Leibniz Online 10/2011
Zeitschrift der Leibniz-Sozietät e. V.
ISSN 1863-3285
http://www.leibniz-sozietaet.de/journal/archive/10_11/Jacobasch_ua_2.pdf

G. Jacobasch, G. Dongowski, J. Hempel

Flavonoide und Pektin in den essbaren Ebereschenfrüchten

1. Einleitung

Die essbaren Ebereschen, *Sorbus aucuparia* var. *Edulis*, zählen zur Familie der Rosengewächse und zwar zur Unterfamilie Spiraeodeae mit der Gattung Maulbeere und der Art Vogelbeere [1]. Die relativ anspruchslosen und widerstandfähigen Bäume mit ihrer pyramidalen Kronenbildung eignen sich besonders für Obstalleen aber auch für die Anpflanzung im Garten. Im Frühling bilden sie schirmartige, weiße Blütenrispen, die aus 200 bis 300 Einzelblüten bestehen. Im August reifen die in Büscheln angeordneten korallenroten Früchte, die einen Durchmesser bis zu etwa 1 cm erreichen und vielfältig verwendet werden können (**Abb. 1**). Der Vogelbeerbaum, dessen Holz eine sehr schöne Maserung zeigt, wurde 1997 zum Baum des Jahres gewählt.



Abb. 1. *Essbare Ebereschenfrüchte (Sorbus aucuparia var. Edulis).*
Quelle: http://de.wikipedia.org/wiki/Eberesche

Die mediterrane und japanische Ernährung gilt als gesundheitsfördernd, da sie u. a. reich an Inhaltsstoffen von Obst und Gemüse ist. Dazu zählen auch die Flavonoide und Phenolsäuren einschließlich ihrer Biotransformationsprodukte [2]. Die Konzentration dieser Verbindungen ist besonders hoch in den äußeren, der Sonne ausgesetzten Gewebeschichten, da Flavonoide eine Schutzfunktion gegenüber UV-Strahlen ausüben.

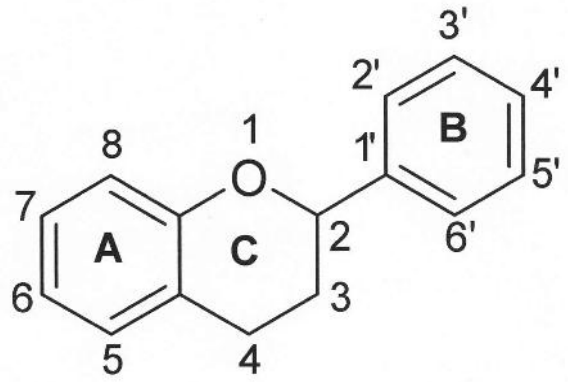


Abb.2. *Grundstruktur der Flavonoide mit den Ringen A, B und C sowie der Nummerierung der Atome in den Ringen*

Abb. 2 zeigt die Grundstruktur der Flavonoide. Die Vielzahl an Flavonoiden (>4000 Verbindungen) ist auf Modifizierungen in den Positionen 5, 7, 3 und 3`, 4`und 5` durch Hydroxy-, Methoxy- und O-glykosidische Gruppen zurückzuführen. Die Aglykone der Flavonoide lassen sich 7 Hauptgruppen zuordnen:

1. Flavanone (Zitrusfrüchte)
2. Flavone (Sellerie, Petersilie, Möhren, Pfeffer)
3. Isoflavone (Sojabohnen, Kichererbsen, Tofu)
4. Flavanole (Kakao, Schokoladen, grüner, schwarzer Tee, Bohnen)
5. Flavonole (Äpfel, Zwiebeln, Salat, Buchweizen, Brokkoli, Erbsen, schwarzer Tee)
6. Anthocyane (Beerenfrüchte, Rotwein, Kirschen, Pflaumen, Rotkohl)

In einigen Ländern ist die Flavonoidzufuhr mit der Nahrung besonders hoch, z. B. in Japan, Kroatien, Italien, Griechenland und in den Niederlanden. Zu den Hauptquellen zählt in Japan und in den Niederlanden, außer unterschiedlichem Gemüse und Obst, der Tee. In Italien und Kroatien wird dagegen ein großer Anteil des Flavonoidbedarfs durch den Konsum von Rotwein gedeckt. In Finnland sind neben Zwiebeln die Hauptquellen Beerenfrüchte und Tee [3]. Durchschnittlich werden in diesen Ländern etwa 20 mg Flavonoide pro Tag (berechnet auf den enthaltenen Anteil an Aglykonen) aufgenommen. Fast die Hälfte davon entfällt auf Flavonole, vor allem auf Quercetinglykoside. Nach Hertog und Hollman [2] wurden 179 verschiedene Quercetinglykoside identifiziert. Aufgrund der nachgewiesenen antiinflammatorischen und positiven kardiovaskulären Effekte von Quercetin sowie seiner chemopräventiven Wirkung bei Tumorerkrankungen hat dieses Flavonol ein besonderes wissenschaftliches Interesse erlangt [4]. Zu verweisen ist außerdem auf die bakteriostatischen Effekte von Quercetin, u. a. auf die Mikroorganismen *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sv. *Typhimurium* und *E. coli* [5]. Quercetinreiche Nahrungsmittel, wie z. B. Zwiebeln, Buchweizen und zahlreiche

Früchte, spielen deshalb in einer gesunden Ernährung eine besondere Rolle. Quercetin (querus, lateinisch Eiche) ist ein gelber Naturfarbstoff.

Die in den Zellwänden von Obst und Gemüse vorkommenden Pektinstoffe besitzen eine sehr komplexe Heteropolysaccharidstruktur. Der wichtigste Baustein ist die Galakturonsäure, daneben sind verschiedene neutrale Saccharide in den Pektinstoffen vorhanden. Das so genannte Homogalakturonan (Galakturonan), aus dem etwa 60 % der Pektinstoffe bestehen, ist aus langen Ketten von α-1,4-verknüpften Galakturonsäure-Einheiten aufgebaut. Die Carboxylgruppen der Galakturonsäuren können teilweise mit Methanol verestert sein (**Abb. 3**). Pektine werden als Ballaststoffe von den Enzymen des Dünndarms nicht gespalten. Im Dickdarm werden sie jedoch von der Mikroflora sehr gut fermentiert, wobei als Hauptprodukt der Fermentation Azetat entsteht.

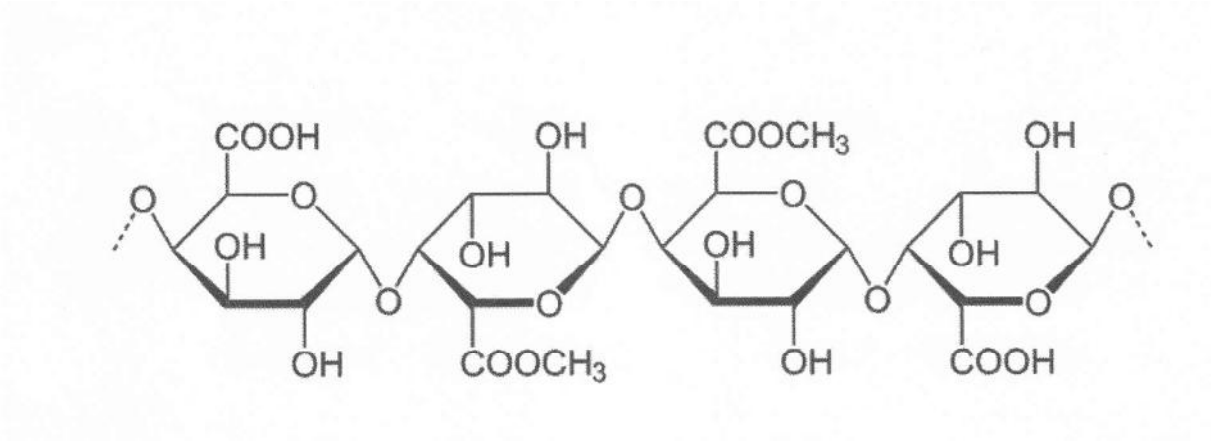


Abb. 3. *Grundstruktur des Galakturonans mit teilweise veresterten Carboxylgruppen*

Wichtige physiologische Wirkungen von Pektinen sind eine erhöhte Bindung und Ausscheidung von Gallensäuren und neutralen Sterolen und damit in Zusammenhang stehend eine Senkung des LDL-Cholesterolspiegels bei Hypercholesterolämikern, die Erhöhung der Viskosität im Chymus und eine geringere Verwertung der Nahrungsenergie. Weiterhin bewirken sie eine Abflachung des postprandialen Anstiegs der Glukosekonzentration im Blut, höhere Faecesgewichte und die Bindung von toxischen Metallen. Pektine üben auch einen Einfluss auf die Barrierefunktion der Darmschleimhaut aus und sind an verschiedenen biochemischen Reaktionen beteiligt [6].

Pektine werden in großtechnischem Maßstab vor allem aus Äpfeln und Zitrusfrüchten gewonnen und in der Lebensmittelindustrie als Geliermittel, Stabilisator oder zur Viskositätserhöhung eingesetzt.

Ebereschenfrüchte sind besonders reich an Polyphenolen. Deshalb wurden in mehreren Ländern Hybride der wilden, bitteren Eberesche mit Malus, Pyrus, Aronia und Mespillus kultiviert, die im Norden und Osten Europas gut wachsen und „süße“ für den Menschen gut genießbare Früchte liefern. Beispiele dafür sind die Varianten Burka, Dessertnaja, Eliit, Granatnaja, Kubovaja, Rosina, Rubmovaja, Titan und Zoltaja [7].

Das Ziel dieser Arbeit war es, den Anteil an Quercetinglykosiden und Pektin in den nicht bitteren, essbaren mährischen Ebereschenfrüchten, die in Tschechien, der Slowakei und im Osten Deutschlands bevorzugt zu finden sind, zu bestimmen. Außerdem sollte geprüft werden, ob der Erntezeitpunkt und eine einjährige Lagerung der Früchte bei -20 °C den Gehalt an Flavonoiden verändert.

2. Bestimmung der Quercetinglykoside

Zur Bestimmung der Quercetinglykoside wurden vier eingefrorene Ernteproben der essbaren Ebereschenfrüchte, aus eigener Ernte in Brandenburg, analysiert. Die Beeren wurden getrennt in flüssigem Stickstoff fixiert, anschließend im Warring Blender zerkleinert, lyophilisiert und fein gemahlen. Je 1 g der Proben wurden zur Entfernung der Lipide vierfach mit je 50 ml siedendem Methanol am Rückflußkühlkolben extrahiert. Der Extrakt wurde abfiltriert. Die vereinigten Filtrate wurden im Rotationskolbenverdampfer bei 40 °C bis zur Trockne eingeengt. Der Rückstand wurde in 80%igem Methanol gelöst und filtriert. 2 ml des Filtrates wurden an einer konditionierten C-18-Kartusche gereinigt und mit 5 ml 75%igem Methanol/0,3%iger H_3PO_4 nachgewaschen. Das Eluat wurde auf 10 ml aufgefüllt und vor der HPLC-Bestimmung über ein 0,2 µm PTFE -Filter gegeben. Die Flavonoidanalyse erfolgte mittels einer RP-HPLC-Anlage der Fa. Jasco (Großbritannien) und Diodenarray-Detektion (DAD). Zur Trennung der phenolischen Verbindungen wurde eine LiChrospher 100 RP-18-Säule (Fa. Merck, Darmstadt) bei 30 °C verwendet. Als mobile Phase diente ein Gradient aus H_2O und 2%iger Essigsäure (Puffer A) sowie Acetonitril und 2%ige Essigsäure (Puffer B) mit einem Fluss von 0,8 ml/min. Anhand der Retentinonszeiten (RT 13,9; 21,5; 23,6) wurde im Chromatogramm der Rutinpeak (Quercetin-3-rutinosid) identifiziert und die Fläche berechnet. Das Chromatogramm zeigte neben dem Rutinpeak noch einen kleinen Anthocyanpeak sowie 3 Mikropeaks, die nicht zugeordnet werden konnten. Die erhaltenen Befunde von 4 Ebereschenernten sind in **Tab. 1** zusammengefasst.

Tabelle 1. Rutingehalt in essbaren Ebereschenfrüchten aus vier Ernteproben

Ernteprobe*	Erntedatum	Rutingehalt (mg/g TM)
1	5. August**	0,776
2	26. Juli	0,855
3	9. August	0,645
4	16. August	0,529

* Zwischenlagerung im gefrorenen Zustand

** Probennahme: Vorjahr

TM = Trockenmasse

Die Rutinkonzentration unterschied sich in den Früchten, die zu unterschiedlichen Zeiten geerntet wurden, nur geringfügig. Aus den Befunden ließ sich lediglich eine Tendenz zur Abnahme des Flavonoidgehaltes bei Überreife der Früchte ableiten. Dagegen konnte bei einer einjährigen Lagerung der Früchte bei -20 °C kein wesentlicher Verlust an Rutin festgestellt werden.

Von der Ernteprobe 3 wurde außerdem ein Hydrolysat hergestellt und in diesem mittels HPLC der Aglykonbereich analysiert. Dazu wurde die Hydrolyse nach Hertog und Mitarb. [8] durchgeführt.Dazu wurden 0,5 g Trockenmasse (TM) der fein gemahlenen Ebereschen mit 20 ml 62,5%igem Methanol versetzt und anschließend 5 ml 6 M HCl zugefügt. Diese Probe

wurde dann 1 Stunde bei 90 °C im Wasserbad unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurden die Proben neutralisiert, lyophilisiert, in Methanol gelöst, über PTFE-Filter filtriert und die HPLC-DAD-Analyse durchgeführt. Im Chromatogramm wurden 2 bis 3 Verbindungen gefunden. Der Peak bei RT 33,5 entsprach Quercetin. Die Konzentration lag bei 0,32 mg Quercetin/g TM Ebereschen. Außerdem konnten kleinere Mengen an Hydroxyzimtsäure und Neochlorogensäure nachgewiesen werden. Aus den Befunden lässt sich ableiten, dass das dominierende Quercetinglykosid in Ebereschen Rutin ist. Die Strukturformel von Rutin ist in **Abb. 4** dargestellt. Die Flavonoidkonzentration in Ebereschen ist damit etwa fünfmal höher als in Äpfeln, außerdem weisen die Früchte weniger unterschiedliche Quercetinglykoside als Äpfel auf.

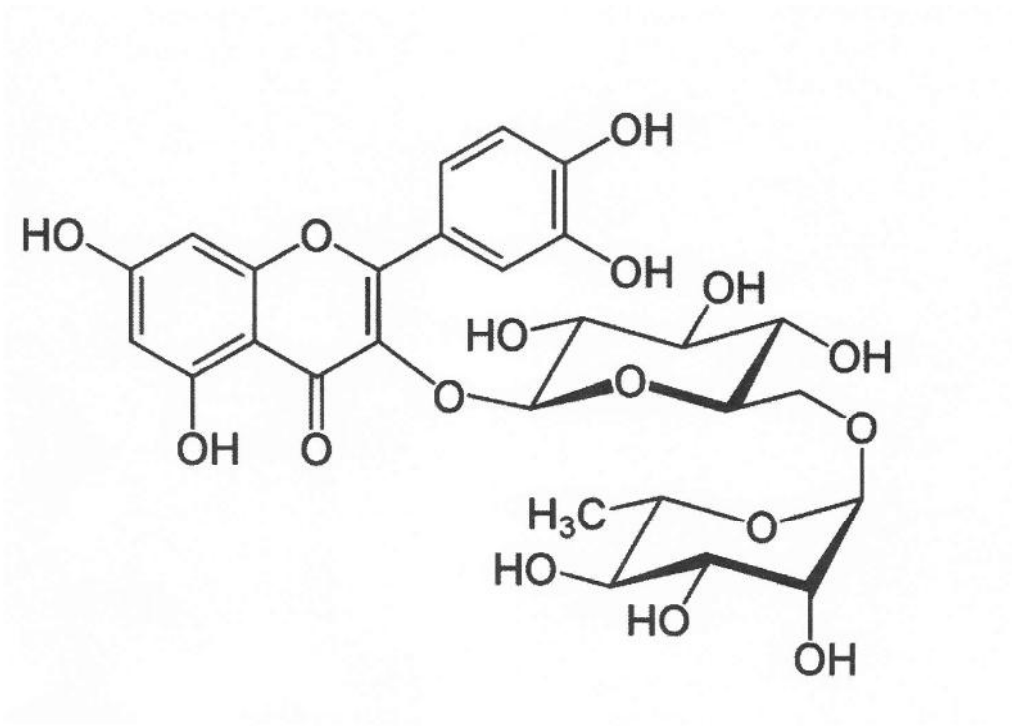


Abb. 4. *Strukturformel von Rutin*

3. Bestimmung des Pektingehalts

Um Ähnlichkeiten an Inhaltsstoffen in Äpfeln und Ebereschen herausstellen zu können, wurde auch der Pektingehalt der Ebereschen in den 4 Ernteproben bestimmt. Von jeder Probe wurde zunächst eine Alkohol-unlösliche Substanz (AUS) gewonnen. Dazu wurden 250 g der eingefrorenen Früchte mit der doppelten Menge an 96%igem Ethanol versetzt und in einem Ultra-Turrax zerkleinert. Anschließend wurden die Proben in 1,5 l 66%igem Ethanol unter Rückfluss gekocht. Nach dem Absaugen wurden zwei weitere Extraktionen über 15 min mit kochendem 66%igem Ethanol vorgenommen. Der Rückstand wurde dann mit 80- und 90%igem Ethanol sowie Aceton gewaschen und an der Luft und im Vakuum getrocknet. Durch die beschriebenen Aufarbeitungsschritte ließ sich eine lagerfähige, pulverförmige AUS herstellen, in der die niedermolekularen und in Ethanol löslichen Substanzen abgetrennt und die pflanzeneigenen Enzyme inaktiviert waren. **Tab. 2** zeigt den Anteil der analysierten Ausbeuten an AUS.

Tabelle 2. Ausbeute an Alkohol-unlöslicher Substanz (AUS) in den Ernteproben von essbaren Ebereschenfrüchten sowie Gehalt an Pektinfraktionen in den AUS

Ernteprobe	Ausbeute an	Pektin (Galakturonan) in der AUS (g/100 g)*		
	AUS (%)	Gesamt-pektin	EDTA-lösliches Pektin	Wasserlösliches Pektin
1	7,08	12,71 ± 0,53	5,28 ± 0,16	1,64 ± 0,17
2	5,93	12,50 ± 0,32	5,39 ± 0,50	1,36 ± 0,03
3	5,67	12,45 ± 0,60	4,56 ± 0,35	1,41 ± 0,21
4	5,33	12,31 ± 0,47	4,70 ± 0,32	

* Werte sind Durchschnittswerte ± SD; n = 5-8

Die Werte in **Tab.2** deuten auf eine leichte Abnahme an AUS-Ausbeuten mit zunehmender Reife der Ebereschen hin. In den gewonnenen AUS der vier Ernteproben wurde auch der Gehalt an Gesamtpektin sowie an EDTA-löslichem und wasserlöslichem Pektin (jeweils als Galakturonan) [9] mit der meta-Hydroxydiphenylmethode bestimmt. Die Analyse des Veresterungsgrades des Galakturonans mit Methanol erfolgte nach der Chromotropsäuremethode [10]. In **Tab. 2** sind die Ergebnisse zusammengefasst. Weder der Gesamtpektingehalt noch der prozentuale Anteil an EDTA- und wasserlöslichem Pektin unterschied sich in den Ebereschen, die zu verschiedenen Zeiten geerntet wurden, signifikant. Berücksichtigt man, dass durchschnittlich etwa 12,5 % der AUS auf Galacturonan entfallen, ergibt sich eine Konzentration von 0,90 bis 0,66 g Pektin/100 g frischen Ebereschenfrüchten (**Tab. 3**). Dabei zeigt sich in der Tendenz eine leicht abnehmende Konzentration sowohl an Gesamtpektin als auch in den löslichen Pektinfraktionen mit der Erntezeit.

Tabelle 3. Gehalt an Gesamtpektin und an löslichen Pektinfraktionen, bezogen auf frische Ebereschenfrüchten

Ernteprobe	Gesamt-pektin* (g/100 g)	EDTA-lösliches Pektin* (g/100 g)	Wasserlösliches Pektin* (g/100 g)
1	0,900	0,374	0,116
2	0,741	0,352	0,081
3	0,706	0,259	0,080
4	0,656	0,251	0,080

4. Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse der durchgeführten Analysen belegen, dass die essbaren mährischen Ebereschenfrüchte im Gehalt an Polyphenolen, Vitamin C und Pektin Ähnlichkeiten zum Apfel aufweisen. In Äpfeln wurden durchschnittlich 1-1,5 g Pektin und 4 mg Quercetin/100 g Frischsubstanz gefunden. Bei den Ebereschen dominiert das Quercetin als Rutin (>85%), dessen Konzentration fünfmal höher als im Apfel ist; der Rest des Flavonoidgehaltes entfällt auf Anthocyane. Der Vitamin C-Gehalt variiert stark in Abhängigkeit von der Apfelsorte. Er beträgt durchschnittlich in beiden Früchten etwa 12 mg/100 g Frischsubstanz. Nur die wilden Ebereschen sind mit 49 mg/100 g Früchten an Vitamin C reicher. Der Veresterungsgrad des Pektins (Galakturonan) im Gesamtpektin der AUS mit Methanol betrug bei den untersuchten Ebereschenfrüchten 70,5 % und bei Äpfeln 85,4 %. Somit sind die Pektine als hoch verestert einzuschätzen. Der Galakturonangehalt in der AUS von Äpfeln ist mit über 20 % fast doppelt so hoch wie in der AUS von Ebereschenfrüchten. Dieser hohe Galakturonangehalt ist ein Grund für den Einsatz der Pressrückstände nach der Apfelsaftgewinnung für die industrielle Pektinproduktion. Andererseits waren die Anteile an löslichen und unlöslichen Ballaststoffen, bestimmt nach der AOAC-Methode [11], ähnlich. In Apfel-AUS wurden 72 % unlösliche und 16 % lösliche Ballaststoffe und in der AUS aus Ebereschenbeeren wurden 60 % unlösliche und 18 % lösliche Ballaststoffe gefunden. Die Bindung verschiedener Gallensäuren (Glycocholsäure, Glycochenodesoxycholsäure, Glycodesoxycholsäure) war in einem *In-vitro*-Test sowohl bei pH 5, 0 als auch bei pH 6,5 bei beiden AUS sehr ähnlich [12]. Diese Wechselwirkungen sind eine Voraussetzung für die erhöhte Exkretion von Gallensäuren in Gegenwart Ballaststoffen und damit für die Senkung des Cholesterolspiegels.

Die Befunde unterstreichen, dass die Ebereschen nicht zu den Beerenfrüchten sondern zu den Kernobstgewächsen (Pyrinae), d. h. zu den Apfelfrüchten, zählen. Im Gegensatz zu Äpfeln lassen sich aber Ebereschenfrüchte hervorragend einfrieren. Sie können zu jedem gewünschten Zeitpunkt aufgetaut und für die Zubereitung der verschiedensten Gerichte genutzt werden. Während der Lagerung im gefrorenen Zustand tritt kein Verlust an Flavonoiden auf. Obwohl essbare Ebereschen ähnlich wie Preiselbeeren (Heidekrautgewächse) zubereitet werden, unterscheiden sich beide Pflanzen nicht nur durch ihre botanische Zuordnung sondern auch durch ihren Flavonoidgehalt. Im Gegensatz zur Eberesche sind Preiselbeeren noch reicher an Flavonoiden, da sie außer Flavonolen sehr viel höhere Konzentrationen an Anthocya-

nen enthalten. Weiterhin unterscheidet sich die Zusammensetzung der Flavonole; in Preiselbeeren wird außer Quercetin auch Myristin gebildet [13].

Besonders schmackhaft sind Ebereschen zu Wild-, Fleisch- und Fischgerichten. Sie eignen sich aber auch zum Backen von englischem Kuchen oder einer Weihnachtsstolle sowie zum Verzieren von Marzipankonfekt. Der Pektingehalt der Früchte fördert das Gelieren bei der Herstellung von Konfitüren und Gelees. Ebereschenfrüchte werden darüber hinaus auch zur Herstellung von Wein und Likör sowie zum Brennen von Wodka verwendet. Die essbaren Ebereschenfrüchte finden aber nicht nur zunehmend mehr Liebhaber unter den Menschen, sondern die Delikatesse wird auch von Singvögeln, Insekten und einigen Säugetieren gerne verspeist.

Literatur

[1] Düll, R.: Unsere Ebereschen und ihre Bastarde. Die neue Brehm-Bücherei, Heft 226, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Hohenwarsleben (2006) ISBN 3-89432-667-0.

[2] Hertog, M. G. L.; Hollman, P. C. H.: Potential health effects of the dietary flavonol quercetin. Eur. J. Clin. Nutr. 50 (1996) 63-71.

[3] Williams, C. A.; Harbone, J. B.: Flavone and flavonol glycosides. *In*: Harborne, J. B. (Ed.): The Flavonoids: Advances in Research since 1986. Chapman and Hall, London (1993) 337-385.

[4] Jacobasch, G.: Gesundheitsfördernde Wirkungen von Flavonoiden. Sitzungsberichte der Leibniz-Sozietät 80 (2005) 81-90.

[5] Kylli, P.; Nohynek, L.; Puupponen-Pimi, R.; Westerlund-Wikström, B.; McDougall, G.; Stewart, D.; Heinonen, M.: Rowanberry phenolics: Compositional analysis and bioactivities. J. Agric. Food Chem. 58 (2010) 11985-11992.

[6] Jacobasch, G.; Dongowski, G.: Ballaststoffe/Präbiotika: Biologische Wirkungen und gesundheitsfördernde Effekte in der Prävention. *In*: Erbersdobler, H.F., Meyer, A.H. (Hrsg.): Praxishandbuch Functional Food. Behr`s Verlag, Hamburg (2011) 1-99 (im Druck).

[7] Hukkanen, A. T.; Pölönen, S. S.; Kärenlampi, S. O.; Kokko, H. I.: Antioxidant capacity and phenolic content of sweet rowanberries. J. Agric. Food Chem. 54 (2006) 112-119.

[8] Hertog, M. G. L.; Hollman, P. C. H.; Venema, D. P.: Optimization of a quantitative HPLC-determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. J. Agric. Food Chem. 40 (1992) 1591-1598.

[9] Krause, M.; Bock, W.: Zur Bestimmung und Charakterisierung von Pektinstoffen in Obst und Gemüse. Ernährungsforschung 18 (1973) 111-123.

[10] Dongowski, G.: Influence of pectin structure on the interaction with bile acids under *in vitro* conditions. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 201 (1995) 390-398.

[11] Prosky, L.; Asp, N.-G.; Furda, I.; De Vries, J. W.; Schweizer, T. F.; Harland, F.: Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: Interlaboratory study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 71 (1988)1017-1023.

[12] Dongowski, G.: Interactions between dietary fibre-rich preparations and glycoconjugated bile acids *in vitro*. Food Chem. 104 (2007) 390-397.

[13] Kähkönen, M. P.; Hopia, A. I.; Heinonen, M.: Berry phenolics and their antioxidant activity. J. Agric. Food Chem. 49 (2001) 4076-4082.

Die experimentellen Arbeiten wurden in der Abteilung Präventiv-Medizinische Lebensmittelforschung des Deutschen Instituts für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke durchgeführt.

Adresse der Verfasser: G.K.Jacobasch@t-online.de

Zurück zum Inhaltsverzeichnis