

Lagerungsbedingte Veränderungen der Zusammensetzung von Früchten und Maischen des Schwarzen Holunders (*Sambucus nigra* L.)

HERMANN PEYERL, KARIN KORNTHEUER, SYLVIA WENDELIN, REINHARD BAUMANN und REINHARD EDER

Höhere Bundeslehranstalt und Bundesamt für Wein- und Obstbau
A-3400 Klosterneuburg, Wiener Straße 74
Reinhard.Eder@hblawo.bmlfuw.gv.at

Früchte und Maischen des Schwarzen Holunders (Sambucus nigra L.) wurden mit unterschiedlichen Zusätzen (Stickstoff, Schwefeldioxid, Gärhefe, Milchsäure- bzw. Essigsäurebakterien) bei zwei Temperaturen (4 °C und 20 °C) gelagert. Nach vier, elf und fünfzehn Tagen erfolgte die Bestimmung qualitätsrelevanter Parameter, wie Titrationsacidität, pH-Wert, D- und L- Milchsäure, flüchtige Säuren, Ethylacetat, Alkohol, Farbe und Aminosäuren. Bezugnehmend auf die im Codex Alimentarius Austriacus genannten Parameter waren alle Varianten bereits nach viertägiger Lagerzeit verdorben. Der Verderb war durch hohe Gehalte an flüchtigen Säuren (1,5 g/l) und teilweise auch durch hohe Alkoholgehalte (6 bis 25 g/l) gekennzeichnet. Die mit Stickstoff überlagerten Früchte wiesen zusätzlich einen besonders hohen Gehalt an Ethylacetat (775 mg/l) auf. Trotz deutlich feststellbaren Verderbs wurde aber in keiner der Varianten der im Codex zitierte Grenzwert von 0,5 g/l Milchsäure überschritten, eine Absenkung dieses Grenzwertes erscheint daher notwendig. Hinsichtlich der Gehalte an flüchtiger Säure und Ethylacetat zeigte sich, dass einzig eine möglichst kühle und kurze Lagerung von unversehrten Holunderdolden den Verderb verzögern kann, wobei aber auch die kühlgelagerten (4 °C) Dolden nach 15 Tagen erhöhte Alkoholgehalte (6 g/l) aufwiesen. Eine Überlagerung der Früchte mit Stickstoff bzw. Schwefeldioxid vor der Lagerung ergab keine ausreichende Hemmung von Mikroorganismen.

Schlagwörter: Schwarzer Holunder, Früchte, Lagerung, Inhaltsstoffe, Verderb

Changes in the composition of fruit and mashes from black elderberry (Sambucus nigra L.) caused by storage. Fruit and mashes from black elderberry (Sambucus nigra L.) with different additives (nitrogen, sulphur dioxide, fermenting yeast, lactic acid and/or acetic acid bacteria) were stored at two temperatures (4 °C and 20 °C). After four, eleven and fifteen days quality relevant parameters were determined, e.g. titratable acidity, pH-value, D- and L-lactic acid, volatile acids, ethyl acetate, alcohol, colour and amino acids. Referring to the parameters specified in the Codex Alimentarius Austriacus all variants were spoiled after a four-days storage period. Spoilage was characterized by high contents of volatile acids (1.5 g/l) and partly also by high alcohol contents (6 to 25 g/l). The fruit under nitrogen cover additionally showed a particularly high content of ethyl acetate (775 mg/l). Despite a clearly detectable spoilage, however, in none of the variants the limit value of 0.5 g/l of lactic acid quoted in the Codex was exceeded, therefore a lower limit value seems to be needed. With respect to contents of volatile acid and ethyl acetate it was found that only as cool and short a storage as possible of undamaged elderberry umbels can retard the spoilage, but also the cool stored (4 °C) umbels showed increased alcohol contents (6 g/l) after 15 days. Covering the fruit with nitrogen and/or sulphur dioxide before the storage did not cause a sufficient inhibition of micro organisms.

Keywords: Black elder, fruit, storage, contents, spoilage

Modifications de la composition des fruits et de la vendange du sureau (Sambucus nigra L.) dues au stockage. Les fruits et les vendanges du sureau (Sambucus nigra L.) ont été stockés avec différents additifs (azote, dioxyde de soufre, lies de fermentation, bactéries lactiques et/ou acétiques) à deux températures (4 °C et 20 °C). Après quatre,

onze et quinze jours, on a déterminé les paramètres importants pour la qualité, tels que l'acidité de titration, le pH, les acides lactiques D et L, les acides volatils, l'éthylacétate, l'alcool, la couleur et les acides aminés. En référence aux paramètres indiqués dans le Codex Alimentarius Austriacus, toutes les variantes s'étaient abîmées après quatre jours de stockage. La détérioration était caractérisée par des teneurs élevées en acides volatils (> 1,5 g/l) et en partie également par des teneurs élevées en alcool (6 à 25 g/l). En outre, les fruits exposés à l'azote présentaient une teneur particulièrement élevée en éthylacétate (775 mg/l). Malgré la détérioration clairement constatable, aucune des variantes n'a dépassé la valeur limite indiquée dans le Codex de 0,5 g/l d'acide lactique ; une réduction de cette valeur limite semble donc nécessaire. En ce qui concerne les teneurs en acide volatil et en éthylacétate, il s'est avéré que seul un stockage court des ombelles du sureau à une température aussi fraîche que possible peut retarder la détérioration ; par contre, les ombelles stockées au frais (4 °C) présentaient, elles aussi, des teneurs élevées d'alcool (6 g/l) au bout de 15 jours. Une exposition des fruits à l'azote et/ou au dioxyde de soufre avant le stockage n'était pas suffisante pour entraver les microorganismes.

Mots clés: sureau, fruits, stockage, composants, détérioration

Der Schwarze Holunder (*Sambucus nigra* L.) ist in Mitteleuropa und besonders in Österreich eine wichtige Obstart, wobei die Anbaufläche ungefähr 1.000 ha beträgt (STRAUSS und NOVAK, 1998). WEISS und SÄMANN (1980) stellten bei der Analyse authentischer Holunderrohsäfte pH-Werte zwischen 3,8 und 4,7 fest. Die Titrationsacidität lag in einem Bereich von 8,5 bis 9,6 g/l (114 bis 128 mval/l) und der Gesamtzuckergehalt bei 51 bis 109 g/l. Von den Fruchtsäuren herrscht in Holunderbeeren Zitronensäure vor, nur wenig Äpfelsäure ist vorhanden; Chinasäure, Shikimisäure sowie Iso-Zitronensäure sind in Spuren analysierbar. Wegen ihres hohen Gehalts an Vitaminen (Ascorbinsäure, Niacin und Vitamin B₆), Mineralstoffen und Phenolen, insbesondere Anthocyanen und Flavonolglycosiden, weisen die Früchte des Schwarzen Holunders einen hohen gesundheitlichen Wert auf (HERMANN, 1996). Der Anthocyanengehalt beträgt laut EDER (2004) ungefähr 4,5 g pro Kilogramm Frischfrucht und setzt sich aus den Anthocyanen Cyanidin-3-glucosid, Cyanidin-3,5-diglucosid, Cyanidin-3-sambubiosid und Cyanidin-3-glucosid-5-sambubiosid zusammen. Der positive gesundheitliche Wert von Anthocyanen beruht hauptsächlich auf deren antioxidativer Kapazität, wodurch sie den oxidativen Stress im Körper verringern können (SIEHS, 1986). Mittels in vitro-Versuchen mit Rattenleber konnten ABUJA et al. (1998) nachweisen, dass Anthocyane die LDL-Oxidation, insbesondere die Lipidperoxidation, verringern können.

Der Stickstoffgehalt von Holunderbeersäften ist mit 10 bis 15 g/l recht hoch, wobei KÜNSCH und TEMPERLI (1976) herausfanden, dass ca. 69 % des Gesamtstickstoffgehalts in Form von freien Aminosäuren vorliegen. Die Gehalte an freien Aminosäuren schwankten dabei zwischen 4,7 und 5,2 g/l, wobei 38 bis 54 % essenzielle Aminosäuren sind. Die mengenmäßig dominierenden

Aminosäuren sind laut BERGMANN (1979) Asparagin, Glycin, Leucin, Tyrosin, Phenylalanin und Arginin.

Für das Inverkehrbringen von Rohsäften sind in Österreich im Codex Alimentarius Austriacus (Kapitel B7) folgende Kennzahlen generell festgelegt: Gehalt an flüchtigen Säuren (b.a. ES) maximal 1,5 g/l und gesamte schwefelige Säure maximal 10 mg/l (CAA, 1954). Für die verschiedenen Obstarten gibt es zusätzliche Kennbereiche, für Holunderrohsäfte wird beispielsweise der Gehalt an titrierbaren Säuren (b.a. WS) mit 9 bis 11,4 g/l beschrieben, früher war auch der pH-Wert mit 3,9 bis 4,7 angegeben.

Wegen des hohen pH-Wertes der Früchte stellt der mikrobiologische Verderb bei der Lagerung der Früchte ein besonders großes Risiko dar. Vor allem bei der Manipulation nach der Ernte wie auch bei der anschließenden Verarbeitung können mikrobielle Infektionen zu wesentlichen Qualitätsminderungen führen. Da Holunderbeeren bei Raumtemperatur rasch verderben, sind lange Lagerzeiten bzw. hohe Temperaturen zu vermeiden. SCHOBINGER et al. (1982) sind der Ansicht, dass durch Absenkung der Temperatur auf 0 bis +2 °C eine ein- bis zweiwöchige Lagerung ohne wesentliche Qualitätseinbuße möglich ist.

Grundsätzlich kann Verderb auf extrinsische und intrinsische Faktoren zurückgeführt werden, wobei üblicherweise zwischen chemischem, enzymatischem und mikrobiologischem Verderb unterschieden wird. Unter dem Begriff des chemischen Verderbs sind alle hydrolytischen Spaltungen von Glykosid-, Ester- und Amidbindungen und Reaktionen von Aminosäuren und Fruchtsäuren mit Kohlenhydraten (Maillard-Reaktion) zusammengefasst (BELITZ und GROSCH, 1992).

Enzymatischer Verderb ist zumeist auf Phenoloxidasen und Pektinasen zurückzuführen, aber auch Chlorophyllasen und Anthocyanasen können maßgeblich be-

teiltigt sein (SCHOBINGER, 2001). Der mikrobiologische Verderb wird besonders durch die Ausgangskeimzahl des Produktes, durch den pH-Wert und die Pufferkapazität beeinflusst. Auch der osmotische Druck, das Redox-Potenzial sowie die chemische Zusammensetzung des Lebensmittels spielen eine entscheidende Rolle. Insbesondere verschiedene Hefen, Bakterien und Schimmelpilze sind bedeutende Fruchtsaftverderber (DITTRICH, 1993). Die größte Relevanz bei der Infektion von Fruchtsäften haben die zu den Pilzen zählenden Hefen. Niedrige pH-Werte behindern ihre Vermehrung nicht und die Vermehrungsrate ist auch bei relativ niedrigen Temperaturen hoch. Sie zeigen ein geringes Sauerstoffbedürfnis und haben eine hohe Fähigkeit zum Zuckerverbrauch. Die wichtigsten Hefen sind Wuchsstoff autotroph, demnach können sie die für ihren Stoffwechsel nötigen Verbindungen selbst synthetisieren. In der Getränke-technologie erfolgt eine Unterscheidung von vier Gruppen: gärkräftige Hefen (z.B. *Saccharomyces cerevisiae*), gärfähige Hefen (z.B. *Saccharomyces kluyveri*), gärschwache Hefen (z.B. *Brettanomyces*, *Candida*) und nichtgärfähige Hefen oder Atmungshefen (z.B. Kahmhefen, *Pichia*) (SCHOBINGER, 2001). Von den Bakterien kommen in Fruchtsäften am häufigsten Essig- und Milchsäurebakterien vor, Buttersäurebakterien wie auch pathogene Bakterien haben kaum Bedeutung. Die meisten der vorkommenden Bakterien werden durch Erhitzung abgetötet, doch sporenbildende Bakterien können die Hochkurzzeit-Erhitzung überstehen. Es handelt sich dabei um die Gattungen *Bacillus* und *Clostridium*, welche in Fruchtsäften jedoch selten sind. Die aeroben Essigsäurebakterien zeigen hohe Säure- sowie Osmotoleranz. Neben Essigsäure bilden sie auch Ethylacetat (WÜRDIG und WOLLER, 1989). Physiologisch unterscheidet man Peroxidanten (*Acetobacter*) und Suboxidanten (*Gluconobacter*), letztere oxidieren Kohlenhydrate bzw. Alkohole lediglich bis zur Essigsäure. Milchsäurebakterien gehören zur Familie der *Lactobacteriaceae*, wobei die Gattungen *Lactobacillus* (homo- oder heterofermentative Stäbchen), *Oenococcus* (heterofermentative Diplokokken) und *Pediococcus* (homofermentative Kokken, meist als Tetraden) große Bedeutung haben. *Pediococcus* und einige *Lactobacillen* sind homofermentativ, sie setzen Hexosen fast ausschließlich in Milchsäure um. Dies geschieht über den Fructosebiphosphatweg, wobei das Pyruvat mittels Lactatdehydrogenase (LDH) zum Lactat reagiert. Ob D- oder L-Milchsäure gebildet wird, ist von der Art der Lactatdehydrogenase abhängig. Zu den heterofermentativen Milchsäurebakterien zählt man *Oenococcus* sowie ei-

nige *Lactobacillen*. Sie setzen Hexosen zu etwa 50 % in Milchsäure um, andere Stoffwechselprodukte sind Kohlendioxid, Ethanol, Essigsäure, Ethanal, Mannit und andere. Der Abbau geschieht über den Pentosephosphatweg mit dem entscheidenden Enzym Phosphoketolase. Wenn im Medium keine Kohlenhydrate enthalten sind, wird Äpfelsäure zu Milchsäure und Kohlendioxid metabolisiert. Auch ein Abbau von Zitronensäure, insbesondere durch heterofermentative Milchsäurebakterien ist möglich, hierbei wird Oxalacetat, Essigsäure, Milchsäure, Acetoin, Butandiol und Diacetyl gebildet. Milchsäurebakterien sind osmotolerant, sie benötigen fast keinen Sauerstoff, und ihre Vermehrung wird durch Kohlendioxid noch gefördert. Sie sind gegenüber zu tiefen oder zu hohen Temperaturen jedoch empfindlicher als Hefen (SCHOBINGER, 2001). Der minimale pH-Wert liegt für heterofermentative Stäbchen und Kokken bei 3,2 und für homofermentative Stäbchen bei 4,0. Buttersäurebakterien sind Bodenbakterien und werden durch hohe pH-Werte begünstigt, sie bilden Buttersäure, Butanol-1, Propanol-2, Aceton, Ethanol, Essigsäure, Kohlendioxid und elementaren Wasserstoff (WALLHAUSER, 1990).

Bei den Schimmelpilzen sind *Byssoschlamys*-Arten als direkte Fruchtsaftverderber zu nennen, auch *Penicillium*- und *Aspergillus*-Arten können auftreten. Schimmelpilze sind aerob und bilden häufig „Mufftöne“ wie auch bittere Geschmacksstoffe (SCHOBINGER, 2001).

Material und Methoden

Ausgangsmaterial

Für die Versuchsanstellung fanden ca. 20 kg Schwarzer Holunder der Sorte 'Haschberg' aus einer Anlage in Tattendorf (Niederösterreich) Verwendung. Die ungekelbten Dolden wurden im tiefgefrorenen Zustand angeliefert und tauten etwa 20 Stunden lang bei Raumtemperatur auf. Eine Hälfte der Früchte wurde händisch abgebeert und gequetscht. Um das in den Früchten originär vorhandene Pektin abzubauen, wurde dann ein pektolytisches Enzym (10 g/hl Rapidase VINO, Fa. Gist-Brocades) zugesetzt und im Trockenschrank (Fa. Memmert) zwei Stunden lang bei 30 °C enzymiert.

Die zweite Hälfte wurde als intakte Holunderdolden (= Früchte) verwendet, wobei mechanisch beschädigte Dolden ausgeschieden wurden.

Versuchsvarianten

Es wurden acht verschiedene Varianten mit jeweils ca. 1 kg Gewicht mit einfacher Wiederholung angesetzt. Einerseits wurden vier Varianten mit Holunderdolden angesetzt, wobei die Dolden in Schalen mit etwa 15 cm Schütthöhe gelegt wurden. Andererseits erfolgte ein Versuchsaufbau mit vier Holundermaischen in kleinen Kunststoffbehältern. Nach Zugabe der im Versuchsplan angeführten Zusätze wurden alle Behälter mit Laborfilm (Parafilm[®]) verschlossen.

Folgende Varianten wurden mit Holunderdolden (= Früchte) angesetzt:

Lagerung bei 20 °C ohne Stickstoffüberschichtung („Früchte 20 °C“)

Lagerung bei 20 °C mit Stickstoffüberschichtung („Früchte 20 °C + N₂“)

Lagerung bei 20 °C mit Überschichtung durch Zusatz von 50 mg/l Schwefeldioxid in Form von Kaliumpyrosulfit (Fa. Merck, Nr. 5 057.0500) („Früchte 20 °C + SO₂“)

Lagerung bei 4 °C ohne Stickstoffüberschichtung („Früchte 4 °C“)

Folgende Varianten wurden mit Maischen angesetzt:

Lagerung bei 20 °C ohne Zusätze („Maische 20 °C“)

Lagerung bei 20 °C mit Zusatz von Trockenreinzuchtheife (Uvaferm BDX, Fa. Lallemand) („Maische 20 °C+Hefe“)

Lagerung bei 20 °C mit Zusatz von Essigsäurebakterien („Maische 20 °C + ES-Bakt“; anstaltseigener Stamm)

Lagerung bei 20 °C mit Zusatz von Milchsäurebakterien (Equilact MT 01, Fa. Uvaferm) („Maische 20 °C + MS-Bakt“)

Nach drei unterschiedlichen Lagerperioden von acht, elf bzw. fünfzehn Tagen wurde eine Teilmenge jeder Variante analysiert. Die Ausgangswerte der zu untersuchenden Parameter wurden zu Beginn der Versuchsperiode bestimmt. Für die chemischen Untersuchungen wurde aus den Früchten bzw. Maischen durch Pressung mit einer kleiner Handpresse unter Zuhilfenahme eines Gaze-Tuches und anschließender Klärung durch ein Faltenfilter Holunderrohsaft gewonnen.

Analysenmethoden

Die Titrationsacidität wurde potentiometrisch durch Titration der Probe auf pH-Wert 8,1 mittels Autotitratort (Titroprozessor 670, Fa. Metrohm, Herisau,

Schweiz) bestimmt, der pH-Wert wurde potentiometrisch gemessen (Fa. WTW, Wien). Die Bestimmung der Gehalte an D- und L-Milchsäure erfolgte enzymatisch mit den Testkombinationen der Fa. Roche, vormals Boehringer-Mannheim. Im Gegensatz zur Arbeitsanweisung in der Analysenvorschrift wurden die Proben nicht mit PVPP, sondern mit C-18-Festphasensäulen entfärbt. Dies war einfacher anzuwenden, entfärbte die Proben besser und brachte nach Vergleichen mit der PVPP-Behandlung keine abweichenden Ergebnisse. Eine 1:10-Verdünnung war notwendig, da die zu untersuchenden Flüssigkeiten auch nach der C-18-Reinigung noch etwas gefärbt waren. Die Messung der Farbkennzahlen erfolgte photometrisch (IFU, 1964). Die Analyse der flüchtigen Säuren erfolgte durch Wasserdampfdestillation und anschließende Titration mit 0,1nNatronlauge und Phenolphthalein als Indikator. Ethylacetat konnte im Destillat der Proben gaschromatographisch mit einer Carbowax-Säule (30 m x 0,32 mm fused silica Kapillarsäule mit 0,25 µm Schichtdicke) bestimmt werden. Die Alkoholanalyse erfolgte mittels Destillation und anschließender Dichtebestimmung im Biegeschwinger (Type SP2, Fa. Anton Paar, Graz) entsprechend internationaler Vorschriften (IFU, 1964). Für die Bestimmung des Anthocyangehaltes wurde die von EDER et al. (1994) publizierte RP-HPLC-Methode herangezogen. Die Analyse der Gehalte an Aminosäuren erfolgte nach Derivatisierung der Proben mit ortho-Phtaldialdehyd mit HPLC und Fluoreszenzdetektion (UMAGAT, et al, 1982).

Ergebnisse und Diskussion

pH-Wert und Titrationsacidität

Der pH-Wert des Ausgangsmaterials betrug 4,7 und liegt somit am oberen Ende des von WEISS und SÄMANN (1980) publizierten Bereichs. Auch der Gehalt an titrierbaren Säuren im Versuchsmaterial (9,5 g/l) ist mit deren Werten (8,5 bis 9,6 g/l) gut vergleichbar.

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich ist, kam es während der Lagerung in Abhängigkeit von den Varianten zu erkennbaren Veränderungen des pH-Werts. Während die Ausgangsprobe einen pH-Wert von 4,7 aufwies, war nach 15 Tagen Lagerung in der Maische-Kontrollvariante („Maische 20 °C“) sowie der Maischevariante mit Essigsäurebakterien („Maische 20 °C + ES-Bakt“) ein niedriger pH-Wert von 4,1 messbar. Auch die anderen Varianten wiesen eine Abnahme des pH-Wertes,

Tabelle 1:
pH-Wert in Früchten und Maischen von Schwarzem Holunder (Ausgangsmaterial 4,7) in Abhängigkeit von den Lagerungsbedingungen

Variante	4 Tage	11 Tage	15 Tage
Früchte 20°C	4,5	4,1	4,3
Früchte 20°C+N ₂	4,5	4,2	4,3
Früchte 20°C+ SO ₂	4,5	4,4	4,3
Früchte 4°C	4,8	4,5	4,7
Maische 20°C	4,4	4,3	4,1
Maische 20°C+Hefe	4,9	4,9	4,9
Maische 20°C+ES-Bakt.	4,5	4,2	4,1
Maische 20°C+MS-Bakt.	4,5	4,3	4,3

Tabelle 2:
Titrationsacidität (g/l b.a. Äpfelsäure) in Früchten und Maischen (Ausgangsmaterial 9,48 g/l) von Schwarzem Holunder in Abhängigkeit von den Lagerungsbedingungen

Variante	4 Tage	11 Tage	15 Tage
Früchte 20°C	9,70	17,98	18,88
Früchte 20°C+N ₂	10,08	16,28	19,08
Früchte 20°C+ SO ₂	10,96	11,80	8,22
Früchte 4°C	7,42	7,92	14,98
Maische 20°C	10,14	16,20	19,00
Maische 20°C+Hefe	6,08	7,80	9,44
Maische 20°C+ES-Bakt	9,98	21,24	19,38
Maische 20°C+MS-Bakt	11,76	17,06	13,14

wenn auch etwas geringer (bis zu pH-Wert 4,3), auf. Lediglich bei der Variante „Maische 20 °C + Hefe“ kam es zu einem Anstieg des pH-Wertes auf 4,9. Bei den kühlgelagerten Dolden („Früchte 4 °C“) blieb der pH-Wert mit 4,7 unverändert. Dementsprechend spie-

Tabelle 3:
Gehalt an D- und L- Milchsäure (mg/l) in Früchten und Maischen (Ausgangsmaterial 4 mg/l D-MS bzw. 1mg/l L-MS) von Schwarzem Holunder in Abhängigkeit von den Lagerungsbedingungen

Variante	4 Tage		11 Tage		15 Tage	
	D-MS	L-MS	D-MS	L-MS	D-MS	L-MS
Früchte 20°C+N ₂	63	n.n.	93	38	115	17
Früchte 20°C+ SO ₂	62	n.n.	95	33	115	15
Früchte 4°C	6	3	4	4	13	n.n.
Früchte 20°C	65	1	124	6	106	30
Maische 20°C	35	22	111	30	110	13
Maische 20°C+Hefe	31	22	55	43	57	45
Maische 20°C+ES-Bakt	55	6	118	14	124	11
Maische 20°C+MS-Bakt	62	n.n.	119	13	126	3

gelt Tabelle 2 in den meisten Varianten eine beträchtliche Zunahme der titrierbaren Gesamtsäuren wider. Während das Ausgangsmaterial eine Titrationsacidität von 9,5 g/l hatte, wurden in den Varianten „Maische 20 °C“; „Maische 20 °C + ES-Bakt“, „Früchte 20 °C“ sowie „Früchte 20 °C + N₂“ Säurewerte um 19 g/l gemessen. Zu einer schwächeren Zunahme der Säuregehalte kam es in den Varianten „Maische 20 °C + MS-Bakt“ sowie „Früchte 4 °C“. Demgegenüber bewirkte die 15-tägige Lagerung bei den Varianten „Früchte 20 °C + SO₂“ und „Maische 20 °C + Hefe“ keine Zunahme der Titrationsacidität.

Der Anstieg der Titrationsacidität während der Lagerung erfolgte nicht in allen Varianten gleichmäßig. Bei der Variante „Maische 20 °C + Hefe“ fand in den ersten Tagen der Lagerung ein Abbau der Gesamtsäure unter den Ausgangswert statt, doch später stieg der Gehalt durch die Bildung von flüchtigen Säuren wieder an. Im Vergleich dazu blieb die Titrationsacidität bei der Variante „Früchte +4°C“ in den ersten elf Tagen unverändert, und stieg erst dann sehr rasch an. Die übrigen Varianten zeigten vor allem in der ersten Lagerungsphase eine deutliche Säurezunahme.

D- und L-Milchsäure

Aus Tabelle 3 sind die Gehalte an D- und L-Milchsäure ersichtlich, der Anfangsgehalt war mit 5 mg/l (4 mg/l D-MS und 1 mg/l L-MS) als sehr gering einzustufen. Während der Lagerung kam es lediglich in der Variante „Früchte 4 °C“ zu keiner nennenswerten Bildung von Milchsäure (13 mg/l), in allen anderen Varianten wurden Milchsäuregehalte über 100 mg/l erreicht, wobei lediglich die Variante „Maische 20 °C + Hefe“ einen etwas niedrigeren Gehalt aufwies (102 mg/l). Die Tätigkeit von *Saccharomyces cerevisiae* dürfte einen leicht hemmenden Einfluss auf die milchsäurebildenden Bakterien gehabt haben. Bemerkenswert ist aber, dass auch in allen anderen Proben, trotz deutlich wahrnehmbaren Verderbs, die Milchsäure-Konzentration (max. 136 mg/l) deutlich unter dem vom Codex Alimentarius Austriacus (CAA, 1954) festgelegten Grenzwert von 0,5 g/l lag. Demzufolge erscheint dieser Maximalwert als zu hoch angesetzt und es sollten Überlegungen betreffend Absenkung dieses Qualitätsparameters

gemacht werden. Betrachtet man das Verhältnis von D- zu L-Milchsäure in den Varianten, so kann festgestellt werden, dass der Anteil an D-Milchsäure größer ist als jener an L-Milchsäure, was darauf schließen lässt, dass der größte Teil der Milchsäure durch Abbau von Kohlenhydraten gebildet wurde (SCHOBINGER, 2001). Zu bemerken ist, dass der Anstieg der Milchsäure vermehrt zwischen dem vierten und elften Lagerungstag erfolgte.

Gehalt an flüchtigen Säuren berechnet als Essigsäure

Der Gehalt an flüchtigen Säuren (Tab. 4) war bei allen Varianten bereits bei der Ausgangsprobe (1,2 g/l) erhöht. Für Obstrohsäfte, die nicht zum unmittelbaren Genuss bestimmt sind, sieht das Lebensmittelbuch einen Maximalwert von 1,5 g/l (b.a. ES) vor, welcher aber nur von der Ausgangsvariante und der kühlgelagerten Doldenvariante „Früchte +4 °C“ eingehalten wurde (1,3 g/l nach 15 Tagen). Der hohe Anfangsgehalt an flüchtigen Säuren in den Holunderbeeren dürfte auf deren „Vorgeschichte“ (Anlieferung als tiefgefrorene Dolden und anschließendes Auftauen) zurückzuführen sein. Während der Lagerung erfolgte in allen Varianten mit Ausnahme der kühlgelagerten Probe schon innerhalb der ersten vier Tage eine rasche Bildung flüchtiger Säuren (Werte zwischen 3,0 und 7,9 g/l flüchtige Säure), wodurch die Geschwindigkeit des Verderbs eindrucksvoll demonstriert wurde. Die Höchstwerte an flüchtigen Säuren wurden in den Varianten „Früchte 20 °C + SO₂“ (12,3 g/l), „Früchte 20 °C + N₂“ (10,4 g/l) „Früchte 20 °C“ (10,3 g/l) sowie „Maische 20 °C + ES-Bakt“ (10,0 g/l) und „Maische 20 °C + MS-Bakt“ (9,7 g/l) gemessen.

Tabelle 4:

Gehalt an flüchtigen Säuren (g/l b.a. Essigsäure) in Früchten und Maischen (Ausgangsmaterial 1,2 g/l) von Schwarzem Holunder in Abhängigkeit von den Lagerungsbedingungen

Variante	4 Tage	11 Tage	15 Tage
Früchte 20°C	6,1	10,3	8,3
Früchte 20°C+N ₂	6,4	10,4	6,3
Früchte 20°C+ SO ₂	7,1	7,4	12,3
Früchte 4°C	0,6	1,1	1,3
Maische 20°C	6,4	8,6	8,8
Maische 20°C+Hefe	3,0	5,6	7,0
Maische 20°C+ES-Bakt	7,9	9,6	10,0
Maische 20°C+MS-Bakt	7,5	9,2	9,7

sen. Die Tatsache, dass die Variante mit zugesetzten Essigsäurebakterien „Maische 20 °C + ES-Bakt“ keine höheren Werte aufwies als die meisten anderen Varianten, lässt den Schluss zu, dass auch bei diesen Proben eine vergleichbare starke Infektion mit Essigsäurebakterien bereits vom Ausgangsmaterial her gegeben war. In Analogie zu Wein und ähnlichen Getränken ist eine sensorische Beeinträchtigung ab etwa 1 g/l flüchtige Säure zu vermuten (WÜRDIG und WOLLER, 1989), demnach sind alle Varianten mit Ausnahme der kühlgelagerten Dolden („Früchte 4 °C“) als stark verdorben anzusehen.

Ethylacetat

Ergänzend zu der Bestimmung der flüchtigen Säuren wurde der Gehalt an Ethylacetat in den verschiedenen Varianten nach 15-tägiger Lagerung analysiert (Abb. 1). Während in der Ausgangsprobe Ethylacetat nicht nachweisbar war, wurden insbesondere in der stickstoffüberlagerten Variante „Früchte 20 °C + N₂“ sehr hohe Ethylacetatwerte gemessen (775 mg/l). In dieser Variante haben die Mikroorganismen entweder teilweise andere Stoffwechselprodukte gebildet, oder es hat sich von Beginn an eine andere Population vermehrt. Derartig hohe Gehalte an Ethylacetat bewirken sicher eine wahrnehmbare sensorische Beeinträchtigung des Produktes in Richtung „Lösungsmittelton“, „estrig“ und „stechend“ (WÜRDIG und WOLLER, 1989). Deutlich niedrigere, aber noch immer hohe Gehalte an Ethylacetat wurden in den Varianten „Früchte 20 °C“ (238 mg/l), „Maische 20 °C + Hefe“ (167 mg/l) und „Früchte 20 °C + SO₂“ (168 mg/l) festgestellt. Auch bei diesen Proben war eine sensorische Beeinträchtigung durch Ethylacetat erkennbar. Vergleichsweise niedrige Ethylacetatwerte wiesen nur die Varianten „Maische 20 °C + MS-Bakt“ (60 mg/l), „Maische 20 °C“ (49 mg/l), „Maische 20 °C + ES-Bakt“ (22 mg/l) und „Früchte 4 °C“ (21 mg/l) auf. Es ist bemerkenswert, dass die Maischevariante mit zugesetzten Essigsäurebakterien gleich wenig Ethylacetat aufwies wie die kühlgelagerte Fruchtvariante.

Vorhandener Alkohol

Der Gehalt an vorhandenem Alkohol ist in Tabelle 5 dargestellt und liegt eindeutig bei der Variante „Maische 20 °C + Hefe“ am höchsten (25 g/l), wobei aber eine Abnahme zwischen viertem und fünfzehntem La-

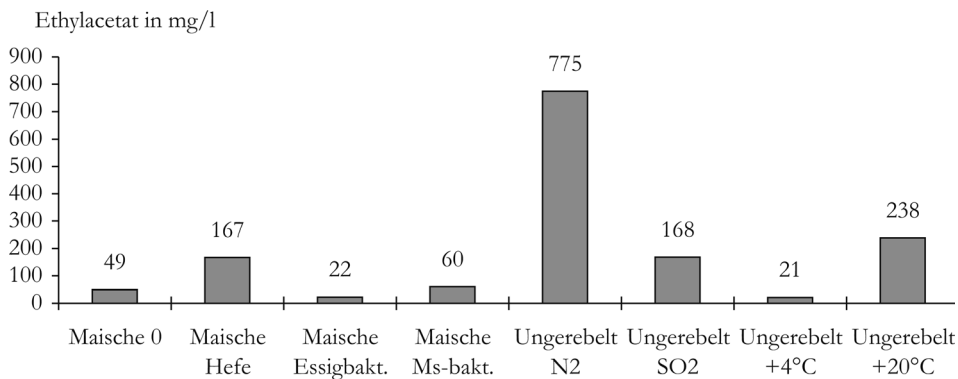


Abb. 1: Ethylacetatgehalte von *Sambucus nigra* nach 15-tägiger Lagerung in mg/l

Tabelle 5:

Alkoholgehalt (g/l) in Früchten und Maischen (Ausgangsmaterial 1g/l) von Schwarzem Holunder in Abhängigkeit von den Lagerungsbedingungen

Variante	4 Tage	11 Tage	15 Tage
Früchte 20°C	7	7	6
Früchte 20°C+N ₂	7	9	7
Früchte 20°C+ SO ₂	12	9	9
Früchte 4°C	2	3	6
Maische 20°C	3	6	9
Maische 20°C+Hefe	31	28	25
Maische 20°C+ES-Bakt	3	7	6
Maische 20°C+MS-Bakt	6	6	6

gerungstag feststellbar war, welche vermutlich auf Verdunstung und Stoffwechselfvorgänge von Mikroorganismen zurückzuführen ist. Auch bei den anderen Proben war innerhalb der ersten vier Lagerungstage die stärkste Alkoholbildung erkennbar, lediglich bei den Varianten „Maische 20 °C“ und „Früchte 4 °C“ fand ein Anstieg der Alkoholgehalte mit zunehmender Lagerungsdauer statt. Nach 15-tägiger Lagerung lagen mit Ausnahme der erstgenannten Variante die Alkoholgehalte der anderen Varianten in einem Bereich von 6 bis 9 g/l.

Da Fruchtsäfte mit einem Alkoholgehalt über 3,0 g/l laut Codex Alimentarius Austriacus (Kapitel B7) verdorben sind, waren lediglich das Ausgangsmaterial (kein Alkohol nachweisbar) sowie die Varianten „Maische 20 °C“ und „Maische 20 °C + ES-Bakt“ jeweils nach viertägiger Lagerzeit in Bezug auf den Alkoholgehalt nicht als verdorben anzusehen. Nach 15-tägiger Lagerung waren aber alle Varianten, auch die kühlgelagerten Dolden verdorben, da sie Alkoholgehalte über 3 g/l aufwiesen.

Anthocyangehalte

Mittels HPLC-Analyse konnten die vier Hauptanthocyane analysiert und als Cyanidin-3,5-diglucosid quantifiziert werden (EDER, 2004). Sowohl die quantitativen wie auch qualitativen Ergebnisse sind in Abbildung 2 dargestellt. Bemerkenswerterweise

konnten in vier Varianten, nämlich „Früchte 20 °C + N₂“ (1094 mg/l) „Maische 20 °C“ (1543 mg/l), „Maische 20 °C + Hefe“ (902 mg/l) sowie „Maische 20 °C + MS-Bakt“ (1091 mg/l) höhere Mengen an Anthocyanen extrahiert werden als in der Ausgangsvariante (807 mg/l). Dies ist vermutlich auf eine bessere Extrahierbarkeit der Farbstoffe infolge mikrobiologischer Umsetzungen zurückzuführen. Ein deutlicher Abbau der Anthocyanfarbstoffe hat in der Variante „Früchte 20 °C“ stattgefunden, in dieser waren nach 15-tägiger Lagerung nur mehr 73 mg/l nachweisbar. Auch durch Zusatz von Schwefeldioxid, „Früchte 20 °C + SO₂“ (484 mg/l), sowie durch Kühlung, „Früchte 4 °C“ (693 mg/l), konnten Farbstoffverluste nicht verhindert werden. Die Abnahme der Anthocyangehalte infolge des Zusatzes von Essigsäurebakterien hingegen ist nicht überraschend („Maische 20 °C + ES-Bakt“; 386 mg/l). Ein weiteres auffälliges Ergebnis dieser Untersuchungen ist der große Einfluss der Lagerungsbedingungen auf die Anthocyanzusammensetzung. Obwohl in den zu Versuchsbeginn analysierten Beeren die beiden Anthocyanoglucoside Cyanidin-3,5-diglucosid (48 %) sowie Cyanidin-3-glucosid,5-sambubiosid (34 %) dominieren und mehr als 80 % der Pigmente ausmachen, während der Anteil von Monoglucosiden bei ca. 15 % liegt, ist dies nach der Lagerung nur in den Varianten „Früchte 20 °C + N₂“, „Früchte 4 °C“ und „Maische 20 °C + MS-Bakt“ der Fall. Demgegenüber weisen die Lagervarianten „Früchte 20 °C“, „Früchte 20 °C + SO₂“, „Maische 20 °C“, „Maische 20 °C + Hefe“ sowie „Maische 20 °C + ES-Bakt“ Gehalte an Anthocyanmonoglucosiden von ca. 60 % auf. Dies deutet auf eine Zuckerabspaltung infolge starker Glucosidaseaktivitäten in diesen Varianten während der Lagerung hin (WIGHTMAN and WROLSTAD, 1995). Möglicherweise

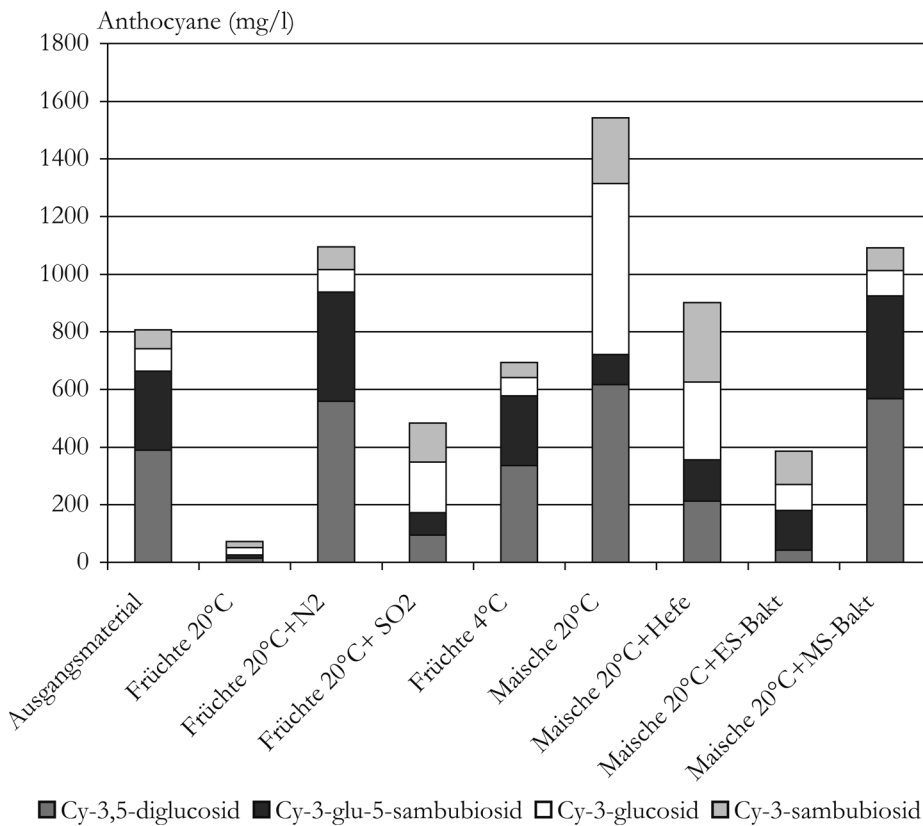


Abb. 2: Anthocyanengehalt (mg/l) und Anthocyanzusammensetzung von Früchten und Maischen von Schwarzem Holunder nach 15-tägiger Lagerung

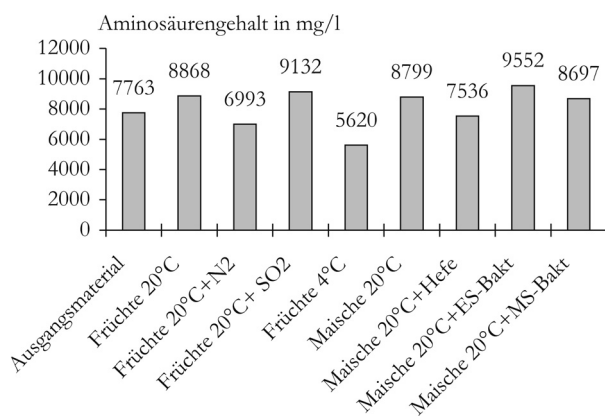


Abb. 3: Aminosäuregehalt (mg/l) in Früchten und Maischen von Schwarzem Holunder in Abhängigkeit von den Lagerungsbedingungen

haben diese Glucosidaseaktivitäten auch zur Bildung von freiem Cyanidin geführt, was aber im Rahmen dieser Untersuchung nicht analysiert wurde.

Aminosäuren

Der Aminosäuregehalt der Varianten nach 15-tägiger Lagerung war mit den von KÜNSCH und TEMPERLI (1976) publizierten Werten vergleichbar (Abb. 3). Erwähnenswert ist, dass in den folgenden fünf gelagerten Varianten höhere Gehalte als in der Ausgangsprobe (7,8 g/l) zu finden waren: „Maische 20 °C + ES-Bakt“ (9,5 g/l); „Früchte 20 °C + SO₂“ (9,1 g/l); „Früchte 20 °C“ (8,9 g/l); „Maische 20 °C“ (8,8 g/l); „Maische 20 °C + MS-Bakt“ (8,7 g/l). Möglicherweise ist der Anstieg auf den proteolytischen Abbau von Eiweißstoffen bzw. eine Aminosäuresynthese durch Mikroorganismen zurückzuführen. Anteilsmäßig wurden die höchsten Gehalte an folgenden Aminosäuren detektiert: Lysin (0,1 bis 4,5 g/l), Cystein (1,1 bis 2,9 g/l); Leucin (0,4 bis 1,0 g/l), Glutaminsäure (0,1 bis 0,5 g/l), Asparagin (0,05 bis 0,7 g/l), Valin (0,05 bis 0,4 g/l), Phenylalanin (0,1 bis 0,4 g/l); Alanin (0,1 bis 0,4 g/l) und Asparaginsäure (0,05 bis 0,3 g/l). Dies ist in teilweiser Übereinstimmung mit den Ergebnissen von BERGMANN (1979), bei denen Asparagin, Glycin, Leucin, Tyrosin, Phenylalanin und Arginin dominierten.

Zusammenfassend wird in dieser Untersuchung erkenntlich, dass die Lagerung von Holunderdolden (Früchten) oder Maischen fast in allen Fällen innerhalb kürzester Zeit zum Verderb führt. In Notfällen kann die von SCHOBINGER et al. (1982) beschriebene kühle Lagerung (<4 °C) von unverletzten Früchten den Verderb hinauszögern, wobei aber in den beschriebenen Versuchen eine problematische Alkoholbildung festgestellt wurde.

Eine Überlagerung der Früchte mit Inertgas bzw. Schwefeldioxid hat keine Verbesserung der Lagerfähigkeit ergeben. Es ist daher der Schluss zu ziehen, dass nach derzeitigem Wissensstand für die Erzeugung qua-

litativ hochwertiger Produkte aus Holunderfrüchten eine rasche Verarbeitung oder ein Tiefgefrieren notwendig sind. Für die analytische Feststellung des Verderbs von Holunderrohsaft sind der Gehalt an flüchtigen Säuren, Alkohol und Ethylacetat am besten geeignet, der im Codex festgelegte Grenzwert für Milchsäure ist anhand vorliegender Ergebnisse mit 0,5 g/l zu hoch angesetzt.

Literatur

- ABUJA, P.M., MURKOVIC, M. and PFANNHAUSER, W. 1998: Antioxidant and prooxidant activities of elderberry (*Sambucus nigra*) extract in low-density lipoprotein oxidation. *J. Agric. Food. Chem.* 46: 4091-4096
- BEHLITZ, H.D. und GROSCH, W. (1992): Lehrbuch der Lebensmittelchemie. - Berlin: Springer, 1992
- BERGMANN, R. 1979: Über die chemische Zusammensetzung selbsthergestellter schwarzer Holunderbeer-Muttersäfte. *Flüss. Obst* 46: 8-12
- CAA (1954): Codex alimentarius austriacus i.d.g.F. (Kapitel B7: Obstrohsäfte, alkoholfreie Fruchtsäfte und Fruchtnektare), 3. Aufl. - Wien: Hollinek, 1954
- DITTRICH, H. (1993): Mikrobiologie der Lebensmittel. - Hamburg: Behr, 1993
- EDER, R. (2004): Pigments. In: Nollet (Ed.) Handbook of food analysis, 3rd Ed., p. 805-877. - New York: Dekker, 2004
- EDER, R., WENDELIN, S. und BARNA, J. 1990: Auftrennung der monomeren Rotweinanthocyane mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) - Methodenvergleich und Vorstellung einer neuen Methode. *Mitt. Klosterneuburg*: 40: 68-75
- HERMANN, K. 1996: Inhaltsstoffe der schwarzen Holunderbeeren. *Ind. Obst- und Gemüseverwertung* 81(12): 394-397
- IFU (1964): Methodenbuch für Fruchtsaftanalysen. Schweizer Obstbauverband. - Zug: Selbstverlag, 1964
- KÜNSCH, V. und TEMPERLI, A. 1976: Schwarzer Holunder - ein Nahrungsmittel? *Schweiz. Z. Obst- und Weinbau* 112: 256-259
- SCHOBINGER, P., DÜRR, P. und WALDVOGEL, R. 1982: Technologie der Saft- und Konzentratherstellung aus schwarzem Holunder. *Schweiz. Z. Obst- und Weinbau* 118: 309-313
- SCHOBINGER, U. (2001): Frucht- und Gemüsesäfte, 3. Aufl. - Stuttgart: Ulmer, 2001 (Handbuch der Lebensmitteltechnologie)
- SIES, H. 1986: Biochemie des oxidativen Stress. *Angewandte Chemie* 98:1061-1075
- STRAUSS, E. und NOVAK, R. (1998): Obstbau Praxis. - Klosterneuburg: Agrarverl. 1998
- UMAGAT, H., KUCERA, P. and WEN, L.F. 1982: Total amino acid analysis using precolumns fluorescence derivatisation. *J. Chromatography* 239: 463-474
- WALLHAUSER, K.H. (1990): Lebensmittel und Mikroorganismen. - Darmstadt: Steinkopff, 1990
- WEISS, J. und SÄMANN, H. 1980: Verarbeitung von schwarzem Holunder zu Saft. *Flüss. Obst* 47: 346-350
- WIGHTMAN, J.D. and WROLSTAD, R.E. 1995: Anthocyanin analysis as a measure of glycosidase activity in enzymes for juice processing. *J. Food Sci.* 60(4): 862-867
- WÜRDIG, G. und WOLLER, R. (1989): Chemie des Weines. - Stuttgart: Ulmer, 1989 (Handbuch der Getränke-technologie)

Manuskript eingelangt am 12. Jänner 2005