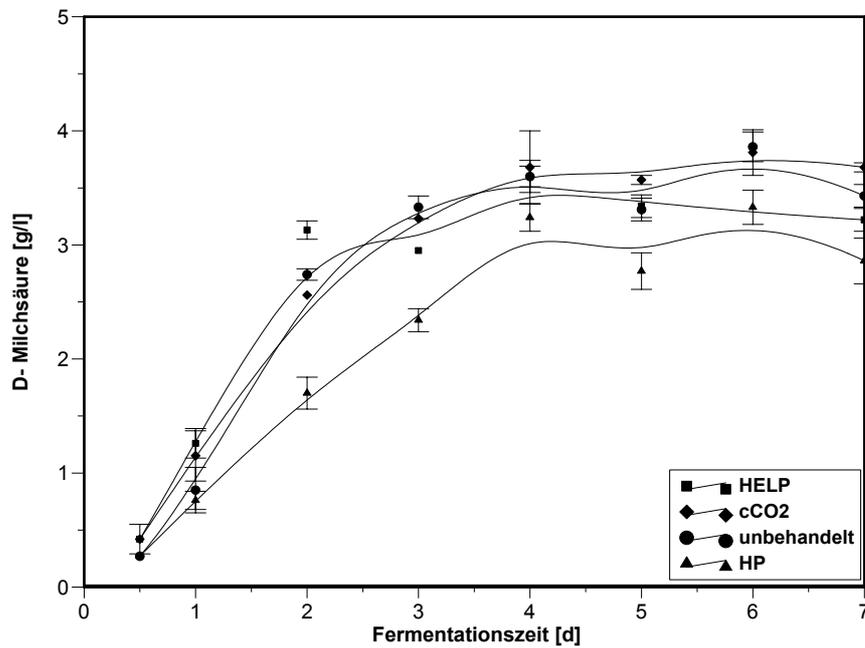


Abb. 4.5.7 b: Einfluss der Vorbehandlungen auf die D-Milchsäure von rotem Paprika während der Fermentation

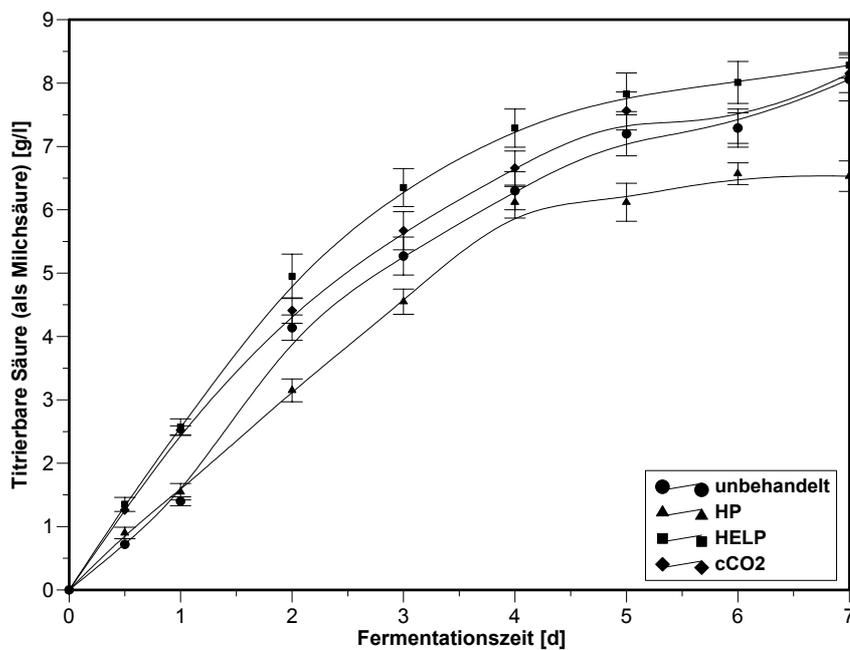
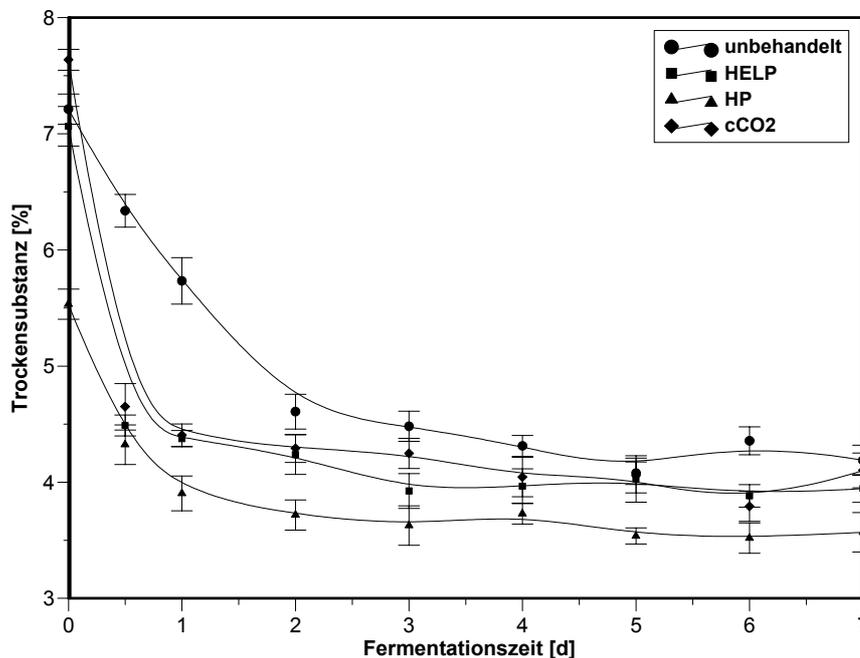


Abb. 4.5.7 c: Einfluss der Vorbehandlungen auf die titrierbare Säure (berechnet als Milchsäure) von rotem Paprika während der Fermentation

## Trockensubstanz

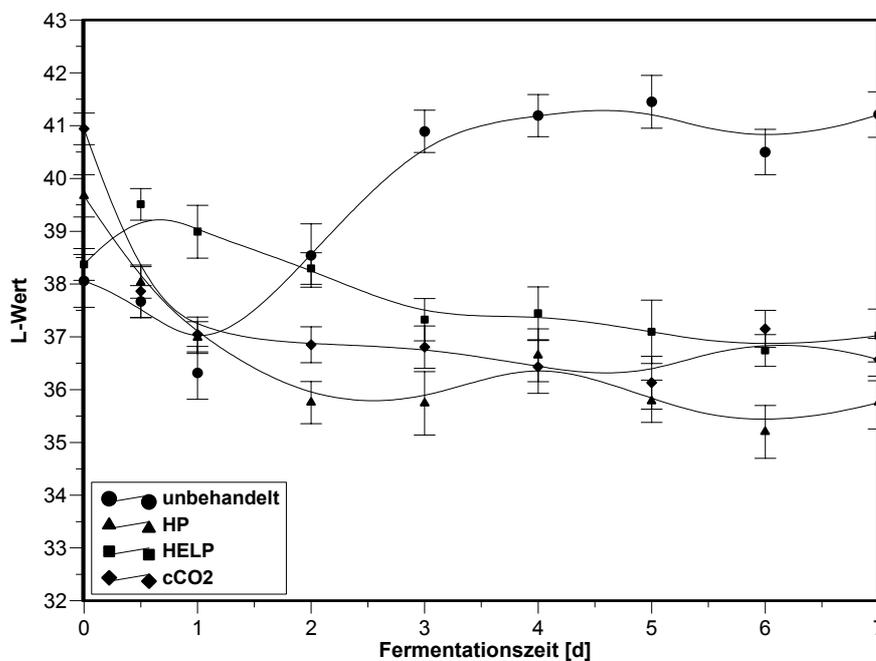


**Abb. 4.5.8:** Einfluss der Vorbehandlungen auf den Trockensubstanz von rotem Paprika mit Fermentationszeit

Der erkennbar geringe Trockensubstanzgehalt von HP-vorbehandeltem roten Paprika bestätigt die Vermutung, dass die Zellinhaltsstoffe während der HP-Behandlung zum Teil ins Behandlungsmedium ausgelaugt waren. Aufgrund der intakten Zellmembran bei unbehandeltem roten Paprika wurde ein höherer Trockensubstanzgehalt im Vergleich zu vorbehandelten sowohl am Anfang als auch während der Fermentationszeit beobachtet (Abb. 4.5.8). Die vorbehandelten Proben hatten zwar den gleichen Permeabilisierungsgrad, aber der Mechanismus der Membranpermeabilisierung verursachte unterschiedlichen chemischen und strukturellen Veränderungen, die ihre Weiterverarbeitung beeinflussten (s. Abschnitt 4.1–4.3). Während der Fermentation nahm die Trockensubstanz von un- und vorbehandeltem roten Paprika zuerst sehr stark und dann sehr langsam ab. Dies ist auf das Auslaugen von Inhaltsstoffen (vor allem Zucker, Mineralien, natürlichen Säuren (s. Tab. 4.5.1) ins Fermentationsmedium, aufgrund der Konzentrationsdifferenz zwischen Probe und Medium zurückzuführen. Die Trockensubstanzabnahme während der Fermentationszeit war jedoch bei unbehandelten Proben erkennbar kleiner als bei vorbehandelten.

*Farbe*

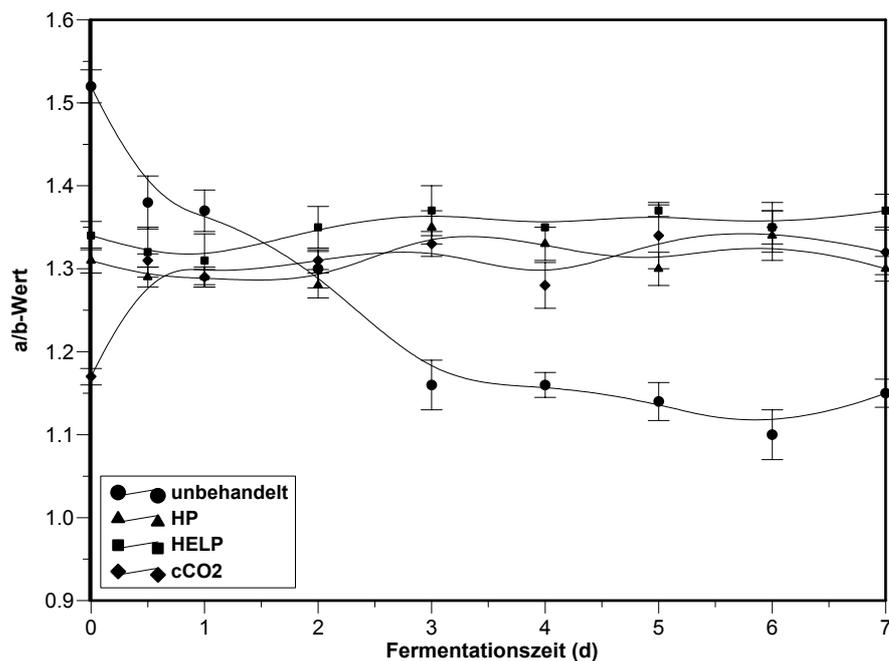
Die Helligkeit ( $L$ -Wert) und der  $a/b$ -Wert von fermentiertem roten Paprika ist aus Abbildung 4.5.9 a, b zu entnehmen. Die unbehandelte Probe zeigt eine geringfügige Abnahme der  $L$ -Wert bis auf dem ersten Fermentationstag. Während der weiteren Fermentationszeit (bis auf dem dritten Fermentationstag) steigt der  $L$ -Wert weiter an, um bis auf dem siebten Fermentationstag konstant zu bleiben. Dagegen wurde eine stetige Abnahme der  $a/b$ -Wert mit steigender Fermentationszeit festgestellt. Der vorbehandelte rote Paprika zeigte einen signifikant höheren ( $c\text{CO}_2$ , HP) bzw. vergleichbaren (HELP)  $L$ -Wert im Vergleich zu unbehandeltem. Der deutlich höhere  $L$ -Wert der  $c\text{CO}_2$ -vorbehandelten Probe am Anfang der Fermentation ( $t = 0$  d) ist vermutlich auf die Diffusion von  $\text{CO}_2$ -Gas in die Probe während der  $c\text{CO}_2$ -Behandlung zurückzuführen. Nach der Druckentlastung bleibt ein Teil des gelösten  $\text{CO}_2$ -Gases im Paprika-Gewebe. Dies führt zu einer Veränderung der Farbreflexion und höherem  $L$ -Wert bzw. tieferen  $a/b$ -Wert. Während der Fermentation setzt sich das  $\text{CO}_2$ -Gas langsam aus dem Gewebe frei, was zu einem Anstieg der  $a/b$ -Wert (Verschiebung der Farbe in Richtung rot) führt (Abb. 4.5.9 b).



**Abb. 4.5.9 a:** Einfluss der Vorbehandlungen auf die  $L$ -Werte von rotem Paprika während Fermentation

Der Einfluss von Hochdruck auf die Carotinoide von grünem Paprika wurde von Clever und Tauscher (1994) untersucht. Eine Druckbehandlung bei 300 MPa und 30 °C für 66 Stunden hatte keine Veränderung der Carotinoide zur Folge.

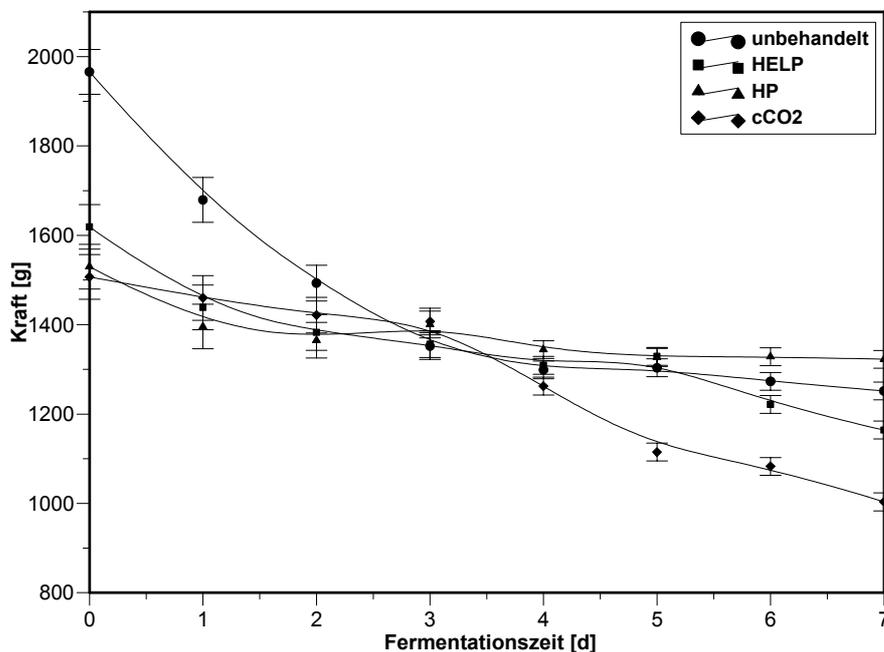
Der  $L$ -Wert der HP- bzw. HELP-vorbehandelten Probe nahmen bis zum dritten Fermentationstag ab und besaßen einen konstanten Wert bis zum Ende der Fermentation. Ebenso wurde fast ein konstanter  $a/b$ -Wert für die mit HP-, HELP- und  $c\text{CO}_2$ - vorbehandelten Proben während der gesamten Fermentationszeit beobachtet. Die  $L$ - und  $a/b$ -Werte der vorbehandelten Proben lagen am Ende der Fermentation nahe beieinander und zeigten erkennbar tiefere  $L$ -Werte bzw. höhere  $a/b$ -Werte als die unbehandelten, wobei die HELP-vorbehandelten Proben eine bessere Farberhaltung während des Fermentationsprozesses zeigten.



**Abb. 4.5.9b:** Einfluss der Vorbehandlungen auf den  $a/b$ -Wert von rotem Paprika während der Fermentation

*Textur*

Die Vorbehandlungen bewirkten eine deutliche Texturerweichung im Vergleich zu frischem roten Paprika (ca. 20–25 %). Die Festigkeit von unbehandelten Proben nahm in den ersten 3 Tagen der Fermentation deutlich ab. Die Verlängerung der Fermentationszeit von 3 auf 7 Tage führte zu einer weiteren, jedoch geringfügigen Festigkeitsabnahme. Es wird vermutet, dass die Produktion von Säuren während der Fermentation die Texturerweichung von fermentiertem roten Paprika hervorruft. Hoher Säuregehalt während der Fermentation kann die Festigkeit von Gurken [Thompson *et al.* 1979] und Oliven [Etchells *et al.* 1996] negativ beeinflussen. Bekanntlich führt Milchsäure-Konzentration von 0,8–1 % in fermentiertem Produkt zu einer Texturerweichung [Bell *et al.* 1972]. Die vorbehandelte Probe zeigte eine geringfügige kontinuierliche Festigkeitsabnahme während der Fermentation. Die Festigkeitsabnahme war bei cCO<sub>2</sub>-vorbehandeltem roten Paprika ausgeprägter als bei HELP vorbehandeltem. Die höchste Festigkeit von fermentiertem roten Paprika wurde bei HP-vorbehandelten Proben beobachtet.



**Abb. 4.5.10:** Einfluss der Vorbehandlungen auf die Textur von rotem Paprika während der Fermentation

### 4.5.3 Schlussfolgerungen

HELP, HP and cCO<sub>2</sub> Vorbehandlungsmethoden sind geeignete Methoden für die nichtthermische Permeabilisierung und Beschleunigung der Fermentation von rotem Paprika. Der nichtthermische Permeabilisierungseffekt ist stark von den ausgewählten Behandlungsparametern abhängig. Ein Permeabilisierungsgrad von 46 – 49 % ( $Z_p = 0,46–0,49$ ) konnte durch HELP bei 2,67 kV/cm, 50 Pulse oder durch HP bei 500 MPa, 50 °C für 10 min bzw. durch cCO<sub>2</sub> bei 30 MPa, 20 °C, für 10 min erzielt werden.

Die Auslaugung der Zellinhaltsstoffe während der HP-Behandlung führte zu einer niedrigen Trockensubstanz der Probe. Um diese Auslaugung zu minimieren, sollte die Fermentations-salzlösung als druckübertragendes Medium der HP-Behandlung verwendet werden oder der rote Paprika während der HP-Behandlung vakuumverpackt werden.

Die Auslaugung von Zellinhaltsstoffen (Zucker, Ionen) in die Fermentationslösung der vorbehandelten Probe war deutlich höher als die unbehandelten. Ebenfalls zeigten die vorbehandelten roten Paprika erkennbar schnelleres Mikroorganismenwachstum und höhere Milchsäurebildung als die unbehandelten, was zur Verkürzung der Fermentationszeit auf zwei Tagen (30%) führte.

Im allgemeinen führten die Vorbehandlungen zu einer Texturerweichung sofort nach der Behandlung, jedoch waren die unbehandelten Proben am Ende der Fermentation weicher als die HP-vorbehandelten Proben.

---

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

---

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss von verschiedenen nichtthermischen Verfahren (elektrische Hochspannungsimpulse „HELP“, hydrostatischer Hochdruck „HP“, komprimiertes „cCO<sub>2</sub>“ bzw. überkritisches Kohlendioxid „ScCO<sub>2</sub>“ und Hochleistungsschall „US“) auf die Zellmembranpermeabilisierung (frequenzabhängige Leitfähigkeitsmessung mittels Breitband-Impedanzmessgerät) von verschiedenen exemplarisch ausgewählten pflanzlichen Geweben (Weinbeeren, Rote Beete, Mango und Pflaumen, Spargel und roter Paprika) untersucht und mit konventionellen thermischen Permeabilisierungsverfahren verglichen. Danach wurde der Effekt von nichtthermischen Permeabilisierungsmethoden auf die anschließenden Verarbeitungsprozesse (Entsaftung, Extraktion, osmotische- und Warmlufttrocknung sowie Fermentation) untersucht. Dabei wurde besondere Aufmerksamkeit auf die ernährungsphysiologische und sensorische Verbesserung der erzeugten Produkte geschenkt. Schließlich wurde die Effektivität von verschiedenen nichtthermischen Verfahren auf nachfolgende Verarbeitungsprozesse miteinander verglichen.

Der Grad der thermischen Permeabilisierung der untersuchten Proben war sowohl von Temperaturhöhe als auch Behandlungsdauer abhängig. Unterhalb einer Temperatur von 50 °C und einer Zeit von 15 min konnte fast keine bzw. nur eine geringfügige Permeabilisierung (Weinbeeren:  $Z_p = 0,2$ ) beobachtet werden, jedoch stieg der Permeabilisierungsgrad aller untersuchten Proben bei Temperaturen über 60 °C linear mit steigender Temperatur bis 70 °C an. Dabei war der Einfluss der Behandlungsdauer nicht

unwesentlich. Eine mindestens 5 minütige Behandlungsdauer war notwendig um einen messbaren Permeabilisierungsgrad ( $Z_p = 0,05$ ) beobachten zu können.

Die Permeabilisierung von grob zerkleinerten Weinbeeren durch zugesetztes pektolytisches Enzym hatte gezeigt, dass der Permeabilisierungseffekt stark zeitabhängig war. Zwar trat die Permeabilisierung bei tieferer Temperatur (50 °C) als thermisches Verfahren (65 °C) auf, es wurde aber eine längere Behandlungsdauer (60 min) benötigt, um einen Permeabilisierungsgrad ( $Z_p \geq 0,6$ ) wie bei thermischer Behandlung (65 °C, 15 min) zu erzielen. Die Erhöhung des Permeabilisierungsgrades durch pflanzeigene Enzyme (ohne Zusatz von Enzymen) betrug bei der gleichen Behandlungstemperatur und -dauer (50 °C, 60 min) ca 0,4.

Im Gegensatz zu relativ langwierigen thermischen bzw. enzymatischen Permeabilisierungsmethoden geschieht die Permeabilisierung durch HELP innerhalb von Sekunden. Im allgemeinen wurde innerhalb von 10 bis 20 Sekunden (das entspricht einer 10 bis 20 Bepulsung bei einer Pulsfrequenz von 1 Hz) ein Permeabilisierungsgrad erreicht, der fast vergleichbar (Mango) oder sogar höher (Rote Beete) war als bei einer thermischen- (65 °C, 15 min) bzw. enzymatischen (50 °C, 30 min) Permeabilisierung. Dazu kommt, dass bei der Zellmembranpermeabilisierung durch HELP deutlich weniger Energie als bei thermischer Permeabilisierung benötigt wird. Während der Energieeintrag bei der HELP-Behandlung einen Temperaturanstieg um ca. 3–4 °C entsprach, musste für die thermische Permeabilisierung von Proben ca. 170 kJ/kg (Annahme: Probe bei Raumtemperatur, Hitzebehandlung bei 65 °C, spezifische Wärme der Probe = 3,8 kJ/kg) aufgewendet werden. Dies zeigt, dass HELP deutlich energieeffizienter als thermisches Verfahren ist. Da die HELP-Behandlung bei Raumtemperatur bzw. tiefen Temperaturen (geringfügig oberhalb der Gefriertemperatur der Probe) eingesetzt werden kann, ist eine deutlich geringere thermische Belastung der Probe zu erwarten als es bei konventioneller thermischer Permeabilisierung der Fall wäre. Im Gegensatz zur konventionellen enzymatischen Zellaufschlussmethode, werden bei HELP-Permeabilisierung keine „Fremdstoffe“ (pektolytische Enzyme), nur geringe Zeit und weniger Energie benötigt.

Die Höhe des Permeabilisierungsgrades durch HELP ( $Z_p$ ) war sowohl von der Feldstärke ( $E$ ) als auch von der Pulszahl ( $n$ ) abhängig. Bis zu einer bestimmten Pulszahl ( $n = 20$  für Rote Beete,  $n = 30$  für rote Paprika,  $n = 50$  für Mango, Weinbeeren und Spargel) war eine starke Zunahme des Permeabilisierungsgrades zu verzeichnen. Die weitere Erhöhung der Pulszahl

fürte zwar zur Zunahme des Permeabilisierungsgrades ( $Z_p$ ), aber dieser positive Effekt war nur geringfügig (Mango) bzw. kaum erkennbar (rote Paprika, Weinbeeren, Rote Beete). Ähnliches Verhalten wurde bei der Erhöhung der Feldstärke auf den  $Z_p$  beobachtet. Zur Permeabilisierung von pflanzlichem Gewebe wird eine deutlich geringere Feldstärke benötigt als die in der Literatur angegebene Feldstärke ( $\geq 20$  kV) für die Mikroorganismenabtötung. Bei allen untersuchten Rohwaren war eine Feldstärke von 0,7 bis 3 kV/cm ausreichend, um einen  $Z_p$ , der einer thermischen Permeabilisierung bei 65 °C, 15 min entsprach, zu erzielen. Die notwendige Feldstärke (bei konstanter Pulszahl = 50 Pulse) stieg in Reihenfolge für Rote Beete < Spargel < rote Paprika < Weinbeeren  $\leq$  Mango an. Es scheint, dass zur Permeabilisierung von Gemüse eine geringere Feldstärke als bei Früchten benötigt wird. Zu klären, ob dieser Unterschied auf der Art und der Konzentration der Zellinhaltsstoffe, der Gewebestruktur (Ausmaß der interzellularen Lufträume), dem Aufbau der Zellmembran bzw. der Zellgröße beruht, würde weitere Untersuchungen nötig machen.

Ähnlich wie bei HELP-Permeabilisierung ist auch der Permeabilisierungseffekt von HP von bestimmten Behandlungsbedingungen abhängig. Sowohl die Druckhöhe als auch die Behandlungstemperatur und -dauer beeinflussen den Permeabilisierungsgrad. Während bei Mango, die Erhöhung der HP-Behandlungstemperatur eine erkennbare Erhöhung des  $Z_p$  zur Folge hatte, war der Temperatureffekt auf die HP-Permeabilisierung von Rote Beete, Weinbeeren und rotem Paprika moderat. Der Einfluss der Druckhöhe (bei Raumtemperatur) auf den  $Z_p$  war bei Mango verhältnismäßig klein. Ebenfalls wurde bei rotem Paprika und Weinbeeren eine Steigerung des  $Z_p$  nach der Druckerhöhung von 200 auf 400 MPa beobachtet. Dagegen bewirkte die Druckerhöhung bei Roter Beete eine stetige Steigerung des  $Z_p$ . Im Falle von Weinbeeren konnte festgestellt werden, dass die Verlängerung der HP-Behandlungsdauer die Permeabilisierung positiv beeinflussen kann. Die "Drucksensibilität" war bei HP- (500 MPa, 40 °C, 10 min) behandeltem roten Paprika, Weinbeeren und Rote Beete ähnlich (ca.  $Z_p = 0,4$ ). Mangofrüchte zeigten jedoch bei den gleichen Behandlungsbedingungen einen erkennbar höheren ( $Z_p = 0,58$ ) Permeabilisierungsgrad.

Die Behandlung von pflanzlichem Gewebe mit komprimiertem ( $p < 7,1$  MPa,  $T < 31$  °C) bzw. überkritischem ( $p \geq 7,1$  MPa,  $T \geq 31$  °C) Kohlendioxid bewirkte eine deutliche Permeabilisierung bei Drücken und Temperaturen weit unterhalb der HP-Behandlung (500 MPa, 50 °C). Dazu kommt, dass bei diesem Verfahren die Permeabilisierung unter Sauerstoffausschluss erfolgt. Analog zur HP-Behandlung hängt der Permeabilisierungseffekt

von komprimiertem ( $c\text{CO}_2$ ) bzw. überkritischem Kohlendioxid ( $\text{ScCO}_2$ ) und sowohl von der Druckhöhe als auch von der Behandlungstemperatur ab. Der Einfluss von Behandlungsdruck auf die Zellmembranpermeabilisierung war bei rotem Paprika und Weinbeeren weniger ausgeprägt als bei Mango. Während bei rotem Paprika nach einer 10-minütigen- $c\text{CO}_2$ -Behandlung bei 30 MPa und 20 °C ein  $Z_p$ -Wert von ca. 0,46 erreicht wurde, konnte bei Mango bei weitaus geringerem Druck (7,1 MPa, 28 °C) sogar höherer  $Z_p$  ( $Z_p = 0,55$ ) induziert werden. Ob dieser  $Z_p$ -Unterschied bei rotem Paprika und Mango auf die Rohwareeigenschaft zurückzuführen ist oder auf die höhere Behandlungstemperatur während der  $c\text{CO}_2$ -Behandlung von Mango bedarf weiterer Untersuchungen. Es steht jedoch fest, dass die Permeabilisierung von Mango, und in geringerem Umfang auch von Weinbeeren, durch  $c\text{CO}_2$  bzw.  $\text{ScCO}_2$  temperaturabhängig ist. Anhand der Untersuchung mit Weinbeeren konnte gezeigt werden, dass die Verlängerung der Behandlungsdauer von 10 auf 30 min den Permeabilisierungseffekt von  $\text{ScCO}_2$  nachweisbar erhöhte.

Die Behandlung von grob zerkleinerten Weinbeeren mit Hochleistungsultraschall hat gezeigt, dass durch US-Behandlung bei 21 W bei moderater Temperatur eine Erhöhung der Permeabilisierung auftrat. Der Einfluss von Ultraschalleistung auf den Permeabilisierungsgrad war insbesondere bei höheren Leistungen ( $\geq 21$  W) erkennbar und stieg mit steigender Ultraschalleistung deutlich an.

Diese Untersuchung zeigte, dass durch Einsatz von nichtthermischen Verfahren eine schonende Permeabilisierung von pflanzlichem Gewebe bei Raumtemperatur (HELP, US) bzw. moderaten Temperaturen ( $T \leq 50^\circ\text{C}$ : HP,  $c\text{CO}_2$  bzw.  $\text{ScCO}_2$ ) in deutlich kürzerer Behandlungsdauer im Vergleich zu thermischer bzw. enzymatischer Permeabilisierung erzielt werden kann.

Die Vorbehandlung von Weinbeeren mit nichtthermischen Verfahren (HELP, HP,  $\text{ScCO}_2$ , US) führte sowohl zu einer Steigerung der Saftausbeute als auch zur Verbesserung der Saftqualität im Vergleich zu unbehandelten bzw. enzymatisch-vorbehandelten Proben. Die Farbe der nichtthermisch vorbehandelten Traubensäfte war deutlich intensiver (höherer Anthocyangehalt) als die der unbehandelten. Weiteres besaßen die vorbehandelten Traubensäfte höheren Gehalt an Mineralien (ausgedrückt als Leitfähigkeit) im Vergleich zu unbehandelten. Der Brix-Wert und die relative Dichte von nichtthermisch-hergestellten Säften waren zwar geringfügig kleiner als von unbehandelten, aber vergleichbar bzw. leicht höher als

die von enzymierten Saft. Ebenfalls war der Säuregehalt bei nichtthermisch vorbehandelten Säften vergleichbar (HP) bzw. erkennbar höher (HELP, US, ScCO<sub>2</sub>) als bei unbehandelten. Innerhalb der nichtthermisch-permeabilisierten Weinbeeren konnte die höchste Saftausbeute bei ScCO<sub>2</sub>-vorbehandelten beobachtet werden, gefolgt von HP-, HELP-, dann US-vorbehandelten. Der Anthocyangehalt der HP- und ScCO<sub>2</sub>-vorbehandelten Proben war sogar höher als der der enzymatisch behandelten. Dagegen war der Anthocyangehalt bei anderen nichtthermisch-vorbehandelten Säften erkennbar geringer als enzymierter Saft. Letzterer wurde mit „Fremdstoffen“ (pektolytische Enzyme), langer Zeit, hoher Temperatur und Energie hergestellt. Die Ergebnisse zeigten, dass die nichtthermischen Verfahren sich als effiziente Methode zur Erhöhung der Saftausbeute und zur Verbesserung der Traubensaftqualität erwiesen, wobei die Quantität und Qualität der durch verschiedene nichtthermische Verfahren hergestellten Säfte unterschiedlich sind.

Ein eindeutig positiver Einfluss von nichtthermischen Verfahren zur Erhöhung des Farbstoffaustritts konnte am Beispiel von Rote Beete festgestellt werden. Es konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen Permeabilisierungsgrad und Farbstoff- bzw. Mineralienaustritt aus den Proben innerhalb einer bestimmten Permeabilisierungsmethode festgestellt werden. Je höher der Permeabilisierungsgrad, desto höher war der Austritt der Inhaltsstoffe aus den Rote Beete-Scheiben. Dies war sowohl bei den HELP- bzw. HP-vorbehandelten als auch bei den thermisch-permeabilisierten Proben der Fall. Innerhalb der eingesetzten Permeabilisierungsmethode wiesen die HP-vorbehandelten Proben einen höheren Farbstoffaustritt im Vergleich zu HELP-vorbehandelten bei sonst konstanter Stoffübergangsdauer auf. Die HELP- und thermisch-permeabilisierten Proben zeigten beim gleichen  $Z_p$ -Wert fast den gleichen Stoffaustritt während des Stoffübergangversuchs. Bei unbehandelten Proben trat kaum ein Farbstoffaustritt während der gesamten Stoffübergangsdauer auf. Während die unbehandelten Proben innerhalb der Extraktionszeit eine bis zu ca. 10 %-ige Gewichtszunahme zeigten, wurde bei allen vorbehandelten (thermisch und nichtthermisch) Proben eine Gewichtsabnahme beobachtet. Dies bestätigt, dass durch nichtthermische Verfahren ähnlich wie bei Hitze-Behandlung die semipermeablen Eigenschaften von Pflanzenzellen aufgehoben und der aktive Stofftransport inhibiert wird. Die Aufhebung von Semipermeabilität der Zellmembranen hatte zur Folge, dass der osmotische Druck in Zellen nicht mehr aufrechterhalten wurde. Dies führte zu einer deutlichen Texturerweichung aufgrund des Turgorverlusts. Interessanterweise wurde ein direkter Zusammenhang zwischen Permeabilisierungsgrad und Festigkeit der Proben sowohl

bei HELP- als auch bei HP-vorbehandelten festgestellt. Die HP-vorbehandelte Rote Beete war bei gleichem Permeabilisierungsgrad weicher als HELP-vorbehandelte. Wahrscheinlich ist der Stoffübergang nicht nur eine Funktion von Permeabilisierungsgrad, sondern auch von chemischer und struktureller Veränderung infolge des unterschiedlichen Mechanismus des Permeabilisierungsprozesses. Diese Untersuchung zeigte, dass HELP und HP schonenden Zellaufschluss ohne thermische Belastung der pflanzlichen Gewebe ermöglichten, wobei Permeabilisierungsgrad und Inhaltsstoffgewinnung der thermisch-permeabilisierten Gewebe vergleichbar bzw. höher waren. Dazu erfolgte die nichtthermische Behandlung in kürzerer Zeit und brauchte weniger Energie.

Die osmotische Trocknung von nichtthermisch-vorbehandelten Mangofrüchten machte den Unterschied von Permeabilisierungseffekten bei verschiedenen nichtthermischen Verfahren erkennbar. Bei dem gleichen Permeabilisierungsgrad zeigte die HP-vorbehandelten Mango deutlich höhere Zuckeraufnahme bzw. Mineralstoffaustritt während der OD als die HELP-vorbehandelten. Die mit komprimiertem CO<sub>2</sub>-Gas (cCO<sub>2</sub>: 7,1 MPa, 28 °C) vorbehandelte Probe zeigte sogar die höchste Zuckeraufnahme. Diese Proben sind interessant aufgrund ihrer geringen Wasserabgabe (bzw. Mineralstoffe) bei gleichzeitiger höchster Zuckeraufnahme und ihres großen Volumens. Dagegen wurde kein Unterschied in Bezug auf Wasserabgabe während OD bei HP- bzw. HELP-vorbehandelten Mango bei gleichem  $Z_p$ -Wert festgestellt. Vermutlich aufgrund des unterschiedlichen Permeabilisierungsmechanismus bei den eingesetzten nichtthermischen Verfahren entstanden Poren mit unterschiedlichem Durchmesser an der Plasmamembran. Dies kann den Stoffübergang von relativ großen Molekülen (hier Saccharose) mehr oder weniger beeinflussen. Obwohl die HELP-vorbehandelte Probe hohe Wasserabgabe zeigte, hatte sie aufgrund ihrer niedrigen Zuckeraufnahme die geringste Veränderung der sensorischen Eigenschaften (Geschmack, Farbe) zur Folge und war den unbehandelten Proben ähnlich. Die nichtthermische Vorbehandlung führte überwiegend zu einer Texturerweichung. Dies war jedoch bei HP-vorbehandeltem Mangofrüchten besonders auffällig. Während der osmotischen Trocknung stieg die Festigkeit von HELP- bzw. HP-vorbehandelten Proben geringfügig an. Dagegen sank die Festigkeit von unbehandelten (deutlich) bzw. cCO<sub>2</sub>-vorbehandelten (geringfügig) während der OD. Die Farbe der HELP-vorbehandelten Mangos war den unbehandelten ähnlich und blieb während der OD annähernd konstant. Die HP- bzw. cCO<sub>2</sub>-vorbehandelten Mangos zeigten zwar deutliche Farbveränderungen sofort nach der Vorbehandlung, aber während der OD wurde keine weitere Veränderung der Farbe beobachtet. Die

nichtthermischen Behandlungen permeabilisierten die Zellmembranen, die zur Beschleunigung des Massentransportes und zur Texturerweichung führten. Außerdem verursachten die verschiedenen nichtthermischen Verfahren unterschiedliche Veränderungen der Gewebe-Struktur. Die HP-behandelten Mangofrüchte zeigte die kompakteste Struktur. Die cCO<sub>2</sub>-behandelte Probe wies eine ähnliche Struktur wie die unbehandelte auf und hatte die kleinste Schrumpfung.

Während der Warmlufttrocknung war die Trocknungsgeschwindigkeit der untersuchten Proben (kernlose Weinbeeren, Pflaumen und Spargel) abhängig von der eingesetzten Trocknungsart (Wirbelschicht-, Vakuumtrocknung oder Trocknung im Trockenschrank) und von der Trocknungstemperatur (60–90 °C). Eine deutliche Reduzierung der Trocknungszeit wurde durch HELP-Behandlung erzielt, Weinbeeren bis um 40 %, Pflaumen bis um 35 % und Spargel bis um 24 %. Ebenfalls wurde festgestellt, dass bei Weinbeeren und Spargel die Trocknungsgeschwindigkeit im Wirbelschichttrockner am schnellsten war, gefolgt von der Trocknung im Trockenschrank. Im Fall von Pflaumen war jedoch die Trocknung im Vakuumtrockner schneller als Trocknung im Trockenschrank. Die HELP-vorbehandelten, warmluftgetrockneten Weinbeeren und Pflaumen zeigten eine bessere Rehydratation als ohne Vorbehandlung. Dagegen wirkte die HELP- Vorbehandlung negativ auf das Rehydrationsverhalten des getrockneten Spargel. Die Farbe der getrockneten bzw. rehydratisierten Weinbeeren war von der Vorbehandlung bzw. Art der Trocknung abhängig. Die HELP-vorbehandelten Weinbeeren zeigten einen geringeren *a/b*-Wert (Ausnahme: Vakuumtrocknung) im Vergleich zu unbehandelten bei sonst gleichen Trocknungsbedingungen. Nach der Rehydratation zeigten die HELP vorbehandelten Proben die höchste Helligkeit gefolgt von unbehandelt vakuumgetrockneten Proben nach der Rehydratation. Im Fall von Pflaumen wurde festgestellt, dass weder die Vorbehandlung noch die Trocknungsart einen erkennbaren Einfluss auf die Farbe der getrockneten bzw. rehydratisierten Proben hatte. Nach der Rehydratation wurde lediglich eine Zunahme des *b*-Wertes bzw. eine Abnahme der *a/b*-Werte unabhängig von der Vorbehandlung und Trocknungsart festgestellt. Im Gegensatz zu Pflaumen hatten sowohl die Vorbehandlung als auch die Trocknungsart Einfluss auf die Farbe von getrocknetem Spargel. Hier bewirkte die HELP-Vorbehandlung eine starke Bräunung der Probe während der Trocknung. Trocknungsmethode bzw. -temperaturen, die zu einer schnelleren Trocknung bei HELP-vorbehandelten Proben führten, verringerten die Bräunungsreaktionen während der Trocknung. Nach der Rehydratation sank der L-Wert (dunklere Farbe) sowohl für unbehandelte als auch für HELP-vorbehandelte Proben stark.

Dabei galt auch, dass der HELP-vorbehandelte Spargel nach der Rehydratation eine dunklere Farbe als die rehydratisierten-unbehandelten aufwies. Ähnlich wie bei Mango und Rote Beete konnte eine Texturerweichung der Proben (kernlose Weinbeeren, Pflaumen und Spargel) nach der HELP-Behandlung (vor der Warmlufttrocknung) beobachtet werden. Die Texturerweichung war erkennbar direkt abhängig vom Permeabilisierungsgrad der HELP-vorbehandelten Proben (hier Spargel). Ein höherer Permeabilisierungsgrad führte zu einer höheren Texturerweichung.

Durch Vorbehandlung von rotem Paprika mittels nichtthermischer Verfahren wurde sowohl der Stoffaustritt aus der Probe ins Fermentationsmedium als auch die Fermentationsdauer wesentlich beeinflusst. Der Brix-Wert des Fermentationsmediums erreichte bei HELP-, HP- bzw. cCO<sub>2</sub>-vorbehandelten Proben nach einem Tag seinen maximalen Wert, während bei unbehandelten Proben erst nach 3 Tagen der maximale Brix-Wert beobachtet wurde. Ähnliche Tendenz wurde nach der Messung des Trockensubstanzgehalts von rotem Paprika während der Fermentationszeit festgestellt. Der pH-Wert von vorbehandelten Proben lag ab dem zweiten Tag bis zum Ende der Fermentationszeit (7 Tage) ersichtlich tiefer als bei unbehandelten. Während die HELP- bzw. cCO<sub>2</sub>-vorbehandelten Proben ihre maximale Keimzahl ( $1 \cdot 10^{10}$  KBE/ml) innerhalb von vier Tagen erreichten, zeigten die unbehandelten erst nach 6 Tagen ihre maximale Keimzahl ( $2 \cdot 10^9$  KBE/ml). Trotz des Inhaltsstoffverlusts während der HP-Behandlung zeigten die Proben eine höhere Keimzahl im Vergleich zu unbehandelten bei gleicher Fermentationszeit. Es konnte festgestellt werden, dass die eingesetzten Vorbehandlungen zu starker Säurebildung und Verkürzung der Fermentationszeit führten. Dabei lag die Menge an *L*-Milchsäure und gesamt titrierbare Säure bei HELP-vorbehandelten am höchsten, gefolgt von cCO<sub>2</sub>-vorbehandelten während der Fermentationszeit. Der geringe *L*-, *D*-Milchsäure- und Gesamtsäuregehalt der HP-vorbehandelten Proben im Vergleich zu unbehandelten bzw. HELP-, cCO<sub>2</sub>-vorbehandelten ist auf die Auslaugung von Inhaltsstoffen des roten Paprika während der HP-Behandlung zurückzuführen. Um die Auslaugung der Zellbestandteile während HP-Behandlung zu minimieren, sollte die Probe statt vakuum-verpackt und HP behandelt werden. Das vorbehandelte rote Paprika zeigte signifikant höhere (cCO<sub>2</sub>, HP) bzw. vergleichbare (HELP) Helligkeit (*L*-Wert) im Vergleich zu unbehandelten. Während der Fermentationszeit nahm bis zum dritten Fermentationstag der *L*-Wert der HP- bzw. HELP-vorbehandelten Proben ab und besaß einen annähernd konstanten Wert am Ende der Fermentation. Ebenso wurde ein fast konstanter *a/b*-Wert für die HP-, HELP- und cCO<sub>2</sub>-vorbehandelten Proben während der

gesamten Fermentationszeit beobachtet. Die  $L$ - und  $a/b$ -Werte der vorbehandelten Proben lagen am Ende der Fermentation nah aneinander und zeigten einen erkennbar tieferen  $L$ -Wert bzw. höheren  $a/b$ -Werte als die unbehandelten. Die Vorbehandlungen führten zu einer Texturerweichung sofort nach der Behandlung. Die Texturerweichung während der Fermentation war jedoch bei unbehandelter Probe ausgeprägter als bei vorbehandelter. Am Ende der Fermentation wies die unbehandelte eine weichere Textur als HP-vorbehandelte, fermentierte rote Paprika auf.

Es konnte festgestellt werden, dass diese nichtthermischen Verfahren geeignete und produktschonende Alternative zu thermischen bzw. enzymatischen Zellaufschlussmethoden waren. Die nichtthermischen Verfahren führten zur Aufhebung der Semipermeabilität der Zellmembranen, die einerseits den Stoffaustritt aus der Probe ermöglichte bzw. beschleunigte, andererseits eine Texturerweichung aufgrund des Turgorverlusts bewirkte. Innerhalb einer Behandlungsart konnte ein direkter Zusammenhang zwischen ermitteltem Permeabilisierungs-grad und anschließendem Massentransport festgestellt werden, jedoch beruhte der Permeabilisierungseffekt von verschiedenen nichtthermischen Verfahren auf unterschiedlichen Mechanismen, die die Gewebe während der Weiterverarbeitung beeinflussen. Der Massentransport ist eine Funktion der zellularen Integrität ( $Z_p$ ), strukturellen und chemischen Veränderungen der pflanzlichen Gewebe während der Vorbehandlung.

# Literaturverzeichnis

---

Ade-Omowaye, B.I.O., Angersbach, A., Eshtiaghi, M.N. und Knorr, D. 2001a. Impact of high intensity electric field pulses on cell permeabilisation and as pre-processing step in coconut processing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 1: 203–209.

Ade-Omowaye, B.I.O., Rastogi, N.K., Angersbach, A. und Knorr, D. 2001b. Effect of high hydrostatic pressure or high intensity electric field pulse pre-treatment on dehydration characteristics of red paprika. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 2: 1–7.

Ade-Omowaye, B.I.O., Angersbach, A., Taiwo, K.A. und Knorr, D. 2001c. The use of pulsed electric fields in producing juice from paprika (*Capsicum Annuum L.*). *Journal of Food Processing Preservation* 25: 353–365.

Anderson, J.W., Smith, B.M. und Gustafson, N.J. 1994. Health benefits and practical aspects of high fibre diets. *Am. J. Clin. Nutr.* 59: 1242–1247.

Angersbach, A., Heinz, V. und Knorr, D. 2002. Evaluation of process induced dimensional changes in the membrane structure of biological cells using impedance measurement. *Biotechn. Prog.* 18: 597–603.

Angersbach, A., Heinz, V. und Knorr, D. 2000. Effects of pulsed electric fields on cell membranes in real food systems. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*: 135–149.

Angersbach, A., Heinz, V. und Knorr, D. 1999. Abschlussbericht zum Forschungsprojekt: Einsatz elektrischer Hochspannungsimpulse (HSI) zum Aufschluss pflanzlichen Zellgewebes, zur Beeinflussung des Wasserbindungsvermögens der Pülpe und zur Entkeimung von flüssigen Produkte. TU-Berlin.

Angersbach, A., Heinz, V. und Knorr, D. 1997a. Elektrische Leitfähigkeit als Maß des Zellaufschlußgrades von zellulären Materialien durch Verarbeitungsprozesse. *LVT* 42 (4): 195–200.

Angersbach, A. und Knorr, D. 1997b. Anwendung elektrischer Hochspannungsimpulse als Vorbehandlungsverfahren zur Beeinflussung der Trocknungscharakteristika und Rehydratationseigenschaften von Kartoffelwürfeln. *Nahrung* 41 (4): 194–200

Angersbach, A., Eshtiaghi, M.N. und Knorr, D. 1997c. Impact of high intensity electric field pulses on plant cells and tissues. In: Barbosa-Canovas, G.V., Narsimhan, G., Lombardo, S. und Okos, M.R. (Eds.). *New Frontiers in Food Engineering, Proceedings of the 5<sup>th</sup> Conference of Food Engineering (CoFE '97)* Nov. 18–21. American Institute of Chemical Engineers, pp. 247–254.

Anon. 1997. Commission Recommendation of 29 July 1997; Regulation (EC) No. 258/97, *Offic. Journal of Europ. Commities* L253 40: 1.

- Arreola, A.G., Balaban, M.O., Marshall, M.R., Wei, C.I., Peplow, A.J. und Cornell, J.A. 1994. Supercritical carbon dioxide processing of orange juice: effects on pectinesterase, microbiology and quality attributes. In: Rizvi, S.S.H. (Ed.). Supercritical fluid processing of food and biomaterials. Blackie academic and professional, U.K., pp. 133–154.
- Asaka, M. und Hayashi, R. 1991. Activation of polyphenoloxidase in pear fruits by high pressure treatment. *Agric. Biol. Chem.* 55(9): 2439–2440.
- Ballestra, P., Abreu de Silva, A. und Cuq, J.L. 1996. Inactivation of *Escherichia coli* by carbon dioxide under pressure. *Journal of food science* 61 (4): 829–831, 836.
- Barostti, L., Dummay, E., Mu, T. H., Dias, M.D.F. und Cheftel, J.C. 2001. Effects of high voltage electric pulses on protein-based food constituents and structures. *Trends in Food Science and Technology* 12: 136–144.
- Bazhal, M. und Vorobiev, E. 2000. Electrical treatment of apple cossettes for intensifying juice pressing. *J. Sci. Food Agric.* 80: 1668–1674.
- Belitz, H.D., Grosch, W. und Schieberle. 2001. *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo.
- Bell, T.A., Turney, L.J. und Etchells, J.L. 1972. Influence of different organic acids on the firmness of fresh-pack pickles. *J. Food Sci.* 37: 446.
- Binnig, R. 1982. Zur Verarbeitung von Früchten und Gemüse zu fruchtfleischhaltigen Säften und Nektaren. *Füssiges Obst. Sonderheft 3a*: 204–210.
- Bolin, H.R., Huxsoll, C.C., Jackson, R. und Ng, K.C. 1983. Effect of Osmotic Agents and Concentration on Fruit Quality. *J. Food Sci.* 48 (1): 202–205.
- Borscheid, H.-U. 1990. Schonender Gewebeaufschluß mit CO<sub>2</sub> für empfindliche Fruchtprodukte. *Flüssiges Obst* 57(8): 514–516.
- Bouzrara, H. und Vorobiev, E. 2000. Beet juice extraction by pressing and pulsed electric fields. *Int. Sugar J.* 102 (1216): 194–200.
- Brodelius, P.E., Funk, C. und Shillito, R.D. 1988. Permeabilization of cultivated plant cells by electroporation for release of intracellularly stored secondary products. *Plant Cell Reports* 7: 186–188.
- Bruna, D., Istenesova, L., Voldrich, M. und Cefovski, M. 1998. Compositional changes of strawberry puree during high pressure pasteurisation. In: Isaacs, N.S. (Ed.). *High Pressure Food Science, Bioscience and Chemistry*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, U.K., pp. 248–253.
- Buchheim, W., Frede, E., Wolf, M. und Baldenegger, P. 1999. Solidification and melting of some edible fats and model lipid systems under Pressure. In: H. Ludwig (Ed.). *Advances in high pressure bioscience and biotechnology*. Springer Verlag, pp. 153–156.

- Buchheim, W., Prokopek, D., Schulze, K. und Abou El-Nour, A. 1993. Behandlung von Lebensmitteln, insbesondere Milchprodukten, mit hohen hydrostatischen Drücken. *Chem.-Ing.-Tech.* 65 (9): 1082
- Bundschuh, E., Baumann, G. und Gierschner, K. 1986. Hochdruckextraktion in der Lebensmitteltechnologie. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 8 (86): 525–534
- Buttersack, C. 1994. Grundlagen der mechanischen Entwässerung von Zuckerrübenschnitzeln. *Zuckerindustrie* 119: 831–846.
- Buttersack, C. und Schliephake, D. 1999. Theory of sugar extraktion III. Ultrastructure and diffusional transport of sucrose. *Zuckerindustrie* 125
- Butz, P. and Tauscher, B. 1998. Food chemistry under hydrostatic pressure. In: Issacs, N.S. (Ed.). *High Pressure Food Science, Bioscience and Chemistry*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, pp. 133–144.
- Butz, P. und Tauscher, B. 1998a. Pasteurisieren unter Hochdruck. Was haben wir von der neuen Konservierungsmethode zu erwarten? (Pasteurization under high pressure. What can we expect of new methods for improving keeping quality?). *Molkerei-Zeitung Welt der Milch.* 52 (2): 75–76.
- Butz, P. und Tauscher, B. 1998b. Pasteurisierung von Lebensmittel mit hydrostatischem Hochdruck (Pasteurization of foods using high hydrostatic pressure). *Flüssiges Obst.* 65 (2): 72–75.
- Butz, P., Koller, W.D., Tauscher, B. und Wolf, S. 1994. Ultra-High-Pressure Processing of Onions: Chemical and Sensory Changes. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 27: 463–467.
- Cartwright, D. 1998. „Off-the-shelf“ ultrasound instrumentation for the food industry. In: „Ultrasound in Food Processing“. Blackie Academic and professional, London.
- Chendke, P.K. und Fogler, H.S. 1975. Macrosonics in industry: 4. Chemical processing. *Ultrasonic* 13(1): 31–37.
- Chernomordik, L.V. 1992. Electropores in lipids bilayers and cell membranes. In: *Guide to electroporation and electrofusion*, ed. Chang, D.C.; Chassy, B.M.; Saunders, J.A. und Sowers, A.E. Academic Press, San Diego, California, S. 63–76.
- Clever, V. und Tauscher, B. 1994. Influence of high hydrostatic pressure on the pigments of red paprika and Vitamin A. *Eur. High Pressure Research Grp*, 32<sup>th</sup> Annual Meeting, Brno, 99.
- Cliff, M., Dever, M.C. und Gayton, R. 1991. Juice extraction process and apple cultivar: Influences on juice properties. *J. Food Sci.* 56 (6): 1614–1617, 1627.
- Cohen, J.S und Yang, T.C.S. 1995. Progress in food dehydration. *Trends in Food Science und Technology* 6: 20–25.
- Delavier, H.J. und Siewert, P. 1965. Volumenänderungen von Zuckerrübenschnitten in Puffelösungen: Einfluss des pH-Wertes, der Temperatur und der Zeit. *Zuckerindustrie* 15: 65–69.

Del Valle, J.M. Cuadros, T.R.M. und Aguilera, J.M. 1998. Glass transitions and shrinkage during drying and storage of osmosed apples slices. *Food Research International* 31 (8): 557–569.

Deuchi, T. und Hayashi, R. 1992. High pressure treatment at subzero temperature: application to preservation, rapid freezing and rapid thawing of foods. In: Balny, C., Hayashi, R., Heremans, K. und Masson, P (Eds.). *High Pressure and Biotechnology. Colloque Inserm, John Libbey Eurotext Ltd.* 224: 353–355.

Donsi, G., Ferrari, G. und D Matteo, M. 1996. High pressure stabilization of orange juice: Evaluation of the effects of process conditions. *Ital. J. Food Sci.* 2: 99–106.

Dörnenburg, H. und Knorr, D. 1993. Cellular permeabilization of cultured plant tissues by high electric field pulses or ultra high pressure for the recovery of secondary metabolites. *Food Biotechnology* 7 (1): 35–48.

Durance, T.D., Wang, J.H. und Meyer, R.S. 1999. Processing for drying mango and pineapples. US Patent No. 5.962.057.

Elgasim, E.A. und Kennick, W.H. 1980. Effect of pressurization of pre-rigor beef muscles on protein quality. *J. Food Sci.* 45: 1122–1124.

Enomoto, A., Nakamura, K., Nagai, K., Hashimoto, T. und Hakoda, M. 1997. Inactivation of food microorganism by high pressure carbon dioxide treatment with or without explosive decompression. *Biosci. Biotech. Biochem.* 61 (7): 1133–1137.

Eshtiaghi, M.N. und Knorr, D. 2002. Einsatz elektrischer Hochspannungsimpulse (HELP) zum kontinuierlichen Zellaufschluß und Zuckergewinnung aus Zuckerrüben. (in Vorbereitung).

Eshtiaghi, M.N. und Knorr, D. 2002. High electric field pulse pretreatment: potential for sugar beet processing. *Journal of Food Engineering* 53 (2): 265–272.

Eshtiaghi, M.N. und Knorr, D. 2000. Anwendung elektrischer Hochspannungsimpulse zum Zellaufschluß bei der Saftgewinnung am Beispiel von Weintrauben. *LVT* 44 (5): 23–27.

Eshtiaghi, M.N. und Knorr, D. 1999. Method for treating sugar beet. Patent Nr. W099/64634, Dec. 16. 1999.

Eshtiaghi, M.N. und Knorr, D. 1996. High hydrostatic pressure in thawing for the processing of fruit preparations from frozen strawberries. *Food Biotechnology* 10 (2): 143–148.

Eshtiaghi, M.N. 1996. Entwicklung von Hochdruckprozessen zur Verarbeitung pflanzlicher Lebensmittel. Dissertation an der TU-Berlin.

Eshtiaghi, M.N. und Knorr, D. 1993. Potato cubes response to water blanching and high hydrostatic pressure. *Journal of Food Science* 58 (6): 1371–1374.

Eshtiaghi, M.N., Messerschmidt, K. und Knorr, D. 1991. Extraktion von Orangenschalenpigmenten mittels überkritisches Kohlendioxid. ZFL. Intern. Z. Lebensmittel-Technik, Marketing, Verpackung und Analytik, EFS 42(11): 61–64.

Etchells, J.L., Borg, A.F., Kittel, I.D., Bell, T.A. und Fleming, H.P. 1996. Pure culture fermentation on green olives. Appl. Microbiol. 14: 1027.

Ezaki, S. und Hayashi, R. 1992. High pressure effects on starch: Structural change and retrogradation. In: Balny, C., Hayashi, R., Heremans, K. und Masson, P. (Eds.). High Pressure and Biotechnology. Colloque Inserm, John Libbey Eurotext Ltd. 224: 163–165.

Fellows, P. 1988. Food Processing Technology, Principles and Practice. VCH-Verlagsgesellschaft, Weinheim.

Feng, B., Cuvelier, G. und Brouard, F. 1989. Softening of ground beets during heat treatment. Sciences des Aliments 9: 77–88.

Flaumenbaum, B.L. 1968. Anwendung von Elektropasmolyse bei der Herstellung von Fruchtsäften. Flüssiges Obst 35: 19–20.

Fleming, H.P. und McFeeters, R.F. 1981. Use of microbial cultures: Vegetable products. Food Technol. 1: 84–88.

Floros, J.D. und Liang, H. 1994. Acoustically assisted diffusion through membranes and biomaterials. Food technology 12: 79–84.

Fuchigami, M., Kato, N. und Teramoto, A. 1995. Effect of pressure-shift freezing on texture, pectic composition and histological structure of carrots. In: Proceedings of the International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology, Kyoto 5–9 Nov.

Gekko, K. 1992. Effects of pressure on the sol-gel transition of food macromolecules. In: "High Pressure and Biotechnology, vol. 24", eds. Balny, C., Hayashi, R., Heremans, K. und Masson, P. John Libbey Eurotext, Montrouge.

Gelbrich, D. 1965. Über biologische und chemische Vorgänge bei der Sauerkrautgärung. Dissertation an der Fakultät für Landbau der TU-Berlin.

Geulen, M., Teichgräber, P. und Knorr, D. 1994. Zellaufschlußverfahren durch elektrische Hochspannungsimpulse. ZFL 45 (7/8): 24 – 27.

Ghosh, T., Garcia, A.E. und Garde, S. 2001. Molecular dynamics simulations of pressure effects on hydrophobic interactions. Journal of American Chemical Society 123: 10997–11003.

Grahl, T. 1994. Abtötung von Mikroorganismen mit Hilfe elektrischer Hochspannungsimpulse. Dissertation an der Technische Universität Hamburg-Harburg.

Greenham, C.G., Helms, K. und Müller, W.J. 1978. Influence of virus infection on impedance parameters, J. Exp. Bot. 29: 867–877.

- Grommeck, R. und Markakis, P. 1964. The effect of peroxidase on anthocyanin pigments. *J. Food Sci.* 29: 53–57.
- Grout, B.W.M., Morris, G.J. und McLellan, M.R. 1991. The freezing of fruit and vegetables. In: Bald, W.B. (Ed.). *Food freezing: today and tomorrow*. Springer Verlag, London, pp. 113–120.
- Gudmundsson, M und Hafsteinsson, H. 2001. Effect of electric field pulses on microstructure of muscle foods and roes. *Trends in Food Science and Technology* 12: 122–128.
- Hammond, D.A., Karel, M. und Klibanov, A.M. 1985. Enzymatic reactions in supercritical gases. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 11: 393–400.
- Havlikova, L., Mikova, K. und Kyzlink, V. 1983. Heat stability of Betacyanins. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 177 (4): 247–250.
- Hayashi, R. 1989. Application of high pressure to food processing and preservation: philosophy and development engineering and food., ed.: Spieß, W. E. L. und Schubert, H. Elsevier Applied Science, U.K., S. 815–826.
- Hayashi, R. und Hayashida, A. 1989. Increased amylase digestibility of pressure treated starch. *Agric. Biol. Chem.* 53(9): 2543–2544.
- Hayden, R.I., Moyse, C.A., Calder, F.W., Crawford, D.P. und Fensom, D.S. 1969. Electrical impedance studies on potato and alfalfa tissue. *J. Exper. Bot.* 20: 177–200.
- Heiss, R. und Eichner, K. 1984. *Haltbarmachen von Lebensmitteln*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo.
- Heldt, H.W. 1996. *Pflanzenbiochemie*. Spektrum Akademische Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin, Oxford.
- Hendrickx, M. und Knorr, D. 2001. *Ultra high pressure treatment of foods*. Aspen, Gaythersburg, MD (vorgelegt).
- Hendry, G.A.F. und Houghton, J.D. 1992. *Natural food colorants*. Blackie and Son Ltd. Glasgow und London.
- Heremans, K. 1982. High pressure effects on proteins and other biomolecules. *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* 11(1): 1–21.
- Heremans, K. und Wuytack, F. 1980. Pressure effect on the Arrhenius discontinuity in Ca<sup>+</sup>-ATPase from sarcoplasmatic reticulum. *FEBS Letters* 1: 161–163.
- Hinrichs, J. 2000: *Ultrahochdruckbehandlung von Lebensmitteln mit Schwerpunkt Milch und Milchprodukte-Phänomene, Kinetik und Methodik*- VDI Reihe 3 Nr. 656. VDI Verlag GmbH, Düsseldorf
- Ho, S.Y., Mittal, G.S. und Cross, J. D. 1997: Effects of high field electric pulses on the activity of selected enzymes. *Journal of Food Engineering* 31: 69–84.

- Ho, S.Y. und Mittal, G.S. 1996. Electroporation of cell membrane: a review. *Critical Rev. Biotechnol.* 16: 349–362.
- Hong, S.I. und Park, W.S. 1999. High pressure carbon dioxide effect on kimchi fermentation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 63 (6): 1119–1121.
- Hoover, D.G., Metrick, C., Papineau, A.M., Farkas, D.F. und Knorr, D. 1989. Biological effects of hydrostatic pressure on food microorganisms. *Food Technol.* 43(3): 99–107.
- Ibrahim, H.M.A., Ragab, G.H. und Moharram, H.A. 1997. Paprika color quality: Effect of air and natural drying treatments. *Grasasy Aceties* 48 (4): 200–206.
- Internationale Fruchtsaft Union (IFU). 1985. Ringbuch der Kommission für Analysemethoden. Schweizerischer Obstverband, Zürich.
- Isaacs, N.S., Chilton, P. und Coulson, M. 1995. The Effect of pressure on rates of food-related reactions. In: *Effects of High Pressure on Foods. European Symposium, February 16–17<sup>th</sup>, 1995 Université Montpellier II, Montpellier, France.*
- Isse, M.G. 1994. Untersuchungen zur osmotischen Trocknung von Früchten. Dissertation an der Universität Fridericiana Karlsruhe.
- Jahnke, S. 1993. Labor-Hochdruckmaschine zum schonenden Kaltsterilisieren. *ZFL* 44: 82–83.
- Kardos, E. 1975. Obst- und Gemüsesäfte. VEB Fachbuchverlag, Leipzig.
- Karel, M. 1984. Fortschritte in der Trocknung von Lebensmitteln (Advances in food dehydration). *ZFL* (1): 6–16.
- Kasai, M., Hatake, K. und Shimada, A. 1994. A kinetic study of hardening and softening processes in vegetables during cooking. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 41(12f): 933–941.
- Kato, M. und Hayashi, R., 1999. Effects of high pressure on lipids and biomembranes for understanding high-pressure-induced biological phenomena. *Biosci. biotechnol. Biochem.* 63(8): 1321–1328.
- Kato, N., Teramoto, A. und Fuchigami, M. 1997. Pectic substance degradation and texture of carrots as affected by pressurization. *Journal of Food Science.* 62(2): 359–362, 398.
- Kellermann, M. 1990. Exotische Früchte. BLV Verlagsgesellschaft mbH, München, pp. 75–78.
- Kessler, H.G. 1996. Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik - Molkereitechnologie. Verlag A. Kessler, München.
- Kim, S.M. und Zayas, J.F. 1989. Processing parameter of chymosin extraction by ultrasound. *J. Food Sci.* 54: 700.

- Kimura, K., Ida, M., Yosida, Y., Ohki, K., Fukumoto, T. und Sakui, Y. 1994. Comparison of keeping quality between pressure-processed jam and heat-processed jam: Change in flavor components, hue, and nutrients during storage. *Biosci. Biochem.* 58(8): 1386–1391.
- Kimura, K. 1992. Development of a new fruit processing method by high hydrostatic pressure. In: Balny, C., Hayashi, R., Heremans, K. und Masson, P (Eds.). *High Pressure and Biotechnology. Colloque Inserm, John Libbey Eurotext Ltd.* 224: 279–283.
- Kitamura, Y. und Itoh, T. 1987. Reaction volume of protonic ionization for buffering agents. Prediction of pressure dependence of  $pH$  and  $pOH$ . *J. Solution Chemistry* 16(9): 715–725.
- Kleine, R., Weeltlecke, H. und Ehwald, R. 1992. Application of vesicle chromatography in protein purification. *Acta Biotechnol.* 12: 243–252.
- Kleinig, H. und Sitte, P. 1992. *Zellbiologie.* Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York.
- Knorr, D., Angersbach, A., Eshtiaghi, M. N., Heinz, V und Lee, D-U. 2001. Processing concepts based on high intensity electric field pulses. *Trends in Food Science & Technology* 12(3/4): 129–135.
- Knorr, D. 1997. Hochdruckbehandlung von Lebensmitteln. Bericht des Forschungsbereichs der Ernährungsindustrie FEI zur 55. Diskusstagung, Detmold, Germany. :100–118.
- Knorr, D. 1994. Novel processes for the production of fruit and vegetable juices. *Flüssiges Obst* 61 (10): 294–296.
- Knorr, D., Geulen, M., Grahl, T. und Sitzmann, W. 1994. Food application of high electric field pulses. *Trends in Food Science & Technology* 5: 71–75.
- Knorr, D. 1993. Effects of high-hydrostatic-pressure processes on food safety and quality. *Food Technol.* 6: 156–161.
- Koch, H. 1995. Hochdruck-Gefrieren von pflanzlichen zellulären Systemen am Beispiel der Kartoffel. Diplomarbeit an der TU-Berlin.
- Kohlensäurewerk Deutschland GmbH. 1981. *CO<sub>2</sub>-technische Tabellen.* Bad Hönningen.
- Kruus, P., Lawrie, J.A.G. und O’neill, M.L. 1993. Polymerization and depolymerization by ultrasound. *Ultrasonics* 26 (11): 352–355.
- Kuang, W. und Nelson, S.O. 1998. Low-frequency dielectric properties of biological tissue. A review with some new insights. *Transact. ASAE* 41: 173–184.
- Kumagai, H., Hata, C. und Nakamura, K. 1997. CO<sub>2</sub> sorption by microbial cells and sterilization by high-pressure CO<sub>2</sub>. *Biosci. Biotech. Biochem.* 61 (6): 931–935.
- Lehmann, J.F. und Krusen, F.H. 1954. Effect of pulsed and continuous application of ultrasound on transport of ions through biologic membranes. *Archives Phys. Med. Rehab.* 35: 20.

- Lewicki, P.P. (1998): Effect of pre-drying treatment, drying and rehydration on plant tissue properties: A review. *Int. J. Food Properties* 1(1): 1–22.
- Liepe, H.-U. und Junker, M. 1984. Gemüsesäfte. Starterkulturen-Verwendung bei Gemüsesäften. *Flüssiges Obst*. 3: 109–110.
- Liepe, H. und Junker, M. 1978. Milchsäure Vergärung von Rotkohl. *Industrielle Obst- und Gemüseverwertung* 63: 349–351.
- Litz, R.E. 1997. *The mango: Botany, production and uses*. CAB International, UK., USA.
- Lück, E. 1986. *Chemische Lebensmittelkonservierung*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo.
- Ludwig, H. 1993 *Hochschulseminar Hochdruckpasteurisation an der Universität Heidelberg; Institut für Pharmazutische Technologie und Biopharmazie, Heidelberg*.
- Marty, A., Chulalaksananukul, W., Wilemot, R.M., Condoret, J.S. und Durand, G. 1990. Comparison of lipase catalysed esterification in supercritical carbon dioxide and in n-hexane. *Biotechnol. Lett.* 12(1): 11.
- Mason, T.J. 1998. Power ultrasound in food processing – the way forward. In: “Ultrasound in Food Processing”. Blackie Academic and Professional, London.
- Mason, T.J., Paniwnyk, L. und Lorimer, J.P. 1996. The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry* 3: 253–260.
- Mason, T.J. und Zhao, Y. 1994. Enhanced extraction of tea solids using ultrasound. *Ultrasonics* 32 (5): 375–377.
- Masson, P. 1992. Pressure denaturation of proteins. In: Balny, C., Hayashi, R., Heremans, K. and Masson, P. (Eds.). *High pressure and biotechnology*. Colloque Inserm, John Libbey Eurotext, Montrouge, vol. 24.
- Matalla, P. 1994. Anwendung von elektrischen Hochspannungsimpulsen und Hochdruckextraktion zur Gewinnung von Saft und wertgebenden Inhaltsstoffen aus Sandornbeeren und -trester. Diplomarbeit an der Technischen Universität Berlin.
- Mazza, G. 1983. Dehydration of carrots. Effects of pre-drying treatment in moisture transport and product quality. *J. Food Technol.* 18: 113–123.
- McClements, D.J. 1995. Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends in Food Science and Technology* 6: 293.
- Macdonald, A.G. 1992. Effects of hydrostatic pressure on natural and artificial membranes. In: Balny, C.; Hayashi, R.; Heremans, K. und Masson, P. (Eds.). *High Pressure and Biotechnology*. Colloque inserm, John Libbey Eurotext Ltd, vol. 224: 67–76.
- McLellan, M.R., Kime, R.L. und Lind L.R. 1991. Electropasmolysis and other treatment to improve apple juice yield. *Journal of Science Food Agriculture* 57: 303–306.

- Mertens, B. und Knorr, D. 1992. Developments of nonthermal processes for food preservation. *Food Technol.* 5: 124–133.
- Monsalve-Gonzalez, A., Barbosa-Canovas, G.V. und Cavalieri, P.R. 1993. Mass transfer and textural changes during processing of apples by combined methods. *Journal of Food Science* 58 (5): 1118–1124.
- Mudawi, H., Fischer-Aylof-Cook, K.-P und List, D. 1987. Einfluß der Trocknungskinetik auf den Eignungswert von getrocknetem Gemüse. *ZFL* 6: 482–488.
- Neuman Jr, R.C., Kauzmann, W. und Zipp, A. 1973. Pressure dependence of weak acid ionization in aqueous buffers. *J. Phy. Chem.* 77 (22): 2687–2691.
- Nöldechem, A. 1993. Neues Elektroschock Verfahren zur Konservierung flüssiger Lebensmittel. *ZFL* 44 (9): 476–483.
- Nultsch, W. 1991. *Allgemeine Botanik*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
- Ogawa, H., Fukuhisa, K. und Fukumoto, H. 1992. Effect of hidrostatic pressure on sterilisation and preservation of citrus juice. In: Balny, C., Hayashi, R., Heremans, K. und Masson, P. (Eds.). *High Pressure and Biotechnology*. John Libbey Eurotext, Montrouge, vol. 24.
- Ohmori, T. 1993. High pressure effects on biomembranes. In: Hayashi, R (Ed.). *High Pressure Bioscience and Food Science*. San-Ei-Publ. Co., Kyoto.
- Panagiotou, N.M., Karathanos, V.T. und Maroulis, Z.B. 1999. Effect of osmotic agent on osmotic dehydration of fruits. *Drying Technology* 17 (1 & 2): 175–189.
- Papchenkov, A.Y., Bologna, M.K., Berzoi, S.E., Powkov J.N., Chebanu, V.G. und Rudkovskaya, G.V. 1988. Electroplasmolyzer for processing vegetable stock. US Patent 4723483.
- Parkinson, G. und Johnson, E. 1989. Supercritical process with CPE acceptance. *Chem. Eng.* 96 (7): 36.
- Pething, R. und Kell, D. 1987. The passive electrical properties of biological system: their significance in physiology, biophysics and biotechnology. *Phys. Med. Biol.* 32: 933–970.
- Pfister, M.K.H., Butz, P., Heinz, V., Dehne, L.I., Knorr, D. and Tauscher, B. 2001. Influence of high pressure treatment on chemical alterations in foods: a literature review. BgVV-Heft, Berlin.
- Priestley, R.J. 1979. *Effects of heating on foodstuffs*. Applied Science Publishers Ltd, London.
- Qin, B.-L., Chang, F.-J., Barbosa-Canovas, G.V. und Swanson, B.G. 1997. Non-thermal inactivation of *saccharomyces cerevisiae* in apple juice using electric field. *Lebensm. -Wiss. u. -Technol.* 28: 564–568.

- Qin, B-L. Zhang, Q. Barbosa-Canovas, G.V. Swanson, B.G. und Pedrow, P.D. 1995. Pulsed electric field treatment chamber design for liquid food pasteurisation using a finite element method. *Trans ASAE* 38: 557–565.
- Ramamurthy, M.S., Bongirwar, D.R. und Bandopodhyay. 1978. Osmotic dehydration of fruits. Possible alternate to freeze drying. *Indian Food Packer* 32: 108–111.
- Raoult-Wack, A.L. 1994. Recent advances in the osmotic dehydration of foods. *Trends in Food Science and Technology* 5: 255–260.
- Rastogi, N.K., Angersbach, A., Niranjana, K. und Knorr, D. 2000. Synergistic effect of high hydrostatic pressure pretreated and osmotic stress on mass transfer during osmotic dehydration. *Journal of Food Science* 45 (1): 25–31.
- Rastogi, N.K., Angersbach, A., Niranjana, K. und Knorr, D. 2000. Rehydration kinetics of high pressure pretreated and osmotic dehydrated pineapple. *Journal of Food Science* 65 (5): 838–841.
- Rastogi, N.K., Eshtiaghi, M.N. und Knorr, D. 1999. Accelerated mass transfer during osmotic dehydration of high intensity electrical field pulse pre-treated carrots. *Journal of Food Science* 64 (6): 1020–1023.
- Rastogi, N.K., Eshtiaghi, M.N. und Knorr, D. 1999. Effect of combined high pressure and heat treatment on the reduction of peroxidase and polyphenoloxidase activity in red grapes. *Food Biotechnology* 13 (2): 195–208.
- Rastogi, N.K. und Niranjana, K. 1998. Enhanced mass transfer during osmotic dehydration of high pressure treated pineapple. *Journal of Food Science* 63 (3): 508–511.
- Rastogi, N.K. und Ranghavarao, K.S.M.S. 1994. Effect of temperature and concentration on osmotic dehydration of coconut. *Lebensmittel- und Technology* 27: 564–567.
- Rehm, S. und Espig, G. 1976. *Die Kulturpflanzen der Tropen und Subtropen*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.
- Repo, T., Tuovinen, T. und Savolainen, T. 1990. Estimation of an electrical model of plant tissue using the impedance logus. *Silva Carelica* 15: 51–59.
- Rizvi, S.S.H., Benado, A.L., Zollweg, J.A. und Daniels, J.A. 1986. Supercritical fluid extraction: Fundamental principles and modelling methods. *Food Technol.* 40 (6): 55–65.
- Robbers, M., Singh, P.R. und Cunha, L.M. 1997. Osmotic-convective dehydrofreezing process for drying kiwifruit. *Journal of Food Science* 62 (5): 1039–1041.
- Saguy, I. 1979. Thermostability of red beet pigments (Betanine and Vulgaxanthin-I): Influence of pH and temperature. *Journal of Food Science* 44 (5): 1554–1555.
- Sala, F.J., Burgos, J., Condon, S., Lopez, P. und Raso, J. 1995. Effect of heat treatment and ultrasound on microorganisms and enzymes. In: Gould, G.W. (Ed.). *New Methods of Food Preservation*. Blackie Academic and Professional, pp. 176–204.

- Sankar, K.U. 1989. Studies on the physiochemical characteristics of volatile oil from pepper (*Piper nigrum*) extracted by supercritical carbon dioxide. *Journal of Science Food Agriculture* 483–493.
- Sato, M. 1989. Sterilization by pulsed electric field. *Kagaku Kougaku (Chemical Engineering)* 53 (11): 818–819.
- Sawamura, S., Yoshimura, Y. und Taniguchi, Y. 1993. Viscosity of aqueous electrolyte solution at high pressure. In: Hayashi, R. (Ed.). *High Pressure Bioscience and Food Science*. San-Ei Publishing Co., Kyoto, pp. 22.
- Schlegel, H.G. 1992. *Allgemeine Mikrobiologie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
- Schneider, F. 1968. *Technologie des Zuckers, Vereins der Zucker Industrie*. Verlag M und H Schaper, Hannover.
- Schobinger, U. 2001. *Frucht- und Gemüsesäfte*. Verlag Eugen Ulmer.
- Schreier, P., Drawert, F. und Junker, A. 1976. Identification of volatile constituents from grapes. *J. Agric. Food Chem.* 24: 331–336.
- Schultz, W.G., Schultz, T.H., Carlson, R.A. und Hudson, J.S. 1974. Pilot-plant extraction with liquid carbon dioxide. *Food Technol.* 28: 32–36.
- Schwan, H.P. 1957. Electrical properties of tissue and cell suspensions. In: Laurence, J.H. und Tobias, C. A. (Eds.). *Advances in Biological and Medical Physics*. Academic Press, New York 5: 147–209.
- Seyderhelm, I., Boguslawski, S., Michaelis, G. und Knorr, D. 1996. Pressure induced inactivation of selected food enzymes. *J. Food Sci.* 61: 308–310.
- Sharma, K.D., Sethi, V. und Maini, S.B. 1998. Osmotic dehydration in apple: Influence of variety, location and treatment on mass transfer and quality of dried rings. *Acta Alimentaria* 27 (3): 245–256.
- Sitzmann, W. und Heinz, V. 1996. Die schonende Herstellung naturbelassener Säfte mit Hilfe eines physikalischen Niedertemperaturverfahrens. *Food Technologie Magazin Juli*: 28–32.
- Souci, S.W., Fachmann, W. und Kraut, H. 1981. *Die Zusammensetzung der Lebensmittel: Nährwert-Tabellen 1981/82*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart.
- Stahl, E., Quirin, K.W. und Gerard, D. 1987. *Verdichtete Gase zur Extraktion und Raffination*. Springer Verlag, Berlin.
- Striegler, R.K., Berg, G.T. und Morris, J.R. 1996. Raisin production and processing. In: *Major processed products*, ed. Somogyi, L.P.; Barrett, D.M. und Hui, Y.H. Technomic publishing Co., Inc., Lancaster, Basel, S. 235–263.
- Stute, R., Eshtiaghi, M.N., Boguslawski, S. und Knorr, D. 1996. High pressure treatment of vegetables. In: *“High pressure chemical engineering”*, ed. Rohr, Ph.R. und Trepp, C. Elsevier, Amsterdam: 271–276.

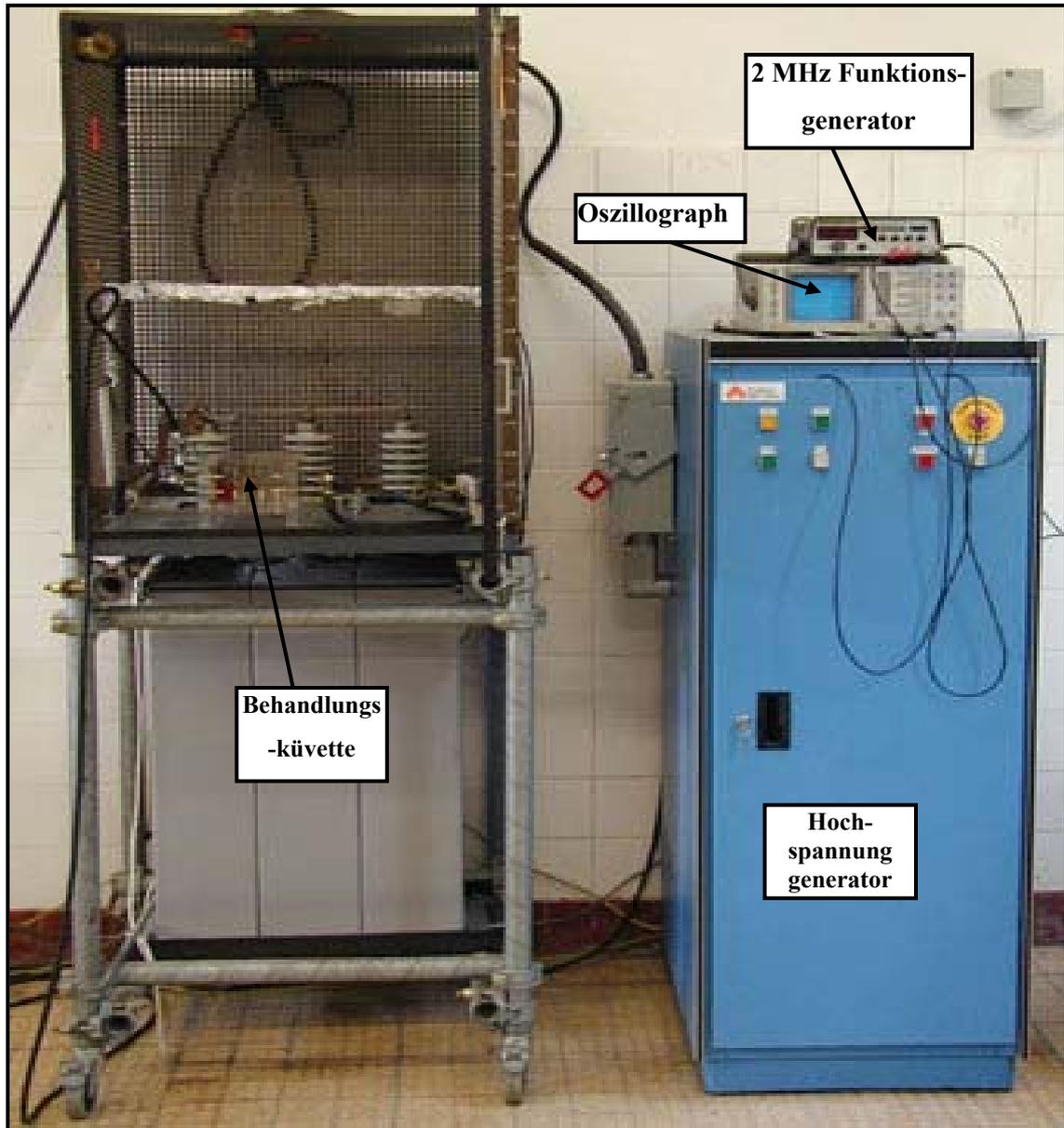
- S'ulc, D. 1984. Gemüsesäfte. Ernährungsphysiologische und verfahrenstechnische Aspekte bei der Herstellung von milchsauer vergorenen Gemüsesäften. *Flüssiges Obst*. 1: 15–24.
- Suslick, K.S. 1988. Homogeneous sonochemistry, 227. In: Suslick, K.S. (Ed.). *Ultrasounds: its Chemical, Physical and Biological Effects*. Verlag Chemie New York.
- Taiwo, K.A., Angersbach, A., Ade-Omowaye, B.I.O. und Knorr, D. 2001. Effects of pretreatment on the diffusion kinetics and some quality parameters of osmotically dehydrated apple slices. *Journal of Food and Agricultural Chemistry* 49: 2804–2811.
- Taniguchi, M., Kamihira, M. und Kobayashi, T. 1987. Effect of treatment with supercritical carbon dioxide on enzymatic activity. *Agric. Biol. Chem.* 51(2): 593–594.
- Tauscher, B. 1993. Einfluss hydrostatischen Hochdrucks auf organische Reaktionen in Lebensmitteln. Hochschulseminar Hochdruckpasteurisation an der Universität Heidelberg.
- Tedjo, W., Eshtiaghi, M.N. und Knorr, D. 2000. Impact of supercritical carbon dioxide and high pressure on lipoxygenase and peroxidase activity. *Journal of Food Science* 65(8): 1284–1287.
- Tedjo, W. 1998. Einfluß von überkritischem Kohlendioxid auf Lipoxygenase und Peroxidase der pflanzlichen Lebensmitteln. Diplomarbeit an der Technischen Universität Berlin.
- Ternes, W. 1990. *Naturwissenschaftliche Grundlagen der Lebensmittelzubereitung*. Behr's Verlag, Hamburg.
- Thevelein, J.M. und Van Assche, J.A. 1981. Gelatinisation temperature of starch, as influenced by high pressure. *Carbohydrate Research* 93: 304–307.
- Thompson, R.L., Fleming, H.P. und Monroe, R.J. 1979. Effects of storage conditions on firmness of brined cucumbers. *J. Food Sci.* 44: 843.
- Torreggiani, D., Brovotto, B.R., Maestrelli, A. und Bertolo, G. 1999. High quality strawberry ingredients by partial dehydration before freezing. 20<sup>th</sup> International Congress of Refrigeration, Siedney, Australia, 19–24 September 1999.
- Tregunno, N.B. und Goff, H.D. 1996. Osmodehydrofreezing of apples: structural and textural effects. *Food Research International* 29 (5/6): 471–479.
- Tsong, T.Y. 1996. Electrically stimulated membrane breakdown. In: Lynch, P.T. und Davey, M.R. (Eds.). *Electrical manipulation of cells*. Chapman & Hall, New York, pp. 15–36.
- Van der Poel, P.W., Schiweck, H. und Schwartz, T. 2000. *Zuckertechnologie: Rüben- und Rohrzuckerherstellung*. Verlag Dr. Albert Bartens KG, Berlin, S. 329–382.
- Vardag, T. Und Körner, P. 1995. High pressure: A real alternative in food processing. *Food Marketing & Technology* 2: 42–47.
- Vega-Mercado, H., Martin-Belloso, O., Qin, B., Chang, F.J., Gongora-Nieto, M.M., Barbosa-Canovas, G.V. und Swanson, B.G. 1997. Non-thermal food preservation: Pulsed electric fields. *Trends in food science and technology* 8: 151–157.

- Vial, C., Guilbert, S. und Cuq, J.L. 1991. Osmotic dehydration of kiwi fruits: Influence of process variables and ascorbic acid content. *Int. Journal of Food Science and Technology* 11 (81): 63–84.
- Wang, L.C. 1981. Soybean protein agglomeration: Promotion by ultrasonic treatment. *J. of Agric. Food Chem.* 29: 177–180..
- Wang, L.C. 1975. Ultrasonic extraction of proteins from autoclaved soy bean flakes. *J. Food Sci.* 40: 549–551.
- Weipert, D., Tscheuschener, H.-D. und Windhab, E. 1993. *Rheologie der Lebensmittel*. Behr's Verlag, Hamburg.
- Wilner, J. und Brach, E.J. 1979. Utilisation of bioelectric tests in biological research. Engineering and Statistical Research Institute , Ottawa, ON.
- Willson, R.C. 1985. Supercritical fluid extraction, In: Moo-Young (Ed.). *Comprehensive Biotechnology*. Pergamon press, Oxford, New York, Toronto, Sydney, Frankfurt, vol. 2: 567–574.
- Wolfe, S.L. 1985. *Cell Ultrastructure*. Wadsworth, Belmont, California.
- Wong, P.T.T. und Heremans, K. 1988. Pressure effects on protein secondary structure and hydrogen deuterium exchange in chymotrypsinogen: a Fourier transform infrared spectroscopic study. *Biochemica et Biophysica Acta* 956: 1–9.
- Wood, B.J.B. 1985. *Microbiology of fermented foods*, vol. 1. Elsevier Applied Science Publishers, London, New York.
- Wouters, P.C. und Smelt, P.P.M. 1997. Inactivation of microorganisms with pulsed electric fields: Potential for food preservation. *Food Biotechnology* 11 (3): 193–229.
- Yamamoto, A., Kasai, M. und Shimada, A. 1993. Effects of pressurizing process and standing after the treatment on the hardness of japanese radish, and the mechanism. In: Hayashi, R. (Ed.). *High Pressure Bioscience and Food Science*. San-Ei-Publ. Co., Kyoto.
- Yasuda, A. und Mochizuki, K. 1992. The behavior of triglycerides under high pressure: The high pressure can stably crystallize cocoa butter in chocolate. In: Balny, C., Hayashi, R., Heremans, K. und Masson, P. (Eds.). *High Pressure and Biotechnology*. Colloque inserm, John Libbey Eurotext Ltd., 224: 255–259.
- Zarate-Rodriguez, E. und Ortega-Rivas, E. 1997. Comparative study of quality of apple juice preserved by nonthermal methods. In: Barboas-Canovas, G.V. (Ed.). *New Frontiers in food engineering*. Proceeding of the 5<sup>th</sup> conference of food engineering (COFE' 97), November 18–21, 1997.
- Zayas, J.F. 1986. Effect of ultrasounic treatment on the extraction of chymosin. *J. Dairy Sci.* 69: 1767.

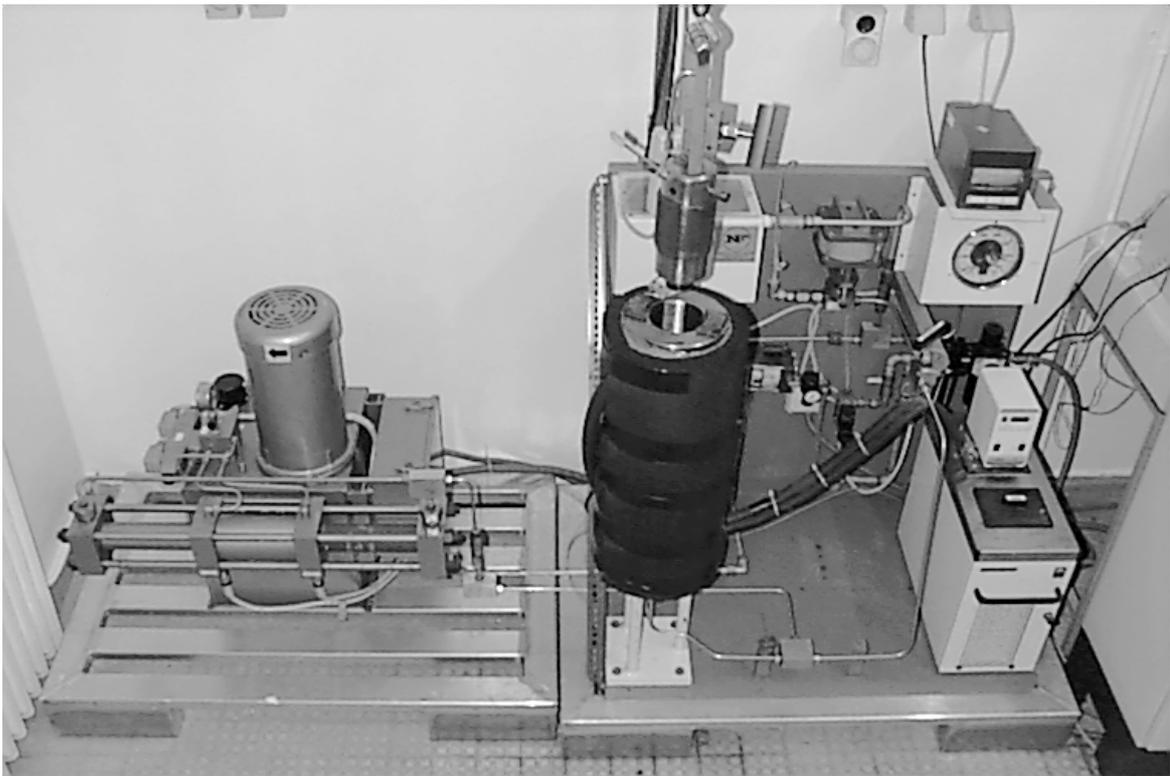
Zhao, W., Shishikura, A., Fujimoto, K., Arai, K. und Saito, S. 1987. Fractional Extraction of Rice Bran Oil with Supercritical Carbon Dioxide. *Agricultural and Biological Chemistry* 51 (7): 1773–1777.

Zimmermann, U., Beckers, E. und Riemann, F. 1976. Effect of external electric field on cell membranes. *Bioelectrochemical Bioenergy* 3: 58–83.

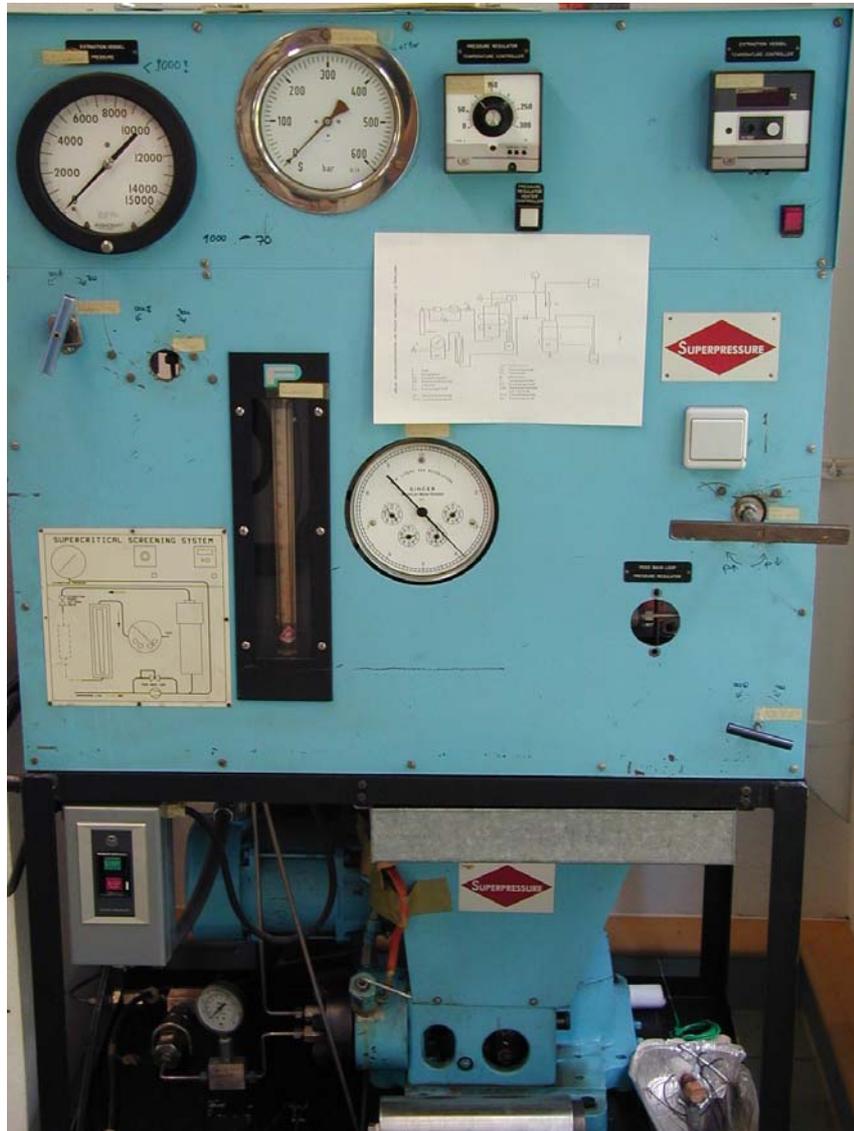
Zimmermann, U., Pilwat, G. und Riemann, F. 1974. Dielectric breakdown of cell membranes. *Biophys. J.* 14:881–889.



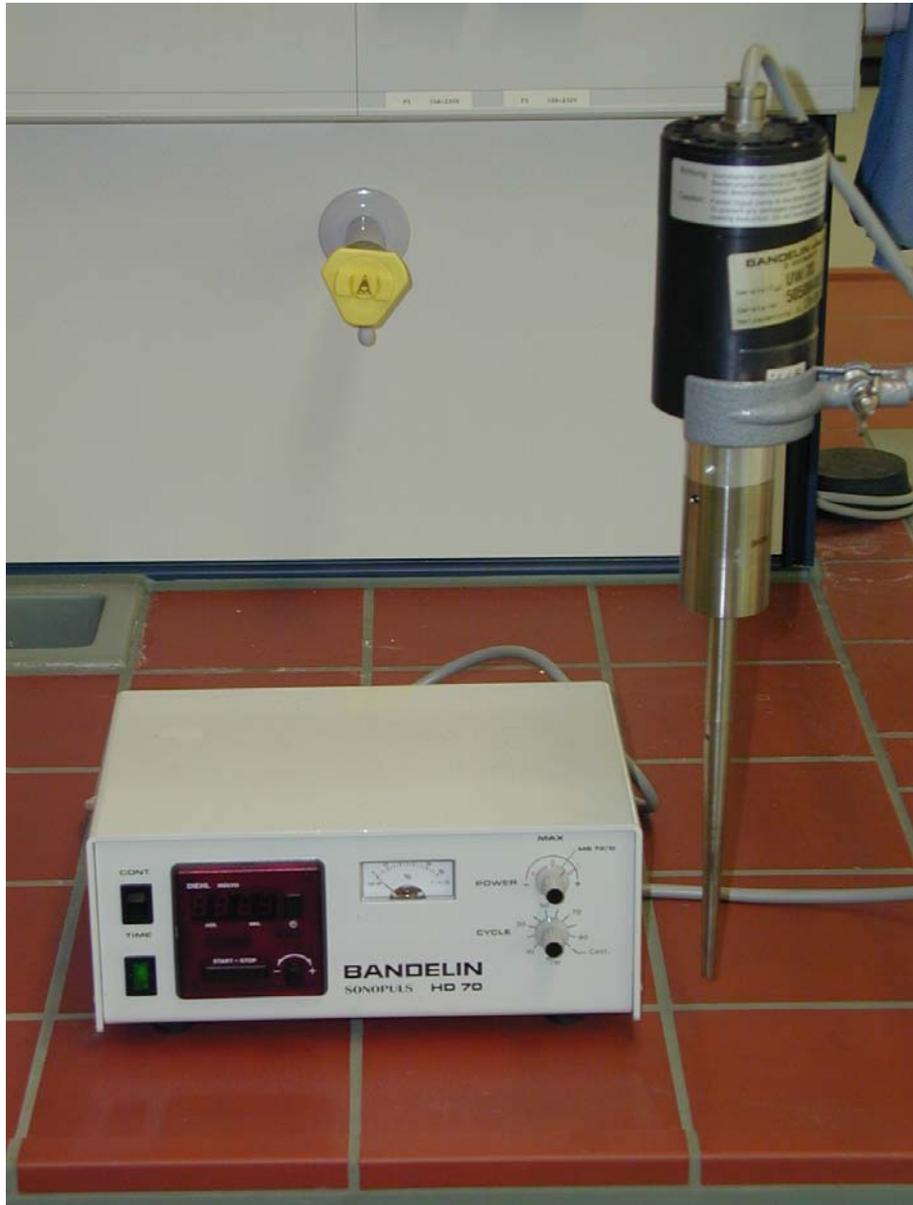
Anhang 3.2.1: Hochspannungsanlage



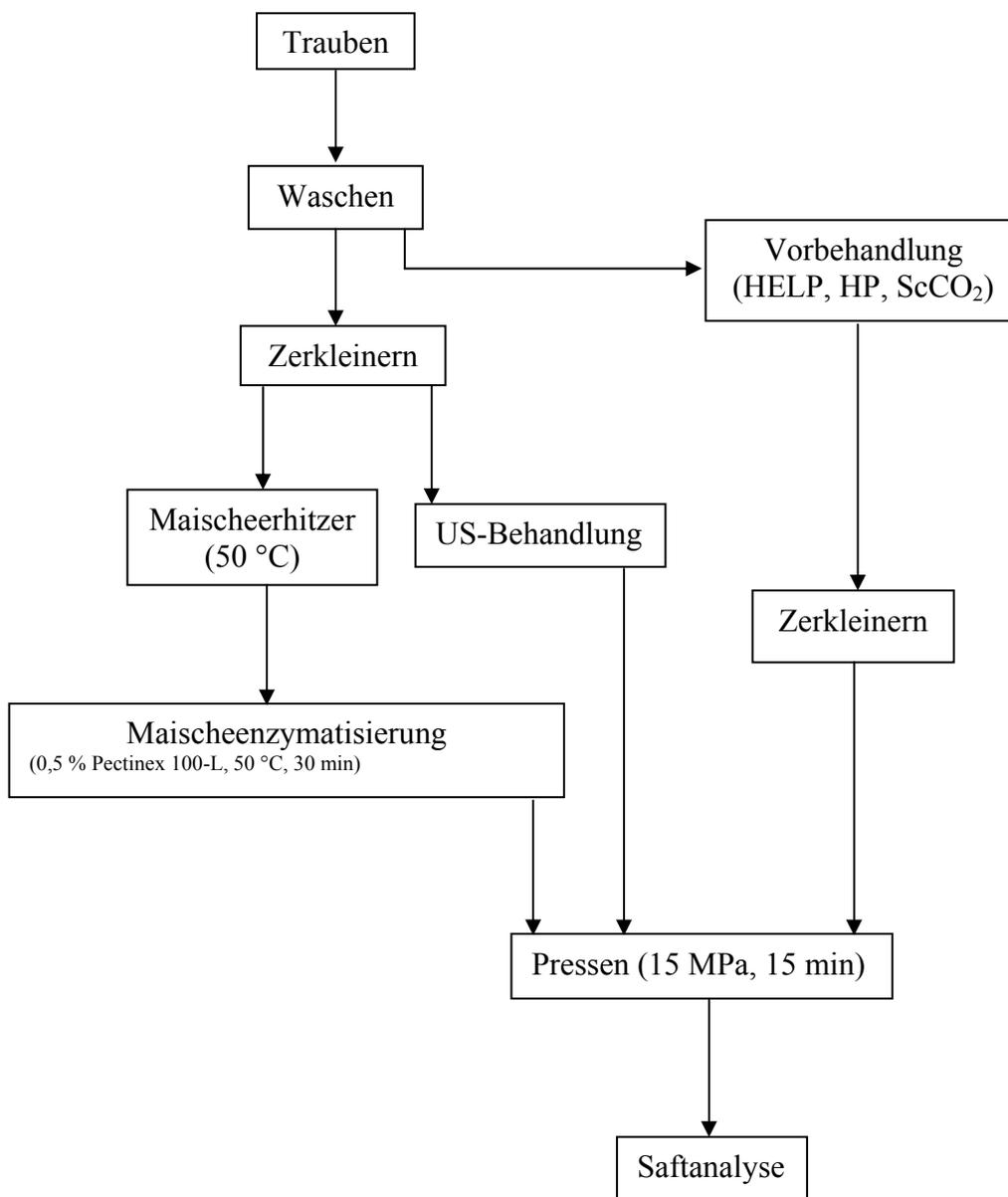
**Anhang 3.2.2:** Hochdruckanlage



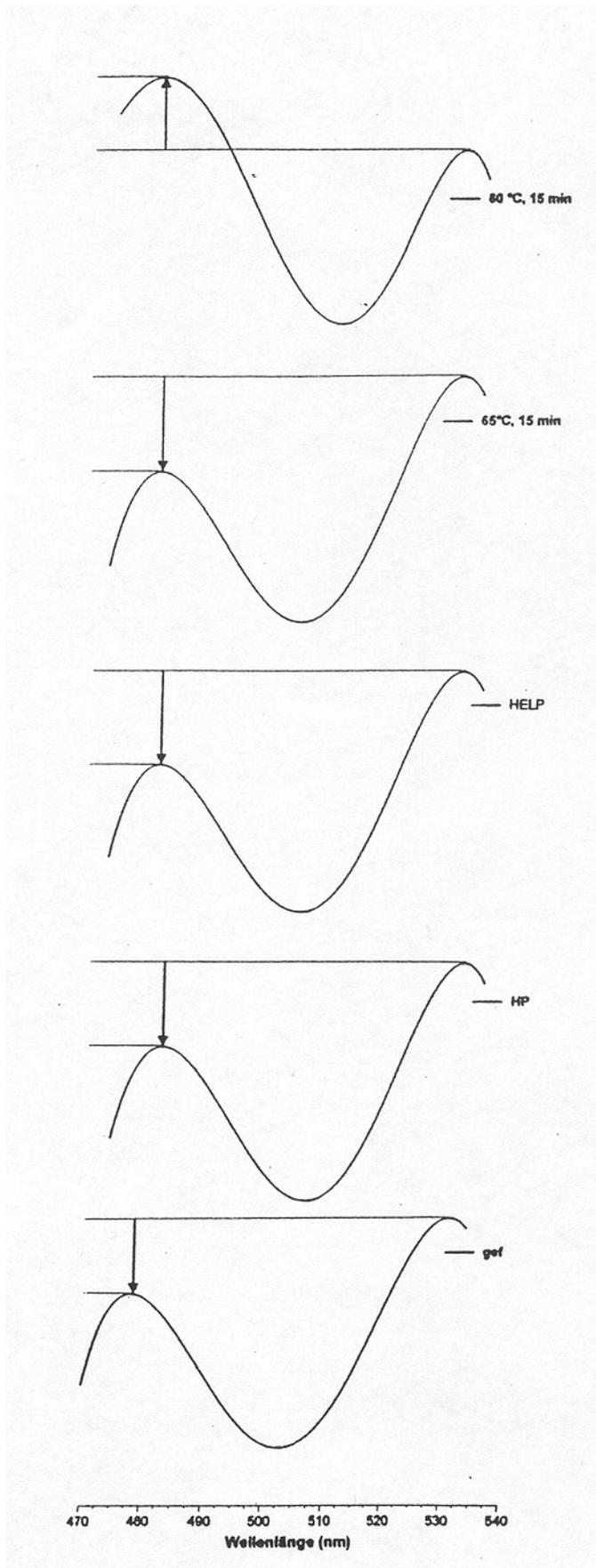
Anhang 3.2.3: Komprimiertes bzw. überkritisches Kohlendioxidanlage



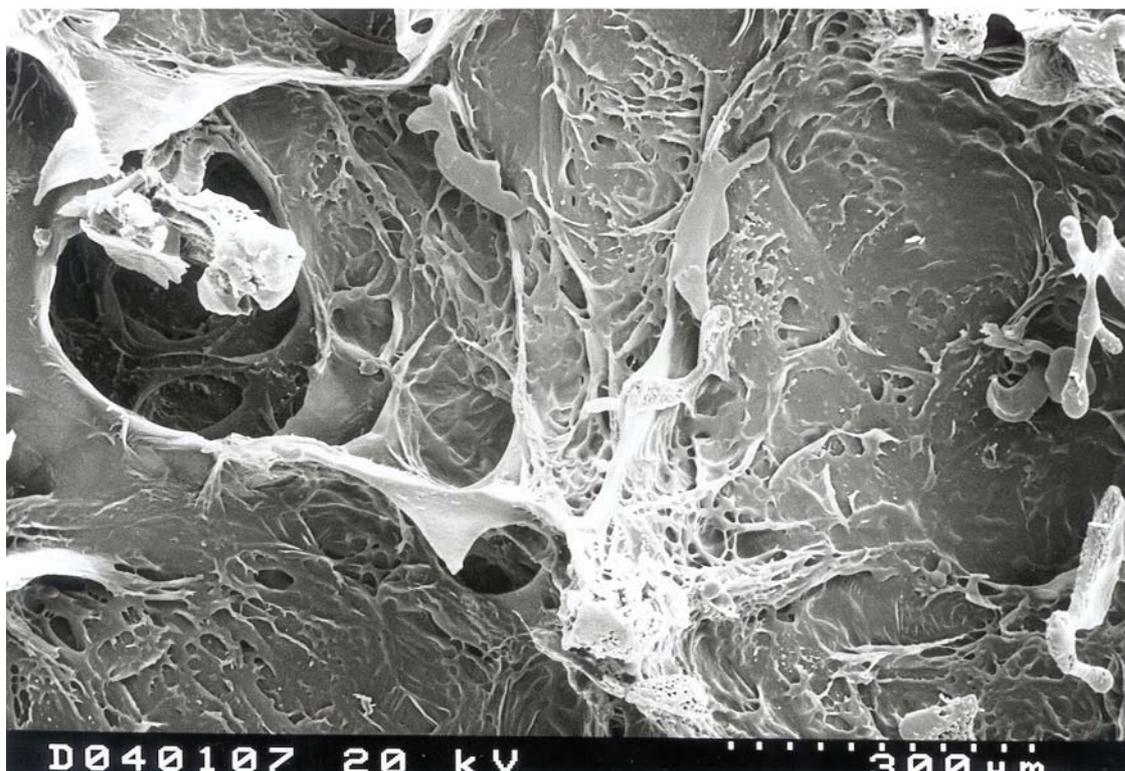
Anhang 3.2.4: Ultraschallanlage



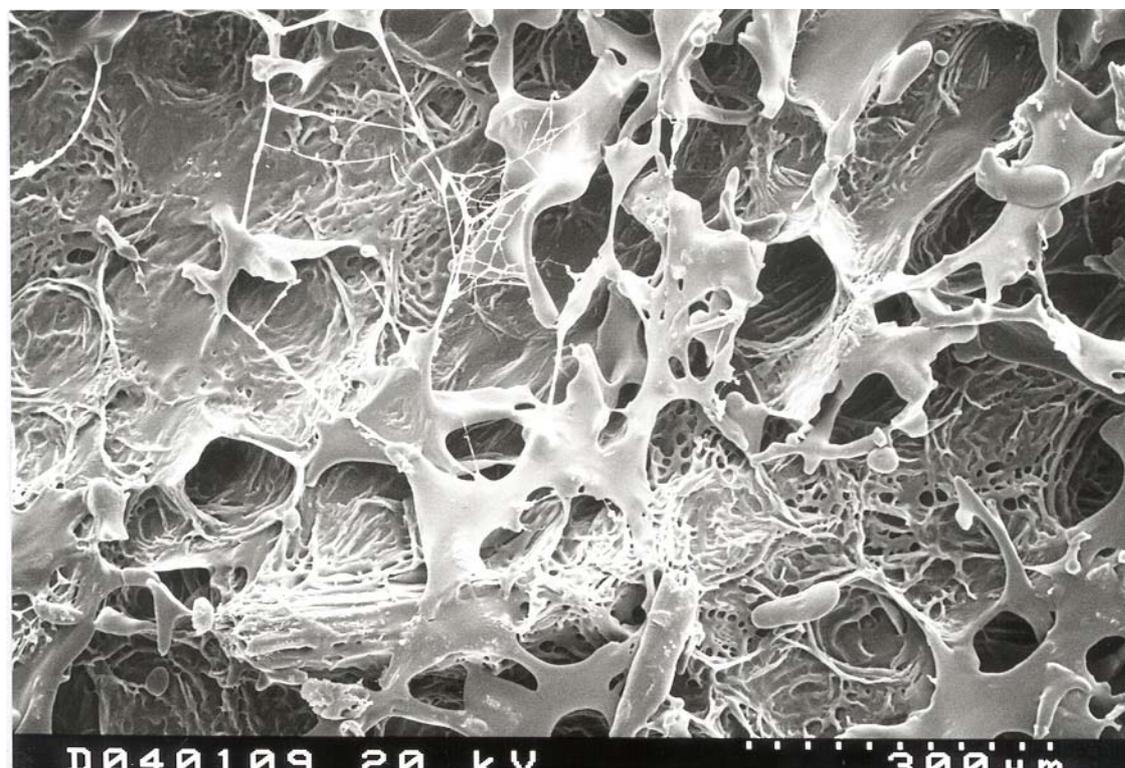
**Anhang 4.1.1:** Verarbeitung von Trauben



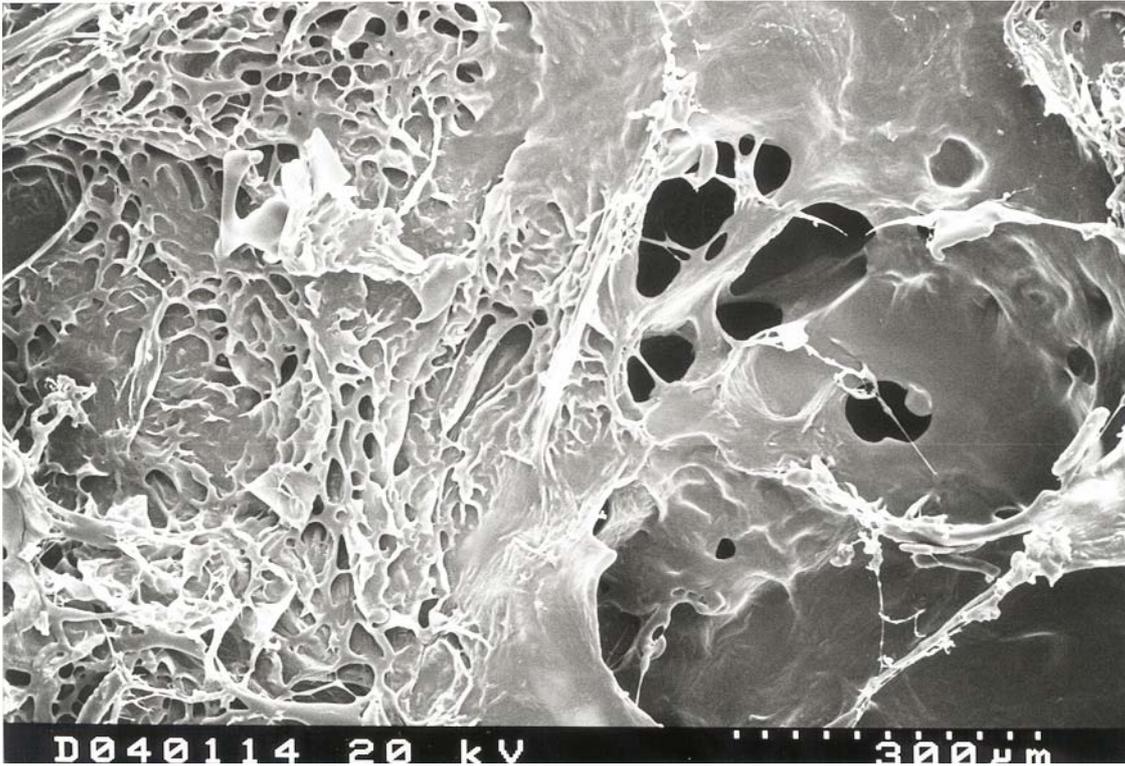
**Anhang 4.2.1:** Verschiebung des Extinktionsmaximums von thermisch-behandelten Rote Beete  
(80 °C, 15 min)



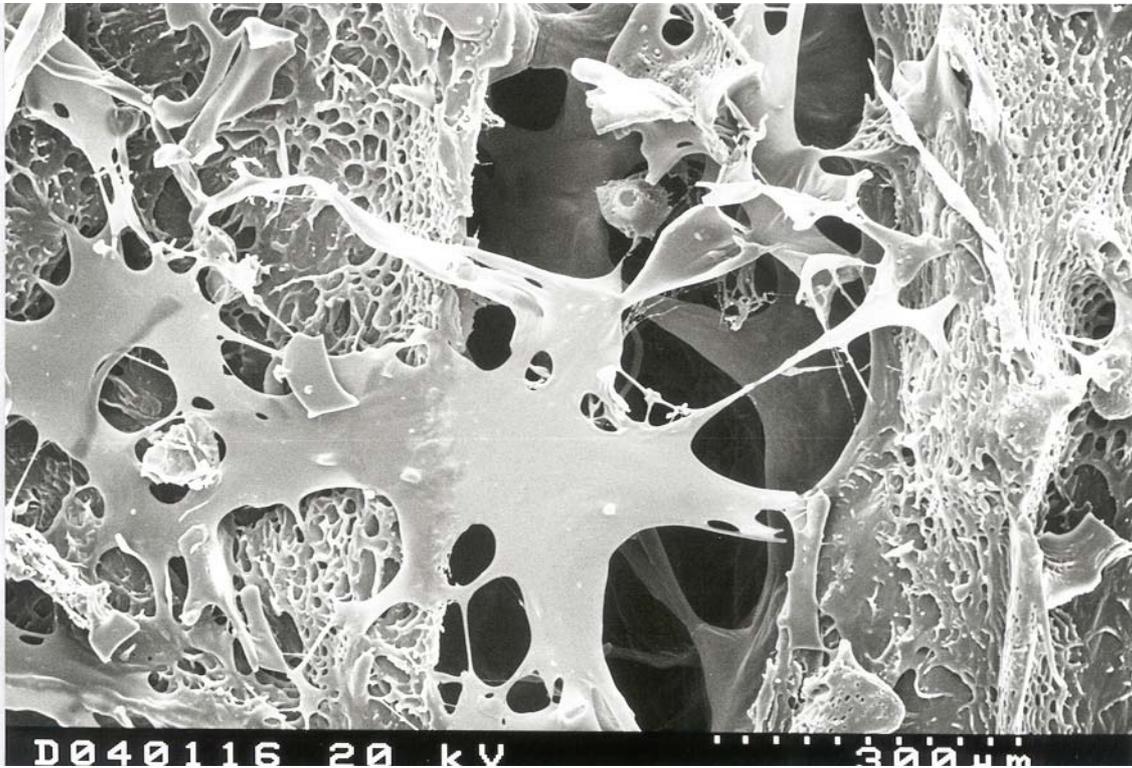
Anhang 4.3.1: REM-Photo von frischer Mango



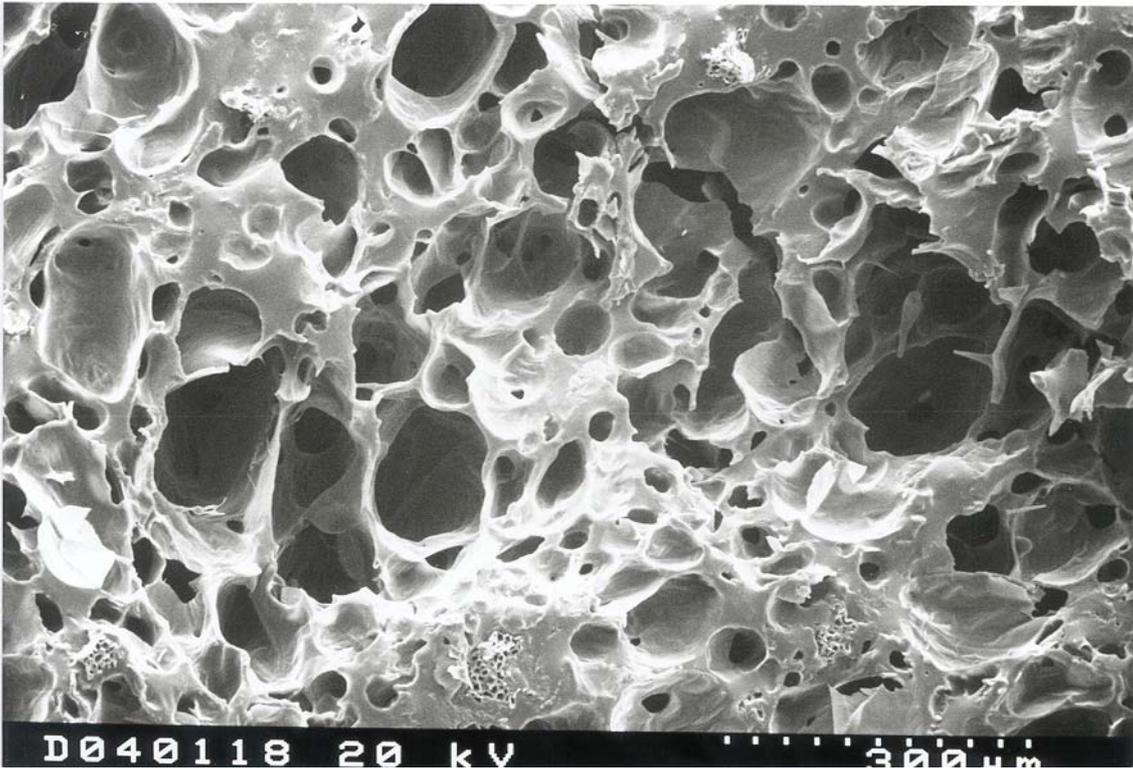
Anhang 4.3.2: REM-Photo von HELP-vorbehandelter Mango



Anhang 4.3.3: REM-Photo von HP-vorbehandelter Mango



Anhang 4.3.4: REM-Photo von cCO<sub>2</sub>-vorbehandelter Mango



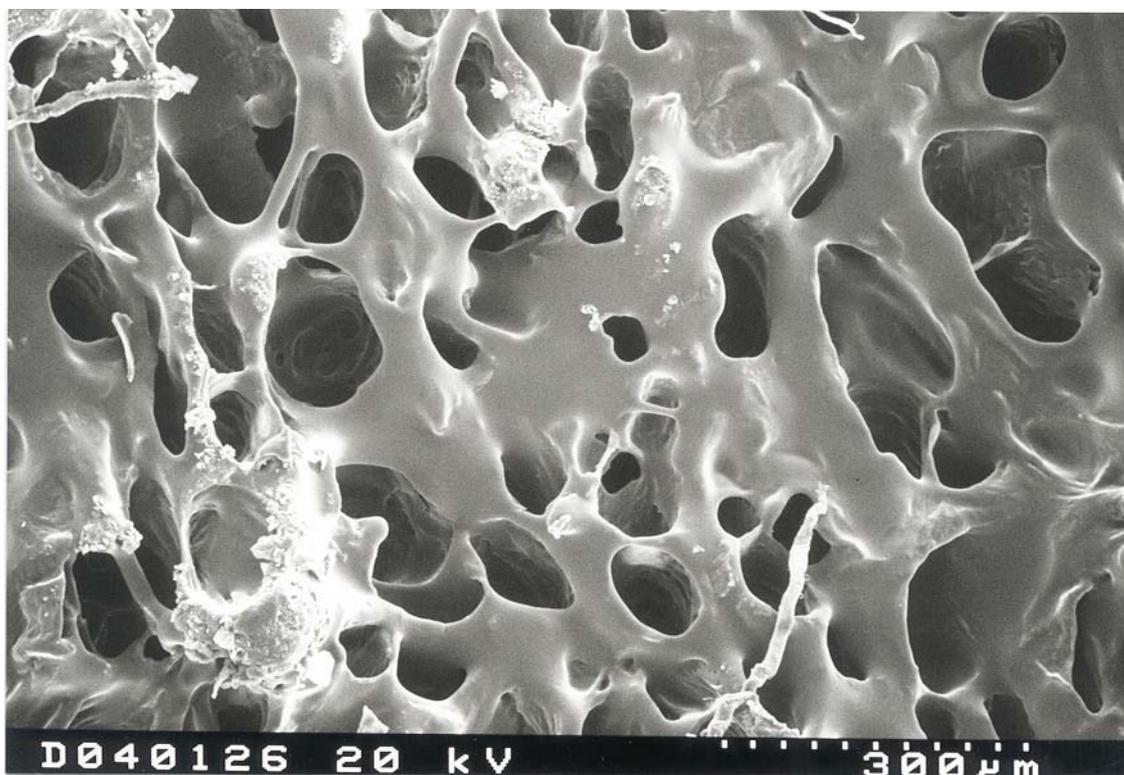
Anhang 4.3.5: REM-Photo von unbehandelter Mango nach 5 h OD



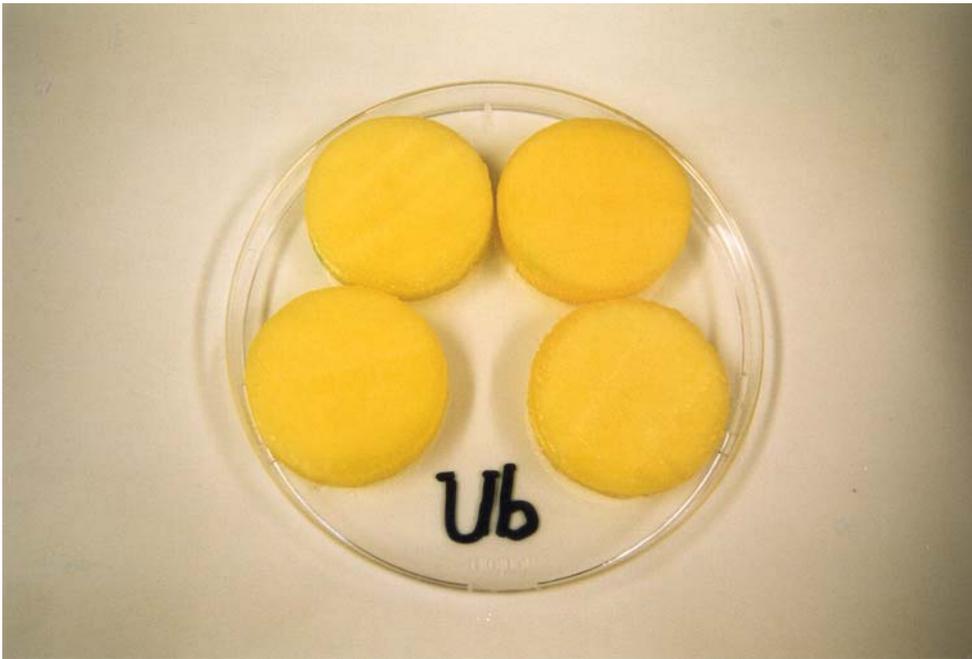
Anhang 4.3.6: REM-Photo von HELP-vorbehandelter Mango nach 5 h OD



**Anhang 4.3.7:** REM-Photo von HP-vorbehandelter Mango nach 5 h OD



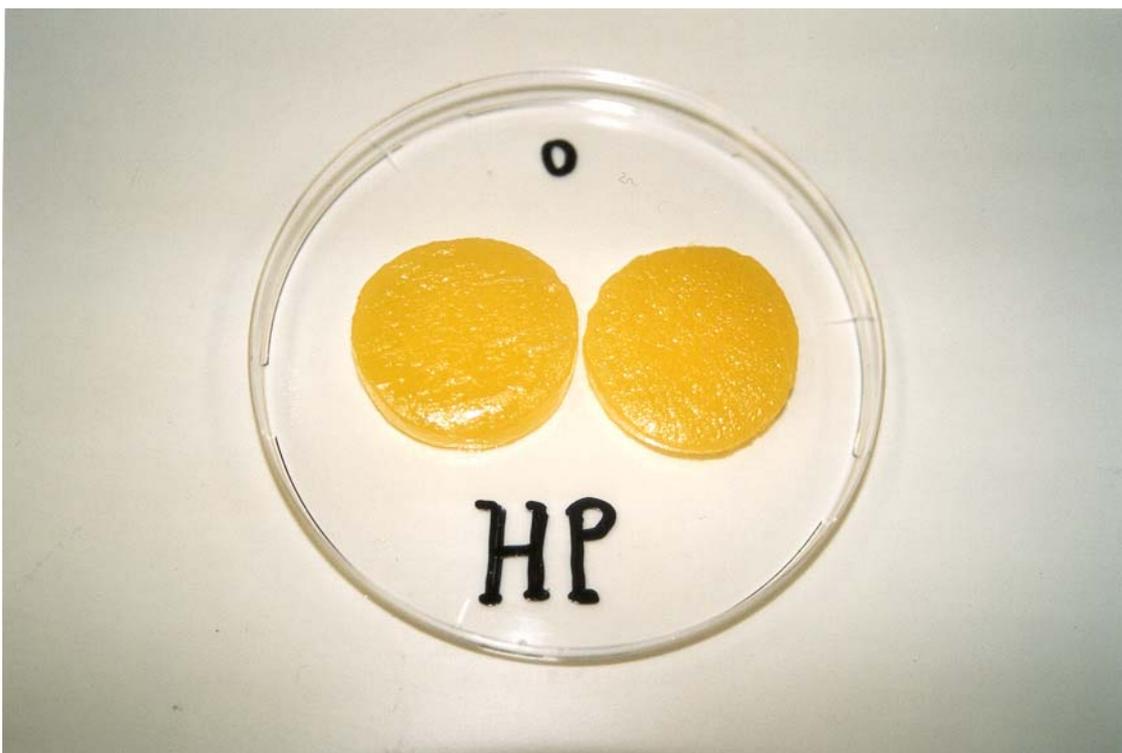
**Anhang 4.3.8:** REM-Photo von cCO<sub>2</sub>-vorbehandelter Mango nach 5 h OD



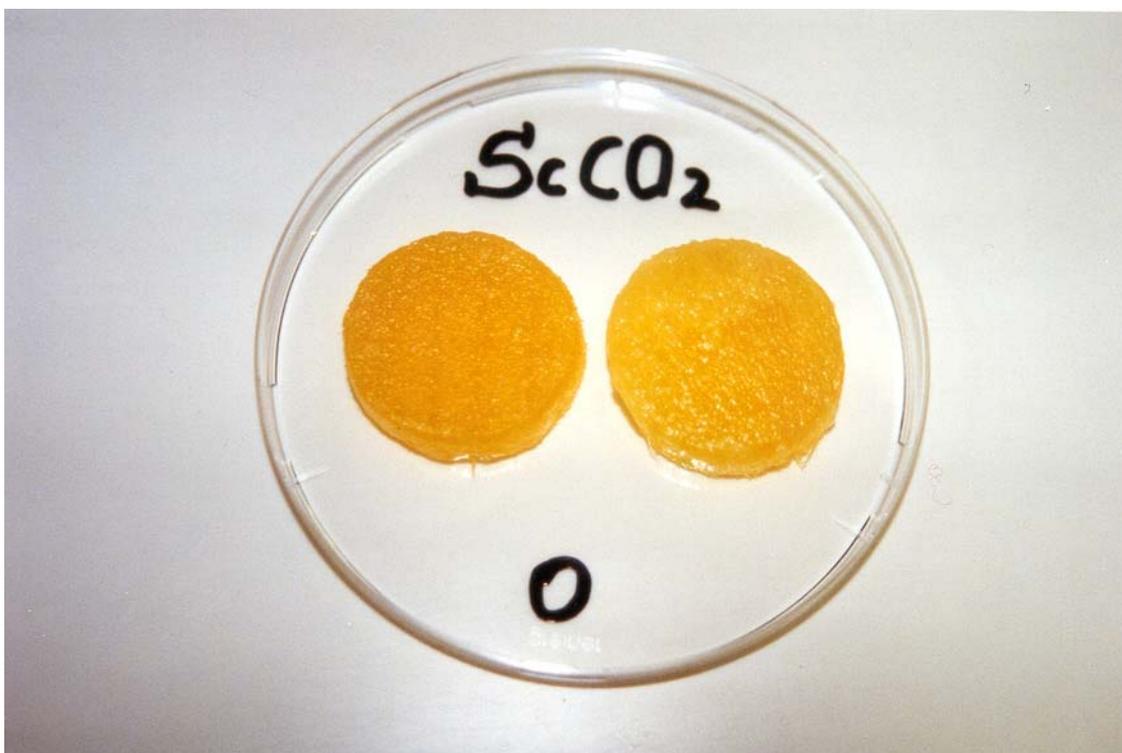
**Anhang 4.3.9:** Photo von unbehandelter Mango (OD = 0 h)



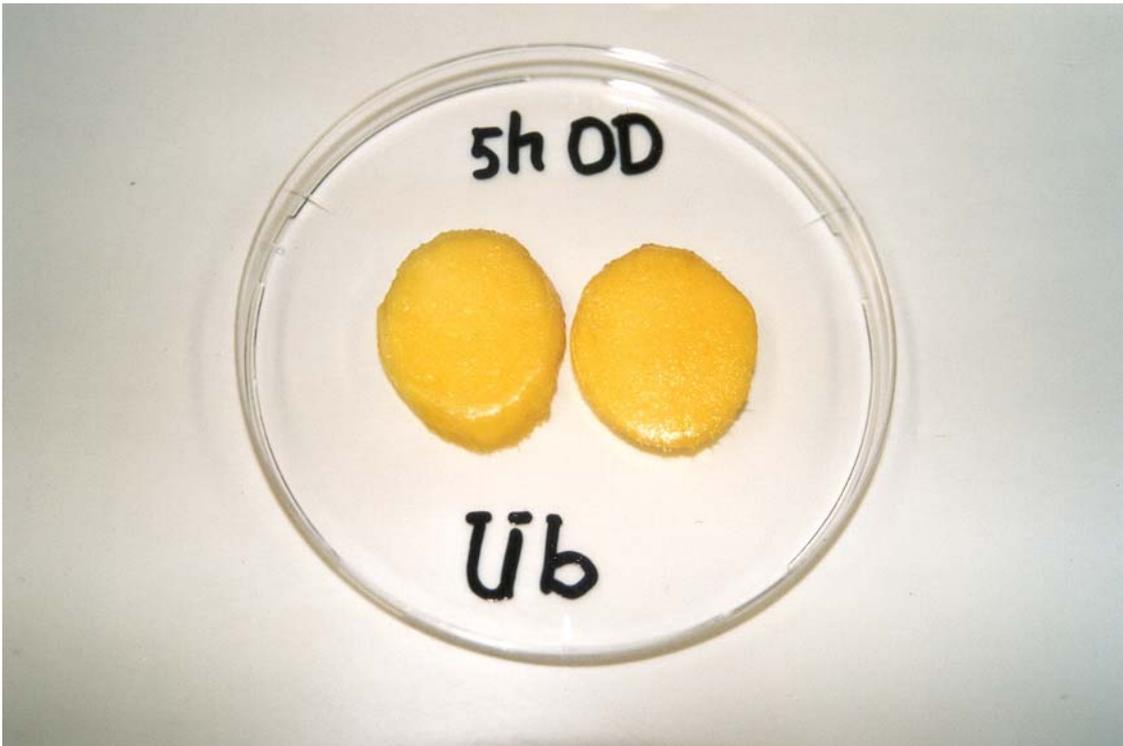
**Anhang 4.3.10:** Photo von HELP-vorbehandelter Mango (OD = 0 h)



**Anhang 4.3.11:** Photo von HP-vorbehandelter Mango (OD = 0 h)



**Anhang 4.3.12:** Photo von cCO<sub>2</sub>-vorbehandelter Mango (OD = 0 h)



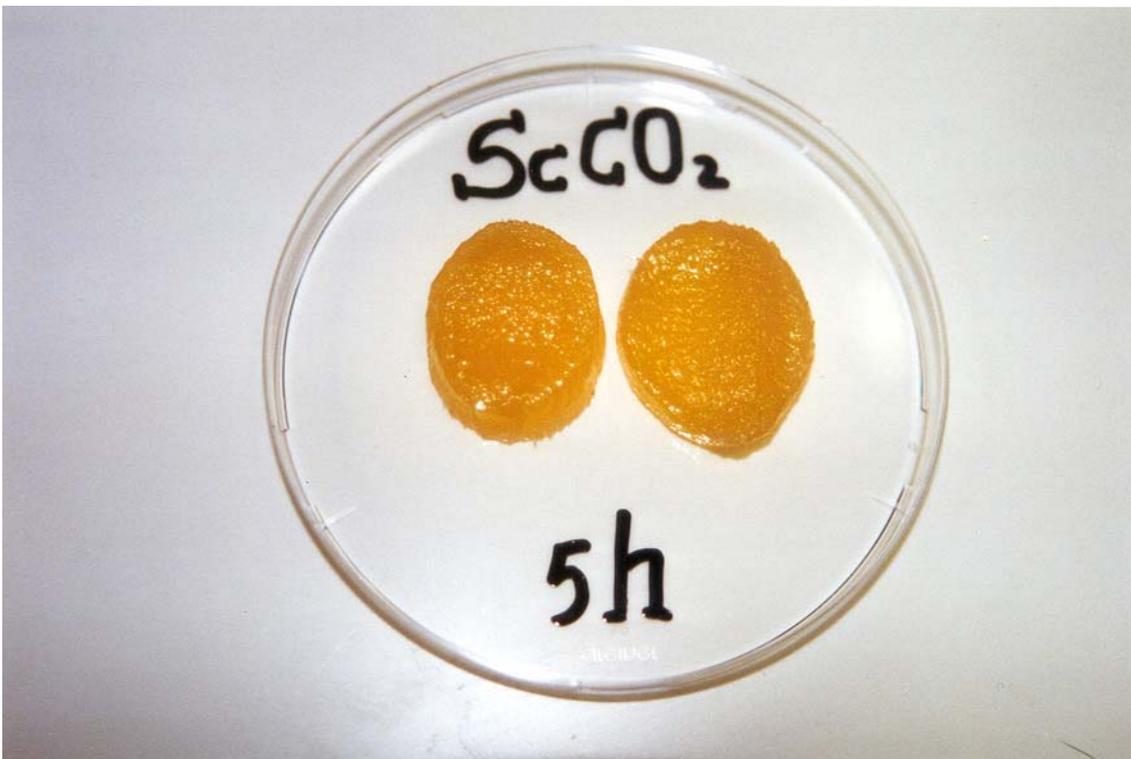
**Anhang 4.3.13:** Photo von unbehandelter Mango nach OD = 5 h



**Anhang 4.3.14:** Photo von HELP-vorbehandelter Mango nach OD = 5 h



Anhang 4.3.15: Photo von HP-vorbehandelter Mango nach OD = 5 h



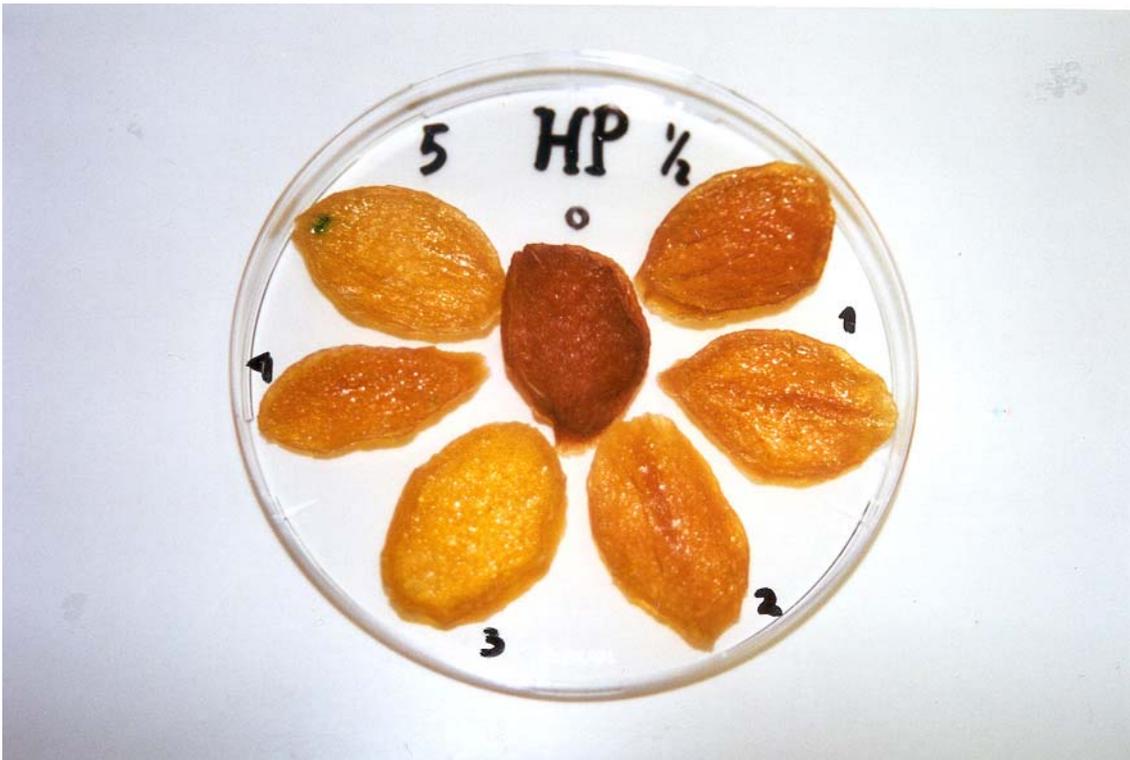
Anhang 4.3.16: Photo von cCO<sub>2</sub>-vorbehandelter Mango nach OD = 5 h



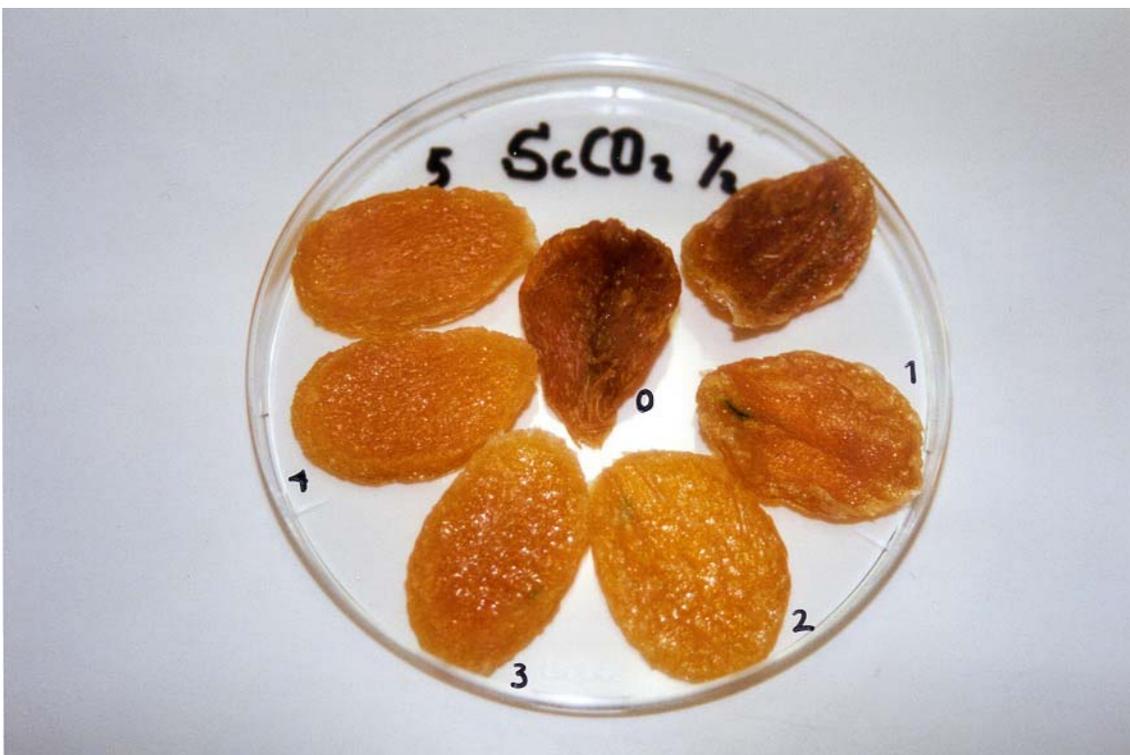
Anhang 4.3.17: Photo von unbehandelter, anschließend getrockneter Mango (OD = 0–5 h)



Anhang 4.3.18: Photo von HELP-vorbehandelter, anschließend getrockneter Mango (OD = 0–5 h)



Anhang 4.3.19: Photo von HP-vorbehandelter, anschließend getrockneter Mango (OD = 0–5 h)



Anhang 4.3.20: Photo von cCO<sub>2</sub>-vorbehandelter, anschließend getrockneter Mango (OD = 0–5 h)

