



Hochschule Neubrandenburg

Fachbereich Agrarwirtschaft und Lebensmittelwissenschaften

Studiengang Lebensmittel- & Bioprodukttechnologie

Sommersemester 2018

## **Einfluss von Hopfen-Extrakt-Fraktionen auf die Lipid- Oxidation von Lebensmitteln**

**Masterthesis**

zur

Erlangung des akademischen Grades

**Master of Science (M. Sc.)**

**Verfasser:** Andrey Ganske

**Erstbetreuer:** Prof. Dr. Marco Ebert

**Zweitbetreuer:** Prof. Dr. Leif-Alexander Garbe

**Tag der Einreichung:** 01.11.2018

**URN:** urn:nbn:de:gbv:519-thesis2018-0016-2

## Danksagung

Zu aller Erst möchte Ich mich bei Prof. Dr. Marco Ebert und Prof. Dr. Leif-Alexander Garbe für die Möglichkeit der Bearbeitung dieser interessanten Thematik bedanken. Weiterhin bin ich Ihnen sehr dankbar, dass Ich ein Teil des „HopHalt“-Projektes sein durfte. Die Tätigkeit als studentische Hilfskraft in Ihrer Arbeitsgruppe hat mir immer sehr viel Freude bereitet.

An dieser Stelle auch ein großes Dankeschön an Frau Wessel für die stets freundliche und kompetente Betreuung während meiner gesamten Zeit im Hopfenprojekt. Vielen Dank, dass Sie sich immer Zeit genommen haben für unzählige neue Anregungen, Vorschläge und insbesondere praxisbezogene Hilfestellungen im Labor.

Des Weiteren bedanke Ich mich im Rahmen der Projekttätigkeiten bei Paul Thiel, Georg Arendt, Kerstin Pohle und Zahra Arzhang für die tatkräftige Unterstützung im Labor, vielen nützlichen Ratschlägen und interessanten Gesprächen.

Ich danke meinen Freunden an dieser Stelle, dass sie meine studentische Zeit in jeglicher Hinsicht bereichert haben.

Abschließend gebührt mein besonderer Dank meinen Eltern und meinem Zwillingsbruder Alexander Ganske, die mich während meiner Studienzeit immer unterstützt haben.

## Abstract

The aim of this work was to investigate the influence of hop extract fractions on the lipid oxidation of food. Based on two different antioxidant tests (DPPH and FRAP) the antioxidant potential of each hop extract fraction was evaluated. In general water extracted extract (HS01), cyclohexane extracted extract (HS02) and ethanol extracted extract (HS03) shown antioxidative effects ( $P < 0.05$ ). Specifically, the HS01 extract had the highest antioxidant potential in the DPPH test with methanol as diluent. In FRAP-test with aqueous solution the HS03-extract had the most antioxidative effect. In comparison to commercially used antioxidants like tocopherol or ascorbic acid the antioxidant effect of hop extract fractions was many times lower. To transfer these results to certain fatty foods and evaluate their effects, various rape oil-, lard- and liver sausage samples were mixed with 100 ppm hop extract fractions. The results were compared with samples with ascorbic acid and sodium percarbonate. At first the oxidative stability of rape oil and lard was measured by an accelerated oxidized test using the Rancimat method. In conclusion, not a single hop extract fraction has significantly changed the induction time, which is a parameter for the oxidation stability. Unlike the extracts, the use of antioxidants and oxidants had mostly significantly changed the oxidative stability ( $P < 0.05$ ). In a further investigation, the TBARS concentration of lard and liver sausage were measured over several weeks at the same storage condition. On the one hand, the hop extract fractions had no significant influence in lard. In addition, the use of antioxidants and oxidants also showed no significant differences ( $P < 0.05$ ). On the other hand, the addition of 100 ppm HS02 extract and Beta extract in liver sausage influenced the TBARS value significantly. Furthermore, a significant change in TBARS were observed in all samples after a certain time ( $P < 0.05$ ). Overall it can be stated that hop extract fractions had an antioxidative potential, but the effect is far lesser than commercial antioxidants. Further the addition did not significantly affect the oxidative spoilage of fats and oils, but in liver sausage 100 ppm HS02 extract improves the stability against oxygen. The use of beta extract resulted in faster formation of TBARS in liver sausage.

## Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
AAE	ascorbic acid equivalent
Abs.	Absorption
AG	Aktiengesellschaft
BHA	Butylhydroxyanisol
BHT	Butylhydroxytoluol
C	Kohlenstoff
c	Konzentration
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
DIN	Deutsches Institut für Normung
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
EN	Europäische Norm
Fe <sup>2+</sup>	Eisen (II)-Ionen
Fe <sup>3+</sup>	Eisen (III)-Ionen
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
GC-MS	Gaschromatographie mit Massen- spektrometrie-Kopplung
gGmbH	Gemeinnützige Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GmbH & Co. KG	Gesellschaft mit beschränkter Haftung & Compagnie Kommanditgesellschaft
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
HACCP	hazard analysis and critical control points
HCL	Salzsäure
HPLC	high performance liquid chromatography
HS01	Hochschulhopfenextrakt 1
HS02	Hochschulhopfenextrakt 2
HS03	Hochschulhopfenextrakt 3
ISO	International Organization for Standardization
LFBG	Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch

M	Mittelwert
mbH	mit beschränkter Haftung
MDA	Malondialdehyd
n	Anzahl der Wiederholungen
n. Chr.	nach Christus
p	p-Wert (Signifikanzwert)
pH	pondus Hydrogenii (Menge/Kraft von Wasserstoff)
Rkt.	Reaktion
SD	standard deviation
TBA	Thiobarbituric acid
TBARS	Thiobarbitursäure reaktive Substanzen
TBHQ	Tertiär-Butylhydrochinon
TCE	Trichloressigsäure
TEP	Tetraethoxypropan
TPTZ	2,4,6-Tri-(2-pyridyl)-s-triazin
UV-Strahlung	Ultraviolettstrahlung
ZELT	Zentrum für Ernährung und Lebensmitteltechnologie
$\alpha$	Alpha
$\beta$	Beta
$\omega$	Omega

Einheit	Bezeichnung
°C	Grad Celsius
bar	Bar
g	Beschleunigung
g	Gramm
h	Stunde
ha	Hektar
l	Liter
m	Meter
min	Minute
mol	Mol
ppm	parts per million
rpm	revolutions per minute
s	Sekunde

Symbol	Name	Zehnerpotenz
k	Kilo	10 <sup>3</sup>
c	Centi	10 <sup>-2</sup>
m	Milli	10 <sup>-3</sup>
µ	Mikro	10 <sup>-6</sup>
n	Nano	10 <sup>-9</sup>

## Inhaltsverzeichnis

Danksagung .....	II
Abstract .....	III
Abkürzungsverzeichnis .....	IV
Inhaltsverzeichnis.....	VII
1 Einleitung .....	1
2 Stand der Wissenschaft und Technik.....	3
2.1 Hopfen .....	3
2.1.1 Botanik und Kultivierung.....	3
2.1.2 Inhaltsstoffe.....	4
2.1.3 Hopfenprodukte .....	12
2.1.4 Verwendung .....	15
2.2 Lipide.....	15
2.2.1 Einteilung.....	15
2.2.2 Fette und Fettsäuren.....	16
2.2.3 Fettverderb.....	18
2.3 Antioxidantien .....	21
2.3.1 Einordnung und Wirkung .....	21
2.3.2 Verwendung in der Lebensmittelindustrie .....	22
2.4 Grundlagen der Untersuchungsmethoden.....	23
2.4.1 DPPH-Test.....	23
2.4.2 FRAP-Test .....	24
2.4.3 TBARS-Test .....	25
2.4.4 Rancimat-Methode .....	26
3 Material und Methoden.....	27
3.1 Versuchsplanung und Projektübersicht .....	27

3.2	Materialien .....	29
3.3	Produktion der Rohstoffe .....	32
3.3.1	Herstellung der Hopfenextrakte .....	32
3.3.2	Herstellung der Rapsöl-Proben .....	32
3.3.3	Herstellung der Schweineschmalz-Proben .....	33
3.3.4	Herstellung der Leberwurst-Proben.....	34
3.4	Analytische Methoden.....	35
3.4.1	Probenvorbereitung .....	35
3.4.2	Bestimmung der antioxidativen Aktivität (DPPH-Test).....	35
3.4.3	Bestimmung der antioxidativen Kapazität (FRAP-Test) .....	38
3.4.4	Bestimmung der Oxidationsstabilität (Rancimat-Methode).....	40
3.4.5	Bestimmung der Thiobarbitursäure reaktiven Substanzen (TBARS-Test) .....	40
3.5	Statistische Auswertung der Daten .....	42
4	Ergebnisse .....	43
4.1	Bestimmung der antioxidativen Aktivität von Hopfenextrakten (DPPH-Test).....	43
4.2	Bestimmung der antioxidativen Kapazität von Hopfenextrakten (FRAP-Test) .....	46
4.3	Bestimmung der Oxidationsstabilität von Lebensmitteln (Rancimat-Methode).....	47
4.4	Bestimmung der TBARS in Lebensmitteln (TBARS-Test) .....	49
5	Abschlussdiskussion .....	53
6	Zusammenfassung .....	59
7	Literaturverzeichnis .....	61
8	Abbildungsverzeichnis .....	65
9	Tabellenverzeichnis.....	66
10	Verzeichnis der Formeln.....	67
11	Verzeichnis der Anlagen .....	67
	Erklärung über die selbstständige Anfertigung der Arbeit.....	115

# 1 Einleitung

Hopfen findet seine älteste Erwähnung von Plinius dem Älteren im Jahr 79 n. Chr., der den Mehrwert der Pflanze als Delikatesse in den Sprossen sah (Wilhelm, 2013). Erst Anfang des 12. Jahrhundert wird Hopfen erstmalig zur Herstellung von Bier erwähnt. Als wichtige Zutat beim Brauprozess verursacht der Hopfen das typische Hopfenaroma und den bitteren Geschmack. Darüber hinaus war schon zur damaligen Zeit das antiseptische Potenzial der Hopfendolden bekannt (Heyse, 1995). In den letzten 1000 Jahren hat sich der Hopfen als weltweite Kulturpflanze etabliert und wird mittlerweile auf allen Kontinenten der Erde angepflanzt (Wilhelm, 2013). Als Rohstoff in der Bierherstellung ist der Hopfen heutzutage unverzichtbar und macht den Großteil der Nutzung aus (Biendl *et al.*, 2012). Nur ein geringer Teil der weltweiten Hopfenproduktion wird für kosmetische und pharmazeutische Produkte verwendet (Wilhelm, 2013). Trotz alldem ist das Interesse der Hopfeninhaltsstoffe in den vergangenen Jahren immens gestiegen. Neben antimikrobieller Wirkung werden den Inhaltsstoffen u. a. gesundheitsfördernde und antioxidative Eigenschaften zugesprochen, weshalb der Einsatz auch abseits der Bierindustrie ein hohes Potenzial ausweist (Piendl und Biendl, 2000). Antioxidantien sind heutzutage in sehr vielen Lebensmitteln zur Verlängerung der Haltbarkeit bei gleichbleibender Qualität unumgänglich geworden. Der oxidative Verderb ist ein weitgehendes Problem in der Lebensmittelbranche und ist allgegenwärtig. Besonders fettreiche Lebensmittel sind über den gesamten Herstellungsprozess und während der Lagerung sehr anfällig gegenüber Sauerstoff. Neben dem Verlust an essentiellen Nährstoffen und der Veränderung von sensorischen Eigenschaften können auch gesundheitsschädliche Verbindungen durch die Lipid-Oxidation entstehen. In den vergangenen Jahrzehnten ist die Akzeptanz gegenüber synthetischen Antioxidantien immer mehr gesunken und der Trend geht immer weiter in Richtung natürlichen Konservierungsmitteln (Rathjen, 1998). Dementsprechend kann die Entwicklung von neuartigen, haltbaren und sicheren Lebensmitteln mit natürlichen Konservierungsmitteln bzw. Antioxidantien entscheidende Wettbewerbsvorteile am globalen Markt mit sich bringen. Die Erfolgsgarantie von Lebensmitteln mit Hopfeninhaltsstoffen zur Verlängerung der Haltbarkeit ist allerdings noch schwer einzuschätzen. Der Erfolg hängt vor allem von der Akzeptanz des Verbrauchers ab, welche durch weiterführende Forschungen von Hopfeninhaltsstoffen erhöht werden kann (Biendl, 2005). Mit diesem zielorientierten Kontext beschäftigt sich die Hochschule Neubrandenburg, die Landfleischerei Torney Pripsleben GmbH und das Zentrum für Ernährung

und Lebensmitteltechnologie gGmbH in dem kollektiven Projekt „HopHalt“ zur Erforschung der Eigenschaften von Lebensmitteln mit Hopfeninhaltsstoffen.

Im Rahmen der projektbezogenen chemischen Analytik ist das Ziel dieser Arbeit den Einfluss von Hopfen-Extrakt-Fraktionen auf die Lipid-Oxidation von Lebensmitteln zu untersuchen. Näher wird das antioxidative Potential der verwendeten Hopfen-Extrakt-Fraktionen erforscht und bewertet. Im Allgemeinen beschäftigt sich diese wissenschaftliche Arbeit über die Bedeutung und Wirkung des Hopfens und deren Hopfeninhaltsstoffe. Darüber hinaus wird grundlegendes Wissen über Fette und deren Oxidationsprozesse vermittelt. Weiterhin werden Antioxidantien und deren Wirkung näher beschrieben. Zum Verständnis der grundlegenden Oxidationsprozesse von Fetten und Ölen wurde die Oxidationsstabilität von pflanzlichen und tierischen Fetten mit der Rancimat-Methode untersucht. Daraufhin wurde der Einfluss bei Zugabe von Hopfen-Extrakt-Fraktionen, Antioxidantien und Oxidantien beobachtet. In umfassenden Antioxidationstests (FRAP und DPPH) wurde das antioxidative Potenzial ausgewählter Hopfen-Extrakt-Fraktionen untersucht und bewertet. Im abschließenden Lagerversuch wurde die Konzentration an TBARS über mehrere Wochen von fetthaltigen Lebensmitteln ohne und mit Hopfen-Extrakt-Fraktionen, Antioxidantien und Oxidantien gemessen und der aktuelle Zustand des oxidativen Verderbs bewertet.

## 2 Stand der Wissenschaft und Technik

### 2.1 Hopfen

#### 2.1.1 Botanik und Kultivierung

Der Hopfen (*Humulus lupulus*) ist eine mehrjährige, zweihäusige Pflanze (Kunze, 2011). Die Kletterpflanze wird botanisch den Nesselgewächsen (*Urticales*) zugeordnet und gehört der Familie der Hanfgewächse (*Cannabinaceae*) an (Back, 2008). Es werden nur die weiblichen Pflanzen mit ihren wertgebenden Blütenständen, u.a. auch Hopfendolden oder Hopfenzapfen bezeichnet, kultiviert. Die männlichen Pflanzen werden nur für die Züchtung neuer Hopfensorten verwendet (Kunze, 2011). Dabei wird u.a. das Aroma, der Ertrag, der Bittergehalt, die Klimatoleranz und die Resistenz gegenüber Krankheiten und Schädlingen verbessert (Narziß *et al.*, 2017). Im Allgemeinen bestehen die Hopfendolden aus Stiel, Spindel, Blüten, Lupulin und Doldenblättern (Kunze, 2011). Der schematische Aufbau einer Hopfendolde wird in der Abbildung 1 ersichtlich.

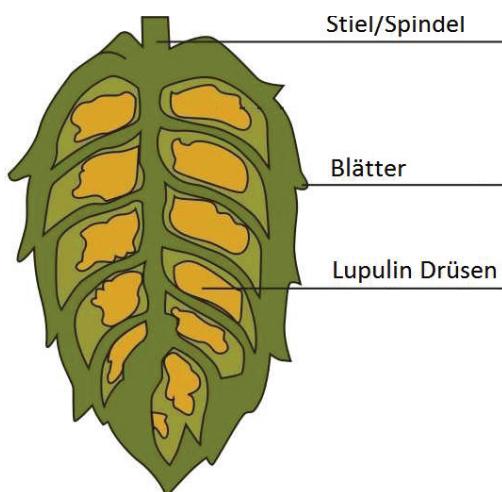


Abbildung 1: schematischer Aufbau einer Hopfendolde (Thiel, 2017)

Je nach Sorte sind die Spindeln und Doldenblätter des Hopfens in ihrer Form und Ausprägung unterschiedlich. Diese Abweichungen sind wesentliche botanische Kennzeichen für die Einordnung in verschiedenste Hopfensorten (Biendl, 2012). Des Weiteren unterscheiden sich die Sorten nach ihrem typischen Aroma, welche durch die Art und Menge der Hopfenöle bestimmt wird. Die Zusammensetzung und der Gehalt an Bitterstoffen ist ebenfalls ein wichtiges Kriterium. Im Allgemeinen wird nach diesen Kriterien der Hopfen in Aromasorten, Bittersorten und Hoch-

$\alpha$ -Sorten unterteilt (Narziß *et al.*, 2017). Der technologisch interessante Bestandteil des Hopfens ist Lupulin. Es ist ein gelbes und klebriges Pulver, welches zwischen der Spindel und den Deckblättern von den Lupulin-Drüsen gebildet wird. Das Lupulin, bestehend aus bitteren Harzen und ätherischen Ölen, enthält alle für die Brauereitechnologie wertgebenden Inhaltsstoffe, mit Ausnahme der Gerbstoffe (Kunze, 2011; Biendl *et al.*, 2012). Der Kulturhopfen wird mittlerweile in mehr als 50 Ländern auf einer Gesamtfläche von über 52 000 ha angebaut. Die größten Produzenten sind mit Abstand Deutschland, USA, China und die Tschechische Republik. Dennoch sinkt die Weltanbaufläche seit etwa 1992 kontinuierlich, obwohl die Weltbierproduktion im gleichen Zeitraum stetig steigt. Dies liegt vor allem an dem verstärkten Anbau und Einsatz von Hoch- $\alpha$ -Sorten, wodurch für die gleiche Bitterkeit der Biere geringere Dosierungen notwendig sind. Darüber hinaus geht der weltweite Trend des Bierkonsums in Richtung der Biere mit geringen Bittereinheiten (Kunze, 2011; Biendl *et al.*, 2012).

## 2.1.2 Inhaltsstoffe

Die Hopfeninhaltsstoffe setzen sich neben Wasser im Wesentlichen aus den Primär- und Sekundärmetaboliten des Hopfens zusammen. Die frischen Hopfendolden haben einen Wassergehalt von ca. 80 %. Nach der Ernte werden die Dolden in der Regel sofort auf einen Wassergehalt von ca. 10 % runter getrocknet, so dass der Hopfen für den Handel mikrobiologisch stabil wird (Biendl *et al.*, 2012). Die durchschnittliche charakteristische Zusammensetzung der Inhaltsstoffe von getrockneten Dolden verschiedener Sorten wird in der Abbildung 2 ersichtlich.

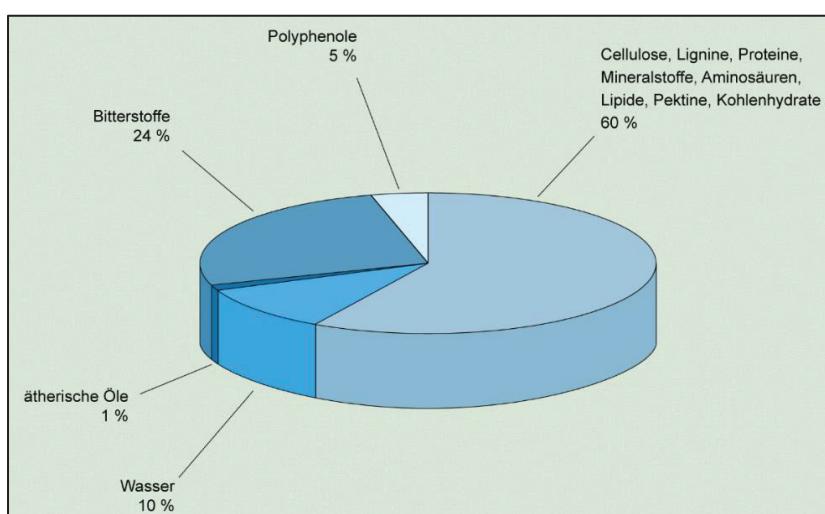


Abbildung 2: durchschnittliche charakteristische Zusammensetzung getrockneter Hopfendolden verschiedener Sorten (Wingender und Stamm, 2015)

Die Zusammensetzung der Inhaltsstoffe kann je nach Sorte, Jahrgang, Herkunftsland, Erntezeitpunkt, Trocknung und Lagerung variieren (Back, 2008). Primärmetaboliten, wie z. B. Proteine, Kohlenhydrate und Lipide, sind wichtiger Bestandteil für das Zellwachstum und essentiell für die Pflanze. Die Sekundärmetaboliten, u.a. auch sekundäre Pflanzenstoffe bezeichnet, sind für die Pflanze nicht essentiell und können vielfältige Funktionen haben. Beispielsweise können Insekten zur Bestäubung angelockt oder Schädlinge ferngehalten werden. Die Beschaffenheit der Sekundärmetaboliten ist sehr vielseitig, zu denen z. B. Pigmente, Alkaloide, Öle, Harze und Polyphenole gehören. In den Hopfendolden ist der Anteil an sekundären Pflanzenstoffen mit ca. 30 % in den getrockneten Dolden sehr hoch. Vor Allem Polyphenole, ätherische Öle und Bitterstoffe machen einen Großteil der Sekundärmetaboliten aus. Die wichtigsten Sekundärmetaboliten der Hopfendolde sind in der nachfolgenden Abbildung 3 schematisch dargestellt.

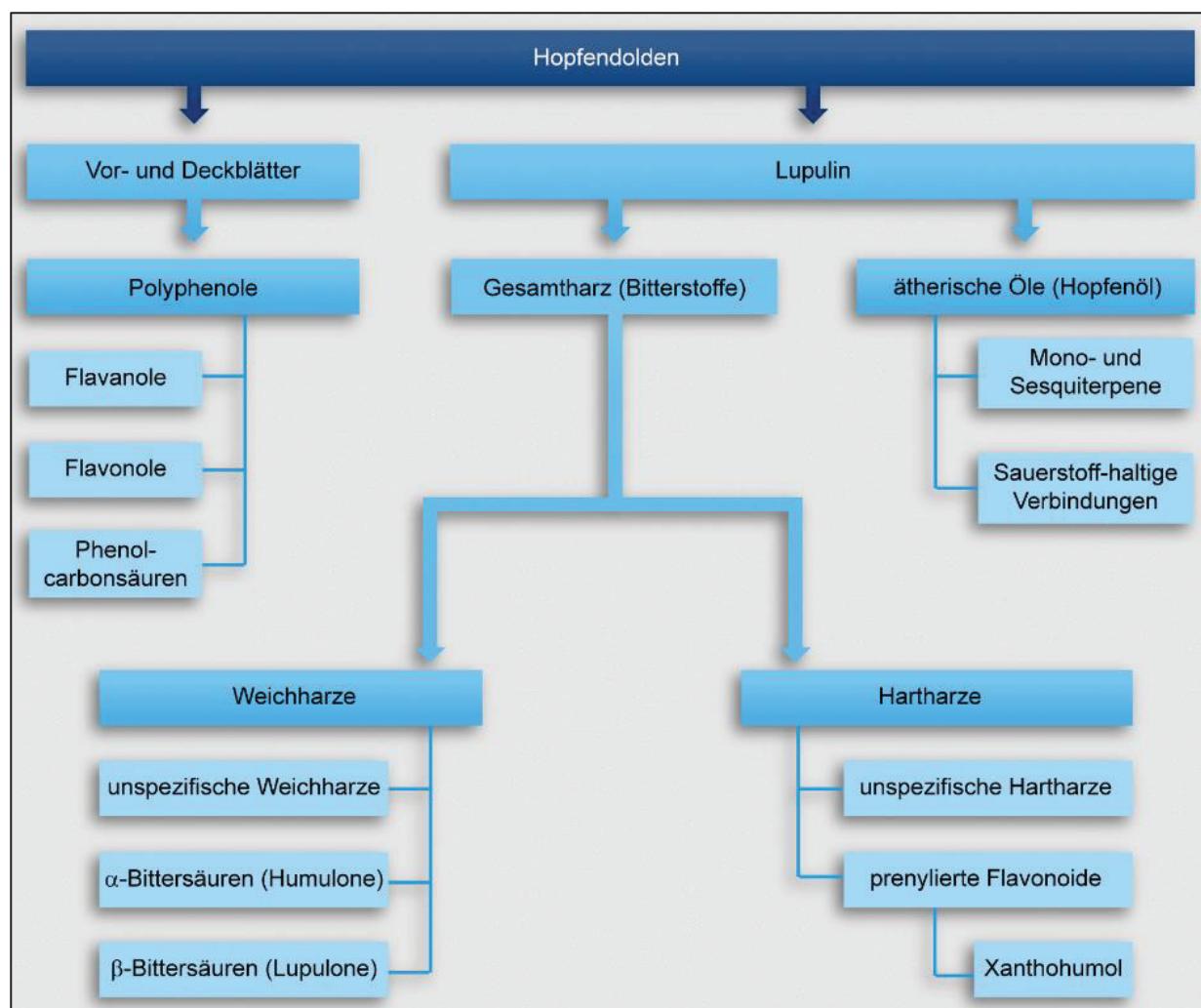


Abbildung 3: schematische Einteilung der wichtigsten Sekundärmetaboliten der Hopfendolde (Wingender und Stamm, 2015)

Die Polyphenole werden in den Doldenblättern eingelagert. Wogegen die ätherischen Öle und Bitterstoffe im Lupulin vorliegen. Im Lupulin enthaltene Enzyme sind in der Lage Prenyl-Gruppen als Seitenketten in terpenophenolische oder polyphenolische Grundstrukturen einzufügen. Diese prenylierten Verbindungen, welche vorwiegend im Bitterstoff des Hopfens vorzufinden sind, machen den Hopfen im Geruch und Geschmack einzigartig (Biendl *et al.*, 2012). Es folgt eine detailliertere Beschreibung der wichtigsten Hopfeninhaltstoffe.

### Bitterstoffe

Die Summe aus allen Bitterstoffen im Hopfen wird Gesamtharz bezeichnet. Die getrocknete Hopfendolde kann bis zu 30 % Gesamtharz enthalten und setzt sich aus den Bestandteilen des sogenannten Weichharzes und des Hartharzes zusammen. Der Harzgehalt ist sehr sorten-spezifisch und kann stark schwanken (Back, 2008; Biendl *et al.*, 2012). Ein Überblick über die Zusammensetzung der Hopfenharze in den getrockneten Hopfendolden liefert die Tabelle 1.

Tabelle 1: sortenbedingte Schwankungsbreite der Hopfenharze in den getrockneten Hopfendolden (nach Biendl *et al.*, 2012)

Gesamtharze		Relativer Anteil [%]	Gesamt [%]
Hartharze	unspezifisch	2	2 – 3
	spezifisch		
Weichharze	• Xanthohumol	0,2 – 1,2	10 – 30
	unspezifisch	3 - 6	
Weichharze	spezifisch		10 – 30
	• $\alpha$ -Säuren	2 – 20	
	• $\beta$ -Säuren	3 – 10	

Die Einteilung der Hopfenharze erfolgt nach der Löslichkeit in Hexan. Weichharze sind in Hexan löslich und Hartharze sind nicht in Hexan löslich. Die Weichharze bestehen zum großen Teil aus  $\alpha$ -Säuren (Humulone) und  $\beta$ -Säuren (Lupulone). Sie sind Gemische verschiedener Homologen mit sehr ähnlicher chemischer Struktur. Die Homologe der  $\alpha$ -Säuren sind Humulon, co-, ad-, prä- und post-Humulon. Die Lupulone werden mit denselben Präfixen gleichermaßen unterteilt. Sie unterscheiden sich lediglich durch die Seitenkette am dritten Kohlenstoffatom (Back, 2008; Biendl *et al.*, 2012). Humulone haben eine Hydroxygruppe und Lupulone haben eine

Dimethylallyl-Gruppe. Die chemische Struktur der  $\alpha$ -,  $\beta$ - und Iso-  $\alpha$  -Säuren des Hopfens sind in der nachfolgenden Abbildung 4 dargestellt.

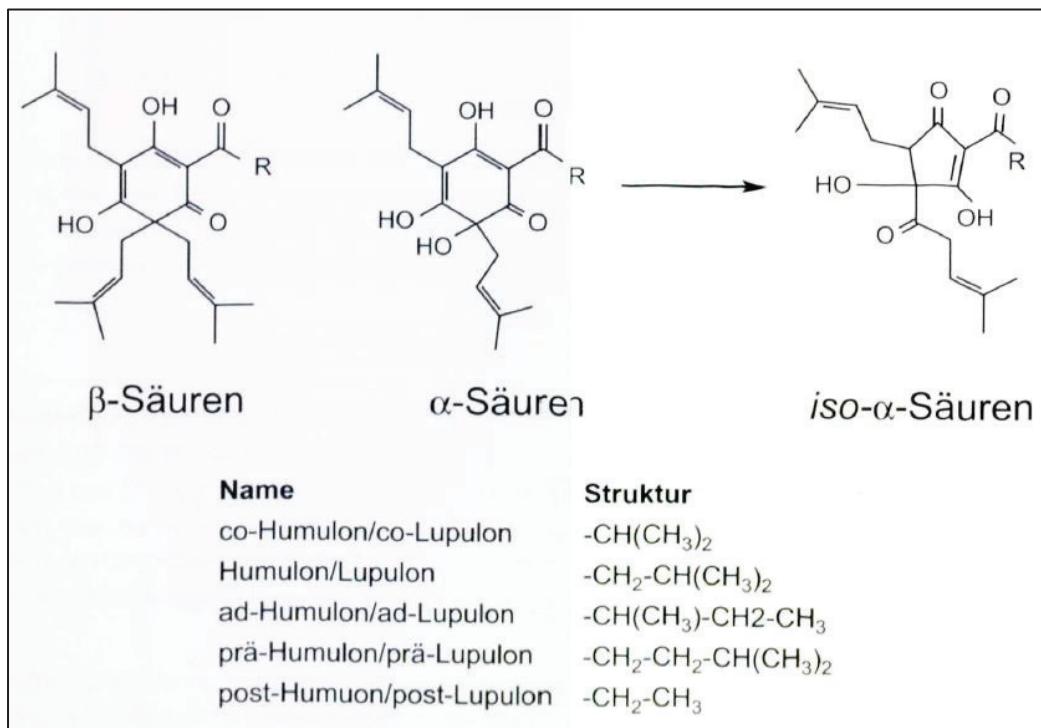


Abbildung 4: chemische Struktur der  $\alpha$ -,  $\beta$ - und Iso-  $\alpha$  -Säuren des Hopfens (Biendl et al., 2012)

Neben dem typischen bitteren Geschmack und der Schaumbildung im Bier haben die Hopfenbitterstoffe wesentliche antibakterielle Eigenschaften zur Verlängerung der biologischen Haltbarkeit. Abgesehen von den  $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren hat die Iso-  $\alpha$  -Säure einen wesentlichen Einfluss auf die Bitterkeit. Sie entsteht durch die Isomerisierung der  $\alpha$ -Säuren während des Kochprozesses, ist besser wasserlöslich und deutlich bitterer als die nicht isomerisierte Form (Back, 2008). Humulone und Lupulone haben ein hohes antioxidatives Potenzial. Sie haben das Potenzial als Radikalfänger zu agieren und die Lipidperoxidation zu hemmen. Die Radikalfängeraktivität ist bei beiden Weichharzen fast identisch mit den zwei natürlichen Antioxidantien  $\alpha$ -Tocopherol und Ascorbinsäure. In der Hemmung der Lipidoxidation wurden sogar 10 bis 100-mal größere Hemmwirkungen beobachtet (Piendl und Biendl, 2000). Die Hartharze sind der polare bzw. gut wasserlösliche Teil des Hopfens, die sich vorwiegend aus Glucopyranosiden und Prenylflavonoiden zusammensetzen. Glucopyranoside sind an Glukose gebundene Multifidole und Flavonole, wie z.B. Quercetin oder Kaemperol (Biendl und Cocuzza, 2016/2017). Die Bedeutung der Prenylflavonoide mit dem wichtigsten Vertreter Xanthohumol und einiger

Glucopyranoside werden im nachfolgenden Textabschnitt der Polyphenole näher erläutert. Die unspezifischen Harze der Bitterstoffe umfassen ein Sammelbegriff für verschiedene Substanzen mit ähnlicher chemischer Struktur der Weich- oder Hartharze. Diese Substanzen sind teilweise in nur sehr geringer Konzentration vorhanden, können nicht eindeutig gemessen oder chemisch charakterisiert werden (Biendl *et al.*, 2012).

### ätherische Öle

Das typische Hopfenaroma entsteht durch zahlreiche flüchtige Verbindungen im Hopfen. Der Gehalt an ätherischen Ölen in der getrockneten Hopfendolde variiert je nach Sorte, Anbaugebiet und Erntejahr zwischen 0,2 und 3 %. Das Hopfenaroma setzt sich aus mehr als 1000 chemischen Substanzen zusammen, wovon lediglich 400 Verbindungen chemisch entschlüsselt und identifiziert wurden. Zu den charakteristischen Verbindungen zählen vor allem Kohlenwasserstoffe und verschiedene sauerstoffhaltige Verbindungen (Biendl *et al.*, 2012). Der relative Anteil an ausgewählten chemischen Verbindungen im Hopfenöl ist der Tabelle 2 zu entnehmen. Die prozentualen Anteile sind Durchschnittswerte von verschiedenen Sorten aus frisch geernteten Hopfendolden.

Tabelle 2: relative Anteile von chemischen Verbindungen im Hopfenöl frisch geernteter Hopfendolden (nach Biendl *et al.*, 2012)

Verbindungen im Hopfenöl		Relativer Anteil [%]
Kohlenwasserstoffe	Monoterpene	40
	Sesquiterpene	40
	Aliphatische Kohlenwasserstoffe	< 1
Sauerstoffhaltige Verbindungen	Carbonsäure-Ester	15
	Carbonsäuren	1
	Monoterpenoxide	1
	Sesquiterpenoxide	1
	Aliphatische Aldehyde und Ketone	1
	Sauerstoffhaltige Thiole	< 1

Es ist zu erkennen, dass vor allem die Monoterpene, Sesquiterpene und die Carbonsäure-Ester im Hopfenöl mengenmäßig überwiegen. In der Stoffgruppe der Monoterpene ist Myrcen mit

mehr als 50 % mengenmäßig am meisten vorhanden und sorgt mitunter für den typischen grasigen Geruch im frischen Hopfen. Weitere Monoterpenen mit deutlich geringeren Anteilen sind Limonen,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Pinen. In der Stoffgruppe der Sesquiterpene überwiegen mengenmäßig  $\beta$ -Caryophyllen,  $\alpha$ -Humulen und Farnesen. Sesquiterpene sind in der Regel weniger flüchtig als Monoterpenen, jedoch können autoxidative Prozesse die Bildung von Epoxiden begünstigen. Die Carbonsäure-Ester sind die drittgrößte Stoffgruppe im Hopfenöl und beinhalten vorwiegend Methylester verschiedener geradkettiger oder verzweigter Carbonsäuren, aber auch deren Ethyl-, Propyl- und Butylester. Sie sorgen mitunter für das arttypische fruchtige oder blumige Hopfenaroma. Die Intensität des Aromas bzw. der Gehalt der Carbonsäure-Ester variiert sehr stark nach Hopfensorte. Bei ungünstigen warmen Lagerbedingungen können freie Carbonsäuren bzw. Fettsäuren, u. a. Butansäure oder Pentansäure, gebildet werden und verursachen einen unangenehmen käsigen Geruch. Allerdings können diese Fehlaromen durch konsequente Kühlmaßnahmen der Hopfenprodukte weitestgehend unterbunden werden (Back, 2008; Biendl *et al.*, 2012). Neben der Bildung des typischen Aromaprofiles werden den ätherischen Ölen auch sedierende Wirkungen zugesprochen. Vor allem das 2-Methyl-3-buten-2-ol, welches sich bei der Lagerung der Hopfenprodukte anreichert, wird in diesem Zusammenhang in Verbindung gesetzt. Allerdings konnte noch keine eindeutige sedierende Wirkung des Hopfenöls wissenschaftlich bestätigt werden. (Biendl und Pinzl, 2009; Biendl *et al.*, 2012; Narziß *et al.*, 2017)

### **Polyphenole**

Polyphenole sind mehr oder weniger komplexe Verbindungen bestehend aus mehreren Phenylgruppen (Kunze, 2011). Der Gehalt in den getrockneten Hopfendolden kann je nach Sorte zwischen 2 und 7 % betragen. Die Polyphenole sind vorwiegend in den Deckblättern und Spindeln des Hopfens enthalten (Kunze, 2011; Biendl *et al.*, 2012). Sie setzen sich in der Regel aus Taninen, Catechinen, Flavonolen und Proanthocyanidinen zusammen. Dabei sind die Proanthocyanidine, auch Anthocyanogene genannt, mit über 80 % mengenmäßig am meisten unter den Polyphenolen vertreten. Die Hopfenpolyphenole werden grob in polymere und monomere Polyphenole unterteilt, je nach dem aus wie vielen Einheiten sie bestehen und zusammengesetzt sind. Monomere Polyphenole bestehen entweder aus phenolischen oder heterocyclischen Carbonsäuren. Polymere Polyphenole können niedermolekular oder höhermolekular sein. Je nach Art und Umfang der Zusammensetzung können die Polyphenole

abweichende Eigenschaften haben (Kunze, 2011). Die systematische Einteilung der Hopfenpolyphenole wird in der Abbildung 5 genauer ersichtlich.

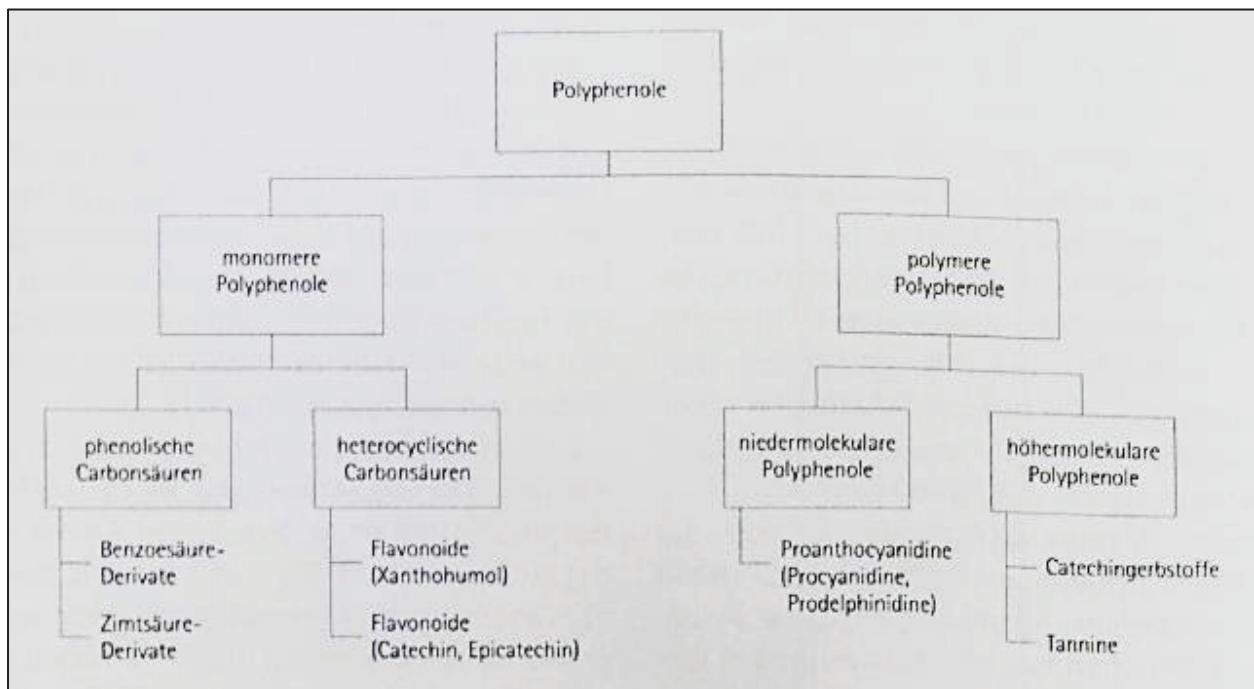


Abbildung 5: systematische Einteilung der Hopfenpolyphenole (Kunze, 2011)

Phenolische Carbonsäuren und Flavonoide sind in der Pflanzenwelt zahlreich vertreten. Das Polyphenol Quercetin ist in freier Form eines der stärksten bekannten natürlichen Antioxidantien. In Hopfen ist Quercetin glykosidisch gebunden und dadurch verbessert sich die Wasserlöslichkeit. Eine ähnliche antioxidative Wirkung hat das Polyphenol Catechin, welches in freier Form oder in mehrkettiger Form aus sich selbst oder mit ähnlichen Strukturen (Epicatechin) im Hopfen vorliegt. Ketten aus bis zu acht Einheiten werden Proanthocyanidine bezeichnet (Biendl *et al.*, 2012). Bei Erhitzung im sauren Milieu und in Anwesenheit von Sauerstoff reagieren Proanthocyanidine zu Anthocyanidine, welche als natürliche Antioxidantien gelten (Back, 2008). Bei noch längeren Polymereinheiten werden die Bezeichnungen Gerbstoffe oder Tannine verwendet, welche ebenfalls antioxidativ wirken. Die Prenylflavonoide sind sehr hopfenspezifisch und einzigartig in der Pflanzenwelt (Biendl *et al.*, 2012). Im Gegensatz zu den anderen Polyphenolen sind alle Prenylflavonoide im Lupulin lokalisiert. Allen voran als wichtigster Vertreter das Xanthohumol (Back, 2008; Kunze, 2011; Biendl *et al.*, 2012). Dem Xanthohumol werden antioxidative und sogar antikanzerogene Eigenschaften zugeschrieben. Außerdem weist die Substanz im Gegensatz zu den  $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren eine sehr milde Bittere auf, weshalb der Stoff

als Arznei- oder Nahrungsergänzungsmittel sinnvoll und möglich wäre. Die beim Kochen entstehende isomerisierte Form des Xanthohumols, das sogenannte Isoxanthohumol, hat ähnliche Eigenschaften wie das Xanthohumol nur in abgeschwächter Form. Allerdings ist die Wasserlöslichkeit der isomerisierten Form um ein Vielfaches höher (Biendl und Pinzl, 2009; Kunze, 2011; Biendl *et al.*, 2012). In der nachfolgenden Tabelle 3 wird der maximale Gehalt an ausgewählten spezifischen Polyphenolen im getrockneten Hopfendolden ersichtlich.

Tabelle 3: maximaler Gehalt an ausgewählten spezifischen Polyphenolen in der getrockneten Hopfendolde (nach Biendl *et al.*, 2012)

Polyphenol im Hopfen	Maximaler Gehalt [%]
Xanthohumol	1,2
Co-Multifidolglukosid	0,3
Isoquercitrin (Quercetinoglukosid)	0,2
Astragalin (Kaempferolglukosid)	0,2
Catechin	0,2
Procyanidin B3	0,1
Desmethylxanthohumol	0,1
6-Prenylnaringenin	0,03
8-Prenylnaringenin	0,01
Ferulasäure	0,01
Resveratrol	< 0,01

Die antioxidative Wirkung der zahlreichen Polyphenole trägt zur Verbesserung der Geschmacksstabilität bei. Neben den antioxidativen Eigenschaften haben die Hopfenpolyphenole auch wichtige technologische Eigenschaften, allen voran für die Bierbrautechnologie. Sie bewirken ein adstringierendes Mundgefühl und deren Oxidationsprodukte bilden rotbraune bis schwarze Verbindungen. Außerdem haben die Polyphenole die Fähigkeit sich mit komplexen Eiweißstoffen zu verbinden und diese auszufällen. (Kunze, 2011). Des Weiteren haben Multifidole im Hopfen entzündungshemmende Eigenschaften (Biendl *et al.*, 2012)

### 2.1.3 Hopfenprodukte

Aus Rohhopfen gewonnene Hopfenprodukte werden im Allgemeinen in konventionelle, isomerisierte und spezielle Hopfenprodukte unterteilt (Back, 2008). Eine detaillierte Darstellung der Einteilung wird in der nachfolgenden Abbildung 6 ersichtlich.

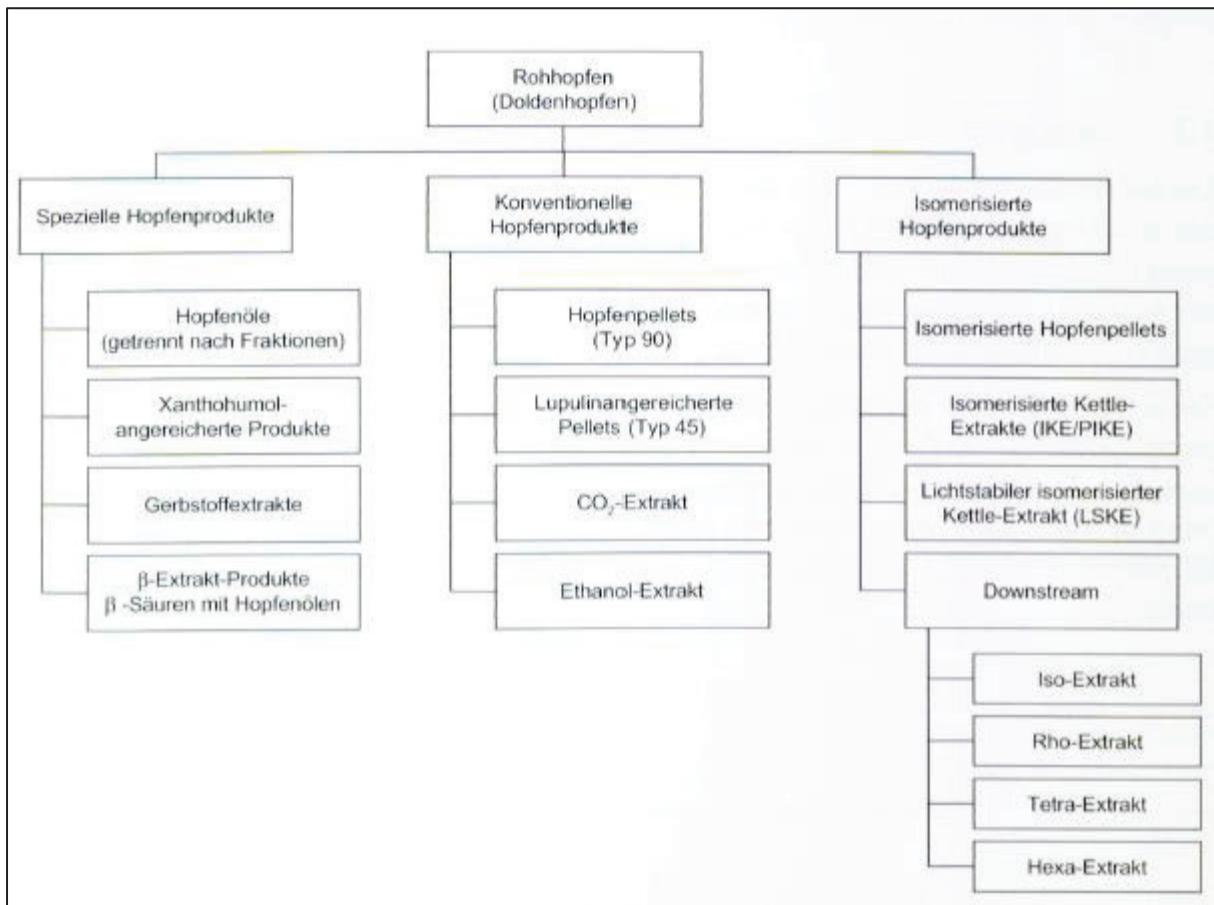


Abbildung 6: systematische Einteilung der Hopfenprodukte (Back, 2008)

Die konventionellen Hopfenprodukte machen rund drei Viertel des gesamten Weltmarktes aus. Der Großteil sind Hopfenpellets und Hopfenextrakte. Die isomerisierten Hopfenprodukte sind ebenfalls in Form von Pellets oder Extrakten erhältlich. Hier werden vorwiegend die  $\alpha$ -Säuren des Hopfens isomerisiert, um die Stabilität und Löslichkeit zu verbessern. Allerdings ist die industrielle Nutzung von isomerisierten Produkten nach dem Reinheitsgebot nur bedingt möglich. Downstream-Produkte umfasst eine Produktklasse, welche aus den Iso- $\alpha$ -Säuren gewonnen werden. Trotz bedingter Nutzung der isomerisierten Hopfenprodukte ist der Anteil am Weltmarkt mit rund 21 % relativ groß. Spezielle Hopfenprodukte sind beispielsweise mit

Xanthohumol angereicherte Produkte, Hopfenöle oder Gerbstoffextrakte, welche nur einen geringen Anteil am Weltmarkt haben. Lediglich 2 % der Hopfendolden werden als Rohprodukt eingesetzt, da die Verarbeitung des Hopfens viele wesentliche Vorteile mit sich bringt (Back, 2008; Biendl *et al.*, 2012). Das Volumen wird stark reduziert, weshalb die Lagerung und die Handhabung verbessert werden. Außerdem können die wertgebenden Bitterstoffe besser dosiert werden. Die Hopfenprodukte sind durch spezielle Verpackungen besser vor Oxidationen geschützt und wahren so bei sachgemäßer Lagerung den Erhalt der Rohstoffqualität über mehrere Jahre hinweg (Schuster *et al.*, 1992; Heyse, 1995; Back, 2008). In der nachfolgenden Abbildung 7 werden die wichtigsten Hopfenprodukte und deren prozentualer Anteil am Weltmarkt grafisch dargestellt.

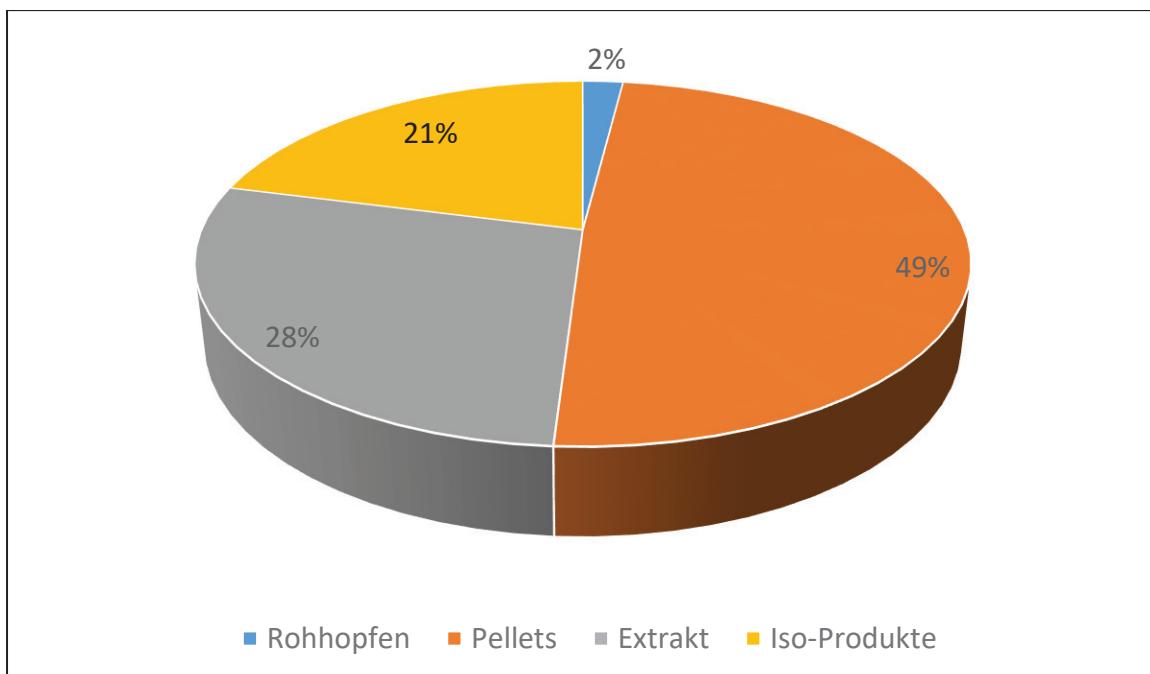


Abbildung 7: prozentualer Anteil von Hopfenprodukten auf dem Weltmarkt im Jahr 2010 (nach Biendl *et al.*, 2012)

Angesichts der Verwendung von **Hopfenextrakten** in dieser Arbeit werden diese nochmals näher erläutert. Unter dem Extrahieren wird sinngemäß das Herauslösen einzelner Bestandteile aus einem Feststoff mit Hilfe eines Lösungsmittels verstanden (Kunze, 2011). Für das Herauslösen der Hopfeninhaltsstoffe haben sich zwei Lösungsmittel in den vergangenen Jahren etabliert. Zum einen Ethanol und zum anderen flüssiges oder überkritisches Kohlenstoffdioxid. Beide Stoffe sind „biereigene“ Lösungsmittel und als Emissionen unbedenklich. Allerdings unterscheiden sie sich im Extraktionsprozess und in ihrem Lösungsverhalten (Biendl *et al.*, 2012). Die Extraktion mit

Ethanol verläuft kontinuierlich. Die Hopfendolden werden zerkleinert, mit Ethanol gemischt und in einem mehrstufigen Gegenstromextraktor extrahiert. Dabei reichern sich die Hopfeninhaltsstoffe im Alkohol an. Mit Hilfe einer mehrstufigen Vakuum-Verdampferanlage wird der Hopfen-Rohextrakt aufkonzentriert. Anschließend wird der aufkonzentrierte Rohextrakt zentrifugiert und in den wasserlöslichen Gerbstoffextrakt und den nicht wasserlöslichen Reinharzextrakt geteilt. Der Reinharzextrakt enthält alle wertgebenden Bitter- und Aromastoffe des Hopfens. Der Gerbstoffextrakt hingegen beinhaltet vorwiegend hochmolekulare und geringe Mengen an niedermolekularen Polyphenolen. Bei der Ethanolextraktion wird Xanthohumol fast vollständig extrahiert. Allerdings werden zum Teil leichtflüchtige Aromastoffe durch die Destillation entfernt. Im Gegensatz zur Ethanol-Extraktion ist die Extraktion mit Kohlenstoffdioxid ( $\text{CO}_2$ ) nur batchweise realisierbar. Gasförmiges  $\text{CO}_2$  hat keine Lösungsmittelleigenschaften und muss deshalb komprimiert bzw. verflüssigt werden. Mit steigendem Druck und steigender Temperatur verbessern sich die Lösungsmittelleigenschaften des  $\text{CO}_2$ . Eine Extraktion mit  $\text{CO}_2$  ist unterhalb und oberhalb des kritischen Zustandes von 73 bar und 31 °C möglich. Unterhalb des kritischen Zustandes wird von der flüssigen Phase und oberhalb des kritischen Zustandes von der überkritischen Phase gesprochen. In beiden Extraktionsvarianten reichert sich das flüssige  $\text{CO}_2$  mit den Hopfeninhaltsstoffen an, wird anschließend verdampft und die gelösten Hopfenbestandteile fallen aus. Die Extraktion unterhalb des kritischen Punktes verläuft isobar, wohingegen die Extraktion oberhalb des kritischen Punktes auf zwei unterschiedlichen Druckstufen durchgeführt wird. Somit ist der Lösungsmittelcharakter des überkritischen  $\text{CO}_2$  viel variabler und generell um ein Vielfaches höher als bei der flüssigen Phase. Die Extraktion mit überkritischem  $\text{CO}_2$  wird mittlerweile häufiger durchgeführt. In der Regel zwischen 150 bis 300 bar und 32 bis 100 °C. Mit Hilfe der  $\text{CO}_2$ -Extraktion können weitestgehend alle wertgebenden Hopfenaromastoffe extrahiert werden. Neben den Weichharzen und Hartharzen werden auch fast alle Hopfenöle gelöst. Im Gegensatz zur Ethanol-Extraktion können wasserlösliche Polyphenole nicht aus dem Hopfen extrahiert werden und das Xanthohumol kann nur bei sehr hohem Druck oberhalb von 700 bar und über 70 °C gelöst werden. Die  $\text{CO}_2$ -Extraktion ist zwar kostenintensiver als die Ethanol-Extraktion, aber dafür ist der Prozess viel schonender, die Löslichkeit der Stoffe ist selektiver und jegliche Oxidationsprozesse können hier ausgeschlossen werden (Kunze, 2011; Biendl *et al.*, 2012; Narziß *et al.*, 2017).

### 2.1.4 Verwendung

Der Großteil des kultivierten Hopfens findet in Form von Pellets oder Extrakten im Brauwesen als wertgebender Aroma- und Bitterstofflieferant Verwendung (Wilhelm, 2013). Daneben werden die Sekundärmetaboliten des Hopfens als pflanzliches Arzneimittel verwendet (Biendl *et al.*, 2012; Jeannin, 2012). Die sedativen Eigenschaften des Lupulins werden meistens in Kombination mit Baldrianextrakt gegen Stresssymptome und Schlaflosigkeit verabreicht (Unger, 2007; Biendl *et al.*, 2012). Die pharmakologische Wirkung des Hopfens findet mittlerweile weltweites Interesse. Infolgedessen wurde in Deutschland die Hopfenpflanze zur Arzneipflanze des Jahres 2007 gewählt. Allerdings wird lediglich ein Prozent des weltweiten Hopfenanbaus für pharmazeutische Zwecke verwendet und ist im Vergleich zum industriellen Nutzen für die Brauereitechnologie noch unbedeutend (Biendl *et al.*, 2012). Die Hopfenpolyphenole sorgen ebenfalls für großes Interesse, da sie viele gesundheitsfördernde Eigenschaften haben und als natürliche Antioxidantien eingesetzt werden können. Vor Allem das Xanthohumol hat wegen seiner gesundheitsfördernden Eigenschaften größte öffentliche Aufmerksamkeit erlangt (Wichtl, 2005; Kammhuber, 2005/2006). Viele Patentanmeldungen im Bereich der Forschung, Entwicklung und Anwendung der Hopfenpolyphenole wurden in kürzester Zeit getätig. Einige mit Hopfenpolyphenolen angereicherte Produkte sind mittlerweile auf dem Markt erhältlich. In Form von Wellness-Getränken, alkoholischen Getränken oder Nahrungsergänzungsmitteln sollen diese dem Verbraucher gesundheitsfördernde Eigenschaften bieten. Die Entwicklung von weiteren angereicherten Lebensmittelprodukten mit Hopfeninhaltsstoffen ist in naher Zukunft sehr wahrscheinlich (Biendl, 2005).

## 2.2 Lipide

### 2.2.1 Einteilung

Lipide sind in chemischer Hinsicht eine Klasse von verschiedenen organischen Verbindungen mit stark hydrophobem Charakter. Sie sind also nicht wasserlöslich, können allerdings in unpolarem Lösungsmittel gelöst werden (Belitz *et al.*, 2007). Lipide sind einfache oder aus mehreren chemischen Verbindungen zusammengesetzte Substanzen mit teilweise sehr unterschiedlicher Struktur. Dazu zählen mitunter Triglyceride, freie Fettsäuren, Phosphoglyceride, Sphingolipide, Terpene, Steroide und deren Ester (Matissek und Baltes, 2015). Die Klassifizierung der Lipide

erfolgt meistens nach dem Merkmal des Acylrestes oder nach der Polarität der Stoffe (Belitz *et al.*, 2007). Die wichtigsten Stoffklassen der Lipide werden in der Tabelle 4 ersichtlich.

Tabelle 4: Einteilung der Lipide (Latscha *et al.*, 2015)

Verbindungsklasse	Schemat. Aufbau bzw. Hydrolyseprodukte	Beispiel
<b>I Nicht hydrolysierbare Lipide</b>		
Kohlenwasserstoffe; Carotinoide	Alkan	β-Carotin
Alkohole; Sterine	Alkanole ab C <sub>10</sub>	Cholesterol
Säuren	Fettsäuren ab C <sub>10</sub>	Stearinsäure
<b>II Ester</b>		
Fette	Fettsäure + Glycerol	Tristearoylglycerol
Wachse	Fettsäure + Alkanol	Bienenwachs
Sterinester	Fettsäure + Cholesterol	Cholesterol-Linola
<b>III Phospholipide</b>		
Phosphatidsäure	Fettsäure + Glycerol + Phosphorsäure	–
Phosphatide	Fettsäure + Glycerol + Phosphorsäure + Aminoalkohol	Lecithin
<b>IV Glycolipide</b>		
Cerebroside	Fettsäure + Sphingosin + Zucker	Galactosylsphingosin
Ganglioside	Fettsäure + Sphingosin + Zucker + Neuraminsäure	–

## 2.2.2 Fette und Fettsäuren

Aus ernährungsphysiologischer Sicht sind vor allem die Triglyceride der Lipide bedeutend. Im Vergleich zu anderen Energiefreieranten haben Triglyceride einen vergleichsweise hohen Brennwert, weshalb sie im tierischen und teilweise auch im pflanzlichen Stoffwechsel als Reservestoff eingespeichert werden (Belitz *et al.*, 2007; Matissek und Baltes, 2015). Neben der ernährungsphysiologischen Bedeutung gelten Fette auch als spezifische Lösungsmittel für viele verschiedene fettlösliche Farbstoffe, Vitamine und Aromastoffe. Außerdem verändern sie in Lebensmitteln wesentliche sensorische Eigenschaften, wie z.B. die Konsistenz, das Mundgefühl und das Aroma (Belitz *et al.*, 2007). Fette, im Sinne von Triglyceriden, sind die Ester unterschiedlich langer Fettsäuren mit Glycerin, einem dreiwertigen Alkohol (Matissek und Baltes, 2015). Die Fettsäuren der Triglyceride sind aliphatische Monocarbonsäuren und bestimmen wesentliche Eigenschaften der Fette. Je nach Länge und Anordnung der Acylketten werden beispielsweise Siede- bzw. Schmelzpunkt maßgeblich verändert (Hopp, 2018). Aktuell sind ca. 200 natürliche Fettsäuren

bekannt, allerdings spielen die meisten in den Nahrungsfetten nur eine untergeordnete Rolle, da sie nur selten im Fettgerüst eingebaut werden. Die Fettsäuren werden aufgrund ihrer Sättigung mit Wasserstoff in gesättigte und ungesättigte Fettsäuren unterteilt (Matissek und Baltes, 2015). Die Anzahl und Position der Doppelbindungen können bei gleicher Struktur variieren (Belitz *et al.*, 2007; Hopp, 2018). Die wichtigsten Fettsäuren in tierischen und pflanzlichen Lipiden sind in der Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: in tierischen und pflanzlichen Lipiden relevante Fettsäuren (Latscha *et al.*, 2015)

Zahl der C-Atome	Name	Formel
<b>gesättigte Fettsäuren</b>		
4	Buttersäure	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_2-\text{COOH}$
12	Laurinsäure	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{10}-\text{COOH}$
14	Myristinsäure	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{12}-\text{COOH}$
16	Palmitinsäure	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{COOH}$
18	Stearinsäure	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{16}-\text{COOH}$
<b>ungesättigte Fettsäuren (Doppelbindungen: <i>cis</i>-konfiguriert)</b>		
16	Palmitoleinsäure	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$
18	Ölsäure	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$
18	Linolsäure	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_3-(\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_2-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$
18	Linolensäure	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_3-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$
20	Arachidonsäure	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_3-(\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_4-(\text{CH}_2)_3-\text{COOH}$

Gesättigte Fettsäuren werden größtenteils in tierischen Fetten gebildet. Fleisch, Fisch, Eier, Milch und Milchprodukte sind reich an gesättigten Fettsäuren. Im Pflanzenreich sind vorwiegend Kokosnüsse oder Palmkerne reich an gesättigten Fettsäuren (Frede, 2010). In freier Form sind gesättigte Fettsäuren als Aromastoffe in pflanzlichen Lebensmitteln oder mit Hilfe von Mikroorganismen auch in tierischen Lebensmitteln vorhanden (Belitz *et al.*, 2007). Der aromatische und flüchtige Charakter der Fettsäuren nimmt allerdings mit steigender Kohlenstoffanzahl und damit stärkerer zwischenmolekularer Anziehungskraft stetig ab (Hopp, 2018). Die ungesättigten Fettsäuren können eine, zwei oder drei Carboxygruppen im Acylrest enthalten und werden in einfach ungesättigte- oder mehrfach ungesättigte Fettsäuren unterteilt. Vom Methylende ausgehend wird die Position der Doppelbindung in Omega ( $\omega$ )-3-,  $\omega$ -6- oder  $\omega$ -9-Fettsäuren klassifiziert. Der griechische Buchstabe Omega ( $\omega$ ) bezeichnet dabei die entfernteste Doppelbindung an der Kohlenstoffkette (Belitz *et al.*, 2007). Die ungesättigten Fettsäuren werden zum größten Teil in pflanzlichen Lipiden gebildet (Frede, 2010). Oliven, Raps,

Haselnüsse oder Avocados sind beispielsweise reich an ungesättigten Fettsäuren. Einige wenige einfach ungesättigte Fettsäuren sind in Fleisch, in Leber, im Fischfett oder im Hühnerei vorhanden (Belitz *et al.*, 2007). Essentielle Fettsäuren, wie z.B. Linol- oder Linolensäure, sind für den Menschen sehr bedeutend, da sie nicht vom menschlichen Organismus gebildet werden können und ausschließlich mit der Nahrung aufgenommen werden müssen. Die essentiellen Fettsäuren sind wichtige Bestandteile für die menschliche Zellmembran, den Enzymen und den Transport von Ionen im Körper (Krist *et al.*, 2008). Genauere Informationen über die Fettsäurezusammensetzung von pflanzlichen und tierischen Lipiden ist der Anlage 1 und 2 zu entnehmen.

### 2.2.3 Fettverderb

Alle Fette und fetthaltigen Lebensmittel werden naturgemäß mehr oder weniger durch verschiedene Reaktionen zersetzt (Krist *et al.*, 2008). Diese Abbauprodukte sind schon in sehr geringen Konzentrationen geruchlich und geschmacklich wahrnehmbar. Der charakteristische ranzige Geruch und Geschmack bewirkt derartige Qualitätsminderungen, dass die fetthaltigen Lebensmittel nicht mehr verkehrsfähig sind (Matissek und Baltes, 2015). Die Reaktionsprodukte können unter Einfluss von Enzymen (Hydrolyse), sehr hohen Temperaturen (Polymerisation) oder Sauerstoff (Oxidation) gebildet werden. Der enzymatische Abbau erfolgt entweder durch zelleigene Lipasen bzw. Lipoxygenasen oder durch zellfremde Enzyme aus Mikroorganismen. Die Hydrolyse kann auch durch alkalische Verbindungen ausgelöst werden (Verseifung). Der Prozess der Polymerisation wird meistens beim Braten oder Frittieren von Fetten bei Temperaturen oberhalb von 200 °C beobachtet. (Klien, 2008).

Der entscheidende Abbauprozess ist allerdings der autoxidative Verderb durch Sauerstoff. Im Allgemeinen sind Fette durch ihren lipophilen Charakter von Natur aus sehr oxidationsanfällig, da sie ca. zehn Mal mehr Sauerstoff lösen können als beispielsweise Wasser (Ebermann, 2011). Wie schnell ein Fett verdirt hängt weitestgehend von der Fettsäurezusammensetzung, der Temperatur und dem Gehalt an Antioxidantien im Fett ab. Ferner kann der Oxidationsprozess durch Metallionen, z.B. Eisen, Kupfer oder Mangan, eine erhöhte Sauerstoffkonzentration oder Energie in Form von Wärme oder Licht gefördert werden. (Krist *et al.*, 2008; Ebermann und Elmada, 2011). Grundsätzlich sind gesättigte Fettsäuren wesentlich stabiler als ungesättigte Fettsäuren. Vor allem mehrfach ungesättigte Fettsäuren sind aufgrund ihrer Doppelbindungen

sehr oxidationsanfällig. Fette mit sehr hohen Anteilen an mehrfach ungesättigten Fettsäuren verderben oftmals um das Zehnfache schneller als Fette mit hohen Anteilen an gesättigten Fettsäuren (Krist *et al.*, 2008; Latscha *et al.*, 2015). Charakteristisch für den oxidativen Verderb ist die zunächst langsame Sauerstoffaufnahme (Induktionsperiode), die nach fortschreitender Zeit sogar exponentiell ansteigt (Abbildung 8).

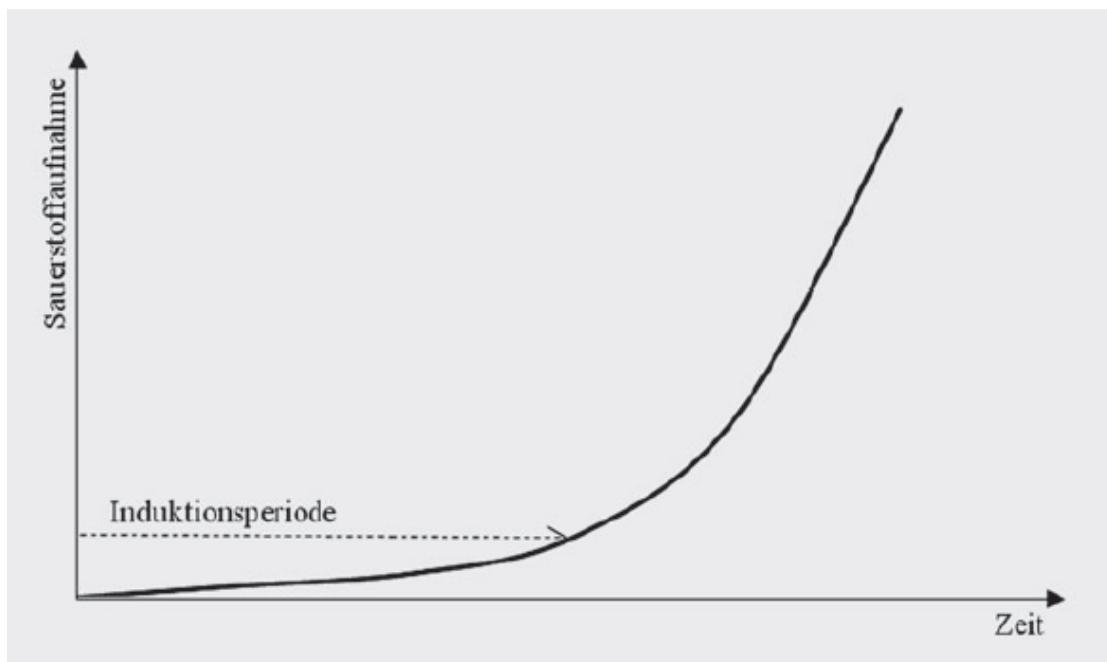
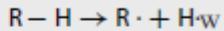


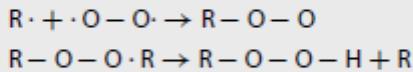
Abbildung 8: Autoxidation eines Fettes (Matissek und Baltes, 2015)

Die Autoxidation ist eine charakteristische Radikalkettenreaktion. Bei der verschiedene Abbauprodukte unterschiedlich schnell gebildet werden (Matissek und Baltes, 2015). Mit fortschreitender Reaktionszeit wird die Reaktion immer komplexer, da neben primären Abbauprodukten auch Sekundär und Tertiärprodukte gebildet werden. Die Anfangsphase der Autoxidation lässt sich in drei einfache Schritte unterteilen: die Startreaktion, die Kettenfortpflanzung und der Kettenabbruch (Matissek und Baltes, 2015). Zum näheren Verständnis dient die nachfolgende Abbildung 9.

1. Initiationsreaktion (Startreaktion):



2. Propagierung (Kettenfortpflanzung):



3. Terminierung (Kettenabbruch):

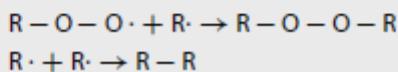


Abbildung 9: die Autoxidation als charakteristische Radikalkettenreaktion (Matissek und Baltes, 2015)

In der Startreaktion werden vorwiegend freie Peroxy-, Alkoxy- und Alkyl-Radikale gebildet, indem der Sauerstoff selbst als Radikal agiert und die Doppelbindungen der ungesättigten Fettsäuren angreift. Durch Wärme- oder Lichtenergie aktivierte Wasserstoff-Atome zwischen den Doppelbindungen ermöglichen die Umsetzung der Fettsäuren und die Abspaltung von Elektronen (Münch, 2003; Klien, 2008). Die Startreaktion verläuft sehr langsam und ist der Induktionsperiode zuzuordnen. In der Phase der Kettenfortpflanzung binden sich freie Radikale an elementaren Sauerstoff, wodurch in erster Linie Hydroperoxyd-Radikale gebildet werden. Anschließend bindet das Radikal von Fettsäuren abgespaltene Wasserstoffatome. Somit bilden sich in kürzester Zeit sehr instabile Hydroperoxide. Die Hydroperoxide sind allerdings noch keine wertmindernden Reaktionsprodukte, da sie geruch- und geschmacklos sind. Erst die weitere Oxidation mit Sauerstoff und die Verbindung mit weiteren Fettsäurebestandteilen bilden niedermolekulare und flüchtige Verbindungen aus den Hydroperoxiden, welche den charakteristischen ranzigen Geruch und Geschmack auslösen. Diese Reaktionsprodukte, z.B. Aldehyde, Alkohole, Ketone oder Hydroxsäuren, sind schon in kleinsten Konzentrationen sensorisch wahrnehmbar. In der Kettenabbruchreaktion verbinden sich zwei Radikale miteinander und es entstehen stabile Endprodukte. Diese stabile Form wird oftmals bei sauerstoffarmen Regionen im inneren von Lebensmitteln beobachtet. Bei ausreichender Sauerstoffzufuhr wird die Radikalkette bis auf ein unbestimmtes Maß des Fettverderbs weitergeführt (Rathjen, 1998; Klien, 2008). Die Autoxidationsprozesse können durch den Ausschluss von Sauerstoff, z.B. durch Vakuumverpackungen oder Inertgase, verhindert werden. Des Weiteren sollten sehr fetthaltige

Lebensmittel vor UV-Strahlen geschützt werden. Außerdem kann die Geschwindigkeit der Autoxidation bei kühler und dunkler Lagerung herabgesetzt werden. Auch der Zusatz von Antioxidantien in Lebensmitteln hemmt die Autoxidation (Münch, 2003; Matissek und Baltes, 2015).

## 2.3 Antioxidantien

### 2.3.1 Einordnung und Wirkung

Antioxidantien sind im weiten Sinne alle chemischen Verbindungen, die in der Lage sind Oxidationsprozesse zu hemmen. Sie greifen während der Oxidation in die Radikalkettenreaktion ein und verhindern so die Bildung der ranzigen Reaktionsprodukte. Je nach Wirkungsmechanismus werden diese in primäre und sekundäre Antioxidantien eingeteilt. Ferner können Antioxidantien nach ihrem natürlichen oder synthetischen Ursprung klassifiziert werden (Krist *et al.*, 2008).

**Primäre Antioxidantien** wirken als Radikalfänger. Sie können in zwei Varianten die Radikalkettenreaktion blockieren, indem sie entweder die Peroxylradikale oder die Alkoxyradikale abfangen. Die primären Antioxidantien wirken als schnelle Wasserstoff-Spender für die Peroxyl- und Alkoxyradikale. Ersteres hemmt die Bildung der Hydroperoxide und letzteres verlangsamt den Zerfall der Hydroperoxide. Die Wirksamkeit ist umso stärker, je geringer die Bindungsenergie des Wasserstoffatoms zum Antioxidans ist, weshalb vor allem phenolische Verbindungen als geeigneter Wasserstoff-Donator antioxidativ wirken (Rathjen, 1998; Frede, 2010). Sie bilden so eigene Antioxidans-Radikale, die wiederum bis zu zwei weitere Fettsäure-Radikale binden und inaktivieren können. Diese komplexe Verbindung ist infolge der Resonanzstruktur stabilisiert, reagieren nur sehr langsam weiter und die Autoxidation wird gehemmt (Rathjen, 1998; Münch, 2003). Rathjen (1998) schrieb zu dieser Thematik: „Antioxidantien dieser Art sind BHA, BHT und natürliche Antioxidantien wie Tocopherole, Flavonoide u. ä.“ (Rathjen, 1998). Die Antioxidans-Radikale müssen stabil sein, da durch Wasserabspaltungen aus ungesättigten Fettsäuren neue Radikale entstehen können. Demzufolge können Antioxidantien auch prooxidativ wirken. Außerdem werden bei niedrigem Sauerstoffdruck, bei zu hoher Konzentration an Antioxidantien oder bei sehr langsamer Reaktionsgeschwindigkeit der Kettenreaktion prooxidative Wirkungen ersichtlich (Rathjen, 1998).

**Sekundäre Antioxidantien** wirken als Metalldesaktivatoren, Sauerstofffänger oder Wasserstoff-spender. In der Regel tritt die antioxidative Wirkung nur in Anwesenheit von primären Antioxi-

dantien auf, weshalb diese Verbindungen auch als Synergisten bezeichnet werden. Polycarbon-säuren, Aminosäuren und Polyphosphate können beispielsweise bestimmte Metallionen, insbesondere Eisen- und Kupferionen, komplex in ihrer Struktur binden. Infolgedessen geht die pro-oxidative Eigenschaft der Metallionen verloren. Sauerstofffänger, z.B. Ascorbinsäure oder Ascorbylpalmitat, schützen die ungesättigten Fettsäuren, indem diese eher oxidiert werden. Der oxidative Zerfall der Fettsäuren kann so um eine bestimmte Zeit hinausgezögert werden. Wasserstoffdonatoren können dehydrierte Antioxidantien durch Reduktion wieder in ihre Ausgangsstruktur zurückführen. Speziell der synergetische Effekt von Tocopherol und Ascorbinsäure findet häufig Verwendung (Rathjen, 1998). Einige wesentliche Beispiele für primäre und sekundäre Antioxidantien sind in der nachfolgenden Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: primäre und sekundäre Antioxidantien (Krist et al., 2008)

Primäre Antioxidantien		Sekundäre Antioxidantien	
Phenole	Gallate	Sauerstofffänger	Sulfite
	Hydrochinone		Ascorbinsäure
	Butylhydroxyanisol		Ascorbylpalmitat
	Butylhydroxytoluol	Chelatbildner	Lecithin
	Tocochromanole		Zitronensäure

### 2.3.2 Verwendung in der Lebensmittelindustrie

Mit Hilfe von Antioxidantien kann die Stabilität gegenüber Sauerstoff und die Haltbarkeit von Lebensmitteln verbessert werden. Natürliche Antioxidantien sind in Pflanzen und in Tieren von Natur aus vorhanden. (Ebermann und Elmadfa, 2011). Tierische Antioxidantien sind in Form von Proteinen und Aminosäuren antioxidativ wirksam. Von großer Bedeutung sind pflanzliche Antioxidantien, u.a. Tocopherole, Ascorbinsäure, Carotine, phenolische Säuren und Flavonoide. (Rathjen, 1998). Im Laufe der technologischen Verarbeitung der pflanzlichen und tierischen Rohstoffe geht allerdings ein Großteil der Antioxidantien verloren, weshalb in aller Regel neue Antioxidantien dem fertigen Lebensmittel zugesetzt werden (Ebermann und Elmadfa, 2011). Kommerziell werden nur einige wenige natürliche Antioxidantien genutzt. Üblich beschränkt sich die Verwendung auf Tocopherol oder Ascorbinsäure. Weniger werden Pflanzenextrakte aus beispielsweise Rosmarin mit primär phenolischen Verbindungen, wie Carnosol oder Rosmanol, den Lebensmitteln zugesetzt (Rathjen, 1998). Auch synthetische Verbindungen mit ähnlichen

antioxidativen Eigenschaften sind in der Lebensmittelindustrie keine Seltenheit mehr. Ähnlich der natürlichen Antioxidantien bestehen sie oftmals aus einem phenolischen Grundgerüst. Kommerziell genutzte synthetische Antioxidantien sind zum Beispiel Butylhydroxyanisol (BHA), Butylhydroxytoluol (BHT), Propylgallat, Tertiär-Butylhydrochinon (TBHQ) und Ascorbylpalmitat. (Belitz *et al.*, 2007; Paschke, 2012). Häufig werden die synthetischen Antioxidantien mit anderen natürlichen Antioxidantien in Lebensmitteln kombiniert eingesetzt. Eine Besonderheit der synthetischen Antioxidantien ist, dass sie auch in Verpackungsmaterialien verwendet werden (Matissek und Baltes, 2015).

Die Anwendung von Antioxidantien wird in lebensmittelrechtlichen Gesetzen geregelt. In den einzelnen Ländern kann die Anwendung von Antioxidantien variieren. (Belitz *et al.*, 2007). In Deutschland wird die Anwendung von Antioxidantien in der Zusatzstoff-Zulassungsverordnung geregelt (Rabe und Horst, 2015). Für den praktischen Gebrauch in Lebensmittel darf keine gesundheitliche Gefahr von Antioxidantien ausgehen. Weiterhin sollten die Antioxidantien sensorisch nicht wahrnehmbar und in geringen Konzentrationen zwischen 0,01 und 0,02 % hochwirksam sein. Außerdem müssen die Antioxidantien für den praktischen Gebrauch in Lebensmitteln leicht dosierbar, stabil und kostengünstig sein. (Belitz *et al.*, 2007; Paschke, 2012).

## 2.4 Grundlagen der Untersuchungsmethoden

### 2.4.1 DPPH-Test

Die DPPH-Methode ist eine spektralphotometrische Untersuchung zur Bestimmung des antioxidativen Potentials von phenolischen Substanzen (Paschke, 2012). 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ist ein kommerziell erhältliches organisches Radikal, welches sein Absorptionsmaximum bei 515 nm hat (Schmeinck, 2007). Seit der ersten Nutzung durch Brand-Williams *et al.* (1995) ist die Anwendung der Methode aufgrund der einfachen und schnellen Handhabung um ein Vielfaches gestiegen (Müller, 2011). Die Methode basiert auf die Reduktion von DPPH zu Hydrazin-Derivaten in Anwesenheit von Antioxidantien (Schmeinck, 2007). Dabei kann das DPPH-Radikal die Rolle des Wasserstoffakzeptors oder des Elektronendonators einnehmen (Pedan, 2017). Die DPPH-Reaktion zeichnet sich durch eine Entfärbung von violett zu gelb aus und kann spektralphotometrisch verfolgt werden (Schmeinck, 2007). Die Reaktion des DPPH Moleküls in Anwesenheit eines Antioxidans ist in der nachfolgenden Abbildung 10 dargestellt.

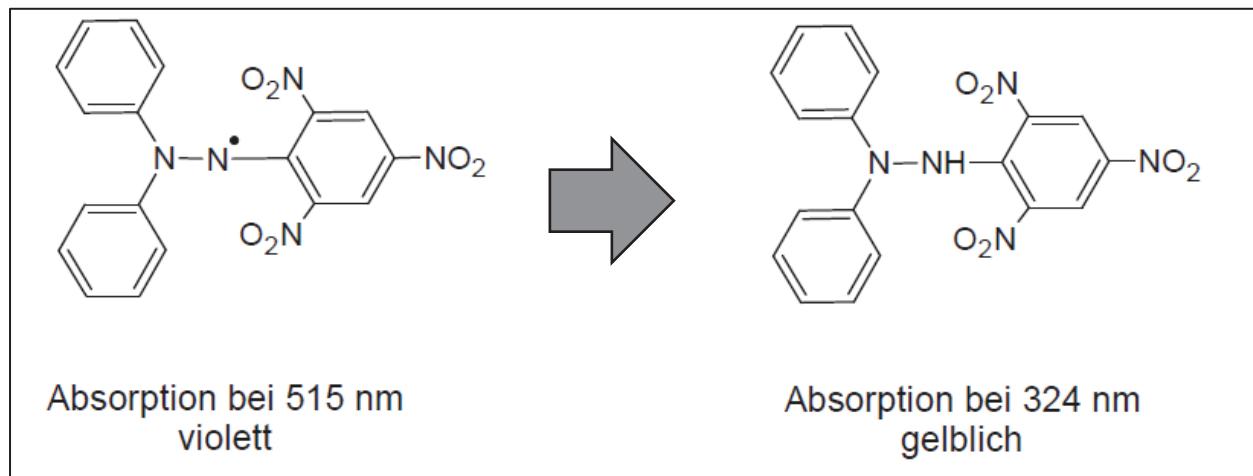


Abbildung 10: Reaktion von DPPH in Anwesenheit eines Antioxidans (nach Pedan, 2017)

Im Wesentlichen beschreibt die Methode also die Fähigkeit von phenolischen Proben die freien Radikale des DPPH abzufangen. Der radikalische Charakter des DPPH geht somit verloren und das Absorptionsmaximum verschiebt sich zu niedrigeren Wellenlängen (Hüthmayr, 2012). Das antioxidative Potenzial der Proben ist also umso größer je mehr DPPH-Radikale abgefangen werden (Almomen, 2017). Des Weiteren gibt das eingestellte Reaktionsgleichgewicht Hinweise auf die Fähigkeit der Antioxidans-Radikale in einem bestimmten Zeitraum zu wirken. In der Regel erreichen schnelle Radikalfänger das Gleichgewicht nach wenigen Minuten, mittelschnelle Radikalfänger nach 30 min und langsame Radikalfänger benötigen meistens ein bis sechs Stunden (Hüthmayr, 2012). Es wurde angenommen, dass in dieser Arbeit untersuchte Hopfenextrakt-Proben langsame phenolische Radikalfänger aufweisen, weshalb eine zweistündige Reaktionszeit gewählt wurde.

#### 2.4.2 FRAP-Test

Der „Ferric Reducing Antioxidant Power“ -Test ist ein Verfahren zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität und wurde von Benzie und Strain (1996) erstmals in Plasmaproben verwendet. Infolge der relativ einfachen Bestimmung der antioxidativen Kapazität wurde der FRAP-Test im Laufe der Jahre auf verschiedene Lebensmittelextrakte und Antioxidantien übertragen. Im grundlegenden basiert der Test auf die Fähigkeit von Antioxidantien Eisen (III)-Ionen ( $Fe^{3+}$ ) zu reduzieren. Damit die Reaktion spektralphotometrisch verfolgt werden kann müssen die gebildeten Eisen (II)-Ionen ( $Fe^{2+}$ ) mit jeweils zwei Molekülen 2,4,6-Tri-(2-pyridyl)-s-triazin (TPTZ)

komplexiert werden (Müller, 2011). Die Reduktion durch Antioxidantien ist in der nachfolgenden Abbildung 11 verbildlicht.

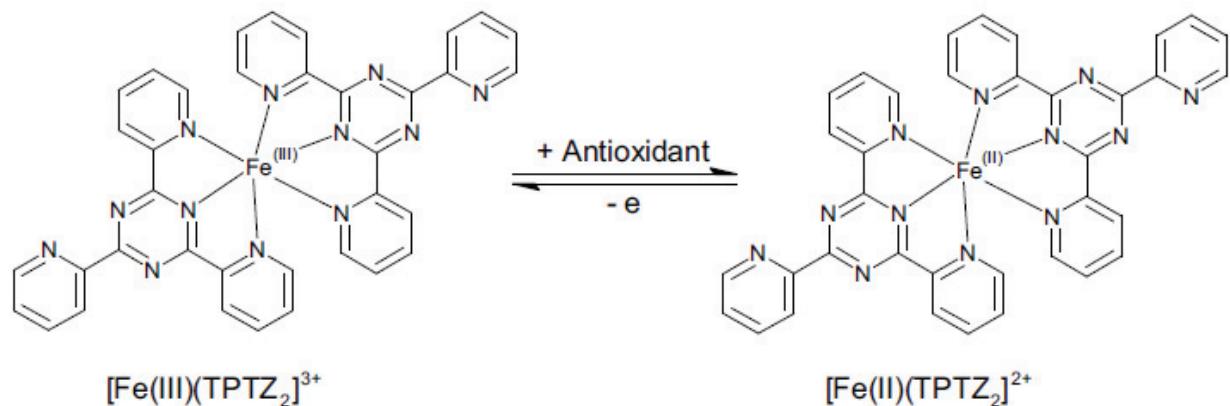


Abbildung 11: Reduktion der Eisen(III)-TPTZ-Komplexes durch Antioxidantien im FRAP-Test (Paschke, 2012)

Der intensive blaue  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ<sub>2</sub>-Komplex hat sein Absorptionsmaximum bei 593 nm und ist im pH-Bereich von 3,6 bis 5,6 stabil (Benzie und Strain, 1996; Müller, 2011). Unter Verwendung von einer Standardkurve, die bekannte Konzentrationen an Eisen (II)-Ionen enthält, kann die antioxidative Kapazität der gemessenen Proben quantifiziert werden (Almomen, 2017). Die gemessene Farbintensität ist dem antioxidativen Potential der Proben proportional (Paschke, 2012). Der FRAP-Test ist nur in sauren wässrigen Lösungen möglich. Die Messung lipophiler Antioxidantien ist dementsprechend nicht ausführbar (Müller, 2011).

#### 2.4.3 TBARS-Test

Beim TBARS-Test wird der Gehalt an Thiobarbitursäure reaktiven Substanzen (TBARS) gemessen. Die Konzentration an TBARS ist ein entscheidendes Maß für den Grad der Autoxidation. TBARS sind vorwiegend Lipidhydroperoxide und Aldehyde mit ihrem wichtigsten Vertreter Malondialdehyd (Kishida *et al.*, 1993; Botsoglou *et al.*, 1994). Malondialdehyd (MDA) gilt als wesentliches Abbauprodukt von Hydroperoxiden und die Konzentration ist abhängig vom jeweiligen Fettsäuremuster. In der Regel entsteht mehr MDA beim Abbau von hoch ungesättigten Fettsäuren. (Ebermann und Elmada, 2011). Die Verbindung ist zwar geruchslos, kann aber Proteine in Lebensmitteln durch zweifache Kondensation vernetzen. Infolgedessen werden Konsistenz und Textur von fetthaltigen Lebensmitteln negativ beeinflusst. (Münch, 2003;

Belitz *et al.*, 2007). Im Allgemeinen basiert der TBARS-Test auf die komplexe Bindung von zwei 2-Thiobarbitursäure (TBA)-Molekülen mit MDA im sauren Milieu. Der gebildete rosa TBA-MDA-Komplex kann anschließend spektralphotometrisch bei 532 nm gemessen und quantitativ mit Hilfe einer Standardkurve erfasst werden. (Kishida *et al.*, 1993; Botsoglou *et al.*, 1994). Die Komplexbildung zwischen TBA und MDA wird in der nachfolgenden Abbildung 12 näher verdeutlicht.

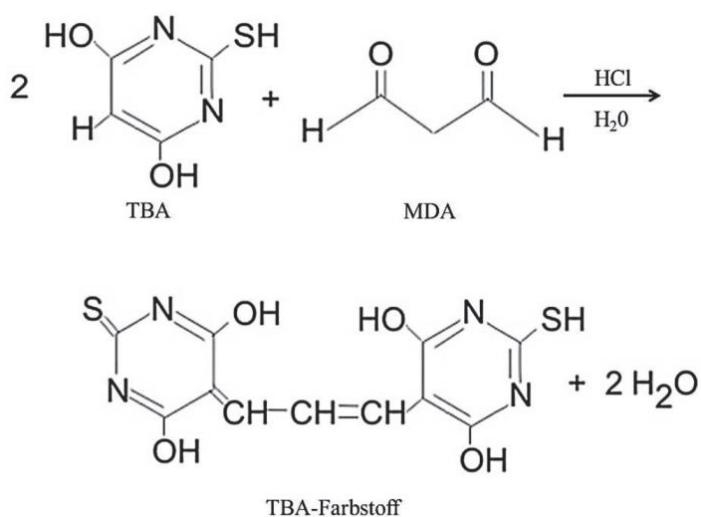


Abbildung 12: Chemische Reaktion zwischen TBA und MDA (Thiel, 2017)

#### 2.4.4 Rancimat-Methode

Die Rancimat-Methode wurde erstmals von Hadorn und Zurcher (1974) angewandt. Sie dient zur Bestimmung der Oxidationsstabilität von Fetten, Ölen und fetthaltigen Lebensmitteln und ist aufgrund der einfachen und schnellen Bestimmung weltweit etabliert (Farhoosh, 2007; Metrohm, 2015). Bei der Rancimat-Methode wird die Autoxidation stark gefördert, indem hohe Temperaturen und ein kontinuierlicher Luftstrom den oxidativen Verderb beschleunigen (de la Presa-Owens *et al.*, 1995; Metrohm, 2015). Die Fettoxidation durchläuft alle typischen Oxidationsprozesse, die in Kapitel 2.2.3 beschrieben sind. Die aus Hydroperoxiden gebildeten flüchtigen organischen Säuren, insbesondere Ameisen- und Essigsäure, werden mit Hilfe des kontinuierlichen Luftstromes in ein Messgefäß mit destilliertem Wasser geblasen. Dadurch steigt die Leitfähigkeit an und die Induktionszeit bzw. Induktionsperiode kann automatisch ermittelt werden. Die Induktionszeit ist bei dieser Messmethode ein wichtiges Maß für die Bestimmung der Oxidationsstabilität von fetthaltigen Proben, da ab diesem Zeitpunkt sekundäre

Oxidationsprodukte in Form von typischen ranzigen Geruchs- und Geschmacksstoffen gebildet werden. Die Lebensmittel sind ab diesem Zeitpunkt nicht mehr verkehrsfähig. (Farhoosh, 2007; Farhoosh und Hoseini-Yazdi, 2014; Metrohm, 2015). Zum besseren Verständnis der Messmethode dient die nachfolgende Abbildung 13.

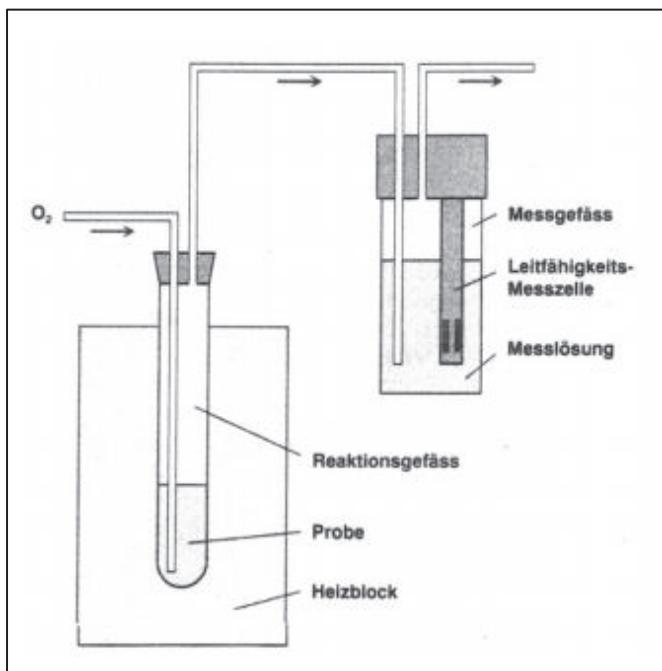


Abbildung 13: schematischer Aufbau der Rancimat-Methode (§ 64 LFGB: L 13.00-38, 2018)

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Versuchsplanung und Projektübersicht

Diese wissenschaftliche Arbeit ist ein Teil des Forschungs- und Entwicklungsprojektes Lebensmittel mit neuem Geschmack und gezielt verbesserter Haltbarkeit durch Hopfen-Extrakt-Faktionen. In Zusammenarbeit mit der Hochschule Neubrandenburg, dem Zentrum für Ernährung und Lebensmitteltechnologie gGmbH und der Torney Landfleischerei Pripsleben GmbH werden verschiedenste Untersuchungen durchgeführt, um zielgerichtet die Haltbarkeit von Lebensmitteln auf natürlichem Wege zu verlängern. Das Zentrum für Ernährung und Lebensmitteltechnologie (ZELT) gGmbH stellt innerhalb des Projektes Hopfen-Extrakte her, die wiederum in kleinere Fraktionen aufgetrennt und analysiert werden. Die Torney Landfleischerei Pripsleben GmbH stellt unter Verwendung dieser Hopfen-Extrakt-Faktionen jegliche Fleischerzeugnisse

her, die anschließend von der Hochschule Neubrandenburg sensorisch, physikalisch und chemisch untersucht werden. Diese wissenschaftliche Arbeit ist den chemischen Untersuchungen des Projektes einzuordnen. Zunächst werden mögliche antioxidative Wirkungen der hergestellten Hopfen-Extrakte mittels FRAP- und DPPH-Methode untersucht und mit herkömmlichen Antioxidantien (Ascorbinsäure und Tocopherol) verglichen. Des Weiteren werden die Hopfen-Extrakte in pflanzlichen Fetten (Rapsöl) und tierischen Fetten (Schmalz) verwendet und mögliche Auswirkungen auf die Haltbarkeit mit Hilfe eines beschleunigten Oxidationstests (Rancimat-Methode) untersucht. Die daraus resultierenden Erkenntnisse werden mit einer Matrix-, Positiv-, und Negativ-Probe verglichen. Abschließend wird die Konzentration an TBARS von Schmalz und Leberwurst-Proben über mehrere Wochen gemessen. Bei 4 °C Lagertemperatur wird jede Woche der Gehalt an Thiobarbitursäure reaktiven Substanzen über 9 bzw. 8 Wochen gemessen. Neben den Hopfenextrakt-, Matrix-, Positiv- und Negativ-Proben wird auch ein kommerziell erhältliches Hopfenextrakt ( $\beta$ -Extrakt) im Schmalz verwendet. Die Konzentration an Hopfen-Extrakt betrug in jeder Probe immer 100 ppm und wurde durch vorher durchgeführte wissenschaftliche Arbeiten u.a. von Helmholz (2016), Thiel (2017) und Arendt (2017) festgelegt. Der allgemein gültige Versuchsplan für die durchgeführten chemischen Untersuchungen ist der nachfolgendem Tabelle 7 zu entnehmen. Er gliedert sich im Allgemeinen nach der Beurteilung der Extrakte (DPPH- und FRAP-Methode) und der Beurteilung der Extrakte im Lebensmittel (TBARS- und Rancimat-Methode). Dabei ist anzumerken, dass ab der 4. Woche die Schmalz- und Leberwurstproben hergestellt worden sind ( $t_0$ ).

Tabelle 7: Versuchsplan für die chemischen Untersuchungen

Zeit [Woche]	Zeit [Tag]	Chemische Untersuchung				Anmerkung
		FRAP	DPPH	Rancimat	TBARS	
0	1	X				Beurteilung der Extrakte
1	8	X				
2	15		X			
3	22		X			
4	32				X	Beurteilung der Extrakte in Lebensmitteln
5	39				X	
6	46				X	
7	51			X		

7	53				X	
8	58			X		
	60				X	
10	74				X	
11	81				X	
12	88				X	
13	95				X	

### 3.2 Materialien

In den nachfolgenden Tabellen 8 - 10 sind die verwendeten Laborgeräte, Verbrauchsmaterialen und Chemikalien für alle durchgeführten Tätigkeiten in dieser Arbeit aufgelistet.

Tabelle 8: verwendete Laborgeräte

Laborgerät	Typenbezeichnung	Hersteller
Analysewaage	Entris 1s	Sartorius AG (Göttingen, Deutschland)
Analysewaage	Practum	Sartorius AG (Göttingen, Deutschland)
Dispergiergerät	Ultra-Turrax T25	IKA-Werke GmbH & Co. KG (Staufen, Deutschland)
Horizontalschüttler	KL 2	Edmund Bühler GmbH (Bodelshausen, Deutschland)
Kühlzelle	GDF 030.1C/27- EN150.E	Güntner GmbH & Co. KG (Fürstenfeldbruck, Deutschland))
Oxidationsstabilitäts- Messgerät	Rancimat 743	Metrohm AG (Herisau, Schweiz)
pH-Messgerät	WTW pH 330i	Xylem Analytics GmbH & Co. KG (Ingolstadt, Deutschland)
Spektralphotometer	Genesys 10 UV	Thermo Fisher Scientific Incorporation (Waltham, Massachusetts, USA)
Thermo-Wasserbad	1002	Gesellschaft für Labortechnik mbH (Burgwedel, Deutschland)
Tischkühlzentrifuge	SIGMA 3-16K	Laborzentrifugen GmbH (Osterode am Harz, Deutschland)
Trockenschrank	T20	Heraeus Holding GmbH (Hanau, Deutschland)

Ultraschallbad	SUPER RK 1028 H	BANDELIN electronic GmbH & Co. KG (Berlin, Germany)
Stabmixer	SM 3795 600 W	SEVERIN Elektrogeräte GmbH (Sundern, Deutschland)

Tabelle 9: verwendete Verbrauchsmaterialien

Verbrauchsmaterial	Chargennummer	Hersteller
β-Hopfenextrakt 40 %	BRHE 15/9215	Hopsteiner GmbH (Mainburg, Deutschland)
Faltenfilter 591 ½	AG0474-1	Schleicher & Schuell GmbH (Dassel, Deutschland)
Flomen		Torney Landfleischerei Pripsleben GmbH (Altentreptow, Deutschland)
Halb-Mikro-Küvetten	UR-2712120	Portmann Instruments AG (Biel-Benken, Schweiz)
Hopfenextrakt	20171002-HS01	ZELT gGmbH (Neubrandenburg, Deutschland)
Hopfenextrakt	20171002-HS02	ZELT gGmbH (Neubrandenburg, Deutschland)
Hopfenextrakt	20171002-HS03	ZELT gGmbH (Neubrandenburg, Deutschland)
Kunststoff-Rührspatel	XL60.1	Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
Leberwurst		Torney Landfleischerei Pripsleben GmbH (Altentreptow, Deutschland)
Makro-Küvetten	UR-2722110	Portmann Instruments AG (Biel-Benken, Schweiz)
Nitrilhandschuhe	NC 51946	Starlab GmbH (Hamburg, Deutschland)
Pipettenspitzen		Eppendorf AG (Hamburg, Deutschland)
Rapsöl	06.05.2019 8065S	Kaufland Stiftung & Co. KG (Neckarsulm, Deutschland)

Für die chemischen Untersuchungen wird des Weiteren labortypisches Zubehör in unterschiedlichen Volumina verwendet. Dazu zählen unter anderem Bechergläser, Erlenmeyerkolben, Messkolben, Laborflaschen mit Schraubverschluss, Kolbenhubpipetten, Vollpipetten, Glas-pipetten, Pipettierhilfen, Glasstäbe, Einwägezubehör, Schraubkappengläschen, Kunststoff-schnappdeckelgefäße und Aluminiumfolie. Für die Herstellung des Schmalzes im ernährungs-

wissenschaftlichen Labor wurden zudem diverse Küchenhilfsmittel wie zum Beispiel Kochtöpfe, Schöpfkellen, Siebe und ein Ceran-Kochfeld verwendet.

Tabelle 10: verwendete Chemikalien

Chemikalie	Chargennummer	Hersteller
1,1,3,3-Tetraethoxypropan ≥ 96 %	BCBL7362V	Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Deutschland)
2-Thiobarbitursäure ≥ 98 %	BCBM9256V	Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Deutschland)
2-Thiobarbitursäure ≥ 98 %	BCBW2780	Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Deutschland)
2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl	S1439-284	Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Deutschland)
2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazin	BCBW1107	Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Deutschland)
Bidestilliertes Wasser		Hochschule Neubrandenburg, Haus 3 (Neubrandenburg, Deutschland)
Butylhydroxytoluol ≥ 99 %	417163/1 34900	Fluka Chemie GmbH (Buchs, Schweiz)
Destilliertes Wasser		Hochschule Neubrandenburg, Haus 3 (Neubrandenburg, Deutschland)
DL- $\alpha$ -Tocopherol ≥ 96 %	47251904	Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
Eisen(III)-chlorid-hexahydrat	STBG9826	Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Deutschland)
Essigsäure 100 %	306245533	Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
L(+)-Ascorbinsäure ≥ 99 %	347260386	Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
Methanol ≥99 %	48266923	Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
Natriumacetat-Trihydrat ≥99 %	331168929	Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
Natriumpercarbonat (20-30 % H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	BCBJ8591V	Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Deutschland)
n-Hexan ≥ 95 %	507265807	Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
Salzsäure 1 mol/l	0001013678	AppliChem GmbH (Darmstadt, Deutschland)
Salzsäure 0,1 mol/l	00408858	Merck KGaA

		(Darmstadt, Deutschland)
		Carl Roth GmbH & Co. KG
Trichloressigsäure ≥ 99 %	48150664	(Karlsruhe, Deutschland)

### 3.3 Produktion der Rohstoffe

#### 3.3.1 Herstellung der Hopfenextrakte

Die Herstellung der Hopfenextrakte wurde von der ZELT gGmbH durchgeführt und erfolgte nach den wissenschaftlichen Erkenntnissen von Olbrich (2016). Für ein besseres Verständnis der eingesetzten Hopfenextrakte und deren Bezeichnungen HS01, HS02 und HS03 wird die Gewinnung der Hopfenextrakte in gekürzter Form hier dargestellt. Genauere Informationen sind der wissenschaftlichen Arbeit von Olbrich (2016) zu entnehmen. Der Extrakt wird aus Hopfenpellets gewonnen, indem diese fein zerkleinert und anschließend mehrmals mit verschiedenen Lösungsmitteln unter Vakuum extrahiert werden. Die mehrmalige Extraktion der zerkleinerten Hopfenpellets mit destilliertem Wasser löst vor allem Gerbstoffe und Polyphenole (HS01). Die mehrmalige Extraktion mit Cyclohexan löst Weichharze, Öle und Bitterstoffe (HS02). Wird Ethanol als Lösungsmittel genutzt können die Hartharze des Hopfens gelöst werden (HS03). Die gewonnenen Inhaltsstoffe liegen somit gelöst im jeweiligen Lösungsmittel vor und werden im Anschluss der Extraktion zentrifugiert. Der unlösliche Bestandteil kann nun abgetrennt werden. Die löslichen Inhaltsstoffe des Hopfens werden mit Hilfe des Rotationsverdampfers aufkonzentriert. Der gewonnene Hopfenextrakt wird anschließend aufgereinigt und die Auftrennung mittels Dünnschichtchromatographie überprüft. Es ist anzumerken, dass die genaue Identifikation der Inhaltsstoffe in den einzelnen Hopfen-Extrakt-Faktionen, z.B. durch die HPLC oder GC-MS, nach jetzigem Stand noch nicht durchgeführt worden ist.

#### 3.3.2 Herstellung der Rapsöl-Proben

Für die Bestimmung der Oxidationsstabilität von pflanzlichen Fetten mit dem Rancimaten wurde raffiniertes Pflanzenöl aus Raps mit natürlichem Vitamin E von „K-Classic“ verwendet. Laut Herstellerangaben sind in 100 g Rapsöl im Durchschnitt 92 g Fett enthalten. Davon sind durchschnittlich 6,4 g gesättigte Fettsäuren, 58 g einfach ungesättigte Fettsäuren und 27,6 g mehrfach ungesättigte Fettsäuren. Der natürliche Vitamin E-Gehalt wird mit 30 mg pro 100 g Öl angegeben. Die Herstellung der Rapsöl-Proben wurde im Chiemelabor der Hochschule

Neubrandenburg durchgeführt. Zunächst werden 100 ppm der HS01- , HS02- und HS03 -Extrakte auf 100 g Rapsöl in Bechergläser eingewogen und mit Rapsöl aufgefüllt. Der Inhalt wird anschließend eine Minute lang mit dem Hochleistungs-Dispergiergeräts bei 8000 rpm homogenisiert. Die Öl-Proben wurden lichtgeschützt bei Zimmertemperatur für maximal 12 h eingelagert und in der Regel sofort für die chemischen Untersuchungen im Rancimaten verwendet. Als Antioxidantien in den Positiv-Proben wurde Ascorbinsäure (0,05 %) verwendet. In den Negativ-Proben wurde 0,05% Natriumpercarbonat als Oxidans verwendet.

### 3.3.3 Herstellung der Schweineschmalz-Proben

Die Schmalzherstellung erfolgte im ernährungswissenschaftlichen Labor der Hochschule Neubrandenburg. Das Schmalz wurde ausschließlich aus Flomen ohne weitere Zusätze hergestellt. Bei Flomen handelt es sich um das Bauch- bzw. Nierenfett von Schweinen. Diese wurden von der Torney Landfleischerei Pripsleben GmbH gewolft und für weitere wissenschaftliche Untersuchungen zur Verfügung gestellt. Das gewolfte Fett wird zunächst im ernährungswissenschaftlichen Labor abgewogen und in Schüsseln portioniert. Im Anschluss wird das Fett für ca. 15 min bei geringer Hitze im Kochtopf erhitzt, so dass sich das Schweinefett vollständig verflüssigt. Danach wird das Fett für ca. 5 min bei starker Hitze gekocht, damit der Restwassergehalt im Schweinefett absinkt. Parallel dazu werden 100 ppm HS01- , HS02- , HS03 - und  $\beta$ -Extrakt auf 100 g Schmalz in verschließbare Kunststoffbehältnisse eingewogen. Für die Ascorbinsäure als Antioxidans und das Natriumpercarbonat als Oxidans werden 500 ppm auf 100 g Schmalz eingewogen. Das flüssige Schmalz wird bei ca. 114 °C in die jeweiligen Kunststoffbehältnisse abgefüllt und anschließend mit einem Stabmixer eine Minute lang gemischt, so dass die Zusätze homogen im Produkt verteilt vorliegen. Die Behältnisse werden luftdicht verschlossen und bei Raumtemperatur langsam abgekühlt. Abschließend werden die Schmalz-Proben in der Kühlzelle bei 4 °C eingelagert. Aus 3,99 kg Flomen konnten insgesamt 3,06 kg Schmalz für die chemischen Untersuchungen gewonnen werden. Es ist anzumerken, dass ein Teil des Schmalzes für die Untersuchungen im Rancimaten nochmals aufgeschmolzen und erhitzt wurde, um den störenden Wassergehalt im Fett auf ein bestimmtes Maß abzusenken.

### 3.3.4 Herstellung der Leberwurst-Proben

Die Herstellung der Leberwurst-Proben erfolgte in der Torney Landfleischerei Pripsleben GmbH. Das HACCP-Konzept des fleischverarbeitenden Betriebes ist nach den wissenschaftlichen Arbeiten von Gehrke (2015) und Brus (2015) erstellt worden. Die Herstellung der Leberwurst wird in dieser wissenschaftlichen Arbeit nur im Grundlegenden beschrieben. Als Erstes werden die angelieferten Schweinehälften zerlegt und zugeschnitten. Das Schweinefleisch wird kurz vorgegart und im Anschluss gewolft. Parallel dazu wird die Leber für die Leberwurst zugeschnitten und gekuttert. Das gewolfte Schweinefleisch wird nun mit dem Leberbrät, verschiedenen Gewürzen, Hilfs- und Zusatzstoffen gemeinsam gekuttert. Der gesamte Ablauf der Herstellung ist der nachfolgenden Abbildung 14 zu entnehmen.

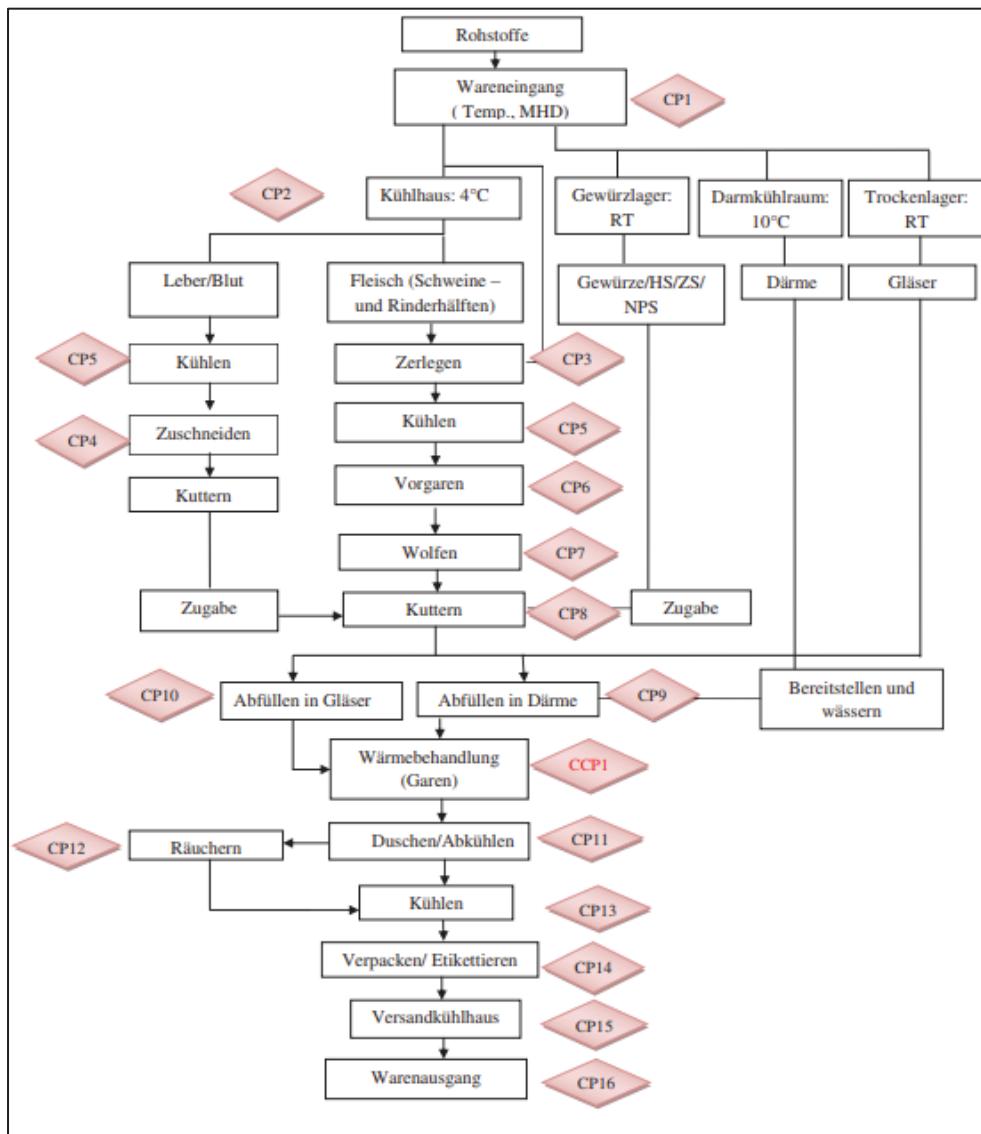


Abbildung 14: Fließdiagramm von der Kochwurstherstellung (Gehrke, 2015)

Im Anschluss daran wird das Brät in drei gleichgroße Teile für die Matrixproben, die HS02-Extrakt-Proben und die  $\beta$ -Extrakt-Proben portioniert. Dem Leberbrät werden insgesamt 100 ppm Hopfenextrakt zugesetzt. Nach Zugabe der Extrakte wird nochmals gekuttert, damit eine homogene Verteilung gewährleistet werden kann. Das Brät mit und ohne Hopfenextrakt wird anschließend in Glasbehältnisse abgefüllt und wärmebehandelt. Nach dem Abkühlen der Glasware wird die Leberwurst verpackt, etikettiert und im Kühlhaus eingelagert (Brus, 2015; Gehrke, 2015). Die letztendliche Leberwurst mit und ohne Hopfen entstammt also aus einer derselben Charge und wurde in der Hochschule Neubrandenburg bei 4 °C zur Analyse eingelagert.

### 3.4 Analytische Methoden

#### 3.4.1 Probenvorbereitung

Alle Leberwurst-Proben wurden gemäß L 06.00-1 (1980) der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 des LFGB für Fleisch und Fleischerzeugnisse für chemische Untersuchungen vorbereitet (Anlage 3). Eine manuelle Homogenisierung im Chiemelabor ist ausreichend gewesen, da die Leberwurst durch den Kutterprozess schon fein zerkleinert vorlag. Es wird allerdings darauf geachtet, dass das abgesetzte Fett gleichmäßig in der Sammelprobe verteilt vorliegt. Der Extrakt ist in der Leberwurst ebenfalls schon homogen im Produkt verteilt. Alle Proben aus tierischen Fetten (Schmalz) und pflanzlichen Fetten (Rapsöl) wurden gemäß L 13.00-7 (2007) der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 des LFGB vorbereitet (Anlage 4). Die flüssigen klaren Rapsöl-Proben werden durch Schütteln der verschlossenen Behälter homogenisiert. Das Schweineschmalz wird mit mindestens 10 °C oberhalb der Schmelztemperatur bei ca. 50 °C im Trockenschrank aufgeschmolzen. Mögliche Feststoffe im Schmalz werden anschließend mit Hilfe eines Siebs und Filter abgetrennt. Die Extrakte werden hier mit Hilfe hochtourig laufenden Dispergier-Geräten homogen in den Proben verteilt.

#### 3.4.2 Bestimmung der antioxidativen Aktivität (DPPH-Test)

Die photometrische Bestimmung der antioxidativen Aktivität von Hopfenextrakten erfolgte im Grundlegenden nach Poppernitsch (2009) mit Modifikationen von Magalhães *et al.* (2010). Ein

Auszug der DPHH-Bestimmung nach Popernitsch (2009) ist in der Anlage 5 hinterlegt. Für den DPPH-Test werden 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) und Methanol als Verdünnungsmittel benötigt. Zur Herstellung der DPPH-Arbeitslösung ( $c = 0,0473 \text{ g DPPH/1000 ml Methanol}$ ) werden 4,73 mg DPPH in ein Glas-Wägeschiffchen eingewogen und in einen 100 ml Messkolben überführt. Der Messkolben wird anschließend mit Methanol bis zur Ringmarke aufgefüllt. Nach kurzem Schwenken per Hand löst sich das DPPH vollständig auf und kann für die Herstellung der Kalibrationsgerade verwendet werden. Die DPPH-Standardlösungen mit einem Zielvolumen von 2 ml werden in Küvetten nach folgendem Schema (Tabelle 11) erstellt.

Tabelle 11: Herstellung der DPPH-Standardlösungen für die Kalibrationsgerade (Popernitsch, 2009; Magalhães et al., 2010)

DPPH-Arbeitslösung [ $\mu\text{l}$ ]	Methanol [ $\mu\text{l}$ ]	Konzentration DPPH [g/l]
0	2000	0,0000
250	1750	0,0059
500	1500	0,0188
750	1250	0,0177
1000	1000	0,0237
1250	750	0,0296
1500	500	0,0355
1750	250	0,0414
2000	0	0,0473

Nach Anfertigung der Standardlösungen können diese sofort bei 515 nm photometrisch bestimmt werden. Die Hopfenextrakt-Proben müssen vor photometrischer Bestimmung mit Methanol verdünnt werden. Bei einem Zielvolumen von 10 ml sind die jeweiligen Verdünnungen der Tabelle 12 zu entnehmen.

Tabelle 12: Herstellung der Extrakt-Verdünnungsreihe für den DPPH-Test (Popernitsch, 2009; Magalhães et al., 2010)

Verdünnung	Extrakt [ml]	Methanol [ml]
1:4	2,50	7,50
1:8	1,25	8,75

1:10	1,00	9,00
1:20	0,50	9,50

Die jeweiligen Anteile an Extrakt und Methanol wurden in 10 ml Reagenzgläser mit Schraubverschluss pipettiert und kurz per Hand geschüttelt. In Halbmikro-Küvetten aus Glas oder Kunststoff werden jeweils 1,5 ml der DPPH-Arbeitslösung vorgelegt. Danach werden jeweils 300 µl der verdünnten Hopfenextrakt-Probe hinzugefügt. Der Inhalt wird vorsichtig mit einem Kunststoff-Rührspatel gemischt und photometrisch bei 515 nm gemessen. Anschließend werden die Küvetten mit Aluminiumfolie lichtgeschützt abgedeckt. Nach zweistündiger Reaktionszeit im Dunkeln werden die Küvetten erneut bei 515 nm photometrisch bestimmt. Für die Positiv-Proben mit  $\alpha$ -Tocopherol (0,01 %) und Ascorbinsäure (0,05 %) wurden die Verdünnungsreihen wie zuvor beschrieben hergestellt, pipettiert und gemessen (Tabelle 12). In einer weiteren Versuchsreihe wurden die Positiv-Verdünnungsreihen um weitere Verdünnungen erweitert (Anlage 8), da die Konzentration an Antioxidantien in den niedrigeren Verdünnungsstufen zu hoch war und somit keine plausiblen Ergebnisse gemessen wurden. Letztendlich wurde Tocopherol 2000-fach und Ascorbinsäure 400-fach verdünnt und mit den Ergebnissen der Extrakt-Proben verglichen.

Die Auswertung erfolgt durch das Übertragen der Extinktionen bei 515 nm auf die bekannten Konzentrationen an DPPH in den Standardlösungen gegen den Reagenzblindwert. Die aus den Standards resultierende Kalibrationsgerade wird folgendermaßen nach der Formel 1 mathematisch beschrieben:

$$f(x) = a * x + b$$

Formel 1: Regressionsgleichung

Aus der Gleichung werden die Konzentration an DPPH (x), die Steigung der Geraden (a) und der Achsenabschnitt (b) ersichtlich. Damit die DPPH-Konzentration der einzelnen Proben ermittelt werden kann muss die Regressionsgleichung nach x umgestellt und die gemessenen Extinktionen für f(x) eingesetzt werden. Die daraus resultierenden Ergebnisse werden in g DPPH/l angegeben.

### 3.4.3 Bestimmung der antioxidativen Kapazität (FRAP-Test)

Die photometrische Bestimmung der gesamten antioxidativen Kapazität mittels des FRAP-Tests wird grundlegend nach Berger (2006) mit Modifikationen nach Hartl (2009) durchgeführt. Die allgemein gültige Durchführung des FRAP-Tests nach Berger (2006) ist in der Anlage 6 hinterlegt. Zuallererst werden die Reagenzien hergestellt. Beginnend mit der Herstellung des Acetatpuffers ( $\text{pH} = 3,6$ ) werden genau 3,1 g Natrium-trihydrat in ein Glas-Wäge-schiffchen eingewogen und in einen 1 l Messkolben überführt. Im Anschluss wird das Natrium-trihydrat mit etwas destilliertem Wasser vorgelöst, 16 ml Essigsäure hinzugegeben und der gesamte Inhalt wird mit destilliertem Wasser bis zur Ringmarkierung aufgefüllt. Der Acetatpuffer wird kurz geschwenkt und mit einem pH-Messgerät überprüft. Danach wird die TPTZ-Lösung hergestellt. Dabei werden genau 0,3123 g TPTZ in ein Glas-Wägeschiffchen eingewogen und in ein 100 ml Messkolben überführt. Das TPTZ wird mit 4 ml Salzsäure ( $c_{\text{HCl}} = 1 \text{ mol/l}$ ) vorgelöst und anschließend mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Nun wird die Eisen(III)-chlorid-Lösung hergestellt, indem genau 0,5406 g Eisen(III)-chlorid-hexahydrat in einem 100 ml Messkolben überführt und mit destilliertem Wasser aufgefüllt wird. Nach Herstellung dieser drei Reagenzien kann das FRAP-Reagenz erstellt werden, welches zu jedem Untersuchungstag neu angesetzt werden muss. Hier werden 100 ml Acetatpuffer in einer 150 ml Laborflasche mit Schraubverschluss vorgelegt. Anschließend werden 10 ml TPTZ-Lösung und 10 ml Eisen(III)-chlorid-hexahydrat-Lösung hinzugefügt. Die Laborflasche wird verschlossen, kurz geschwenkt und bei 37 °C für 10 min im Thermo-Wasserbad inkubiert. Als Äquivalent für die Bestimmung der gesamten antioxidativen Kapazität wird Ascorbinsäure verwendet. Zunächst wird eine Ascorbinsäure-Lösung ( $c = 0,88 \text{ g/l}$ ) erstellt, indem 0,044 g Ascorbinsäure (+/- 1 %) in einen 50 ml Messkolben überführt und mit destilliertem Wasser aufgefüllt wird. Von dieser Ascorbinsäure-Stammlösung wird eine verdünnte Ascorbinsäure-Arbeitslösung ( $c = 35,2 \text{ mg/l}$ ) erstellt. Dabei wird ein Milliliter der Ascorbinsäure-Stammlösung in ein 25 ml Messkolben pipettiert und mit destilliertem Wasser bis zur Ringmarkierung aufgefüllt. Die Ascorbinsäure-Arbeitslösung, das destillierte Wasser und das FRAP-Reagenz werden in dieser Reihenfolge in Halbmikro-Küvetten aus Glas oder Kunststoff nach dem Schema der Tabelle 13 pipettiert.

Tabelle 13: Erstellung der Kalibiergerade im FRAP-Test (Berger, 2006; Hartl, 2009)

Reagenzien	Volumen	Volumen	Volumen	Volumen	Volumen	Volumen
	[ $\mu$ l]					
Ascorbinsäure- Arbeitslösung	0	50	100	150	200	250
destilliertes Wasser	250	200	150	100	50	0
FRAP-Reagenz	750	750	750	750	750	750

Infolgedessen werden die Standard-Lösungen mit Kunststoff-Rührspateln gemischt, mit Aluminiumfolie lichtgeschützt abgedeckt und vier Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach beendeter Reaktionszeit werden die Küvetten bei 539 nm im Spektralphotometer gemessen. Die Hopfenextrakt-Proben müssen vor photometrischer Bestimmung folgendermaßen aufbereitet werden. Es werden jeweils 0,2 g Hopfenextrakt-Probe (+/- 5 %) in 15 ml Zentrifugenbecher eingewogen. Anschließend wird jeweils 10 ml bidestilliertes Wasser dazugegeben. Danach werden die Zentrifugenbecher luftdicht verschlossen und der Inhalt wird per Hand für ca. 30 s aufgeschüttelt. Daraufhin werden die Behältnisse nochmal für 20 min in einem Horizontalschüttler bei ca. 150 rpm geschüttelt. Im Anschluss werden die Zentrifugenbecher bei 3600 g für 15 min zentrifugiert. Schließlich wird der wässrige Überstand, welcher eine 50-fache Verdünnung des Hopfen-Extraktes darstellt, in Kunststoffschnappdeckelgefäß überführt. Vom Überstand werden nun Verdünnungsreihen erstellt im Verhältnis 1:10, 1:100 und 1:200. Die Überstand-Verdünnungen entsprechen danach einer Hopfen-Extrakt-Verdünnung von 1:500, 1:5000 und 1:10000. Der Überstand und die verdünnten Proben werden zu jeweils 250  $\mu$ l in Halbmikro-Küvetten aus Glas oder Kunststoff pipettiert. Anschließend wird 750  $\mu$ l FRAP-Reagenz hinein pipettiert und der gesamte Inhalt mit Kunststoff-Rührspateln gemischt. Die Küvetten werden wieder lichtgeschützt abgedeckt und nun 1 h bei Raumtemperatur stehen gelassen, da das Reaktionsgleichgewicht sich erst nach dieser Zeit eingestellt hat. Danach wird die Extinktion bei 593 nm photometrisch gemessen.

Die Auswertung erfolgt ähnlich des DPPH-Tests, indem die gemessenen Extinktionen bei 593 nm auf die bekannten Konzentrationen an Ascorbinsäure in den Standardlösungen aufgetragen werden. Aus der daraus resultierenden Regressionsgleichung (Formel 1) kann die Äquivalente

antioxidative Wirkung an Ascorbinsäure von den jeweiligen Extrakten ermittelt werden, indem die Formel nach x umgestellt wird und die ermittelten Extinktionen in f(x) eingesetzt werden. Die Ergebnisse werden in mg AAE/l angegeben.

#### 3.4.4 Bestimmung der Oxidationsstabilität (Rancimat-Methode)

Die Bestimmung der Oxidationsstabilität beruht auf der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 L 13.00-38 (2018) des LFGB. Die Messgefäße werden zunächst mit 60 ml destilliertem Wasser befüllt. Darauffolgend werden die Methodenparameter an der PC-Einheit eingestellt und der Heizblock des Gerätes gestartet. Die Schweineschmalz-Proben werden bei 100 °C und die Rapsöl-Proben bei 120 °C untersucht. In beiden Messmethoden wird ein Gasfluss von 20 l/h verwendet. Die Schweineschmalz-Proben werden vor Beginn der Messung im Trockenschrank bei 50 °C aufgeschmolzen. Danach wird das nun flüssige Schmalz kurz gerührt und auf eine Glas-Pipette gezogen. Jeweils drei Gramm Probe auf 0,01 g genau werden in die Reaktionsgefäße des Rancimaten eingewogen. Die Rapsöl-Proben können sofort in die Reaktionsgefäße überführt und gemessen werden. Die Bestimmung der Oxidationsstabilität aller Proben wird an der PC-Einheit nach Erreichen der Heizblock-Temperatur manuell gestartet. Die anschließende Überwachung der Leitfähigkeit und die Ermittlung der Induktionszeit wird automatisch kontrolliert. Die Positiv-, Negativ- und Matrixproben wurden gleichermaßen den Extrakt-Proben untersucht. Es ist anzumerken, dass das untersuchte Schweineschmalz nach fehlerhaften Messergebnissen nochmals erhitzt wurde, um den Restwassergehalt auf ein bestimmtes Maß zu reduzieren.

#### 3.4.5 Bestimmung der Thiobarbitursäure reaktiven Substanzen (TBARS-Test)

Die Thiobarbitursäure reaktiven Substanzen werden in Anlehnung an die Methode von Botsoglou *et al.* (1994) photometrisch bestimmt (Anlage 7). Zuerst wird die Malondialdehyd-Stammlösung erstellt ( $c = 239,49 \text{ mg MDA/l}$ ). Dabei werden genau 73,2 mg Tetraethoxypropan (TEP) in ein Schraubkappengläschen eingewogen und anschließend 10 ml Salzsäure ( $c_{\text{HCl}} = 0,1 \text{ mol/l}$ ) hinzugefügt. Das Schraubkappengläschen wird luftdicht verschlossen, kurz geschüttelt und danach für fünf Minuten in ein siedendes Wasserbad getaucht. Nach Verstreichen der Zeit wird das Schraubkappengläschen unter fließendes Leitungswasser abgekühlt. Die nun hydrolysierte TEP-Lösung

wird in einen 100 ml Messkolben überführt und mit destilliertem Wasser bis zur Ringmarke aufgefüllt. Aus der Stammlösung wird eine verdünnte Malondialdehyd-Stammlösung bzw. Arbeitslösung ( $c = 4,788 \text{ mg MDA/l}$ ) erstellt, indem 0,2 ml Stammlösung in einen weiteren 100 ml Messkolben pipettiert und mit destilliertem Wasser bis zur Ringmarkierung aufgefüllt wird. Für die Herstellung der 0,6 %igen 2-Thiobarbitursäure-Lösung wird 0,612 g TBA in ein Glas-Wägeschiffchen eingewogen, in ein 100 ml Messkolben überführt und mit destilliertem Wasser bis zur Markierung aufgefüllt. Für ein besseres Auflösen der 2-Thiobarbitursäure wird der Messkolben für fünf Minuten in das Ultraschallbad gestellt. Die MDA-Stammlösung und die TBA-Lösung müssen zu jedem Untersuchungstag neu hergestellt werden. Nun folgt die Aufbereitung der Schmalz- und Leberwurst-Proben. Hier werden jeweils zwei Gramm Probenmaterial in 50 ml Zentrifugenbecher eingewogen. Daraufhin werden jeweils 10 ml einer fünfprozentigen Trichloressigsäure (TCE)-Lösung und 5 ml einer 0,8 %igen Butylhydroxytoluol (BHT)-Lösung (5,32 g BHT/1000 ml n-Hexan) hinein pipettiert. Der gesamte Inhalt wird im Behältnis für 30 Sekunden mit Hilfe eines Hochleistungs-Dispergiergerätes bei 8000 rpm homogenisiert. Unmittelbar nach dem Homogenisieren werden die Zentrifugenbehältnisse bei 10000 rpm für 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand an n-Hexan wird verworfen und nur die untere wässrige Phase im Zentrifugenbecher wird durch einen Faltenfilter in Erlenmeyerkolben filtriert. Anschließend werden 2,5 ml des Filtrats und 1,5 ml der 0,6%igen TBA-Lösung in ein Schraubkappengläschen pipettiert, luftdicht verschlossen und kurz geschüttelt. Für die photometrische Bestimmung der TBARS werden MDA-Standardlösungen benötigt. Diese werden mit den jeweiligen Anteilen an Arbeitslösung und TCE-Lösung nach dem folgenden Schema der Tabelle 14 pipettiert.

Tabelle 14: Herstellung der Standardlösungen für die Bestimmung der TBARS (Botsoglou et al., 1994)

<b>MDA</b> [ $\mu\text{g}$ ]	-	0,024	0,048	0,096	0,192	0,288	0,384	0,480	0,720	0,960
<b>Arbeitslösung</b> [ml]	-	0,05	0,10	0,20	0,40	0,60	0,80	1,00	1,50	2,00
<b>TCE-Lösung</b> [ml]	2,50	2,45	2,40	2,30	2,10	1,90	1,70	1,50	1,00	0,50

Zudem werden in jedes Schraubkappengläschchen jeweils 1,5 ml 0,6%ige TBA-Lösung hinein pipettiert und kurz geschüttelt. Nun werden alle Proben- und Standardlösungen für 30 Minuten bei 70 °C im Thermo-Wasserbad inkubiert. Im Anschluss werden alle Schraubkappengläschchen unter fließendem Leitungswasser abgekühlt. Die Lösungen werden dann in 1 cm-Makroküvetten aus Kunststoff oder Glas gefüllt und im Spektralphotometer gegen den Reagenzblindwert der Standardlösungen bei 532 nm gemessen. Zur Auswertung der Extinktionswerte bzw. zur Berechnung des sogenannten TBARS-Wertes müssen die Extinktionen gegen die bekannten Konzentrationen an MDA in den Standardlösungen aufgetragen werden. Die Konzentration an MDA in der Schmalz- bzw. Leberwurstprobe wird mit Hilfe der Regressionsgleichung (Formel 1) aus den Standardlösungen ermittelt. Der TBARS-Wert wird dann anhand der folgenden Formel 2 berechnet:

$$\text{TBARS-Wert} = \frac{(E_{532 \text{ nm}} - b) * 4}{a * \text{Einwaage [g]}}$$

Formel 2: TBARS-Wert

Der TBARS-Wert errechnet sich aus der Steigung (a) und des Achsenabschnitts (b) der Regressionsgleichung. Außerdem berücksichtigt die TBARS-Formel die Extinktion bei 532 nm, die Einwaage der Probe und einen vierfachen Verdünnungsfaktor. Die Thiobarbitursäure reaktiven Substanzen werden in mg MDA/kg Gewebe angegeben.

### 3.5 Statistische Auswertung der Daten

Alle erfassten Daten wurden mit der Software „IBM SPSS Statistics“ Version 25 statistisch ausgewertet. Neben der deskriptiven statistischen Analyse der Ergebnisse, u.a. Mittelwerte und Standardabweichungen, wurden alle Daten mittels Varianzanalyse geprüft. Bis auf die Ergebnisse des TBARS-Tests wurden alle Daten mit der einfaktoriellen Varianzanalyse ausgewertet. Die TBARS-Ergebnisse wurden mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse ausgewertet, um einerseits Interaktionen bei Verwendung von Extrakten und andererseits Unterschiede im zeitlichen Verlauf des Lagertests herauszustellen. Darüber hinaus wurden immer Mehrfachvergleiche nach Gabriel bzw. nach Games-Howell durchgeführt, um Unterschiede innerhalb der Gruppen zu ermitteln und zu präzisieren. Es wurden verschiedene Post-Hoc-Tests verwendet, da einerseits

durch Messfehler ungleiche Messwiederholungen (n) innerhalb der Gruppen entstanden sind und der Verdacht ungleicher Varianzen vorlag. Die Varianzgleichheit wurde mit dem Levene-Test geprüft. Das Signifikanzniveau bzw. der Fehler 1. Art ( $\alpha$ ) war in allen statistischen Auswertungen 5 %. Dementsprechend wurden p-Werte kleiner als 0,05 als statistisch signifikant angesehen. In fast allen chemischen Untersuchungen wurde eine Doppelbestimmung (n = 2) durchgeführt. In der Rancimat-Methode wurde eine Vierfachbestimmung (n = 4) angestrebt.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Bestimmung der antioxidativen Aktivität von Hopfenextrakten (DPPH-Test)

Die Konzentration von DPPH verringert sich beim Einsatz von HS01-Extrakt in der Verdünnungsstufe 1:4 im Schnitt von 0,0281 g/l auf 0,0054 g/l. In der Verdünnung 1:8 nimmt die Konzentration von 0,0207 g/l auf 0,0049 g/l ab. In der Verdünnung 1:10 wird DPPH von 0,0168 g/l auf 0,0047 g/l reduziert. In der letzten Verdünnungsstufe 1:20 nimmt die Konzentration von 0,0219 g/l auf 0,0049 g/l ab. Der HS02-Extrakt reduziert die DPPH-Konzentration folgendermaßen: In der 1:4 Verdünnung von 0,0526 g/l auf 0,0388 g/l; in der 1:8 Verdünnung von 0,0264 g/l auf 0,0179 g/l; in der 1:10 Verdünnung von 0,0203 g/l auf 0,0165 g/l und in der 1:20 Verdünnung von 0,0111 g/l auf 0,0093 g/l im Durchschnitt. Der HS03-Extrakt hat die DPPH-Konzentration in der Verdünnung 1:4 im Schnitt von 0,0185 g/l auf 0,0180 g/l verringert. In der nachfolgenden Extrakt-Verdünnung 1:8 wurde die Konzentration an DPPH von 0,0146 g/l auf 0,0136 g/l reduziert. Die 1:10 Verdünnung des HS03-Extraktes bewirkte eine Reduzierung der DPPH-Konzentration von 0,0147 g/l auf 0,0130 g/l. Die größte Verdünnung des HS03-Extraktes hatte die Verringerung von 0,144 g/l auf 0,0128 g/l DPPH zur Folge. Das Antioxidationsmittel  $\alpha$ -Tocopherol hat die DPPH-Konzentration in der Verdünnung 1:2000 von 0,0192 g/l auf 0,0008 g/l reduziert. Das Antioxidans Ascorbinsäure konnte in der Verdünnung 1:400 die Konzentration von DPPH von 0,0080 g/l auf 0,0005 g/l minimieren. Höhere Konzentrationen an Antioxidantien und der Einsatz von Oxidantien ergaben im DPPH-Test keine aussagekräftigen Ergebnisse. Die Ergebnisse des DPPH-Tests sind in der Abbildung 15 grafisch dargestellt. Die vollständige Auflistung aller Ergebnisse ist der Anlage 8 zu entnehmen.

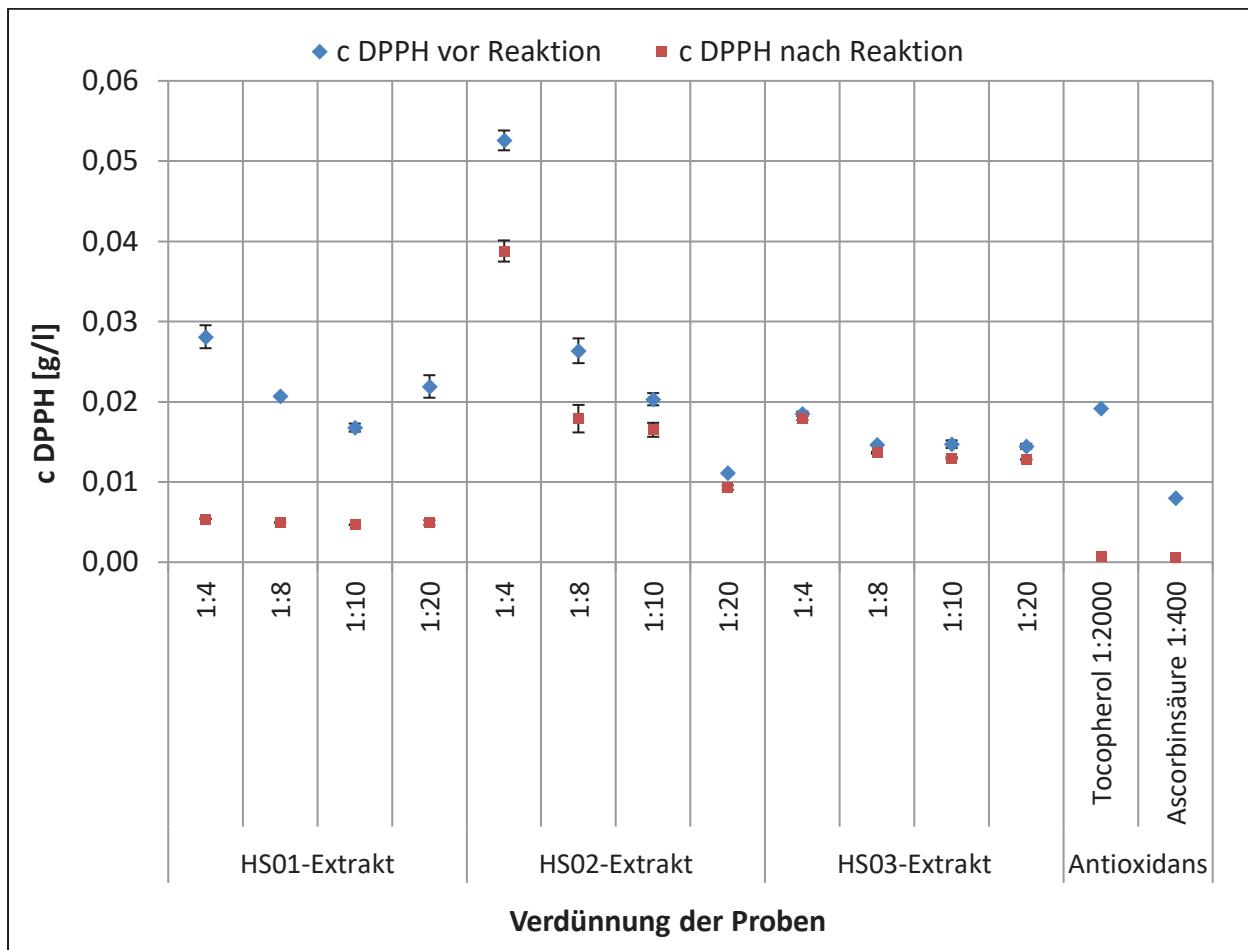


Abbildung 15: arithmetisches Mittel der antioxidativen Aktivität von HS01-Extrakt, HS02-Extrakt und HS03-Extrakt bei unterschiedlichen Verdünnungsstufen (1:4; 1:8; 1:10; 1:20), Tocopherol (1:2000) und Ascorbinsäure (1:400) als Positivkontrollen, n = 2

Zum besseren Verständnis der Ergebnisse kann die Abnahme der DPPH-Konzentration auch prozentual angegeben werden. Beim HS01-Extrakt ist die DPPH-Konzentration in der 4-fachen Verdünnung um durchschnittlich 80,7 % gesunken. In der 8-fachen Verdünnung nahm die Konzentration an DPPH um 76,1 % ab. In den Verdünnungsstufen 1:10 und 1:20 sank die DPPH-Konzentration um 72,2 % und 77,4 % ab. Beim HS02-Extrakt reduzierte sich die DPPH-Konzentration um 26,2 % (Verdünnung 1:4); um 32,1 % (Verdünnung 1:8); um 18,8 % (Verdünnung 1:10) und um 16,4 % (Verdünnung 1:20). Der HS03-Extrakt reduzierte die DPPH-Konzentration folgendermaßen: um 3 % in der 4-fachen Verdünnung, um 6,8 % in der 8-fachen Verdünnung, um 11,9 % in der 10-fachen Verdünnung und um 11,3 % in der größten Verdünnung 1:20. Im Vergleich zu den Extrakt-Proben verringerten Tocopherol (1:2000) und Ascorbinsäure (1:400) die DPPH-Konzentration um 95,9 % und 93,3 %. Die prozentuale Abnahme der DPPH-

Konzentration in der jeweiligen Verdünnungsstufen ist in der nachfolgenden Abbildung 16 dargestellt.

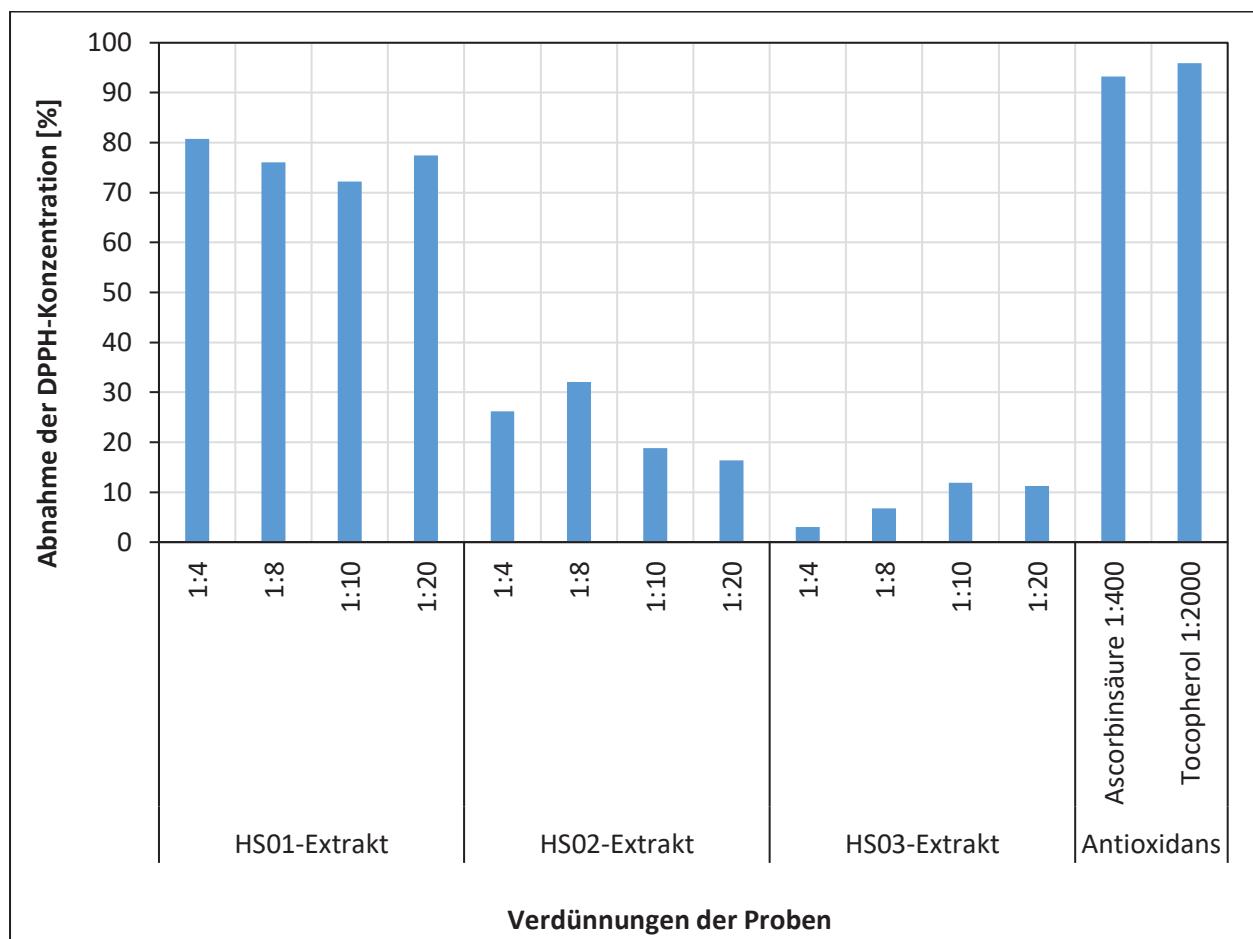


Abbildung 16: prozentuale Abnahme der DPPH-Konzentration unter Verwendung von HS01-Extrakt, HS02-Extrakt und HS03-Extrakt bei unterschiedlichen Verdünnungsstufen (1:4; 1:8; 1:10; 1:20), Tocopherol (1:2000) und Ascorbinsäure (1:400) als Positivkontrollen,  $n = 2$

In der Gruppe der vierfachen Extrakt-Verdünnungen sind signifikante Unterschiede zwischen allen Extrakten erkennbar,  $F(2, 3) = 367$ ,  $p < .05$ . In den Verdünnungen 1:8 sind ebenfalls alle drei Hopfen-Extrakte in ihrer Reduktionseigenschaft signifikant unterschiedlich,  $F(2, 3) = 675$ ,  $p < .05$ . Die Hopfen-Extrakte, welche in der Verdünnung 1:10 vorliegen, sind ebenso signifikant unterschiedlich zu bewerten,  $F(2, 3) = 361$ ,  $p < .05$ . Ähnlich verhalten sich die Extrakte in der höchsten Verdünnung (1:20). Allerdings wird hier nach dem Post-Hoc-Test ersichtlich, dass nur der HS01-Extrakt signifikant unterschiedlich ist,  $F(4, 3) = 186,20$ ,  $p < .05$ . Es ist anzumerken, dass keine statistische Signifikanz zwischen den Extrakten und Antioxidantien ermittelt werden kann, da der Versuch mit Antioxidantien nur einmal durchgeführt worden ist ( $n = 1$ ).

## 4.2 Bestimmung der antioxidativen Kapazität von Hopfenextrakten (FRAP-Test)

In 50-facher Verdünnung des HS01-Extraktes ist die Reduktionskraft des Eisen(III)-TPTZ-Komplexes im Durchschnitt äquivalent zu 16,89 mg/l Ascorbinsäure. In der 500-fachen Verdünnung ist die antioxidative Kapazität äquivalent zu 3,02 mg/l Ascorbinsäure, in der 5000-fachen Verdünnung zu 0,49 mg/l Ascorbinsäure und in der 10000-fachen Verdünnung zu 0,33 mg/l Ascorbinsäure. Die antioxidative Wirkung des HS02-Extraktes in der 50-fachen Verdünnung entsprechen durchschnittlich 3,77 mg/l Ascorbinsäure. In der Verdünnung 1:500 ist die antioxidative Kapazität gleich der Konzentration an 1,03 mg/l Ascorbinsäure. In den Verdünnungsstufen 1:5000 und 1:10000 entspricht die antioxidative Wirkung des HS02-Extraktes der Konzentration an Ascorbinsäure in Höhe von 0,31 mg/l und 0,40 mg/l. Der HS03-Extrakt reduziert die Eisen(III)-TPTZ-Komplexe äquivalent zur Ascorbinsäure folgendermaßen: in der 50-fachen Verdünnung 18,04 mg AAE/l, in der 500-fachen Verdünnung 4,08 mg AAE/l, in der 5000-fachen Verdünnung 0,91 mg AAE/l und in der 10000-fachen Verdünnung des Hopfen-Extraktes 0,57 mg AAE/l. Die gesamten FRAP-Test Ergebnisse sind in der Abbildung 17 grafisch dargestellt. Die vollständige Auflistung aller Ergebnisse des FRAP-Tests ist der Anlage 9 zu entnehmen.

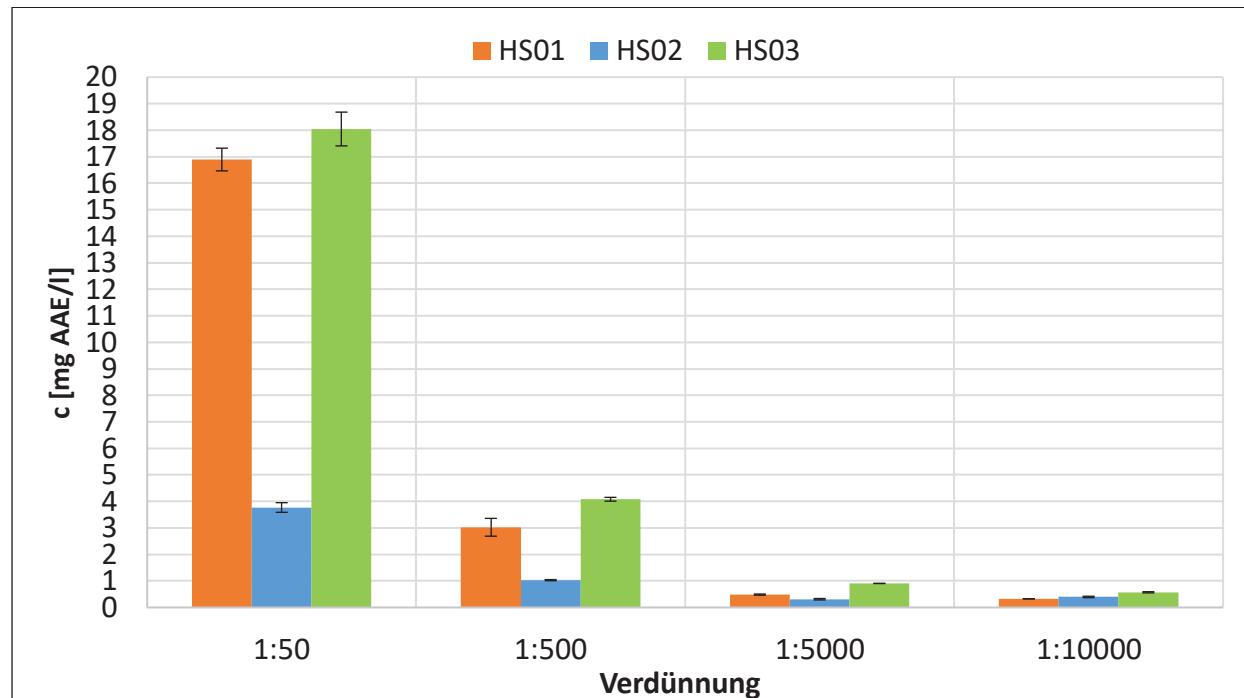


Abbildung 17: arithmetisches Mittel der antioxidativen Kapazität von HS01-Extrakt, HS02-Extrakt und HS03-Extrakt bei verschiedenen Verdünnungsstufen (1:50; 1:500; 1:5000; 1:10000) entsprechend der antioxidativen Wirkung von Ascorbinsäure, n = 2

Nach statistischer Auswertung sind die Extrakte in den Verdünnungen 1:50 signifikant unterschiedlich,  $F(2, 3) = 603,68$   $p < .05$ . Allerdings unterscheidet sich hier nur der HS02-Extrakt von den anderen signifikant. In der Verdünnung 1:500 sind alle Extrakte signifikant unterschiedlich zu bewerten,  $F(2, 3) = 125,75$   $p < .05$ . In der Verdünnung 1:5000 sind ebenfalls alle Extrakte signifikant unterschiedlich,  $F(2, 3) = 475$   $p < .05$ . In der größten Verdünnung 1:10000 ist nur der HS03-Extrakt signifikant unterschiedlich,  $F(2, 3) = 75,96$   $p < .05$ .

#### 4.3 Bestimmung der Oxidationsstabilität von Lebensmitteln (Rancimat-Methode)

Die Oxidationsstabilität von Rapsöl und Schmalz wird anhand der Induktionszeit ermittelt. Zuerst werden die Induktionszeiten der Rapsöl-Proben betrachtet. Im Anschluss werden die Ergebnisse der Schmalz-Proben dargestellt. Die durchschnittliche Oxidationsstabilität anhand der Induktionszeiten der Rapsöl-Proben ist in der Abbildung 18 grafisch visualisiert.

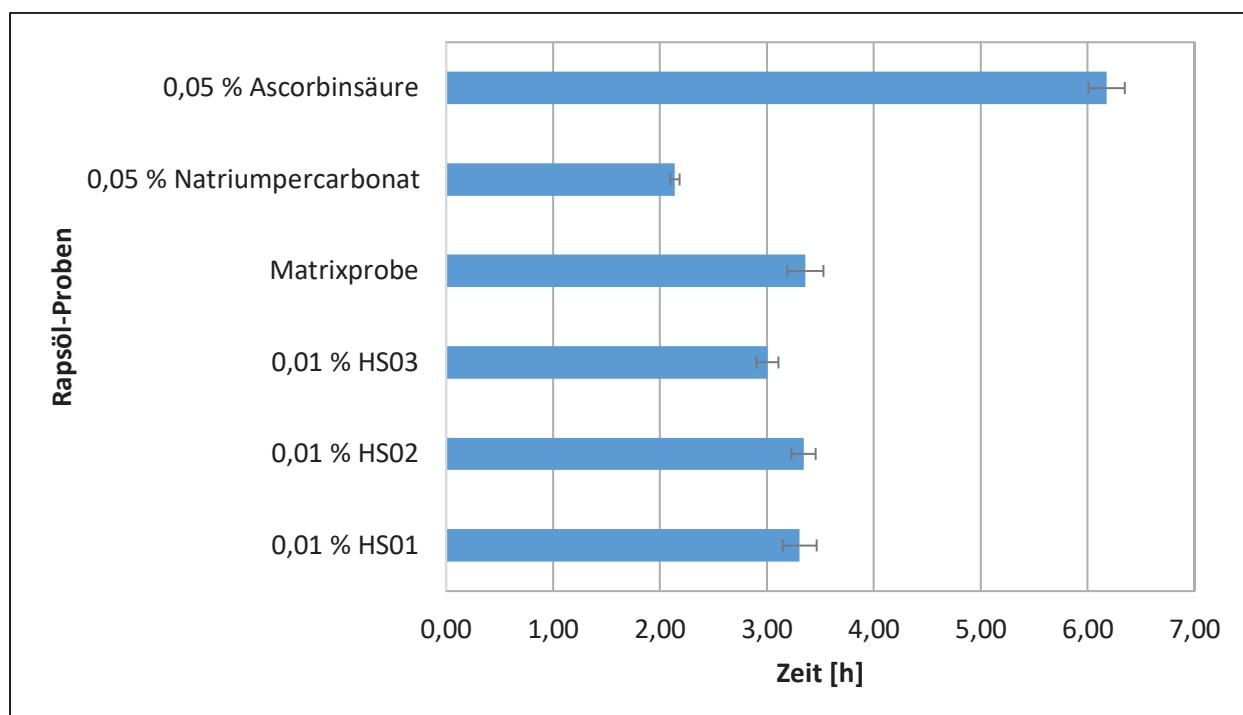


Abbildung 18: arithmetisches Mittel der Induktionszeit von Rapsöl-Proben ohne und mit 0,01 % HS01-Extrakt, 0,01 % HS02-Extrakt, 0,01 % HS03-Extrakt, 0,05 % Ascorbinsäure als Positivkontrolle und 0,05 % Natriumpercarbonat als Negativkontrolle,  $n = 4$

Die Induktionszeit der Matrixprobe beträgt durchschnittlich 3,36 h. Beim Einsatz von verschiedenen Hopfenextrakten in 0,01%iger Konzentration in Rapsöl hat sich die Induktionszeit

im Durchschnitt folgendermaßen verändert: die HS01-Extrakt-Probe erreichte nach 3,31 h, die HS02-Extrakt-Probe nach 3,34 h und die HS03-Extrakt-Probe erreichte nach 3,01 h die Induktionszeit. Die Zugabe von Ascorbinsäure in einer Konzentration von 0,05 % ergab eine Induktionszeit der Rapsöl-Proben von durchschnittlich 5,56 h. Die Zugabe von Natriumpercarbonat in ebenfalls 0,05%iger Konzentration hatte eine durchschnittliche Induktionszeit von 2,14 h zur Folge. Nach der einfaktoriellen Varianzanalyse wurde ein signifikanter Unterschied der Induktionszeiten in der Grundgesamtheit ersichtlich,  $F(5, 17) = 288,40$   $p < .05$ . Der Post-Hoc-Test nach Gabriel präzisierte die Unterschiede innerhalb der Gruppe, so dass die Induktionszeiten der Positiv- und Negativ-Proben zu allen anderen Proben signifikant unterschiedlich sind. Weiterhin sind die Induktionszeiten der HS03-Extrakt-Proben signifikant unterschiedlich, außer gegenüber den HS01-Extrakt-Proben. Dementsprechend sind die Matrix-Proben, die HS01-Proben und die HS02-Proben gleichermaßen zu bewerten.

Im Allgemeinen sind die Schmalz-Proben wesentlich schneller oxidiert, weshalb die Induktionszeit in Minuten angegeben wird. Die durchschnittlichen Induktionszeiten der Schmalz-Proben sind in der Abbildung 19 grafisch dargestellt.

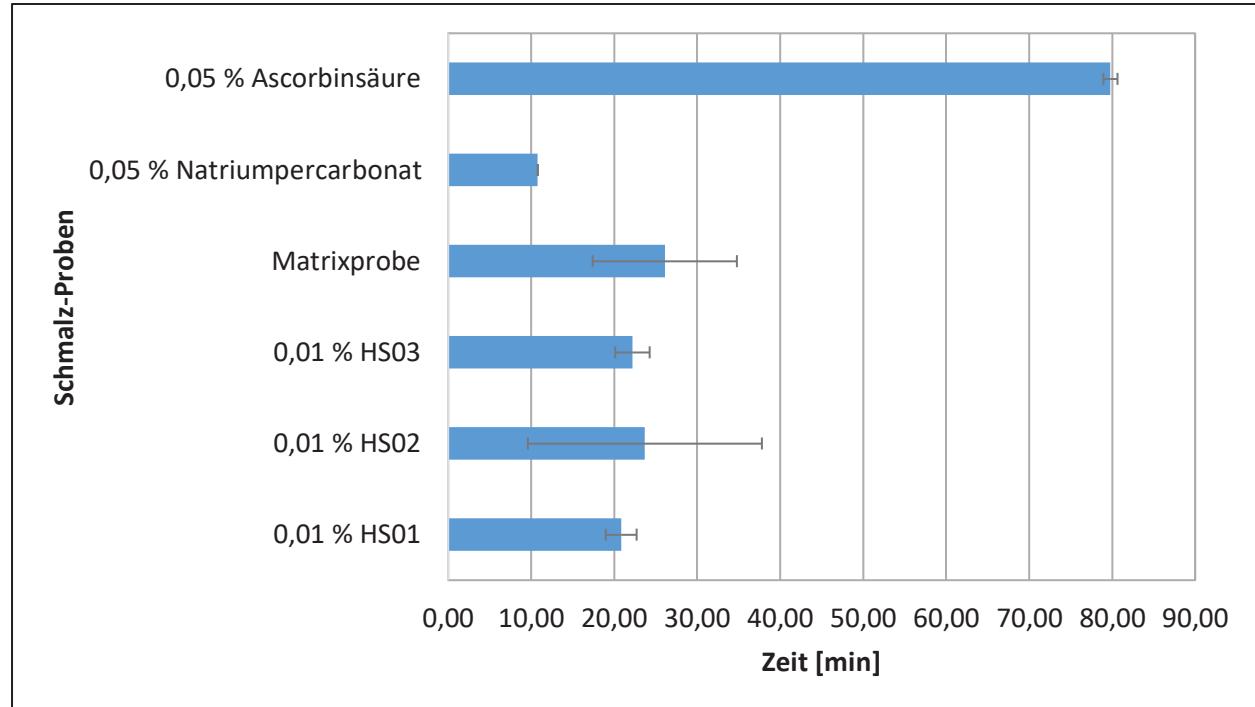


Abbildung 19: arithmetisches Mittel der Schmalz-Proben ohne und mit 0,01 % HS01-Extrakt, 0,01 % HS02-Extrakt, 0,01 % HS03-Extrakt, 0,05 % Ascorbinsäure als Positivkontrolle und 0,05 % Natriumpercarbonat als Negativkontrolle,  $n = 4$

Die durchschnittliche Induktionszeit der Nullprobe beträgt 26,1 min. Die Zugabe von 100 ppm Hopfen-Extrakt im Schmalz veränderte die Induktionszeit im Durchschnitt folgendermaßen: mit HS01-Extrakt beträgt die Induktionszeit 20,85 min; mit HS02-Extrakt 23,7 min und mit HS03-Extrakt 22,2 min. Bei den Schmalz-Proben mit 500 ppm Ascorbinsäure war die durchschnittliche Induktionszeit 79,8 min. Die Schmalz-Proben, welche 0,05 % Natriumpercarbonat enthielten, hatten eine durchschnittliche Induktionszeit von 10,8 min. Die Induktionszeiten der Schmalz-Proben sind signifikant unterschiedlich,  $F(5, 16) = 26,06$   $p < .05$ . Die Induktionszeiten der Positiv-Proben unterscheiden sich signifikant von allen anderen Proben. Bei den Negativ-Proben werden keine signifikanten Unterschiede zwischen den HS02-Extrakt-Proben und den Matrix-Proben ersichtlich. Es ist allerdings wahrscheinlich, dass diese Ergebnisse durch die große Streuung der Induktionszeiten verfälscht wurde. Weiterhin sind laut Signifikanztest die Hopfenextrakt-Proben und die Matrix-Proben im Schmalz gleichermaßen zu bewerten. Auch innerhalb der Hopfenextrakt-Proben sind keine signifikanten Unterschiede zu verzeichnen. Die vollständige Auflistung aller Induktionszeiten zur Bestimmung der Oxidationsstabilität von verschiedenen Rapsöl- und Schmalz-Proben ist in der Anlage 10 bis 11 tabellarisch aufgelistet.

#### 4.4 Bestimmung der TBARS in Lebensmitteln (TBARS-Test)

Zu aller erst wird der Verlauf der TBARS-Werte in den Schmalz-Proben nach neunwöchiger Lagerzeit beschrieben. Abschließend erfolgt die Darstellung der Ergebnisse des Leberwurstlagertestes. Der TBARS-Wert der Schmalzprobe ohne Hopfenextrakt am ersten Untersuchungstag [ $t_0$ ] beträgt durchschnittlich 0,097 mg MDA/kg Gewebe. Der TBARS-Wert der Nullprobe steigt anschließend auf ein Maximum von 0,183 mg MDA/kg Gewebe am 13. Tag an. Danach fällt der TBARS-Wert auf ein Minimum am 28. Tag auf 0,033 mg MDA/kg Gewebe ab. Nach kleinem Anstieg auf 0,138 mg MDA/kg Gewebe am 42. Tag pendelt sich der TBARS-Wert zwischen 0,079 und 0,085 mg MDA/kg Gewebe ein. Im Schmalz mit 100 ppm HS01-Extrakt wurden am ersten Tag durchschnittlich 0,140 mg MDA/kg Gewebe gemessen. Der TBARS-Wert fällt danach auf ein Minimum am 13. Tag auf 0,040 mg MDA/kg Gewebe ab. Anschließend steigt der Wert wieder an und erreicht am 42. Tag seinen maximalen Wert von 0,163 mg MDA/kg Gewebe. In der darauffolgenden Woche sinkt der Wert auf 0,083 mg MDA/kg Gewebe ab und steigt in den letzten Wochen nicht mehr über 0,100 mg MDA/kg Gewebe an. Die Schmalzproben mit 100 ppm HS02-Extrakt hatten einen TBARS-Wert von 0,104 mg MDA/kg Gewebe am ersten Untersuch-

ungstag. Die HS02-Probe hat sein Maximum von 0,113 mg MDA/kg Gewebe am 13. Tag und sein Minimum an TBARS am 28. Tag mit 0,044 mg MDA/kg Gewebe. Der TBARS-Wert der Schmalz-Probe mit 500 ppm Ascorbinsäure betrug zum  $t_0$  Zeitpunkt 0,085 mg MDA/kg Gewebe. Nach einer Woche erreichte die MDA-Konzentration ihren maximalen Wert von 0,177 mg MDA pro kg Gewebe und reduzierte sich kontinuierlich bis zum 28. Tag auf einen TBARS-Wert von 0,044 mg. Ähnlich den anderen Proben stieg der TBARS-Wert am 42. Tag wieder an und pendelte sich danach auf einen Wert um 0,100 mg MDA/kg Gewebe ein. Die Schmalz-Probe mit 0,05% Natriumpercarbonat hatte am  $t_0$  Zeitpunkt ihren maximalen Wert an TBARS von 0,168 mg MDA/kg Gewebe, sankt dann sehr unregelmäßig bis auf ein Minimum am 49. Tag auf 0,060 mg MDA/kg Gewebe ab. In den letzten zwei Wochen ist ein kleiner Aufwärtstrend zu erkennen. In der nachfolgenden Abbildung 20 ist der Verlauf der durchschnittlichen TBARS-Werte dieser Schmalz-Proben grafisch dargestellt.

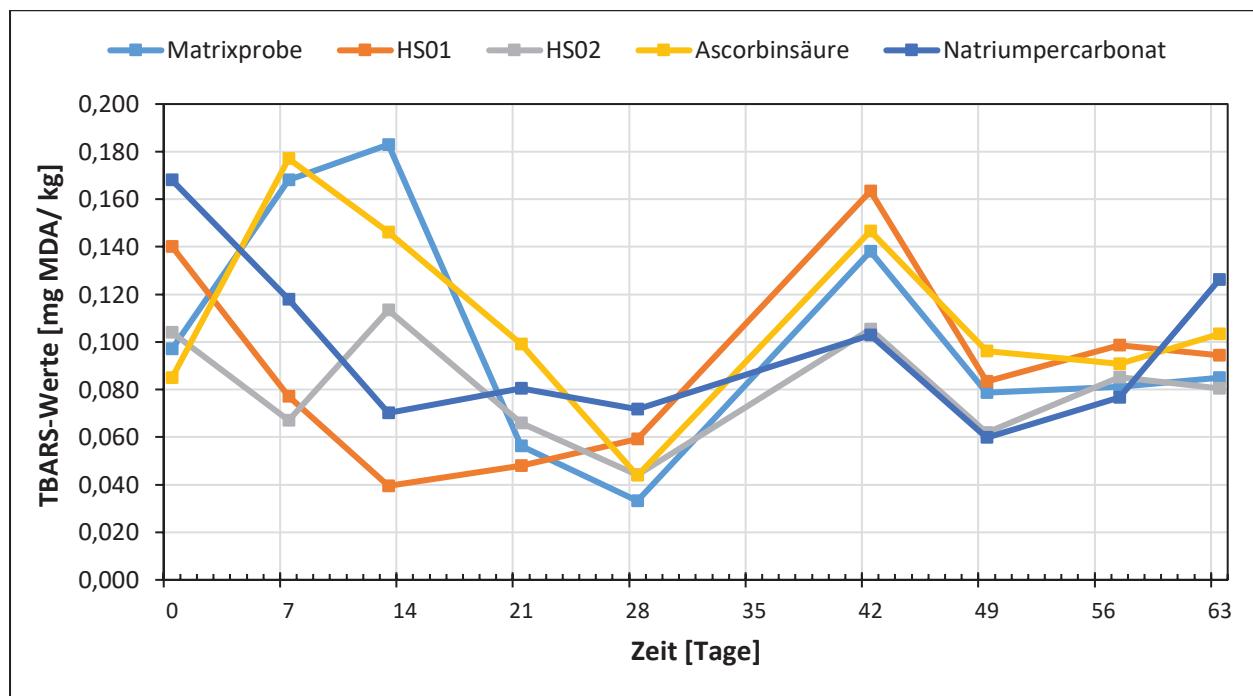


Abbildung 20: arithmetisches Mittel der TBARS-Werte von Schmalz-Proben ohne und mit 0,01 % HS01-Extrakt und 0,01 % HS02-Extrakt, 0,05 % Ascorbinsäure als Positivkontrolle und 0,05 % Natriumpercarbonat als Negativkontrolle im Zeitraum von 9 Wochen,  $n = 2$

Im Schmalz mit 100 ppm HS03-Extrakt sind durchschnittlich 0,150 mg MDA/kg Gewebe am ersten Tag enthalten. Der TBARS-Wert nimmt unregelmäßig bis zum 28. Tag ab und hat ab diesem Zeitpunkt seinen Minimalwert von 0,052 mg MDA/kg Gewebe erreicht. Anschließend steigt der TBARS-Wert in nur einer Woche auf ein Maximum von 0,190 mg MDA/kg Gewebe an, nimmt

danach wieder ab und schwankt unregelmäßig weiter. Die Schmalz-Probe mit 100 ppm  $\beta$ -Extrakt hatte im Durchschnitt 0,162 mg MDA/kg Gewebe am Zeitpunkt  $t_0$ . Der TBARS-Wert sinkt danach unregelmäßig auf ein Minimum am 21. Tag auf 0,058 mg MDA/kg Gewebe ab. In Folge dessen steigt der TBARS-Wert unregelmäßig auf ein Maximum von 0,145 mg MDA/kg Gewebe an. Im Anschluss reduziert sich die MDA-Konzentration in der Probe bis auf 0,080 mg MDA/kg Gewebe. In der nachfolgenden Abbildung 21 ist der Verlauf der durchschnittlichen TBARS-Werte dieser Schmalz-Proben grafisch über den gesamten Zeitraum dargestellt. Aus Gründen der Übersicht wurden die Fehlerindikatoren in beiden Diagrammen nicht eingetragen.

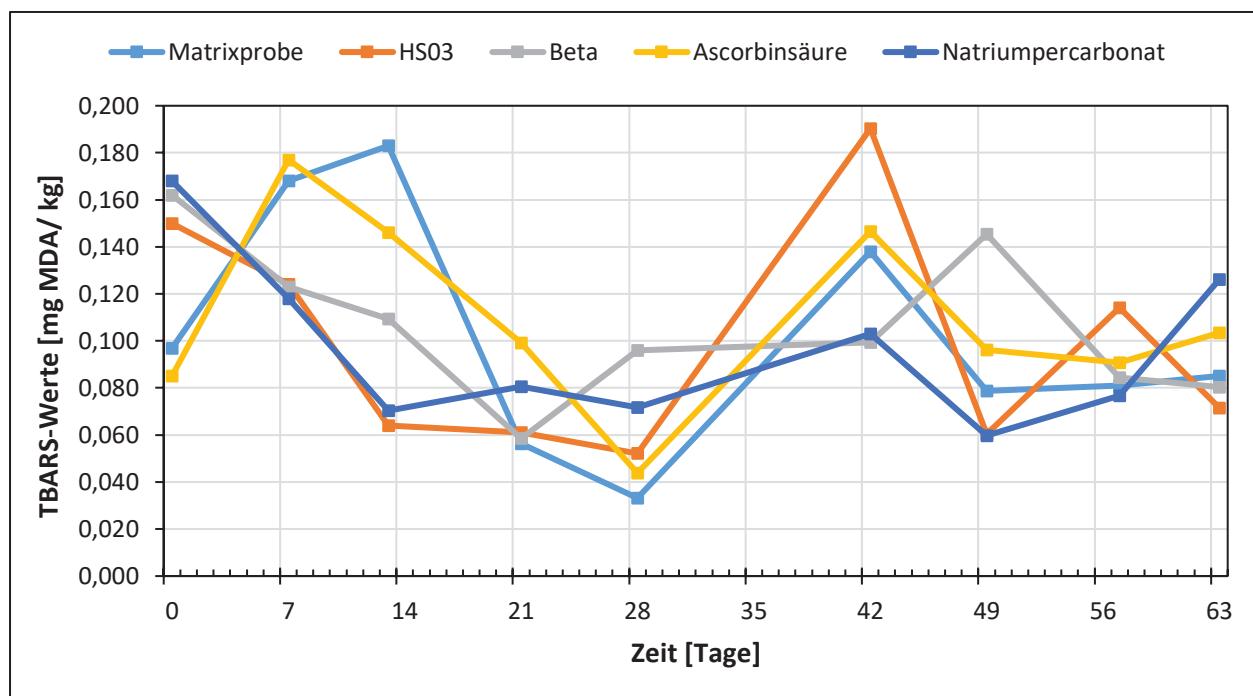


Abbildung 21: arithmetisches Mittel der TBARS-Werte von Schmalz-Proben ohne und mit 0,01 % HS03-Extrakt und 0,01 %  $\beta$ -Extrakt, 0,05 % Ascorbinsäure als Positivkontrolle und 0,05 % Natriumpercarbonat als Negativkontrolle im Zeitraum von 9 Wochen,  $n = 2$

Laut statistischer Auswertung werden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Extraktten, der Matrix-Probe, der Positivkontrolle und der Negativkontrolle ersichtlich,  $F(6,60) = 1,78$   $p = 0,119$ . Hinsichtlich der TBARS-Werte innerhalb der Tage sind nur signifikante Unterschiede zwischen  $t_0$  und  $t_{21}$ ,  $t_7$  und  $t_{21}$  und  $t_{21}$  und  $t_{42}$  erkennbar,  $F(8,60) = 5,15$   $p = p < .05$ .

Es folgen die Ergebnisse des achtwöchigen Lagertests der Leberwurst-Proben. In der Abbildung 22 ist der zeitliche Verlauf der durchschnittlichen TBARS-Werte der Leberwurst-Proben grafisch dargestellt. Aus Gründen der Übersicht wurden die Fehlerindikatoren auch hier nicht im Diagramm eingetragen.

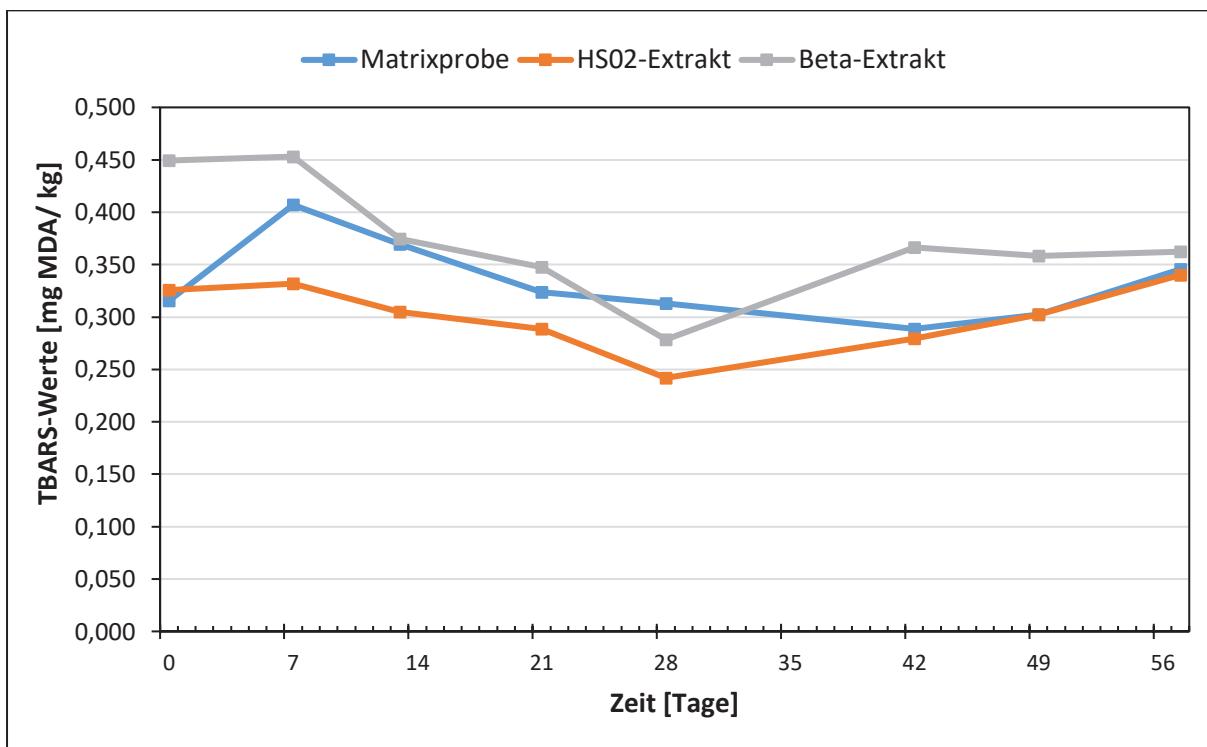


Abbildung 22: arithmetisches Mittel der TBARS-Werte von Leberwurst-Proben ohne und mit 0,01 % HS02-Extrakt und 0,01 %  $\beta$ -Extrakt im Zeitraum von 8 Wochen,  $n = 2$

Die Matrix-Probe hatte am ersten Untersuchungstag einen TBARS-Wert von durchschnittlich 0,316 mg MDA/kg Gewebe und stieg dann nach einer Woche auf den maximalen Wert von 0,407 mg MDA/kg Gewebe an. Danach sank der Wert auf ein Minimum am 42. Tag auf 0,289 mg MDA/kg Gewebe ab. In den folgenden Wochen ist ein Aufwärtstrend ersichtlich. Die Leberwurst-Proben mit 100 ppm HS02-Extrakt hatten einen durchschnittlichen TBARS-Wert von 0,316 mg MDA/kg Gewebe am ersten Untersuchungstag. Dieser Wert sank im weiteren Verlauf auf einen minimalen TBARS-Wert am 28. Tag auf 0,242 mg MDA/kg Gewebe ab. Ab dem 28. Untersuchungstag stieg die Konzentration an MDA in der Probe kontinuierlich an und erreichte am letzten Tag ihr Maximum mit 0,340 mg MDA/kg Gewebe. Die Leberwurst mit 100 ppm  $\beta$ -Extrakt hatte zum Zeitpunkt  $t_0$  einen TBARS-Wert von 0,449 mg MDA/kg Gewebe. Nach einer Woche stieg der TBARS-Wert nur sehr leicht an und erreichte ihren maximalen Wert von 0,453 mg MDA/kg Gewebe. Dieser Wert sank danach bis auf ein Minimum unregelmäßig auf 0,313 mg MDA/kg Gewebe ab. Zwischen dem 28. und 42. Tag stieg die Konzentration an MDA auf einen Wert von 0,366 mg MDA/kg Gewebe. In den letzten Wochen der Untersuchung veränderte sich der TBARS-Wert nur noch kaum. Mit Hinblick auf die statistische Betrachtung der TBARS-Werte besteht ein signifikanter Unterschied zwischen Matrixprobe, HS02-Extrakt-Probe

und  $\beta$ -Extrakt-Probe,  $F(2,21) = 14,82$   $p = p < .05$ . Nach dem Post-Hoc-Test konnte ermittelt werden, dass sich die TBARS durch Zugabe von HS02- und  $\beta$ -Extrakt signifikant verändern. Auch innerhalb der Tage sind die Werte an einigen Zeitpunkten signifikant unterschiedlich,  $F(7,21) = 6,64$   $p = p < .05$ . Hier kristallisierte sich in erster Linie heraus, dass die TBARS-Werte nach einer Woche und nach 4 Wochen signifikant unterschiedlich zu den anderen Untersuchungstagen sind. Die gesamten Ergebnisse der TBARS-Bestimmungen, einschließlich der Standardabweichungen, sind der Anlage 12 bis 13 zu entnehmen.

## 5 Abschlussdiskussion

Nach umfangreichen Untersuchungen zur antioxidativen Aktivität mittels DPPH-Tests sind wesentliche Unterschiede zwischen den verwendeten Hopfen-Extrakten ersichtlich. In fast allen Verdünnungsstufen sind signifikante Unterschiede deutlich erkennbar. Ab der 20-fachen Verdünnung der Extrakte ist das antioxidative Potenzial nur noch beim HS01-Extrakt signifikant unterschiedlich. Besonderes Augenmerk ist auf den HS01-Extrakt zu legen. Dieser Extrakt, welcher vorwiegend Gerbstoffe und Polyphenole enthält, hat die höchste Reduktionskraft gegenüber DPPH und damit das höchste antioxidative Potenzial von allen drei Hopfenextrakten. Biendl (2005) und Kammhuber (2005/2006) sprechen den Hopfenpolyphenolen ebenfalls hohe antioxidative Fähigkeiten zum Schutz gegen freie Radikale aus. Zur gleichen Aussage kamen auch Biendl und Cocuzza (2016/2017). Laut Biendl *et al.* (2012) sind im Allgemeinen sehr viele Polyphenole auch abseits des Hopfens sehr starke natürliche Antioxidantien. Die zweithöchste antioxidative Aktivität besitzt der HS02-Extrakt, welcher vorwiegend Weichharze, Öle und Bitterstoffe enthält. Für Biendl und Pinzl (2009) ist die antioxidative Wirkung der Weichharze eher sekundärer Bedeutung. Die antibakteriellen und gesundheitsfördernden Eigenschaften sind nach deren Aussagen wesentlicher. Des Weiteren sind die Autoren der Meinung, dass die stärkste antioxidative Aktivität von den Hopfenpolyphenolen ausgeht. Vor allem die Flavonole gelten als stärkste Antioxidantien im Hopfen (Biendl und Pinzl, 2009). Der HS03-Extrakt, indem vor allem Hartharze des Hopfens gelöst sind, hat im DPPH-Test die geringste antioxidative Aktivität. Der wichtigste Vertreter in der Hartharzfraktion ist Xanthohumol. Nach Gerhäuser (2011) ist die prenylierte Verbindung in hohen Konzentrationen antioxidativ, antientzündlich und antikanzerogen. Vor allem die antikanzerogene Eigenschaft von Xanthohumol wird sehr häufig in

vielen wissenschaftlichen Arbeiten thematisiert und primär beschrieben (Biendl, 2005; Kammhuber, 2005/2006; Bergmeier *et al.*, 2008). Es könnte also der Fall sein, dass die Konzentration an Xanthuhomol im HS03-Extrakt eventuell zu gering ist für eine antioxidative Wirkung. Weiterhin schreiben Biendl und Cocuzza (2016/2017): „Da es sich bei den Hartharzen um polare und somit gut wasserlösliche Verbindungen handelt, kann man davon ausgehen, dass diese bei der Technologie der Kalthopfung sehr effizient in das Bier übergehen.“ (Biendl und Cocuzza, 2016/2017). Es ist also davon auszugehen, dass die meisten Hartharze im HS03-Extrakt nicht mit Methanol in Lösung gehen. Die geringe Reduktion der DPPH-Konzentration wie in diesen Versuchen ist die Folge. Der von Thiel (2017) durchgeführte DPPH-Test konnte ähnliche Ergebnisse verzeichnen. Hier hatte ebenfalls der HS02-Extrakt die größere antioxidative Aktivität. Neben den selbst hergestellten HS02- und HS03-Extrakten wurden in der Arbeit von Thiel (2017) auch kommerziell genutzte Extrakte, u.a.  $\alpha$ -, Iso- $\alpha$ - und  $\beta$ -Extrakt, verwendet und miteinander verglichen. Nach Piendl und Biendl (2000) haben Humulone und Lupulone der Weichharzfraktion identische Radikalfängereigenschaften wie die natürlichen Antioxidantien  $\alpha$ -Tocopherol und Ascorbinsäure. Diese These konnte nach den Ergebnissen des DPPH-Tests nicht bestätigt werden. Im Vergleich zu den kommerziell genutzten Antioxidantien Tocopherol und Ascorbinsäure ist die antioxidative Fähigkeit der Hopfenextrakte um ein Vielfaches schwächer, da die Ascorbinsäure in der Verdünnung 1:400 und das Tocopherol in der Verdünnung 1:2000 ähnliche Resultate wie der HS01-Extrakt mit dem höchsten antioxidativen Potenzial aufweist. Tendenziell nimmt die antioxidative Aktivität der Extrakte bei höheren Verdünnungen ab. Für weiterführende Untersuchungen mit dem DPPH-Test wäre vor allem der polyphenolhaltige HS01-Extrakt sehr interessant, da die antioxidative Fähigkeit auch nach 20-facher Verdünnung nur minimal abnimmt.

Nach dem FRAP-Test sind keine signifikanten Unterschiede zwischen den HS01- und HS03-Extrakten in den 50-fachen Verdünnungen ersichtlich. Bis auf die höchste Verdünnungsstufe waren danach alle Extrakte in ihrer antioxidativen Kapazität signifikant unterschiedlich. Anders als beim DPPH-Test hat hier der HS03-Extrakt die höchste antioxidative Wirkung in allen Verdünnungsstufen. Dieser Unterschied kann so begründet werden, dass beim FRAP-Test als Lösungsmittel Wasser verwendet wird und somit die nach Biendl und Cocuzza (2016/2017) polaren, gut wasserlöslichen Hartharze im HS03-Extrakt sehr gute antioxidative Ergebnisse erzielen. Die zweithöchste antioxidative Wirkung hat der HS01-Extrakt mit grundsätzlich leicht schwächerer Wirkung als der HS03-Extrakt. Dennoch bestätigt sich ebenfalls im FRAP-Test die

hohe antioxidative Wirkung des HS01-Extraktes, welche vorwiegend Gerbstoffe und Polyphenole enthalten. Demzufolge können nochmals die Aussagen von Biendl (2005) und Kammhuber (2005/2006) widerlegt werden, dass von den Hopfenpolyphenolen eine hohe antioxidative Wirkung ausgeht. Im Vergleich zum HS01- und HS03-Extrakt besitzt der HS02-Extrakt die deutlich schwächste antioxidative Kapazität. Dieses Ergebnis verstärkt nochmals die Aussagen von Biendl und Pinzl (2009), dass die antibakteriellen und gesundheitsfördernden Eigenschaften der Weichharze primärer Bedeutung sind. Allerdings können aus den Ergebnissen des HS02-Extraktes im FRAP-Test keine endgültigen Entschlüsse gezogen werden, da nach Back (2008) und Kunze (2011) die Weichharze nahezu ausschließlich in organischen Lösungsmitteln in Lösung gehen. Ab der 10000-fachen Verdünnung ist nur der HS03-Extrakt signifikant unterschiedlich. Das antioxidative Potenzial der einzelnen Extrakte nimmt im Allgemeinen mit jeder Verdünnungsstufe merkbar ab. Allerdings ist die antioxidative Fähigkeit zwischen der 5000- und 10000-fachen Verdünnung nur noch geringfügig differenziert und sehr gering.

Die umfangreichen Untersuchungen zur Oxidationsstabilität von verschiedenen Rapsöl-Proben zeigen, dass nur die HS03-Extrakt-Proben mit 0,01 % Hopfenextrakt im Vergleich zu den Matrixproben signifikant unterschiedlich sind und sogar leicht prooxidativ wirken. Weiterhin sind signifikante Unterschiede zwischen den Matrixproben, den Negativproben und den Positivproben ersichtlich. Durch die Ascorbinsäure in einer Konzentration von 0,05 % verzögert sich der oxidative Verderb. Dahingegen beschleunigt die Zugabe von Natriumpercarbonat in gleicher Konzentration den oxidativen Zerfall der Fette. Die Schmalz-Proben verzeichnen ähnliche Ergebnisse wie die Rapsöl-Proben. Hier sind die Induktionszeiten aller Hopfenextrakt-Proben gegenüber der Matrixproben gleichermaßen zu beurteilen. In einer vergleichenden Untersuchung von Ganske (2017a) zur Oxidationsstabilität von Sonnenblumenöl und Leberwurst mittels Rancimat-Methode konnte keine antioxidative Wirkung von  $\alpha$ -, Iso- $\alpha$ - und  $\beta$ -Hopfenextrakten nachgewiesen werden. Allerdings wurden prooxidative Wirkungen der Hopfenextrakte bei hohen Konzentrationen ersichtlich. In einer nachfolgenden wissenschaftlichen Arbeit von Ganske (2017b) mit Schweineschmalz wird der prooxidative Effekt der Hopfenextrakte nochmals bestätigt. In den Ausarbeitungen von Doberstein *et al.* (2012) zur Messung der antioxidativen Kapazität von verschiedenen Gewürzextrakten wird ebenfalls die prooxidative Wirkung von zu hoch dosierten Extrakten beschrieben. Die prooxidative Wirkung von natürlichen Antioxidantien in hohen Konzentrationen ist laut Belitz *et al.* (2007) bekannt. Vitamine, Carotinoide und Flavonoide können in höheren Konzentrationen den oxidativen Verderb beschleunigen (Belitz *et*

*al.*, 2007). In dieser wissenschaftlichen Arbeit werden nur im Rapsöl mit 100 ppm HS03-Extrakt prooxidative Wirkungen ersichtlich. Die Zugabe von 0,05 % Natriumpercarbonat in Schmalz ist anders als bei den Rapsöl-Proben gegenüber den HS02-Extrakt- und Matrixproben gleich. Dies wird durch die hohen Standardabweichungen der Induktionszeiten begründet. In einer chemischen Untersuchung von Helmholz (2016) zur Oxidationsstabilität von Fleischsalat mit und ohne Hopfenextrakt in ähnlicher Ausführung wurden ebenfalls sehr große Differenzen der Induktionszeiten innerhalb der gleichen Probe beobachtet. Helmholz (2016) vermutet inhomogene Messproben als Ursache. Diese Vermutung bestätigte auch Ganske (2017a) mit der Messung von verschiedenen Emulsionen im Rancimaten und ergänzt weiterhin: „Die Untersuchung von fetthaltigen Lebensmitteln mit vielseitiger Produktmatrix kann nicht direkt mit dem Rancimaten untersucht werden.“ (Ganske, 2017a). Allen voran konnte 0,05 % Ascorbinsäure die Induktionszeit auch im Schmalz verlängern. Im Allgemeinen waren die Oxidationszeiten der Schmalz-Proben um ein Vielfaches kürzer als die Induktionszeiten der Rapsöl-Proben. Diese Beobachtung ist auf den natürlichen Gehalt an Tocopherol im Rapsöl und der unterschiedlichen Fettsäurezusammensetzung zurückzuführen (Krist *et al.*, 2008). Somit ist das Rapsöl wesentlich beständiger gegenüber dem oxidativen Verderb. Zur Haltbarkeit von Rapsöl schreiben Krist *et al.* (2008): „Bei kühler und dunkler Lagerung ist Rapsöl bis zu 12 Monate lang haltbar.“ (Krist *et al.*, 2008). Dagegen ist nach Massholder (2018) Schweineschmalz bei dunkler, kühler und trockener Lagerung nur einige Wochen haltbar. Matissek und Baltes (2015) schreiben weiterhin, dass im Schmalz der Anteil an freien Fettsäuren schnell durch verschiedene mikrobiologische und chemische Zersetzungssprozesse ansteigt. Anders als in den Ergebnissen von Ganske (2017b) sind die Induktionszeiten von Schmalz in diesen Untersuchungen um ein Vielfaches geringer. Dies wird durch die leicht abweichende Herstellung begründet, da das Schmalz in dieser Untersuchung mehrfach aufgeschmolzen wurde, um den störenden Wassergehalt zu verringern. Außerdem ist die Standardisierung der Schmalzherstellung mit gleichbleibender Qualität im ernährungswissenschaftlichen Labor nur schwer zu realisieren. Zu dieser Thematik schreiben Matissek und Baltes (2015), dass im idealen Fall das Ausschmelzen von Fetten im industriellen Maßstab fast ausschließlich mit Wasserdampf sehr schonend durchgeführt wird. Beim schnellen Aufschmelzen mit der Bratpfanne oder mit dem Kochtopf werden die Fette vornherein oxidativ geschädigt und die Lagerfähigkeit verschlechtert sich (Matissek und Baltes, 2015). In der wissenschaftlichen Arbeit von Ganske (2017a) wird weiterhin die schwere Löslichkeit von  $\alpha$ -, Iso- $\alpha$ - und  $\beta$ -Hopfenextrakt in Fetten und Ölen beschrieben. Die Verwendung des HS01-, HS02-, HS03- und

des  $\beta$ -Extraktes in dieser Arbeit resultierte mit ähnlichen Erfahrungen zur Löslichkeit, weshalb möglicherweise die zielgemäße Konzentration an Hopfenextrakt in Ölen und Fetten in den Reaktionsgefäßen nicht erreicht werden konnte.

In der Messung der Thiobarbitursäure reaktiven Substanzen von Schmalz sind keine signifikanten Unterschiede bei der Zugabe von Hopfenextrakten ersichtlich. In einer vergleichenden Untersuchung mit Schmalz von Ganske (2017b) zur Analyse der antioxidativen Effekte von Hopfen-Extrakt-Fraktionen werden prooxidative Wirkungen von  $\beta$ , Iso- $\alpha$  und HS02-Extrakt beschrieben. Nach Ganske (2017b) haben HS01-, HS03 und  $\alpha$ -Extrakt keine signifikanten Veränderungen der TBARS zur Folge. Darüber hinaus haben sich die TBARS-Werte beim Einsatz von Antioxidantien und Oxidantien nicht signifikant verändert. Die verschiedenen Additive im Schmalz haben keine Veränderung der Konzentration der Thiobarbitursäure reaktiven Substanzen bewirkt. Rosenbauer (2002) berichtet ebenfalls von steigenden TBARS-Werten von verschiedenen Fleischerzeugnissen trotz Einsatz von Tocopherol. Nach den Beobachtungen von Rosenbauer (2002) hatte das Tocopherol im Gewebe kein gerichteten Einfluss auf die TBARS-Konzentration. Mit Hinblick auf die in dieser Arbeit durchgeführten Versuchsreihe sind lediglich signifikante Unterschiede der TBARS nach bestimmten Zeitabständen erkennbar. Generell sinken in den meisten Fällen die TBARS-Werte der Schmalz-Proben nach dem  $t_0$  Zeitpunkt ab und erreichen ein minimalen Wert nach drei bis 4 Wochen. Ein signifikanter Unterschied zwischen diesen Zeitabschnitten ist erkennbar. Auffällig ist, dass die TBARS-Werte der Matrixproben und der Schmalz-Proben mit Ascorbinsäure im Gegensatz zu den Hopfenextrakt-Proben und den Schmalz-Proben mit Natriumpercarbonat nach einer Woche leicht ansteigen und dann ebenfalls auf ein minimales TBARS-Niveau nach ca. 4 Wochen absinken. Danach ist die Veränderung der TBARS von allen Proben annähernd gleich. Nach 4 Wochen steigt die Konzentration an TBARS in allen Proben wieder an. In der Regel ist nach der 6. Woche ein maximaler TBARS-Wert ersichtlich, welcher sich signifikant vom  $t_0$  Startwert und dem TBARS-Wert nach 4 Wochen unterscheidet. In den letzten 3 Wochen schwanken die TBARS-Werte aller Proben leicht unregelmäßig weiter. In der wissenschaftlichen Arbeit von Thiel (2017), indem die Konzentration an TBARS von Kasseler mit und ohne  $\beta$ -Hopfenextrakt in einem vierwöchigen Zeitraum gemessen wurde, konnten ebenfalls nur signifikante Unterschiede zwischen den Tagen beobachtet werden. Die Zugabe von Hopfenextrakt bewirkte nach Thiel (2017) keinen signifikanten Unterschied. Anders als die Untersuchungen mit Schweineschmalz sind signifikante Unterschiede innerhalb der verschiedenen Leberwurstproben nach achtwöchiger Lagerzeit beim Einsatz von Extrakten

erkennbar. Der HS02-Extrakt und der  $\beta$ -Extrakt haben den TBARS-Wert signifikant verändert. In der Regel ist die Konzentration von TBARS in den  $\beta$ -Extrakt-Proben höher als in den Matrixproben. Die Annahme von Ganske (2017b; 2017a), dass in erster Linie vom  $\beta$ -Extrakt prooxidative Wirkungen ausgehen, konnte im Lagertest mit Leberwurst bestätigt werden. Der HS02-Extrakt hatte insbesondere geringere TBARS-Werte in der Leberwurst zur Folge. Die im Extrakt enthaltenen Weichharze, Öle und Bitterstoffe des Hopfens haben die Konzentration an TBARS gegenüber der Matrixprobe signifikant verringert. Einen ähnlichen antioxidativen Effekt beschreiben Villalobos-Delgado *et al.* (2015) nach der Behandlung von verschiedenen Fleisch-erzeugnissen mit Hopfenpulver mit einem hohen Anteil an  $\alpha$ -Säuren. Ähnlich wie beim Lagertest mit Schmalz sind auch hier innerhalb der gesamten Zeitspanne des Lagertestes mit Leberwurst signifikante Unterschiede ersichtlich geworden. Der Verlauf der TBARS-Werte ähnelt generell stark dem Verlauf der Konzentrationen in den Schmalz-Proben. Die Konzentration an TBARS nimmt in der Regel nach dem ersten Untersuchungstag ab und sinkt auf einen minimalen Wert nach ca. 4 Wochen. Auffällig ist, dass die TBARS-Konzentration der Matrixproben genau wie bei den Schmalz-Proben nach einer Woche leicht ansteigen und dann auf ein minimales Niveau bis zur 6. Woche abfallen. Nach Abnahme der TBARS-Konzentration ist bei allen Proben ein Aufwärtstrend bis zum letzten Untersuchungstag zu erkennen. Markant ist, dass in den Leberwurstproben mit  $\beta$ -Extrakt die Konzentration an TBARS in den letzten drei Wochen nahezu gleichbleibt. Die absinkende und danach aufsteigende TBARS-Konzentration schildert ebenfalls Thiel (2017) in seinen vierwöchigen TBARS-Untersuchungen mit Kassler. Eine Absenkung der TBARS-Konzentration beobachtet auch Popp (2014) bei der Untersuchung von Rohwürsten über mehrere Tage. Zu diesem Sachverhalt schreibt Popp (2014): „Ein möglicher Grund für eine Absenkung der TBARS-Konzentration im Laufe der Lagerung ist, dass Malondialdehyd eine Bindung mit Aminosäuren in der Rohwurst eingeht, und somit während der Analyse nicht mehr detektiert werden kann.“ (Popp, 2014). Nach Botsoglou *et al.* (1994) sind bei frischem Fleisch TBARS-Werte unter 0,2 mg MDA/ kg Gewebe zu erwarten. Weiterhin schreiben Botsoglou *et al.* (1994), dass bei Fettgewebe der TBARS-Wert unter 1,0 mg MDA/ kg Gewebe ist. Der höchste TBARS-Wert war in den Leberwurst-Proben mit  $\beta$ -Extrakt und erreichte eine Konzentration von 0,453 mg MDA/ kg Gewebe. Der höchste TBARS-Wert im Schmalz wurde in der Probe mit HS03-Extrakt gemessen und lag bei 0,190 mg MDA/ kg Gewebe. Speziell für Schweineschmalz oder Leberwurst wurden keine genauen Richtwerte für die Konzentration an TBARS in der Literatur gefunden. Botsoglou *et al.* (1994) beziehen sich bei ihren Richtwerten vor allem auf frisches

Gewebe. Nach Popp (2014) sind jegliche TBARS-Konzentrationen im Bereich von 1-2 mg MDA/ kg Gewebe in Lebensmitteln sensorisch inakzeptabel. Diese Werte wurden in keiner Probe annähernd erreicht. Parallel zu der chemischen Analyse von verschiedenen Leberwurst-Proben mit und ohne Hopfenextrakt bestätigt auch Arzhang (2018) den geringen Verderb der Leberwurst in ihren umfangreichen physikalischen und mikrobiologischen Messungen nach mehrwöchiger Untersuchung. Die TBARS-Werte der Schmalz-Proben nach neunwöchiger Lagerzeit bei 4 °C waren überraschender Weise deutlich unter 1 mg MDA/ kg Gewebe, obwohl die Haltbarkeit von Schmalz nach Massholder (2018) bei kühlen Lagerbedingungen nur wenige Wochen beträgt. Trotz alldem waren leicht ranzige Aromen bei den Schmalz-Proben in den letzten Untersuchungswochen wahrnehmbar. Ähnliche Erkenntnisse schildert auch Rosenbauer (2002), nach dem zwar sensorische Mängel in den untersuchten Fleischerzeugnissen über eine bestimmte Zeit ersichtlich waren, aber die chemische Analyse keine Anzeichen für die Ranzigkeit bestätigte. In der wissenschaftlichen Arbeit von Vogel (2008) wird vor allem der antioxidative Charakter und das Potenzial der prenylierten Hopfenverbindungen (Xanthohumol) anhand der TBARS-Methode untersucht, beschrieben und näher verdeutlicht. Weiterführende TBARS-Untersuchungen mit den Extrakten der Hartharzfraktion (HS03-Extrakt) könnten die Ergebnisse von Vogel (2008) ergänzen und eventuell sogar bestätigen.

## 6 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluss von Hopfen-Extrakt-Faktionen auf die Lipid-Oxidation von Lebensmitteln zu prüfen. Auf Grundlage dieser Erkenntnisse sollte das antioxidative Potential von Hopfen-Extrakt-Faktionen beurteilt werden. Zu diesem Zweck wurden umfangreiche chemische Analysen durchgeführt.

Was das antioxidative Potential der Hopfenextrakte betrifft, konnte anhand zwei Antioxidationstests nach der DPPH- und der FRAP-Methode gezeigt werden, dass die HS01-, HS02- und HS03-Extrakte antioxidative Aktivitäten aufweisen. Die Stärke der antioxidativen Wirkung hängt allerdings vom Lösungsverhalten und der Verdünnungsstufe der Extrakte ab. Im DPPH-Test mit Methanol als Verdünnungsmittel hatte der HS01-Extrakt das höchste antioxidative Potential. Andererseits musste festgestellt werden, dass im FRAP-TEST mit wässriger Verdünnung der HS03-Extrakt über die gesamten Verdünnungsstufen hinweg die höchste antioxidative Wirkung hatte. Im Vergleich zu den kommerziell genutzten Antioxidantien

Tocopherol und Ascorbinsäure konnte beobachtet werden, dass die antioxidative Wirkung der Hopfen-Extrakt-Fraktionen um ein Vielfaches geringer ist. Der letztendliche Einfluss von Hopfen-Extrakt-Fraktionen auf die Lipid-Oxidation von Lebensmitteln wurde mit zwei weiteren chemischen Analysen geprüft. In der Messung zur Oxidationsstabilität von Fetten und Ölen mittels Rancimat-Methode ergab sich, dass in der Regel kein signifikanter Unterschied beim Einsatz von 100 ppm Hopfenextrakt in Schweineschmalz und Rapsöl ersichtlich wird. Dahingegen haben die Ascorbinsäure und das Natriumpercarbonat die Induktionszeit im Rapsöl und zum größten Teil auch in Schmalz signifikant verändert. Interessant ist auch, dass lediglich der HS03-Extrakt gegenüber allen Extrakten im Rapsöl signifikant unterschiedlich ist und sogar leicht prooxidativ wirkte. Zur weiteren Analyse zum Einfluss von Hopfenextrakten in Lebensmittel wurde ein mehrwöchiger Lagertest mit Schweineschmalz und Leberwurst ohne und mit 100 ppm Hopfenextrakten bei 4 °C Lagertemperatur durchgeführt. Dabei wurde die Konzentration an TBARS im Lebensmittel über mehrere Wochen gemessen und der oxidative Verderb anhand der TBARS-Werte dokumentiert. Parallel dazu wurden vergleichende Untersuchungen mit Schweineschmalz gleicher Charge unter Zugabe von 500 ppm Ascorbinsäure und Natriumpercarbonat praktiziert. Anhand des Lagertests mit Schmalz kann darauf geschlossen werden, dass weder Hopfenextrakte noch Antioxidantien oder Oxidantien die TBARS-Konzentration im tierischen Fett (Schmalz) signifikant beeinflussen. Dagegen ist eine zeitliche Veränderung der TBARS ersichtlich. Der Lagertest mit Leberwurst zeigte, dass der β-Extrakt die Konzentration an TBARS in der Leberwurst signifikant erhöht hat. Dahingegen verringert die Zugabe von 100 ppm HS02-Extrakt die TBARS-Konzentration signifikant. Ferner wird wieder eine Veränderung der TBARS nach fortschreitender Zeitperiode ersichtlich.

Abschließend kann festgestellt werden, dass die Hopfen-Extrakt-Fraktionen so gut wie keinen Einfluss auf die ausgewählten Fette und Öle haben, doch die Zugabe im fetthaltigen Lebensmittel mit unterschiedlicher Produktmatrix konnte die Lipid-Oxidation signifikant verändern. Trotz antioxidativer Aktivität der Hopfen-Extrakt-Fraktionen wird die Wirkung in Lebensmitteln nur teilweise erreicht. Insgesamt lässt sich hieraus der Schluss ziehen, dass zwar ein gewisses antioxidatives Potenzial in Hopfenextrakten vorhanden ist, aber der Einsatz als natürliches Antioxidans in Lebensmitteln aufgrund der Effizienz und Wirkung nur bedingt möglich ist. In ferner Zukunft könnten die Einsatzmöglichkeiten der antioxidativen Wirkung durch weiterführende Untersuchungen präzisiert werden.

## 7 Literaturverzeichnis

- Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFBG: Untersuchung von Lebensmitteln L 06.00-1:1980-09, Vorbereitung von Fleisch und Fleischerzeugnissen zur chemischen Untersuchung
- Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFBG: Untersuchung von Lebensmitteln L 13.00-7:2007-04, Tierische und pflanzliche Fette und Öle; Vorbereitung der Untersuchungsprobe (nach DIN EN ISO 661)
- Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFBG: Untersuchung von Lebensmitteln L 13.00-38:2018-06, Tierische und pflanzliche Fette und Öle; Bestimmung der Oxidationsstabilität (beschleunigter Oxidationstest) (nach DIN EN ISO 6886)
- Almomen, S. M. K.: Daily intake of grape powder protects kidney function in obese ZSF-1 rats. Masterthesis, University of British Columbia, 2017.
- Arendt, G.: Einfluss von Hopfenextraktionsfraktionen auf die mikrobiologischen und sensorischen Eigenschaften von Fleischerzeugnissen Masterthesis, Hochschule Neubrandenburg, 2017.
- Arzhang, Z.: Erforschung der Lagerfähigkeit und Haltbarkeit von Leberwurst mit Hopfeninhaltsstoffen. Masterthesis, Hochschule Neubrandenburg, 2018.
- Back, W. (Hrsg.): Ausgewählte Kapitel der Brauereitechnologie. 2. Auflage. Nürnberg: Hans Carl, 2008.
- Belitz, H.-D. , Grosch, W. , Schieberle, P.: Lehrbuch der Lebensmittelchemie. 6. Auflage. Berlin: Springer, 2007.
- Benzie, I. F. , Strain, J. J.: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239 (1996), 70-76.
- Berger, M. S.: Veränderungen ausgewählter Qualitätsparameter in Erbsen, Bohnen und Karotten während verschiedener Frische- und Tiefkühl Lagerbedingungen. Dissertation, Universität Hamburg, 2006.
- Bergmeier, S. , Biendl, M. , Lambertsen, T.: Xanthohumol: A New Perspective for Hops? *Nutraceutical Business and Technology*, 4 (2008), 05.
- Biendl, M.: Polyphenole-Pflanzeninhaltsstoffe mit Vermarktungspotential. *Hopfenrundschau International*, 2006 (2005), 22-27.
- Biendl, M. , Cocuzza, S.: Hartharze Neue Erkenntnisse über eine altbekannte Hopfenfraktion. *Hopfenrundschau International*, Jahresausgabe (2016/2017), 60-68.
- Biendl, M. , Engelhard, B. , Forster, A. , Gahr, A. , Lutz, A. , Mitter, W. , Schmidt, R. , Schönberger, C.: Hopfen Vom Anbau bis zum Bier. Nürnberg: Hans Carl, 2012.
- Biendl, M. , Pinzl, C.: Hops and health. *Master Brewers Association of the Americas Technical Quarterly*, 46 (2009), 1-7.
- Botsoglou, N. A. , Fletouris, D. J. , Papageorgiou, G. E. , Vassilopoulos, V. N. , Mantis, A. J. , Trakatellis, A. G.: Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42 (1994), 1931-1937.
- Brand-Williams, W. , Cuvelier, M.-E. , Berset, C.: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28 (1995), 25-30.
- Brus, M.: Revision des HACCP – Konzeptes der Firma Torney Landfleischerei Priesleben GmbH, insbesondere bezüglich der Erweiterung der Betriebsräume. Bachelorthesis, Hochschule Neubrandenburg, 2015.

- de la Presa-Owens, S. , Lopez-Sabater, M. C. , Rivero-Urgell, M.: Shelf-life prediction of an infant formula using an accelerated stability test (Rancimat). *Journal of agricultural and food chemistry*, 43 (1995), 2879-2882.
- Doberstein, M. , Dederer, I. , Troeger, K.: Untersuchung antioxidativer und konservierender Wirkung von Gewürzextrakten in Kochpökelwaren. *Mitteilungsblatt Fleischforschung Kulmbach*, 51 (2012), 33-42.
- Ebermann, R. , Elmada, I.: *Lehrbuch Lebensmittelchemie und Ernährung*. 2. Auflage. Wien: Springer, 2011.
- Farhoosh, R.: The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84 (2007), 205-209.
- Farhoosh, R. , Hoseini-Yazdi, S.-Z.: Evolution of oxidative values during kinetic studies on olive oil oxidation in the Rancimat test. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91 (2014), 281-293.
- Frede, W.: *Handbuch für Lebensmittelchemiker: Lebensmittel–Bedarfsgegenstände–Kosmetika–Futtermittel*. Berlin: Springer-Verlag, 2010.
- Ganske, A.: Analyse der Oxidationsstabilität von Fleischprodukten unter Einwirkung von Hopfenextrakten. *Bachelorthesis*, Hochschule Neubrandenburg, 2017a.
- Ganske, A.: Analysis of the antioxidativ effects of Hop-Extract-Fractions. *Masterproject*, Hochschule Neubrandenburg, 2017b.
- Gehrke, G.: Erweiterung und Revision des HACCP-Konzeptes eines fleischverarbeitenden Betriebes. *Bachelorthesis*, Hochschule Neubrandenburg, 2015.
- Gerhäuser, C.: Schach dem Krebs? *Aktuelle Ernährungsmedizin*, 36 (2011), 18-22.
- Hadorn, H. , Zurcher, K.: Zur bestimmung der oxydationsstabilität von olen und fetten. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 70 (1974), 57 - 65.
- Hartl, B.: Evaluierung der phenolischen Inhaltsstoffe und der antioxidativen Aktivität von Weintraubentrester,-kernen und -schalen der Sorte Uhudler. *Diplomarbeit*, Universität Wien, 2009.
- Helmholtz, D.: Produktentwicklung und sensorische Bewertung von Fleischerzeugnissen unter Verwendung von Hopfen und Hopfenextrakten mit geeigneter Schnell-Analytik. *Masterthesis*, Hochschule Neubrandenburg, 2016.
- Heyse, K.-U. (Hrsg.): *Handbuch der Brauerei-Praxis*. 3. Auflage. Nürnberg: Hans Carl, 1995.
- Hopp, V.: *Chemische Kreisläufe in der Natur Chemie – Biologie – Energetik*. Berlin: Springer, 2018.
- Hüthmayr, A.: Evaluierung der phenolischen Inhaltsstoffe und der antioxidativen Aktivität von Weintraubentrester. *Diplomarbeit*, Universität Wien, 2012.
- Jeannin, J.-M.: Genussmittel und Ganzheitsmedizin (2) Bier. *Schweizerische Zeitschrift für Ganzheitsmedizin*, 24 (2012), 79–80.
- Kammhuber, K.: Differenzierung des Welthopfensortiments nach Bitterstoffen und Polypheolen. *Hopfenrundschau International*, Jahresausgabe (2005/2006), 42-46.
- Kishida, E. , Tokumaru, S. , Ishitani, Y. , Yamamoto, M. , Oribe, M. , Iguchi, H. , Kojo, S.: Comparison of the formation of malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactive substances from autoxidized fatty acids based on oxygen consumption. *Journal of agricultural and food chemistry*, 41 (1993), 1598-1600.
- Klien, U.: Zur Ursache des Verderbs von Schokoladen – Toffees aus konventionellem bzw. biologischem Anbau. *Diplomarbeit*, Hochschule Neubrandenburg, 2008.
- Krist, S. , Buchbauer, G. , Klausberger, C.: *Lexikon der pflanzlichen Fette und Öle*. Wien: Springer, 2008.

- Kunze, W.: Technologie Brauer und Mälzer. 10. Auflage. Berlin: VLB, 2011.
- Latscha, H. P. , Kazmaier, U. , Klein, H. A.: Organische Chemie Chemie-Basiswissen II. 7. Auflage. Berlin: Springer, 2015.
- Magalhães, P. J. , Vieira, J. S. , Gonçalves, L. M. , Pacheco, J. G. , Guido, L. F. , Barros, A. A.: Isolation of phenolic compounds from hop extracts using polyvinylpolypyrrolidone: Characterization by high-performance liquid chromatography–diode array detection–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography A*, 1217 (2010), 3258-3268.
- Massholder, F.: Schlachtfette. verfügbar unter:  
<https://www.lebensmittellexikon.de/sch00200.php>. letzte Aktualisierung: 09.06.14;  
Abrufdatum: 10.10.18
- Matissek, R. , Baltes, W.: Lebensmittelchemie. 8. Auflage. Berlin: Springer, 2015.
- Metrohm, A.: before ... Determining the oxidation stability of fats and oils using the Rancimat method. Metrohm information book, 1 (2015), 26-29.
- Müller, L.: Optimierung von Methoden zur Ermittlung der lipophilen antioxidativen Aktivität und deren Anwendung auf Lykopin-Isomere und Lykopin-Abbauprodukte. Dissertation, Friedrich-Schiller-Universität Jena, 2011.
- Münch, S.: Chemie von Fetten und Fettbegleitstoffen. Mitteilungsblatt Bundesanstalt für Fleischforschung, 162 (2003), 329-338.
- Narziß, L. , Back, W. , Gastl, M. , Zarnkow, M.: Abriss der Bierbrauerei. 8. Auflage. Weinheim: Wiley, 2017.
- Olbrich, D.: Separation of ingredients from hops and testing the antimicrobial effect, development of new meat based products. Masterproject, Hochschule Neubrandenburg, 2016.
- Paschke, M.: Vergleich von Labormethoden zur Messung des antioxidativen Potentials von Pflanzenteilen. Masterthesis, Hochschule Neubrandenburg, 2012.
- Pedan, V.: Charakterisierung von oligomeren Kakao-Proanthocyanidinen: Extraktion und chromatographische Trennung mit simultaner Bestimmung der antioxidativen Kapazität. Dissertation, Universität Hamburg, 2017.
- Piendl, A. , Biendl, M.: Über die physiologische Bedeutung der Polyphenole und Hopfenbitterstoffe des Bieres. *Brauwelt*, 140 (2000), 526-526.
- Popp, J.: Herstellung von Rohwürsten aus Fleisch von Mastputen und Schweinen mit Farbunterschieden und Einfluss der Fleischfarbe auf Haltbarkeits- und Beschaffenheitsparameter der Würste. Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover, 2014.
- Popernitsch, M. B.: In vitro Verdau als Modell zur Erfassung der antioxidativen Aktivität getreidehaltiger Lebensmittel. Diplomarbeit, Universität Wien, 2009.
- Rabe, H.-J. , Horst, M. (Hrsg.): Texte zum Lebensmittelrecht. 4. Auflage. Hamburg: Behrs's, 2015.
- Rathjen, T.: Einflußfaktoren auf die antioxidative Wirkung von natürlichen Antioxidantien in fettreichen Lebensmitteln. Dissertation, Universität Hamburg, 1998.
- Rosenbauer, H.: Untersuchungen zur Ermittlung des Einflusses unterschiedlicher Dosierungen von DL-a-Tocopherolacetat beim Mastschwein auf die Qualität daraus gewonnener Lebensmittel. Dissertation, Martin Luther-Universität Halle–Wittenberg, 2002.
- Schmeinck, G.: Methoden zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität in Bezug auf einzelne reaktive Sauerstoffspezies unter besonderer Berücksichtigung von Wasserstoffperoxid. Dissertation, Universität Hamburg, 2007.

- Schuster, K. , Weinfurtner, R. , Narziss, L.: Die Bierbrauerei Die Technologie der Würzebereitung. 2. Band. 6. Auflage. Stuttgart: Ferdinand Enke, 1992.
- Thiel, P.: Einfluss von Hopfenextraktionsfraktionen auf die physikalisch-chemischen Eigenschaften von Fleischerzeugnissen. Masterthesis, Hochschule Neubrandenburg, 2017.
- Unger, M.: Pflanzliche Sedativa: Neue Aspekte zu altbewährten Arzneipflanzen. Pharmazie in unserer Zeit, 36 (2007), 206-212.
- Villalobos-Delgado, L. H. , Caro, I. , Blanco, C. , Bodas, R. , Andrés, S. , Giráldez, F. J. , Mateo, J.: Effect of the addition of hop (infusion or powder) on the oxidative stability of lean lamb patties during storage. Small Ruminant Research, 125 (2015), 73-80.
- Vogel, S.: Synthese prenylierter Chalkone aus Hopfen und Bestimmung ihrer cytotoxischen und antioxidativen Aktivität. Dissertation, Universität Regensburg, 2008.
- Wichtl, M.: Hopfen (*Humulus lupulus*): Ein nach wie vor wichtiger Bestandteil pflanzlicher Sedativa. Schweizerische Zeitschrift für Ganzheitsmedizin, 17 (2005), 95-99.
- Wilhelm, W.: Charakterisierung qualitativer und quantitativer Unterschiede in wertgebenden Geruchstoffen verschiedener Hopfenspezies. Dissertation, Technische Universität München, 2013.
- Wingender, J. , Stamm, M.: Hopfen. verfügbar unter:  
<https://roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-08-01798>. letzte Aktualisierung: Dezember 2015; Abrufdatum: 22.08.2018

## 8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: schematischer Aufbau einer Hopfendolde (Thiel, 2017) .....	3
Abbildung 2: durchschnittliche charakteristische Zusammensetzung getrockneter Hopfendolden verschiedener Sorten (Wingender und Stamm, 2015) .....	4
Abbildung 3: schematische Einteilung der wichtigsten Sekundärmetaboliten der Hopfendolde (Wingender und Stamm, 2015) .....	5
Abbildung 4: chemische Struktur der $\alpha$ -, $\beta$ - und Iso- $\alpha$ -Säuren des Hopfens (Biendl et al., 2012) .....	7
Abbildung 5: systematische Einteilung der Hopfenpolyphenole (Kunze, 2011) .....	10
Abbildung 6: systematische Einteilung der Hopfenprodukte (Back, 2008) .....	12
Abbildung 7: prozentualer Anteil von Hopfenprodukten auf dem Weltmarkt im Jahr 2010 (nach Biendl et al., 2012) .....	13
Abbildung 8: Autooxidation eines Fettes (Matissek und Baltes, 2015) .....	19
Abbildung 9: die Autooxidation als charakteristische Radikalkettenreaktion (Matissek und Baltes, 2015) .....	20
Abbildung 10: Reaktion von DPPH in Anwesenheit eines Antioxidans (nach Pedan, 2017) .....	24
Abbildung 11: Reduktion der Eisen(III)-TPTZ-Komplexes durch Antioxidantien im FRAP-Test (Paschke, 2012) .....	25
Abbildung 12: Chemische Reaktion zwischen TBA und MDA (Thiel, 2017) .....	26
Abbildung 13: schematischer Aufbau der Rancimat-Methode (§ 64 LFGB: L 13.00-38, 2018) .....	27
Abbildung 14: Fließdiagramm von der Kochwursterstellung (Gehrke, 2015) .....	34
Abbildung 15: arithmetisches Mittel der antioxidativen Aktivität von HS01-Extrakt, HS02-Extrakt und HS03-Extrakt bei unterschiedlichen Verdünnungsstufen (1:4; 1:8; 1:10; 1:20), Tocopherol (1:2000) und Ascorbinsäure (1:400) als Positivkontrollen, n = 2 .....	44
Abbildung 16: prozentuale Abnahme der DPPH-Konzentration unter Verwendung von HS01-Extrakt, HS02-Extrakt und HS03-Extrakt bei unterschiedlichen Verdünnungsstufen (1:4; 1:8; 1:10; 1:20), Tocopherol (1:2000) und Ascorbinsäure (1:400) als Positivkontrollen, n = 2 .....	45
Abbildung 17: arithmetisches Mittel der antioxidativen Kapazität von HS01-Extrakt, HS02-Extrakt und HS03-Extrakt bei verschiedenen Verdünnungsstufen (1:50; 1:500; 1:5000; 1:10000) entsprechend der antioxidativen Wirkung von Ascorbinsäure, n = 2 .....	46

Abbildung 18: arithmetisches Mittel der Induktionszeit von Rapsöl-Proben ohne und mit 0,01 % HS01-Extrakt, 0,01 % HS02-Extrakt, 0,01 % HS03-Extrakt, 0,05 % Ascorbinsäure als Positivkontrolle und 0,05 % Natriumpercarbonat als Negativkontrolle, n = 4 .....	47
Abbildung 19: arithmetisches Mittel der Schmalz-Proben ohne und mit 0,01 % HS01-Extrakt, 0,01 % HS02-Extrakt, 0,01 % HS03-Extrakt, 0,05 % Ascorbinsäure als Positivkontrolle und 0,05 % Natriumpercarbonat als Negativkontrolle, n = 4 .....	48
Abbildung 20: arithmetisches Mittel der TBARS-Werte von Schmalz-Proben ohne und mit 0,01 % HS01-Extrakt und 0,01 % HS02-Extrakt, 0,05 % Ascorbinsäure als Positivkontrolle und 0,05 % Natriumpercarbonat als Negativkontrolle im Zeitraum von 9 Wochen, n = 2 .....	50
Abbildung 21: arithmetisches Mittel der TBARS-Werte von Schmalz-Proben ohne und mit 0,01 % HS03-Extrakt und 0,01 % $\beta$ -Extrakt, 0,05 % Ascorbinsäure als Positivkontrolle und 0,05 % Natriumpercarbonat als Negativkontrolle im Zeitraum von 9 Wochen, n = 2 .....	51
Abbildung 22: arithmetisches Mittel der TBARS-Werte von Leberwurst-Proben ohne und mit 0,01 % HS02-Extrakt und 0,01 % $\beta$ -Extrakt im Zeitraum von 8 Wochen, n = 2.....	52

## 9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: sortenbedingte Schwankungsbreite der Hopfenharze in den getrockneten Hopfendolden (nach Biendl et al., 2012) .....	6
Tabelle 2: relative Anteile von chemischen Verbindungen im Hopfenöl frisch geernteter Hopfendolden (nach Biendl et al., 2012) .....	8
Tabelle 3: maximaler Gehalt an ausgewählten spezifischen Polyphenolen in der getrockneten Hopfendolde (nach Biendl et al., 2012) .....	11
Tabelle 4: Einteilung der Lipide (Latscha et al., 2015) .....	16
Tabelle 5: in tierischen und pflanzlichen Lipiden relevante Fettsäuren (Latscha et al., 2015)....	17
Tabelle 6: primäre und sekundäre Antioxidantien (Krist et al., 2008) .....	22
Tabelle 7: Versuchsplan für die chemischen Untersuchungen.....	28
Tabelle 8: verwendete Laborgeräte .....	29
Tabelle 9: verwendete Verbrauchsmaterialien.....	30
Tabelle 10: verwendete Chemikalien.....	31
Tabelle 11: Herstellung der DPPH-Standardlösungen für die Kalibrationsgerade (Poppernitsch, 2009; Magalhães et al., 2010) .....	36

Tabelle 12: Herstellung der Extrakt-Verdünnungsreihe für den DPPH-Test (Popernitsch, 2009; Magalhães et al., 2010) .....	36
Tabelle 13: Erstellung der Kalibiergerade im FRAP-Test (Berger, 2006; Hartl, 2009).....	39
Tabelle 14: Herstellung der Standardlösungen für die Bestimmung der TBARS (Botsoglou et al., 1994).....	41

## 10 Verzeichnis der Formeln

Formel 1: Regressionsgleichung.....	37
Formel 2: TBARS-Wert.....	42

## 11 Verzeichnis der Anlagen

Anlage 1: prozentuale Zusammensetzung der Fettsäuren von einigen wesentlichen pflanzlichen Fetten (Matissek und Baltes, 2015) .....	68
Anlage 2: prozentuale Zusammensetzung der Fettsäuren von einigen wesentlichen tierischen Fetten (Matissek und Baltes, 2015) .....	69
Anlage 3: L 06.00-1 nach § 64 LFGB .....	70
Anlage 4: L 13.00-7 nach § 64 LFGB .....	72
Anlage 5: DPPH-Test nach Popernitsch (2009) .....	75
Anlage 6: FRAP-Test nach Berger (2006).....	76
Anlage 7: Bestimmung der TBARS nach Botsoglou <i>et al.</i> (1994) .....	77
Anlage 8: Ergebnisse des DPPH-Tests .....	80
Anlage 9: Ergebnisse des FRAP-Tests .....	86
Anlage 10: Ergebnisse zur Bestimmung der Oxidationsstabilität von Rapsöl-Proben.....	89
Anlage 11: Ergebnisse zur Bestimmung der Oxidationsstabilität von Schmalz-Proben .....	91
Anlage 12: Ergebnisse zur Bestimmung der TBARS im Schmalz .....	93
Anlage 13: Ergebnisse zur Bestimmung der TBARS in der Leberwurst.....	105

Anlage 1: prozentuale Zusammensetzung der Fettsäuren von einigen wesentlichen pflanzlichen Fetten (Matissek und Baltes, 2015)

	Kokosfett	Olivenöl	Sojaöl	Rapsöl
Capronsäure	<0,8			
Caprylsäure	7,8–9,5			
Caprinsäure	4,5–9,7			
Laurinsäure	44–51			
Myristinsäure	13–18,5	<1,3	<0,4	
Palmitinsäure	7,5–10,5	7–16	2,3–10,6	3,2–5
Stearinsäure	1–3	1,4–3,3	2,4–6	1–2,5
Ölsäure	5–8,2	64,5–84,5	23,5–30,8	52,6–63,2
Linolsäure	1–2,6	4–15	49–51	20,7–28,1
Linolensäure			2–10,5	10,1–15,5
Arachinsäure			<0,5	
Erucasäure				<1,7
Schmelzpunkt ca.	20 bis 28 °C	–5 bis –9 °C	–7 bis –8 °C	0 °C
Leerstelle: unbedeutender Gehalt				

Anlage 2: prozentuale Zusammensetzung der Fettsäuren von einigen wesentlichen tierischen Fetten (Matissek und Baltes, 2015)

	Butterfett	Schweinefett	Rindertalg
Buttersäure	3,5–4,0		
Capronsäure	1,5–2,0		
Caprylsäure	1,0–1,7		
Caprinsäure	1,9–2,6		
Laurinsäure	2,5–4,5		
Myristinsäure	8–14,6	0,5–2,7	2–6
Palmitinsäure	26–30	19,1–30,5	25–37
Stearinsäure	9–10,5	4,8–22,9	15–30
Ölsäure	19–33	19,2–59,3	28–45
Linolsäure	2,1–3,7	2,8–15,4	2–3
Schmelzpunkt ca.	28 bis 38 °C	26 bis 39 °C	45 bis 50 °C
Leerstelle: unbedeutender Gehalt			

## Anlage 3: L 06.00-1 nach § 64 LFGB

September 1980

Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG		
<b>L</b>	<b>Untersuchung von Lebensmitteln Vorbereitung von Fleisch und Fleischerzeugnissen zur chemischen Untersuchung</b>	<b>06.00</b> <b>1</b>

**1 Zweck und Anwendungsbereich**

Diese amtliche Methode beschreibt die Probenvorbereitung und -zerkleinerung zum Zweck der Homogenisierung von Fleisch und Fleischerzeugnissen sowie deren Aufbewahrung.

**2 Begriff**

Unter Homogenisierung wird die gleichmäßige Verteilung aller Bestandteile einer Probe verstanden.

**3 Kurzbeschreibung**

Die Proben werden mechanisch durch eine ihrer Eigenart angepaßte Verfahrensweise homogenisiert.

**4 Chemikalien**

(werden nicht benötigt)

**5 Geräte und Hilfsmittel**

## 5.1 Scharfes Fleischermesser mit breiter Klinge

## 5.2 Schneidebrett

## 5.3 Mechanisches Zerkleinerungsgerät mit hochtourig laufenden, horizontal angeordneten Messern, die eine schneidende Zerkleinerung bewirken.

## 5.4 Fleischwolf mit Lochscheiben, Lochdurchmesser von 2,5 bis 4,5 mm

## 5.5 Probenbehälter, der Probenmenge angepaßt, dicht verschließbar

**6 Probenahme**

## 6.1 Probenahme-Prüfpläne

(liegen im Rahmen der amtlichen Sammlung z. Z. noch nicht vor)

**6.2 Probenahme-Technik**

Zur Verpackung der Proben soll fettabweisendes und wasserdichtes Material, z. B. Kunststoff-Folienbeutel, verwendet werden. Im übrigen ist die Probe fachgerecht so zu befördern und zu lagern, daß ihre Beschaffenheit zum Zeitpunkt der Probenentnahme erhalten bleibt.

Für die Probenvorbereitung zur Untersuchung sind 300 g Probenmaterial in der Regel ausreichend. Sondervorschriften bleiben hiervon unberührt.

**7 Durchführung**

## 7.1 Allgemeines zur Probenvorbereitung

Vorschriften zur sensorischen Untersuchung und Identitätssicherung der Proben, z. B. über die Aufbewahrung von Verpackungs-, Etikettierungs- und Umhüllungsmaterial, bleiben unberührt.

## 7.1.1 Behandlung der Proben vor der Zerkleinerung

Hüllen sind, soweit möglich, zu entfernen.

## 7.1.2 Probenzerkleinerung

Eine merkliche Erwärmung der Proben während der Zerkleinerung und Homogenisierung ist zu vermeiden. Ausgetretenes Wasser, abgesetztes Fett und Gallerte werden beim Homogenisieren hinzugefügt.

## 7.1.3 Behandlung der Proben nach der Zerkleinerung

Das Homogenisat ist randvoll in die Probenbehälter einzufüllen und so zu lagern, daß Verderb und Veränderung seiner Zusammensetzung verhindert werden. Die Probenwaage ist der Homogenisierung möglichst direkt anzuschließen. Soweit dies nicht möglich ist, ist das homogenisierte Probenmaterial vor der Einwaage sorgfältig durchzumischen.

## 7.2 Rohes Fleisch, gegartes Fleisch, Roh- und Kochpökelpreßwaren sowie schnittfeste Rohwürste

Knochenteile sind vor der Zerkleinerung sorgfältig auszulösen, anhaftende Schwarze ist zu entfernen. Das Probenmaterial wird auf Stücke von etwa 1 cm Kantenlänge vorgeschnitten, die Feinzerkleinerung erfolgt in einem Gerät nach 5.3 oder 5.4. Das zerkleinerte Material ist sorgfältig durchzumischen. Das gilt besonders für rohes Fleisch, das gegebenenfalls vor der Zerkleinerung einzufrieren ist.

Seite 2 September 1980 L 06.00-1

Amtl. Sammlung § 35 LMBG

**7.3 Brühwürste, in kaltem Zustand schnittfeste Kochwürste mit und ohne grobe Einlagen**

**7.3.1 Erzeugnisse mit groben Einlagen**

Fleischfremde Einlagen, wie z. B. Eier, Käse, Pilze, Gemüse u. a., sind vor der Zerkleinerung soweit wie möglich sorgfältig zu entfernen.

Grobe Fleischeinlagen werden, soweit es das Untersuchungsziel erfordert, herauspräpariert und nach der Gewichtsüberprüfung dem Gesamtmaterial vor der Zerkleinerung wieder beigefügt.

Um Wasserverluste zu vermeiden, ist die Präparation unverzüglich und zügig durchzuführen. Diese Art der Behandlung ist im Protokoll anzugeben.

Danach wird wie unter 7.2 beschrieben weiterverfahren.

**7.3.2 Erzeugnisse ohne grobe Einlagen**

Die Zerkleinerung und Homogenisierung erfolgt unter Berücksichtigung der später anzuwendenden Untersuchungsmethode wie unter 7.2 beschrieben.

**7.4 Streichfähige Roh- und Kochwürste**

Gegebenenfalls ist die Probe vor der Zerkleinerung und Homogenisierung auf + 4 bis + 8°C zu kühlen. Die Zerkleinerung erfolgt wie unter 7.2 beschrieben. Bei feinstzerkleinerten Proben genügt ein sorgfältiges Durchmischen bei Zimmertemperatur.

**7.5 Erzeugnisse wie Frikadellen, Bouletten, Fleischklöße, Fleischfüllungen u. ä.**

Je nach Untersuchungsziel können Bratkrusten vor der Zerkleinerung und Homogenisierung entfernt werden. Die jeweilige Verfahrensweise ist im Untersuchungsbericht zu vermerken. Im übrigen wird wie unter 7.2 beschrieben verfahren.

**8 Auswertung**

(entfällt)

**9 Untersuchungsbericht**

(entfällt, siehe dazu Abschnitt 9 der jeweiligen Methodenbeschreibung)

**10 Erläuterungen und Hinweise**

Auf die im Rahmen der „Anleitung zur Abfassung der Methoden“ im einleitenden Teil der amtlichen Sammlung gegebenen allgemeinen Erläuterungen wird verwiesen.

Diese amtliche Methode wurde von den Arbeitsgruppen „Fleischerzeugnisse I und II“ der Kommission des Bundesgesundheitsamtes zur Durchführung des § 35 LMBG erarbeitet.

Treten bei der Zerkleinerung Schwierigkeiten auf, die eine von dieser Vorschrift abweichende Behandlung erfordern, so ist dies im Untersuchungsbericht zu vermerken.

## Anlage 4: L 13.00-7 nach § 64 LFGB

April 2007

Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB		
<b>L</b>	<b>Untersuchung von Lebensmitteln</b> Tierische und pflanzliche <b>Fette und Öle</b> Vorbereitung der Untersuchungsprobe (Übernahme der gleichlautenden Norm DIN EN ISO 661, Ausgabe November 2005)	<b>13.00</b>
		<b>7</b>

**Nationales Vorwort**

Diese Europäische Norm enthält unverändert die Internationale Norm ISO 661:2003, die vom Unterkomitee SC 11 „Tierische und pflanzliche Fette und Öle“ (Sekretariat: BSI, Vereinigtes Königreich) des Technischen Komitees ISO/TC 34 „Lebensmittelprodukte“ (Sekretariat: MSZT, Ungarn) erarbeitet wurde.

Die Mitarbeit des DIN beim Europäischen Komitee für Normung (CEN) wird für den Bereich des CEN/TC 307 (Sekretariat: AFNOR, Frankreich) über den „Gemeinschaftsausschuss für die Analytik von Fetten, Ölen, Fettprodukten, verwandten Stoffen und Rohstoffen“ (GA Fett) der Deutschen Gesellschaft für Fettwissenschaft (DGF) und des Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) wahrgenommen.

## Deutsche Fassung

### 1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt Verfahren für die Vorbereitung einer Untersuchungsprobe aus einer Laboratoriumsprobe von tierischen und pflanzlichen Fetten und Ölen zur Durchführung von Analysen fest.

Das Verfahren ist nicht für emulgierte Fette wie Butter, Margarine oder Mayonnaise anwendbar.

### 2 Kurzbeschreibung

Die Fettsubstanz wird durchmischt, erforderlichenfalls unter Erwärmung auf eine geeignete Temperatur. Falls erforderlich, werden unlösliche Substanzen durch Filtrieren abgetrennt und Wasser durch Trocknen mit wasserfreiem Natriumsulfat entfernt.

### 3 Reagens

3.1 Natriumsulfat, wasserfrei.

### 4 Prüfeinrichtung

4.1 Elektrischer Trockenschrank mit Temperaturregelung.

4.2 Heizbarer Filtertrichter.

### 5 Durchführung

#### 5.1 Mischen und Filtrieren

##### 5.1.1 Flüssige Probe, klar und ohne Sediment

Durch Schütteln des verschlossenen Behälters ist sicherzustellen, dass die Laboratoriumsprobe so homogen wie möglich ist.

##### 5.1.2 Flüssige Probe, trübe oder mit Sediment

###### 5.1.2.1 Zur Bestimmung von

- Feuchtigkeit und flüchtigen Bestandteilen,
- unlöslichen Verunreinigungen,
- der Masse je Volumeneinheit und/oder
- für alle sonstigen Bestimmungen, bei denen die Verwendung ungefilterter Proben erforderlich ist oder bei denen die Bestimmung durch Wärme beeinträchtigt wird,

wird wie folgt vorgegangen:

Das (die Laboratoriumsprobe enthaltende) Gefäß wird kräftig geschüttelt, bis sich das Sediment vollständig von den Gefäßwänden abgelöst hat. Die Probe wird sofort in ein anderes Gefäß überführt, und es wird überprüft, dass kein Sediment an den Wänden des ursprünglichen Gefäßes haften geblieben ist, ist dies der Fall, wird es vollständig entfernt (falls erforderlich, durch Aufschneiden des Gefäßes) und der Probe hinzugefügt.

**5.1.2.2** Für alle anderen Bestimmungen wird das die Laboratoriumsprobe enthaltende Gefäß in den auf 50 °C eingestellten Trockenschrank (4.1) gebracht und dort belassen, bis die Probe diese Temperatur erreicht hat, und dann weiter nach 5.1.1 vorgegangen. Wenn die Probe nach dem Erwärmen und Mischen nicht vollständig klar ist, wird das Öl filtriert, wobei dieser Arbeitsgang in dem auf 50 °C eingestellten Trockenschrank oder mit Hilfe des heizbaren Filtertrichters (4.2) erfolgt. Die Probe wird nicht länger als erforderlich im Trockenschrank belassen, um jede Veränderung der Fettsubstanz durch Oxidation oder Polymerisation zu verhindern. Das Filtrat muss vollständig klar sein.

### 5.1.3 Feste Probe

**5.1.3.1** Für die in a) bis d) von 5.1.2.1 festgelegten Bestimmungen wird die Laboratoriumsprobe vorsichtig erwärmt, bis sie gerade mischbar ist, und gründlich durchmischt, um eine möglichst homogene Probe zu erhalten.

**5.1.3.2** Für alle anderen Bestimmungen wird die Laboratoriumsprobe im Trockenschrank (4.1) geschmolzen, der auf eine Temperatur von mindestens 10 °C über der Schmelztemperatur des betreffenden Fettes oder Öles eingestellt ist. Wenn die Probe nach dem Erwärmen vollständig klar ist, wird nach 5.1.1 vorgegangen. Wenn sie trübe ist oder Sediment enthält, wird sie bei der gewählten Temperatur filtriert, entweder im Trockenschrank oder mit Hilfe des heizbaren Filtertrichters (4.2). Das Filtrat muss vollständig klar sein.

## 5.2 Trocknung

Falls die durchmischte Probe noch Feuchtigkeit enthält (besonders im Fall von säurehaltigen Ölen, Fettsäuren und festen Fetten), muss sie für Bestimmungen, bei denen die Ergebnisse durch die Gegenwart von Feuchtigkeit beeinträchtigt werden können (zum Beispiel die Iodzahl), getrocknet werden, wobei alle erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen durchzuführen sind, um ihre Oxidation zu verhindern. Zu diesem Zweck wird ein Teil der gründlich durchmischten Probe (siehe 5.1.1, 5.1.2.2 bzw. 5.1.3.2) möglichst kurze Zeit bei einer Temperatur von 10 °C über der Schmelztemperatur im Trockenschrank (4.1) belassen, vorzugsweise unter Stickstoff, nachdem wasserfreies Natriumsulfat (3.1) im Verhältnis von 1 g bis 2 g je 10 g Öl oder Fett zugegeben wurde. Die Trocknungstemperatur darf nie 50 °C überschreiten.

Natriumsulfat verliert seine Eigenschaft, als Trockennmittel zu wirken, bei Temperaturen über 32.4 °C. Es kann deshalb erforderlich sein, unter Vakuum zu trocknen. Die Fette, bei denen eine Trocknungstemperatur über 50 °C erforderlich wäre, sollten in einem Lösungsmittel gelöst und dann getrocknet werden.

Die erwärmte Probe mit dem wasserfreien Natriumsulfat wird kräftig durchgerührt und dann filtriert. Falls das Fett oder Öl beim Abkühlen fest wird, erfolgt die Filtration im Trockenschrank (4.1) oder mit Hilfe des heizbaren Filtertrichters (4.2) bei einer geeigneten Temperatur, die 50 °C nie überschreiten darf.

## 6 Lagerung

Proben sollten unter Bedingungen gelagert werden, die für die Art der Probe und die durchzuführenden Untersuchungen geeignet sind.

## Anlage 5: DPPH-Test nach Popernitsch (2009)

<b>Volumen</b>	<b>Reagenzien</b>	<b>Arbeitsschritt</b>
1,5 ml	DPPH-Arbeitslösung	in 2 ml Eppendorf-Reaktionsgefäß vorlegen
0,300 ml	Probenextrakt	hinzufügen, am Vortexmixer durchmischen
		40 min inkubieren im Dunklen
		Farbumschlag von violett zu rosa
		in Makroküvetten überführen
		im Photometer bei 515 nm messen

## Anlage 6: FRAP-Test nach Berger (2006)

## 9.7.2. Bestimmung mittels FRAP-Test

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

## Arbeitsanweisung FRAP

## Lösungen:

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

Tab. 35: Pipettierschema - FRAP

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

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

Anlage 7: Bestimmung der TBARS nach Botsoglou *et al.* (1994)

## **Die Bestimmung des Gehaltes an Thiobarbitursäure reaktiven Substanzen (TBARS) in Fleisch und Fleischerzeugnissen**

### **Prinzip**

Unter den Thiobarbitursäure reaktiven Substanzen (TBARS) wird der Gehalt an Malondialdehyd (MDA) in Gewebe verstanden.

Das Prinzip dieser Methode beruht darauf, dass die Aldehyde aus dem Fettabbau mit 2-Thiobarbitursäure zu einem roten Farbkomplex umgesetzt werden und dessen Farbintensität in Anlehnung an die Methode von BOTSOGLOU *et al.* (1994) bei 532 nm photometrisch bestimmt wird. Da der Malondialdehyd (MDA) das Hauptoxidationsprodukt der Polyensäuren ist, wird das Ergebnis in mg Malondialdehyd je kg Gewebe angegeben.

### **Chemikalien**

1. Tetraethoxypropan (TEP) 100 %ig
2. Salzsäure, 0,1 mol/l
3. Trichloressigsäure (TCE), 5 %ig
4. Butylhydroxytoluol-Lösung (BHT) (ca. 0,8 %ig in n-Hexan) 5,32 g/1000 ml n-Hexan ( $\phi = 0,66$ )
5. 2-Thiobarbitursäure-Lösung (TBA), 0,6 %ig
6. **Malondialdehyd-Vergleichs-Lösungen**

#### **Malondialdehyd-Stammlösung, c = 239,42 mg MDA/l**

Herstellung: Genau 73,2 mg Tetraethoxypropan (TEP) werden in ein Schraubkappengläschen eingewogen, mit 10 ml Salzsäure (0,1 mol/l) versetzt, anschließend luftdicht verschlossen, 5 min in ein siedendes Wasserbad getaucht und danach unter Leitungswasser abgekühlt.

Die in dieser Form hydrolysierte TEP-Lösung wird in einen 100 ml Messkolben überführt und mit destilliertem Wasser aufgefüllt. In der so hergestellten Stammlösung liegt Malondialdehyd (MDA) in der Konzentration 239 µg/ml vor.

#### **Verdünnte Malondialdehyd-Stamm(Arbeits)-Lösung, c = 4,788 mg/l**

Aus der Stammlösung wird eine verdünnte Stammlösung von 0,48 µg/ml MDA hergestellt, indem 0,2 ml der Stammlösung in einen anderen 100 ml-Messkolben pipettiert und mit Wasser aufgefüllt wird.

### **Geräte und Hilfsmittel**

- A** Schraubkappengläschen, 5 - 10 ml
- B** Messkolben, 100 ml

- C** Küvetten, 1 cm, aus Kunststoff oder Glas
- D** Spektralphotometer
- E** Ultra-Turrax
- F** Zentrifugenbecher, 50 ml
- G** Pipetten
- H** Wasserbad
- I** Trichter, Faltenfilter

### Durchführung

#### Extraktion und Aufbereitung der Probe

In einen 50 ml Zentrifugenbecher werden für die unterschiedlichen Proben folgende Mengen Proben-Homogenat eingewogen: 5 g Muskelgewebe bzw. 2 g Fettgewebe und Fleischerzeugnisse zwischen 1 bis 3 g. Danach erfolgt die Zugabe von 10 ml der 5 %igen Trichloressigsäurelösung (TCE) und 5 ml einer BHT-Lösung. Der Inhalt des Bechers wird 30 Sekunden mit dem Ultra-Turrax homogenisiert, 10 Minuten bei 10000 U/min zentrifugiert und der Überstand (n-Hexan) verworfen. Die untere wässrige Phase wird durch ein Faltenfilter filtriert. Vom Filtrat wird ein 2,5 ml-Aliquot in ein Schraubkappengläschen überführt und dazu 1,5 ml der 0,6 %igen 2-Thiobarbitursäurelösung (TBA) gegeben. Das Gefäß wird luftdicht verschlossen und kurz geschüttelt. Nach Inkubation über 30 Minuten bei 70 °C im Wasserbad wird das Glas unter fließendem Wasser abgekühlt.

#### Erstellen der Eichgerade (Beispiel)

Zur Herstellung der Standardlösungen werden Aliquotanteile der Arbeitslösung entsprechend folgendem Schema in Schraubkappengläschen pipettiert und mit 5 %iger TCE-Lösung bis zu einem Volumen von 2,5 ml aufgefüllt:

MDA	[µg]	-	0,024	0,048	0,096	0,192	0,288	0,384	0,480	0,720	0,960
Arbeitslösung[ml]	-	0,05	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,5	2,0	
TCE-Lösung [ml]	2,50	2,45	2,40	2,3	2,10	1,90	1,70	1,50	1,0	0,5	

Nach Zugabe von je 1,5 ml einer 0,6 %igen TBA-Lösung werden die Standardlösungen analog zu den Proben inkubiert und abgekühlt.

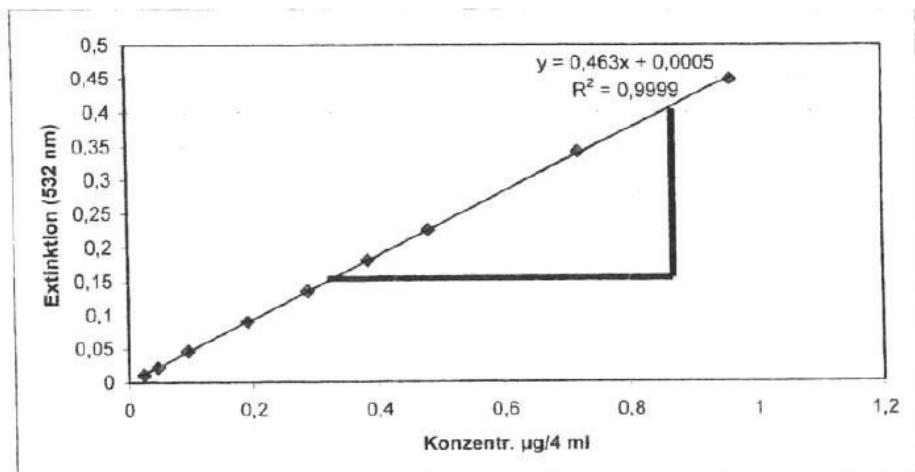
#### Photometrische Bestimmung

Proben- und Standardlösungen werden in 1 cm-Küvetten gefüllt und deren Extinktion mit dem Spektralphotometer bei 532 nm gegen einen Reagenzienblindwert gemessen. Reagenzienblindwert: 2,5 ml TCE 5 %ig + 1,5 ml TBA

## Auswertung

### Berechnung

Die Eichgerade wird erstellt, indem die Extinktionswerte gegen die bekannten Konzentrationen an MDA in den Standardlösungen aufgetragen wird.



Konz. µg MDA/ml	0,024	0,048	0,096	0,192	0,288	0,384	0,480	0,720	0,960
Extinktion	0,011	0,022	0,045	0,090	0,136	0,181	0,226	0,341	0,448

Die Konzentration an MDA im Probenextrakt (x) wird auf der Basis von Achsenabschnitt (b) und Steigung (a) der Regressionsgeraden ( $y = a \cdot x + b$ ) ermittelt.

**Die Berechnung gilt bei:  $a = \Delta y / \Delta x$ ,  $b = 0$  (bei einer Ursprungsgeraden).**

Die Thiobarbitursäure reaktiven Substanzen (TBARS) werden entsprechend der nachfolgenden Beziehung ermittelt und in mg Malondialdehyd pro kg Gewebe angegeben:

$$\text{mg MDA/kg Gewebe} = \frac{(E_{532 \text{ nm}} - b) \cdot 4}{a \cdot \text{Einwaage [g]}} = \text{TBARS-Wert}$$

E = Extinktion der Probe/Standard (bei 532 nm) gemessen gegen Blindwert

### Literatur:

Botsoglou, N.A., Fletouris, D.J., Papageorgiou, G.E., Vassilopoulos, V.N., Mantis, A.J. & Trakatellis, A.G. (1964): Rapid, sensitive and specific Thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food and feedstuff samples. J. Agric. Food Chem. 42, 1931 -1937

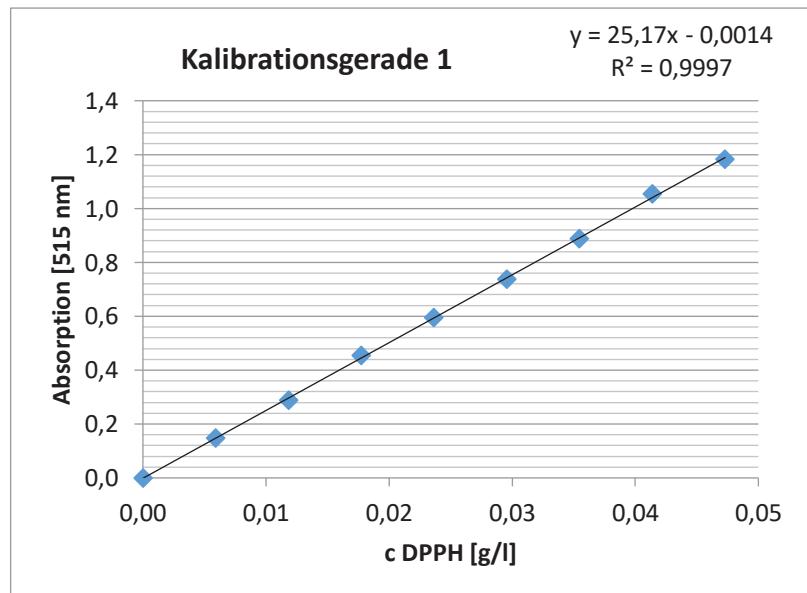
Bewertung: Die TBARS-Werte liegen bei frischem Fleisch bei < 0,2; bei Fettgewebe unter 1,0.

## Anlage 8: Ergebnisse des DPPH-Tests

	Verdünnung	Abs. [515 nm] vor Rkt.	M	SD	Abs. [515 nm] nach Rkt.	M	SD
HS01 [0,01 %]	1:4	0,731	0,706	0,036	0,135	0,135	0,001
		0,680			0,134		
	1:8	0,517	0,519	0,002	0,123	0,123	0,000
		0,520			0,123		
	1:10	0,430	0,421	0,013	0,116	0,116	0,000
		0,412			0,116		
	1:20	0,575	0,550	0,035	0,118	0,123	0,005
		0,525			0,128		
HS02 [0,01 %]	1:4	1,300	1,322	0,031	0,951	0,975	0,033
		1,344			0,998		
	1:8	0,634	0,662	0,039	0,418	0,449	0,043
		0,689			0,479		
	1:10	0,496	0,510	0,019	0,398	0,414	0,022
		0,523			0,429		
	1:20	0,279	0,279	0,001	0,228	0,233	0,007
		0,278			0,238		
HS03 [0,01 %]	1:4	0,460	0,465	0,006	0,446	0,451	0,006
		0,469			0,455		
	1:8	0,365	0,367	0,002	0,340	0,342	0,003
		0,368			0,344		
	1:10	0,360	0,369	0,012	0,327	0,325	0,003
		0,377			0,323		
	1:20	0,367	0,362	0,008	0,321	0,321	0,001
		0,356			0,320		
Sod. Per. [0,05 %]	1:4	1,034	1,034	0,000	1,077	1,067	0,015
		1,034			1,056		
	1:8	1,028	1,027	0,001	1,060	1,062	0,003
		1,026			1,064		
	1:10	1,025	1,024	0,001	1,086	1,085	0,002
		1,023			1,083		
	1:20	1,037	1,038	0,001	1,078	1,079	0,001
		1,038			1,080		
Ascorb. [0,05 %]	1:4	0,049	0,049	0,000	0,050	0,051	0,001
		0,049			0,051		
	1:8	0,052	0,052	0,001	0,057	0,057	0,000
		0,051			0,057		
	1:10	0,059	0,057	0,004	0,063	0,062	0,001
		0,054			0,061		
	1:20	0,575	0,555	0,029	0,597	0,589	0,012
		0,534			0,580		
Alpha-Toco. [0,01 %]	1:4	0,804	0,805	0,001	0,807	0,815	0,011
		0,806			0,823		
	1:8	0,914	0,909	0,008	0,971	0,967	0,006
		0,903			0,962		
	1:10	0,931	0,927	0,006	0,965	0,960	0,008
		0,923			0,954		
	1:20	0,064	0,064	0,000	0,069	0,069	0,001
		0,064			0,068		

Verdünnung	Abs. [515 nm] vor Rkt.	c DPPH vor Rkt. [g/l]	Abs. [515 nm] nach Rkt.	c DPPH nach Rkt. [g/l]	Differenz Absorption [515 nm]	Differenz c DPPH [g/l]	Differenz [%]
HS01							
1:4	0,706	0,0281	0,135	0,0054	0,571	0,0227	80,7
1:8	0,519	0,0207	0,123	0,0049	0,396	0,0157	76,1
1:10	0,421	0,0168	0,116	0,0047	0,305	0,0121	72,2
1:20	0,550	0,0219	0,123	0,0049	0,427	0,0170	77,4
HS02							
1:4	1,322	0,0526	0,975	0,0388	0,347	0,0138	26,2
1:8	0,662	0,0264	0,449	0,0179	0,213	0,0085	32,1
1:10	0,510	0,0203	0,414	0,0165	0,096	0,0038	18,8
1:20	0,279	0,0111	0,233	0,0093	0,046	0,0018	16,4
HS03							
1:4	0,465	0,0185	0,451	0,0180	0,014	0,0006	3,0
1:8	0,367	0,0146	0,342	0,0136	0,025	0,0010	6,8
1:10	0,369	0,0147	0,325	0,0130	0,044	0,0017	11,9
1:20	0,362	0,0144	0,321	0,0128	0,041	0,0016	11,3
Sod. Per.							
1:4	1,034	0,0411	1,067	0,0424	0,033	-0,0013	-3,2
1:8	1,027	0,0409	1,062	0,0422	0,035	-0,0014	-3,4
1:10	1,024	0,0407	1,085	0,0432	0,061	-0,0024	-5,9
1:20	1,038	0,0413	1,079	0,0429	0,041	-0,0016	-3,9
Ascorbinsäure							
1:4	0,049	0,0020	0,051	0,0021	0,002	-0,0001	-4,0
1:8	0,052	0,0021	0,057	0,0023	0,005	-0,0002	-9,4
1:10	0,057	0,0023	0,062	0,0025	0,005	-0,0002	-8,6
1:20	0,555	0,0221	0,589	0,0235	0,034	-0,0014	-6,1
Alpha-Tocopherol							
1:4	0,805	0,0320	0,815	0,0324	0,010	-0,0004	-1,2
1:8	0,909	0,0362	0,967	0,0385	0,058	-0,0023	-6,4
1:10	0,927	0,0369	0,960	0,0382	0,033	-0,0013	-3,6
1:20	0,064	0,0026	0,069	0,0028	0,005	-0,0002	-7,6

DPPH [g/l]	Absortion [515 nm]
0,0000	0,000
0,0059	0,147
0,0118	0,288
0,0177	0,455
0,0237	0,594
0,0296	0,738
0,0355	0,888
0,0414	1,053
0,0473	1,182

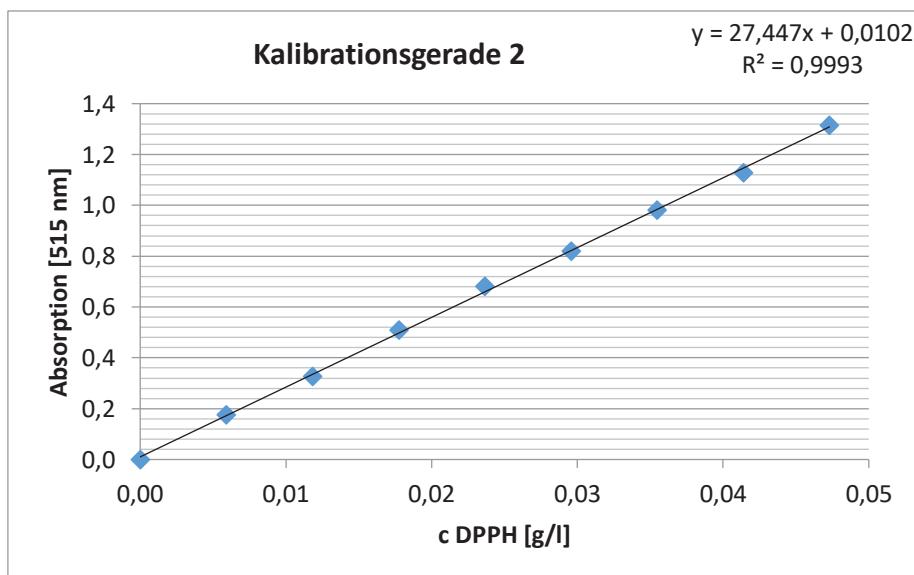


$$cDPPH \left[ \frac{g}{l} \right] = ((Abs. 515 \text{ nm} + 0,0014)) / (25,17)$$

Verdünnung	Absorption vor Reaktion		c DPPH vor Reaktion		Absorption nach Reaktion		c DPPH nach Reaktion		Differenz Absorption		Differenz c DPPH [g/l]		Differenz [%]
<b>Alpha-Tocopherol</b>													
1:10	0,504		0,0180		0,222		0,0077		0,2820		0,0103		57,1
1:12	0,508		0,0181		0,029		0,0007		0,4790		0,0175		96,2
1:14	0,515		0,0184		0,115		0,0038		0,4000		0,0146		79,2
1:16	0,533		0,0190		0,257		0,0090		0,2760		0,0101		52,8
1:18	0,539		0,0193		0,229		0,0080		0,3100		0,0113		58,6
1:20	0,536		0,0192		0,032		0,0008		0,5040		0,0184		95,9
<b>Ascorbinsäure</b>													
1:10	0,026		0,0006		0,026		0,0006		0,0000		0,0000		0,0
1:12	0,026		0,0006		0,025		0,0005		0,0010		0,0000		6,3
1:14	0,108		0,0036		0,025		0,0005		0,0830		0,0030		84,9
1:16	0,223		0,0078		0,025		0,0005		0,1980		0,0072		93,0
1:18	0,194		0,0067		0,025		0,0005		0,1690		0,0062		91,9
1:20	0,230		0,0080		0,025		0,0005		0,2050		0,0075		93,3

Toco. [0,01 %]	Verdünnung	Abs. [515 nm] vor Rkt.	Abs. [515 nm] nach Rkt.
1:10	0,504	0,222	
1:12	0,508	0,029	
1:14	0,515	0,115	
1:16	0,533	0,257	
1:18	0,539	0,229	
1:20	0,536	0,032	

Asc. [0,05 %]	Verdünnung	Abs. [515 nm] vor Rkt.	Abs. [515 nm] nach Rkt.
1:10	0,026	0,026	
1:12	0,026	0,025	
1:14	0,108	0,025	
1:16	0,223	0,025	
1:18	0,194	0,025	
1:20	0,23	0,025	



DPPH [g/l]	Absortion [515 nm]
0,0000	0,000
0,0059	0,175
0,0118	0,327
0,0177	0,509
0,0237	0,680
0,0296	0,819
0,0355	0,981
0,0414	1,128
0,0473	1,315

$$cDPPH \left[ \frac{g}{l} \right] = ((Abs. 515 \text{ nm} - 0,0102) / (27,447))$$

### Mehrfachvergleiche

#### nach Gabriel (Verdünnung 1:4)

(I) Probe	(J) Probe	Mittlere Differenz (I-J)	Std.-Fehler	Signifikanz	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
HS01	HS02	,009000*	,000816	,004	,00538	,01262
	HS03	,022000*	,000816	,000	,01838	,02562
HS02	HS01	-,009000*	,000816	,004	-,01262	-,00538
	HS03	,013000*	,000816	,001	,00938	,01662
HS03	HS01	-,022000*	,000816	,000	-,02562	-,01838
	HS02	-,013000*	,000816	,001	-,01662	-,00938

\*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

#### Nach Gabriel (Verdünnung 1:8)

(I) Probe	(J) Probe	Mittlere Differenz (I-J)	Std.-Fehler	Signifikanz	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
HS01	HS02	,007500*	,000408	,001	,00569	,00931
	HS03	,015000*	,000408	,000	,01319	,01681
HS02	HS01	-,007500*	,000408	,001	-,00931	-,00569
	HS03	,007500*	,000408	,001	,00569	,00931
HS03	HS01	-,015000*	,000408	,000	-,01681	-,01319
	HS02	-,007500*	,000408	,001	-,00931	-,00569

\*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

### Mehrfachvergleiche

#### Nach Gabriel (Verdünnung 1:10)

(I) Probe	(J) Probe	Mittlere	Std.-Fehler	Signifikanz	95%-Konfidenzintervall	
		Differenz (I-J)			Untergrenze	Obergrenze
HS01	HS02	,008000*	,000408	,001	,00619	,00981
	HS03	,010500*	,000408	,000	,00869	,01231
HS02	HS01	-,008000*	,000408	,001	-,00981	-,00619
	HS03	,002500*	,000408	,021	,00069	,00431
HS03	HS01	-,010500*	,000408	,000	-,01231	-,00869
	HS02	-,002500*	,000408	,021	-,00431	-,00069

\*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

#### Nach Gabriel (Verdünnung 1:20)

(I) Probe	(J) Probe	Mittlere	Std.-Fehler	Signifikanz	95%-Konfidenzintervall	
		Differenz (I-J)			Untergrenze	Obergrenze
HS01	HS02	,0150000*	,0009129	,001	,010956	,019044
	HS03	,0155000*	,0009129	,001	,011456	,019544
HS02	HS01	-,0150000*	,0009129	,001	-,019044	-,010956
	HS03	,0005000	,0009129	,922	-,003544	,004544
HS03	HS01	-,0155000*	,0009129	,001	-,019544	-,011456
	HS02	-,0005000	,0009129	,922	-,004544	,003544

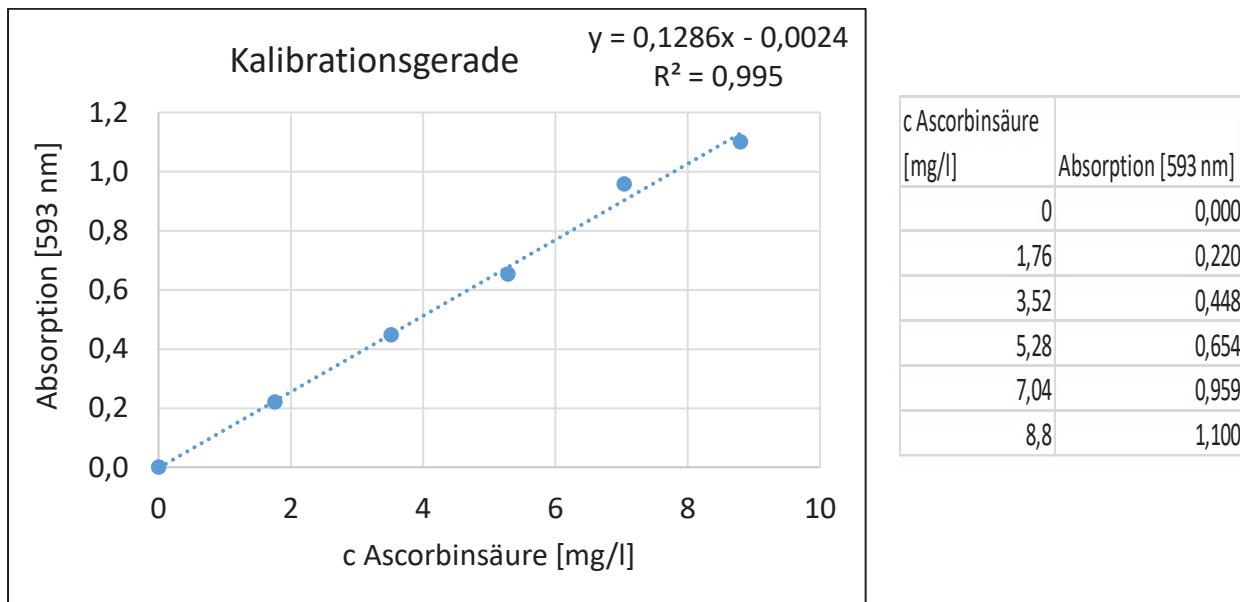
\*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

## Anlage 9: Ergebnisse des FRAP-Tests

HS01						
Verdünnung	Abs. [593 nm]	M	SD	c [mg AAE/l]	SD	M
1:50	2,131	2,170	0,055	16,59	0,429	16,89
	2,209			17,20		
1:500	0,356	0,387	0,043	2,79	0,335	3,02
	0,417			3,26		
1:5000	0,058	0,060	0,003	0,47	0,022	0,49
	0,062			0,50		
1:10000	0,039	0,040	0,001	0,32	0,005	0,33
	0,040			0,33		

HS02						
Verdünnung	Abs. [593 nm]	M	SD	c [mg AAE/l]	SD	M
1:50	0,499	0,483	0,023	3,90	0,181	3,77
	0,466			3,64		
1:500	0,128	0,130	0,003	1,01	0,022	1,03
	0,132			1,05		
1:5000	0,035	0,038	0,004	0,29	0,027	0,31
	0,040			0,33		
1:10000	0,046	0,049	0,004	0,38	0,027	0,40
	0,051			0,42		

HS03						
Verdünnung	Abs. [593 nm]	M	SD	c [mg AAE/l]	SD	M
1:50	2,376	2,318	0,082	18,49	0,638	18,04
	2,260			17,59		
1:500	0,516	0,523	0,009	4,03	0,071	4,08
	0,529			4,13		
1:5000	0,114	0,114	0,000	0,91	0,000	0,91
	0,114			0,91		
1:10000	0,073	0,071	0,003	0,59	0,022	0,57
	0,069			0,56		



$$c \left[ \text{mg} \frac{AAE}{l} \right] = (Abs. 593 \text{ nm} + 0,0024) / (0,1286)$$

### Mehrfachvergleiche

#### nach Gabriel (Verdünnung 1:50)

(I) Extrakt	(J) Extrakt	Mittlere Differenz		Signifikanz	95%-Konfidenzintervall	
		(I-J)	Std.-Fehler		Untergrenze	Obergrenze
HS01	HS02	13,12500*	,45638	,000	11,1034	15,1466
	HS03	-1,14500	,45638	,195	-3,1666	,8766
HS02	HS01	-13,12500*	,45638	,000	-15,1466	-11,1034
	HS03	-14,27000*	,45638	,000	-16,2916	-12,2484
HS03	HS01	1,14500	,45638	,195	-,8766	3,1666
	HS02	14,27000*	,45638	,000	12,2484	16,2916

\*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0,05 signifikant.

#### nach Gabriel (Verdünnung 1:500)

(I) Extrakt	(J) Extrakt	Mittlere Differenz		Signifikanz	95%-Konfidenzintervall	
		(I-J)	Std.-Fehler		Untergrenze	Obergrenze
HS01	HS02	1,99500*	,19257	,005	1,1420	2,8480
	HS03	-1,00500*	,19257	,032	-1,8580	-1,1520
HS02	HS01	-1,99500*	,19257	,005	-2,8480	-1,1420
	HS03	-3,00000*	,19257	,001	-3,8530	-2,1470
HS03	HS01	1,00500*	,19257	,032	,1520	1,8580
	HS02	3,00000*	,19257	,001	2,1470	3,8530

\*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0,05 signifikant.

### Mehrfachvergleiche

#### nach Gabriel (Verdünnung 1:5000)

(I) Extrakt	(J) Extrakt	Mittlere Differenz		Std.-Fehler	Signifikanz	95%-Konfidenzintervall	
		(I-J)				Untergrenze	Obergrenze
HS01	HS02	,17500*		,02041	,008	,0846	,2654
	HS03	-,42500*		,02041	,001	-,5154	-,3346
HS02	HS01	-,17500*		,02041	,008	-,2654	-,0846
	HS03	-,60000*		,02041	,000	-,6904	-,5096
HS03	HS01	,42500*		,02041	,001	,3346	,5154
	HS02	,60000*		,02041	,000	,5096	,6904

\*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

#### nach Gabriel (Verdünnung 1:10000)

(I) Extrakt	(J) Extrakt	Mittlere Differenz		Std.-Fehler	Signifikanz	95%-Konfidenzintervall	
		(I-J)				Untergrenze	Obergrenze
HS01	HS02	-,07500		,02082	,085	-,1672	,0172
	HS03	-,25000*		,02082	,003	-,3422	-,1578
HS02	HS01	,07500		,02082	,085	-,0172	,1672
	HS03	-,17500*		,02082	,008	-,2672	-,0828
HS03	HS01	,25000*		,02082	,003	,1578	,3422
	HS02	,17500*		,02082	,008	,0828	,2672

\*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

## Anlage 10: Ergebnisse zur Bestimmung der Oxidationsstabilität von Rapsöl-Proben

Rapsöl				
Probe	Temperatur [°C]	Induktionszeit [h]	M	SD
0,01 % HS01	*	*	3,31	0,16
0,01 % HS01	120	3,21		
0,01 % HS01	120	3,49		
0,01 % HS01	120	3,22		
0,01 % HS02	120	3,40	3,34	0,11
0,01 % HS02	120	3,31		
0,01 % HS02	120	3,46		
0,01 % HS02	120	3,20		
0,01 % HS03	120	2,87	3,01	0,10
0,01 % HS03	120	3,08		
0,01 % HS03	120	3,09		
0,01 % HS03	120	2,98		
Matrixprobe	120	3,17	3,36	0,17
Matrixprobe	120	3,36		
Matrixprobe	120	3,58		
Matrixprobe	120	3,33		
0,05 % Natriumpercarbonat	120	2,18	2,14	0,04
0,05 % Natriumpercarbonat	120	2,16		
0,05 % Natriumpercarbonat	120	2,08		
0,05 % Natriumpercarbonat	120	2,14		
0,05 % Ascorbinsäure	120	5,71	5,56	0,17
0,05 % Ascorbinsäure	120	5,42		
0,05 % Ascorbinsäure	120	5,71		
0,05 % Ascorbinsäure	120	5,40		

\*Messfehler

## Mehrfachvergleiche

nach Gabriel

(I) Probe		Signifikanz
HS01	HS02	1,000
	HS03	0,106
	Nullprobe	1,000
	Sodium percarbonate	0,000
	Ascorbinsäure	0,000
HS02	HS01	1,000
	HS03	0,031
	Nullprobe	1,000
	Sodium percarbonate	0,000
	Ascorbinsäure	0,000
HS03	HS01	0,106
	HS02	0,031
	Nullprobe	0,021
	Sodium percarbonate	0,000
	Ascorbinsäure	0,000
Nullprobe	HS01	1,000
	HS02	1,000
	HS03	0,021
	Sodium percarbonate	0,000
	Ascorbinsäure	0,000
Sodium percarbonate	HS01	0,000
	HS02	0,000
	HS03	0,000
	Nullprobe	0,000
	Ascorbinsäure	0,000
Ascorbinsäure	HS01	0,000
	HS02	0,000
	HS03	0,000
	Nullprobe	0,000
	Sodium percarbonate	0,000

\*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

## Anlage 11: Ergebnisse zur Bestimmung der Oxidationsstabilität von Schmalz-Proben

Schmalz				
Probe	Temperatur [°C]	Induktionszeit [min]	M	SD
Matrixprobe	100°C	23,40	26,1	8,69
Matrixprobe	100°C	21,60		
Matrixprobe	100°C	20,40		
Matrixprobe	100°C	39,00		
0,01 % HS01	100°C	23,40	20,85	1,86
0,01 % HS01	100°C	21,00		
0,01 % HS01	100°C	19,20		
0,01 % HS01	100°C	19,80		
0,01 % HS02	100°C	20,40	23,7	14,10
0,01 % HS02	100°C	19,80		
0,01 % HS02	100°C	43,80		
0,01 % HS02	100°C	10,80		
0,01 % HS03	100°C	24,00	22,2	2,08
0,01 % HS03	100°C	24,00		
0,01 % HS03	100°C	20,40		
0,01 % HS03	100°C	20,40		
0,05 % Natriumpercarbonat	100°C	10,80	10,8	0,00
0,05 % Natriumpercarbonat	100°C	10,80		
0,05 % Natriumpercarbonat	100°C	10,80		
0,05 % Natriumpercarbonat	100°C	10,80		
0,05 % Ascorbinsäure	*	*	79,8	0,85
0,05 % Ascorbinsäure	*	*		
0,05 % Ascorbinsäure	100°C	80,40		
0,05 % Ascorbinsäure	100°C	79,20		

\*Messfehler

## Mehrfachvergleiche

nach Games-Howell

(I) Probe		Signifikanz
HS01	HS02	0,997
	HS03	0,913
	Nullprobe	0,826
	Sodium percarbonate	0,008
	Ascorbinsäure	0,000
HS02	HS01	0,997
	HS03	1,000
	Nullprobe	1,000
	Sodium percarbonate	0,553
	Ascorbinsäure	0,019
HS03	HS01	0,913
	HS02	1,000
	Nullprobe	0,933
	Sodium percarbonate	0,008
	Ascorbinsäure	0,000
Nullprobe	HS01	0,826
	HS02	1,000
	HS03	0,933
	Sodium percarbonate	0,167
	Ascorbinsäure	0,005
Sodium percarbonate	HS01	0,008
	HS02	0,553
	HS03	0,008
	Nullprobe	0,167
	Ascorbinsäure	0,012
Ascorbinsäure	HS01	0,000
	HS02	0,019
	HS03	0,000
	Nullprobe	0,005
	Sodium percarbonate	0,012

\*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

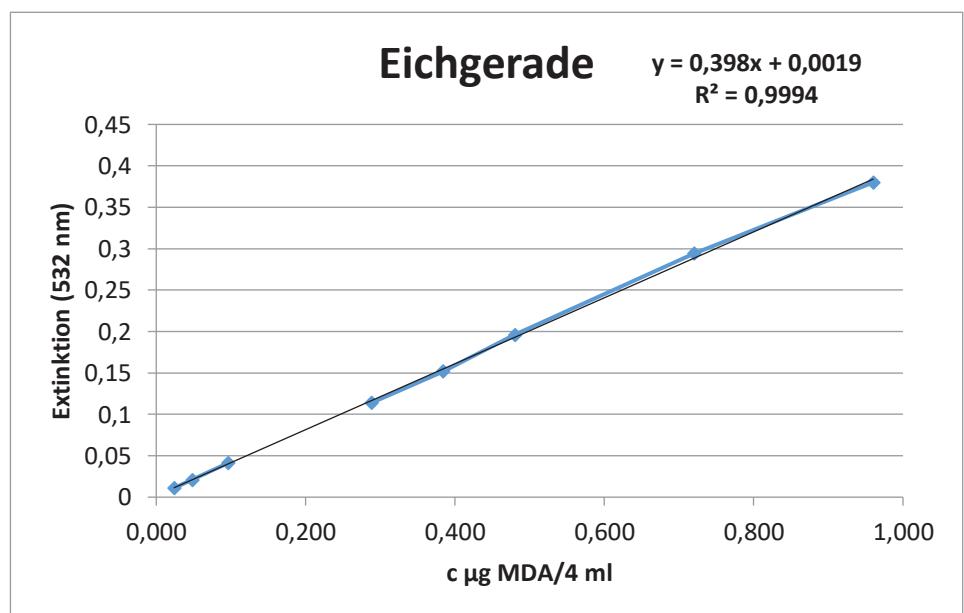
## Anlage 12: Ergebnisse zur Bestimmung der TBARS im Schmalz

Konzentration der TBARS an  $t_0$ :

Probe	Einwaage [g]	Abs. [532 nm]	M	TBARS-Wert [mg MDA/ kg Gewebe]	M	SD
Matrixprobe	2,03	0,027	0,022	0,1243	0,097	0,0380
	2,01	0,016		0,0705		
0,01 % HS01	2,11	0,026	0,031	0,1148	0,140	0,0353
	2,08	0,036		0,1648		
0,01 % HS02	2,02	0,018	0,023	0,0801	0,104	0,0343
	2,04	0,028		0,1286		
0,01 % HS03	2,08	0,043	0,033	0,1986	0,150	0,0694
	2,11	0,023		0,1005		
0,01 % Beta-Extrakt	2,06	0,031	0,035	0,1420	0,162	0,0282
	2,05	0,039		0,1819		
0,05 % Ascorbinsäure	2,09	0,023	0,020	0,1015	0,085	0,0229
	2,05	0,016		0,0691		
0,05 % Natriumpercarbonat	2,06	0,033	0,036	0,1517	0,168	0,0232
	2,02	0,039		0,1846		

c [ $\mu$ g MDA/ 4 ml]	Abs. [532 nm]
0,024	0,011
0,048	0,021
0,096	0,041
0,192	*
0,288	0,114
0,384	0,152
0,480	0,196
0,720	0,294
0,960	0,380

\*Messfehler



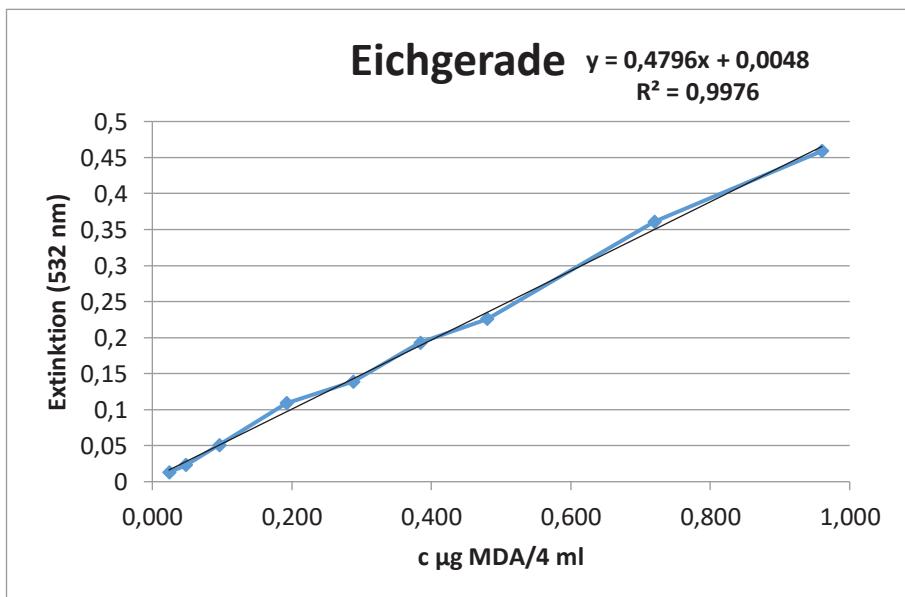
$$\text{TBARS-Wert} \left[ \frac{\text{mg MDA}}{\text{kg Gewebe}} \right] = \frac{(E_{532 \text{ nm}} - 0,0019) * 4}{0,398 * \text{Einwaage} [\text{g}]}$$

Konzentration der TBARS an  $t_7$ :

Probe	Einwaage [g]	Abs. [532 nm]	M	TBARS-Wert [mg MDA/ kg Gewebe]	M	SD
Matrixprobe	2,07	*	0,047	-	0,168	-
	2,09	0,047		0,1684		
0,01 % HS01	2,02	0,025	0,024	0,0834	0,077	0,0088
	2,02	0,022		0,0710		
0,01 % HS02	2,01	0,020	0,021	0,0631	0,067	0,0061
	2,00	0,022		0,0717		
0,01 % HS03	2,02	0,042	0,035	0,1536	0,124	0,0412
	2,03	0,028		0,0953		
0,01 % Beta-Extrakt	2,05	0,026	0,035	0,0863	0,123	0,0523
	2,04	0,044		0,1603		
0,05 % Ascorbinsäure	2,02	0,051	0,048	0,1908	0,177	0,0192
	2,05	0,045		0,1636		
0,05 % Natriumpercarbonat	2,03	0,033	0,034	0,1159	0,118	0,0033
	2,02	0,034		0,1206		

\*Messfehler

c [ $\mu$ g MDA/ 4 ml]	Abs. [532 nm]
0,024	0,013
0,048	0,023
0,096	0,051
0,192	0,109
0,288	0,139
0,384	0,193
0,480	0,226
0,720	0,361
0,960	0,459

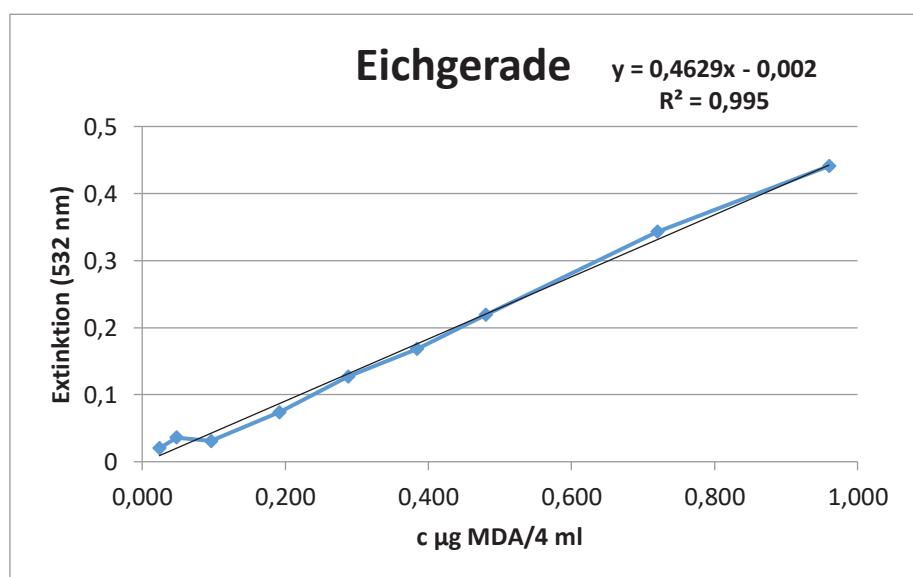


$$\text{TBARS-Wert} \left[ \frac{\text{mg MDA}}{\text{kg Gewebe}} \right] = \frac{(E_{532 \text{ nm}} - 0,0048) * 4}{0,4796 * \text{Einwaage} [\text{g}]}$$

Konzentration der TBARS an  $t_{13}$ :

Probe	Einwaage [g]	Abs. [532 nm]	M	TBARS-Wert [mg MDA/ kg Gewebe]	M	SD
Matrixprobe	2,02	0,029	0,041	0,1326	0,183	0,0712
	2,00	0,052		0,2333		
0,01 % HS01	2,07	0,003	0,008	0,0209	0,040	0,0264
	2,08	0,012		0,0582		
0,01 % HS02	2,02	0,019	0,025	0,0898	0,113	0,0333
	2,02	0,030		0,1369		
0,01 % HS03	2,01	0,015	0,013	0,0731	0,064	0,0127
	2,04	0,011		0,0551		
0,01 % Beta-Extrakt	2,04	0,025	0,024	0,1144	0,109	0,0071
	2,07	0,023		0,1044		
0,05 % Ascorbinsäure	2,03	0,035	0,033	0,1575	0,146	0,0160
	2,05	0,030		0,1349		
0,05 % Natriumpercarbonat	2,04	0,019	0,015	0,0890	0,070	0,0264
	2,01	0,010		0,0516		

c [ $\mu$ g MDA/ 4 ml]	Abs. [532 nm]
0,024	0,02
0,048	0,036
0,096	0,031
0,192	0,074
0,288	0,127
0,384	0,168
0,480	0,219
0,720	0,343
0,960	0,441

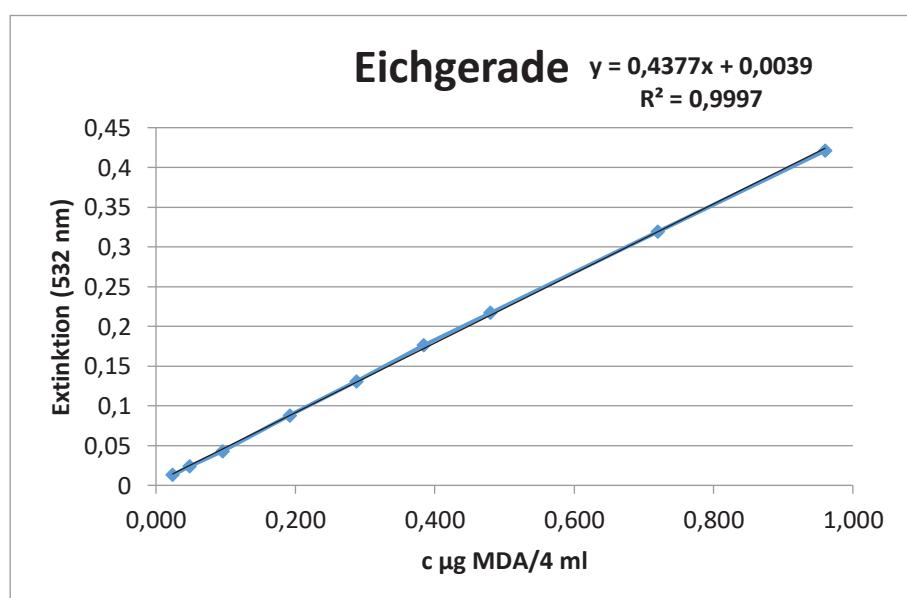


$$\text{TBARS-Wert} \left[ \frac{\text{mg MDA}}{\text{kg Gewebe}} \right] = \frac{(E_{532 \text{ nm}} + 0,002) * 4}{0,4629 * \text{Einwaage} [\text{g}]}$$

Konzentration der TBARS an  $t_{21}$ :

Probe	Einwaage [g]	Abs. [532 nm]	M	TBARS-Wert [mg MDA/ kg Gewebe]	M	SD
Matrixprobe	2,01	0,015	0,017	0,0505	0,056	0,0083
	2,07	0,018		0,0622		
0,01 % HS01	2,03	0,016	0,015	0,0545	0,048	0,0091
	2,00	0,013		0,0416		
0,01 % HS02	2,01	0,018	0,019	0,0641	0,066	0,0025
	2,04	0,019		0,0676		
0,01 % HS03	2,06	0,018	0,018	0,0626	0,061	0,0021
	2,01	0,017		0,0596		
0,01 % Beta-Extrakt	2,03	0,015	0,017	0,0500	0,058	0,0120
	2,06	0,019		0,0670		
0,05 % Ascorbinsäure	2,05	0,023	0,026	0,0851	0,099	0,0197
	2,03	0,029		0,1130		
0,05 % Natriumpercarbonat	2,06	0,027	0,022	0,1025	0,081	0,0310
	2,04	0,017		0,0587		

c [ $\mu$ g MDA/ 4 ml]	Abs. [532 nm]
0,024	0,013
0,048	0,024
0,096	0,043
0,192	0,088
0,288	0,131
0,384	0,176
0,480	0,217
0,720	0,319
0,960	0,421



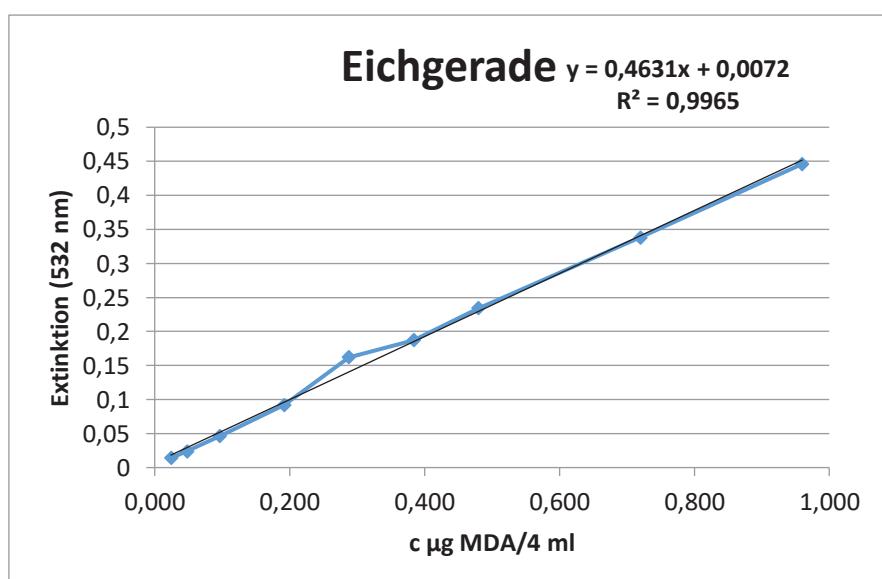
$$\text{TBARS-Wert} \left[ \frac{\text{mg MDA}}{\text{kg Gewebe}} \right] = \frac{(E_{532 \text{ nm}} - 0,0039) * 4}{0,4377 * \text{Einwaage} [\text{g}]}$$

Konzentration der TBARS an  $t_{28}$ :

Probe	Einwaage [g]	Abs. [532 nm]	M	TBARS-Wert [mg MDA/ kg Gewebe]	M	SD
Matrixprobe	2,04	0,015	0,015	0,0330	0,033	0,0002
	2,02	0,015		0,0334		
0,01 % HS01	2,02	0,019	0,021	0,0505	0,059	0,0123
	2,01	0,023		0,0679		
0,01 % HS02	2,04	0,013	0,018	0,0246	0,044	0,0276
	2,01	0,022		0,0636		
0,01 % HS03	2,00	0,016	0,020	0,0380	0,052	0,0200
	2,06	0,023		0,0662		
0,01 % Beta-Extrakt	2,05	0,036	0,030	0,1213	0,096	0,0358
	2,05	0,024		0,0708		
0,05 % Ascorbinsäure	2,04	0,017	0,018	0,0415	0,044	0,0033
	2,02	0,018		0,0462		
0,05 % Natriumpercarbonat	2,02	0,024	0,024	0,0718	0,072	-
	2,02	*		-		

\*Messfehler

c [ $\mu$ g MDA/ 4 ml]	Abs. [532 nm]
0,024	0,014
0,048	0,024
0,096	0,046
0,192	0,092
0,288	0,162
0,384	0,187
0,480	0,234
0,720	0,338
0,960	0,446

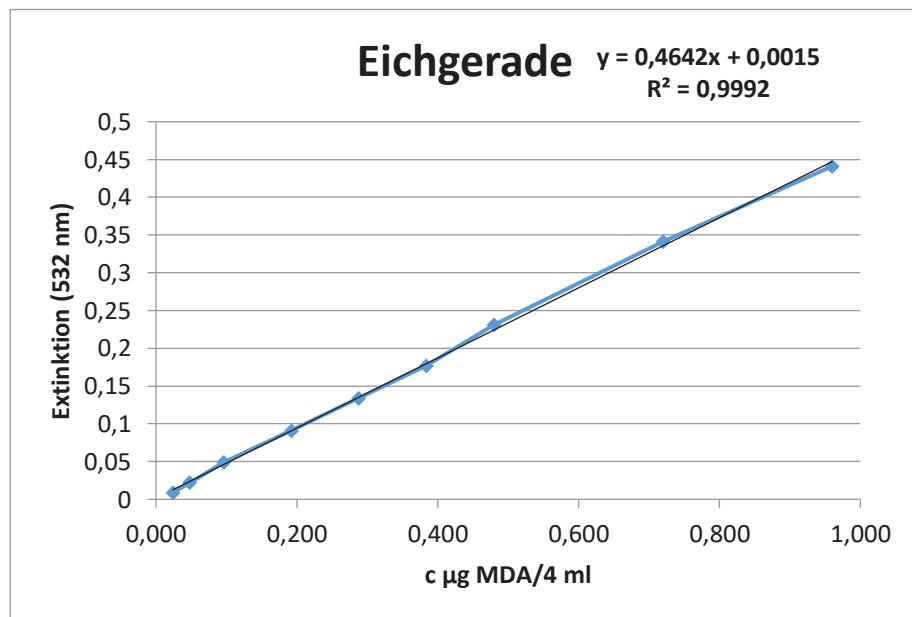


$$\text{TBARS-Wert} \left[ \frac{\text{mg MDA}}{\text{kg Gewebe}} \right] = \frac{(E_{532 \text{ nm}} - 0,0072) * 4}{0,4631 * \text{Einwaage} [\text{g}]}$$

Konzentration der TBARS an  $t_{42}$ :

Probe	Einwaage [g]	Abs. [532 nm]	M	TBARS-Wert [mg MDA/ kg Gewebe]	M	SD
Matrixprobe	2,08	0,042	0,035	0,1678	0,138	0,0421
	2,03	0,027		0,1082		
0,01 % HS01	2,04	0,041	0,040	0,1668	0,163	0,0049
	2,02	0,039		0,1600		
0,01 % HS02	2,00	0,026	0,026	0,1056	0,105	0,0004
	2,01	0,026		0,1050		
0,01 % HS03	2,02	0,038	0,047	0,1557	0,190	0,0489
	2,05	0,055		0,2249		
0,01 % Beta-Extrakt	2,02	0,021	0,025	0,0832	0,099	0,0229
	2,05	0,029		0,1156		
0,05 % Ascorbinsäure	2,04	0,032	0,036	0,1288	0,147	0,0250
	2,02	0,040		0,1642		
0,05 % Natriumpercarbonat	2,05	0,030	0,026	0,1198	0,103	0,0238
	2,05	0,022		0,0862		

c [ $\mu$ g MDA/ 4 ml]	Abs. [532 nm]
0,024	0,009
0,048	0,022
0,096	0,049
0,192	0,091
0,288	0,134
0,384	0,177
0,480	0,231
0,720	0,341
0,960	0,441

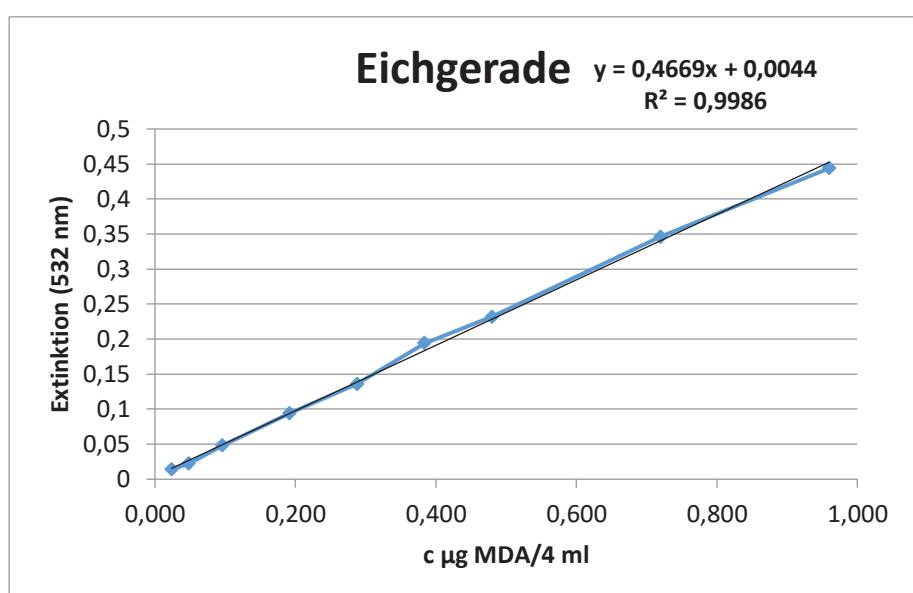


$$\text{TBARS-Wert} \left[ \frac{\text{mg MDA}}{\text{kg Gewebe}} \right] = \frac{(E_{532 \text{ nm}} - 0,0015) * 4}{0,4642 * \text{Einwaage} [\text{g}]}$$

Konzentration der TBARS an  $t_{49}$ :

Probe	Einwaage [g]	Abs. [532 nm]	M	TBARS-Wert [mg MDA/ kg Gewebe]	M	SD
Matrixprobe	2,00	0,019	0,023	0,063	0,079	0,0229
	2,04	0,027		0,095		
0,01 % HS01	2,01	0,02	0,024	0,066	0,083	0,0238
	2,02	0,028		0,100		
0,01 % HS02	2,01	0,020	0,019	0,066	0,062	0,0066
	2,04	0,018		0,057		
0,01 % HS03	2,00	0,020	0,019	0,067	0,060	0,0091
	2,00	0,017		0,054		
0,01 % Beta-Extrakt	2,01	0,044	0,039	0,169	0,145	0,0332
	2,01	0,033		0,122		
0,05 % Ascorbinsäure	2,01	0,032	0,027	0,118	0,096	0,0304
	2,02	0,022		0,075		
0,05 % Natriumpercarbonat	2,01	0,022	0,019	0,075	0,060	0,0216
	2,04	0,015		0,045		

c [ $\mu$ g MDA/ 4 ml]	Abs. [532 nm]
0,024	0,014
0,048	0,022
0,096	0,048
0,192	0,094
0,288	0,136
0,384	0,194
0,480	0,232
0,720	0,346
0,960	0,444



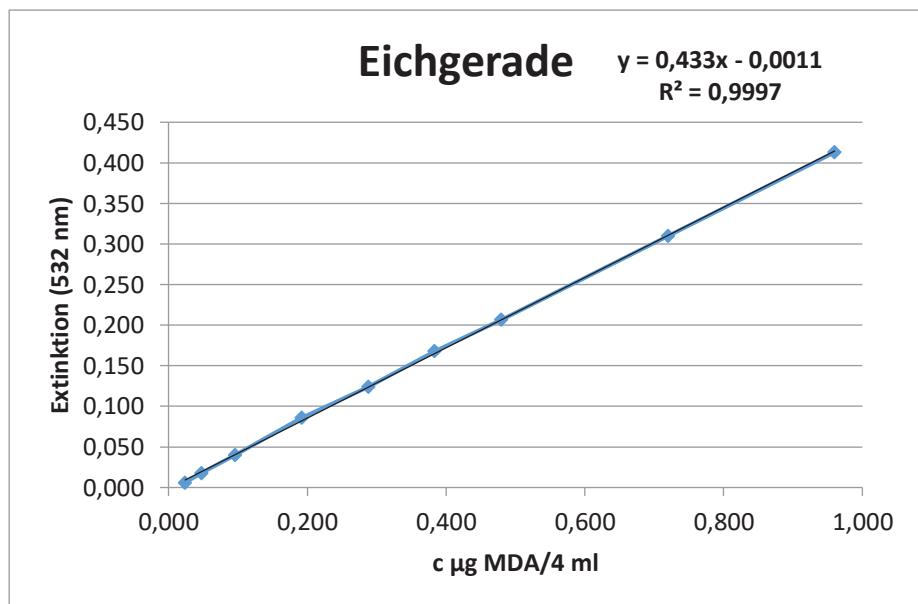
$$\text{TBARS-Wert} \left[ \frac{\text{mg MDA}}{\text{kg Gewebe}} \right] = \frac{(E_{532 \text{ nm}} - 0,0044) * 4}{0,4669 * \text{Einwaage} [\text{g}]}$$

Konzentration der TBARS an  $t_{57}$ :

Probe	Einwaage [g]	Abs. [532 nm]	M	TBARS-Wert [mg MDA/ kg Gewebe]	M	SD
Matrixprobe	2,01	0,018	0,017	0,0876	0,081	0,0093
	2,00	0,015		0,0745		
0,01 % HS01	2,06	0,019	0,021	0,0902	0,099	0,0119
	2,08	0,023		0,1070		
0,01 % HS02	2,03	0,014	0,018	0,0687	0,085	0,0234
	2,01	0,021		0,1018		
0,01 % HS03	2,00	0,025	0,024	0,1203	0,114	0,0087
	2,06	0,023		0,1080		
0,01 % Beta-Extrakt	2,02	0,017	0,018	0,0829	0,084	0,0022
	2,05	0,018		0,0861		
0,05 % Ascorbinsäure	2,03	0,022	0,019	0,1050	0,091	0,0199
	2,06	0,016		0,0767		
0,05 % Natriumpercarbonat	2,01	*	0,016	-	0,077	-
	2,06	0,016		0,0767		

\*Messfehler

c [ $\mu$ g MDA/ 4 ml]	Abs. [532 nm]
0,024	0,006
0,048	0,018
0,096	0,040
0,192	0,086
0,288	0,124
0,384	0,168
0,480	0,207
0,720	0,310
0,960	0,413



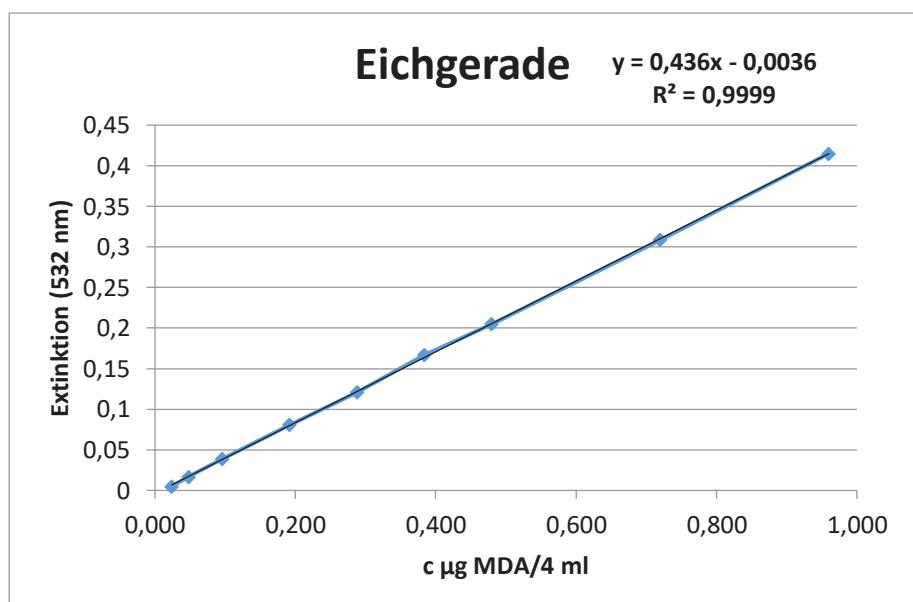
$$\text{TBARS-Wert} \left[ \frac{\text{mg MDA}}{\text{kg Gewebe}} \right] = \frac{(E_{532 \text{ nm}} + 0,0011) * 4}{0,433 * \text{Einwaage} [\text{g}]}$$

Konzentration der TBARS an  $t_{63}$ :

Probe	Einwaage [g]	Abs. [532 nm]	M	TBARS-Wert [mg MDA/ kg Gewebe]	M	SD
Matrixprobe	2,01	0,015	0,015	0,085	0,085	0,0002
	2,00	0,015		0,085		
0,01 % HS01	2,00	0,022	0,017	0,117	0,094	0,0325
	2,01	0,012		0,071		
0,01 % HS02	2,00	0,014	0,014	0,081	0,081	0,0001
	2,01	0,014		0,080		
0,01 % HS03	2,00	0,014	0,012	0,081	0,072	0,0129
	2,00	0,010		0,062		
0,01 % Beta-Extrakt	2,01	0,013	0,014	0,076	0,080	0,0065
	2,01	0,015		0,085		
0,05 % Ascorbinsäure	2,01	*	0,019	-	-	x
	2,01	0,019		0,103		
0,05 % Natriumpercarbonat	2,01	0,023	0,024	0,122	0,126	0,0064
	2,01	0,025		0,131		

\*Messfehler

c [ $\mu$ g MDA/ 4 ml]	Abs. [532 nm]
0,024	0,005
0,048	0,017
0,096	0,039
0,192	0,081
0,288	0,121
0,384	0,167
0,480	0,205
0,720	0,309
0,960	0,415



$$\text{TBARS-Wert} \left[ \frac{\text{mg MDA}}{\text{kg Gewebe}} \right] = \frac{(E_{532 \text{ nm}} + 0,0036) * 4}{0,436 * \text{Einwaage [g]}}$$

**Mehrfachvergleiche**

nach Gabriel (Extrakte)

(I)Extrakt	(J)Extrakt	Mittlere	Standard	Sig.	95%-Konfidenzintervall	
		Differenz (I-J)	Fehler		Untergrenze	Obergrenze
ohne Hopfen	HS01	-,0133	,01047	,988	-,0464	,0197
	HS02	-,0161	,01063	,937	-,0496	,0175
	HS03	-,0229	,01047	,475	-,0560	,0101
	Beta-Extrakt	-,0085	,01047	1,000	-,0416	,0245
	Ascorbinsäure	-,0149	,01080	,972	-,0490	,0191
	Natriumpercarbonat	,0051	,01047	1,000	-,0279	,0382
HS01	ohne Hopfen	,0133	,01047	,988	-,0197	,0464
	HS02	-,0027	,01063	1,000	-,0362	,0308
	HS03	-,0096	,01047	1,000	-,0426	,0235
	Beta-Extrakt	,0048	,01047	1,000	-,0282	,0379
	Ascorbinsäure	-,0016	,01080	1,000	-,0356	,0325
	Natriumpercarbonat	,0185	,01047	,806	-,0146	,0515
HS02	ohne Hopfen	,0161	,01063	,937	-,0175	,0496
	HS01	,0027	,01063	1,000	-,0308	,0362
	HS03	-,0069	,01063	1,000	-,0404	,0267
	Beta-Extrakt	,0075	,01063	1,000	-,0260	,0411
	Ascorbinsäure	,0011	,01094	1,000	-,0334	,0357
	Natriumpercarbonat	,0212	,01063	,630	-,0123	,0547
HS03	ohne Hopfen	,0229	,01047	,475	-,0101	,0560
	HS01	,0096	,01047	1,000	-,0235	,0426
	HS02	,0069	,01063	1,000	-,0267	,0404
	Beta-Extrakt	,0144	,01047	,973	-,0187	,0474
	Ascorbinsäure	,0080	,01080	1,000	-,0261	,0420
	Natriumpercarbonat	,0281	,01047	,174	-,0050	,0611
Beta-Extrakt	ohne Hopfen	,0085	,01047	1,000	-,0245	,0416
	HS01	-,0048	,01047	1,000	-,0379	,0282
	HS02	-,0075	,01063	1,000	-,0411	,0260
	HS03	-,0144	,01047	,973	-,0474	,0187
	Ascorbinsäure	-,0064	,01080	1,000	-,0405	,0277
	Natriumpercarbonat	,0137	,01047	,984	-,0194	,0467
Ascorbinsäure	ohne Hopfen	,0149	,01080	,972	-,0191	,0490
	HS01	,0016	,01080	1,000	-,0325	,0356
	HS02	-,0011	,01094	1,000	-,0357	,0334
	HS03	-,0080	,01080	1,000	-,0420	,0261
	Beta-Extrakt	,0064	,01080	1,000	-,0277	,0405
	Natriumpercarbonat	,0201	,01080	,738	-,0140	,0541
Natrium-	ohne Hopfen	-,0051	,01047	1,000	-,0382	,0279

percarbonat	HS01	-,0185	,01047	,806	-,0515	,0146
	HS02	-,0212	,01063	,630	-,0547	,0123
	HS03	-,0281	,01047	,174	-,0611	,0050
	Beta-Extrakt	-,0137	,01047	,984	-,0467	,0194
	Ascorbinsäure	-,0201	,01080	,738	-,0541	,0140

\*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

### nach Gabriel (Tag)

(I)Tag	(J)Tag	Mittlere Differenz (I-J)	Standard Fehler	Sig.	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
t0	t7	,0063	,01210	1,000	-,0341	,0466
	t13	,0385	,01210	,077	-,0019	,0788
	t21	,0599*	,01210	,000	,0196	,1003
	t28	,0358	,01210	,138	-,0045	,0762
	t42	,0129	,01210	1,000	-,0274	,0533
	t49	,0389	,01210	,071	-,0015	,0792
	t57	,0333	,01232	,260	-,0078	,0743
	t63	,0346	,01232	,202	-,0065	,0757
t7	t0	-,0063	,01210	1,000	-,0466	,0341
	t13	,0322	,01188	,253	-,0074	,0718
	t21	,0537*	,01188	,001	,0141	,0932
	t28	,0296	,01188	,401	-,0100	,0691
	t42	,0066	,01188	1,000	-,0330	,0462
	t49	,0326	,01188	,235	-,0070	,0722
	t57	,0270	,01210	,614	-,0134	,0673
	t63	,0283	,01210	,520	-,0120	,0687
t13	t0	-,0385	,01210	,077	-,0788	,0019
	t7	-,0322	,01188	,253	-,0718	,0074
	t21	,0215	,01188	,910	-,0181	,0611
	t28	-,0026	,01188	1,000	-,0422	,0370
	t42	-,0256	,01188	,679	-,0652	,0140
	t49	,0004	,01188	1,000	-,0392	,0400
	t57	-,0052	,01210	1,000	-,0456	,0351
	t63	-,0039	,01210	1,000	-,0442	,0365
t21	t0	-,0599*	,01210	,000	-,1003	-,0196
	t7	-,0537*	,01188	,001	-,0932	-,0141
	t13	-,0215	,01188	,910	-,0611	,0181
	t28	-,0241	,01188	,776	-,0637	,0155
	t42	-,0470*	,01188	,007	-,0866	-,0074
	t49	-,0211	,01188	,925	-,0607	,0185
	t57	-,0267	,01210	,635	-,0670	,0137

	t63	-,0253	,01210	,726	-,0657	,0150
t28	t0	-,0358	,01210	,138	-,0762	,0045
	t7	-,0296	,01188	,401	-,0691	,0100
	t13	,0026	,01188	1,000	-,0370	,0422
	t21	,0241	,01188	,776	-,0155	,0637
	t42	-,0229	,01188	,844	-,0625	,0167
	t49	,0030	,01188	1,000	-,0366	,0426
	t57	-,0026	,01210	1,000	-,0429	,0378
	t63	-,0012	,01210	1,000	-,0416	,0391
t42	t0	-,0129	,01210	1,000	-,0533	,0274
	t7	-,0066	,01188	1,000	-,0462	,0330
	t13	,0256	,01188	,679	-,0140	,0652
	t21	,0470*	,01188	,007	,0074	,0866
	t28	,0229	,01188	,844	-,0167	,0625
	t49	,0260	,01188	,651	-,0136	,0655
	t57	,0203	,01210	,956	-,0200	,0607
	t63	,0217	,01210	,917	-,0186	,0620
t49	t0	-,0389	,01210	,071	-,0792	,0015
	t7	-,0326	,01188	,235	-,0722	,0070
	t13	-,0004	,01188	1,000	-,0400	,0392
	t21	,0211	,01188	,925	-,0185	,0607
	t28	-,0030	,01188	1,000	-,0426	,0366
	t42	-,0260	,01188	,651	-,0655	,0136
	t57	-,0056	,01210	1,000	-,0459	,0347
	t63	-,0043	,01210	1,000	-,0446	,0361
t57	t0	-,0333	,01232	,260	-,0743	,0078
	t7	-,0270	,01210	,614	-,0673	,0134
	t13	,0052	,01210	1,000	-,0351	,0456
	t21	,0267	,01210	,635	-,0137	,0670
	t28	,0026	,01210	1,000	-,0378	,0429
	t42	-,0203	,01210	,956	-,0607	,0200
	t49	,0056	,01210	1,000	-,0347	,0459
	t63	,0013	,01232	1,000	-,0397	,0424
t63	t0	-,0346	,01232	,202	-,0757	,0065
	t7	-,0283	,01210	,520	-,0687	,0120
	t13	,0039	,01210	1,000	-,0365	,0442
	t21	,0253	,01210	,726	-,0150	,0657
	t28	,0012	,01210	1,000	-,0391	,0416
	t42	-,0217	,01210	,917	-,0620	,0186
	t49	,0043	,01210	1,000	-,0361	,0446
	t57	-,0013	,01232	1,000	-,0424	,0397

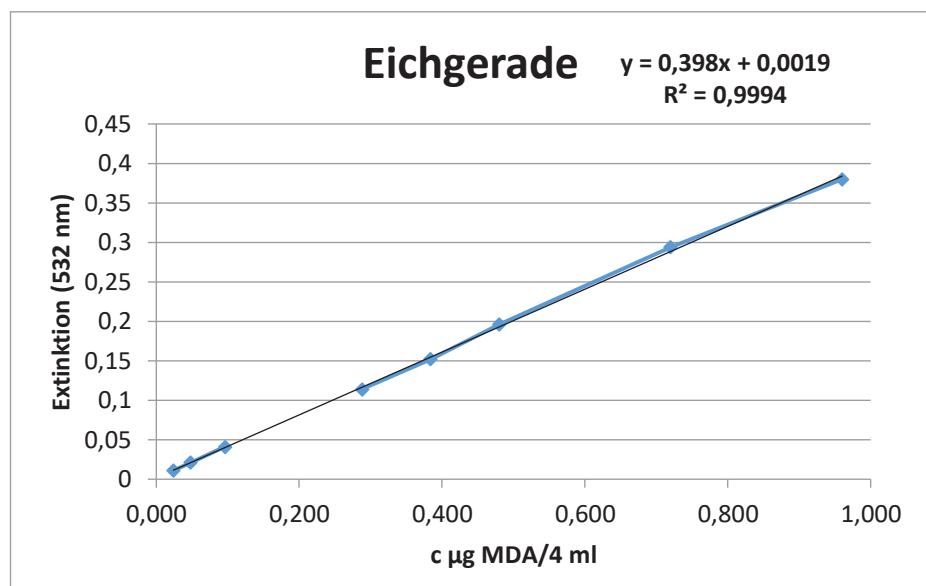
\*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

## Anlage 13: Ergebnisse zur Bestimmung der TBARS in der Leberwurst

Konzentration der TBARS an  $t_0$ :

Probe	Einwaage [g]	Abs. [532 nm]	M	TBARS-Wert [mg MDA/ kg Gewebe]	M	SD
Matrixprobe	2,01	0,067	0,065	0,3255	0,316	0,0141
	2,01	0,063		0,3055		
0,01 % HS02	2,01	0,065	0,067	0,3155	0,326	0,0141
	2,01	0,069		0,3355		
0,01 % Beta-Extrakt	2,02	0,107	0,092	0,5229	0,449	0,1042
	2,01	0,077		0,3755		

c [ $\mu$ g MDA/ 4 ml]	Abs. [532 nm]
0,024	0,011
0,048	0,021
0,096	0,041
0,192	*
0,288	0,114
0,384	0,152
0,480	0,196
0,720	0,294
0,960	0,380



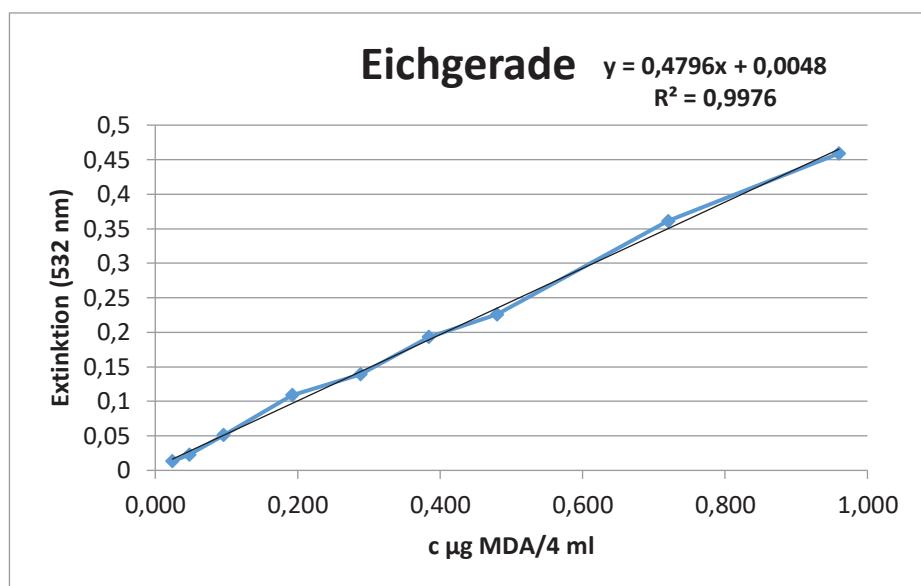
\*Messfehler

$$\text{TBARS-Wert} \left[ \frac{\text{mg MDA}}{\text{kg Gewebe}} \right] = \frac{(E_{532 \text{ nm}} - 0,0019) * 4}{0,398 * \text{Einwaage} [\text{g}]}$$

Konzentration der TBARS an t<sub>7</sub>:

Probe	Einwaage [g]	Abs. [532 nm]	M	TBARS-Wert [mg MDA/ kg Gewebe]	M	SD
Matrixprobe	2,05	0,108	0,105	0,4207	0,407	0,0141
	2,04	0,101		0,3933		
0,01 % HS02	2,02	0,094	0,086	0,3679	0,332	0,0141
	2,04	0,077		0,2953		
0,01 % Beta-Extrakt	2,06	0,116	0,116	0,4513	0,453	0,1042
	2,04	0,116		0,4549		

c [µg MDA/ 4 ml]	Abs. [532 nm]
0,024	0,013
0,048	0,023
0,096	0,051
0,192	0,109
0,288	0,139
0,384	0,193
0,480	0,226
0,720	0,361
0,960	0,459

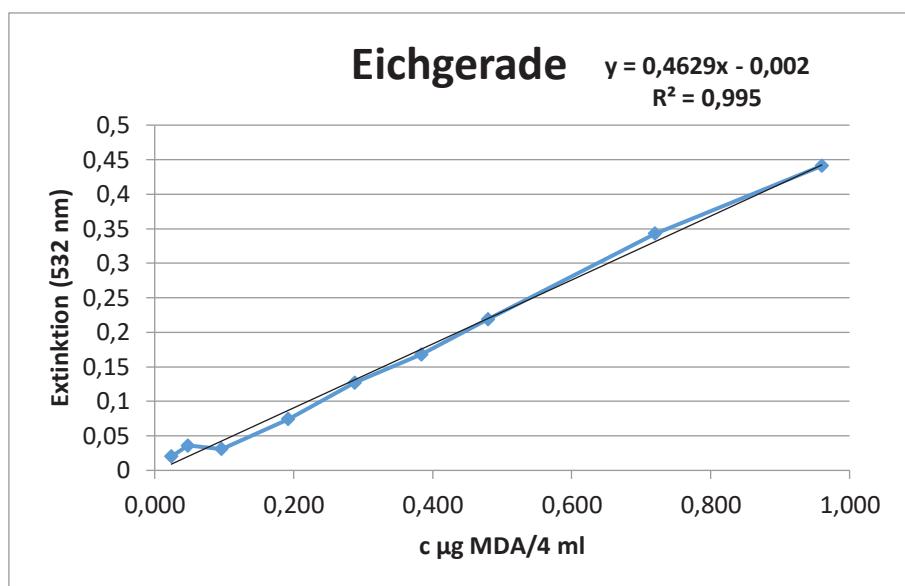


$$\text{TBARS-Wert} \left[ \frac{\text{mg MDA}}{\text{kg Gewebe}} \right] = \frac{(E_{532 \text{ nm}} - 0,0048) * 4}{0,4796 * \text{Einwaage} [\text{g}]}$$

Konzentration der TBARS an  $t_{13}$ :

Probe	Einwaage [g]	Abs. [532 nm]	M	TBARS-Wert [mg MDA/ kg Gewebe]	M	SD
Matrixprobe	2,02	0,089	0,084	0,3893	0,370	0,0278
	2,00	0,079		0,3500		
0,01 % HS02	2,02	0,063	0,070	0,2781	0,305	0,0382
	2,03	0,076		0,3320		
0,01 % Beta-Extrakt	2,02	0,078	0,086	0,3422	0,374	0,0454
	2,02	0,093		0,4064		

c [ $\mu$ g MDA/ 4 ml]	Abs. [532 nm]
0,024	0,02
0,048	0,036
0,096	0,031
0,192	0,074
0,288	0,127
0,384	0,168
0,480	0,219
0,720	0,343
0,960	0,441

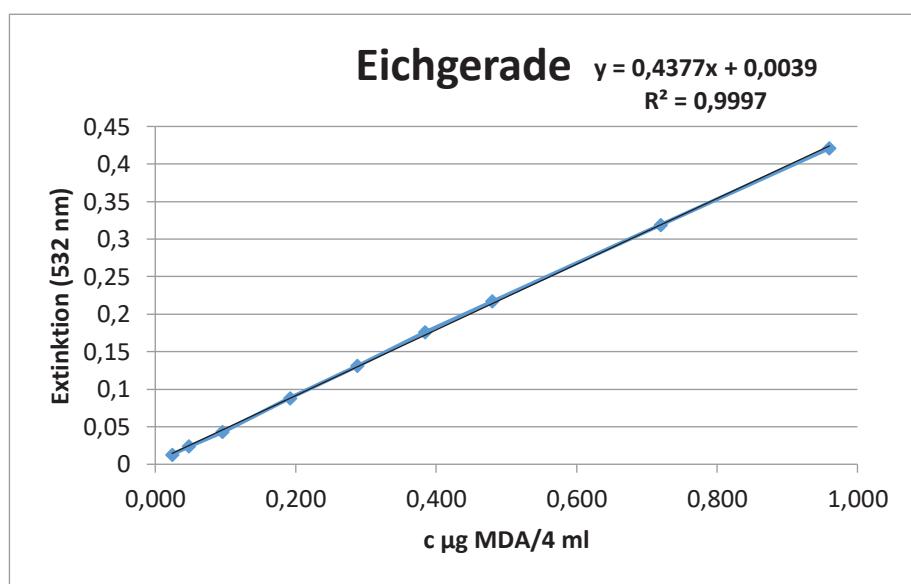


$$\text{TBARS-Wert} \left[ \frac{\text{mg MDA}}{\text{kg Gewebe}} \right] = \frac{(E_{532 \text{ nm}} + 0,002) * 4}{0,4629 * \text{Einwaage [g]}}$$

Konzentration der TBARS an  $t_{21}$ :

Probe	Einwaage [g]	Abs. [532 nm]	M	TBARS-Wert [mg MDA/ kg Gewebe]	M	SD
Matrixprobe	2,00	0,067	0,075	0,2883	0,323	0,0497
	1,99	0,082		0,3587		
0,01 % HS02	2,00	0,064	0,067	0,2746	0,288	0,0194
	2,00	0,070		0,3020		
0,01 % Beta-Extrakt	2,00	0,081	0,080	0,3523	0,348	0,0065
	2,00	0,079		0,3432		

c [ $\mu$ g MDA/ 4 ml]	Abs. [532 nm]
0,024	0,013
0,048	0,024
0,096	0,043
0,192	0,088
0,288	0,131
0,384	0,176
0,480	0,217
0,720	0,319
0,960	0,421

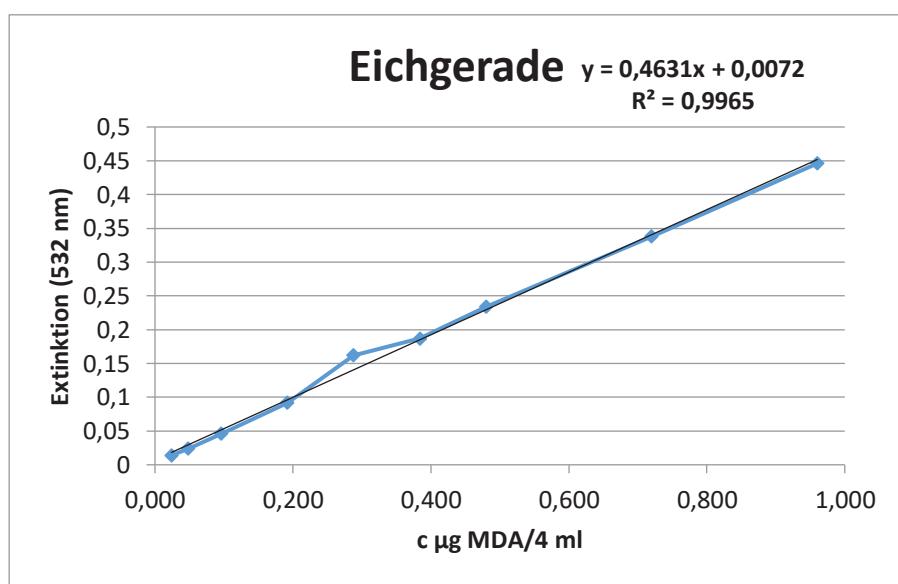


$$\text{TBARS-Wert} \left[ \frac{\text{mg MDA}}{\text{kg Gewebe}} \right] = \frac{(E_{532 \text{ nm}} - 0,0039) * 4}{0,4377 * \text{Einwaage [g]}}$$

Konzentration der TBARS an  $t_{28}$ :

Probe	Einwaage [g]	Abs. [532 nm]	M	TBARS-Wert [mg MDA/ kg Gewebe]	M	SD
Matrixprobe	2,01	0,079	0,080	0,3085	0,313	0,0061
	2,01	0,081		0,3171		
0,01 % HS02	2,01	0,065	0,064	0,2484	0,242	0,0091
	2,01	0,062		0,2355		
0,01 % Beta-Extrakt	2,01	0,071	0,072	0,2742	0,278	0,0061
	2,01	0,073		0,2828		

c [ $\mu$ g MDA/ 4 ml]	Abs. [532 nm]
0,024	0,014
0,048	0,024
0,096	0,046
0,192	0,092
0,288	0,162
0,384	0,187
0,480	0,234
0,720	0,338
0,960	0,446

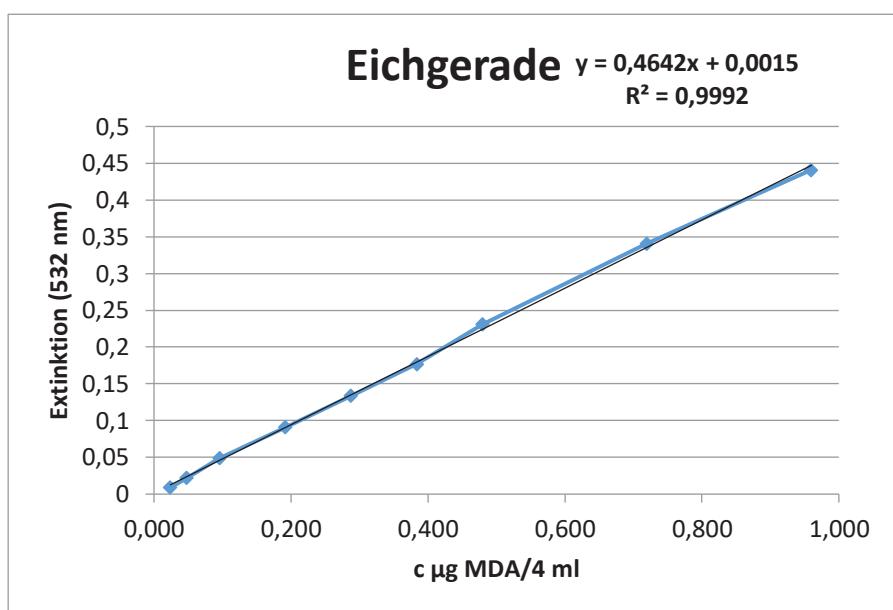


$$\text{TBARS-Wert} \left[ \frac{\text{mg MDA}}{\text{kg Gewebe}} \right] = \frac{(E_{532 \text{ nm}} - 0,0072) * 4}{0,4631 * \text{Einwaage [g]}}$$

Konzentration der TBARS an  $t_{42}$ :

Probe	Einwaage [g]	Abs. [532 nm]	M	TBARS-Wert [mg MDA/ kg Gewebe]	M	SD
Matrixprobe	2,00	0,072	0,069	0,3037	0,289	0,0213
	2,00	0,065		0,2736		
0,01 % HS02	2,01	0,065	0,067	0,2722	0,279	0,0101
	2,00	0,068		0,2865		
0,01 % Beta-Extrakt	2,00	0,090	0,087	0,3813	0,366	0,0213
	2,00	0,083		0,3511		

c [ $\mu$ g MDA/ 4 ml]	Abs. [532 nm]
0,024	0,009
0,048	0,022
0,096	0,049
0,192	0,091
0,288	0,134
0,384	0,177
0,480	0,231
0,720	0,341
0,960	0,441



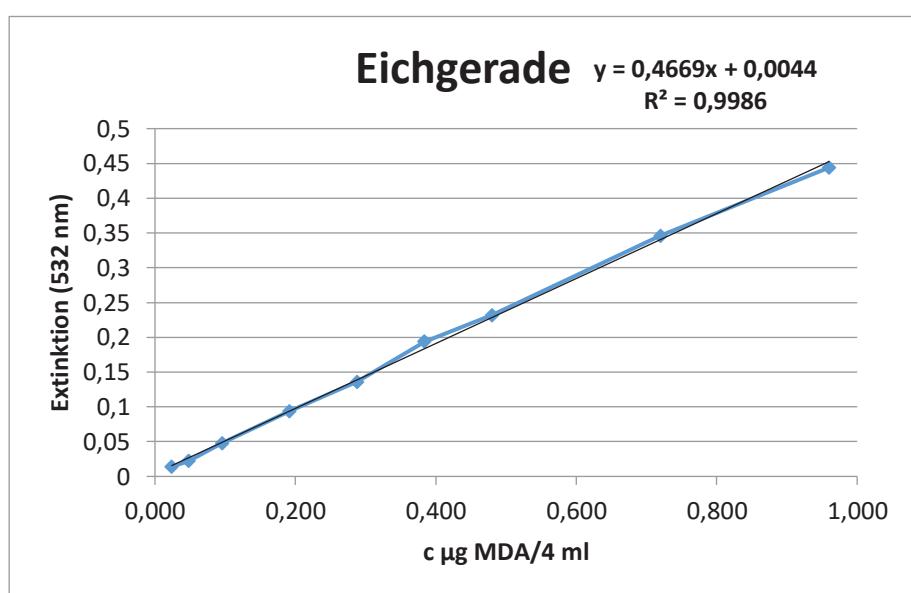
$$\text{TBARS-Wert} \left[ \frac{\text{mg MDA}}{\text{kg Gewebe}} \right] = \frac{(E_{532 \text{ nm}} - 0,0015) * 4}{0,4642 * \text{Einwaage} [\text{g}]}$$

Konzentration der TBARS an  $t_{49}$ :

Probe	Einwaage [g]	Abs. [532 nm]	M	TBARS-Wert [mg MDA/ kg Gewebe]	M	SD
Matrixprobe	2,00	0,082	0,075	0,3324	0,302	0,0424
	2,00	0,068		0,2724		
0,01 % HS02	2,00	0,075	0,075	0,3024	0,302	-
	2,00	*		-		
0,01 % Beta-Extrakt	2,00	0,088	0,088	0,3581	0,358	-
	2,00	*		-		

\*Messfehler

c [ $\mu$ g MDA/ 4 ml]	Abs. [532 nm]
0,024	0,014
0,048	0,022
0,096	0,048
0,192	0,094
0,288	0,136
0,384	0,194
0,480	0,232
0,720	0,346
0,960	0,444



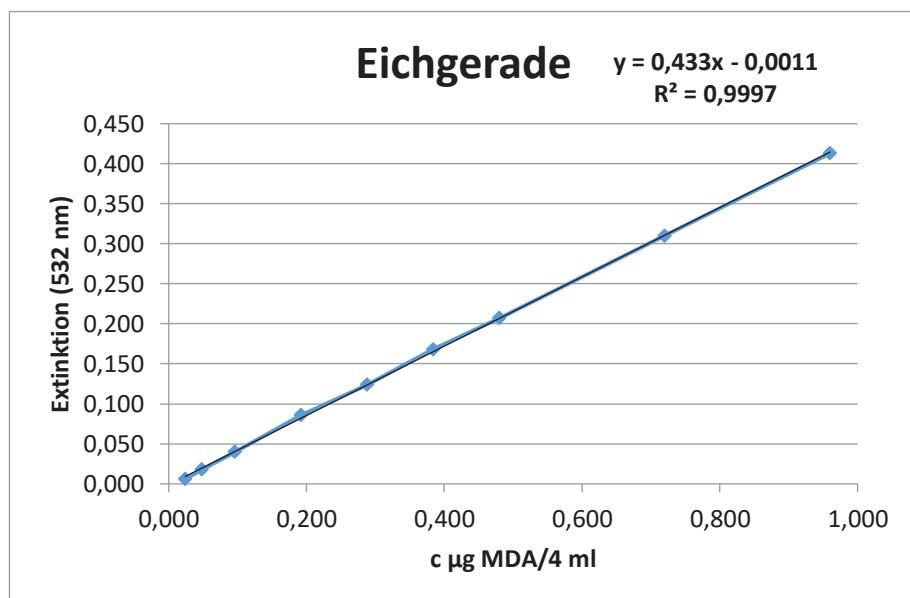
$$\text{TBARS-Wert} \left[ \frac{\text{mg MDA}}{\text{kg Gewebe}} \right] = \frac{(E_{532 \text{ nm}} - 0,0044) * 4}{0,4669 * \text{Einwaage} [\text{g}]}$$

Konzentration der TBARS an  $t_{57}$ :

Probe	Einwaage [g]	Abs. [532 nm]	M	TBARS-Wert [mg MDA/ kg Gewebe]	M	SD
Matrixprobe	1,99	0,077	0,074	0,3620	0,345	0,0234
	2,03	0,071		0,3289		
0,01 % HS02	2,07	0,075	0,075	0,3401	0,340	-
	2,05	*		-		
0,01 % Beta-Extrakt	2,00	0,077	0,079	0,3606	0,362	0,0025
	2,06	0,080		0,3642		

\*Messfehler

c [ $\mu$ g MDA/ 4 ml]	Abs. [532 nm]
0,024	0,006
0,048	0,018
0,096	0,040
0,192	0,086
0,288	0,124
0,384	0,168
0,480	0,207
0,720	0,310
0,960	0,413



$$\text{TBARS-Wert} \left[ \frac{\text{mg MDA}}{\text{kg Gewebe}} \right] = \frac{(E_{532 \text{ nm}} + 0,0011) * 4}{0,433 * \text{Einwaage} [\text{g}]}$$

**Mehrfachvergleiche**

nach Gabriel (Tag)

(I)Tag	(J)Tag	(I-J)	Mittlere Differenz	Standard Fehler	Sig.	95%-Konfidenzintervall	
						Untergrenze	Obergrenze
t0	t7	-,03383	,019914	,891		-,10380	,03614
	t13	,01373	,019914	1,000		-,05624	,08370
	t21	,04355	,019914	,580		-,02642	,11352
	t28	,08565*	,019914	,008		,01568	,15562
	t42	,05200	,019914	,307		-,01797	,12197
	t49	,04708	,022265	,624		-,03076	,12491
	t57	,01224	,020886	1,000		-,06107	,08555
t7	t0	,03383	,019914	,891		-,03614	,10380
	t13	,04757	,019914	,440		-,02240	,11754
	t21	,07738*	,019914	,022		,00741	,14735
	t28	,11948*	,019914	,000		,04951	,18945
	t42	,08583*	,019914	,008		,01586	,15580
	t49	,08091*	,022265	,037		,00308	,15874
	t57	,04607	,020886	,564		-,02724	,11938
t13	t0	-,01373	,019914	1,000		-,08370	,05624
	t7	-,04757	,019914	,440		-,11754	,02240
	t21	,02982	,019914	,960		-,04015	,09979
	t28	,07192*	,019914	,040		,00195	,14189
	t42	,03827	,019914	,766		-,03170	,10824
	t49	,03334	,022265	,958		-,04449	,11117
	t57	-,00149	,020886	1,000		-,07480	,07182
t21	t0	-,04355	,019914	,580		-,11352	,02642
	t7	-,07738*	,019914	,022		-,14735	-,00741
	t13	-,02982	,019914	,960		-,09979	,04015
	t28	,04210	,019914	,632		-,02787	,11207
	t42	,00845	,019914	1,000		-,06152	,07842
	t49	,00353	,022265	1,000		-,07431	,08136
	t57	-,03131	,020886	,960		-,10462	,04200
t28	t0	-,08565*	,019914	,008		-,15562	-,01568
	t7	-,11948*	,019914	,000		-,18945	-,04951
	t13	-,07192*	,019914	,040		-,14189	-,00195
	t21	-,04210	,019914	,632		-,11207	,02787
	t42	-,03365	,019914	,895		-,10362	,03632
	t49	-,03857	,022265	,871		-,11641	,03926
	t57	-,07341*	,020886	,049		-,14672	-,00010
t42	t0	-,05200	,019914	,307		-,12197	,01797
	t7	-,08583*	,019914	,008		-,15580	-,01586

	t13	-,03827	,019914	,766	-,10824	,03170
	t21	-,00845	,019914	1,000	-,07842	,06152
	t28	,03365	,019914	,895	-,03632	,10362
	t49	-,00492	,022265	1,000	-,08276	,07291
	t57	-,03976	,020886	,776	-,11307	,03355
t49	t0	-,04708	,022265	,624	-,12491	,03076
	t7	-,08091*	,022265	,037	-,15874	-,00308
	t13	-,03334	,022265	,958	-,11117	,04449
	t21	-,00353	,022265	1,000	-,08136	,07431
	t28	,03857	,022265	,871	-,03926	,11641
	t42	,00492	,022265	1,000	-,07291	,08276
	t57	-,03484	,023138	,958	-,11601	,04634
t57	t0	-,01224	,020886	1,000	-,08555	,06107
	t7	-,04607	,020886	,564	-,11938	,02724
	t13	,00149	,020886	1,000	-,07182	,07480
	t21	,03131	,020886	,960	-,04200	,10462
	t28	,07341*	,020886	,049	,00010	,14672
	t42	,03976	,020886	,776	-,03355	,11307
	t49	,03484	,023138	,958	-,04634	,11601

\*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

### nach Gabriel (Extrakte)

(I)Extrakt	(J)Extrakt	Differenz (I-J)	Mittlere		95%-Konfidenzintervall	
			Standard Fehler	Sig.	Untergrenze	Obergrenze
Matrixprobe	HS02	,03412*	,012623	,039	,00152	,06671
	Beta	-,04161*	,012396	,009	-,07364	-,00959
HS02	Matrixprobe	-,03412*	,012623	,039	-,06671	-,00152
	Beta	-,07573*	,012818	,000	-,10885	-,04262
Beta	Matrixprobe	,04161*	,012396	,009	,00959	,07364
	HS02	,07573*	,012818	,000	,04262	,10885

\*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

**Erklärung über die selbstständige Anfertigung der Arbeit**

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe und keine anderen als die genannten Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Ich erkläre weiterhin, dass die abgegebene elektronische Fassung mit der eingereichten Arbeit identisch ist.

Neubrandenburg, den 01.11.2018

---

Ort, Datum

---

Andrej Ganske