



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Garen konventionell bzw. ohne den Zusatz von Wasser.
Wie wird der Vitamin C Gehalt in sechs verschiedenen
Gemüsesorten beeinflusst.

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag. rer.nat.)

Verfasserin:	Rebekka Bottig
Matrikel-Nummer:	0204543
Studienrichtung:	Ernährungswissenschaften
Betreuer:	o. Univ.-Prof. Dr. Ibrahim Elmadfa

Wien, Dezember 2008

Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei meinem Betreuer Prof. Dr. Ibrahim Elmadfa für die Themenvergabe, kompetente Unterstützung sowie die Ratschläge bedanken.

Einen herzlichen Dank an Mag. Agnes Hertel für die engagierte Betreuung beim Erarbeiten der Diplomarbeit im Labor. Danke an Gheorghe für die Hilfe im Labor.

Im Weiteren möchte ich mich bei Dr. Bettina Isnardy und bei Dr. Dorota Majchrzak für die Ergebnisbesprechungen, Korrekturen und fachliche Unterstützung bedanken.

Einen großen Dank gilt Biffi, der viel Geduld während der Labor- und Schreibzeit aufbrachte. Danke für das Zuhören, aufkommende Interesse und offene Ohren bei Tag und Nacht.

Rita, danke dir für die vielen gute Ratschläge während des Studiums, und für deine Hilfsbereitschaft. In den Jahren des Studierens hat sich eine tolle Freundschaft entwickelt.

Für die Unterstützung, nicht nur während des Erarbeitens der Diplomarbeit, möchte ich mich bei meinen Eltern und Schwestern, Yvonne und Daniela bedanken.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Formelverzeichnis.....	V
I. Einleitung und Fragestellung.....	1
II. Literaturüberblick	3
1. Vitamin C	3
1.1. Chemie, Struktur und Eigenschaften von Vitamin C.....	3
1.1.1. Historischer Hintergrund	3
1.1.2. Chemie und Begriffsdefinition von Vitamin C.....	3
1.1.3. Vorkommen, Industrie.....	7
1.2. Physiologische Betrachtung von Vitamin C.....	10
1.2.1. Funktion und Wirkung.....	12
1.2.2. Bedarf und Empfehlungen	15
1.2.3. Mangel.....	15
1.2.4. Hypervitaminose	16
1.3. Ernährungszustand der österreichischen Bevölkerung	17
2. Einfluss der Nahrungsmittelverarbeitung und Zubereitung auf den Vitamin C Gehalt	18
2.1. Einflussfaktoren die zum Vitamin C Verluste führen.....	18
2.2 Garungsverfahren und deren Einfluss auf die Vitamin C Erhaltung	19
2.3. Haltbarmachung und Lagerung	22

III. Methode und Material	25
1. Untersuchungsparameter und Untersuchungsproben	25
1.1. Gegenstände, Materialien und Herstellung der Lösungen	26
1.2. Versuchsaufbau und Ablauf	29
1.3. Probenaufarbeitung	30
1.4. Garen des Gemüses	32
1.5. Extraktion	34
1.6. Bestimmung von AA, DHA und TAA mittels HPLC	35
1.6.1. Laufmitteltests	36
1.6.2. Analysegerät HPLC/ RP	36
1.7. Auswertung	38
1.7.1. Regressionsgerade für die Auswertung	38
1.7.2. Chromatogramme und Berechnung	39
1.8. Trockensubstanz (TS)	40
1.9. Qualitätssicherung	41
1.9.1. Trockenmasse	41
1.9.2. Vitamin C	41
1.10. Statistik	42
IV. Ergebnisse und Diskussion	44
1. Ergebnisse	44
1.1. TK-Bohnen	44
1.2. Kartoffel	48
1.3. Blumenkohl	51
1.4. Brokkoli	54
1.5. Fenchel	57
1.6. Zucchini	58
2. Diskussion der Vitamin C – Ergebnisse	61
V. Schlussbetrachtung	67

VI. Zusammenfassung	71
VII. Summary	72
VIII. Literaturverzeichnis	73

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Chemische Struktur der Vitamin C wirksamen Formen	4
Abbildung 2: Oxidationsvorgänge der L-Ascorbinsäure	6
Abbildung 4: Versuchsablauf	30
Abbildung 5: Probenvorbereitung: Schneiden der Fenchelknollen.....	31
Abbildung 8: AA-Peak einer Kohlsprosse (Referenzmaterial).....	39
Abbildung 9: TAA-Peak einer Kohlsprosse (Referenzmaterial)	39
Abbildung 10: Gehalt an TAA und AA in TK-Bohnen bezogen auf das Roh- bzw. Garprodukt.....	46
Abbildung 11: Gehalt an TAA und AA in TK-Bohnen bezogen auf Trockensubstanz.....	47
Abbildung 12: Prozentueller Anteil der L-Ascorbinsäure (AA) und Dehydroascorbinsäure (DHA) am Gesamt-Vitamin C (TAA) in der TK-Bohne.	47
Abbildung 13: Gehalt an TAA und AA in der Kartoffel bezogen auf das Roh- bzw. Garprodukt.....	49
Abbildung 14: Gehalt an TAA und AA in der Kartoffel bezogen auf Trockensubstanz.....	50
Abbildung 15: Prozentueller Anteil der L-Ascorbinsäure (AA) und Dehydroascorbinsäure (DHA) am Gesamt-Vitamin C (TAA) in der Kartoffel. ..	50
Abbildung 16: Gehalt an AA und TAA in Blumenkohl bezogen auf das Roh- bzw. Garprodukt.....	52
Abbildung 17: Gehalt an AA und TAA im Blumenkohl bezogen auf die Trockensubstanz.....	53

Abbildung 18: Prozentueller Anteil der L-Ascorbinsäure (AA) und Dehydroascorbinsäure (DHA) am Gesamt-Vitamin C (TAA) in Blumenkohl. ...	53
Abbildung 19: Gehalt an TAA und AA im Brokkoli bezogen auf das Roh- bzw. Garprodukt.	55
Abbildung 20: Gehalt an TAA und AA in Brokkoli bezogen auf Trockensubstanz	56
Abbildung 21: Prozentueller Anteil der L-Ascorbinsäure (AA) und Dehydroascorbinsäure (DHA) am Gesamt-Vitamin C (TAA) in Brokkoli.	56
Abbildung 22: Gehalt an TAA in Fenchel bezogen auf das Roh- bzw. Garprodukt.	57
Abbildung 23: Gehalt an TAA in Fenchel bezogen auf Trockensubstanz.	58
Abbildung 24: Gehalt an TAA in der Zucchini bezogen auf das Roh- bzw. Garprodukt.	59
Abbildung 25: Gehalt an TAA in der Zucchini bezogen auf die Trockensubstanz.	60

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Vitamin C Gehalte ausgewählter Lebensmittel	8
Tabelle 2: Zubereitungsverluste verschiedener Garungsverfahren	21
Tabelle 3: Zusammensetzung von einem Liter Extraktionslösung.	28
Tabelle 4: Auflistung der Garzeiten und Energieregulung der Gemüsesorten	33
Tabelle 5: Regressionsgerade für die Berechnung der AA und TAA.	38
Tabelle 6: Kenndaten der Qualitätssicherung	42
Tabelle 7: Ergebnisse der Trockensubstanz in % der untersuchten Gemüsesorten.	44

Formelverzeichnis

Formel 1: Berechnung von AA, TAA und DHA.....	40
Formel 2: Berechnung der Trockensubstanz in %	41

I. Einleitung und Fragestellung

„Vitamin C“ umfasst sowohl Ascorbinsäure als auch ihre Derivate mit biologischer und physiologischer Aktivität. Die Vitamin C wirksamen Formen sind L-(+)-Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure. Vitamin C kann vom Menschen nicht synthetisiert werden und muss somit über die Nahrung zugeführt werden. Wichtige Funktionen von Vitamin C im menschlichen Körper sind dessen antioxidative Wirkung, die Rolle als Enzym-Cofaktor von Hydroxylierungs- und Oxygenasereaktionen, die positive Beeinflussung der Eisenresorption und viele mehr (DAVEY et al., 2000; NAIDU, 2003; PIETRZIK et al., 2008).

Aufgenommen wird Vitamin C hauptsächlich über Obst und Gemüse. Die Aufnahme kann durch die schnelle Oxidation des Vitamins und durch seine hohe Wasserlöslichkeit erschwert werden (FRANKE et al., 2004; LEE und KADER, 2000).

Im Allgemeinen ist bekannt, dass Obst wie zum Beispiel Zitrusfrüchte gute Vitamin C Quellen darstellen. Obwohl in vielen Obstsorten beachtliche Vitamin C Mengen vorhanden sein können (Schwarze Johannisbeere mit 177mg Vitamin C/100g verzehrbare Anteil), darf das Gemüse nicht außer Acht gelassen werden. Eine große Bedeutung für die Vitamin C Aufnahme sind zum Beispiel Brokkoli, Karfiol (Blumenkohl) oder Spinat, welche Vitamin C Gehalte zwischen 50 bis über 100mg Vitamin C/100 g verzehrbaren Gemüseanteil enthalten können (ELMADFA et al., 2008/2009).

Obst benötigt größtenteils keinerlei Zubereitung und kann daher roh verzehrt werden. Viele Gemüsesorten hingegen werden erst durch Verarbeitung besser verdaulich oder genussstauglich. Somit kommt es trotz hoher Vitamin C Gehalte im frischen Gemüse zu verminderten Vitamin C Konzentrationen beim gegarten Gemüse. (BORNÁR, 2003; ELMADFA et al., 2008/2009).

Der Verlust an wasserlöslichen Vitaminen ist beim Garen mit Wasser, bedingt durch Auslaugungen im Kochwasser des Kochwassers, unvermeidbar. Man ist es möglich, diese Verluste zu minimieren.

In dieser Arbeit wurde der Einfluss von drei verschiedenen Garungsverfahren auf den Vitamin C-Verlust an sechs verschiedenen Gemüsesorten untersucht. Die untersuchten Gemüsesorten waren Brokkoli, Karfiol (Blumenkohl), Fenchel, Zucchini, Kartoffel (als Rohprodukt) und grüne Bohnen als Tiefkühlprodukt. Diese Gemüsesorten werden in Österreich häufig gegessen und haben einen teils sehr hohen Vitamin C Anteil. Die Garungsverfahren, welche den Vitamin C Gehalt beeinflussen, waren einerseits das konventionelle Kochen mit Wasser, andererseits das Garen ohne Wasser (Dünsten) in Kochtöpfen mit passenden Deckeln der Firma AMC. Die beiden Modelle der Firma wurden als „AMC Modell 29“ und „AMC Modell 30“ benannt. Die drei Zubereitungsmethoden erfolgten parallel mit anschließender Analyse des Vitamin C Gehalts im Produkt. Auch das Roh- bzw. Tiefkühlprodukt wurde im rohen Zustand auf den Vitamin C Gehalt untersucht.

So konnten die Vitamin C Verluste, beeinflusst durch das Garen, ermittelt werden und mit einander in Beziehung gesetzt werden.

II. Literaturüberblick

1. Vitamin C

1.1. *Chemie, Struktur und Eigenschaften von Vitamin C*

1.1.1. Historischer Hintergrund

Schon seit der Antike sind die Symptome der Krankheit Skorbut bekannt und wurden meist mit Seefahrten in Verbindung gebracht. Die erste systematische Studie über Skorbut lieferte der Marinechirurg James Lind aber erst 1750. Zu diesem Zeitpunkt war die Ursache, der kausale Zusammenhang der Antiskorbutwirkung von Vitamin C und Skorbut aber noch nicht klar. Die Erkenntnis seiner Studie war, dass die Symptome von Skorbut durch die Aufnahme von Zitrusfrüchten geheilt werden konnten. Erst 1907 fanden Holst und Frölich heraus, dass Skorbut beim Menschen durch einen Mangel an Vitamin C zustande kommt. Svent-Györgyi hat erstmals Vitamin C aus Gemüse isoliert und gab der Substanz den Namen kristalline Hexuronsäure. 1932 entschlüsselte Harworth die genaue Struktur von Vitamin C - die chemische Synthese erfolgte anschließend 1933 durch Reichstein et al.

Trotz der frühen Entdeckung ist über Vitamin C noch viel zu forschen – wie zum Beispiel die Biochemie und die Mechanismen des Katabolismus, die Regulationen und den Transport (DAVEY et al., 2000).

1.1.2. Chemie und Begriffsdefinition von Vitamin C

Der Begriff „Vitamin C“ fasst Ascorbinsäure und ihre Derivate mit biologischer und physiologischer Aktivität zusammen. Diese sind L-(+)-Ascorbinsäure (AA) und Dehydroascorbinsäure (DHA). Keine oder wenig biologische Aktivität weisen einige Stereoisomere auf: D-Isoascorbinsäure (Erythorbinsäure), L-Isoascorbinsäure und D-Ascorbinsäure (PIETRZIK et al., 2008; DAVEY et al., 2000).

D-Ascorbinsäure besitzt nur 5% der Anti - Skorbut Wirkung der L-Ascorbinsäure, wird aber als Antioxidant in der Lebensmittelindustrie eingesetzt (NOVÁKOVÁ et al., 2008). Weiters wird Ascorbinsäure im Zusammenhang mit gepökelten Lebensmitteln eingesetzt, um einer Nitrosaminbildung entgegen zu wirken. Ein weiterer Effekt von Vitamin C, den man sich zum Beispiel in der Bäckerei zu Nutzen macht, ist die positive Wirkung auf das Gashaltvermögen des Teiges (EBERMANN und ELMADFA, 2008).

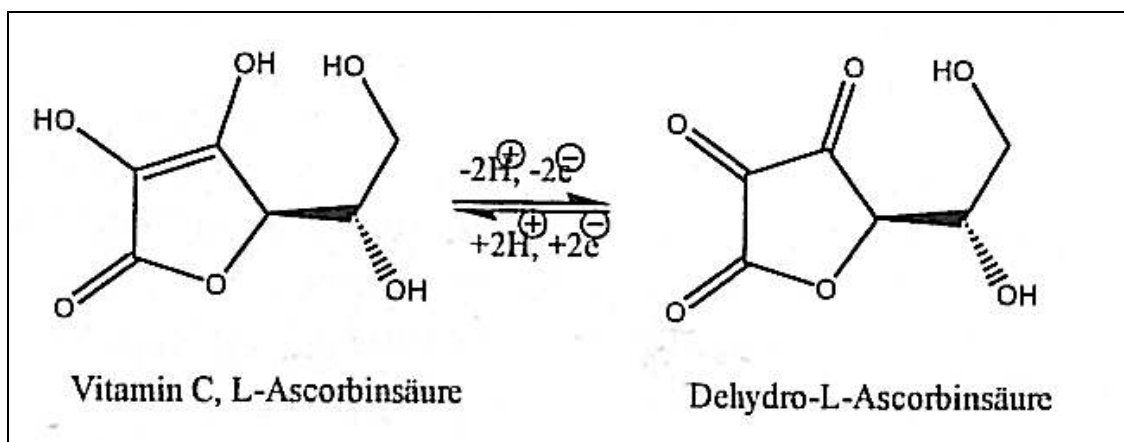


Abbildung 1: Chemische Struktur der Vitamin C wirksamen Formen: L-Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure (Abbildung aus „Lehrbuch Lebensmittelchemie und Ernährung“ EBERMANN und ELMADFA, 2008)

Ascorbinsäure ist ein Antioxidant und kann Elektronen abgeben (RUMSEY und LEVINE, 1998). Chemisch gesehen wird Ascorbinsäure als 2,3-Didehydro-L-Threo-hexano-1,4-lacton dargestellt (ELMADFA und LEITZMANN, 2004). Ascorbinsäure ist gut wasserlöslich, sauer und hat einen pKa von 4,13. Im physiologischen pH Bereich existiert L-Ascorbinsäure als Anion (L-Ascorbat) (DAVEY et al., 2000; NAIDU, 2003).

In trockener Umgebung ist L-Ascorbinsäure stabil. Schnell oxidiert wird es in wässriger Lösung durch die Anwesenheit von Metallionen (v.a. Kupfer), im alkalischen Milieu, durch Luft, Licht und Hitze (DAVEY et al., 2000). Deshalb wird Vitamin C unter anderem durch die Lagerung und Verarbeitung der Vitamin C hältigen Lebensmittel zerstört. Optimale Bedingungen für Vitamin C sind ein

niedriger pH Wert, geringe Lichteinwirkung und die Abwesenheit von Metallionen und Sauerstoff (NAIDU, 2003).

Dehydroascorbinsäure (DHA) entsteht nach dem ersten Oxidationsschritt der L-Ascorbinsäure. Dieser Schritt ist reversibel. Irreversibel oxidiert DHA weiter zu 2,3-Diketogulonsäure, welche keine Vitamin C - Wirksamkeit mehr besitzt. Durch eine nachfolgende Decarboxylierung kann aus 2,3-Diketogulonsäure Furfural entstehen. Siehe dazu Abbildung 2. Abbildung 2: Oxidationsvorgänge der L-Ascorbinsäure (L-Ascorbat) (DAVEY et al., 2000) Da sowohl DHA als auch AA Vitamin C Wirksamkeit besitzen, müssen beide bestimmt werden, um den Gesamt-Vitamin C Gehalt eines Lebensmittels zu erhalten (LEE und KADER, 2000; EBERMANN und ELMADFA, 2008). Nachdem die Oxidationsreaktion der AA zu DHA reversibel ist, kann DHA wieder zu AA reduziert werden. Bei diesem Reduktionsschritt sind Dehydroascorbatreduktase und reduziertes Glutathion beteiligt. Diese Reaktion läuft meist über ein Ascorbylradikal ab (Semidehydroascorbinsäure) (ELMADFA und LEITZMANN, 2004).

Dehydroascorbinsäure ist in wässrigen Lösungen instabil, mit einer Halbwertszeit von 6-20 Minuten bei 37°C (RUMSEY und LEVINE, 1998). Am Beispiel der Zucchini-Pflanze lässt sich der Anteil der DHA in der Pflanze darstellen: Weniger als 10% des Vitamin C der oberirdischen Pflanzenteile ist DHA, somit über 90% AA. Die Wurzelteile haben einen Anteil von etwa 30% DHA an den gesamten Vitamin C wirksamen Formen, somit ist der Ascorbinsäurepool in den Wurzeln eher oxidiert (HANCOCK et al., 2008).

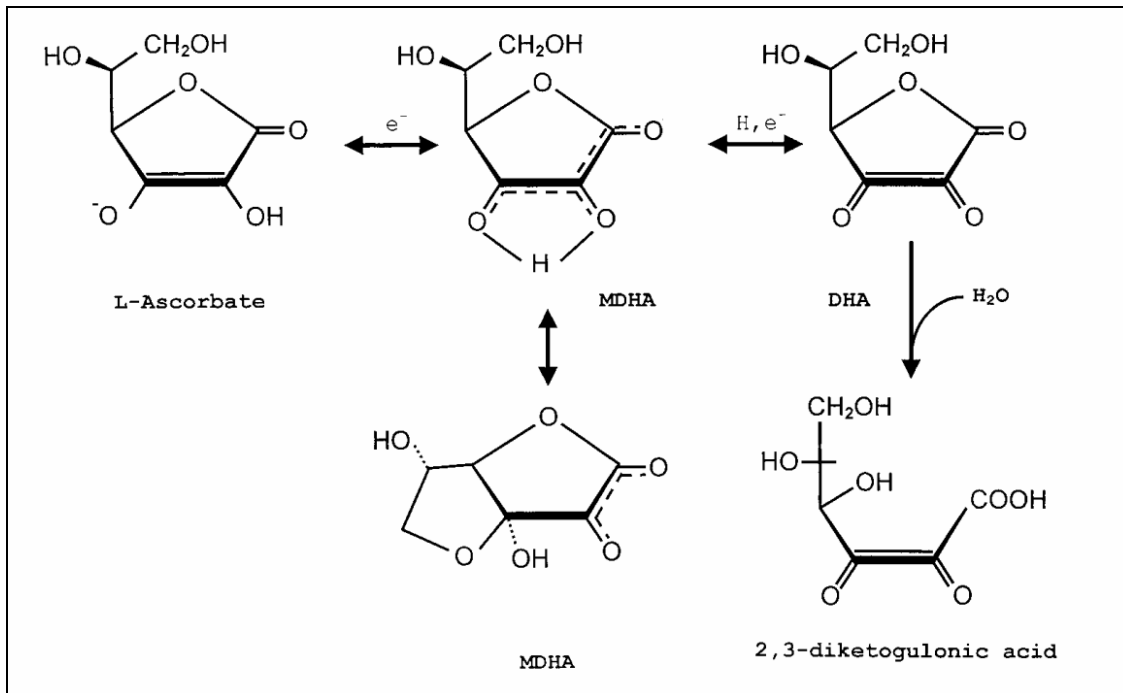


Abbildung 2: Oxidationsvorgänge der L-Ascorbinsäure (L-Ascorbat) (DAVEY et al., 2000)
MDHA: Monodehydroascorbinsäureradikal; DHA: Dehydroascorbinsäure.

In Gemüsesorten der Familie der Kreuzblütengewächse (*Brassicaceae*) kommen neben den Vitamin C - wirksamen Formen L-Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure auch Ascorbigene vor, welche Ascorbinsäure enthalten (PODSEDEK, 2007). Durch den enzymatischen Abbau von Glucobrassicin (eines der drei dominierenden 3-Indolylmethylglucosinolate in den Brassicaceae) durch Myrosinase entsteht das Abbauprodukt Indol-3-ylmethanol. Dieser Abbau wird durch ein Beschädigen der Pflanzen ausgelöst. Aus Indol-3-ylmethanol werden unter An- oder Abwesenheit von Ascorbinsäure, einem pH Wert von 2-6 und Eisen II unter anderem Ascorbigene gebildet (BUSKOV et al., 2000). Ascorbigene, die durch die Nahrung aufgenommen werden, können vom Körper bis zu 20% als L-Ascorbinsäurequelle genutzt werden (REZNIKOVA et al., 2000).

1.1.3. Vorkommen, Industrie

Verschiedene Affenarten, Meerschweinchen, die indische Fruchtfledermaus *Pteropus medius*, verschiedene Vogelarten und einige Fische können so wie der Mensch Vitamin C im Körper nicht synthetisieren. Vitamin C muss mit der Nahrung aufgenommen werden. Pflanzen und die meisten Tiere synthetisieren Vitamin C aus D-Glukose oder D-Galaktose. Die Tiere synthetisieren es in der Leber (RUMSEY und LEVINE, 1998; NAIDU, 2003).

Vitamin C kommt hauptsächlich in Früchten wie Orangen, Zitronen, Grapefruits, Wassermelonen, Papayas, Erdbeeren, Mangos, Annanas, Himbeeren und Kirschen vor, sowie in Gemüse wie grünem Blattgemüse, Tomaten, Brokkoli, grüner und roter Paprika, Karfiol und Kohl (Tabelle 1) (NAIDU, 2003). Kartoffeln weisen keinen sehr hohen Gehalt an Vitamin C auf, sie werden auch in vielen Gebieten in hohen Mengen genossen und sind somit eine wichtige Vitamin C - Quelle (ELMADFA und LEITZMANN, 2004). In tierischen Lebensmitteln sind Niere und Leber die am Vitamin C - reichsten Teile (PIETRZIK et al., 2008).

Einige ausgewählte Lebensmittel und ihre Vitamin C Gehalte	
Lebensmittel	mg Vitamin C/ 100g verzehrbarer Anteil
Obst	
Hagebutten, Fleisch und Schale	1500
Johannisbeere, schwarz	177
Erdbeere, roh	62
Zitrone, roh, geschält	53
Orange, roh	50
Kiwi	46
Gemüse	
Brennnessel	300
Brokkoli, roh	115
Fenchel, roh	93
Blumenkohl, roh	69
Spinat, roh	51
Bohnen, grün, roh	19
Kartoffel, roh	17
Zwiebel, roh	10
Sonstiges	
Rinderleber	31
Hühnerleber	28
Stutenmilch	15
Garnele	2
Vollmilch	2
Scholle	2

Tabelle 1: Vitamin C Gehalte ausgewählter Lebensmittel (modifiziert nach ELMADFA et al., 2008/2009) Vitamin C (Ascorbinsäure) in mg/ 100g verzehrbarer Anteil

Der Vitamin C - Gehalt derselben Pflanzenart kann sehr stark variieren. Vor, während und nach der Ernte spielen viele Faktoren eine Rolle: Genotypunterschiede, klimatische Bedingungen vor der Ernte, Anbaugebiet, Kultivierung, Erntemethoden und Lichtintensität während der Reifung der Pflanzen beeinflussen den Vitamin C Gehalt. Auch nach der Ernte können Lichteinstrahlung, Temperatur und Luftfeuchtigkeit bei der Lagerung sowie unterschiedliche Zubereitungsformen und vorhergehende Vorbereitung (schälen) den Vitamin C Gehalt noch einmal signifikant verringern (LEE und KADER, 2000; FRANKE et al., 2004).

Werden zum Beispiel Tomaten oder Orangen in der Hochsaison geerntet, kann ein höherer Vitamin C - Gehalt nachgewiesen werden, als wenn diese zu späteren Zeitpunkten geerntet werden (FRANKE et al., 2004).

Verschiedene untersuchte Zuchtformen der *Brassica oleracea* wie Brokkoli, Karfiol, Kohlrabi, Weißkohl, Romanesco, Kohlsprossen, ... zeigten große Schwankungen innerhalb der Genotypen. Bei 51 verschiedenen Brokkoliarten schwankten die Gehalte an Vitamin C von 54,3 mg/100g bis 119,8 mg/100g Frischgewicht (KURILICH et al., 1999).

Auch bei Kartoffeln *Solanum tuberosum* L. (angebaut in 3 verschiedenen Regionen in den Anden) kann man unterschiedliche Vitamin C – Gehalte des Genotyps der Unterklassen feststellen. Die L-Ascorbinsäuregehalte reichen von 6,5 mg/100g bis 36,9 mg/100g Frischgewicht (22,2 bis 121,4 mg/100g L-Ascorbinsäure im Trockengewicht) (BURGOS et al., 2008).

Vitamin C wird in der Industrie als Zusatzstoff in allerlei Lebensmitteln eingesetzt: Es wirkt als Antioxidant, Bräunungshemmer, Geschmacksstabilisator und Farbstabilisator (NAIDU, 2003).

1.2. Physiologische Betrachtung von Vitamin C

Vitamin C wird zu 90% über Obst und Gemüse aufgenommen (LEE und KADER, 2000). Die Aufnahme kann dadurch erschwert werden, dass Vitamin C sehr schnell durch Oxidation abgebaut wird. Außerdem laugt sich Vitamin C durch seine hohe Wasserlöslichkeit beim Kochen aus (FRANKE et al., 2004).

Ascorbinsäure und das Oxidationsprodukt Dehydroascorbinsäure werden vom Menschen im Gastrointestinaltrakt (Duodenum und proximalen Jejunum) absorbiert (RUMSEY und LEVINE, 1998).

Beide Vitamin C - wirksamen Formen können in die Zellmembran transportiert werden. Jede Form hat jedoch seinen eigenen Transportweg: L-Ascorbinsäure wird mittels Natrium-abhängigen Transport, über bisher zwei bekannte Transporter (SVCT1 und SVCT2) in die Körperzellen transportiert. Die oxidierte Form von AA (kann extrazellulär oxidiert werden) wird durch Glukosetransporter (GLUT1 und GLUT3) in die Zelle transportiert. Dies geschieht durch erleichterte Diffusion, natriumunabhängig (DARUWALA et al, 1999; RUMSEY und LEVINE, 1998).

Angereichert wird Dehydroascorbinsäure intrazellulär in reduzierter Form, als AA. Der Reduktionsmechanismus ist noch unklar: Diese Reduktion kann enzymatisch, durch Proteine wie Protein-Disulfid-Isomerase, Glutaredoxin oder anderen Proteine, oder durch chemische Reduktion mit Glutathion verlaufen. Es wird keine DHA im Körper angereichert. AA wird sowohl Na-abhängig transportiert und angereichert (WELCH 1995). Laut einigen Studien ist der Anteil der DHA Absorption geringer, als jener der AA (RUMSEY und LEVINE, 1998).

Die Ausscheidung von Vitamin C und dessen Metaboliten erfolgt über die Niere. Die Ascorbinsäure wird im Glomerula gefiltert und in den proximalen Tubuli rückresorbiert, wenn die Plasmakonzentration unterhalb des Schwellenwertes ($< 1,2 - 1,8 \text{ mg/dl}$) liegt. Die Ascorbinsäurekonzentration im Körper ist durch die renale Reabsorption limitiert. Metaboliten, die mit dem Urin ausgeschieden werden, sind Oxalsäure, Diketogulonsäure, Ascorbinsäure,

Dehydroascorbinsäure und Ascorbinsäure-2-Sulfat (RUMSEY und LEVINE, 1998; PIETRZIK et al., 2008).

Im Dickdarm wird Vitamin C, welches nicht resorbiert wurde, abgebaut. Bei zu hohen Mengen kann dies durch Abbauprodukte wie CO₂ oder organische Säuren zu Diarrhö führen (PIETRZIK et al., 2008).

Vitamin C wird im Körper nicht gespeichert. Durchschnittlich hat der Mensch einen Vitamin C Pool von 1,2 - 2 g AA im Körper, welcher durch 75 mg/Tag aufrechterhalten wird (NAIDU, 2003). Bei einem Körperpool von weniger als 350 mg Vitamin C zeigen sich erste Symptome eines Mangels (RYAN et al., 2008).

Bei einer täglichen Zufuhr von 30 - 400 mg Vitamin C ändert sich der Anstieg der Ascorbinsäure - Konzentration im Plasma am deutlichsten. Ab einer Zufuhr von 400mg/Tag kommt es zu einem wesentlich niedrigeren Anstieg, da mit steigender Zufuhr die Absorptionsrate sinkt und die renale Ausscheidung ansteigt (RUMSEY und LEVINE, 1998).

Der Gehalt an Ascorbinsäure in verschiedenen menschlichen Organen liegt bei etwa 10 - 50 mg/100g. In der Adrenaldrüse und der Hirnanhangdrüse findet man Konzentrationen von 30 - 50 mg/100g. In Leber, Milz, Auglinsen, Pankreas, Nieren und Hirn sind es 10 - 30mg/100g (RUMSEY und LEVINE, 1998).

Viele verschiedene Faktoren spielen eine Rolle in der Bioverfügbarkeit von Vitamin C. Die Bioverfügbarkeit wird definiert als den Anstieg einer Substanz im Plasma nach Gabe einer definierten oralen Dosis, verglichen mit dem Anstieg im Plasma nach einer intravenösen Gabe derselben Dosis (RUMSEY und LEVINE, 1998).

Die Bioverfügbarkeit von Vitamin C wird beeinflusst durch die Aufnahme, bei der der Gehalt an Vitamin C schon beeinträchtigt ist (von der Lagerung, Verarbeitung, Kochmethode und Mahlzeitzusammenstellung). Ein weiterer

beeinflussender Faktor ist die Absorption, welche durch die Dosis, den Gastrointestinaltrakt, die Form des Vitamins, die biochemische Umgebung und die Anzahl der Transporter beeinflusst wird. Die Verteilung im Körper spielt ebenso eine Rolle. Sie wird durch die Aufnahme, Absorption, Ausnutzung, zelluläre Aufnahme und Abgabe, Recycling sowie die renale Exkretion beeinflusst. Auch die renale Ausscheidung ist für die Gesamtheit der Bioverfügbarkeit wichtig. Diese wird beeinflusst durch die Plasmakonzentration und den renalen Schwellenwert. Die wahre Bioverfügbarkeit von Vitamin C ist jedoch noch nicht definiert worden. Um die Bioverfügbarkeit von Vitamin C zu verbessern, kann man die vor dem Verzehr beeinflussenden Faktoren wie Wachstums-, Koch- und Lagerungsbedingungen vermindern. Die Absorption von Vitamin C kann durch kleinere und regelmäßige Aufnahmen Vitamin C - haltiger Lebensmittel verbessert werden. Um einen Vitamin C - Verlust zu verhindern, sollte die Plasmakonzentration in Normalbereich sein, da sonst renale Verluste auftreten können. Auch durch erhöhten Blutdruck und Blutvolumen kann ein erhöhter renaler Verlust auftreten (DAVEY et al., 2000). Die Bioverfügbarkeit von Vitamin C aus Gemüse ist genau so effektiv wie aus Supplementen. Es kann also davon ausgegangen werden, dass die Gemüsematrix keinen limitierenden Schritt während der Absorption des Vitamin C darstellt (VAN HET HOF et al., 1999).

1.2.1. Funktion und Wirkung

Ein hoher pflanzlicher Anteil in der Ernährung des Menschen steht in enger Verbindung mit der Risikominderung verschiedener chronischer Erkrankungen wie Arteriosklerose, kardiovaskulären Erkrankungen (CVD) oder Krebs. Diverse Mikronährstoffe wie Vitamin C, E und β -Carotin bieten dem Körper einen natürlichen Schutz vor endogenen und exogenen freien Radikalen durch ihre antioxidative Kapazität. Exogene Radikale entstehen zum Beispiel durch Tabakrauch oder Ozon. Endogene Radikale sind Superoxidanionradikale, Peroxyl- und Alkoxyradikale, Singulett-Sauerstoff, Wasserstoffperoxid, Nitroxid und Peroxynitrit (GEY, 1995). „Oxidativer Stress“ erhöht die Bildung dieser

Radikale (Superoxidradikale und Wasserstoffperoxid) und kann sich direkt in eine Zellschädigung auswirken. Weiters können sie Krankheiten wie Arteriosklerose, Krebs und Ischämie verursachen (GOW-CHIN et al., 2002).

Vitamin C ist das einzige Antioxidant im Plasma, welches endogene Lipide (LDL) komplett vor Oxidation schützen kann - vor wässrigen Peroxylradikalen und anderen reaktiven Sauerstoffgruppen (ROS). Vitamin C fängt die Radikale in der wässrigen Phase ab, noch bevor diese mit den Lipoproteinen reagieren können (POLIDORI et al., 2004). Durch diese Reaktionen entsteht aus Ascorbinsäure Semidehydroascorbinsäure (Ascorbylradikal) welche sich aber wieder regenerieren lässt (PIETRZIK et al., 2008). Im Vergleich zu anderen Radikalen ist Semidehydroascorbinsäure nicht reaktiv, deshalb stellt Vitamin C einen idealen Elektronendonator dar (LEVINE et al., 1995).

Antioxidantien können auch als Synergisten wirken. Ein Zusammenspiel von wasserlöslichen und fettlöslichen Antioxidantien kann in beiden Phasen mit Radikalen reagieren (PODSEDEK, 2007). Ascorbinsäure wirkt synergistisch mit dem in der Lipidphase antioxidativ wirkenden Tocopherol, da es das oxidierte Tocopherolradikal regeneriert (GOW-CHIN et al., 2002). In diesem Schritt wird Ascorbinsäure zu Dehydroascorbinsäure oxidiert. Die entstandene Dehydroascorbinsäure wird anschließend wieder durch Glutathion reduziert. Aus der Oxidation von Glutathion entsteht Glutathiondisulfid, welches durch NADPH wieder zu Glutathion regeneriert. (EBERMANN und ELMADFA, 2008)

Neben seiner Funktion als nichtenzymatischer Radikalfänger spielt Vitamin C eine wichtige Rolle als Enzym-Cofaktor von Hydroxylierungs- und Oxygenasereaktionen. Als Aktivitätsverbesserer fördert es die Kollagensynthese aus Prolin und Lysin, die Carnitinsynthese aus Lysin und die Hormonbiosynthese (DAVEY et al., 2000). Besteht also ein Mangel an Vitamin C, ist die Prolin und Lysinproduktion für die Kollagensynthese gesenkt. Kollagen ist das grundlegende Protein für Haut, Knochen, Zähne, Blutgefäße, Augenlinsen u.v.m. Carnitin wird für den Transport von Fettsäuren in die Mitochondrien für den Energiegewinn benötigt.

Vitamin C ist auch Cofaktor der Dopamin- β -Hydroxylase, welche den Umbau des Neurotransmitters Dopamin zu Noradrenalin katalysiert. Weiters katalysiert Vitamin C andere enzymatische Reaktionen (u.a. Amidbildung) für maximale Aktivität von Peptidhormonen wie Oxytocin, Vasopressin und α - und γ -Melanotropin (NAIDU, 2003). Weiters fördert es die Funktion von Fibroblasten sowie Osteoblasten (DAVEY et al., 2000).

Weitere biologische Funktionen hat Vitamin C in der Verbesserung der Absorption von Nicht-häm-Eisen, der Reduktion des Plasmacholesterols, der Hemmung der Nitrosaminbildung (kanzerogen) und der Verbesserung des Immunsystems (LEE und KADER, 2000). Durch Supplementierung von Vitamin C wird die Eisenabsorption verbessert (NAIDU, 2003).

Präventive Wirkung zeigt Vitamin C bei Erkältungen. Es trägt zu einer kürzeren Erkältungsdauer bei, und erleichtert diese. Weiters spielt Vitamin C aufgrund der Cofaktorfunktion in der Kollagensynthese eine wichtige Rolle in der Wundheilung. Vor allem für postoperative Patienten ist eine adäquate Vitamin C Dosis notwendig. (NAIDU, 2003) Für Patienten mit erhöhtem Kataraktrisiko (Linsentrübung) ist präventativ eine erhöhte Aufnahme an Vitamin C zu empfehlen (PIETRZIK et al., 2008).

Vitamin C in höheren Dosen (515 mg/Tag) supplementiert kann die Menge an C-reaktiven Proteinen (CRP) im Plasma um bis zu 24% senken. CRP gilt als Krankheitsrisikofaktor und hat progressiven Effekt auf Arteriosklerose (BLOCK et al., 2004).

Vitamin C wird oft eine antikanzerogene Wirksamkeit zugesprochen. Eine Vielzahl von Studien ergaben sehr unterschiedliche Ergebnisse. Meist lässt sich ein Vitamin C - Mangel bei Tumorpatienten, oder Patienten nach erfolgter Chemotherapie beobachten. Diese Patienten sind erhöht Sauerstoffradikalen ausgesetzt, welche die Zellen schädigen können. Durch eine erhöhte Vitamin C Aufnahme kann bei Patienten einem Mangel vorgebeugt, und eventuelle Mangelsymptome ausgeschlossen werden. Manche Studien zeigten eine

vorbeugende Wirkung von erhöhten Vitamin C Mengen schon bei der Entstehung von Krebs, aber auch bei der Risikoreduktion. Die Überlebenszeit soll bei einer Krebserkrankung verlängert bzw. erhalten werden; ebenso die Verbesserung der Lebensqualität soll einer erhöhten Vitamin C Gabe zugeschrieben werden. Antikancerogene Wirksamkeit besitzt Vitamin C in Hinsicht auf Nitrosamine, welche im Körper von Ascorbinsäure gehemmt werden können (PIETRZIK et al., 2008).

1.2.2. Bedarf und Empfehlungen

Die Bedarfsbestimmung der D-A-CH Referenzwerte von Vitamin C erfolgt unter Berücksichtigung der Mangelsymptomvorbeugung und dem langfristigen Gesundheitsschutz (Prävention). Ein Plasmaspiegel von $> 50 \mu\text{mol/l}$ ist durch eine täglich Aufnahme von 100 mg Vitamin C gewährleistet. Die D-A-CH Referenzwerte empfehlen eine tägliche Zufuhr für Erwachsene und Jugendliche von 100 mg täglich. Stillende und Raucher haben einen erhöhten Bedarf und sollten deshalb 150 mg Vitamin C am Tag zu sich nehmen, Schwangere ab dem 4. Monat 110 mg Vitamin C pro Tag. Weitere Lebensumstände, für die eine höherer D-A-CH Empfehlung gilt, sind große körperliche Belastung, hohe Alkohol - und Medikamentenaufnahme, geistiger und seelischer Stress sowie Erkrankungen (CVD, Niereninsuffizienz mit Dialysepflicht, Operationen) (ELMADFA et al., 2008/2009; D-A-CH 2000).

1.2.3. Mangel

Ist der Bedarf eines Menschen an Vitamin C nicht gedeckt, kommt es zu Mangelsymptomen. Zusammenfassend werden diese als Skorbut bezeichnet. 60 bis 90 Tage ohne Obst und Gemüse (und Supplementen) senken den Körperpool eines Menschen soweit, dass es zu Mangelercheinungen kommen kann. Medizinisch wird Skorbut bei einem Serumlevel unter $0,25 \text{ mg/dl}$ diagnostiziert. Risikogruppen für Skorbut sind Menschen mit einem niedrigeren sozialen Status, Obst- und Gemüseallergien, Malabsorptionssyndromen, Alkoholiker, Personen mit exzessiven Tabakkonsum, Chemotherapie-Patienten,

Personen mit mentalen Störungen sowie in bestimmten Lebensumständen (wie Pensionisten oder Arbeitslose). In den Entwicklungsländern ist Skorbut noch immer verbreitet (RYAN et al., 2008; FAIN et al., 2003). Flüchtlinge, können beispielsweise durch ihre Lebensumstände Skorbutsymptome auf. Die Verbreitung liegt in den Bergen Afghanistans bei 6,3%, und ist in den Wintermonaten häufiger, da kein frisches Obst und Gemüse zur Verfügung steht. Im Frühling verschwinden diese Mangelsymptome wieder (BRICKLEY und RACHEL, 2008).

Vitamin C beeinflusst viele verschiedene biologische Prozesse (v.a. die Kollagensynthese) im Körper. Somit kommt es zu sehr unterschiedlichen Symptomen. Zu Beginn eines Mangels zeigt sich Müdigkeit, Lethargie und Muskelschmerz. Weiter äußert sich ein Vitamin C Mangel mit brüchigen Blutgefäßen (Hämorrhagien), was auf die gestörte Kollagensynthese zurückgeführt werden können. Skorbut kann auch eine Verminderung der Osteoblastenaktivität verursachen, welche zu Osteopenie führt. Bei Erwachsenen zeigt sich Skorbut vor allem durch Symptome wie Zahnfleischbluten bis Zahnverlust, Rötung und Schwellung des Gaumens und Hämarthrose. Hämarthrose zeigt sich in der heutigen Gesellschaft meist durch Schmerzen in den Hüften, Knien und Knöcheln. Verursacht werden diese Schmerzen durch Auslaufen des Blutes in weichere Gewebe in der Umgebung. Weitere Symptome sind geschwächte Wundheilung, Haarausfall, Purpura, Anämie, verschiedene Augenmanifestationen und gastrointestinale Blutungen. Unbehandelt ist Skorbut letal, behandelt ist relativ schnell eine Besserung zu erzielen. Heutzutage ist ein Vitamin C Mangel zwar sehr selten, trotzdem wurde in den letzten Jahren ein Anstieg verzeichnet (BRICKLEY und RACHEL, 2008; RYAN et al., 2008).

1.2.4. Hypervitaminose

Vitamin C ist im Körper bei gesunden Menschen sehr gut verträglich, jedoch kann es bei einer Einnahme von mehr als 2 g zu Durchfall kommen. Personen, deren Eisenspeicher krankhaft überladen sind (z.B. durch

Hämochromatose), sollten mit den Malzeiten keine hohen Vitamin C Dosen aufnehmen da es zu einer erhöhten Absorption von Eisen kommt. Zu Hämolysen kann es bei Personen mit einem erythrozytärem Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase Mangel führen, jedoch nur, wenn Vitamin C nicht oral oder in Mengen von mehreren Gramm eingenommen wird. Eine erhöhte Vitamin C Aufnahme (≥ 500 mg) bei Personen mit einer Disposition kann zur Bildung von Calciumoxalatsteinen (Nierensteinen) führen (LEVINE et al., 1995). Weiters kann zu viel Vitamin C verändernd auf Arzneimittel wirken: Unverträglichkeit und chemische Veränderungen der Arzneimittel können auftreten (PIETRZIK et al., 2008).

Umstritten ist, ob es bei einer Dosis von 500 - 1000 mg Vitamin C zu einer Inaktivierung von Vitamin B₁₂ kommen kann, vor allem in Anwesenheit von Eisen. Für Patienten mit Hyperhomocysteinämie ist Vitamin B₁₂ als Coenzym für die von Folsäure induzierte Umwandlung von Homocystein zu Methionin besonders wichtig. Durch eine zu hohe Menge an Vitamin C könnte es zu einer Vitamin B₁₂ Inaktivierung kommen, und somit zu keiner Verbesserung der Hyperhomocysteinämie (PIETRZIK et al., 2008; MIX, 1999).

1.3. Ernährungszustand der österreichischen Bevölkerung

In Österreich ist die Versorgungslage mit Vitamin C bei einem Großteil der Bevölkerung zufrieden stellend. Bei den 3 bis 6 jährigen Kindern liegt die mittlere tägliche Vitamin C Zufuhr bei Buben bei 105 ± 71 mg und bei Mädchen 95 ± 60 mg Vitamin C. Im Westen des Landes kann eine höhere Zufuhr beobachtet werden als im Osten. Laut den D-A-CH Referenzwerten sollten 3 bis 6 jährige 70 mg Vitamin C pro Tag zu sich nehmen. Bei Schulkindern (7 - 14 Jahre) ist ebenfalls eine ausreichende Versorgung zu sehen. Bei Lehrlingen im Alter von 15 bis 18 Jahren kann man bei den Männern eine tägliche Zufuhr von 88 ± 56 mg Vitamin C beobachten. Da 100 mg Vitamin C am Tag empfohlen werden, liegt diese Gruppe unter den Empfehlungen. Bei den weiblichen Lehrlingen ist der Bedarf mit einer täglichen Zufuhr von 109 ± 80 mg gedeckt.

Auch die Erwachsenen nehmen mehr Vitamin C zu sich als empfohlen. Männer nehmen durchschnittlich 151 ± 132 mg Vitamin C zu sich, Frauen 131 ± 110 mg. Personen über 65 Jahren weisen eine geringere Zufuhr auf, als die D-A-CH Referenzwerte empfehlen (ELAMDFA et al., 2003).

2. Einfluss der Nahrungsmittelverarbeitung und Zubereitung auf den Vitamin C Gehalt

2.1. Einflussfaktoren die zum Vitamin C Verluste führen

Die Vitaminerhaltung wird unter anderem durch die Lagerung beeinflusst. Hier spielen sowohl innere Faktoren wie der pH-Wert des Zellsaftes und der Gehalt an Enzymen für die Oxidation, als auch äußere Eigenschaften wie die Luftfeuchtigkeit und der Sauerstoffgehalt der Lageratmosphäre, die Lichteinwirkung sowie die Lagertemperatur eine wichtige Rolle (BOGNÁR, 2003).

Abgebaut wird Vitamin C in Lebensmitteln während der Lagerung durch enzymatische und chemische Oxidation, Wärme-, Licht- und Sauerstoffeinwirkung, Verwelkung und Austrocknung (BOGNÁR, 1995).

Das Zubereiten von Lebensmitteln beinhaltet das Vorbereiten, das Garen selbst und das Aufbereiten. Durch Vorbereitungsprozesse wie Schälen, Schneiden, langem Waschen und Putzen können Vitaminverluste auftreten. Wässert man zerkleinertes Gemüse und Kartoffeln, kann es innerhalb von 15 Minuten zu Auslaugverlusten an Vitamin C bis zu 30% kommen. Das Zerkleinern (Mixen) von Weißkohl, Spinat, Tomaten und Kartoffeln kann zu einem enzymatischen Abbau von Vitamin C zwischen 2 und 10% führen. Nach 3 Stunden bei einer Temperatur von 20 °C stiegen die Vitamin C Verluste bis 34% an. Die durch das Zerkleinern ausgetretenen Peroxidenzyme haben ihr Aktivitätsmaximum bei 40°C und werden langsam bei etwa 70°C inaktiviert (BOGNÁR 2003).

Eine kürzere Angarphase ist somit zur Vitaminerhaltung von Vorteil, da die Enzyme schneller inaktiviert werden und es zu einem verringerten enzymbedingten Abbau der Vitamine kommt (BOGNÁR, 1995).

ARROQUI et al. 2001 zeigten in einer Studie über das Garen von Kartoffel, die in verschiedene Lösungen wie Wasser, wieder verwendetes Wasser und mit Glukose angereichertem Wasser, dass der Verlust der Ascorbinsäure in der Kartoffel mit dem Anstieg von Zeit und Temperatur zusammen hängt. Ein Erhöhen der Temperatur führt zu einer Verkürzung der Garzeit (BOGNÁR, 2003).

2.2 Garungsverfahren und deren Einfluss auf die Vitamin C

Erhaltung

Vitamin C wird als Indikator für die Qualität der Prozesse der Nahrungsmittelverarbeitung gesehen. Gründe dafür sind dessen hohe Wasserlöslichkeit und dessen instabiles Verhalten während Hitzebehandlungen wie dem Garen (PODSEDEK, 2007).

Das Garen ist bei vielen Lebensmitteln, vor allem aber bei Gemüsesorten notwendig. Diese müssen vor dem Verzehr verarbeitet werden. Unverändert könnten sie entweder schlecht verdaut werden, oder für den Menschen giftige Stoffe enthalten (ELMADFA et al., 2008/2009).

Im Haushalt werden verschiedene Garverfahren durch Wärmebehandlung angewandt. Die gebräuchlichsten Verfahren, um Gemüse und Kartoffeln zu garen sind Braten, Dämpfen, Druckgaren, Dünsten, Frittieren, Kochen und Mikrowellengaren. Wasser bzw. Wasserdampf als Medium bewirkt beim Druckgaren, Dämpfen, Dünsten und Kochen eine Wärmeübertragung auf das Gargut. Beim Kochen (Sieden) wird das Wasser auf 100°C erhitzt, in welchem das Gargut ganz oder größtenteils bedeckt ist. Beim Dünsten beträgt die Temperatur ebenfalls 100°C, jedoch ist wesentlich weniger Wasser in Verwendung. In einem geschlossenen Topf wird mit wenig Wasser und dem

eigenen Saft als Medium für die Wärmeübertragung gegart (MAID-KOHNERT, 2002).

Das Kochen von Gemüse (v.a. Blattgemüse und stark zerteiltes Gemüse) führt zu den größten Vitamin C - Verlusten im Vergleich zum Blanchieren (SIKORA et al., 2008).

Bei Erbsen konnte nachgewiesen werden, dass die Ascorbinsäure während des Blanchiervorgangs meist stabil bleibt. Ein Teil der AA kann jedoch während der Aufheizphase enzymatisch zu DHAA oxidiert werden. DHAA weist eine Instabilität bei höheren Temperaturen auf, sie oxidiert weiter zur 2,3-Diketogulonsäure, welche keine antiskorbut - Wirkung mehr besitzt. Die Halbwertszeit von DHAA bei einem pH-Wert von 6 beträgt bei 40°C 35 Minuten, und bei 70°C 2 Minuten (SELMAN, 1994).

Im Durchschnitt kann man von Vitamin C - Verlusten beim Kochen von Kartoffeln und vielen anderen Gemüsesorten von 35% ausgehen. Im Vergleich zum Dämpfen mit 25% und Dünsten mit 20% Vitamin C - Zubereitungsverlust weist Kochen den höchsten Verlust auf, siehe dazu Tabelle 2: Durchschnittliche Zubereitungsverluste verschiedener Garungsverfahren. Grund dafür ist das Auslaugen vom wasserlöslichen Vitamin in das Kochwasser bzw. den Wasserdampf (BOGNÁR, 2003).

In einer Studie von SCHILCH und ZIEMS (2001) wurde der Einfluss von Dämpfen, Druckdämpfen, Dünsten und Druckdünsten auf den Vitamin C Gehalt von Brokkoli untersucht. Nach dem Dünsten zeigte frischer Brokkoli Verluste von Vitamin C bis zu 44%. Nur geringe Unterschiede wurden in Vergleich zum Druckdünsten erkannt. Gründe hierfür sind einerseits die höhere Temperatur im Dampfdruckkochtopf, bei welcher das Gargut eine kürzere Garzeit benötigt, und andererseits die längere Garzeit vom normalen Dünsten, welche aber eine geringere Temperatur aufweist. Somit dürften sich die Verluste vom Dünsten und Druckdünsten ausgleichen, weisen deshalb kaum Unterschiede auf (SCHILCH und ZIEMS, 2001).

Zubereitungsverluste von Vitamin C diverser Gemüsesorten				
Studie	Gemüseart	Verluste in %	Garverfahren	Sonstiges
Bognár, 2003	Kartoffeln und Gemüse	35	Kochen	
Arroqui et al., 2001	Kartoffeln	57	Garen	80°C, 30 min
Lee und Kader, 2000	Kartoffeln	30	Kochen	
Sikora et al., 2008	Brokkoli, Kohl, Kohlsprossen, Blumenkohl	24-80%	Kochen	12-15 min, 100°C
Selman, 1994	Wurzelgemüse	40%	Kochen	
Selman, 1994	Blattgemüse	70%	Kochen	
Schilch und Ziems, 2001	Brokkoli	44	Dünsten	50g Wasser, 20 Min
Bognár, 2003	Kartoffeln und Gemüse	20	Dünsten	
Bognár, 2003	Kartoffeln und Gemüse	25	Dämpfen	

Tabelle 2: Durchschnittliche Zubereitungsverluste verschiedener Garungsverfahren

Vitamin C wird hauptsächlich während der Aufheizphase durch Enzyme abgebaut. Um diese Verluste durch Enzyme wie Ascorbat-Oxidase zu verringern, muss die Aufheizphase bis 65°C so kurz wie möglich gehalten werden. Ascorbat-Oxidase erreicht bei 40°C in vitro ein Aktivitätsmaximum, ab einer Temperatur von 65°C ist die Aktivität zu vernachlässigen, da sie dann nicht mehr aktiv ist. Zu einem Verlustmaximum an Vitamin C kommt es bei einer Garungstemperatur von 50°C: Hier steigen die Auslaugverluste rapide an, da die Zellmembranen permeabel werden (SELMAN, 1994). Es ist sehr unwahrscheinlich, dass das Enzym Ascorbat-Oxidase seine normale Aktivität während einer tieferorenen Lagerung beibehält (MARTINS und SILVA, 2003).

Die Ascorbat-Oxidase ist das Enzym, welches den größten Anteil des Vitamin C Abbaus übernimmt. Es enthält Kupfer und oxidiert AA unter Anwesenheit von molekularem Sauerstoff zu DHA. Ascorbat-Oxidase kommt sowohl gebunden an den Zellwänden als auch als lösliches Protein im Cytosol in schnell wachsenden Regionen der Pflanze vor. Nur zwei Enzyme sind bekannt, welche spezifisch Ascorbinsäure oxidieren: Ascorbat-Oxidase und Ascorbat-Peroxidase. Weitere Enzyme die indirekt für einen Ascorbinsäureabbau verantwortlich sind, sind die Pflanzenenzyme Cytochromoxidase und Peroxidase (LEE und KADER, 2000).

2.3. Haltbarmachung und Lagerung

Obst und Gemüse sind nicht zu jeder Jahreszeit und überall frisch erhältlich. Um eine Versorgung mit diesen Lebensmittel das ganze Jahr zu sichern, werden Obst und Gemüse haltbar gemacht. Durch Konservierung in Dosen, Gefrieren und Trocknung wird dies ermöglicht (RICKMAN et al., 2007). Frische Gemüseprodukte, welche bei Raum- oder Kühltemperaturen minimal gelagert, weisen einen höheren Vitamin C Gehalt auf als verarbeitete bzw. haltbargemachte Lebensmittel. Signifikante Verluste kann man bei Obst und Gemüse, welches in Dosen konserviert wird beobachten. Jedoch sind hier die anschließenden Verluste durch Garen und Lagern minimal (RICKMAN et al., 2007).

Bei Brokkoli sank der Gehalt an Ascorbinsäure in einer Studie nach 14 Tagen und einer Lagertemperatur von 20°C auf bis zu 44%. Bei einer Lagerung von Brokkoli bei 4 °C, wurde in der ersten Woche kein Verlust gemessen, nach 21 Tagen kam es zu einem Verlust von Ascorbinsäure von 20% (PODSEDEK, 2007).

In den letzten Jahren ist der Verzehr von gefrorenem Gemüse angestiegen. Der Gefrierprozess selbst ändert den Vitamingehalt eines Lebensmittels kaum. Die Verluste treten während den Vorbereitungsschritten auf: Das Blanchieren und

die anschließende Lagerung (SELMAN, 1994). Beim Blanchieren wird das Gemüse kurz und schnell durch Hitze im nassen Medium (Wasser oder Dampf) gegart und dadurch werden Enzyme und Mikroorganismen inaktiviert. Die Blanchierzeit ist abhängig von der Zeit die benötigt wird bis die Enzyme inaktiviert sind. Vor allem Peroxidasen benötigen eine relativ lange Zeit bis zur Inaktivierung. Das Blanchieren ist also abhängig von Zeit, Temperatur, Dicke des Blanchiergutes sowie dem Grad an Inaktivierung der Enzyme. Ist der Grad sehr hoch, wird also relativ lange blanchiert, kann es zu hohen Vitaminverlusten kommen (MUKHERJEE und CHATTOPADHYAY, 2007). Durch die Gefrierlagerung bei -20 bis -25°C ist Vitamin C über einen Zeitraum von einem Jahr relativ stabil (Verluste liegen bei 10%). Bei Temperaturen von -25 bis -30°C konnten praktische keine Verluste nachgewiesen werden. Bei einer Gefrierlagerung bei -10°C konnten Verluste an Vitamin C bis zu 80% beobachtet werden (SELMAN, 1994). Durch die Gefrierlagerung kann es auch zu sensorischen Qualitätsverlusten wie Farbe und Geschmack kommen (MARTINS und SILVA, 2003).

Während dem Gefriervorgang selbst konnte auch bei LISIEWSKA und KMIECIK (1996) kein Vitamin C Verlust nachgewiesen werden. Jedoch änderte sich das AA/DHAA Verhältnis zu Gunsten von DHAA. DHAA wird auch während der Lagerung gebildet. Das es bei Temperaturen um -18°C relativ stabil bleibt (MARTINS und SILVA, 2003).

Spargel und Erbsen sind resistenter gegenüber einer Verarbeitung, ein Vitamin C Verlust ist geringer als bei anderen Gemüsesorten. Bei Brokkoli oder Spinat liegen die Vitamin C - Verluste nach einem Jahr Tiefkühlagerung bei Temperaturen von -18 bis -20°C bei 20-50% (RICKMAN et al., 2007).

Im Allgemeinen kann man von höheren Vitamin C Gehalten in gefrorenen als in Dosen abgepackten Lebensmitteln ausgehen. Spargel ist eine der Gemüsesorten die die geringsten Verluste (10%) durch blanchieren und anschließendes Gefrieren aufweist. Die höchsten Verluste weisen Brokkoli und Spinat auf. Die Verluste, die durch den gesamten Gefrierprozess verursacht

werden können, können stark variieren, von 10% bis 80%. Im Durchschnitt kann man von Vitamin C Verlusten von 50% durch die Gefrierprozesse ausgehen. Vitamin C Verluste durch Dosenkonservierung liegen durchschnittlich bei über 60% (RICKMAN et al., 2007).

III. Methode und Material

1. Untersuchungsparameter und Untersuchungsproben

Folgende Parameter wurden untersucht:

- Vitamin C
 - o L-Ascorbinsäure (AA)
 - o Gesamte Ascorbinsäure (TAA)
 - o Dehydroascorbinsäure (DHA)
- Trockensubstanz

Folgende Gemüsesorten wurden untersucht:

- ß Grüne Bohnen, tiefgekühlt (TK-Bohnen)
- ß Zucchini, frisch
- ß Brokkoli, frisch
- ß Fenchel (Knolle), frisch
- ß Blumenkohl, frisch
- ß Kartoffel, frisch

Pro Tag wurde je eine Gemüsesorte zubereitet und anschließend die oben angeführten Parameter gemessen. Die jeweilige Gemüsesorte wurde parallel mit 3 verschiedenen Garungsverfahren zubereitet: Konventionelle Zubereitung mit Wasser, Zubereitung ohne Wasser mit dem AMC Topfmodell 29 sowie die Zubereitung ohne Wasser mit dem AMC Topfmodell 30.

Die zugefügten Wassermengen, Stückgrößen der Gemüsesorten und deren angepasste Garungszeiten (Aufheizzeit und Fortgarungszeit) wurden in Vorversuchen ermittelt und im Hauptversuch angewandt.

Das Gemüse wurde von einer Supermarktkette vor dem jeweiligen Kochtag bestellt und abgeholt. Sofort nach dem Einkauf wurde das Gemüse im Kühllabor bei 4°C im Dunkeln gelagert. Ab dem Abend vor dem Hauptversuch wurde es im Dunkeln bei Raumtemperatur gelagert, um zu tiefe Temperaturen des Gemüses am Beginn des Zubereitens zu verhindern.

Die tiefgekühlten grünen Bohnen wurden sofort nach dem Einkauf in den Tiefkühler gelegt. Die grünen Bohnen wurden erst kurz vor den Kochvorgängen im noch tiefgefroren Zustand gekocht, bzw. angetaut roh homogenisiert.

Bei den Untersuchungen konnte in allen 6 Gemüsesorten Vitamin C festgestellt werden.

1.1. Gegenstände, Materialien und Herstellung der Lösungen

Gegenstände

AMC Atmosfera 4000 Kochplatte

AMC Audiotherm Kochtopf und Deckel Modell 29

AMC Audiotherm Kochtopf und Deckel Modell 30

Konventioneller Kochtopf und Deckel

Plastiktöpfe, Schneidebretter, Messer

Stoppuhren

Abtropfsieb

Waage

BÜCHI Mixer B-400 (Homogenisator)

Vortex

Magnetrührer

Eisbad

Kühlzentrifuge RC 5C von Sorvall (+ Rotoreinsatz SS-34: 0,5)

Ultraschallbad

Trockenschrank

Exsikator

HPLC (Details siehe unten)

Thermostat

Materialien:

50 ml Zentrifugenröhrchen aus Plastik von Sorvall mit Halterung und passenden Caps

Bechergläser

Spatel

Messkolben, dunkel und hell mit Stopfen

Pipetten mit Plastikspitzen

Plastikcups, dunkel

HPLC Spritze (Hamilton)

Glasschälchen

Alufolie

Chemikalien

Essigsäure der Firma FLUKA > 99,8% (45731)

Acetonitril der Firma MERCK 99,9% (für HPLC)

Schwefelsäure der Firma FLUKA 95-97% (84720)

EDTA (Ethylendiamin-tetraessigsäure Dinatriumsalz-2-Hydrat) der Firma RIEDEL-DE HAËN 99-101% (27285)

Trichloressigsäure p.a. der Firma RIEDEL-DE HAËN 99,5% (33731)

Natriumacetat Trihydrat der Firma FLUKA ≥ 99,0% (71193)

Tris (2-Carboxyethyl) Phosphin Hydrochlorid (5g) der Firma FLUKA >98,0% (93284)

Methanol der Firma MERCK ≥ 99,9%

L-Ascorbinsäure der Firma SIGMA (Vitamin C 50-81-7)

Referenzmaterial BCR® - 431 (Kohlsprossen)

AspirinC® Brausetablette

Bidestilliertes Wasser im Labor hergestellt (Barnstead Easypure LF)

Herstellung der Lösungen (nach einer Methode von FRANKE et al., 2004; modifiziert von STARK, 2005)

Extraktionslösung:

Die Extraktionslösung besteht aus 4 Reagenzien: 1mM EDTA, 5% Trichloressigsäure, 0,3 N Schwefelsäure und 10% Essigsäure

Damit sich diese Reagenzien gut vermengen, stellt man die Extraktionslösung nach Fertigstellung 15 min in das Ultraschallbad. Anschließend wird sie im Kühlschrank bei 4°C gelagert. Während der Probenvorbereitung steht die Lösung im Eisbad.

1 Liter Extraktionslösung	
EDTA	372,4mg
Trichloressigsäure	50g
Schwefelsäure	14,91g
Essigsäure	100ml
Bidestilliertes Wasser	Auf 1000ml auffüllen

Tabelle 3: Zusammensetzung von einem Liter Extraktionslösung.

Acetatpuffer:

Der 2M-Acetatpuffer setzt sich aus 27,49g Natriumacetat-Trihydrat und 100ml bidestilliertem Wasser zusammen. Um auch hier eine gute Vermengung zu gewährleisten, wurde der Puffer 15 min in das Ultraschallbad gestellt.

Laufmittel/ Mobile Phase für die HPLC

Das Laufmittel besteht aus einer 2% Essigsäurelösung und Acetonitril, im Verhältnis 80:20.

Für die 2% Essigsäurelösung werden 22ml konzentrierte Essigsäure in einem 1l Messkolben mit bidestilliertem Wasser aufgefüllt.

800ml dieser 2% Essigsäurelösung vermischt man mit 200 ml Acetonitril und erhält nach gutem Schütteln ein Liter Laufmittel.

1mmolare TCEP-Lösung

Um diese Lösung herzustellen, benötigt man 7,22 mg des Tris - Reagenz. Diese wird in einen 25ml Messkolben mit dem 2M Acetatpuffer aufgefüllt. Nach 15 Minuten im Ultraschallbad ist das Tris - Reagenz vollständig gelöst. Die TCEP Lösung wird in einer Braunglasflasche bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt.

1.2. Versuchsaufbau und Ablauf

Im Hauptversuch wurden die sechs Gemüsesorten mit drei unterschiedlichen Methoden zubereitet. Eine Garungsmethode war konventionell. Hier wurde mit Wasser gekocht. Bei den zwei weiteren Garungsmethoden wurden einerseits das AMC Audiotherm Kochtopfmodell 29 und andererseits das AMC Audiotherm Kochtopfmodell 30 hinzugezogen. Es wurde ohne Wasser gegart. Nach dem Zubereiten mit den oben erwähnten Garungsverfahren wurde pro Gemüsesorte und Verfahren das vollständige Gargut homogenisiert. Aus jedem Homogenisat wurden drei Stichproben gezogen. Auch von dem rohen bzw. frischen Gemüse wurde je ein Homogenisat hergestellt, und auch hier wurden drei Proben gezogen. Alle Proben wurden in Doppelbestimmung aufbereitet und extrahiert. Diese wurden dann in Doppelbestimmung in die HPLC eingespritzt. Mit dem resultierendem Mittelwert wurden die Gehalte für AA, DHA und TAA bestimmt.

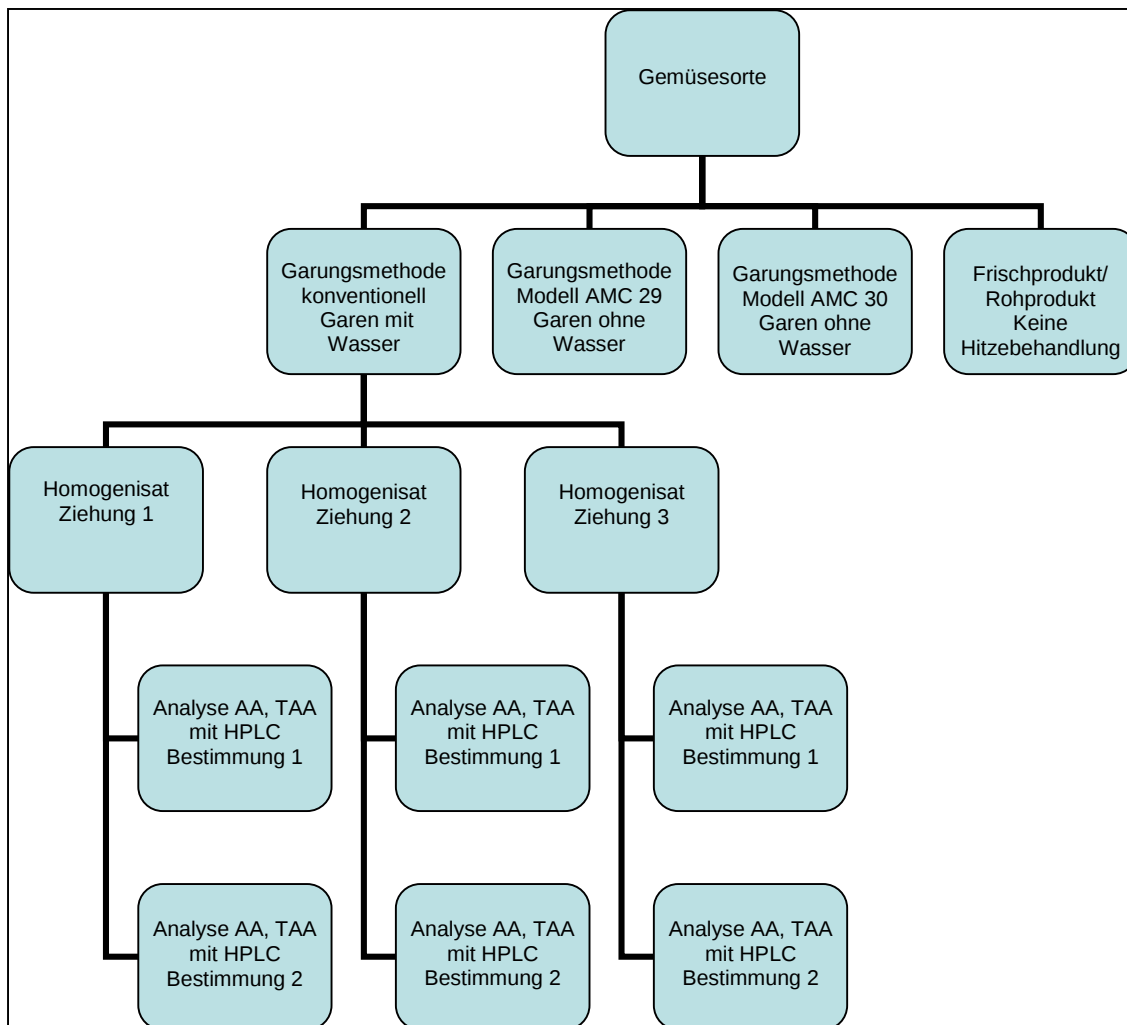


Abbildung 3: Versuchsablauf am Beispiel der konventionellen Garungsmethode. Dieses Schema des Versuchsablaufs wurde auch bei den weiteren zwei Zubereitungsarten sowie dem Frisch- und Rohprodukt angewandt.

1.3. Probenaufarbeitung

Die Probenaufarbeitung erfolgte in einer Laborküche. Diese wurde verdunkelt, damit kein Sonnenlicht auf die Gemüseproben gelangte.

Die ungewaschenen Kartoffeln wurden geschält und wurden in gleich große Stücke geschnitten, sodass eine Kartoffel in vier Teile aufgeteilt werden konnte. Somit konnte sichergestellt werden, dass jedem Kochmodell, bzw. Rohversuch die gleichen Kartoffelproben zu Grunde lag. Je 1 kg Kartoffel wurde pro Zubereitungsart verwendet. Eingewogen würden alle Gemüsesorten zunächst

in einem Plastiktopf. Anschließend wurden sie in die unterschiedlichen Töpfe für die verschiedenen Garungsverfahren gegeben. Für das konventionelle Garungsverfahren wurden 750 g Wasser verwendet. Die beiden AMC Modelle benötigten jeweils 60 g Wasser.



Beim Fenchel wurden die Blätter und Stängel der Knolle entfernt. Die äußere Schale sowie der harte innere Kern der Knolle wurden nicht verwendet. Nur der essbare Teil der Knolle wurde wieder gleichmäßig auf die verschiedenen Zubereitungsarten aufgeteilt. Für die konventionelle Garungsmethode wurden 300g Wasser zu 500g Fenchel zugefügt, beide AMC Modellen wurden je 30g Wasser zugefügt.

Abbildung 4: Probenvorbereitung: Schneiden der Fenchelknollen

Die Röschen des Brokkolis wurden jeweils ungewaschen in etwa gleich große Teile geteilt und je 300 g zubereitet. Auch hier wurde darauf geachtet, dass jeder Strauß auf die Kochmodelle und den Rohversuch aufgeteilt wurde. 200 g Wasser wurden für den konventionellen Kochvorgang verwendet, je 50 g für die beiden AMC Modelle.

Auch die Röschen vom Blumenkohl wurden ungewaschen in vier Teile geschnitten und auf je 500 g schwere Portionen aufgeteilt. Für das konventionelle Garungsverfahren benötigte man 300g Wasser, für die beiden AMC Modelle benötigte man je 50g Wasser.

Die ungewaschenen, ungeschälten Zucchini wurden in ca. 0,5 cm dicke Scheiben geschnitten. Auch diese wurden gerecht auf die vier Zubereitungsarten aufgeteilt (500g je Zubereitungsart). 300g Wasser wurden

bei der konventionellen Garungsmethode hinzugefügt, je 30g Wasser wurden bei den AMC Garungsmodellen zugegeben.

Je 500g TK-Bohnen wurden im gefrorenen Zustand auf die drei Garungsverfahren sowie die Rohprobe aufgeteilt. Dem konventionellen Garungsverfahren wurde 300g Wasser zugefügt, den beiden AMC Methoden wurden je 30g hinzugefügt.

1.4. Garen des Gemüses

Das vorbereitete, geschnittene und gerecht aufgeteilte Gemüse wurde mit dem AMC Kochtopf Modell 29, AMC Kochtopf Modell 30 und in einem konventionellen Kochtopf gegart. Beheizt wurden die Töpfe durch Atmosfera 4000 Kochplatten. Genaue Vorgar- und Hauptgarzeiten sind aus

Tabelle 4: Auflistung der Garzeiten und Energieregulierung der Gemüsesorten des Garens mit dem konventionellen Modell, dem AMC 29 Modell und dem AMC 30 Modell“ ersichtlich. Die einzelnen Garzeiten wurden in Vorversuchen genau getestet, um sicher zu stellen dass das Gemüse nicht zu lange bzw. zu kurz gegart wird.

Nach den parallel durchgeführten Kochvorgängen wurde einerseits das Gewicht des Gemüses als auch das Kochwasser rück gewogen. Das Kochwasser wurde nicht auf den Vitamingehalt untersucht. Dieser ist für dieses Studiendesign nicht relevant. Das Gemüse wurde nach dem Rückwiegen auf einer Küchenrolle abgetropft, um überflüssiges Kochwasser zu binden. Anschließend kam das



Abbildung 5: Vorbereitung der Kochtöpfe auf Atmosfera 4000 Kochplatten in der Laborküche.

Gemüse für 15 Minuten zum Abkühlen in das dunkle Kühllabor (4°C). Danach wurde das gesamte Kochgut mit dem Büchi-Mixer homogenisiert.

Gemüse	Aufheizzeit	Fortgarzeit	Gesamtgarzeit	Energieregelung
Kartoffel konventionell	Ca. 10 min	Ca. 30 min	Ca. 40 min	9/1/0/1
Kartoffel AMC 29	Ca. 9 min	Ca. 41 min	Ca. 50 min	6/3
Kartoffel AMC 30	Ca. 5 min	Ca. 30 min	Ca. 35 min	9/2
Brokkoli konventionell	Ca. 5 min	Ca. 15 min	Ca 19 min	9/1
Brokkoli AMC 29	Ca. 6 min	Ca. 30 min	Ca 36 min	6/3/1
Brokkoli AMC 30	Ca. 4 min	Ca 25 min	Ca. 29 min	9/1/0
Fenchel konventionell	Ca. 6 min	Ca. 8 min	Ca. 14 min	9/1
Fenchel AMC 29	Ca. 8 min	Ca. 23 min	Ca. 31 min	6/3/4
Fenchel AMC 30	Ca. 4 min	Ca. 20 min	Ca. 24 min	9/1/2
Zucchini konventionell	Ca. 6 min	Ca. 7 min	Ca. 13 min	9/1
Zucchini AMC 29	Ca. 8 min	Ca. 18 min	Ca. 26 min	6/3/4
Zucchini AMC 30	Ca. 5 min	Ca. 6 min	Ca. 11 min	9/0
Blumenkohl konventionell	Ca. 6 min	Ca. 16 min	Ca. 22 min	9/1
Blumenkohl AMC 29	Ca. 7 min	Ca. 35 min	Ca. 42 min	6/3/0/1
Blumenkohl AMC 30	Ca. 5 min	Ca. 30 min	Ca. 35 min	9/1
TK-Bohnen konventionell	Ca. 11 min	Ca. 20 min	Ca. 31 min	9/3
TK-Bohnen AMC 29	Ca. 10 min	Ca. 27 min	Ca. 37 min	7/3
TK-Bohnen AMC 30	Ca. 7 min	Ca. 27 min	Ca. 34 min	9/3/2/1/0

Tabelle 4: Auflistung der Garzeiten und Energieregulierung der Gemüsesorten des Garens mit dem konventionellen Modell, dem AMC 29 Modell und dem AMC 30 Modell

Aus diesem Homogenisat wurden 3 Ziehungen für die weitere Analyse entnommen, eingewogen, sofort mit Extraktionslösung vermengt und auf Eis gestellt. Ebenso wurden die Proben für die Trockenmasse entnommen.

Die Probe des rohen Gemüses wurde ebenfalls homogenisiert, eingewogen und sofort mit Extraktionslösung vermengt.

1.5. Extraktion

Die Extraktion erfolgte nach der Methode von FRANKE et al. (2004), modifiziert von STARK (2005).

Die Zusammensetzung des Extraktionsmittels wurde schon in Kapitel 1.1. beschrieben. Voraussetzungen für das Extraktionsmittel waren ein sehr saures Milieu und ein Metallchelator wie EDTA, um es vor Oxidation durch Metallionen zu schützen.

Es wurden jeweils 2,5g Gemüseprobe in ein 50ml Zentrifugenröhrchen eingewogen. Anschließend wurden 10ml kalte Extraktionslösung hinzugefügt. Die Probe wurde mit dem Extraktionsmittel gut vermengt (eine Minute am Vortex), eine Minute stehen gelassen und dann wieder eine Minute am Vortex vermengt. Die Probe wurde 10 Minuten bei 4 - 6°C mit 10.000rpm zentrifugiert. Danach wurde der Überstand in einem dunklen 100ml Messkolben überführt. (Etwa 10 ml, je nachdem wie gut sich das Extrakt vom Unterstand entfernen lässt.) Dieser Messkolben wurde in einem Eisbad dauerhaft gekühlt und im Dunkeln stehen gelassen. Der Unterstand im Röhrchen (Probe) wurde erneut in 8ml Extraktionslösung aufgenommen. Diesmal nur 8ml. Das Gemisch wurde am Vortex gemischt, stehen gelassen und anschließend nochmals gemischt. Dieser Vorgang wiederholte sich noch zweimal.

Zu dem, im 100ml Meßkolben gesammelten Überstand (das Extrakt), wurden 6ml Acetatpuffer zugefügt und mit bidestilliertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt und gemischt. Bis zur Messung lagerten die Kolben im Dunkeln und in einem Eisbad, um einen Vitamin C Verlust zu verhindern.

1.6. Bestimmung von AA, DHA und TAA mittels HPLC

Jede Probe wurde in Doppelbestimmung in die HPLC injiziert. Den genauen Aufbau der HPLC wird weiter unten beschrieben.

Direkt gemessen wurden die L-Ascorbinsäure und die Gesamtascorbinsäure. Die Dehydroascorbinsäure wurde erst im Nachhinein berechnet.

Analysevorgang:

L-Ascorbinsäure (AA):

Man entnimmt aus dem Meßkolben 100µl Lösung (5faches Schleifenvolumen) und spritzt es direkt in die HPLC ein.

Gesamte Ascorbinsäure (TAA):

200µl der Lösung aus dem Meßkolben vermischt man mit 200µl TCEP-Lösung in einem dunklen Cup. Nach genau 60 Minuten spritzt man die reduzierte Lösung in die HPLC.

Dehydroascorbinsäure (DHA):

Hier ist keine zusätzliche HPLC Messung notwendig: Durch die Differenzmethode subtrahiert man AA von TAA und erhält DHA.

Da die Lebensmittelproben das Säulensystem der HPLC sehr beanspruchen, wurde nach der täglichen Analyse die HPLC gespült: 10 Minuten mit Wasser in Fließrichtung der Säule (Flow 0,5), 10 Minuten mit Wasser (Flow 0,5) gegen die Fließrichtung der Säule, mit Methanol/Wasser (50:50) bei einem Flow von 0,5 und anschließend über Nacht mit Methanol/Wasser (50:50) bei einem Flow von 0,2 ml/min.

1.6.1. Laufmitteltests

Das verwendete Laufmittel wurde einigen Tests unterzogen, um die bestmögliche Auftrennung der Peaks zu erzielen. Verschiedene Verhältnisse zwischen den beiden Komponenten Essigsäurelösung und Acetonitril wurden erstellt (5% und 10% Acetonitril). Bei dem für die Vitamin C Methode ausgesuchte Laufmittel (Essigsäurelösung:Acetonitril 80:20) erhält man die am besten aufgetrennten Peaks.

Außerdem wurde bei den Testläufen herausgefunden, dass es keinen Blindwert der Chemikalien, welche in der Probenvorbereitung verwendet wurden, oder von dem Reduktionsmittel gibt.

Die Matrix der verschiedenen Gemüsesorten verändert die Peaks. Die reine L-Ascorbinsäure des Standards von SIGMA weist einen kleineren Peak auf, als der der Gemüseproben.

Für Zucchini und Fenchel konnte keine L-Ascorbinsäure Konzentration ermittelt werden. Die Peaks waren durch eine fehlende Auftrennung der Ascorbinsäure von der Lebensmittelmatrix nicht zu integrieren, da diese zu breit ausgeprägt waren. Bei Fenchel und Zucchini wurde versucht durch vorzeitige Zugabe des Extraktionsmittels eine verfrühte Oxidation zu verhindern und somit eine bessere Peak-Auftrennung zu erhalten. Es wurde bereits gleich anschließend an das Zerkleinern im Extraktionsmittel homogenisiert. Somit war eine Oxidation der Ascorbinsäure durch Licht-, Sauerstoff oder Temperatureinfluss schon während des Homogenisierens gehemmt. Dieser Versuch führte jedoch zu keiner besseren Auftrennung der Peaks.

1.6.2. Analysegerät HPLC/ RP

Es gibt sehr viele verschiedenen Methoden, um Vitamin C zu bestimmen. Nicht nur die analytische Unterscheidung, sondern auch die Detektion der AA und DHA machen die Vitamin C Analyse zu einem komplexen Vorhaben. Eine gleichzeitige Messung von AA und DHA ist noch nicht möglich. Somit muss eine der beiden Komponenten immer umgewandelt werden, und durch Subtraktionsmethode errechnet werden. Auch die Stabilität der AA und DHA

während der Probenvorbereitung ist aufrecht zu erhalten, was mit einem Mehraufwand verbunden ist (NOVÁKOVÁ et al., 2008).

Analysiert wurde Vitamin C mittels einer Reversed Phase HPLC (Umkehrphasenchromatographie). Die mobile Phase (polar) bestand aus Essigsäurelösung (2%) und Acetonitril im Verhältnis 80:20. Die stationäre Phase war auf Grund der C-18 Ketten relativ unpolar. Das Schleifenvolumen (Dosierschleife) war 20µl. Injiziert wurde jedoch das 5 fache Schleifenvolumen. Die Trennsäulentemperatur wurde mit einem Thermostat konstant auf 25°C gehalten, um Umgebungs-Temperaturschwankungen zu kompensieren. Diese Schwankungen hätten eventuell Einfluss auf eine Veränderung der Analysezeit oder ein verstärktes Bilden von Blasen. Detektiert wurde mit einem UV-Detektor bei 243nm, welcher UV-Strahlungsabsorbierende Substanzen registriert. Ein Integrator zeichnete die registrierten Substanzen auf (Chromatogramme) und integrierte die vorhandenen Peaks (MATISSEK und STEINER, 2006).

Das angewandte HPLC System für die Vitamin C Bestimmung:

Nach FUROSAWA (2001)

Komponenten	Gerät
Probenaufgabe	20µl Einspritzschleife (einzuspritzen ist das 5fache Schleifenvolumen)
Pumpe	Merck HITACHI La Chrom Kolbenpumpe L-7110 Fließgeschwindigkeit: 0,8ml/min
Mobile Phase (Laufmittel)	Acetonitril:Essigsäure (2%) (20:80)
Vorsäule	YMC Europe GmbH YMC-Pack J'sphere ® H80; 10x4,0mm ID
Säule	YMC HPLC Column J'sphere ® ODS-H80 JH-303 250x4,6mm I.D. Particle S-4µm, 8nm JH08S04-2546WT

Thermostat für konstante Temperatur der Säule	Wasserbad von T LAUDA (T=25°C) COSYTHERM 3 Labortechnik Barkey, Bielefeld
Detektor	Merck HITACHI La Chrom UV-Detektor L-7400 $\lambda = 243\text{nm}$
Integrator für die Auswertung (Peakflächenmethode)	Merck HITACHI Integrator D-7500

1.7. Auswertung

1.7.1. Regressionsgerade für die Auswertung

Als Ausgangskonzentration für die Erstellung einer Regressionsgerade (2,5mg/l, 5,0mg/l, 7,5 mg/l, 10 mg/l, 12,5 mg/l, 15 mg/l, 17,5 mg/l, 20,0 mg/l, 25 mg/l und 30,0 mg/l) wurde eine Stocklösung vorbereitet, welche eine Konzentration von 500 mg Ascorbinsäure/ Liter hatte.

Der Korrelationskoeffizient der Gerade war $r^2 = 0,9997$.

Regressionsgerade

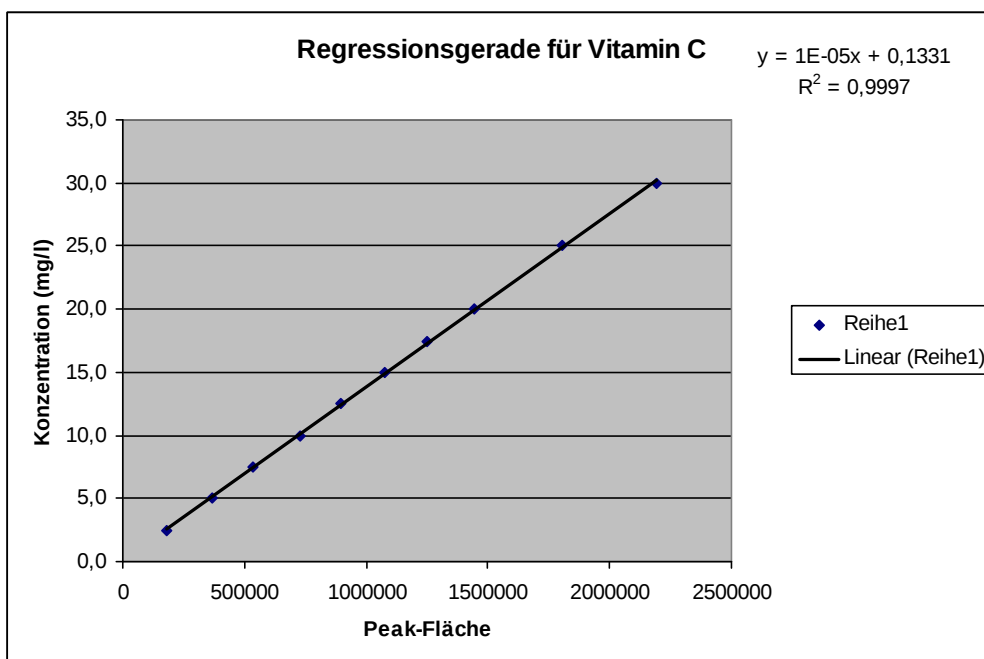


Tabelle 5: Regressionsgerade für die Berechnung der AA und TAA.

1.7.2. Chromatogramme und Berechnung

Die Retentionszeit für L-Ascorbinsäure betrug etwa 3 Minuten. Es wurde jeden Tag mehrmals ein Standard injiziert, um die Retentionszeit der L-Ascorbinsäure genau zu erkennen. Die gesamte Laufzeit betrug 7 Minuten. Auf dem Chromatogramm waren zwei Peaks deutlich zu unterscheiden: Der erste zeigte den Peak der L-Ascorbinsäure, der darauf folgende den der Trichloressigsäure, welche im Extraktionsmittel vorhanden war.

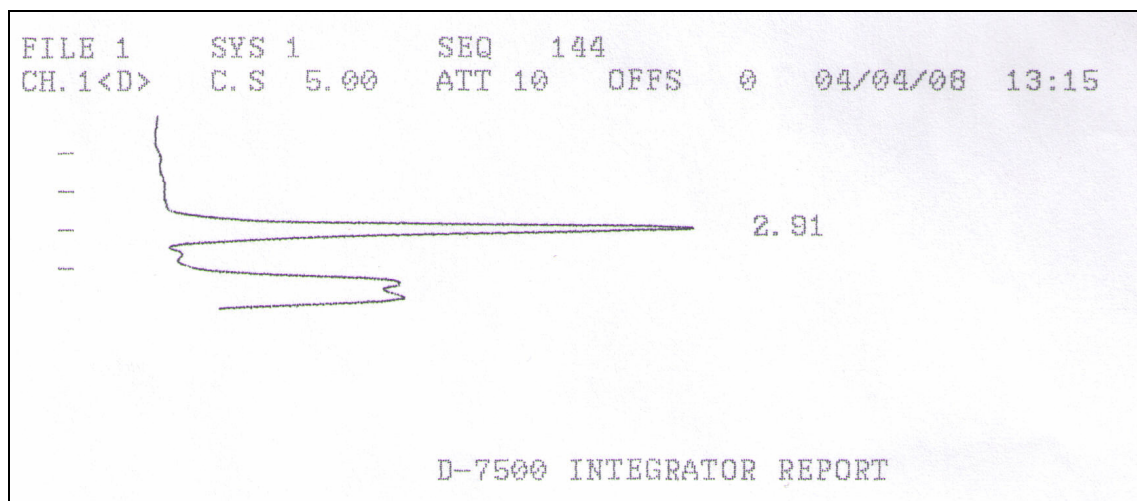


Abbildung 6: AA-Peak einer Kohlsprosse (Referenzmaterial)

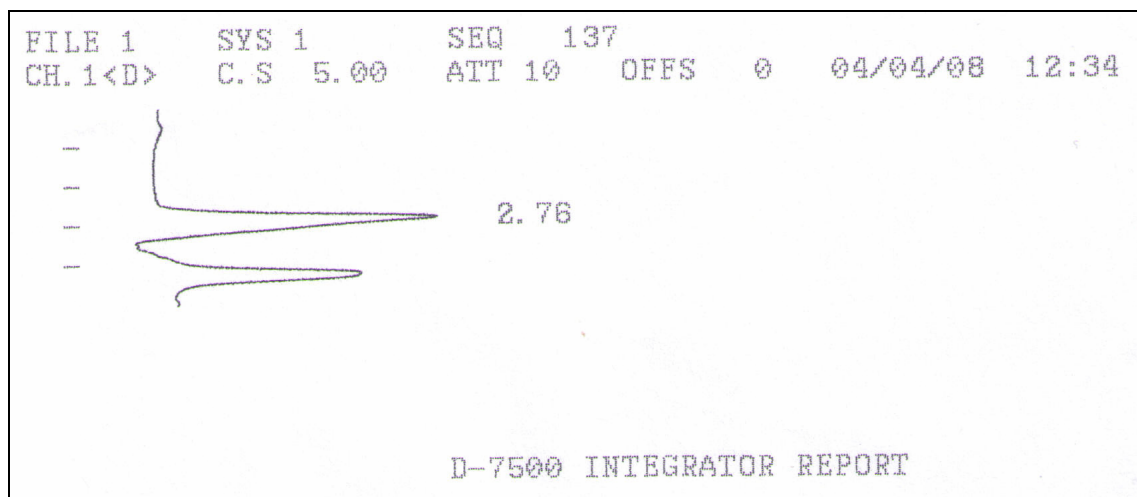


Abbildung 7: TAA-Peak einer Kohlsprosse (Referenzmaterial)

Für die Auswertung der Chromatogramme wurde die Peakfläche der detektierten Ascorbinsäure hinzugezogen. Anhand der Regressionsgeraden konnte man aus der Peakfläche durch lineare Regression die Vitamin C Konzentration errechnen.

Berechnet wurden nach folgenden Formeln:

$$AA = \frac{(0,00001 \times \text{Peakfläche} + 0,01331) \times \text{Extraktionsvolumen}}{\text{Einwaage}} \times 100$$

$$TAA = \frac{(0,00001 \times \text{Peakfläche} + 0,01331) \times \text{Extraktionsvolumen} \times VF}{\text{Einwaage}} \times 100$$

$$DHA = TAA - AA$$

Formel 1: Berechnung von AA, TAA und DHA

Für AA setzt man die Peakfläche des AA Chromatogramms in die Regressionsgleichung ein, multiplizierte diese mit dem Extraktionsvolumen des Kolbens von 100ml, dividiert es durch die genaue Probeneinwaage und multipliziert es anschließend mit 100, um eine Konzentration von mg/100g zu erhalten.

Für TAA gilt das gleiche, bis auf den Verdünnungsfaktor (VF). Dieser beträgt 2, da man vor der Messung 200µl des Extraktes mit 200µl der TCEP Lösung vermischt. Hier entsteht eine Verdünnung, die man mit ein berechnen muss.

1.8. Trockensubstanz (TS)

Die Trockensubstanz wurde nach einer Methode von MATISSEK und STEINER (2006) bestimmt.

Nach dem Homogenisieren der Proben wurden je zwei Ziehungen für die Trockenmasse entnommen. Es wurde zuerst das Eigengewicht des Glasschälchens gewogen und notiert. Diese wurden drei Stunden vorgetrocknet (103°C), im Exsikator abgekühlt. Anschließend wurde eine Einwaage von 5g Probe in jedes Schälchen eingewogen. Nach dem Wiegen wurde das Gewicht

notiert. Für 24 Stunden kamen die Glasschälchen in den Trockenschrank bei 103°C.

Nach dem Abkühlen im Exsikator wurde rückgewogen und auf Trockensubstanz und Wassergehalt rückgeschlossen.

$$TS[\%] = \frac{(\text{Gefäß} + \text{Einwaage}_{\text{trocken}}) - (\text{Gefäß})}{(\text{Gefäß} + \text{Einwaage}_{\text{frisch}}) - (\text{Gefäß})} \times 100$$

Formel 2: Berechnung der Trockensubstanz in %

1.9. Qualitätssicherung

1.9.1. Trockenmasse

Für die Qualitätssicherung der Trockenmasse wurde eine rohe Zucchini homogenisiert. Aus dieser Probe wurden 10 Ziehungen entnommen. Von diesen 10 Ziehungen wurde die Trockenmasse ermittelt. Der Variationskoeffizient betrug 0,08%.

1.9.2. Vitamin C

An jedem Analysetag wurde zu Beginn der Messung, in der Mitte und gegen Ende der Messung ein Ascorbinsäurestandard injiziert. So konnte man die genaue Retentionszeit der AA erkennen.

Um eine Messpräzision des Arbeitens und der Analyse innerhalb eines Tag zu garantieren, wurde ein (Intra-) Variationskoeffizient (VK) bestimmt. Für die gesamte Ascorbinsäure wurden Zucchini gekocht und 12mal extrahiert. Für den VK der L-Ascorbinsäure wurden gekochte Zucchini 10mal extrahiert und gemessen.

An jedem Analysetag wurde eine Kontrollprobe eingespritzt um den (Inter-) Variationskoeffizienten zu bestimmen. Eine Tag zu Tag Präzision konnte so sichergestellt werden. Sowohl TAA als auch AA wurden bestimmt. Die Kontrollprobe war ein zertifiziertes Referenzmaterial BCR® - 431 (Kohlsprossen).

Weiters wurde für die Wiederfindungsrate eine aufgelöste AspirinC® Brausetablette gemessen. Die Konzentration einer Tablette war im Beipackzettel genau angegeben.

Kenndaten der Qualitätssicherung	
Inter- VK	
AA (n=6)	11,23 %
TAA (n=6)	15,99 %
Intra- VK (Mehrfachbestimmung)	
AA (n=10)	4,98 %
TAA (n=12)	4,35 %
Wiederfindung	
TAA (n=4)	97 %
Nachweisgrenze	
AA	20 ng/ml

Tabelle 6: Kenndaten der Qualitätssicherung

1.10. Statistik

Um die Daten der Analysetage zu erfassen und zu berechnen wurde Excel2003® für Windows® verwendet. Mit diesem Programm wurden der arithmetische Mittelwert, die Standardabweichung und der Variationskoeffizient wie unten beschrieben berechnet (nach STELAND, 2007).

Arithmetischer Mittelwert

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

Standardabweichung

$$s = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

Variationskoeffizient

$$\text{VarK}(x) = \frac{\text{Standardabweichung}(x)}{\text{Arithmetischer Mittelwert}(x)} = \frac{s_x}{\bar{x}}$$

Mit dem Programm SPS[®] für Windows[®] wurden die Proben auf Normalverteilung durch den Kolmogorov-Smirnov-Test geprüft. Nachdem alle Proben normalverteilt waren, wurden die Mittelwerte durch einen T-Test bei unabhängigen Stichproben verglichen. Es wurden sowohl die einzelnen Parameter (AA, DHA, TAA) als auch die Garungsmethoden bzw. das Frischgemüse miteinander verglichen.

IV. Ergebnisse und Diskussion

1. Ergebnisse

Der Gesamt-Vitamin C Gehalt (TAA) wurde in sechs Gemüsesorten bestimmt (TK-Bohnen, Kartoffel, Blumenkohl, Brokkoli, Fenchel und Zucchini). Der Gehalt an L-Ascorbinsäure (AA) konnte in vier Gemüsesorten bestimmt werden (TK-Bohnen, Brokkoli, Blumenkohl und Kartoffel).

Der gesamte Vitamin C-wirksame Anteil (TAA) setzt sich aus der L-Ascorbinsäure (AA) und der Dehydroascorbinsäure (DHA) zusammen. Somit ist es möglich, den prozentualen Anteil an AA und DHA zu berechnen, und Veränderungen der AA und DHA Gehalte einfach zu erkennen und zu vergleichen.

Es werden nicht nur Vitamin C Gehalte für das Frischgewicht angegeben.

Angaben im Bezug auf das Trockengewicht werden in der unten stehenden Tabelle angeführt. Diese sind wichtig, da sich der Feuchtgehalt während der Verarbeitungsprozesse verändern kann (RICKMAN et al., 2007).

	Trockensubstanz					
	TK Bohnen	Kartoffel	Blumenkohl	Brokkoli	Fenchel	Zucchini
Frisch	8,6	21,2	7,7	13,9	6,2	4,7
Konventionell gegart	8,9	20,2	7,4	11,9	5,7	4,5
AMC Modell 29 gegart	9,9	22,5	8,1	13,4	6,7	5,1
AMC Modell 30 gegart	9,6	22,8	7,9	13,6	6,4	5,1

Tabelle 7: Ergebnisse der Trockensubstanz in % der untersuchten Gemüsesorten.

1.1. TK-Bohnen

In den gefrorenen, rohen Bohnen konnte eine gesamte Vitamin C (TAA) Konzentration von $69,8 \pm 15,25$ mg/100g bestimmt werden. Der L-Ascorbinsäuregehalt (AA) der gefrorenen Bohnen beträgt $44,8 \pm 2,07$ mg/100g. In den gefrorenen Bohnen ist das Verhältnis AA/DHA 64:36 %.

Die in der Literatur angegebenen Werte für L-Ascorbinsäure (AA) in rohen, tiefgekühlten Bohnen variieren stark: FAVELL et al. (1998) gibt Werte zwischen 15 und 17 mg/100g AA an, FRANKE et al. (2004) berichtet von 8,6 mg/ 100g AA. GIANNAKOUROU und TAOUKIS (2003) geben $25,3 \pm 9,9$ mg/100g AA an. Die hier ermittelten Werte in rohen TK-Bohnen liegen über den in der Literatur angegebenen Werten. Die Werte aus der Literatur für die totale Ascorbinsäure (TAA) liegen mit 20 mg/100g TAA (SENER und SOUCI 2004) unter den ermittelten Werten. Diese Angabe war jedoch auf frische und nicht tiefgekühlte Bohnen bezogen.

Nach der Zubereitung der TK-Bohnen mit dem konventionellen Garungsverfahren wurde eine nicht signifikant ($p > 0,05$) höhere Konzentration der TAA von 10% im Vergleich zum rohen Tiefkühlprodukt beobachtet. Die TAA-Konzentration lag bei $77,1 \pm 3,28$ mg/100g. Durch das Zubereiten mit der konventionellen Methode veränderte sich das AA/DHA Verhältnis signifikant ($p < 0,05$) zu Gunsten der DHA auf 37:63%.

Durch die Zubereitung mit dem AMC Modell 29 wurde eine TAA Konzentration von $78,9 \pm 10,0$ mg/100g nachgewiesen. Nicht signifikant ($p > 0,05$) größere Unterschiede von 13% konnte durch das Garen mit der AMC Methode 29 im Vergleich zum gefrorenen Gemüse beobachtet werden. Das AMC Modell 29 wies im Vergleich zur konventionellen Garungsmethode einen nicht signifikant ($p > 0,05$) größeren Unterschied auf. Die Konzentration an L-Ascorbinsäure (AA) war $36,3 \pm 1,1$ mg/100g. Das AA:DHA Verhältnis verschob sich durch die Zubereitung zu Gunsten der DHA auf 46:54 %.

Durch das Garen mittels AMC Modell 30 wurden ebenfalls höhere der Konzentration der TAA im Vergleich zum gefrorenen Gemüse ermittelt. Die Konzentration war $76,9 \pm 6,4$ mg/100g TAA und führte zu höheren Konzentrationen von 10% im Vergleich zum Rohprodukt. Es kam nach dem Zubereiten des Rohproduktes mit den drei Garungsarten (konventionell, AMC Modell 29 und 30) zu keinen signifikanten ($p > 0,05$) Unterschieden des TAA. Die Konzentration der AA war $30,5 \pm 0,64$ mg/100g. Das Verhältnis der Vitamin C wirksamen Formen verlagerte sich nach dem Zubereiten mit dem AMC Modell 30 auf die Seite der DHA (40:60 %).

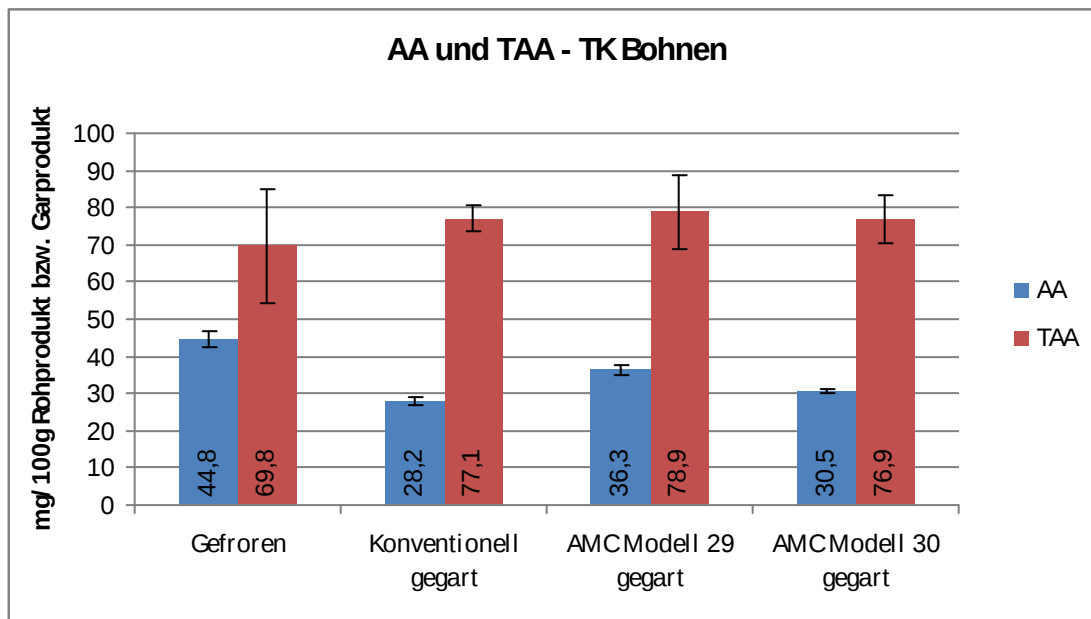


Abbildung 8: Gehalt an TAA und AA in TK-Bohnen bezogen auf das Roh- bzw. Garprodukt.

In Bezug auf die Trockensubstanz lag die Konzentration der TAA der rohen TK-Bohnen bei 813 mg/100g und die der AA bei 522 mg/100g.

Durch das konventionelle Garen der TK Bohnen kam es auch hier zu einer signifikant ($p < 0,05$) höheren Menge an TAA von 7%. Die Konzentration lag bei 870 mg/100g TAA. Die AA Konzentration war 318 mg/100g.

Beim Garen der TK Bohne mit dem AMC Modell 29 wurde eine Konzentration von 795 mg/100g TAA ermittelt. Es konnte ein geringer, nicht signifikanter ($p > 0,05$) Verlust der TAA im Vergleich zum gefrorenen Gemüse beobachtet werden. Jedoch sind die 2% des Verlustes nicht zu berücksichtigen, da diese in die Meßungenauigkeit der Analysemethode (Variationskoeffizient ist 4,89%) fallen.

Nach der Anwendung des AMC Modell 30 gab es wie auch nach der Anwendung mit dem AMC Modell 29 nicht signifikant ($p < 0,05$) geringere Konzentrationen an TAA. Es kann vermutet werden, dass hier lösliche Feststoffe ausgewaschen wurden. Dadurch kam es zu einem nur im Bezug auf das Frischgewicht auftretende höhere Konzentration (RICKMAN et al., 2007).

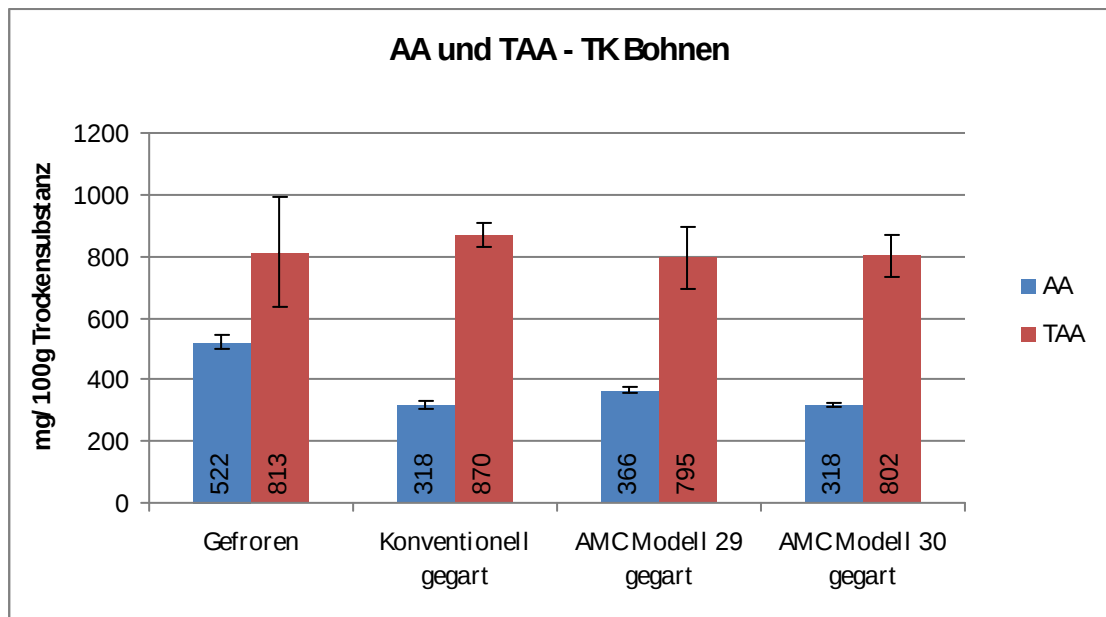


Abbildung 9: Gehalt an TAA und AA in TK-Bohnen bezogen auf Trockensubstanz.

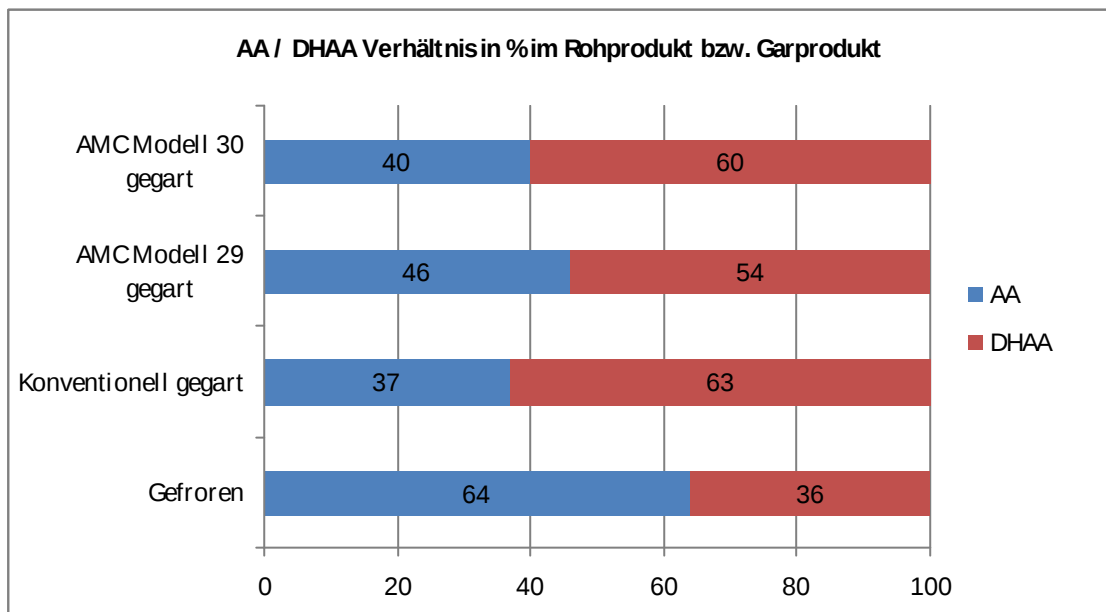


Abbildung 10: Prozentueller Anteil der L-Ascorbinsäure (AA) und Dehydroascorbinsäure (DHA) am Gesamt-Vitamin C (TAA) in der TK-Bohne.

1.2. Kartoffel

In der frischen rohen Kartoffel konnte eine TAA Konzentration von $39,8 \pm 3,4$ mg/100g ermittelt werden. Die AA Konzentration betrug $29,6 \pm 2,07$ mg/100g. Dies ergibt ein AA/DHA Verhältnis von 74:26 %. Die Literatur gibt sehr unterschiedliche Vergleichswerte an: Die TAA Gehalte lagen über den Werten von SENSER und SOUCI (2004) mit 17 mg/100g TAA und 30 mg /100g TAA (HAASE und WEBER, 2003) in der frischen Kartoffel. Vergleichbar waren die Gehalte mit ARROQUI et al. (2001); sie berichten über einen AA Gehalt von 30 mg/100g.

Nach der konventionellen Garungsmethode verringerte sich die TAA Konzentration der Kartoffel signifikant ($p < 0,05$) auf $32,6 \pm 1,5$ mg/100g. Durch das Garen mit der konventionellen Methode zeigten sich geringer Konzentrationen der TAA von 18% im Vergleich zum Frischprodukt. Das Verhältnis der AA/DHA verschob sich zu Gunsten der DHA auf 48:52 %.

Nach dem Zubereiten der rohen Kartoffel mit dem AMC Modell 29 wurde eine Konzentration von $33,1 \pm 2,2$ mg/100g nachgewiesen. Durch das Garen mit dem AMC Modell 29 konnte zwar ein signifikanter ($p < 0,05$) Verlust (17%) im Vergleich zum Frischprodukt ermittelt werden, jedoch im Vergleich zum konventionellen Garungsverfahren waren keine signifikanten ($p > 0,05$) Unterschiede festzustellen. Hier verschob sich das AA/DHA Verhältnis zu Gunsten der DHA auf 63:37 %.

Nach der Zubereitung der Kartoffel mit dem AMC Modell 30 konnten $31,6 \pm 1,5$ mg/100g TAA nachgewiesen werden. Es konnte ebenfalls ein signifikanter ($p < 0,05$) Unterschied zum Frischprodukt erkannt werden (Verminderung der TAA Konzentration um 21%). Vergleicht man dieses Modell mit dem AMC Modell 29, oder mit der konventionellen Garungsmethode, können keine signifikanten ($p > 0,05$) Unterschiede erkannt werden. Das Verhältnis AA/DHA änderte sich nach dem Garen mit dem AMC Modell 30 zu Gunsten der DHA (55:45).

Alle drei Garungsmethoden (konventionell, AMC Modell 29 und 30) miteinander verglichen, führten im Bezug auf die Gesamascorbinsäure (TAA) zu keinen signifikanten ($p > 0,05$) Unterschieden.

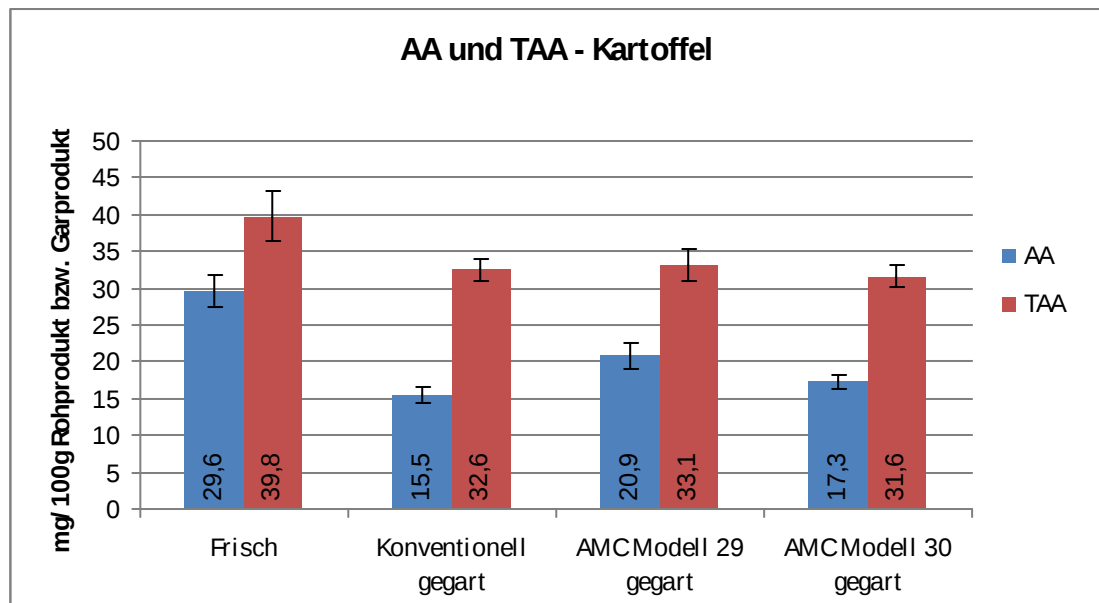


Abbildung 11: Gehalt an TAA und AA in der Kartoffel bezogen auf das Roh- bzw. Garprodukt.

Im Bezug auf die Trockensubstanz der rohen Kartoffel betrug die Konzentration der TAA im Frischprodukt 188 mg/100g. Die Literatur beschreibt Werte von 94,6 mg/100g TAA (HAASE und WEBER, 2003) und 114,65 mg/100g TAA (MUKHERJEE und CHATTOPADHYAY, 2007) für frische Kartoffel bezogen auf die Trockensubstanz. Die L-Ascorbinsäure (AA) Konzentration betrug 140 mg/100g.

Auch hier konnten bei allen drei Garungsverfahren (konventionell, AMC Methode 29 und 30) Verluste der TAA Konzentration festgestellt werden. Durch das Garen mit der konventionellen Methode lag der Verlust der TAA Konzentration bei 14% und war nicht signifikant ($p > 0,05$).

Signifikante ($p < 0,05$) Verluste der TAA Konzentration wurden nach den Garungsverfahren mit den AMC Modellen 29 und 30 nachgewiesen (22%, 26%). Unterschiede zwischen den beiden AMC Modellen waren nicht signifikant ($p < 0,05$). Auch beim Vergleich der konventionellen Garungsmethode und des Garens mit dem AMC Modell 29 konnte kein signifikanter ($p > 0,05$) Unterschied der TAA festgestellt werden.

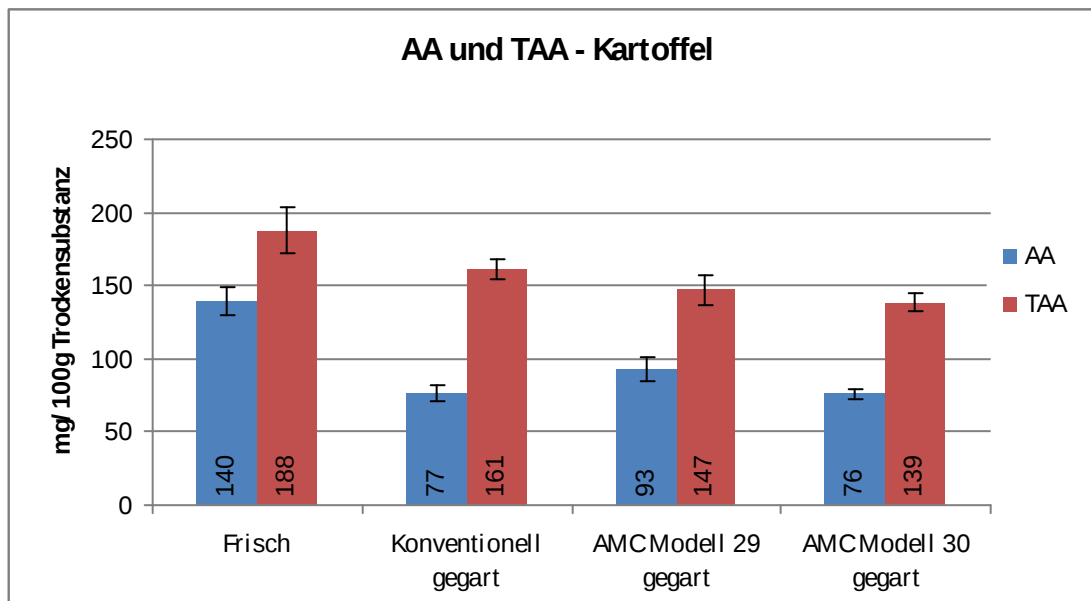


Abbildung 12: Gehalt an TAA und AA in der Kartoffel bezogen auf Trockensubstanz.

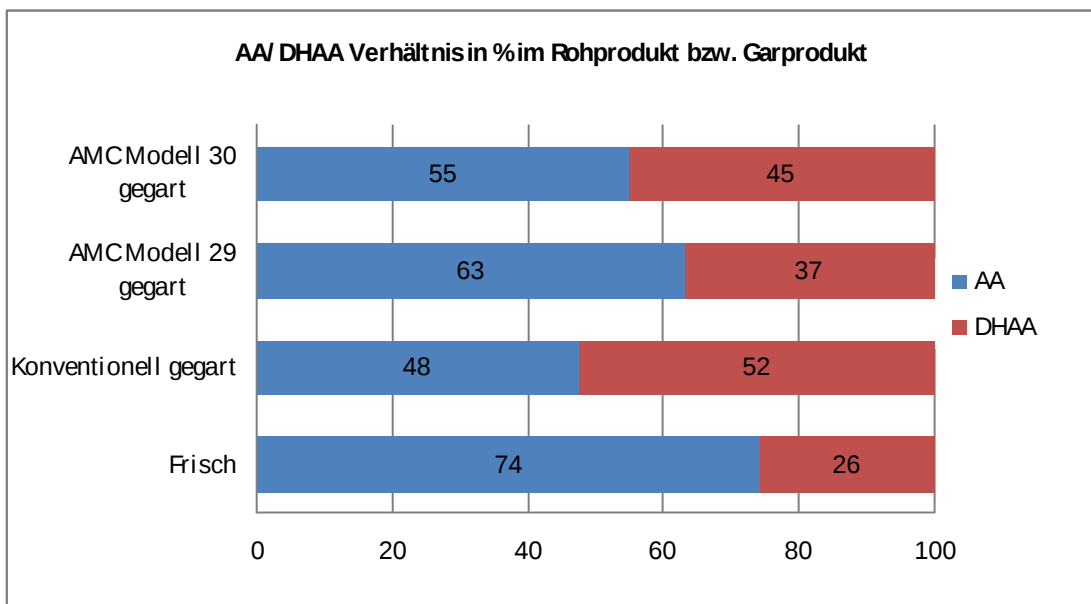


Abbildung 13: Prozentueller Anteil der L-Ascorbinsäure (AA) und Dehydroascorbinsäure (DHA) am Gesamt-Vitamin C (TAA) in der Kartoffel.

1.3. Blumenkohl

Im frischen, rohen Blumenkohl wurde ein TAA Gehalt von $100 \pm 7,8$ mg/100g ermittelt. Die AA Konzentration lag bei $50,6 \pm 0,96$ mg/100g. Daraus ergab sich ein AA/DHA Verhältnis von 51:49 %. Die Werte lagen über den in der Literatur angegebenen Werten von SENSER und SOUCI (2004), LISIEWSKA und KMIECIK (1996) und PUUPPONEN-PIMIA et al. (2003) mit TAA Gehalten von 60,5 mg/100g bis 81 mg/100g sowie von SINGH et al. (2007) mit einem L-Ascorbinsäure Gehalt von 19,3mg/100g.

Nach der Zubereitung des rohen Blumenkohls mit der konventionellen Garungsmethode verringerte sich der TAA Gehalt signifikant ($p < 0,05$) um 22% auf $78,4 \pm 2,5$ mg/100g. SELMAN (1994) ermittelte für gekochten Blumenkohl 44 mg/100g TAA. Der AA Gehalt war $51,2 \pm 0,41$ mg/100g. Das AA/DHA Verhältnis änderte sich zu Gunsten der AA auf 65:35 %.

Durch die Zubereitung mit dem AMC Modell 29 wurde ein nicht signifikanter ($p > 0,05$) Konzentrationsverlust von 6% der TAA ermittelt. Der Gehalt ($94,2 \pm 2,6$ mg/100g) unterschied sich signifikant ($p < 0,05$) von der konventionellen Garungsmethode.

Nach dem Garen mit dem AMC Modell 30 kam es zu einem nicht signifikanten ($p > 0,05$) Verlust der TAA von 12%. Das AMC Modell 30 zeigte im Vergleich zum AMC Modell 29 und dem konventionellen Modell für die TAA keine signifikanten ($p > 0,05$) Unterschiede.

Sowohl das AMC Modell 29 wie auch beim AMC Modell 30 zeigten sich bedingt durch den Garungsprozess Verschiebungen der AA/DHA Verteilung zu Gunsten der AA: Durch das Zubereiten mit dem AMC Modell 29 lag das Verhältnis bei 62:38 %, und durch das Zubereiten mit dem AMC Modell 30 bei 66:34 %.

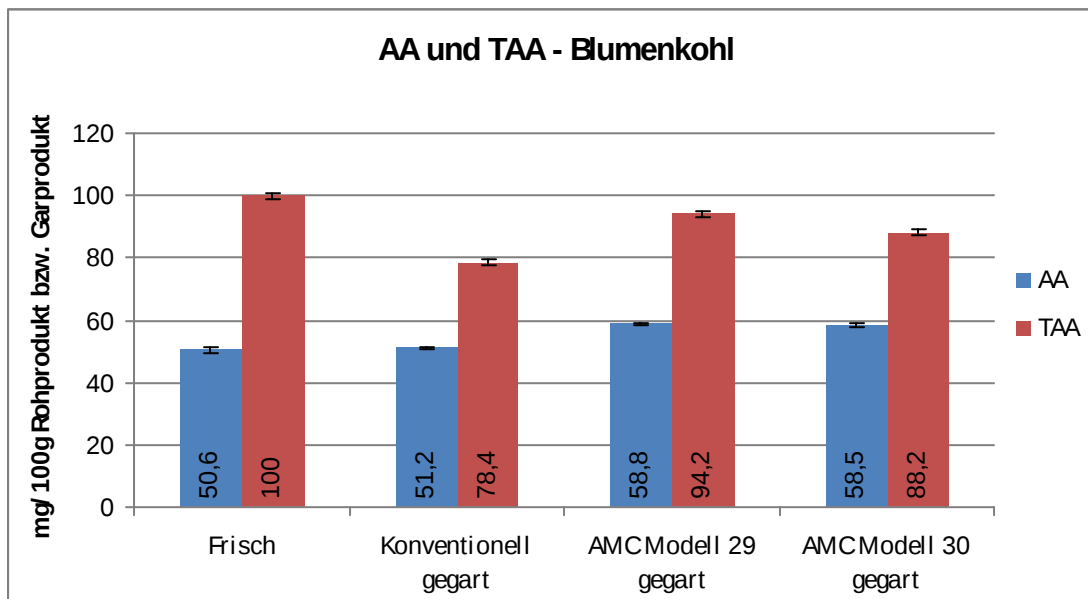


Abbildung 14: Gehalt an AA und TAA in Blumenkohl bezogen auf das Roh- bzw. Garprodukt.

Der Bezug auf die Trockensubstanz zeigte einen TAA Gehalt des rohen, frischen Blumenkohls von 1292 mg/100g und einen AA Gehalt von 654 mg/100g.

Auch hier kam es durch die drei verschiedenen Garungsverfahren (konventionell, AMC Modell 29 und AMC Modell 30) zu Verlusten der TAA bis 17%.

Es konnten signifikante ($p < 0,05$) Veränderungen der TAA durch die konventionelle Garungsmethode im Vergleich zum Rohprodukt und dem AMC Modell 29 ermittelt werden. Der Konzentrationsänderung der TAA von 4% ausgehend von der konventionellen Garmethode zum AMC Modell 29 kann auf Grund des VKs (Analyseungenauigkeit) nicht berücksichtigt werden.

Nicht signifikant ($p > 0,05$) waren die Unterschiede der TAA Gehalte der beiden AMC Modelle (29 und 30) untereinander, und des AMC Modell 30 zum konventionellen Modell.

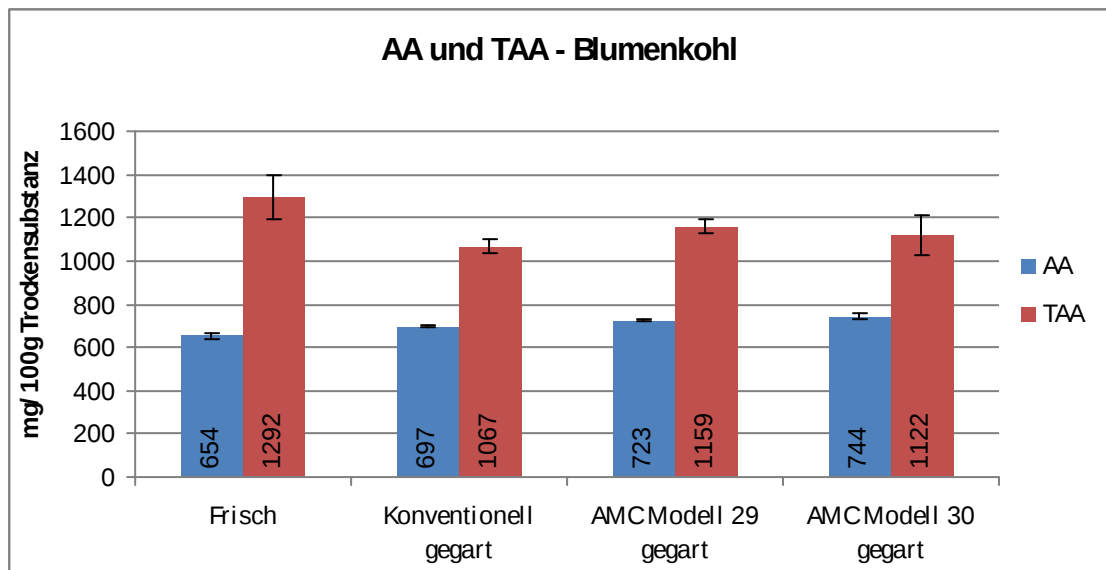


Abbildung 15: Gehalt an AA und TAA im Blumenkohl bezogen auf die Trockensubstanz.

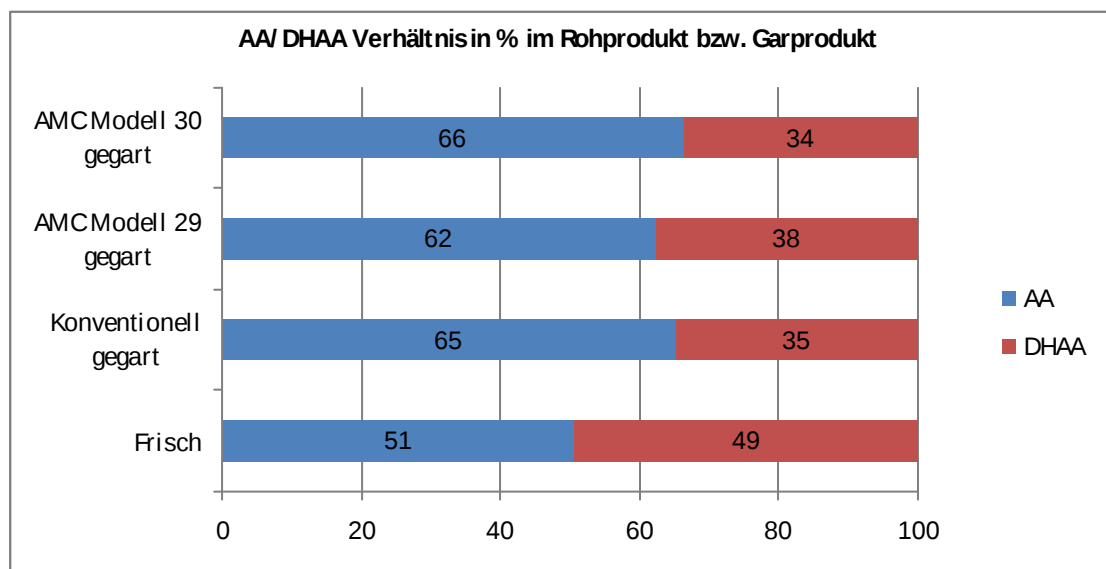


Abbildung 16: Prozentueller Anteil der L-Ascorbinsäure (AA) und Dehydroascorbinsäure (DHA) am Gesamt-Vitamin C (TAA) in Blumenkohl.

1.4. Brokkoli

In frischen, rohen Brokkoli konnten $118,5 \pm 0,43$ mg/100g TAA mit einem Anteil von $53,4 \pm 3,25$ mg/100g AA nachgewiesen werden. Dadurch zeigte sich ein AA/DHA Verhältnis von 45:55 %. Die Werte der TAA lagen über den Werten von SENSER und SOUCI (2004) mit 100 mg/100g TAA, ZHANG & HAMAUZU (2004) 103 mg/100g TAA und MIGLIO et al. (2008) 106 mg/100g TAA. SINGH et al. (2007) ermittelte 52,9 mg/100g AA.

Durch die drei Garungsverfahren (konventionell, AMC Modell 29 und AMC Modell 30) gab es signifikante ($p < 0,05$) Verluste der TAA. Nach dem konventionellen Zubereiten betrug die TAA Konzentration $96 \pm 0,64$ mg/100g, nach dem Garungsverfahren mit dem AMC Modell 29 $104,1 \pm 2,07$ mg/100g und mit dem Modell 30 $102,3 \pm 1,55$ mg/100g. Es zeigten sich Verschiebungen des AA/DHA Verhältnis zu Gunsten der AA nach dem Zubereiten durch alle Garungsmethoden (konventionell, AMC Modell 29 und AMC Modell 30) bis 84:16 %.

Nach dem Garen mit den beiden AMC Modellen (29 und 30) zeigte sich jeweils ein signifikanter ($p < 0,05$) Unterschied der TAA Gehalte im Vergleich zur konventionellen Garungsmethode. Ausgehend vom AMC Modell 29 gab es einen nicht signifikanten ($p > 0,05$) Verlust der TAA im Vergleich zum Modell 30 (2%). Dieser kann durch den Variationskoeffizienten nicht berücksichtigt werden.

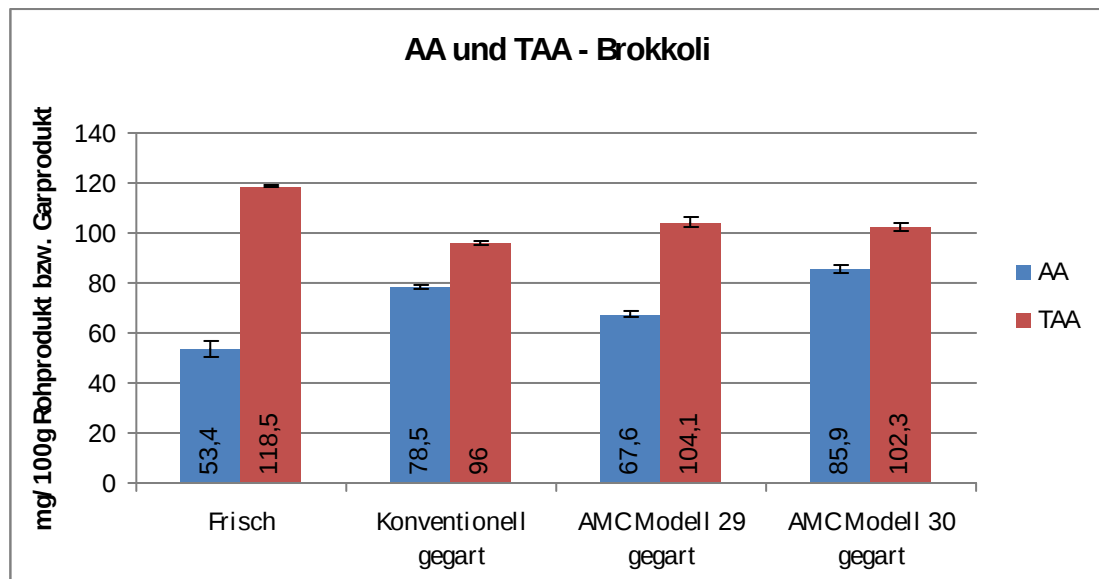


Abbildung 17: Gehalt an TAA und AA im Brokkoli bezogen auf das Roh- bzw. Garprodukt.

Im Bezug auf die Trockensubstanz des rohen, frischen Brokkolis konnten in 100g Trockensubstanz 854 mg TAA nachgewiesen werden. Die AA Konzentration war 385 mg/100g.

Das Garen mit der konventionellen Methode führte im Vergleich zum Frischprodukt zu einer signifikanten ($p < 0,05$) Abnahme des TAA Gehaltes von 5%. Durch das Garungsverfahren mit dem AMC Modell 29 wurde ein signifikanter ($p < 0,05$) Verlust des TAA Gehaltes von 9% ermittelt. Durch das Garen mit dem AMC Modell 30 zeigten sich signifikante ($p < 0,05$) Verluste der TAA Konzentration von 12%.

Nach dem Zubereiten zeigten sich zwischen den beiden AMC Modellen (29 und 30) keine signifikanten ($p > 0,05$) Unterschiede hinsichtlich der TAA Konzentrationen. Jedoch konnten signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede der TAA Konzentration zwischen den beiden AMC Modellen und der konventionellen Methode festgestellt werden. Es kam durch das Zubereiten mit dem AMC Modell 29 und 30 zu Verlusten der TAA um 4% und 7%.

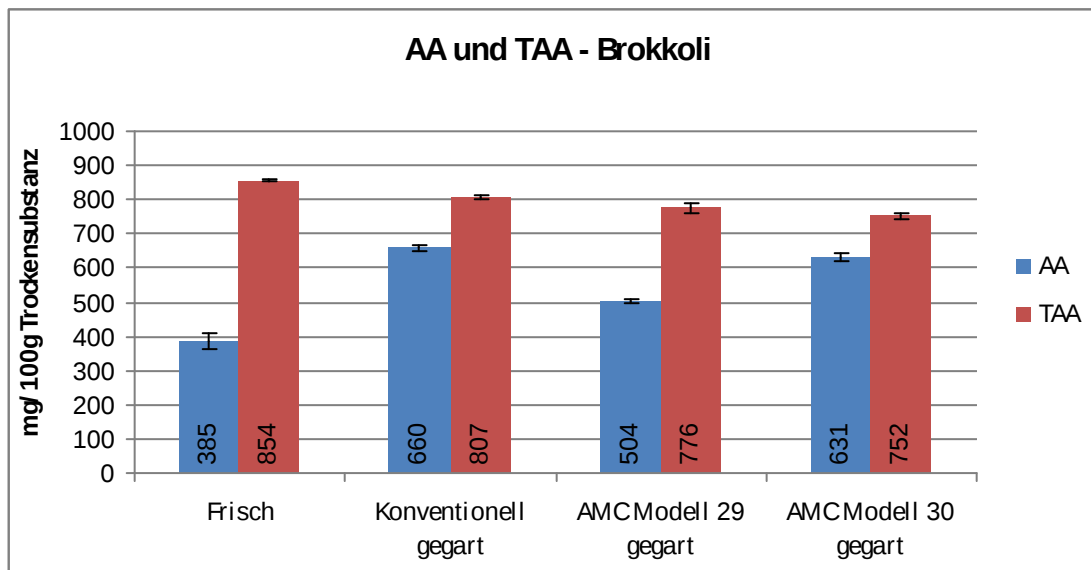


Abbildung 18: Gehalt an TAA und AA in Brokkoli bezogen auf Trockensubstanz.

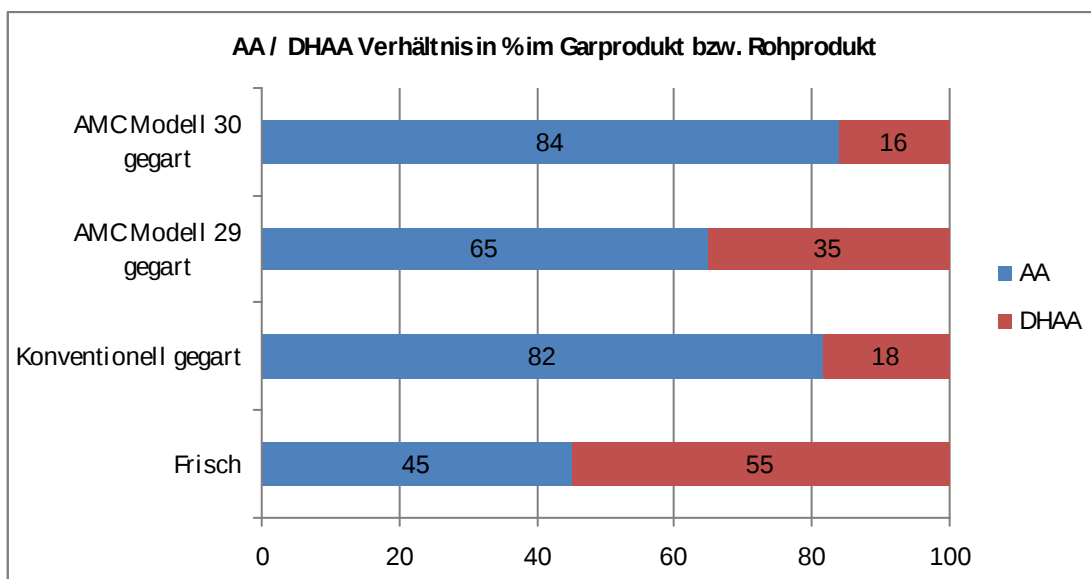


Abbildung 19: Prozentueller Anteil der L-Ascorbinsäure (AA) und Dehydroascorbinsäure (DHA) am Gesamt-Vitamin C (TAA) in Brokkoli.

1.5. Fenchel

In der frischen rohen Fenchelknolle konnten $66,8 \pm 4,8$ mg/100g TAA nachgewiesen werden. Die in der Literatur angegebenen Werte liegen unter den ermittelten Werten. KOUDELA und PETŘÍKOVÁ (2008) ermittelte Gehalte von 8,7 – 34,7 mg/100g. Jedoch konnte nicht erkannt werden, ob es sich bei diesen Literaturwerten um TAA oder AA handelt. SENSER und SOUCI (2004) beschrieb einen TAA Gehalt von 9 mg/100g.

Nach dem Garen der frischen rohen Fenchelknolle mit der konventionellen Methode verringerte sich der TAA Gehalt signifikant ($p < 0,05$) um 13% auf $57,9 \pm 1,2$ mg/100g.

Durch das Garen mit dem AMC Modell 29 konnte ein nicht signifikanter ($p > 0,05$) Rückgang der TAA auf $65,2 \pm 1,1$ mg/100g festgestellt werden. Durch das Garen mit dem AMC Modell 29 und dem AMC Modell 30 ergaben sich signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede zum konventionellen Garen.

Nach dem Garungsverfahren mit dem AMC Modell 30 kam es zu nicht signifikanten ($p > 0,05$) Verlusten der TAA von 6% (Gehalt: $62,6 \pm 1,3$ mg/100g). Dieses Modell wies im Vergleich zum Modell 29 nicht signifikante ($> 0,05$) Unterschiede auf.

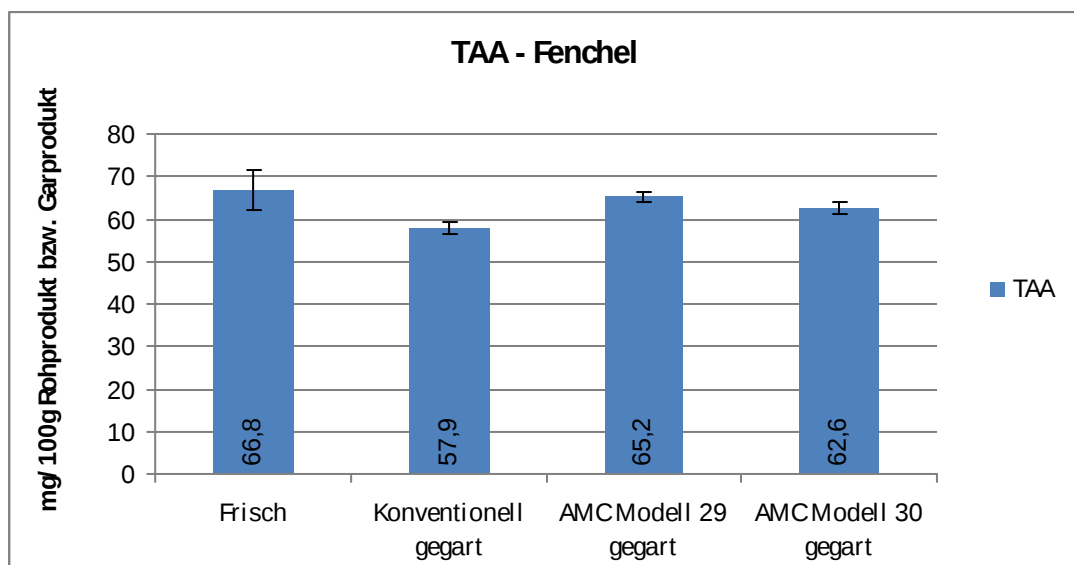


Abbildung 20: Gehalt an TAA in Fenchel bezogen auf das Roh- bzw. Garprodukt.

Im Bezug auf die Trockensubstanz der frischen rohen Fenchelknolle konnte ein TAA Gehalt von $1081 \pm 77,9$ mg/100g nachgewiesen werden.

Nach der Zubereitung mit dem konventionellen Modell kam es zu einer nicht signifikanten ($p < 0,05$) Reduktion der TAA Konzentration auf 1023 ± 22 mg/100g.

Ebenfalls konnten Reduktionen der TAA Konzentration durch das Garen mit dem AMC Modell 29, sowie dem AMC Modell 30 ermittelt werden. Nach dem Garen wiesen beide AMC Modelle untereinander keine signifikanten ($p > 0,05$) Unterschiede auf, jedoch konnten im Vergleich zum konventionellen Garungsmodell signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede ermittelt werden.

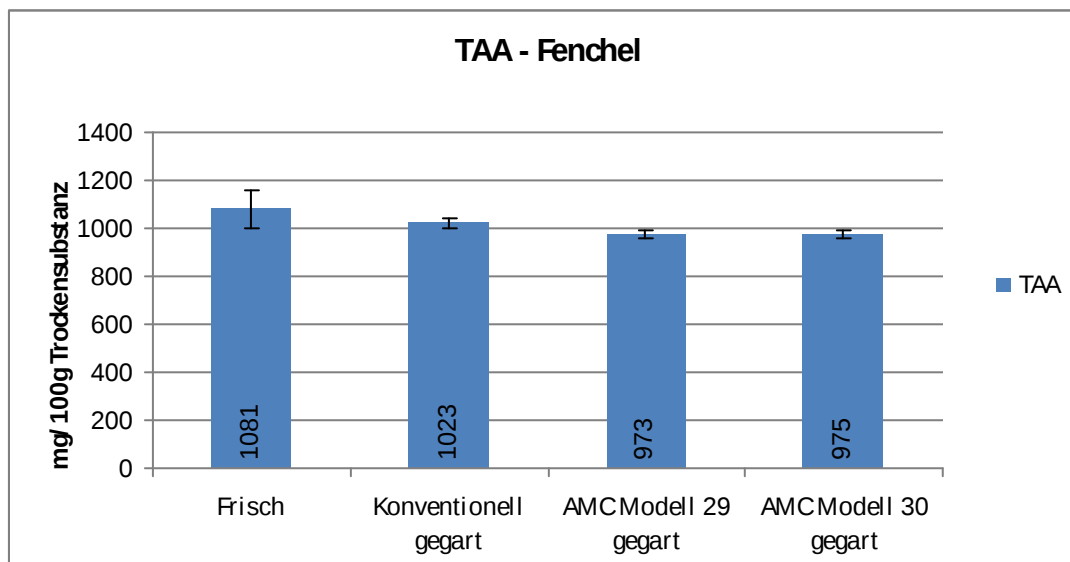


Abbildung 21: Gehalt an TAA in Fenchel bezogen auf Trockensubstanz.

1.6. Zucchini

In der frischen, rohen Zucchini wurden $66,7 \pm 1,99$ mg/100g TAA ermittelt. Dieser Gehalt lag deutlich über den in der Literatur angegebenen Werten von SENSER und SOUCI (2004) mit 17 mg/100g und REYES et al. (2007) mit $12,5 \pm 5$ mg/100g, THOMPSON und TRENNERY (1995) mit 23 mg/100g sowie MIGLIO et al. (2008) mit 11,6 mg/100g.

Nach konventioneller Zubereitung kam es zu einem signifikanten ($p < 0,05$) Konzentrationsverlust der TAA im Vergleich zum Frischprodukt auf $61 \pm 0,33$

mg/100g. Dieser Verlust von 9%, bei der Anwendung der konventionellen Methode war signifikant ($p < 0,05$) größer im Vergleich zum AMC Modell 30.

Durch das Garen mit dem AMC Modell 29 kam es zu einer signifikanten ($p < 0,05$) Reduktion des TAA Gehaltes auf $62 \pm 0,69$ mg/100g (Verlust 7%).

Ein nicht signifikanter ($p > 0,05$) Verlust der TAA von 4% konnte durch das Garen mit dem AMC Modell 30 ermittelt werden.

Beide AMC Modelle im Vergleich zeigten signifikante ($p > 0,05$) Unterschiede.

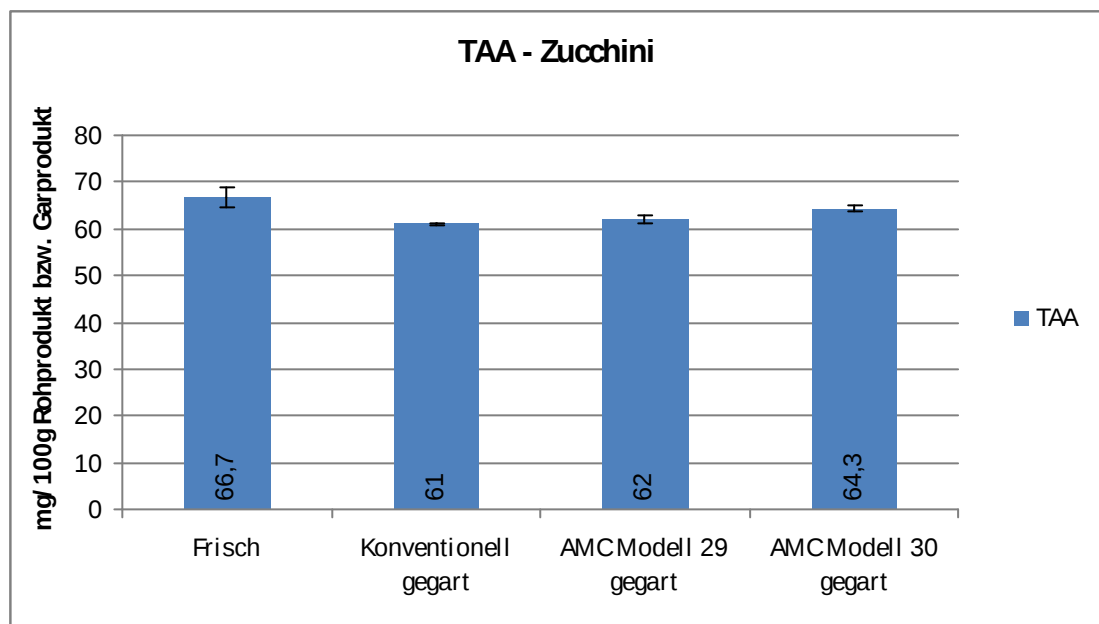


Abbildung 22: Gehalt an TAA in der Zucchini bezogen auf das Roh- bzw. Garprodukt.

Im Bezug auf die Trockensubstanz lag die TAA Konzentration im frischen Rohprodukt bei $1425 \pm 39,4$ mg/100g.

Zu den größten Garungsverlusten kam es nach dem Zubereiten mit dem AMC Modell 29 (15%). Die geringsten Verluste an TAA gab es nach dem konventionellen Garen (9%).

Sowohl das AMC Modell 29 (11%) als auch das Modell 30 (6%) wiesen im Vergleich zur konventionellen Methode signifikant ($p < 0,05$) größerer Konzentrationen auf.

Unterschiede der AMC 30 Methode zur AMC 29 Methode lagen signifikant ($p < 0,05$) bei 4,5%.

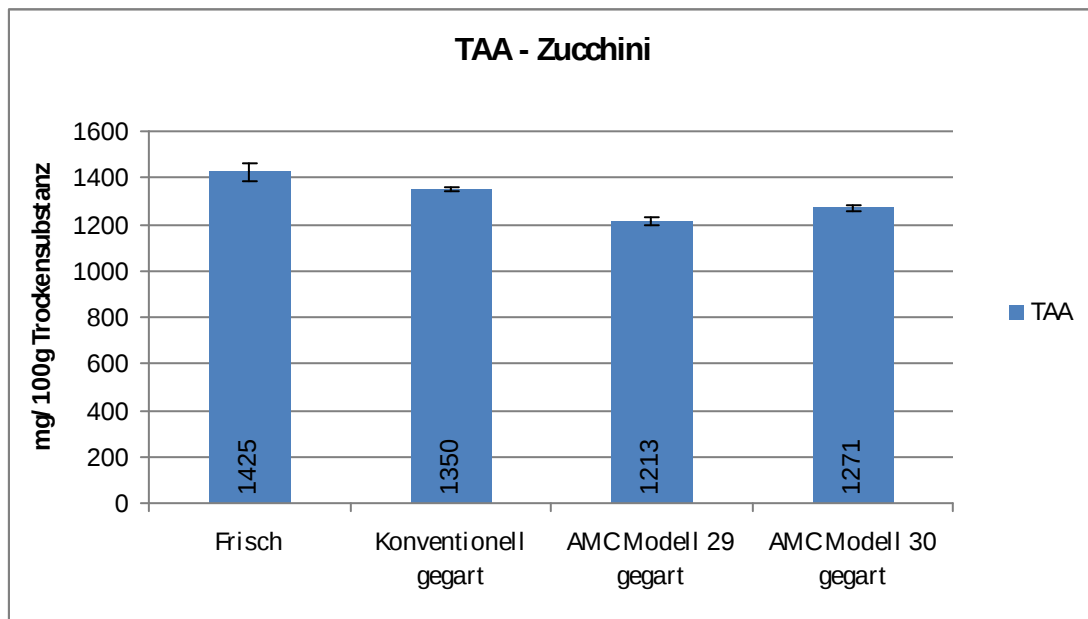


Abbildung 23: Gehalt an TAA in der Zucchini bezogen auf die Trockensubstanz.

2. Diskussion der Vitamin C – Ergebnisse

In der Literatur sind sehr unterschiedliche Aussagen sowohl über Angaben der L-Ascorbinsäure (AA) als auch über die der gesamten Vitamin C-wirksamen Formen (TAA) zu finden. Es scheinen große Schwankungen der Gehalte für Vitamin C Konzentrationen in gleichen Gemüsesorten auf. Die Vielfalt innerhalb einer Sorte kann hier ausschlaggebend für Konzentrationsschwankungen sein (BERGER et al., 2007). Weitere Faktoren, die Vitamin C Gehalte innerhalb einer Gemüsesorte schwanken lassen sind Lagerung (Luftfeuchtigkeit, Licht), Anbaubedingungen (Wetter, Boden), Anbaulage, Reifestadium, Saison und Erntezeit. Lagert man Brokkoli 21 Tage bei einer Temperatur von 4°C kann es zu Verlusten bis 3% kommen. Tiefgefrorene Bohnen verlieren 4% des Vitamin C Gehaltes nach 6 Monaten Lagerung (BERGER et al., 2007; RICKMAN et al., 2007; HOWARD et al., 1999; FRANKE et al., 2004). Unterschiedliche AA Konzentrationen und die Anwesenheit von Enzymen im Gemüse werden weiters durch den Salzgehalt, Trockenheit, Luftverschmutzung, vorhandenen Metallen und Herbiziden beeinflusst (DAVEY et al., 2000).

Ebenso kann es auch nach der Anbau-, Ernte- und Lagerungszeit zu Schwankungen der Vitamin C Gehalte kommen. Durch vermehrte Lichteinstrahlung vor und während dem Zubereiten, höheren Temperaturen, Zubereitung mit Wasser oder diverse Verarbeitungsschritte wie Schneiden und Raspeln, sinkt der Gehalt an Vitamin C. Von diesen Faktoren verursachten Verlusten an TAA können bei den Zucchini 53% und bei Kartoffel 32% ausmachen (REYES et al., 2007). In unserer Untersuchung wurden die oben genannten Einflußfaktoren minimal gehalten: Es wurde im Dunkeln gearbeitet (kein Sonnenlicht, minimale Kunstlichteinstrahlung), bei niedrigen Temperaturen (ständiges Kühlen am Eisbad), in kürzester Zeit (Proben wurden am selben Tag gegart und gemessen) sowie mit minimaler Verarbeitung.

Die Extraktion der Proben für die Vitamin C Bestimmung wurde im sauren Milieu vollzogen (Schwefelsäure, Trichloressigsäure, Essigsäure), da es im basischen Milieu sehr leicht zur Oxidation der AA zu DHA kommt. Ein weiterer

Bestandteil der Extraktionslösung war EDTA, welcher als Komplexbildner für Metalle fungierte (DAVEY et al., 2000).

Weitere Gründe für die teilweise sehr unterschiedlichen Angaben über den Gehalt an Vitamin C wirksamen Formen in der Literatur können verschiedene Analysemethoden sein. Heutzutage wird hauptsächlich eine HPLC Methode zugezogen. Anhand dieser kann man nicht nur AA Gehalte bestimmen, sondern auch durch einen Reduktionsschritt (AA zu DHA) TAA Konzentrationen bestimmen, anhand dieser man auf die DHA Gehalte schließen kann. Nach wie vor findet man noch Publikationen, die photometrische, colorimetrische oder andere Analysemethoden zur Ascorbinsäurebestimmung heranziehen (BERGER et al., 2007; HAASE und WEBER, 2003). Die Unterschiede der in der Literatur angegebenen und verglichenen Werte können auch auf die teilweise nicht ersichtliche Angabe der Vitamin C wirksamen Formen AA und DHA zurückzuführen sein. Die Vitamin C Angaben werden teils nicht ausreichend definiert, somit kann man vorhandene Werte nicht vollständig interpretieren und verwerten. Weiters fehlen Angaben, ob auf das Trockengewicht oder das Frischgewicht Bezug genommen wird (BERGER et al., 2007). Nicht nur die Bestimmungsmethode, sondern auch die Detektion muss betrachtet werden. Für diese Arbeit wurde ein UV-Detektor verwendet. Jedoch muss man beachten, dass die UV-Detektion bei Pflanzen- und Nahrungsmittelproben zu eventuellen Störungen durch andere organische Moleküle führen kann. Es könnten andere organische Moleküle ähnlicher Extinktion in den Matrizen vorhanden sein, welche der Detektor mitanalysiert (NOVÁKOVÁ et al., 2008).

Zur Erhaltung der Vitamine benötigt man ideale innere und äußere Bedingungen (pH-Wert, Enzyme, Zellstruktur, Temperatur, Luftfeuchte und Sauerstoffgehalt). Durch das Garen (also Temperatur- und Wassereinwirkung) kommt es zu Veränderungen dieser Idealbedingungen, welches einen Herauslösen und einen Abbau des Vitamin C Gehaltes zur Folge hat. Durch

das konventionelle Kochen mit Wasser kommt es laut BOGNÁR (2003) zu Gesamtverlusten der Vitamin C Gehalte von 20-60% in Brokkoli, und 40-70% in Kartoffeln und Blumenkohl. Im Durchschnitt verliert Gemüse 35% Vitamin C nach dem Garen mit Wasser (BOGNÁR, 2003).

Auch hier können die Verluste sehr variieren, kommt es doch auf die Garungsmethode, dem Ausmaß an Oxidation und der Auslaugungsmenge des wasserlöslichen Vitamin C durch Wasser an (RICKMAN et al., 2007). Ein gutes Wasser:Gemüse Verhältnis ist beim Kochen wesentlich, da Vitamin C leichter durch viel Wasser ausgelaugt wird, als bei der Verwendung von wenig Wasser. Eine zu große Menge an Kochwasser führt somit früher zu Vitaminverlusten, als durch zu hohe Temperatur (DAVEY et al., 2000). Laut PODSEDEK (2007) hat die Kochzeit jedoch einen höheren Einfluss als die Kochmethode selbst.

Geringe Zurückhaltung von Vitamin C wurde nach dem Kochen in einem Topf nachgewiesen, bei dem man das Kochgut schon in das noch kalte Wasser gegeben hat. Die Verluste an Vitamin C waren 38,6%. Beim konventionellen Kochen wurde das Kochgut in das schon kochende Wasser gegeben. Hier waren die Verluste an Vitamin C geringer (27,6%) (PODSEDEK 2007).

In dieser Studie wurden nicht nur Unterschiede des Garens ohne oder mit Wasser untersucht. Auch der Unterschied der beiden AMC Modelle wurde ermittelt. Das AMC Modell 30 hat einen Temperaturfühler im Deckel eingebaut. Er misst die Gartemperatur nahe dem Gemüse im Topfinneren. Man startet man das Garen mit diesem Modell mit einer relativ hohen Temperatur, um die Aufheizzeit zu minimieren. Dies sollte zum einen die Gesamtgarzeit verkürzen, und somit auch zum Energiesparen beitragen. Da die Aufheizzeit verkürzt werden sollte, kann es andererseits auch zu einem verringerten Enzymabbau der Ascorbinsäure schon am Beginn des Garens führen.

Beim AMC Modell 30 kam es nur beim Garen der Zucchini und der Kartoffel zu einer Verkürzung der Gesamtgarzeit, im Vergleich zur konventionellen Methode. Im Vergleich der beiden AMC Modelle untereinander kam es zu Verkürzungen der Gesamtgarzeit nach dem Zubereiten mit dem Modell 30 bei allen sechs Gemüsesorten. Bei allen sechs Gemüsesorten war die Aufheizzeit

mit der AMC 30 Methode kürzer als bei der konventionellen Methode (3:55 min – 7:20 min). BÖGNAR (2003) berichtet davon, dass es während der Angarphase (Aufheizen) zu einem schnelleren Abbau von Vitamin C kommen kann. Eine Annahme ist, dass die Peroxidenzyme bei 40°C ihr Aktivitätsmaximum erreichen und erst bei über 70°C inaktiviert und getötet werden (BOGNÁR, 2003). Es wird also nur im rohen Zustand und während der Aufheizphase Vitamin C durch Enzyme abgebaut. Erst durch eine Schädigung der Zellen kommen Enzyme und Vitamine in Kontakt. Diese Schädigung entsteht etwa durch Verarbeitung und Temperatur (SELMAN, 1994; DAVEY et al., 2000).

Kreuzblütler (*Brassicaceae*) zählen zu den Pflanzen, die eine sehr gute Vitamin C Quelle darstellen (SIKORA et al., 2008). Auch im Rahmen dieser Untersuchung wurde der höchste TAA Gehalt bei Brokkoli ($118,5 \pm 0,43$ mg/100g) und Blumenkohl ($100,0 \pm 7,8$ mg/100g) ermittelt. Weiters wurde in den Untersuchungen bei Blumenkohl und Brokkoli nach dem Garen eine TAA Abnahme zu Lasten der oxidierten Form der Ascorbinsäure (DHA) ermittelt. Diese Verringerung des DHA Anteils, bzw. der Anstieg des AA-Anteils kann eventuell darauf zurück zuführen sein, dass neben AA und DHA auch Ascorbigene Bestandteile der *Brassicaceae* sind (PODSEDEK, 2007). Ascorbigene entstehen durch enzymatischen Abbau von Glucobrassicin und anschließender Reaktion mit AA (HRNČIŘÍK et al., 1998). Werden frische *Brassicaceae* erwärmt, z.B. durch Garen, kann dies zu einer Lösung der L-Ascorbinsäure von seiner gebundene Form (Ascorbigen) führen. Somit wird gebundene Ascorbinsäure frei und ein höherer Anteil an Ascorbinsäure nach dem Kochen kann nachgewiesen werden (HRNČIŘÍK et al., 2001).

Vergleichend in Hinsicht auf den DHA Anteil ist die Studie von LISIEWSKA und KMIĘCIK (1996) für Brokkoli. Der DHA Anteil für gegarten Brokkoli mit 19 – 27% war sehr ähnlich den in der AMC Studie ermittelten 16 – 35%.

Durch das Tiefkühlen von Gemüse kann Vitamin C besser erhalten werden als im frischen Gemüseprodukten (BERGER et al., 2007). Deshalb ist es im

Rahmen dieser Untersuchung nur sinnvoll, Literaturvergleiche mit anderen tiefgekühlten Bohnen zu machen.

TK-Bohnen werden vor dem Konservieren (tiefkühlen) blanchiert. Dieser Vorgang inaktiviert die Enzyme und somit kommt es zu keinem weiteren Abbau des Vitamin C durch die Enzyme. In unseren Untersuchungen war die TAA Konzentration der rohen Bohnen geringer, als die zubereiteten Bohnen. Man kann annehmen, dass im Rohprodukt die Enzyme durch das Auftauen wieder aktiviert werden, und es so zu einem Abbau kommt. Durch das Garen werden diese Enzyme bald wieder durch die hohe Temperatur inaktiviert (RICKMAN et al., 2007; MARTINS und SILVA, 2003).

Bohnen zeigten in einer weiteren Studie (SELMAN, 1994) kaum Verluste nach dem Kochen. Dies konnte durch eine hohe Vitamin C Konzentration (38mg/100g) in den Samen erklärt werden, welche durch die Hülse (8,4 mg/100g) der grünen Bohnen geschützt wurde.

Für Zucchini und Fenchel konnte auf Grund einer unvollständigen Auftrennung keine L-Ascorbinsäure (AA) ermittelt werden. Erst nach der Reduktion war eine Auftrennung möglich. Es können nur Mutmaßungen über diese fehlenden Ergebnisse gemacht werden: DAVEY et al. (2000) meint, dass HPLC Methoden eventuell nicht passend für komplexe biologische Systeme wären. Im Bezug auf die Bioverfügbarkeit spielt die Matrix jedoch keine limitierende Rolle. Das Vitamin C in Gemüsesorten wie Brokkoli wird genauso schnell aufgenommen wie durch Supplementgabe aufgenommene Vitamin C Mengen, welches auch anschließend im Plasma nachgewiesen werden konnte (VAN HET HOF et al., 1999).

Vergleichbare Kochverluste (4%) der TAA der Zucchini wurden bei MIGLIO et al. (2008) ermittelt. In unserer Untersuchung wurden Verluste zwischen 4% (AMC Modell 30) und 9% (Konventionelle Methode) analysiert.

Die Kartoffelergebnisse waren sehr vergleichbar mit denen einer Studie von HAASE und WEBER (2003): Deren AA/DHA Verhältnis der geschnittenen Kartoffelstücke lag bei etwa 74:26%, bei den gekochten bei 49:51%. In der

AMC Studie lag das Verhältnis AA/DHA im Rohprodukt bei 74:26 und im konventionell gegarten Produkt 48:52. Es kam zu einem Verlust der AA, zu Gunsten der DHA.

V. Schlussbetrachtung

Vitamin C ist ein wasserlösliches und sehr labiles Vitamin, welches meist als Marker für verschiedene Verarbeitungsauswirkungen hinzugezogen wird. Durch das Garen mit viel Wasser kommt es in der Literatur zu höheren Verlusten des Vitamingehaltes. Jedoch ist nicht nur die Wassermenge für den Vitaminverlust wesentlich, sondern auch die Garungszeit (HOWARD et al., 1999).

Durch die drei verschiedenen Zubereitungsarten in dieser Arbeit (konventionell, AMC Modell 29, AMC Modell 30) kam es im Bezug auf das Frischgewicht zu unterschiedlichen Ergebnissen hinsichtlich der Gehalte der Vitamin C wirksamen Formen:

Nach dem Zubereiten mit den beiden AMC Modellen ohne Wasser und dem konventionellem Modell mit Wasser zeigten sich bei fünf von sechs Gemüsesorten (Brokkoli, Fenchel, Blumenkohl, Zucchini, Kartoffel) erwartete Zubereitungsverluste des gesamten Vitamin C (TAA) Gehaltes. Laut BOGNÁR (2003) kommt es zu durchschnittlichen Vitamin C Verlusten von 35%. Bei der TK Bohne zeigte sich eine erhöhte TAA Konzentration nach dem Zubereiten mit den drei verschiedenen Garungsmethoden. Durch Enzyme, die durch das Gefrieren inaktiviert wurden und durch das Auftauen wieder aktiviert wurden, könnte es zu einem verstärkten Abbau des Rohprodukt gekommen sein. Das Garen inaktivierte diese Enzyme bald wieder (RICKMAN et al., 2007; MARTINS und SILVA, 2003).

Im Bezug auf das Frischgewicht konnten durch das Garen mit dem AMC Modell 29 im Vergleich mit der konventionellen Garungsmethode an allen sechs Gemüsesorten (Brokkoli, Fenchel, Blumenkohl, TK-Bohnen, Zucchini und Kartoffel) höhere Mengen an TAA ermittelt werden. Nach dem Zubereiten mit dem AMC Modell 30 im Vergleich zur konventionellen Methode wurde an vier Gemüsesorten (Zucchini, Blumenkohl, Fenchel und Brokkoli) eine höhere TAA Konzentration ermittelt.

Signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede der gesamten Ascorbinsäure (TAA) zwischen der konventionellen Garungsmethode und den beiden AMC Modellen (29 und 30) gab es bei Brokkoli und Fenchel. Mit den AMC Methoden konnten bis zu 12% höhere Konzentrationen ermittelt werden als mit der konventionellen Methode. Signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede zwischen dem konventionellen Garen und dem Garen mit dem AMC Modell 29 gab es beim Blumenkohl, da hier um 20% höhere Konzentrationen nachgewiesen werden konnten. Ebenso konnte ein Unterschied der TAA Konzentration von 5% der Zucchini zwischen dem konventionellen Garen und dem AMC Modell 30 beobachtet werden.

Signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede der TAA Gehalte der beiden AMC Modelle untereinander konnten nur bei der Zucchini gezeigt werden. Jedoch kann der Unterschied von 3,7% zu Gunsten des AMC Modells 30 auf Grund des Variationskoeffizienten (VK) von 4,89% nicht beachtet werden.

Bezüglich der TAA Gehalte kam es nach dem Garen mit den drei verschiedenen Garungsmethoden (konventionell, AMC 29 und AMC 30) zwischen dem Trockengewicht und dem Frischgewicht zu keinen Unterschieden: Bei den gleichen fünf von sechs Gemüsesorten (Brokkoli, Fenchel, Blumenkohl, Zucchini, Kartoffel) gab es Verluste der TAA Konzentration. Eine erhöhte TAA Konzentration zeigte sich nur nach dem Zubereiten mit den drei verschiedenen Garungsmethoden bei den TK Bohnen. Signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede der TAA in Trockengewicht nach dem konventionellen Garen und dem AMC Modell 29 gab es bei Blumenkohl und Zucchini. Dagegen wurden bei Zucchini und Kartoffel Unterschiede der TAA Gehalte zwischen dem konventionellen Garen und dem AMC Modell 30 ermittelt.

Nach dem Zubereiten mit den drei Garungsmethoden (konventionell, AMC Modell 29 und AMC Modell 30) kam es bei Brokkoli und Blumenkohl zu einer Verschiebung des AA/DHA Verhältnis zu Gunsten der AA. Grund dafür kann der Gehalt an Glucobrassicin in Gemüsesorten der Familie der Kreuzblütler

sein. Durch das Garen kann es zu einer Lösung der L-Ascorbinsäure von der gebundene Form Ascorbigen kommen. Somit wird die gebundene Ascorbinsäure frei, und das Verhältnis verschiebt sich (HRNČIŘÍK et al., 2001). Zu Verschiebungen des AA/DHA Verhältnisses zu Gunsten der DHA kam es durch das Zubereiten mit den drei Garungsverfahren bei der Kartoffel und der TK-Bohne.

Durch das Zubereiten mit den AMC Modellen 29 und 30 verschob sich der L-Ascorbinsäure Gehalt (AA) im Verhältnis zur Dehydroascorbinsäure bei Brokkoli und Blumenkohl bis zu 84% zu Gunsten der AA. Bei Kartoffel und TK-Bohnen kam es durch das Garen mit den AMC Modellen zu Verhältnisverschiebungen bis zu 63:37 % AA/DHA.

Zwischen dem konventionellen Garen und dem Garen mit den beiden AMC Modellen kam es zu signifikanten ($p < 0,05$) Verschiebungen des AA:DHA Verhältnisses bei Brokkoli, Blumenkohl und TK-Bohnen. Bei der Kartoffel kam es nur zwischen dem AMC Modell 29 und der konventionellen Garungsmethode zu einem signifikanten ($p < 0,05$) Unterschied des AA/DHA Verhältnisses zu Gunsten der AA.

Die beiden AMC Modelle im Vergleich wiesen signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede der AA bei den Gemüsesorten Kartoffel (zu Gunsten des Modell 29), Brokkoli (zu Gunsten des Modell 30) und TK-Bohnen (zu Gunsten des Modell 29) auf.

Die Aufheizzeit des AMC Modell 29 war bei vier der sechs Gemüsearten (Brokkoli, Fenchel, Zucchini, Blumenkohl) und die Gesamtgarzeit bei allen sechs Gemüsearten (Brokkoli, Blumenkohl, Fenchel, Zucchini, Kartoffel und TK-Bohnen) am längsten. Trotzdem konnten signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede der TAA Gehalte zwischen dem AMC Modell 29 und der konventionellen Garungsmethode bei Blumenkohl, Brokkoli und Fenchel zu Gunsten der AMC Methode ermittelt werden. Hier ist anzunehmen, dass das Kochen mit viel Wasser höhere Zubereitungsverluste aufweist, als Garen ohne Wasser. Das Vitamin C wird hier auf Grund seiner hohen Wasserlöslichkeit in das Kochwasser vermehrt ausgelaugt (BOGNÁR, 2003).

Die Aufheizzeit war bei der konventionellen Garungsmethode immer etwas länger als bei der Garungsmethode des AMC 30 Modells. Auf den AA-Anteil hatte das bei der AMC Methode positive Auswirkung: Bei allen vier Gemüsesorten wurde ein höherer AA-Anteil nach Zubereiten mit dem AMC 30 Modells festgestellt, als nach dem Zubereiten mit dem konventionellen Modell. Eine kürzere Aufheizzeit ist in dieser Studie von Vorteil, da die Enzyme vermutlich schneller inaktiviert werden. Dies führt zu einem verringerten enzymbedingten Abbau des Vitamin C (BOGNÁR, 1995).

Die AMC 30 Methode konnte ebenfalls signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede der TAA im Vergleich zur konventionellen Garungsmethode bei Zucchini, Fenchel und Brokkoli zu Gunsten der AMC Methode zeigen.

In dieser Arbeit wurden anhand von vier Gemüsesorten (Brokkoli, Fenchel, Blumenkohl und Zucchini) signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede ermittelt, welche ein Zubereiten ohne Wasser als Gesamtvitamin C - schonender zeigen, als ein Zubereiten mit viel Wasser. Der L-Ascorbinsäureanteil zeigte ebenfalls an vier Gemüsesorten (Brokkoli, Blumenkohl, TK Bohnen und Kartoffel) signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede zwischen dem Zubereiten mit und ohne Wasser.

Das AMC Modell 29 und das Modell 30 im Vergleich brachte keine eindeutigen Ergebnisse: Ein höherer AA-Anteil des Modells 30 konnte signifikant ($p < 0,05$) nur bei Brokkoli nachgewiesen werden. Signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede der AA-Anteile wurden nach dem Zubereiten mit dem Modell 29 bei TK Bohnen und Kartoffeln nachgewiesen. Bezüglich der TAA Gehalte konnte kein signifikanter ($p < 0,05$) Unterschied der beiden Modelle erkannt werden.

VI. Zusammenfassung

In dieser Studie wurde der Einfluss von drei verschiedenen Garungsverfahren auf den Vitamin C Gehalt ermittelt. Einerseits wurde mit Wasser konventionell gekocht, andererseits ohne Wasser mit zwei AMC Garungsmethoden. („AMC Modell 29“ und „AMC Modell 30“). Sechs Gemüsesorten, die Vitamin C enthalten und in Österreich verzehrt werden, wurden sowohl gegart, als auch frisch bzw. roh auf Vitamin C Gehalt untersucht: Kartoffel, tiefgekühlte Bohnen, Zucchini, Brokkoli, Blumenkohl und Fenchel. Als Parameter dienten L-Ascorbinsäure und dessen oxidierte Dehydroascorbinsäureanteil, sowie die totale Ascorbinsäure.

Ermittelt wurden die Parameter nach einer Methode von STRAK (2005). Es wurde Vitamin C aus den Gemüsesorten extrahiert und anschließend mit einer RP-HPLC/UV analysiert. L-Ascorbinsäure und die Gesamtascorbinsäure wurden analytisch bestimmt, der Dehydroascorbinsäureanteil wurde rechnerisch bestimmt.

Es konnten bei allen sechs Gemüsesorten Gesamtascorbingehalte ermittelt werden. Nur bei vier Sorten (Kartoffel, tiefgekühlte Bohne, Brokkoli und Blumenkohl) konnten L-Ascorbinsäuregehalte nachgewiesen werden. Großteils zeigten sich in der Studie die erwarteten Vitaminverluste. Außerdem kam es zu unterschiedlichen Verschiebungen der AA/DHA Verhältnisse.

In dieser Arbeit wurden an Brokkoli, Fenchel, Blumenkohl und Zucchini ermittelt, dass ein Zubereiten ohne Wasser schonender ist, als ein Zubereiten mit viel Wasser. Der L-Ascorbinsäureanteil zeigte ebenfalls an vier Gemüsesorten (Brokkoli, Blumenkohl, TK Bohnen und Kartoffel) Unterschiede zwischen dem Zubereiten mit und ohne Wasser.

Die beiden AMC Modelle im Vergleich zeigten nach dem Garen ohne Wasser nur geringe Unterschiede bezüglich der L-Ascorbinsäuregehalte. Bezüglich der Gesamtascorbinsäuregehalte konnten keine Unterschiede der beiden Modelle nach dem Garen erkannt werden.

VII. Summary

The aim of this study was to determine the influence of three different cooking methods on the vitamin C content. One Method was conventional cooking with water. The other two methods were cooking without the use of water. Two pots of AMC were used ("AMC model 29" and "AMC model 30"). Six sorts of vegetables which contain vitamin C and are consumed in Austria were analysed on their vitamin C content in raw and cooked status: potatoes, frozen green beans, zucchini, broccoli, cauliflower and fennel. The parameters were total ascorbic acid (TAA), L-ascorbic acid (AA) and its oxidised form dehydroascorbic acid (DHA).

These parameters were analysed with a method of STARK (2005). Vitamin C was extracted from the vegetables and detected with a RP-HPLC/ UV. L-ascorbic acid and total ascorbic acid were analytically determined, dehydroascorbic acid was calculated.

All six vegetable species contained vitamin C. Only four species (potato, frozen green beans, broccoli and cauliflower) contained L-ascorbic acid. This study showed the expected vitamin C losses, except only one vegetable species. As a result, different AA/DHA relation movements were shown.

In this study four vegetables species showed that cooking without water is more gently to vitamin C retention than cooking with water (broccoli, fennel, cauliflower and zucchini). The L-ascorbic acid part also showed a difference between these two cooking methods (broccoli, cauliflower, frozen green beans and potatoes).

Both models of AMC in comparison presented only little differences in L-ascorbic acid after cooking. The cooking led to no difference in total ascorbic acid content.

VIII. Literaturverzeichnis

ARROQUI C, RUMSEY TR, LOPEZ A, VIRSEDA P: Effect of different soluble solids in the water on the ascorbic acid losses during water blanching of potato tissue. *Journal of Food Engineering* 2001; 47: 123-126

BERGER M, KÜCHLER T, MAAßEN A, BUSCH-STOCKFISCH M, STEINHART H: Correlation of ingredients with sensory attributes in green beans and peas under different storage conditions. *Food Chemistry* 2007; 103: 875-884

BLOCK G, JENSEN C, DIETRICH M, NORKUS EP, HUDES M, PACKER L: Plasma C-Reactive Protein Concentrations in Active and Passive Smokers: Influence of Antioxidant Supplementation: *Journal of the American College of Nutrition* 2004; 23 (2): 141-147

BOGNÁR A: Vitaminänderungen bei der Lebensmittelverarbeitung im Haushalt. *Ernährung im Fokus* 2003; 3: 330-335

BOGNÁR A: Vitaminverluste bei der Lagerung und Zubereitung von Lebensmitteln. *Ernährung/Nutrition* 1995; 9: 411-416; 10: 478-483; 11: 551-554.

BRICKLEY M, RACHEL I: *The Bioarchaeology of Metabolic Bone Disease*. Academic Press Inc., 2008.

BURGOS G, AUQUI S, AMOROS W, SALAS E, BONIERBALE M: Ascorbic acid concentration of native Andean potato varieties as affected by environment, cooking and storage. *Journal of Food Composition and Analysis* (2008), doi:10.1016/j.jfca.2008.05.013

BUSKOV S, OLSEN CE, SØRENSEN H, SØRENSEN S: Supercritical fluid chromatography as basis for identification and quantitative determination of

indol-3-ylmethyl oligomers and ascorbigens. Journal of Biochemical and Biophysical Methods 2000; 43: 175-195

DAVEY MW, MONTAGU MV, INZÈ D, SANMARTIN M, KANELIS A, SMIRNOFF N, BENZIE IJJ, STRAIN JJ, FAVELL D, FLETCHER J: Review: Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. Journal of the Science of Food and Agriculture 2000; 80: 825-860

DARUWALA R, SONG J, KOH WS, RUMSEY SC, LEVINE M: Cloning and functional characterization of the human sodium-dependent vitamin C transporters hSVCT1 and hSVCT2. Federation of European Biochemical Societies Letters 1999; 460 (3) 480-484

DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG (DGE),
ÖSTERREICHISCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG (ÖGE),
SCHWEIZERISCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG (SGE),
SCHWEIZERISCHE VEREINIGUNG FÜR ERNÄHRUNG (SVE). D-A-CH
Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. 1. Auflage, Umschau/Braus, Frankfurt, 2000. (Im Text zitiert als D-A-CH 2000)

EBERMANN R, ELAMDFA I: Lehrbuch Lebensmittelchemie und Ernährung. Springer-Verlag, Wien, 2008.

ELMADFA I, LEITZMANN C. Ernährung des Menschen. 4. Auflage, Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, 2004

ELMADFA I, AIGN W, MUSKAT E, FRTZSCHE D. Die große GU Nährwert Kalorien Tabelle. Gräfe und Unzer, München, 2008/2009

ELMADFA I, FREISLING H, KÖNIG J, et al. Österreichischer Ernährungsbericht 2003. 1. Auflage, Wien, 2003

FAIN O, PARIÈS J, JACQUART B, LE MOËL G, KETTANEH A, STIRNEMANN J, HÉRON C, SITBON M, TALEB C, LETELLIER E, BÉTARI B, GATTEGNO L, THOMAS M. Hypovitaminosis C in hospitalized patients. *European Journal of Internal Medicine* 2003; 14: 419– 425

FAVELL DJ: A comparison of the vitamin C content of fresh and frozen vegetables. *Food Chemistry* 1998; 62 (1) 59-64

FRANKE AA, CUSTER LJ, ARAKAKI C, MURPHY SP: Vitamin C and flavonoid levels of fruits and vegetables consumed in Hawaii. *Journal of Food Composition and Analyses* 2004; 17 (1):1-35

FUROSAWA N: Rapid high-performance liquid chromatographic identification/quantification of total vitamin C in fruit drinks. *Food Control* 2001; 12: 27-29

GEY FK: Ten-year retrospective on the antioxidant hypothesis of arteriosclerosis: Threshold plasma levels of antioxidant micronutrients related to minimum cardiovascular risk. *Journal of Nutritional Biochemistry* 1995; 6: 206-236

GIANNAKOUROU M, TAOUKIS PS: Kinetic modelling of vitamin C loss in frozen green vegetables under variable storage conditions. *Food Chemistry* 2003; 83 (1): 33-41

GOW-CHIN Y, PIN-DER D, HUI-LING T: Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chemistry* 2002; 79 (3): 307-313

HAASE NU, WEBER L: Ascorbic acid losses during processing of French fries and potato chips. *Journal of Food Engineering* 2003; 56: 207-209

HANCOCK RD, CHUDEK JA, WALKER PG, PONT SDA, VIOLA R: Ascorbic Acid conjugates isolated from the phloem of Cucurbitaceae. *Phytochemistry* 2008; 69: 1850 - 1858

HRNČIŘÍK K, VALUŠEK J, VELÍŠEK J: A study on the formation and stability of ascorbigen in an aqueous system. *Food Chemistry* 1998; 63 (3): 349-355

HRNČIŘÍK K, VALUŠEK J, VELÍŠEK J: Investigation of ascorbigen as a breakdown product of glucobrassicin autolysis in Brassica vegetables. *European Food Research and Technology*; 2001; 212: 576–581

HOWARD LA, WONG AD, PERRY AK, KLEIN BP: β -Carotene and Ascorbic Acid Retention in Fresh and Processed Vegetables. *Journal of Food Science* 1999; 64:5: 929-935

KOUDELA M, PETŘÍKOVÁ K: Nutritional compositions and yield of sweet fennel cultivars – *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare* var. *azoricum* (Mill.) Thell. *Scientia Horticulturae* 2008; 35 (1): 1-6

KURILICH AC, TSAU GJ, BROWN A, HOWARD L, KLEIN BP, JEFFERY EH, KUSHAD M, WALLIG MA, JUVIKJA: Carotene, Tocopherol, and Ascorbate Contents in Subspecies of *Brassica oleracea*. *Journal of Agriculture, Food Chemistry* 1999; 47: 1576-1581

LEE SK, KADER AA: Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology* 2000; 20: 207-220

LEVINE M, DHARIWAL KR, WELCH RW, WANG Y, PARK JB: Determination of optimal vitamin C requirements in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* 1995; 62: 1347-1356

LISIEWSKA Z, KMIECIK W: Effects of level of nitrogen fertilizer, processing conditions and period of storage of frozen broccoli and cauliflower on vitamin C retention. *Food Chemistry* 1996; 57 (2) 267-270

MAID-KOHNERT, U (Bearb.). *Lexikon der Ernährung*. Band 2, Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin, 2002; 56-59.

MARTINS RC, SILVA CLM: Kinetics of Frozen Stored Green Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Quality Changes: Texture, Vitamin C, Reducing Sugars, and Starch. *Journal of Food Science* 2003; 68 (7): 2232-2237

MATISSEK R, STEINER G: *Lebensmittelanalytik*. 3. Auflage, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 2006

MIGLIO C, CHIAVARO E, VISCONTI A, FOGLIANO V, PELLEGRINI N: Effects of Different Cooking Methods on Nutritional and Physicochemical Characteristics of Selected Vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008; 56: 139-147

MIX JA: Do megadoses of Vitamin C compromise folic acid's role in the metabolism of plasma homocysteine?. *Nutrition Research* 1999; 19 (2): 161-165

MUKHERJEE S, CHATTOPADHYAY PK: Whirling bed blanching of potato cubes and its effects on product quality. *Journal of Food Engineering* 2007; 78: 52-60

NAIDU KA: Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutrition Journal* 2003; 2: 7

NOVÁKOVÁ L, SOLICH P, SOLICHOVÁ D: HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids. *Trends in Analytical Chemistry* 2008; 27 (10): 942-958

PIETRZIK K, GOLLY I, LOEW D: *Handbuch Vitamine. Für Prophylaxe, Therapie und Beratung*. 1. Auflage, Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag, München, 2008.

PODSEDEK A: Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A Review: *LWT - Food Science and Technology* 2007; 40: 1-11

POLIDORI MC, MECOCCI P, LEVINE M, FREI B: Short-term and long-term vitamin C supplementation in humans dose-dependently increases the resistance of plasma to ex vivo lipid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2004; 423: 109-115

PUUPPONEN-PIMIA R, HAKKINEN ST, AARNI M, SUORTTI T, LAMPI AM, EUROLA M et al.: Blanching and long-term freezing affect various bioactive compounds of vegetables in different ways. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2003; 83:1389-1402

REYES LF, VILLARREAL JE, CISNEROS-ZEVALLOS L: The increase in antioxidant capacity after wounding depends on the type of fruit or vegetable tissue. *Food Chemistry* 2007; 101: 1254-1262

REZNIKOVA MI, KOROLEV AM, BODYAGIN DA, PREOBRAZHENSKAYA MN: Transformations of ascorbigen in vivo into ascorbigen acid and 1-deoxy-1-(indol-3-yl) ketoses. *Journal of Food Chemistry* 2000; 71: 469-474

RICKMAN JC, BARRETT DM, BRUHN CM: Review: Nutritional comparison of fresh, frozen and canned fruits and vegetables. Part 1. Vitamines C and B and

phenolic compounds. Journal of the Science of Food and Agriculture 2007; 87:930-944

RUMSEY SC, LEVINE M: Absorption, transport, and disposition of ascorbic acid in humans. Journal of Nutritional Biochemistry 1998; 9: 116-130

RYAN L, BYERS K, WALVEKAR RR: Gingival hypertrophy: a solitary manifestation of scurvy. American Journal of Otolaryngology–Head and Neck Medicine and Surgery 2008; 29 (6), 426-428

SCHLICH E, ZIEMS M. Der Einfluss verschiedener Garverfahren auf den Vitamingehalt von Brokkoli. Ernährung im Fokus 2001; 1: 30-33.

SELMAN JD: Vitamin Retention during blanching of vegetables. Food Chemistry 1994; 49: 137-147

SENER F, SOUCI SW. Der kleine Souci-Fachmann-Kraut. Wiss. Verl.-Ges., Stuttgart, 2004.

SIKORA E, CIEŚLIK E, LESZCZYŃSKA T, FILIPIAK-FLORKIEWICZ A, PISULEWSKI PM: The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. Food Chemistry 2008; 107: 55-59

SINGH J, UPADHYAY AK, PRASAD K, BAHADUR A, RAI M: Variability of carotenes vitamin C, E and phenolics in Brassica vegetables. Journal of Food Composition and Analyses 2007; 20: 106-112

STARK R: Bestimmung von Vitamin C (L-Ascorbinsäure und Gesamtascorbinsäure) in Lebensmitteln und Humanplasma. Diplomarbeit. Wien, Department für Ernährungswissenschaften der Universität Wien 2005.

STELAND A: Basiswissen Statistik. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007.

THOMPSON CO, TRENNERY VC: A rapid method for the determination of total L-Ascorbic acid in fruits and vegetables by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Journal of Food Chemistry* 1995; 53: 43-50

VAN HET HOF KH, TIJBURG LBM, PIETRZIK K, WESTSTRATE JA: Influence of feeding different vegetables on plasma levels of carotenoids, folate and vitamin C. Effect of disruption of the vegetable matrix. *British Journal of Nutrition* 1999; 82: 203-212

WELCH RW, WANG Y, CROSSMAN A, PARK JB, KIRK KL, LEVINE M: Accumulation of Vitamin C (Ascorbate) and its oxidized metabolite Dehydroascorbic Acid occurs by separate mechanisms. *Journal of Biological Chemistry* 1995; 270: (21) 12584-12592

ZHANG D, HAMAIZU Y: Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry* 2004; 88: 503-509

L E B E N S L A U F

Rebekka Bottig

Persönliche Daten

Nationalität:	Österreich
Geburtsdatum:	7. März, 1984
Geburtsort:	Baden
Führerschein:	Seit März 2002, B-Führerschein (für Personenkraftwagen)

Schulausbildung

Seit WS 2002	Studium der Ernährungswissenschaften, Universität Wien
2000 – 2002	BRG Frauengasse, Baden (Abschluss mit Matura; Guter Erfolg)
1999 – 2000	Austauschjahr an der J.P. Taravella High School, Coral Springs, Florida, USA
1994 – 1999	Wirtschaftskundliches Realgymnasium Frauengasse, Baden

Arbeitserfahrung

November 2008	Mitarbeit am präventivmedizinischen Projekt „Gesund essen an Wiener Schulen“ von „SIPCAN save your life“
Seit März 2008	Geringfügige Tätigkeiten bei SGS Austria Controll-Co. Ges.m.b.H.; Consumer Testing Services, Bio Kontrollstelle
Juli und August 2007	Praktikum im Umweltanalytiklabor MAPAG (Staatlich akkreditierte Prüf- und Überwachungsstelle)
Februar 2007	Dateneingabe im Rahmen des Projektes „NutritionDay in European Hospitals“

Sprachkenntnisse

Deutsch	<i>Fließend</i> – Muttersprache
Englisch	<i>Fließend</i> – 8 Jahren Englischunterricht Ein Jahr Schulbesuch in Florida, USA
Spanisch	4 Jahre Spanischunterricht (AHS) 2 Wochen Sprachaufenthalt in Spanien