

Einfluss der Hochdruckbehandlung auf lipophile Lebensmittelinhaltsstoffe

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

„doctor rerum naturalium“

- *Dr. rer. nat.* -

vorgelegt dem Rat der Fakultät für Biowissenschaften
der Friedrich-Schiller-Universität Jena



**FRIEDRICH-SCHILLER-
UNIVERSITÄT
JENA**

von M.Sc. Chemie

Mario Schmidt

geboren am 28. April 1989 in Lutherstadt Wittenberg

Gutachter

1. apl. Prof. Dr. Volker Böhm
Friedrich-Schiller-Universität Jena
Institut für Ernährungswissenschaften
Dornburger Straße 25
07743 Jena

2. Prof. Dr. Sabine Kulling
Max Rubner-Institut
Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel
Institut für Sicherheit und Qualität bei Obst und Gemüse
Haid-und-Neu-Straße 9
76131 Karlsruhe

3. Prof. Dr. Dr. Thomas Henle
Technische Universität Dresden
Lehrstuhl für Lebensmittelchemie
Bergstr. 66
01069 Dresden

Tag der Disputation: 19.07.2024

„ALLES WISSEN UND ALLES VERMEHREN UNSERES WISSENS ENDET NICHT MIT EINEM
SCHLUSSPUNKT, SONDERN MIT EINEM FRAGEZEICHEN.“

- Hermann Hesse -

Inhaltsverzeichnis

I	Tabellenverzeichnis	VII
II	Abbildungsverzeichnis	VIII
III	Abkürzungsverzeichnis	X
1	Einleitung	1
1.1	Konservierung und Prozessierung	3
1.1.1	Ursachen des Lebensmittelverderbs	3
1.1.2	Konservierungsprozesse	4
1.1.3	Alternative Konservierungstechniken	5
1.2	Hochdruckbehandlung	5
1.2.1	Aufbau und Betrieb von Hochdruckanlagen	6
1.2.2	Konservierung mit Hochdruck	7
1.2.3	Zelluläre und enzymatische Hochdruckeffekte	8
1.3	Sekundäre, bioaktive Pflanzenstoffe	10
1.3.1	Carotinoide	11
1.3.2	Vitamin E	13
1.4	Lipophile Resorptionsverfügbarkeit	15
1.5	Lipophile, antioxidative Kapazität	16
1.5.1	α TEAC	17
1.5.2	L-ORAC	17
2	Zielstellung	19
3	Übersicht der Manuskripte	20
3.1	Manuskript I	20
3.2	Manuskript II	21
3.3	Manuskript III	22
4	Manuskripte	23
4.1	Manuskript I	23
4.2	Manuskript II	24
4.3	Manuskript III	25

5	Diskussion	26
5.1	Einfluss von Hochdruck auf den Gehalt lipophiler Inhaltsstoffe und das Carotinoid-Profil.....	26
5.2	<i>In-vitro</i> -Resorptionsverfügbarkeiten in druckbehandeltem Grünkohl	36
5.3	Einfluss von Hochdruck auf lipophile, antioxidative Kapazitäten	39
5.4	Lagerfähigkeit hochdruckbehandelter und dampfsterilisierter Grünkohl-Matrizes	41
5.5	Beurteilung der Effekte von Parametern unterschiedlicher Hochdruckanlagen	43
5.6	Ernährungsphysiologische Relevanz der Hochdruckbehandlung.....	45
6	Schlussfolgerungen	47
7	Zusammenfassung	50
8	Summary	54
IV	Literaturverzeichnis	XII
V	Wissenschaftliche Publikationen	XXXI
VI	Danksagung	XXXIV
VII	Selbstständigkeitserklärung	XXXV
VIII	Tabellarischer Lebenslauf	XXXVI
IX	Angaben zu Eigenanteilen	XXXVII

I Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Klassifizierung von Lebensmitteln basierend auf der Prozessierung, modifiziert nach [47].	3
Tab. 2:	Klassifizierung von bioaktiven Substanzen in Lebensmitteln, modifiziert nach [114,115].	11

II Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Einteilung der Konservierungstechniken nach Prozessführung, modifiziert nach [49,53,54].	4
Abb. 2:	Marktanteile innerhalb hochdruckbehandelter Produkte (Stand 2019), modifiziert nach [59].	6
Abb. 3:	Aufbau einer klassischen Hochdruckanlage mit einem Reservoir für das Transmissionsfluid (A), Rohrleitungen für das Transmissionsfluid (B), einer Verstärkerpumpe (C), Verschlussvorrichtung (D), Druckkammer (E) mit Transmissionsfluid (F), dem verpackten Produkt (G).	7
Abb. 4:	Schematische Darstellung von potentiellen mikrostrukturellen Änderungen an pflanzlichen Zellen durch den Einfluss einer Hochdruckbehandlung mit den Bestandteilen einer Zellwand (A), Pektin (B), Zellmembran (C), Zytosol (D) und den Zellorganellen (E), modifiziert nach [76].	8
Abb. 5:	Chemische Strukturen von (<i>all-E</i>)- β -Carotin (A) und (<i>all-E</i>)-Lutein (B).	12
Abb. 6:	Chemische Strukturen von Tocopherolen und Tocotrienolen mit eingezeichneten Stereozentren (*) und funktionellen Gruppen der natürlichen Vitamin E-Formen, modifiziert nach [140].	14
Abb. 7:	Oxidation von farblosem ABTS durch Mangan(IV)-oxid zu blau-grünem ABTS-Radikalkation und Elektronenübergang von einem Antioxidans auf ABTS \cdot^+ (Entfärbung).	17
Abb. 8:	HAT-basierter ORAC-Assay mit Abstraktion eines Wasserstoffatoms von Fluorescein durch Alkylperoxyradikale von dem wasserlöslichen Azo-Radikalinitiator (AAPH). Lipophile Antioxidantien können durch methylierte Cyclodextrine (M- β -CD) in ein wässriges Milieu eingebracht werden und den Abbau von Fluorescein bzw. den Verlust an Fluoreszenzintensität inhibieren oder verlangsamen [176,177].	18
Abb. 9:	Einfluss der Hochdruckbehandlung bei 600 MPa und der Haltezeitverlängerung (5-40 min) auf den Vitamin-E-Gehalt in Grünkohlpüree (Manuskript I) und gehacktem Grünkohl (Manuskript II) unter Verwendung einer HPP-Laboranlage. Einfaktorieller ANOVA-Test mit Tukey-HSD post-hoc-Test; Balken mit Stern indizieren einen signifikanten Unterschied ($p < 0.05$) zwischen unbehandelten und druckbehandelten Proben.	88

Abb. 10: Einfluss der Hochdruckbehandlung bei 600 MPa (5 min) mit Temperaturen bis zu 80 °C, sowie Temperaturkontrollen ohne Druckparameter auf den Gehalt an Gesamtcarotinoiden und Vitamin E in Grünkohl (Manuskript III) unter Verwendung einer HPP-Pilotanlage. Einfaktorieller ANOVA-Test mit Tukey-HSD post-hoc-Test; Balken mit Stern indizieren einen signifikanten Unterschied ($p < 0,05$) zwischen unbehandelten und druckbehandelten Proben..... 90

III Abkürzungsverzeichnis

AAPH	2,2'-Azobis(2-Amidinopropan)-dihydrochlorid
Abb.	Abbildung
ABTS	2,2'-Azino-di(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonsäure
α TEAC	α -Tocopherol-äquivalente antioxidative Kapazität
α -Toc	α -Tocopherol
ANOVA	Varianzanalyse (Analysis Of Variance)
AOK	Antioxidative Kapazität
ATP	Adenosintriphosphat
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
Chl	Chlorophyll
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
EFFoST	European Federation of Food Science and Technology
Gl.	Gleichung
HAT	Hydrogen Atom Transfer
H-ORAC	Hydrophilic Oxygen Radical Antioxidant Capacity
HP-HT	High Pressure - High Temperature
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HP-LT	High Pressure - Low Temperature
HPP	High Pressure Processing
HSD	Honest Significant Difference
HTST	High Temperature-Short Time
IFT	Institute of Food Technologists
LIP	Lipase
L-ORAC	Lipophilic Hydrophilic Oxygen Radical Antioxidant Capacity
LOX	Lipoxygenase
LP-LT	Low Pressure - Low Temperature
M- β -CD	Methyl- β -Cyclodextrin
MPa	Megapascal
NOVA	Eigename (NOVA-Score)
ORAC	Oxygen Radical Antioxidant Capacity
PATP	Pressure Assisted Thermal Processing
PATS	Pressure Assisted Thermal Sterilization

PE	Pektinesterase
PME	Pektinmethylesterase
PPO	Polyphenoloxidase
POD	Peroxidase
RAE	Retinol Activity Equivilant
SET	Single Electron-Transfer
Tab.	Tabelle
TAC	Total Antioxidant Capacity
TEAC	Trolox-äquivalente antioxidative Kapazität
Trolox	6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carbonsäure
UHT	Ultra-High Temperature

1 Einleitung

Der griechische Arzt *Hippokrates* brachte bereits Nahrungsmittel mit dem Begriff der Heilmittel in Verbindung [1]. Während jedoch über einen weiten Bereich der Menschheitsgeschichte die Nahrung als Sinnbild für das Überleben galt [2], so assoziieren Konsumenten in der heutigen Zeit die Ernährung zunehmend mit einem gesunden oder ungesunden Lebensstil [3]. So kann die Art und Auswahl der Nahrungszufuhr zum Beispiel einen Einfluss auf Faktoren der Herzgesundheit wie Blutzucker, Blutfette, Blutdruck und Körpergewicht haben [4]. Weiterhin wird eine Ernährung mit einem relativ hohen Anteil an stark prozessierten Lebensmitteln mit Risiken für eine Vielzahl ernährungsbedingter Erkrankungen in Verbindung gebracht [5].

Die Prozessierung von Lebensmitteln kann einen bedeutenden Einfluss auf die Stabilität, die Resorptions- und Bioverfügbarkeit von Inhaltsstoffen sowie auf allgemeine, sensorische Produktmerkmale haben [6,7]. Die Lebensmitteltechnologie ist folglich mit den Ansprüchen von Konsumenten hinsichtlich möglichst gesunder, frischer und lagerfähiger Produkte konfrontiert, während gleichzeitig bei einer wachsenden Weltbevölkerung die Verschwendung von Lebensmitteln reduziert werden soll [8–11].

Das thermische Pasteurisieren oder Sterilisieren von Lebensmitteln hat sich als sichere Konservierungsmethode in der Vergangenheit etabliert [7,12], zeichnet sich jedoch durch eine geringere Energieeffizienz im Vergleich zu alternativen Technologien wie der Hochdruckbehandlung aus [13]. Weiterhin können thermische Verfahren die physikochemische Struktur von Makronährstoffen verändern, die Lebensmittelmatrix modifizieren sowie zu einem Verlust an Vitaminen (z. B.: C, B₁, B₂, B₆) führen [14].

Die Hochdruckbehandlung (High Pressure Processing, HPP) ist eine alternative Konservierungsmethode, welche durch eine effiziente, nachhaltige Verfahrensweise [15] auch unterhalb von Raumtemperaturen [16] die Lagerfähigkeit von Nahrungsmitteln sicher und schonend verlängern kann [17,18]. Eine Vielzahl von verpackten Lebensmitteln, beispielsweise Früchte, Gemüse, Säfte, Fleisch oder Fisch, können bei Drücken von bis zu 6000 bar in häufig mit Wasser gefüllten Druckkammern konserviert werden [19,20]. Aufgrund der Erhaltung organoleptischer und nutritiver Eigenschaften können hochdruckbehandelte Produkte im Gegensatz zu ultra-prozessierten Lebensmitteln als minimal-prozessiert [21,22] bezeichnet werden. Das HPP-Verfahren ist ein Bestandteil des *clean-label*-Konzepts, welches unter anderem die Produktion und den Konsum von unprozessierten sowie minimal prozessierten Lebensmitteln ohne Zusatz von Konservierungsmitteln oder künstlichen Aromen vorsieht [23]. Ein Zusammenschluss von HPP-Vertreibern, Produzenten, Nichtregierungsorganisationen und Einzelhandel - das *Cold-Pressure Council* - veröffentlichte ein entsprechendes Siegel für den kommerziellen Handel mit hochdruckzertifizierten

Produkten [24,25].

Die Hochdruckbehandlung wurde bereits zu Einflüssen auf die allgemeine Lebensmittelmatrix, inklusive möglicher Effekte auf Proteine, Lipide und Kohlenhydrate untersucht [26]. Relativ instabile, hydrophile Lebensmittelinhaltsstoffe wie Vitamin C wurden bereits umfassend auf Druck- und Temperaturstabilitäten auch in gelagerten, hochdruckbehandelten Produkten überprüft [27–29]. Lipophile, bioaktive Pflanzenstoffe hingegen, zu welchen unter anderem die Carotinoide (z. B.: Provitamin A) und Tocochromanole (Vitamin E) gehören, wurden hinsichtlich einer Vielzahl an Einflussfaktoren bisher nur unzureichend untersucht. Dazu zählen beispielsweise die Wahl der Hochdruckanlage im Labor- oder Industriemaßstab, die Druck- und Haltezeiten, die Temperatur des druckübertragenden Mediums sowie die Zusammensetzung und die Vorbehandlung des Lebensmittels.

Für die Untersuchung von Carotinoiden und Vitamin E unter Hochdruck bietet sich die Wahl eines frischen, unprozessierten Lebensmittels an, welches sowohl ein breites Spektrum an Carotinoiden als auch Vitamin E beinhaltet. Grünkohl ist eine inzwischen übersaisonal beliebte Gemüseart aus der Pflanzengattung der Kreuzblütengewächse und beinhaltet eine Vielzahl bioaktiver Pflanzenstoffe, zu denen Carotine, Xanthophylle, Chlorophylle und Tocopherole zählen [30–34]. In Anbetracht einer noch ausstehenden wissenschaftlichen Definition eines „Superfoods“ wird Grünkohl bereits zunehmend als gesundes Lebensmittel mit gesundheitsfördernden Inhaltsstoffen in diesen Zusammenhang gebracht [35–38]. Weltweit wurde Grünkohl innerhalb der traditionellen Medizin beispielsweise für die Behandlung von Magengeschwüren, Rheumatismus und Lebererkrankungen eingesetzt [39,40]. Die erhöhte Zufuhr an Grünkohl wurde ebenso mit einer potentiellen Modulation des Krebsrisikos (u. a. Brust, Prostata und Lunge) durch die Regulation von xenobiotisch metabolisierenden Enzymen in Verbindung gebracht [41].

Angesichts eines anhaltenden, globalen Konsumbewusstseins für den Verzehr von minimal und nachhaltig prozessierten Lebensmitteln [42], eines positiven Trends für erhöhten Gemüsekonsum [43] und eines prozentual hohen Anteils hochdruckbehandelter Gemüseprodukte [44] ist die Untersuchung von Hochdruckeffekten auf bioaktive, lipophile Inhaltsstoffe in Grünkohl ein wichtiger Ansatz für den systematischen Aufbau weiterer Forschungsprofile bezogen auf komplexere Lebensmittelmatrizes.

1.1 Konservierung und Prozessierung

Die Ursprünge der Lebensmittelkonservierung gehen zurück auf erste Techniken der antiken Zivilisationen, um ein kurzzeitig überschüssiges Angebot an Nahrung für eine längere Verfügbarkeit zu erhalten [45]. Die Konservierung von Lebensmitteln kann grundsätzlich als Überbrückung unvorhersehbarer landwirtschaftlicher Produktionsprobleme dienen, erhöht jedoch auch die Wertschöpfung hinsichtlich prozessierter Produkte und sorgt für ein abwechslungsreicheres Angebot an Lebensmitteln [46]. Die Lebensmittelkonservierung umfasst somit individuelle Prozessierungsschritte, welche einen Einfluss auf wertbestimmende Inhaltsstoffe haben können. Eine Klassifizierung dieser Prozessparameter nach Monteiro *et al.* [47] ist in *Tabelle 1* von unprozessierten bis zu ultraprozessierten Produkten zusammengefasst.

Tab.1: Klassifizierung von Lebensmitteln basierend auf der Prozessierung, modifiziert nach [47].

Klassifizierung	Prozessierung	Beispiele
Unprozessiert oder minimal prozessiert	Keine Prozessierung oder überwiegend physikalisch	Frische, gekühlte, gefrorene, vakuumierte Früchte- und Gemüseprodukte
Kulinarische Prozessierung/ industrielle Zutaten	Extraktion oder Reinigung von Inhaltsstoffen für Herstellung von Speisen und Mahlzeiten	Butter, Sahne, Süßstoffe, Nudeln, Konservierungsmittel
Ultraprozessierte Produkte	Mögliche Mischung aus minimaler, kulinarischer und/oder industrieller Prozessierung für Produkte mit langer Haltbarkeit	Brot, Schokolade, Limonaden, Chips, Burger, eingelegter Fisch

Eine ähnliche Klassifizierung schlägt der sogenannte NOVA-Score vor, welcher eine Einteilung in unverarbeitete oder minimal verarbeitete Lebensmittel (NOVA 1), verarbeitete Küchenzutaten (NOVA 2), verarbeitete Lebensmittel (NOVA 3) sowie hochverarbeitete Nahrungsmittel und Getränke (NOVA 4) vorsieht [48]. Während der Grad der Prozessierung mit der Anwendung erhöhter Temperaturen wie beispielsweise bei der Hitzesterilisierung zunimmt, können alternative Techniken wie die Hochdruckbehandlung der Minimalprozessierung zugeordnet werden [49]. Eine weitere Einordnung von Lebensmitteln entsprechend des Grades der Verarbeitung sowie eine Bewertung und ein Vergleich gängiger Klassifizierungssysteme wurden innerhalb des 15. DGE-Ernährungsberichts veröffentlicht [5].

1.1.1 Ursachen des Lebensmittelverderbs

Die Qualität von Nahrungsmitteln kann durch verschiedene Prozesse negativ beeinflusst werden, während typische Qualitätsmerkmale durch die Sicherheit, Sensorik (Geschmack, Geruch, Farbe, Textur) und die Retention von Inhaltsstoffen beschrieben werden können [50].

Die Mechanismen des Lebensmittelverderbs können folgenderweise zusammengefasst werden [50,51]:

- Mikrobiell: Bakterien, Hefen, Schimmel/Sporen
- Chemisch: Enzymatisch (Bsp.: Lipoxygenase, Peroxidase), nicht-enzymatisch (Bsp.: Myoglobin-Oxidation)
- Physikalisch: Strukturelle Änderung (Bsp.: Emulsionstrennung), Lagertemperatur

Konservierungsmethoden dienen somit der Verderbsreduktion und höheren Lagerfähigkeit [46,52].

1.1.2 Konservierungsprozesse

Die thermische Pasteurisation und Sterilisation haben sich in der Lebensmittelindustrie gegenüber anderen Verfahren überwiegend aufgrund ihrer Effizienz und Produktsicherheit etabliert [53]. Dennoch existieren entsprechend der Anwendungsbereiche weitere Verfahren, welche in folgende Kategorien in *Abbildung 1* unterteilt werden können:

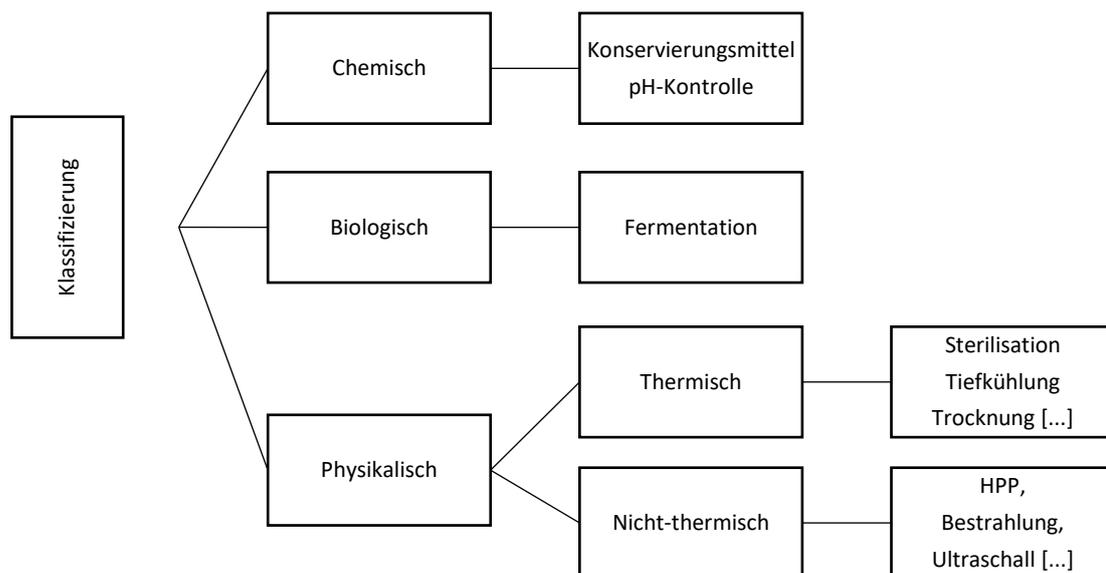


Abb.1: Einteilung der Konservierungstechniken nach Prozessführung, modifiziert nach [49,53,54].

Technische Fortschritte in der thermischen Konservierung konnten in der Vergangenheit effektiv gegen mikrobielle Kontaminationen eingesetzt werden und gleichzeitig den Verlust an Vitaminen reduzieren. Die Konservierung mit Hilfe der sogenannten HTST-Pasteurisation (High Temperature - Short Time) oder UHT-Sterilisation (Ultra-High Temperature) kann schonender im Vergleich zu der herkömmlich kommerziellen Sterilisation erfolgen [55]. Dennoch können thermisch behandelte Lebensmittel eine reduzierte Qualität bezüglich

frischer Aromen und Textur aufweisen [56]. Folglich wurden während der letzten Jahrzehnte alternative, nicht-thermische Methoden entwickelt, deren Bezeichnung auf die Hauptprozessparameter zurückgeht und welche für eine Zellinaktivierung verantwortlich sind [53].

1.1.3 Alternative Konservierungstechniken

Die Entwicklung und Anwendung nicht-thermischer Methoden repräsentiert einen aufstrebenden Industriezweig in der lebensmittelverarbeitenden Branche, mit dem Ziel den Nährstoffgehalt und sensorische Produkteigenschaften zu erhalten. Alternative Konservierungstechniken sind dabei die Hochdruckbehandlung; die Anwendung gepulster, elektrischer Felder; die Bestrahlung (z. B.: Gamma-, Röntgen- und Elektronenstrahlung), hochintensives gepulstes Licht; die Mikrowellenbehandlung; Hochleistungsultraschall; oszillierende magnetische Felder und gepulstes weißes Licht. Aufgrund der relativ geringen Prozesstemperaturen alternativer Konservierungstechniken hat sich die Bezeichnung „nicht-thermisch“ in der wissenschaftlichen Literatur etabliert. Allerdings handelt es sich genau genommen um Methoden, welche Lebensmittel gewöhnlich in einem Temperaturbereich zwischen 30-55 °C behandeln und somit labile Verbindungen und Pigmente schonend prozessieren können. [49,56] Während der Hochdruckbehandlung von Lebensmitteln mit einem hohen Wasseranteil ist mit einem Temperaturanstieg von circa 3 °C pro 100 MPa zu rechnen. Die entstehende Kompressionswärme ist abhängig von dem eingesetzten Fluid oder Lebensmittel. Für Pflanzenöl wurde ein Temperaturunterschied von bis zu 9 °C pro 100 MPa berichtet. Die Berücksichtigung der reversiblen, adiabatischen Temperaturdifferenz bei der Hochdruckbehandlung ist somit eine wichtige Größe für die Berechnung der finalen Prozesstemperatur [57].

1.2 Hochdruckbehandlung

Erste Zusammenhänge zwischen hydrostatischem Druck und Effekten auf Organismen wurden von *A. Certes* (1883) durch die Erforschung lebensfähiger Bakterien in einer Wassertiefe von 5100 m (ca. 50 MPa) berichtet. Lebensmittel wurden zum ersten Mal 1899 durch *B. H. Hite* hochdruckbehandelt, welcher eine Reduktion von Verderbsorganismen nach einer Druckanwendung berichtete. Kommerzielle HPP-Produkte waren erstmals auf dem japanischen Markt im Jahr 1990 erhältlich [58]. Seitdem hat sich die Hochdruckbehandlung innerhalb der alternativen Konservierungstechniken mit über 400 Anlagen weltweit und ca. 1,5 Millionen Tonnen behandelter Lebensmittel (Stand 2019) zu einer industriell bedeutenden Technik entwickelt. Der Hochdruckprozess ist für eine Vielzahl an Produkten möglich, besonders aber für Produkte mit einem hohen Wasseranteil und ohne Luftblasen innerhalb der Lebensmittelmatrix. Frucht- und Gemüsesäfte bestimmen einen wesentlichen Marktanteil

innerhalb der hochdruckbehandelten Erzeugnisse wie es in *Abbildung 2* ersichtlich ist [59]. Die Entwicklung von HPP-Technologien wurde durch mehrere Einflussfaktoren beschleunigt, zu welchen unter anderem auch akademische, unternehmerische und regulatorische Einrichtungen zählten. Auf amerikanischer und europäischer Ebene haben besonders die „Institute of Food Technologists (IFT) - Non-thermal division“ und die „European Federation of Food Science and Technology (EFFoST)“ in den späten 1990er Jahren zu einer beschleunigten Entwicklung der HPP-Technologie beigetragen. [60]

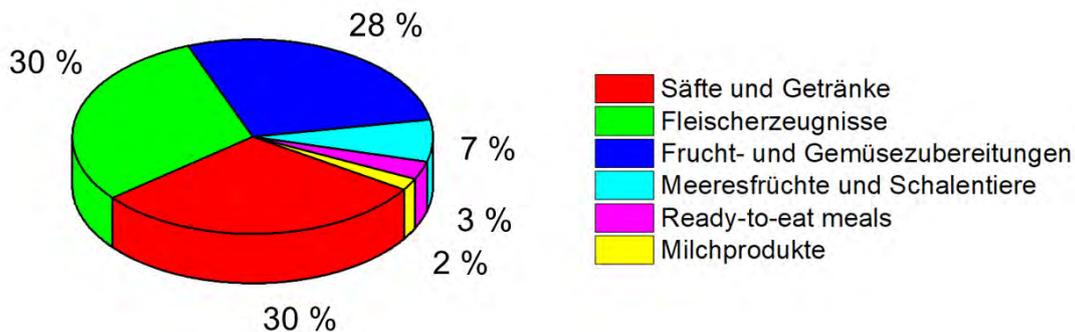


Abb.2: Marktanteile innerhalb hochdruckbehandelter Produkte (Stand 2019), modifiziert nach [59].

1.2.1 Aufbau und Betrieb von Hochdruckanlagen

Die klassische Hochdruckbehandlung von Lebensmitteln entspricht einem Chargen-Prozess. Dabei wird das zu behandelnde Produkt in einem Druckbehälter platziert, welcher mit einem Transmissionsfluid (z. B.: Wasser) befüllt wird. Um ein Ausdringen der Flüssigkeit zu vermeiden, wird die Druckkammer an beiden Enden verschlossen und der hydrostatische Druck über eine Verstärkerpumpe, welche mit einem Transmissionsfluid-Reservoir verbunden ist, erhöht [61,62]. *Abbildung 3* zeigt den typischen Aufbau einer Hochdruckanlage.

Als Verpackung für Lebensmittel sind Materialien geeignet, welche eine durch Kompression verursachte Reduktion des Volumens um ca. 15 % tolerieren und nach der Druckbehandlung in den ursprünglichen Zustand übergehen können, ohne Schäden bei Verschlussystemen aufzuweisen [63]. Flexible, mehrschichtige Polymermaterialien haben sich als besonders druckresistent erwiesen [64].

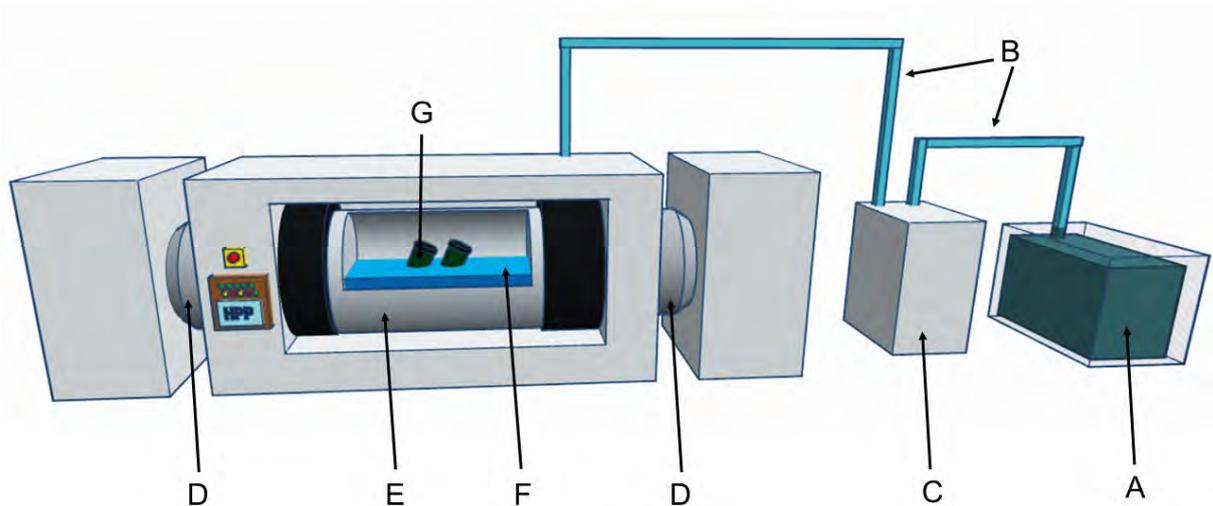


Abb.3: Aufbau einer klassischen Hochdruckanlage mit einem Reservoir für das Transmissionsfluid (A), Rohrleitungen für das Transmissionsfluid (B), einer Verstärkerpumpe (C), Verschlussvorrichtung (D), Druckkammer (E) mit Transmissionsfluid (F), dem verpackten Produkt (G).

Der Betrieb einer HPP-Anlage ist in verschiedenen Arten möglich, welche den Batchbetrieb, den kontinuierlichen und semi-kontinuierlichen Betrieb umfassen. Das Batchverfahren hat hierbei den Vorteil, dass sowohl flüssige, verpackte als auch feste Produkte behandelt werden können. Im (semi-)kontinuierlichen Betrieb hingegen müssen flüssige bzw. pumpfähige Produkte vorliegen. [65] Folglich werden die meisten kommerziellen Hochdruckanlagen im flexibleren Batchverfahren genutzt [63]. Die insgesamt benötigte Zeit für das Beladen, Verschließen, Komprimieren, Halten des Drucks, Dekomprimieren und Entladen wird als Zykluszeit (*engl.* cycle time) bezeichnet [66], mit einer Zykluszeit von 3 bis 8 Minuten [67]. Innerhalb der letzten Jahrzehnte wurden auch einzelne Effekte der Hochdruckbehandlung mit wiederholten Zyklen (*engl.* multi-cycle, multi-pulse) untersucht [68–74].

1.2.2 Konservierung mit Hochdruck

Die mikrobielle Inaktivierung durch die Hochdruckbehandlung ist abhängig von der Art der Mikroorganismen (Bakterien, Hefen, Schimmel), der Form (vegetative Zellen oder Sporen, Gram-positiv, Gram-negativ), der Gattung, der Spezies, dem Stamm und der Wachstumsphase. Als druckresistenter wurden Gram-positive Bakterien im Vergleich zu gram-negativen Bakterien, sowie Sporen verglichen mit vegetativen Zellen beschrieben. Hefen und Schimmel wurden als druckempfindlich berichtet. Wichtige Parameter für die Effektivität des HPP-Verfahrens sind Druck, Haltezeit und Temperatur. [75] Subletale Zellschäden wurden für niedrige Druckstufen zwischen 20 MPa und 180 MPa berichtet, eine letale Schädigung und Inaktivierung bei 200 MPa bis 400 MPa [59]. Die Verwendung letaler HPP-Parameter ist besonders wichtig, um eine Entwicklung von Druck- oder Stressresistenzen bzw. einsetzende Reparaturmechanismen während einer Lagerung bei Mikroorganismen nach lediglich

subletalen Schäden zu vermeiden [53]. Eine Kombination aus Druck- und Hitzebehandlung kann zu einer höheren Letalität gegenüber Mikroorganismen führen. Als Verfahren sind dafür der PATP- (Pressure-Assisted Thermal Processing) oder PATS- (Pressure-Assisted Thermal Sterilization) Prozess bekannt. Die Effektivität der HPP-Behandlung kann durch die Lebensmittelmatrix (z. B.: Proteine, Kohlenhydrate, Lipide, Mineralstoffe) über den sogenannten baroprotektiven Effekt reduziert sein. Auch eine Reduktion der Wasseraktivität zum Beispiel durch Zugabe von Zucker oder Salz kann die HPP-Effektivität reduzieren. Dabei wird von einer reduzierten Zellpermeabilität aufgrund einer geringeren Zellgröße ausgegangen. Ein niedriger pH-Wert ($\text{pH} < 4,5$) kann die HPP-Letalität für Mikroorganismen erhöhen. [75] Während von einer hohen Inaktivierung lebensmittelrelevanter Parasiten wie infektiöser Protozoen (z. B. Amöben) und Helminthen (z. B. Bandwurm) ausgegangen wird, liegen für eine abschließende Erklärung hinsichtlich lebensmittelrelevanter Viren (z. B. Norovirus, Rotavirus) noch nicht ausreichend Studiendaten vor [59].

1.2.3 Zelluläre und enzymatische Hochdruckeffekte

Die Integrität von pflanzlichen Zellen wird in der Regel anhand von Zellwänden, Membranen und Organellen bestimmt. In einem auf Spargelzellen basierenden Modell (*Abbildung 4*) konnte eine Druckbehandlung auf niedrigem Niveau (ca. 100 MPa) die allgemeine Zellform ändern und die Stabilität von Zellorganellen beeinflussen, ohne die Zellwand oder Membran zu beschädigen. Drücke von 200 - 300 MPa können eine irreversible Störung der Zellmembran und einen Verlust der Zellviabilität verursachen. Erhöhte Druckregime bis 600 MPa können die Zellwand deformieren oder zerstören und in einem vollständigen Verlust der Zellintegrität resultieren. [76] Die Störung der zellulären Strukturen wurde mit einer erhöhten Extrahierbarkeit von bioaktiven, sekundären Pflanzenstoffen [77] in Verbindung gebracht und kann folglich auch zu einer höheren Resorptionsverfügbarkeit [78] beitragen.

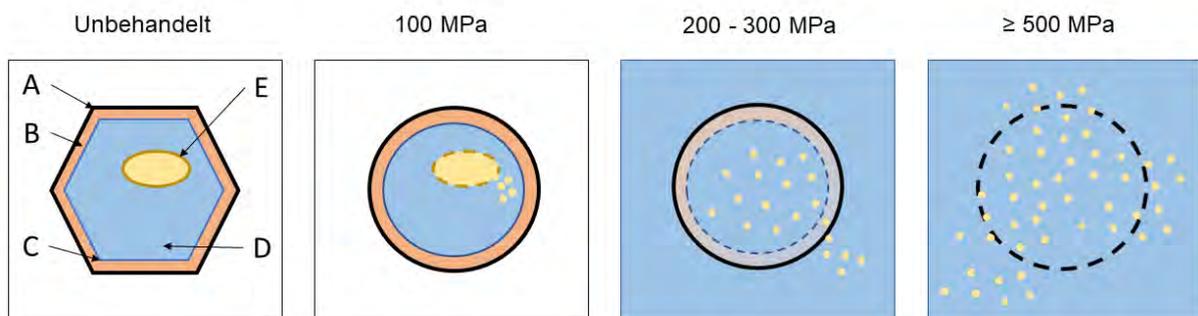


Abb.4: Schematische Darstellung von potentiellen mikrostrukturellen Änderungen an pflanzlichen Zellen durch den Einfluss einer Hochdruckbehandlung mit den Bestandteilen einer Zellwand (A), Pektin (B), Zellmembran (C), Zytosol (D) und den Zellorganellen (E), modifiziert nach [76].

Die Folgen der physikalisch verursachten Beeinflussung der Zellintegrität wurden als

potentielle Stressreaktionen in Pflanzenzellen beschrieben. Eine mögliche Reaktion ist die Biosynthese von sekundären Metaboliten wie Polyphenolen und Carotinoiden [79,80]. Hierzu wurde die Hypothese aufgestellt, dass eine HPP-bedingte Stressreaktion unmittelbar nach der Störung der Membranfunktion stattfindet und ATP-Moleküle aus den Zellen strömen, um an Membranproteinrezeptoren zu binden, gefolgt von einer Produktion von Signalmolekülen (z. B. reaktive Sauerstoffspezies, Ethylen, Jasmonsäure). Während der Zytosol-Diffusion können diese Signalmoleküle zu einer Aktivierung von Transkriptionsfaktoren des Sekundärmetabolismus' führen, welche einer Funktion der Wund-Stress-Reaktion ähneln können. Während einer späten Stressreaktion („late stress response“) ist eine Akkumulierung von sekundären Pflanzenstoffen möglich, welche einer Anpassung der Pflanze an abiotisch erzeugten Stress entsprechen kann [80–82]. Die Akkumulierung von bioaktiven, sekundären Pflanzenstoffen wurde in Abhängigkeit von der Druckhöhe, der Haltezeit und Lagerzeit beschrieben [83]. Eine bis zu 11-fach erhöhte Lycopin-Konzentration wurde beispielsweise für hochdruckbehandelte (< 100 MPa) und anschließend gelagerte Papaya ermittelt [84].

Neben bisher wenig untersuchten biosynthetischen Stressreaktionen bei reduzierten, hydrostatischen Drücken dient die Hochdruckbehandlung gewöhnlich der Inaktivierung von enzymatischen Prozessen, welche zu einem Qualitätsverlust der behandelten Ware führen können. Dazu zählen beispielsweise die Aktivitätsreduzierung oder Inaktivierung von Pektinesterase (PE) [85,86], Pektinmethylesterase (PME) [87], Peroxidase (POD) und Polyphenoloxidase (PPO) [88–90], Lipoxygenase (LOX) und Lipase (LIP) [91–93]. In hochdruckbehandelten Früchten und Gemüsearten können PME und PE zu einem Abbau der Zellwände und einer Änderung der Farbe sowie anderer organoleptischer Eigenschaften beitragen. Weitere Enzyme wie PPO und POD können Aroma- und Farbänderungen hervorrufen, während LOX am Lipidabbau beteiligt ist. [94] Die Einflüsse der Hochdruckbehandlung auf Proteine und Enzyme wurden bereits vor mehreren Jahrzehnten diskutiert [95–101] und sind weiterhin Bestandteil aktueller Forschung im Hinblick auf den Erhalt von bioaktiven, sekundären Pflanzenstoffen in hochdruckbehandelten Lebensmitteln [102]. Ein möglicher Grund hierfür kann die druck-, enzym-, und matrixabhängige Aktivierung von Prozessen sein, welche zu einem Abbau von wertbestimmenden Inhaltsstoffen führen können. Während PPO, POD und PME entsprechend der biologischen Matrix unter kommerziellen Hochdruckbedingungen (600 MPa) sehr resistent sein können, ist die Lipoxygenase drucksensitiver und zu einem höheren Prozentanteil deaktivierbar [103]. Ein qualitätsbestimmender Faktor in HPP-Produkten kann die LOX-katalysierte Co-Oxidation von Carotinoiden sein [104]. Eine erhöhte LOX-Aktivität um bis zu 120 % bei 200 MPa und 55 °C im Vergleich zu 0,1 MPa wurde für HP-prozessierte Erbsen berichtet [105]. Die Stabilisierung und Aktivierung von Enzymen unter Hochdruck- und Temperaturbedingungen wurde für

weitere Enzymklassen aus verschiedenen Matrices zusammengefasst [106].

1.3 Sekundäre, bioaktive Pflanzenstoffe

Der pflanzliche Metabolismus lässt sich in einen primären und einen sekundären Stoffwechsel einteilen. Während im Primärstoffwechsel essentielle Grundbausteine wie Kohlenhydrate, Fette und Aminosäuren synthetisiert werden, entstehen sekundäre Pflanzenstoffe als Metabolite im Sekundärstoffwechsel. [107] Die Produktion dieser Pflanzenstoffe steht in Abhängigkeit zu Pflanzenarten und Umwelteinflüssen wie biotischen oder abiotischen Stressfaktoren. Entsprechend können sekundäre Pflanzenmetabolite verschiedene Aufgaben, wie die Abwehr von Mikroorganismen und Herbivoren erfüllen sowie als Lockstoff für Insekten oder als Schutz vor UV-Strahlung dienen. [108] Der primäre und der sekundäre Stoffwechsel sind eng miteinander verbunden, da wenige primäre Biosynthesewege für die Produktion von bisher über 200.000 bekannten Pflanzenstoffen verantwortlich sind [109,110]. Eine chemisch-strukturelle Unterteilung der Sekundärmetabolite kann in Terpene, Alkaloide und Phenole vorgenommen werden. Terpene oder Terpenoide repräsentieren eine größere Gruppe mit über 50.000 bekannten Substanzen, zu welchen auch die Carotinoide gehören.

Bioaktive Verbindungen können aus dem Sekundärstoffwechsel stammen. Lebensmittelrelevante Substanzen haben mehrere Quellen und sind pflanzlichen, tierischen, bakteriellen oder pilzartigen Ursprungs. Allgemein werden bioaktive Verbindungen sowohl mit gesundheitsfördernden als auch schädlichen Eigenschaften in Zusammenhang gebracht, wobei häufig eine toxische Wirkung durch entsprechende Überdosierungen verursacht werden kann [111]. Therapeutische und protektive Wirkungen von bioaktiven Substanzen in Lebensmitteln hingegen wurden mit folgenden Eigenschaften beschrieben: antikanzerogen, antimikrobiell, antioxidativ, antithrombotisch, immunmodulierend, entzündungshemmend, blutdruckregulierend, verdauungsfördernd, sowie cholesterinspiegel-senkend [112]. Aufgrund einer Vielzahl möglicher Definitionen und Bedingungen für die Bioaktivität von Substanzen kann kurzgefasst von einer biologischen Aktivität einer Verbindung auf einen oder mehrere Komponenten eines lebenden Organismus ausgegangen werden [113]. Eine Einteilung bioaktiver Substanzen ist entsprechend der Auflistung in *Tabelle 2* möglich.

Tab.2: Klassifizierung von bioaktiven Substanzen in Lebensmitteln, modifiziert nach [114,115].

Klassifizierung	Vertreter von Lebensmitteln	Beispiel
Carotinoide	Früchte & Gemüse (grün, rot, orange, gelb)	(<i>all-E</i>)- β -Carotin
Flavonoide, Proanthocyanidine	Früchte & Gemüse, Sojaprodukte, Hülsenfrüchte, Tee, Kakao	Catechin
Glucosinolate, Isothiocyanate	Kreuzblütler (z. B.: Grünkohl, Brokkoli, Spinat, Wasserkresse)	Glucobrassicin
Lignane	Leinsamen, Leinsamenöl, Roggen	Globoidnan A
Monophenolische Alkohole	Olivenöl, Wein	Hydroxytyrosol
Monoterpene	Essentielle Öle (z. B.: Kräuter)	<i>D</i> -Limonen
Schwefelhaltige, organische Verbindungen	Lauch, Zwiebel, Knoblauch	Allicin
Phenolsäuren	Kaffee, Zerealien, Früchte, Gemüse	<i>p</i> -Cumarsäure
Pflanzensterole	Reis-,Sojabohnen- und Tallöl	Campesterol
Saponine	Quinoa, Sojaprodukte	Sojasaponin II
Stilbene	Trauben, Rotwein, Erdnüsse	Resveratrol
Tannine, hydrolisierbar	Früchte, Gemüse	Punicalagin

Eine weitere Einteilung von Pflanzenstoffen kann über die Betrachtung der Lipophilie erfolgen. Lipophile Lebensmittelinhaltsstoffe wurden allgemein durch einen Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten ($\log_{10}p_C > 0$) definiert und können in zwei Gruppen unterteilt werden, die Mikronährstoffe (*engl.* micronutrients) wie Vitamin A, D, E, K und verschiedene Klassen an Mikroinhaltsstoffen (*engl.* microconstituents) wie Carotinoide und Phytosterole. Fettlösliche Vitamine sowie Carotinoide und Phytosterole sind hochlipophil ($\log_{10}p_C > 7,6$) und könnten ähnlich zu Öl entsprechende Transportwege im gastrointestinalen Trakt teilen. [116]

1.3.1 Carotinoide

Die ersten Carotinoide wurden im frühen 19. Jahrhundert in Paprika (1817) entdeckt, gefolgt von der Strukturaufklärung und Funktion des (*all-E*)- β -Carotins (*Abbildung 5 A*) als Vorstufe zu Vitamin A in den 1930er Jahren (Nobelpreis 1938, *R. Kuhn*) [117,118].

Carotinoide gehören zu einer Gruppe von über 800 fettlöslichen Farbpigmenten, welche im Gegensatz zu Cyanobakterien, Algen, Pflanzen und einigen Pilzen nicht von Menschen oder Tieren biosynthetisiert werden können. Die Aufnahme von Carotinoiden erfolgt daher in der Regel über die Ernährung [119,120]. Strukturelle Unterschiede bestehen auch hinsichtlich der Polarität und Lipophilie zwischen sauerstoffhaltigen Xanthophyllen (z. B.: (*all-E*)-Lutein in

Abbildung 5 B) oder sauerstofffreien Carotinen als Kohlenwasserstoffe (z. B. β -Carotin, Lycopin). Funktionelle Gruppen in Xanthophyllen können in Form von Hydroxy-, Carbonyl-, Aldehyd-, Carboxyl-, Epoxid- und Furanoxidgruppen vorliegen. Weiterhin können Xanthophylle als Derivate von Fettsäureestern, Glycosidverbindungen und Sulfaten sowie innerhalb von Proteinkomplexen vorkommen. Der Großteil bekannter Carotinoide besteht aus einem C40-Grundgerüst mit einer Polyen-Kettenstruktur, während ebenso Substanzen mit C40 bis zu C50-Strukturen (höhere Carotinoide) sowie mit weniger als 40 Kohlenstoffatomen (Apocarotinoide) bekannt sind [121,122]. Carotinoide werden auch gemäß einer *E/Z*-Isomerie unterteilt. *Trans*-Isomere entsprechen dabei dem häufigsten natürlichen Vorkommen. *Cis*-Isomere entstehen vor allem durch Prozessierungsschritte wie die Hitzebehandlung, und können abweichende antioxidative Aktivitäten oder physikalische Eigenschaften (z. B.: Löslichkeit in Ölen) im Vergleich zu *trans*-Isomeren aufweisen. [123]

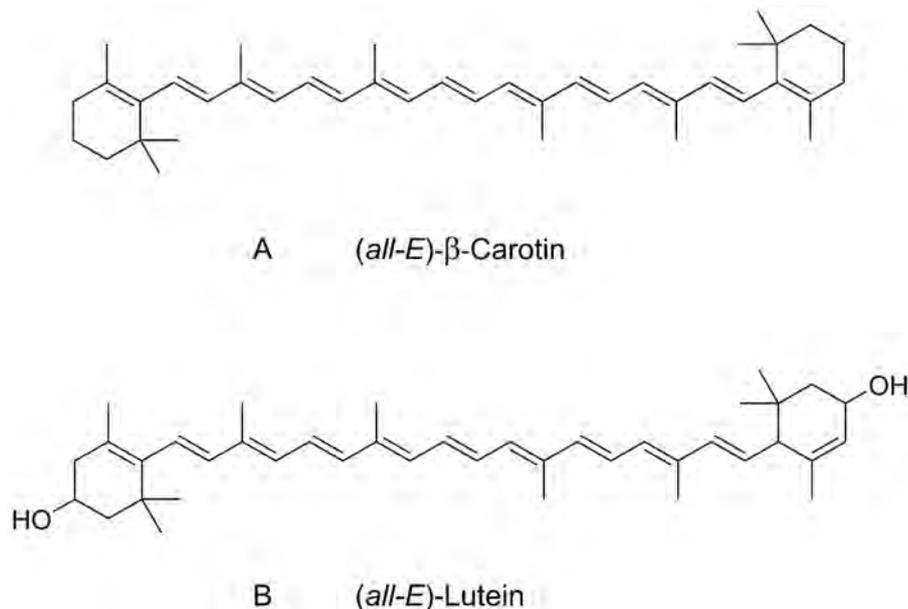


Abb.5: Chemische Strukturen von (*all-E*)- β -Carotin (A) und (*all-E*)-Lutein (B).

In Pflanzen erfüllen Carotinoide eine Vielzahl von Funktionen. Absorbiertes Licht aus dem blau-grünen Bereich des Lichtspektrums kann an Chlorophyll-Komplexe übertragen werden, um folglich einen vergrößerten Wellenlängenbereich und somit eine höhere Effektivität für photosynthetische Prozesse zu erreichen. Umgekehrt können Carotinoide aber auch photoprotektiv gegenüber Organismen bei übermäßiger Belichtung wirken. Hierbei erfolgt der Energietransfer von Chlorophyllkomplexen zu Carotinoiden. [124] Die typische Farbgebung von Carotinoiden (gelb bis rot) ist durch Absorption zwischen 400 nm und 550 nm begründet, welche in Abhängigkeit von der Anzahl der konjugierten Doppelbindungen in der Polyen-Kette steht [125,126]. In pflanzlichen Organellen können Carotinoide in Chromoplasten oder Chloroplasten als Kristalle, gelöste Substanzen in Lipidkörpern oder an Proteine sowie

Ballaststoffe gebunden vorliegen. Daher können die Effekte auf Carotinoide durch Prozessierungsschritte abhängig von der behandelten Lebensmittelmatrix sein. [76]

Ernährungsphysiologisch werden Carotinoide als antioxidative Therapeutika hinsichtlich der Prävention oder Reduzierung von Krankheitssymptomen bei Krebs, neurodegenerativen Erkrankungen (z. B.: Alzheimer), Augenerkrankungen, Diabetes und vielen gesundheitlichen Komplikationen diskutiert [127–129]. Adverse, prooxidative Effekte können jedoch auch mit der Supplementation durch β -Carotin zusammenhängen und das Risiko bestimmter Krebsarten beispielsweise bei Rauchern erhöhen [130,131]. Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) empfiehlt daher eine tägliche Höchstzufuhr von 3,5 mg β -Carotin über Nahrungsergänzungsmittel [132]. Mechanistisch beruht die antioxidative Wirksamkeit von Carotinoiden auf Quenching-Prozessen (physikalisch und chemisch). Insbesondere elektronenreiche Polyketten, welche beispielsweise hochreaktive Radikale resonanzstabilisieren, können Schäden durch oxidativen Stress in zellulärem Raum reduzieren. Zusätzlich können synergistische Effekte im Zusammenhang mit anderen Antioxidantien wie Vitamin C oder Vitamin E auftreten [133–135].

1.3.2 Vitamin E

Vor inzwischen über 100 Jahren (1922) wurde während der Anfänge der Vitamin- und Ernährungsforschung das Vitamin E als wichtiger Faktor für die Reproduktion von Ratten entdeckt sowie folgend in Salaten, Butter und Ölen nachgewiesen [136–139].

Vitamin E steht allgemein für eine Gruppe von acht fettlöslichen Verbindungen, welche in jeweils vier Tocopherole und vier Tocotrienole unterteilt werden können. Die chemische Struktur beider Verbindungsklassen ähnelt sich hinsichtlich einer Seitenkette mit 16 Kohlenstoffatomen, welche an Position 2 eines hydroxylierten Benzopyran-Systems gebunden ist. Während Tocopherole eine gesättigte Seitenkette besitzen, ist die entsprechende Phytylgruppe bei Tocotrienolen ungesättigt. Eine weitere Unterteilung ist in unterschiedliche, natürliche Vitamin E-Formen (α , β , γ , δ) möglich, welche von der Methylierungsposition am Benzopyran-Ring abhängig ist. Jedes der vier Tocopherol-Isomere besitzt jeweils drei Stereozentren an den Positionen 2, 4' und 8', wodurch nach der Cahn-Ingold-Prelog-Konvention 32 Tocopherol-Stereoisomere existieren. *Abbildung 6* verdeutlicht hierzu eine Übersicht zu Tocopherolen und Tocotrienolen in rechtsdrehender (dextral, *R*) Orientierung.

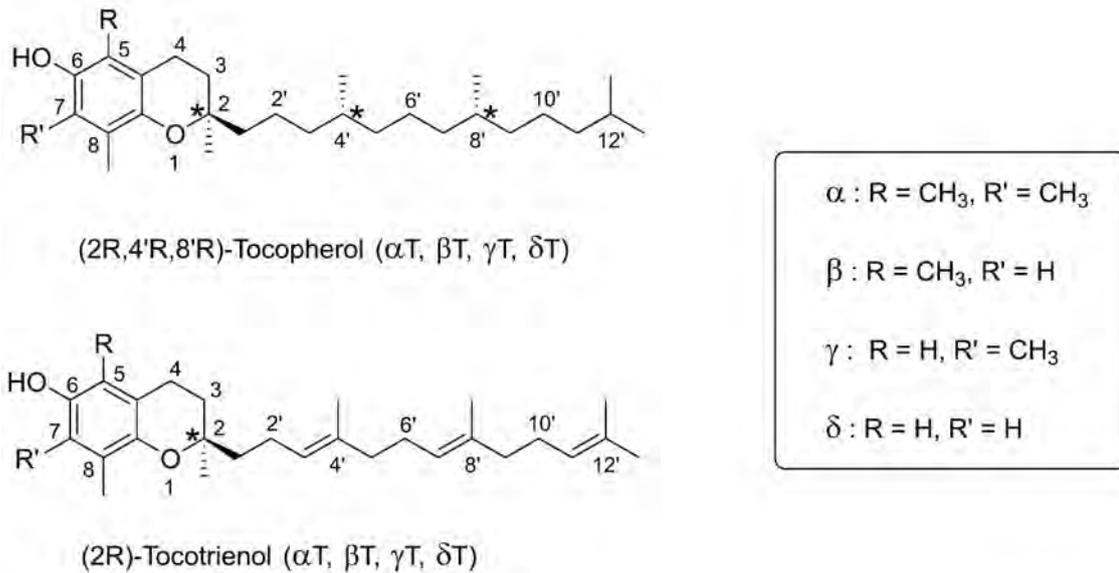


Abb.6: Chemische Strukturen von Tocopherolen und Tocotrienolen mit eingezeichneten Stereozentren (*) und funktionellen Gruppen der natürlichen Vitamin E-Formen, modifiziert nach [140].

Von Bedeutung ist die Stereoisomerie auch in Bezug auf die ernährungsphysiologisch bioaktive Wirkung. Angesichts der vergleichsweise hohen antioxidativen Kapazität von racemischem α -Tocopherol [141] wird diese Verbindung auch industriell synthetisiert. Die natürlich vorkommende Variante wird in Pflanzen jedoch nur in der (*RRR*)-Konfiguration (*Abbildung 6*) hergestellt, während die synthetische Variante in der Regel ein Racemat aus allen 8 Stereoisomeren (*RRR,RRS,RSS,RSR,SSS,SSR,SRS,SRR*) sein kann [142]. Die biologische Aktivität dieser Stereoisomere wurde in einem Rattenmodell (Resorption, Gestation) untersucht und zeigte unterschiedliche Aktivitäten mit dem Bezug auf (*RRR*)- α -Tocopherylacetat (100 %), beginnend mit dem (*RRS*)-Isomer (90 %) bis zu dem (*SSR*)-Isomer (21 %) [143]. Die erhöhte *in-vivo*-Aktivität von (*RRR*)- α -Tocopherol wird unter anderem mit einer vergleichsweise hohen Retention im Körper und der Selektivität für das hepatische α -Tocopherol-Transfer-Protein in Zusammenhang gebracht [144]. Ähnlich zu den Carotinoiden ist Vitamin E ein kettenbrechendes Antioxidans, welches als Singulett-Sauerstoff-Quencher agiert und die Lipidperoxidation reduzieren kann [145,146]. Weiterhin wird die Wechselwirkung mit anderen Antioxidantien wie Vitamin C angenommen, welche zu einer Regeneration von Tocopherol nach einer Oxidation durch Alkoxy- oder Peroxylradikale führen kann [147].

Innerhalb von *in-vitro*-Studien wurden erste Hinweise auf pro-oxidative Effekte durch Vitamin E generiert, welche von vorhandenen Reaktionspartnern abhängig sein können. Von prooxidativen Einflüssen wird derzeit ausgegangen, wenn hohe Vitamin-E-Konzentrationen folgenden Oxidationsprozessen durch reaktive Sauerstoffspezies unterliegen und nicht genügend Vitamin C für eine Regenerierung von Vitamin E vorliegt. [148,149] Adverse Effekte hinsichtlich eines signifikant erhöhten Prostata-Krebsrisikos wurden für die Supplementierung

mit Vitamin E bei gesunden Männern publiziert [150].

Eine tägliche Aufnahme von etwa 12-15 mg (*RRR*)- α -Tocopherol-Äquivalenten wird geschlechterspezifisch durch die Deutsche Gesellschaft für Ernährung empfohlen [151]. Das Bundesinstitut für Risikobewertung empfiehlt eine maximale Zufuhr von 30 mg Vitamin E pro Tag über Nahrungsergänzungsmittel [132].

1.4 Lipophile Resorptionsverfügbarkeit

Die Ernährung erfüllt heutzutage nicht mehr nur die Grundversorgung des Körpers, sondern übernimmt angesichts einer wachsenden Zahl neuer Essgewohnheiten oder Diätempfehlungen neue Funktionen. So entstand der Begriff der funktionellen Lebensmittel, welche basierend auf natürlichen oder zugesetzten bioaktiven Inhaltsstoffen gesundheitsfördernd sein können. [152] Bevor sich eine biologische Aktivität jedoch entfalten kann, ist die Aufnahme der Inhaltsstoffe über den Verdauungsapparat notwendig. Hierfür haben sich verschiedene Systeme, wie die Untersuchung der Resorptionsverfügbarkeit (*engl.* Bioaccessibility) und die Bioverfügbarkeit (*engl.* Bioavailability) etabliert. Die Resorptionsverfügbarkeit beschreibt den Anteil eines aufgenommenen Lebensmittelinhaltsstoffes, welcher nach dem Verdauungsprozess im Darm für eine weitere Absorption zur Verfügung steht. Die Bioverfügbarkeit hingegen beschreibt den Anteil des verdauten Inhaltsstoffs, welcher die systemische Zirkulation bzw. spezifische Organe erreicht, um eine bioaktive Wirkung zu entfalten. Die Resorptionsverfügbarkeit kann somit als Voraussetzung für die Bioverfügbarkeit betrachtet werden [153]. Die Lebensmittelmatrix als auch Prozessierungstechniken wie die Hochdruckbehandlung können einen Einfluss auf die Resorptionsverfügbarkeit von Inhaltsstoffen haben [154].

Der Ansatz der *in-vitro*-Methodik kann genutzt werden, um die Resorptionsverfügbarkeit zu untersuchen. Auch wenn Humanstudien (*in-vivo*) weiterhin als „Gold-Standard“ gegenüber *in-vitro*-Methoden gelten, hat die *in-vitro*-Simulation die Vorteile einer schnelleren, günstigeren, weniger arbeitsintensiven Methode ohne ethische Einschränkungen. Für die Nachbildung des humanen Verdauungsapparates wurden statische, semi-dynamische und dynamische Verdaumodelle entwickelt, um entweder in einem Reaktionsgefäß (statisch) oder über peristaltische Pumpen in mehreren Gefäßen (dynamisch) die verschiedenen Verdauungssysteme wie Mund, Magen, Dünndarm und Dickdarm zu simulieren. Ein internationaler Konsens für den *in-vitro*-Verdau von Lebensmitteln kann hierbei als Richtlinie für Studien dienen [155,156].

Aufgrund der unterschiedlichen Löslichkeit von lipophilen Carotinoiden und Vitamin E im Vergleich zu hydrophilen Lebensmittelinhaltsstoffen erfolgt die zelluläre Aufnahme über wasserlösliche Mizellstrukturen im Dünndarm [157]. Die Resorptionsverfügbarkeit von lipophilen Verbindungen wird daher in der Regel über die Konzentration des Inhaltsstoffs in

der Mizellphase des intestinalen Verdauapparats nach einem Zentrifugationsschritt bestimmt und kann in das prozentuale Verhältnis zu der Konzentration in dem Rückstand gesetzt werden. [158,159] Eine Berechnung der Resorptionsverfügbarkeit einer Verbindung kann entsprechend der *Gleichung 1* erfolgen.

$$\text{Resorptionsverfügbarkeit} = \frac{[\text{Mizellphase}]}{[\text{Mizellphase} + \text{Rückstand}]} \times 100 \% \quad (\text{Gl. 1})$$

Zusätzlich kann die Bestimmung der Wiederfindungsrate in dem *in-vitro*-Verdaumodell Informationen zu der Stabilität der untersuchten Verbindungen liefern und gegebenenfalls als Korrekturfaktor für die Resorptionsverfügbarkeit genutzt werden. Die Wiederfindungsrate kann über folgende *Gleichung 2* durch das Einbeziehen der Verbindungskonzentration in der unverdauten Probe bestimmt werden.

$$\text{Wiederfindungsrate} = \frac{[\text{Mizellphase} + \text{Rückstand}]}{[\text{Unverdaute Probe}]} \times 100 \% \quad (\text{Gl. 2})$$

1.5 Lipophile, antioxidative Kapazität

Die chromatographische Analytik von sekundären, bioaktiven Pflanzenstoffen erfasst häufig nicht alle antioxidativ wirksamen Verbindungen in komplexen Lebensmittelzusammensetzungen. Die Extraktion, Aufreinigung und Untersuchung aller einzelnen Inhaltsstoffe wäre zeitlich, finanziell und im Hinblick auf mögliche Wechselwirkungen zwischen Antioxidantien nicht effektiv und würde die antioxidative Kapazität (AOK) als Summenparameter der untersuchten Probe nicht vollständig widerspiegeln. Problematisch sind die Definition und Entwicklung einer Methodik für die Bestimmung einer gesamten antioxidativen Kapazität (*engl. Total Antioxidant Capacity, TAC*) aufgrund vieler Faktoren wie zum Beispiel:

- Vielzahl möglicher Radikalspezies
- Hydrophile und lipophile Substanzen oder Extrakte
- AOK-Tests basierend auf mehreren Mechanismen und Oxidationsmitteln [160].

Eine Einteilung der AOK-Testsysteme kann nach Reaktionsmechanismen erfolgen. Dazu zählen der Ein-Elektronen-Übergang (*engl. Single Electron Transfer, SET* oder *ET*) sowie der Wasserstoffatom-Übergang (*engl. Hydrogen Atom Transfer, HAT*) [161]. Zahlreiche Methoden wurden für die Untersuchung der antioxidativen Kapazität von hydrophilen Substanzen bzw. Extrakten entwickelt, wie der TEAC-Test (*engl. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) und der ORAC-Test (*engl. Oxygen Radical Antioxidant Capacity*) sowie zahlreiche weitere Testsysteme [162]. Aufgrund der Unterschiedlichkeit der zugrunde liegenden Mechanismen von AOK-Assays ist eine Verwendung mehrerer Methoden sinnvoll [163]. Eine Unterbewertung der AOK von komplexen Proben ist im Vergleich zu dem ORAC-Assay

Fluorescein-Abbau inhibieren oder verzögern. Mit dem ORAC-Assay wird folglich die Funktion eines Antioxidans' als Wasserstoffatom-Donor gegenüber Peroxylradikalen gemessen und entspricht folglich einem HAT-Test. Die Fläche unter der Fluoreszenz-Abklingkurve in Anwesenheit eines Antioxidans dient im Vergleich zu einem Blank-Versuch (ohne Antioxidans) als Messgröße, und ist somit ein Indikator für die kettenbrechende Kapazität innerhalb einer Radikalkettenreaktion [174]. Der lipophile ORAC-Assay (L-ORAC) wurde für die Untersuchung von fettlöslichen Antioxidantien unter Verwendung von beispielsweise Methyl- β -Cyclodextrin als Lösungsvermittler in einer wässrigen Umgebung entwickelt. Methylierte Cyclodextrine sind zyklische Kohlenhydrate mit einer räumlichen Anordnung von Glukose-Molekülen, welche einen lipophilen Hohlraum und eine hydrophile Außenseite ermöglicht [175]. Fettlösliche Moleküle können entsprechend der Struktur, funktionellen Gruppen und Größe in dem lipophilen Hohlraum eingelagert werden, und mit Peroxylradikalen in einem wässrigen Milieu reagieren. *Abbildung 8* fasst den Mechanismus schematisch zusammen.

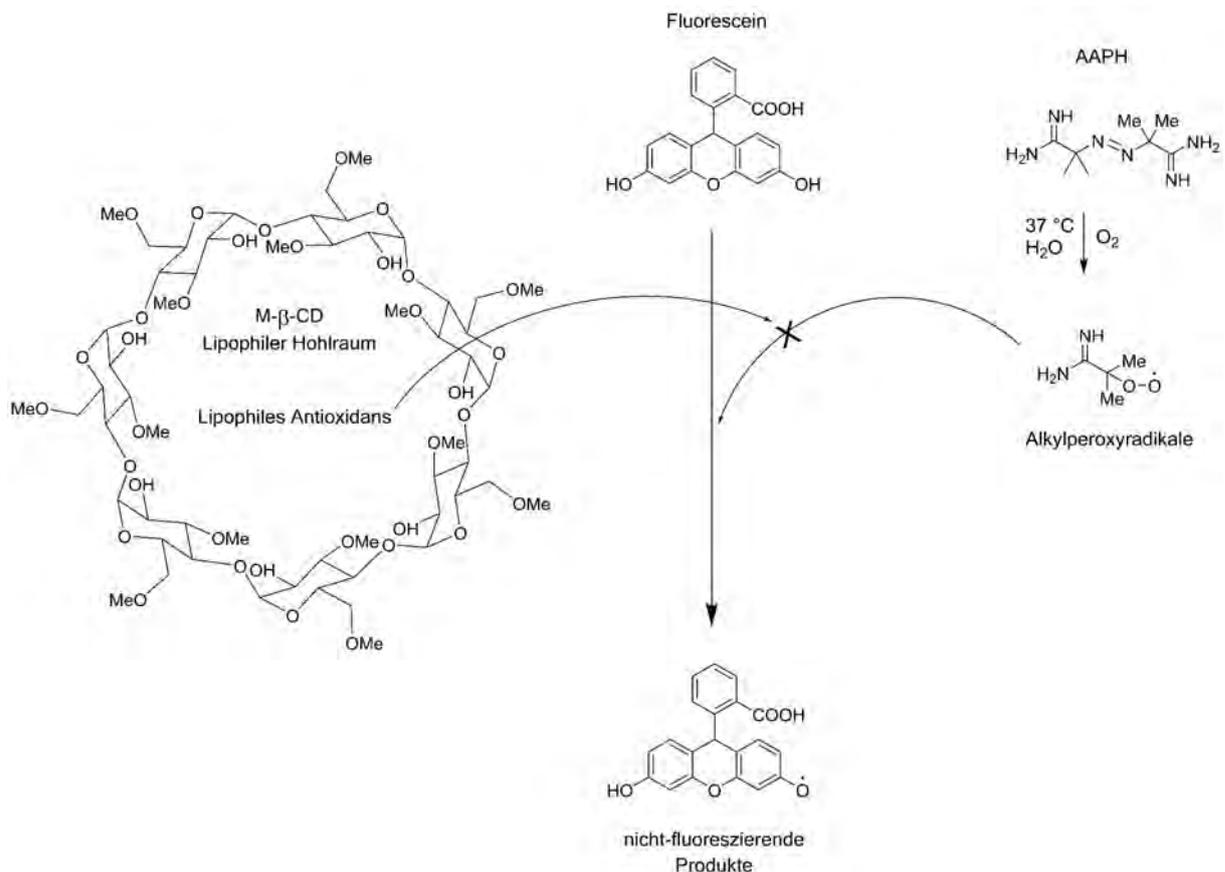


Abb.8: HAT-basierter ORAC-Assay mit Abstraktion eines Wasserstoffatoms von Fluorescein durch Alkylperoxyradikale von dem wasserlöslichen Azo-Radikalinitiator (AAPH). Lipophile Antioxidantien können durch methylierte Cyclodextrine (M- β -CD) in ein wässriges Milieu eingebracht werden und den Abbau von Fluorescein bzw. den Verlust an Fluoreszenzintensität inhibieren oder verlangsamen [176,177].

2 Zielstellung

Weltweit nimmt unter Konsumenten das Bewusstsein für gesundheitsbezogene Aspekte der Ernährung zu. „Gesund“ bezieht sich dabei nicht nur auf eine nachhaltige Anbauweise, sondern auch auf eine schonende Konservierungsmethode für den Erhalt wertbestimmender Inhaltsstoffe. Die minimale Prozessierung mit Hilfe alternativer, nicht-thermischer Techniken kann einen kommerziellen Produktbereich ergänzen, in welchem frische Lebensmittel unter Erhalt organoleptischer Eigenschaften länger haltbar sind. Die Hochdruckbehandlung ist ein schonendes Verfahren, welches somit der Nachfrage von Konsumenten auf dem Markt nachkommt als auch den Verlust oder vorzeitigen Verderb von frischen Produkten reduziert, ohne mit etablierten, thermischen Prozessen für die Langzeitkonservierung direkt zu konkurrieren. Während Prozessparameter für konventionelle Hitzebehandlungen von Nahrungsmitteln historisch belegt sind, können die Einflüsse der Hochdruckbehandlung auf Inhaltsstoffe von Lebensmitteln matrix- und parameterabhängig sein. Besonders lipophile, bioaktive, sekundäre Pflanzenstoffe sind hinsichtlich der Hypothese einer schonenden Hochdruckbehandlung unzureichend untersucht.

Die Zielstellung der vorliegenden Dissertation bestand darin, den Einfluss der Hochdruckbehandlung auf Carotinoide, Vitamin E und Chlorophylle zu untersuchen. Die Aufgabe war, einen Zusammenhang zwischen Hochdruckhaltezeiten, Druckregimen, Druck- und Temperatur-Kombinationen und der Retention von Inhaltsstoffen in Grünkohl zu ermitteln. Die vorliegende Dissertation soll damit auch einen Beitrag zur Beurteilung der Bedeutung der Hochdruckbehandlung im Vergleich zu einer konventionellen Hitzesterilisierung leisten. Die Skalierung einer Laboranlage auf Pilot- und Industrieanlagen sollte ebenso Erkenntnisse möglicher Effekte einer Probenvorbehandlung leisten. Niedrigdruck-Applikationen dienen der Untersuchung von biosynthetischen Prozessen für eine Anreicherung von bioaktiven Pflanzenstoffen vor der Hochdruckbehandlung. Die Untersuchung der Grünkohlproben war geplant vor und nach den Behandlungsschritten über eine lösungsmittelbasierte Extraktion und anschließende Untersuchung mit Hochleistungsflüssigkeitschromatographie, gekoppelt an eine Diodenarray- und Fluoreszenzdetektion. Weiterhin sollte die Ermittlung von Hochdruckeffekten auf die lipophile, antioxidative Kapazität erfolgen. Die Resorptionsverfügbarkeit sollte zusätzlich zu der Extrahierbarkeit in einem *in-vitro*-Modell untersucht werden. Zelluläre Effekte der Hochdruckbehandlung innerhalb der Grünkohlmatrix wurden mittels Fluoreszenzmikroskopie ermittelt.

3 Übersicht der Manuskripte

Manuskript I

High-Pressure Processing of Kale: Effects on the Extractability, In Vitro Bioaccessibility of Carotenoids & Vitamin E and the Lipophilic Antioxidant Capacity

Schmidt M., Hopfhauer S., Schwarzenbolz U., Böhm V.

Antioxidants **2021**, 10(11), 1688; doi: 10.3390/antiox10111688

Annahme: 22.10.2021

Das Ziel dieser Untersuchung bestand darin, methodische Grundlagen für die Untersuchung der Hochdruckbehandlung von Grünkohl zu etablieren und die Einflüsse von Druckparametern (Haltezeit, Druckregime) auf bioaktive, sekundäre Pflanzenstoffe in Grünkohl zu ermitteln. Für die Identifizierung und Quantifizierung von Carotinoiden, Chlorophyll a/b und Vitamin E erfolgte die Entwicklung eines Extraktionsprotokolls und einer HPLC-Methode mit Diodenarray-Detektion für die simultane Analytik von Xanthophyllen und Carotinen. Weiterhin wurden methodische Parameter für die Untersuchung der Resorptionsverfügbarkeit mit Hilfe eines *in-vitro*-Verdaumodells und der antioxidativen Kapazität durch die photometrischen *in-vitro*-Assays α TEAC und L-ORAC optimiert. Grünkohlpüree-Proben wurden in einer Hochdrucklaboranlage mit hydrostatischen Drücken (200 MPa-600 MPa) und Haltezeiten von 5-40 min behandelt. Im Vergleich zu unbehandelten Proben korrelierte eine Druckerhöhung mit einer signifikanten Reduktion ($p < 0,05$) der Extrahierbarkeit von Carotinoiden, Vitamin E und Chlorophyllen, während für die Erhöhung der Haltezeiten innerhalb der einzelnen Druckstufen höhere Extrahierbarkeiten ermittelt wurden. Im Gegensatz zu den Extrahierbarkeiten wurde ein moderater Anstieg ($p \geq 0,05$) der Resorptionsverfügbarkeiten von (*all-E*)-Lutein, (*all-E*)- β -Carotin und (*all-rac*)- α -Tocopherol in Folge erhöhter Druckparameter und Haltezeiten ermittelt. Erste Hinweise auf einen Einfluss der Probenvorbehandlung und einer anschließenden Hochdruckbehandlung ergaben die Untersuchung von grob zerkleinertem Grünkohl im Gegensatz zu einem Püree. Sowohl der α TEAC-Test als auch der L-ORAC-Assay zeigten signifikant erhöhte antioxidative Kapazitäten im Zusammenhang mit höheren Druckstufen und verlängerten Haltezeiten.

Manuskript II

High pressure processing and heat sterilization of kale: Impact on extractability, antioxidant capacity and storability of carotenoids and vitamin E

Schmidt M., Hopfhauer S., Schwarzenbolz U., Böhm V.

Applied Research **2022**, 1(4), e202200025; doi: 10.1002/appl.202200025

Annahme: 02.06.2022

Das Ziel dieses Projektes bestand in der systematischen Erweiterung der bereits gewonnenen Erkenntnisse über den Einfluss einzelner Hochdruckparameter auf bioaktive, lipophile Pflanzenstoffe in Grünkohl. Insbesondere sollte der Zusammenhang des schonenden Charakters der Hochdruckbehandlung im Vergleich zur Hitzesterilisation hergestellt werden und zugleich die Lagerstabilität von druckbehandelten sowie thermisch behandelten Grünkohlproben untersucht werden. Eine Zerkleinerung der Grünkohlmatrix erfolgte im Gegensatz zur pürierten Untersuchungsmatrix aus Manuskript I in Form zerhackter Proben in Anlehnung an konventionell konservierte Produkte. Im Fokus dieses Projektes standen industriell relevante HPP-Parameter (600 MPa, 5 min) mit zusätzlich verlängerten Haltezeiten bis zu 40 min in einer Hochdrucklaboranlage. Die Dampfsterilisation erfolgte bei 121 °C für 20 min (2 bar). Die Untersuchung der Lagerfähigkeit wurde für zwei Monate bei 5 °C durchgeführt. Gegenstand der analytischen Methoden waren die Ermittlung antioxidativer Kapazitäten (α TEAC, L-ORAC) sowie die Gehalte an Carotinoidverbindungen, Vitamin E und Chlorophyll. Die Hochdruckbehandlung mit verlängerten Haltezeiten von Grünkohl resultierte in signifikant erhöhten Gesamtcarotinoid- und Chlorophyllgehalten im Gegensatz zu einer Reduktion der Vitamin E-Gehalte. Keine signifikante Änderung ($p \geq 0,05$) der Extrahierbarkeit von Vitamin E wurde in dampfsterilisierten Proben ermittelt, während reduzierte Konzentrationen ($p < 0,05$) an Carotinoiden und Chlorophyllen in thermisch behandelten Proben beobachtet wurden. Die antioxidativen Kapazitäten erhöhten sich signifikant mit der Verlängerung der Haltezeiten. Die Dampfsterilisation resultierte in einer erhöhten antioxidativen Kapazität nur innerhalb des L-ORAC-Assays. Unter industriell relevanten Parametern erwies sich die Hochdruckbehandlung als schonendere Konservierungsmethode hinsichtlich der Gehalte an bioaktiven, lipophilen Pflanzenstoffen. Eine höhere Lagerstabilität der untersuchten Verbindungen wurde nach zwei Monaten jedoch in dampfsterilisierten Proben beobachtet. Die Konservierungsmethoden der Hochdruckbehandlung und Dampfsterilisation können diesbezüglich als komplementär betrachtet werden.

Manuskript III

Effect of Hydrostatic Pressure and Temperature on Extractability and Bioaccessibility of Lipophilic Micronutrients in Kale

Schmidt M., Hopfhauer S., Schneider F., Ivanovic J., Schwarzenbolz U., Böhm V.

ACS Food Science & Technology **2023**, 3(6), 1122-1135.;

doi:10.1021/acsfoodscitech.3c00117

Annahme: 08.05.2023

Erkenntnisse aus Untersuchungen in Manuskript II führten zu der Vermutung, dass die druckunterstützte, thermische Behandlung eine potentielle Alternative zur konventionellen Hochdruckbehandlung und thermischen Sterilisation ist. Das Ziel dieser Arbeit bestand unter anderem darin, die Effekte der Haltezeit (5 min), des Drucks (600 MPa) und Temperatur (40-80 °C) auf lipophile, bioaktive Pflanzenstoffe in Grünkohl unter Verwendung einer Pilot-HPP-Anlage zu untersuchen. Die konventionelle Dampfsterilisation wurde dem HPP-Prozess in einer Laboranlage hinsichtlich der Druckabhängigkeit gegenübergestellt. Weiterhin wurde mit einer industriellen HPP-Anlage eine Hochskalierung der behandelten Probenmenge unter kommerziell relevanten Hochdruck-Parametern (10 °C, 600 MPa, 5 min) und Mehrfachzyklen untersucht. Des Weiteren diente die Druckbehandlung von Grünkohl in einer Labor-HPP-Anlage bei Niedrigdruck (10-100 MPa) der Überprüfung einer Anreicherung von sekundären Pflanzenstoffen durch mögliche biosynthetische Prozesse innerhalb der behandelten Matrix als Reaktion auf abiotischen Stress (z. B. Hochdruck). Lichtmikroskopische Untersuchungen sollten weitere Erkenntnisse zu zellulären Druckeffekten (10-600 MPa) liefern. Die Extrahierbarkeit von Vitamin E erhöhte sich innerhalb von Niedrigdruck-Experimenten signifikant ($p < 0,05$) um bis zu 105 % (10 MPa) und 102 % (50 MPa). HPP-Mehrfachzyklen zeigten keine statistisch signifikante ($p \geq 0,05$) Konzentrationsänderung im Vergleich zur einfachen Druckbehandlung. Die druckunterstützte, thermische Behandlung von Grünkohl erwies sich als schonender insbesondere bezüglich der Chlorophyllgehalte im gegenüber Dampfsterilisation. Eine erhöhte Resorptionsverfügbarkeit von Vitamin E, Lutein und β -Carotin wurde in PATP-prozessierten Grünkohlproben (80 °C, 600 MPa) ermittelt. Die Erhöhung der Druckstufen bis zu 600 MPa resultierte in höheren lipophilen, antioxidativen Kapazitäten vergleichend zu unbehandelten und dampfsterilisierten Proben. Hochdruckeffekte wurden bezüglich der Chloroplastenstruktur und des Durchmessers von Plastoglobuli (Lipidkörper) beobachtet.

4 Manuskripte

4.1 Manuskript I

Titel des Manuskriptes: High-Pressure Processing of Kale: Effects on the Extractability, In Vitro Bioaccessibility of Carotenoids & Vitamin E and the Lipophilic Antioxidant Capacity

Autoren: Schmidt M., Hopfhauer S., Schwarzenbolz U., Böhm V.

Bibliographische Informationen: *Antioxidants* **2021**, 10(11), 1688;
doi: 10.3390/antiox10111688

Der Kandidat / Die Kandidatin ist (bitte ankreuzen)

Erstautor/-in, Ko-Erstautor/-in, Korresp. Autor/-in, Koautor/-in.

Status: Publiziert

Anteile (in %) der Autoren / der Autorinnen an den vorgegebenen Kategorien der Publikation

Autor/-in	Konzeptionell	Datenanalyse	Experimentell	Verfassen des Manuskriptes	Bereitstellung von Material
Schmidt M.	35 %	90 %	90 %	80 %	25 %
Hopfhauer S.	5 %	5 %	5 %	5 %	0 %
Schwarzenbolz U.	25 %	0 %	5 %	5 %	50
Böhm V.	35 %	5 %	0 %	10 %	25 %
Summe:	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %

4.2 Manuskript II

Titel des Manuskriptes: High pressure processing and heat sterilization of kale: Impact on extractability, antioxidant capacity and storability of carotenoids and vitamin E

Autoren: Schmidt M., Hopfhauer S., Schwarzenbolz U., Böhm V.

Bibliographische Informationen: *Applied Research* **2022**, 1(4), e202200025;
doi: 10.1002/appl.202200025

Der Kandidat / Die Kandidatin ist (bitte ankreuzen)

Erstautor/-in, Ko-Erstautor/-in, Korresp. Autor/-in, Koautor/-in.

Status: Publiziert

Anteile (in %) der Autoren / der Autorinnen an den vorgegebenen Kategorien der Publikation

Autor/-in	Konzeptionell	Datenanalyse	Experimentell	Verfassen des Manuskriptes	Bereitstellung von Material
Schmidt M.	40 %	70 %	60 %	80 %	25 %
Hopfhauer S.	10 %	25 %	35 %	5 %	0 %
Schwarzenbolz U.	10 %	0 %	5 %	5 %	50 %
Böhm V.	40 %	5 %	0 %	10 %	25 %
Summe:	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %

4.3 Manuskript III

Titel des Manuskriptes: Effect of Hydrostatic Pressure and Temperature on Extractability and Bioaccessibility of Lipophilic Micronutrients in Kale

Autoren: Schmidt M., Hopfhauer S., Schneider F., Ivanovic J., Schwarzenbolz U., Böhm V.

Bibliographische Informationen: *ACS Food Sci. Technol.* **2023**, 3(6), 1122-1135;
doi: 10.1021/acsfoodscitech.3c00117

Der Kandidat / Die Kandidatin ist (bitte ankreuzen)

Erstautor/-in, Ko-Erstautor/-in, Korresp. Autor/-in, Koautor/-in.

Status: Publiziert

Anteile (in %) der Autoren / der Autorinnen an den vorgegebenen Kategorien der Publikation

Autor/-in	Konzeptionell	Datenanalyse	Experimentell	Verfassen des Manuskriptes	Bereitstellung von Material
Schmidt M.	30 %	80 %	65 %	65 %	20 %
Hopfhauer S.	10 %	10 %	20 %	5 %	10 %
Schneider F.	5 %	5 %	5 %	5 %	10 %
Ivanovic J.	15 %	0 %	5 %	10 %	20 %
Schwarzenbolz U.	10 %	0 %	5 %	5 %	20 %
Böhm V.	30 %	5 %	0 %	10 %	20 %
Summe:	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %

5 Diskussion

Die Hochdruckbehandlung kann in Abhängigkeit von der Wahl der Parameter und der Matrix eine alternative und schonende Konservierungsmethode sein. Insbesondere die Wahl der Lebensmittelmatrix und der Verarbeitungszustand vor der Prozessierung mit Hochdruck können einen wesentlichen Einfluss auf den Erhalt von qualitätsbestimmenden Merkmalen haben. Folglich bietet sich die Untersuchung einzelner Produktkomponenten wie Gemüsesorten hinsichtlich des Einflusses der Hochdruckbehandlung auf lipophile Inhaltsstoffe an, bevor komplexere Zusammensetzungen untersucht werden. Neben mikrobiologischen und enzymatischen Prozessen kann die grundlegende Untersuchung der Extrahierbarkeit, antioxidativen Kapazität und Resorptionsverfügbarkeit von Carotinoiden und Vitamin E sowie Chlorophyllen ein wesentlicher Indikator für die Charakterisierung eines schonenden Konservierungsprozesses sein. Insbesondere die Gehalte an temperatursensitiven, bioaktiven Verbindungen wie Carotinoiden und Chlorophyllen können durch eine alternative Hochdruckprozessierung parameterabhängig zu einem ernährungsphysiologischen Werterhalt eines Lebensmittels beitragen und werden unter anderem nachfolgend diskutiert.

5.1 Einfluss von Hochdruck auf den Gehalt lipophiler Inhaltsstoffe und das Carotinoid-Profil

Carotinoide

Die Gehalte und Vorkommen von Carotinoiden können zwischen einzelnen Pflanzenspezies [178] und auch in Abhängigkeit von der Kultivierung [179] sowie der Jahreszeit [180] variieren. Alle in den Manuskripten I-III ermittelten Carotine und Xanthophylle bestätigen die bereits veröffentlichten Carotinoidmuster aus Grünkohlspezies [32,181,182]. Aufgrund einer unterschiedlichen Einlagerung von Carotinoid-Verbindungen in verschiedenen pflanzlichen Spezies (Proplastid, Etioplastid, Amyloplastid, Chloroplast, Chromoplast) [183], können Hochdruckeffekte beispielsweise in Karotten zu anderen Ergebnissen führen als in Spinat- oder Kohlsorten .

Innerhalb der Hochdruckbehandlung eines Grünkohlpürees mit einer HPP-Laboranlage (Manuskript I) wurde eine signifikante Reduktion des Gesamtcarotinoidgehalts um bis zu 20,3 % nach einer fünfminütigen Behandlung (600 MPa) im Vergleich zu unbehandelten Proben ermittelt. Innerhalb eines Vergleichs zwischen den Druckstufen 200 MPa und 600 MPa mit einer Haltezeit von fünf min wurde ein Zusammenhang zwischen einer Druckerhöhung und dem Verlust an Gesamtcarotinoiden beobachtet. Die Betrachtung des Carotinoidprofils zeigte höhere Verluste für die Hauptkomponenten (*all-E*)- β -Carotin von 17,2 % und (*all-E*)-Lutein mit

21,2 %. Im Gegensatz dazu erhöhten sich die Extrahierbarkeiten von (*all-E*)-Zeaxanthin (4,2 %) und (15*Z*)- β -Carotin (42,5 %) bei gleichzeitiger Reduktion der Gehalte an (9*Z*)/(13*Z*)- β -Carotin. Aufgrund der Komplexität der Grünkohlmatrix ist eine Zuordnung potentieller Isomerisierungsprozesse, welche entweder zu erhöhten oder reduzierten Gehalten beitragen können, bezüglich der Hochdruckbehandlung nicht eindeutig vorzunehmen. Verluste an Carotinoidgehalten können auf Oxidationsprozesse zurückzuführen sein und ebenso einem enzymatischen Abbau unterliegen. Insbesondere Hitze, Licht und die Anwesenheit von Sauerstoff können in der konventionellen Lebensmittelkonservierung zu einem Abbau von Carotinoiden durch Oxidation beitragen [184–186]. Insbesondere die thermische Behandlung kann eine reversible Isomerisierung von *E*-Isomeren zu *Z*-Isomeren induzieren [187]. Zusätzlich ist jedoch auch eine allgemeine Erhöhung der Extrahierbarkeit durch eine Störung zellulärer Strukturen möglich [76], welche folglich mit einem Carotinoidverlust konkurrieren kann. Eine Erhöhung der Extrahierbarkeit von Carotinoiden wie Lycopin von bis zu 75,9 % in Ethanol wurde aufgrund einer *Z*-Isomerisierung berichtet [188]. Die Carotinoidkonzentration kann auch durch enzymatische Abbauprozesse wie einer über Lipoxygenase vermittelten Co-Oxidation sinken [104,189]. Lipoxygenase gilt bei Raumtemperatur als druckstabil, weshalb von einer vollständigen Inaktivierung während der Hochdruckbehandlung nicht ohne Berücksichtigung weiterer Parameter wie der Temperatur oder dem pH-Wert ausgegangen werden kann [190,191]. Häufig wurde der Effekt der Hochdruckbehandlung auf bioaktive Inhaltsstoffe wie Carotinoide als gering oder nicht-signifikant beschrieben [184]. Ebenso wurden signifikant erhöhte Extrahierbarkeiten in verschiedenen, druckbehandelten Lebensmittelzubereitungen veröffentlicht, welche jedoch durch eine entsprechende Obst- und Gemüsesorte beeinflusst sein kann [192]. Die in Manuskript I untersuchten und nach Hochdruckbehandlungen reduzierten Carotinoid-Extrahierbarkeiten sind in Folge bereits beschriebener, möglicher Abbauprozesse im Kontext des derzeitigen Stands der Literatur interpretierbar. Aufgrund einer Erhöhung der Temperatur von circa 3 °C pro 100 MPa während der Hochdruckbehandlung kann eine Reduktion des Carotinoidgehalts eine Folge thermischer Einflüsse sein [193]. Kim *et al.* [194] berichteten einen verringerten Carotinoidgehalt in Folge einer Druckerhöhung nach der Behandlung eines Kaki-Safts, ermittelten jedoch einen entgegengesetzten Effekt der Haltezeitverlängerung im Vergleich zu Manuskript I. Möglicherweise bestätigt sich dabei die Vermutung des Einflusses der Probenmatrix hinsichtlich eines Kaki-Safts (Kim *et al.* [194]) im Vergleich zu einem Grünkohl-Püree (Manuskript I).

Ein potentieller Einfluss der Probenmatrix wurde in Manuskript II deutlich. Grünkohl wurde innerhalb dieser experimentellen Reihe gehackt und nicht als Püree vorbereitet. Für die Hochdruckbehandlung wurde dieselbe HPP-Laboranlage verwendet wie in Manuskript I. Die

Verlängerung der Druckhaltezeiten bei 600 MPa innerhalb von Manuskript II bestätigten bereits die in Manuskript I ermittelten Einflüsse dieses Parameters hinsichtlich einer Erhöhung der Extrahierbarkeit des Gesamtcarotinoidgehalts innerhalb eines Druckregimes. Die signifikante Erhöhung der extrahierten Gesamtcarotinoide bei 600 MPa (Manuskript II) im Vergleich zu der unbehandelten Grünkohlprobe steht jedoch im Kontrast zu einer signifikanten Reduktion bei 600 MPa, beschrieben in Manuskript I. Dieser Unterschied könnte durch die Freisetzung der Carotinoide in den extrazellulären Raum während der Herstellung des Grünkohlpürees und mehrere, simultan ablaufende Abbauprozesse während oder nach der Hochdruckbehandlung zu erklären sein. Die entsprechenden Proben in Manuskript II lagen als gehackte Matrix vor. Daher ist von einem höheren Anteil intakter Zellstrukturmerkmale auszugehen, welche zeitgleich einen schützenden Effekt ausüben können. Als Folge der Hochdruckbehandlung kann eine Erhöhung des Gesamtcarotinoidgehaltes in Manuskript II folglich in Übereinstimmung mit der Literatur durch eine Störung der zellulären Integrität begründet werden [195]. Ein signifikanter Carotinoidverlust von 67,0 % nach der Lagerung von hochdruckbehandeltem Grünkohl (600 MPa, 10 min) für acht Wochen bei 5 °C bestätigte, dass es sich bei der Hochdruckbehandlung unter den gewählten Bedingungen um eine komplementäre Konservierungstechnik handelt und eine zusätzlich thermische Prozesskomponente die Lagerfähigkeit erweitern kann [196]. Eine separate Diskussion der Lagerfähigkeit erfolgt hierzu in *Abschnitt 5.4*.

Die Kombination aus Hochdruck und Temperatur wurde folglich in Manuskript III untersucht und durch die Untersuchung von Niederdruck-Anwendungen (<200 MPa) sowie gepulsten Druckexperimenten (bis zu 3 Zyklen) ergänzt. Änderungen der Carotinoidgehalte wurden nach dem PATP-Verfahren (druckunterstützte thermische Pasteurisation), Niederdruckverfahren und der gepulsten HPP-Variante in Abhängigkeit von den genutzten Parametern ermittelt.

Eine Veränderung des Carotinoidmusters in einem Grünkohl-Püree wurde besonders in den Niederdruckbereichen unterhalb von 200 MPa beobachtet, welche unter Verwendung einer HPP-Laboranlage (analog zu Manuskript I & II) untersucht wurden. Eine signifikante Reduktion der Carotinoid-Konzentration wurde dabei insbesondere für (*all-E*)-Violaxanthin bei einem verwendeten Druck von 10 MPa und 50 MPa (10 min) ermittelt. Im Kontrast dazu erhöhten sich die Gehalte von (*all-E*)- β -Carotin, (9Z)/(13Z)- β -Carotin und (*all-E*)-Zeaxanthin im Zusammenhang mit verlängerten Druckhaltezeiten bis zu 40 min (10-50 MPa). Eine Veränderung des β -Carotin-Isomerenmusters, beispielsweise eine Erhöhung des Z-Isomerenanteils bei gleichzeitiger Reduktion des E-Isomergehalts, konnte bei Niederdruck nicht beobachtet werden. Die hierbei entstandenen Ergebnisse stehen im Kontext eines noch wenig erforschten Druckbereichs unterhalb von 100 MPa. Für lebensmitteltechnologische Zwecke (z. B. Konservierung) ist dieser Anwendungsbereich derzeit noch weniger relevant, weil

Mikroorganismen unter reduziertem Druck und bei kurzen Haltezeiten im Vergleich zu einer Produktlagerung unter Niedrigdruck [197] nicht effektiv deaktiviert werden können. Die Erhöhung einzelner Carotinoidgehalte kann mit einer *de-novo*-Carotinoid-Biosynthese zusammenhängen. Die Hochdruckbehandlung wurde diesbezüglich bereits als möglicher Auslöser für oxidativen Stress in Papayafrüchten beschrieben [84]. Darin wurde die Phytoen-Desaturase-Genexpression nach einer milden Druckbehandlung hochreguliert. Eine *de-novo*-Carotinoid-Biosynthese kann in diesem Zusammenhang eine Stressantwort auf die Hochdruckbehandlung sein [198]. Auch für polyphenolische Verbindungen wurde bereits ein druckinduzierter Biosyntheseweg postuliert [199]. Im Gegensatz zu einer möglichen Biosynthese von Carotinoiden bei Drücken unterhalb von 200 MPa stehen ermittelte Carotinoid-Gesamtgehalte bei einer Behandlung mit 100 MPa und Haltezeiten bis 10 min. Innerhalb dieser Parameter wurden die niedrigsten Carotinoidgehalte in einem Grünkohl-Püree mit einer HPP-Laboranlage über den gesamten Druckbereich von 10 - 600 MPa ermittelt. So werden unter Bedingungen mit 100 MPa enzymatische Abbauprozesse angenommen, welche zu einem signifikanten Verlust an Carotinoiden im Vergleich zu unbehandelten Proben beitragen können. Besonders kann eine Co-Oxidation von Carotinoiden durch eine druckaktivierte Lipoxygenase (LOX) als mögliche Ursache für diese Gehaltsreduktion verantwortlich sein [104,191]. Ein zuvor diskutierter Abbau von Carotinoiden unter Hochdruck bis 600 MPa wurde im Vergleich zu Manuskript I auch innerhalb von Experimenten aus Manuskript III mit einer HPP-Laboranlage und Grünkohlpüree beobachtet. Daher verstärkt sich die Vermutung, dass die Probenvorbehandlung, wie das Pürieren (Manuskript I & III) oder Hacken von Grünkohlproben (Manuskript II) einen Einfluss auf die Carotinoid-Gehalte in hochdruckbehandeltem Grünkohl haben kann.

Weiterhin wurden in Manuskript III aus den Untersuchungen eines Grünkohlpürees mit einer HPP-Pilotanlage Zusammenhänge zwischen Druck- und Temperaturparametern deutlich. Signifikant erhöhte Extrahierbarkeiten wurden dabei nur für eine Hochdruckbehandlung bei 600 MPa (10 °C) sowie für eine Temperaturkontrolle bei 40 °C ohne Druckbehandlung im Vergleich zur unbehandelten Probe ermittelt. Zwischen einer Temperaturkontrolle (40 °C) und der Hochdruckbehandlung (600 MPa) bei 10 °C wurde kein signifikanter Unterschied der Carotinoidextrahierbarkeiten festgestellt. Hieraus kann angenommen werden, dass sowohl eine Druckerhöhung bei reduzierter Temperatur als auch eine Temperaturerhöhung ohne Druckanwendung zu vergleichbaren Konzentrationsänderungen führt. Während die Kombination aus 600 MPa (40 °C) und einer Temperaturkontrolle (60 °C) ohne Druckanwendung in keiner signifikanten Änderung der Carotinoidkonzentration resultierte, wurde ein vergleichbar hoher Verlust an Gesamtcarotinoiden zwischen den Parametern 600 MPa (60 - 80 °C) und der Kontrollprobe ohne Druckparameter bei 80 °C ermittelt. Aufgrund

nicht signifikanter Unterschiede zwischen PATP-Proben (600 MPa, 60 - 80 °C) und einer Temperaturkontrolle bei 80 °C kann angenommen werden, dass der Einfluss von Hochdruck bei erhöhten Temperaturen bezüglich des Verlusts an Gesamtcotinoiden vernachlässigbar und der Abbau der Verbindungen überwiegend auf die erhöhte Temperatur zurückzuführen sein kann. In Anbetracht einer generellen Erhöhung der Temperatur um 3 °C pro 100 MPa und einer damit verbundenen finalen Temperatur von ca. 98 °C nach Verwendung von 600 MPa und 80 °C als Starttemperatur kann das PATP-Verfahren im Vergleich zu den nicht signifikant unterschiedlichen Carotinoidgehalten bei einer Temperaturkontrolle (80 °C) mit einem schonenden Konservierungscharakter beschrieben werden. Die Ergebnisse zum Einfluss von Hochdruck und Temperatur (Manuskript II) stehen im Kontext der derzeitigen Literatur. Hochdruck in Kombination mit niedrigen Temperaturen (600 MPa, 10 °C) sowie Temperaturbehandlungen unter milden Bedingungen (40 °C) ohne Druckparameter können folglich im Zusammenhang mit einer erhöhten Extrahierbarkeit von Carotinoiden durch eine Störung der zellulären Integrität stehen. Die Hochdruckbehandlung kann die zelluläre Permeabilität ändern und für das Austreten von Wasser, Enzymen und Metaboliten aus dem Zellinneren verantwortlich sein [200,201]. Der Einsatz von erhöhten Temperaturen über 60 °C kann zu einem signifikanten Verlust von hitzelabilen, bioaktiven Verbindungen wie Carotinoiden führen [202].

Die Anwendung von gepulsten oder zyklischen Hochdruckbehandlungen (Manuskript III) mit bis zu drei Wiederholungen resultierte in leicht erhöhten, aber nicht signifikant geänderten Carotinoidkonzentrationen im Vergleich zur Hochdruckbehandlung mit nur einem Zyklus. Für kommerzielle Anwendungen oder die potentielle Erhöhung von Carotinoidgehalten ist die Zyklentechnik daher nicht attraktiv und spiegelt die derzeit noch geringe Verwendung der gepulsten HPP-Methodik wider. Für die Verlängerung der Lagerungsfähigkeit durch eine Deaktivierung von Mikroorganismen und die Beeinflussung enzymatischer Prozesse in Produkten kann eine Zyklen-HPP-Anwendung jedoch vorteilhaft sein. [68,72]

Vitamin E

In Analogie zu anderen lipophilen, bioaktiven Pflanzenstoffen können Gehalte und Vorkommen von Vitamin E-Isomeren in unterschiedlichen Pflanzenspezies variieren [203]. Alle Angaben zu Vorkommen und Gehalten an Tocopherolen aus den Manuskripten I-III stehen im Kontext bereits veröffentlichter Studien über Grünkohl und verwandter Spezies [204,205].

In Manuskript I konnte ein Verlust an (*all-rac*)- α -Tocopherol von bis zu 60,0 % im Vergleich zu einer unbehandelten Probe auf den Transport eines Grünkohlpürees von der *Friedrich-Schiller-Universität Jena* zu dem Ort der Hochdruckbehandlung (*Technische Universität Dresden*) zurückgeführt werden. Die in Folge reduzierten Vitamin-E-Gehalte von

hochdruckbehandelten Proben sind daher nicht ausschließlich auf das HP-Verfahren zurückzuführen. Im Gegensatz zu Transporteinflüssen auf den Tocopherolgehalt in einem Grünkohlpüree, wurden erhöhte Extrahierbarkeiten ($p < 0,05$) von Vitamin E insbesondere bei 600 MPa im Vergleich zu einer Druckstufe bei 200 MPa ermittelt. Eine Verlängerung der Haltezeiten auf bis zu 40 min resultierte bei 400 MPa und 600 MPa in einer signifikant erhöhten Extrahierbarkeit im Vergleich zum Tocopherolgehalt bei 200 MPa (5-40 min). Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu einer zuvor veröffentlichten Arbeit zur Hochdruckbehandlung eines Spinatpürees, in welcher eine Reduktion der Vitamin E-Konzentration in Folge einer Haltezeitverlängerung berichtet wurde [206]. Ein direkter Vergleich mit vorliegenden Ergebnissen aus Manuskript I ist jedoch nur erschwert möglich, weil das Spinatpüree aus einem tiefgefrorenen Ausgangsmaterial stammte. Das Grünkohlpüree in Manuskript I wurde aus frischem, unbehandeltem Grünkohl erzeugt.

Ein Verlust an Vitamin E während eines Transportprozesses könnte auf einen gegenüber Carotinoid-Verbindungen antioxidativen, protektiven Effekt von Tocopherolen zurückzuführen sein [207]. Reduzierte Tocopherolkonzentrationen wurden auch in dem Zusammenhang mit hochdruckbehandelten Saft-Milch-Zubereitungen berichtet. [208] Eine erhöhte Extrahierbarkeit bei 400-600 MPa im Vergleich zu 200 MPa könnte in Manuskript I durch eine Störung der Membranstruktur innerhalb von Pflanzenzellen [209] hervorgerufen worden sein. Infolgedessen wäre eine erhöhte Freisetzung von Plastiden möglich, welche mit der Vitamin-E-Biosynthese in Verbindung gebracht werden kann [210].

Ein Transporteinfluss auf den Vitamin-E-Gehalt wurde auch innerhalb einer Hochdruckstudie in Manuskript II mit einem Verlust von 42,0 % im Vergleich zu unbehandeltem Grünkohl festgestellt. Der Unterschied des Tocopherolabbaus während eines Transportes zwischen Manuskript I (Grünkohlpüree) und Manuskript II (gehackter Grünkohl) könnte mit der Art der Probenvorbehandlung zusammenhängen und der damit verbundenen, unterschiedlichen Freisetzung von Vitamin E in die extrazelluläre Matrix. Ein signifikanter Verlust von (*all-rac*)- α -Tocopherol wurde in Manuskript II für die Druckparameter 400 und 600 MPa (10-40 min) wiederholt beobachtet und bestätigte veröffentlichte Ergebnisse zu Tocopherolgehalten in hochdruckbehandeltem Spinat [206]. Einen schützenden Effekt auf Vitamin E könnte eine noch intaktere Zellstruktur in gehacktem Grünkohl gegenüber Grünkohlpüree ausgeübt und infolgedessen zu einem geringeren Verlust an (*all-rac*)- α -Tocopherol in Manuskript II im Vergleich zu Manuskript I geführt haben (*Abbildung 9*). Hinsichtlich eines höheren Redoxpotentials von Carotinoiden gegenüber Vitamin E [211] könnte ein Tocopherolverlust in gehacktem Grünkohl nach der Hochdruckbehandlung auch auf einen antioxidativ wirksamen Effekt zurückzuführen sein.

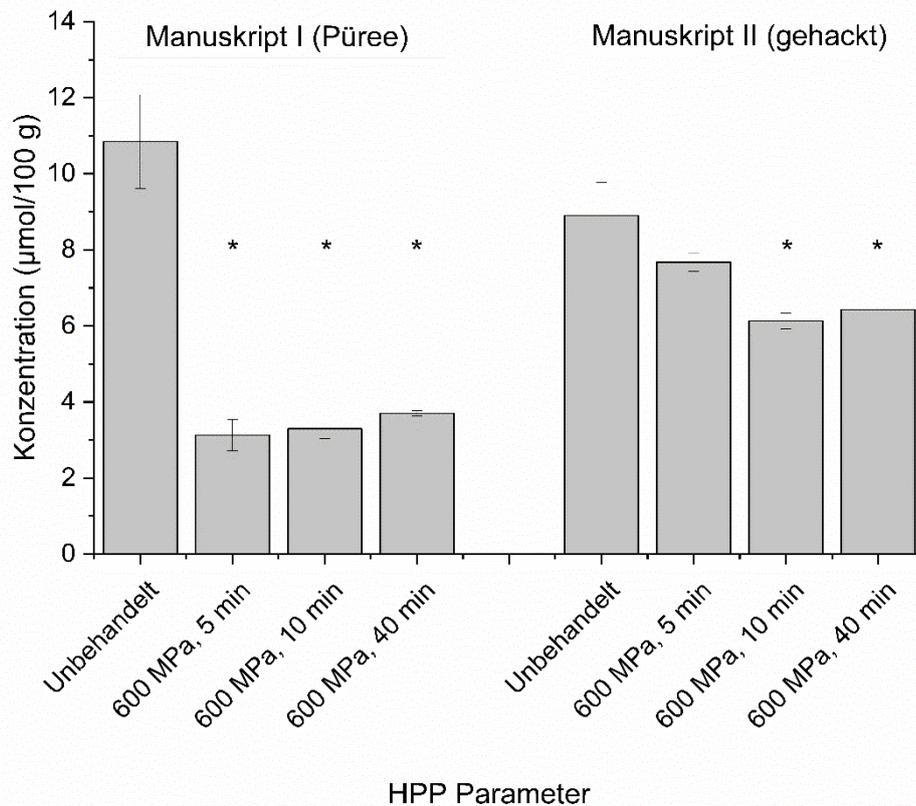


Abb.9: Einfluss der Hochdruckbehandlung bei 600 MPa und der Haltezeitverlängerung (5-40 min) auf den Vitamin-E-Gehalt in Grünkohlpüree (Manuskript I) und gehacktem Grünkohl (Manuskript II) unter Verwendung einer HPP-Laboranlage. Einfaktorieller ANOVA-Test mit Tukey-HSD post-hoc-Test; Balken mit Stern indizieren einen signifikanten Unterschied ($p < 0,05$) zwischen unbehandelten und druckbehandelten Proben.

In Manuskript III erfolgte die Untersuchung von Vitamin E im Hinblick auf Druckeffekte mit reduzierten Drücken (HPP-Laboranlage), mit Druck-Temperaturkombinationen (HPP-Pilotanlage) und Druckzyklen (industrielle HPP-Anlage).

Im Vergleich zu den Manuskripten I und II konnte wiederholt beobachtet werden, dass innerhalb einer verwendeten HPP-Laboranlage die Vitamin-E-Gehalte in Abhängigkeit von der Druckstufe und Haltezeit einer signifikanten Reduktion unterliegen können. Insbesondere wurde der Effekt einer leicht erhöhten Extrahierbarkeit von (*all-rac*)- α -Tocopherol durch die Verlängerung der Haltedauer auf 40 min innerhalb der Druckregime von 400 MPa und 600 MPa im Vergleich zu einer fünfminütigen Behandlung und im Vergleich zu Manuskript I bestätigt. Ein signifikant negativer Transporteinfluss wurde im Vergleich zu Manuskript I und Manuskript II nicht ermittelt. Die Proben wurden unter Tiefkühlung transportiert. Unerwartet hohe Extrahierbarkeiten von Vitamin E resultierten aus Niedrigdruckexperimenten in den Druckregimen von 10 MPa (+ 105,0 %) und 50 MPa (+ 102,0 %) mit einer verlängerten

Haltezeit von 40 min. Hinsichtlich einer Argumentation zu Zellstrukturen bei Hochdruck über 400 MPa, welche häufig als Begründung für Konzentrationserhöhungen genutzt wird, kann in einem Niederdruckbereich nicht von Effekten durch Zellschäden ausgegangen werden. Folglich können signifikant gesteigerte Tocopherolgehalte im Niederdruckbereich ein Hinweis für biosynthetische Prozesse sein, welche bereits für Carotinoide berichtet wurden [84]. Eine potentielle Biosynthese von Vitamin E könnte in Zusammenhang mit dem Methylerythritolphosphatweg oder dem Shikimisäureweg innerhalb von Plastoglobuli oder Chloroplastenmembranen stehen [212–214].

Der Einfluss einer Druck- und Temperaturkombination mit bis zu 600 MPa und 80 °C zeigte in Manuskript III einen entgegengesetzten Trend der Extrahierbarkeit von Vitamin E im Vergleich zu den untersuchten Carotinoiden auf (*Abbildung 10*). Höhere Druckregime und Temperaturstufen resultierten in erhöhten Konzentrationen an (*all-rac*)- α -Tocopherol, während unter denselben Bedingungen ein signifikanter Carotinoid-Abbau zu beobachten war. Die vergleichsweise höhere thermische Stabilität von Vitamin E gegenüber Carotinoiden könnte erklären, warum eine Druck- und Temperaturerhöhung mit einer erhöhten Tocopherol-Extrahierbarkeit korreliert und wurde bereits für erhitzte Gerste (120 °C, 8 h) [215], dampfsterilisierten Grünkohl (120 °C, 20 min, Manuskript II), α -Tocopherol in Öl aus Reiskleie (180 °C, 144 h) [216] sowie für PATP-behandelte Milch bei 75 °C und 705 MPa [217] veröffentlicht.

In Analogie zu den Untersuchungen des Einflusses von gepulster HPP auf Carotinoide zeigte sich keine industrielle Relevanz für eine erhöhte Vitamin-E-Konzentration nach dreifacher Hochdruckbehandlung (600 MPa, 5 min, 10 °C). Eine signifikante Erhöhung resultierte ausschließlich nach einer zweifachen Druckbehandlung im Vergleich zu einer unbehandelten Grünkohlprobe.

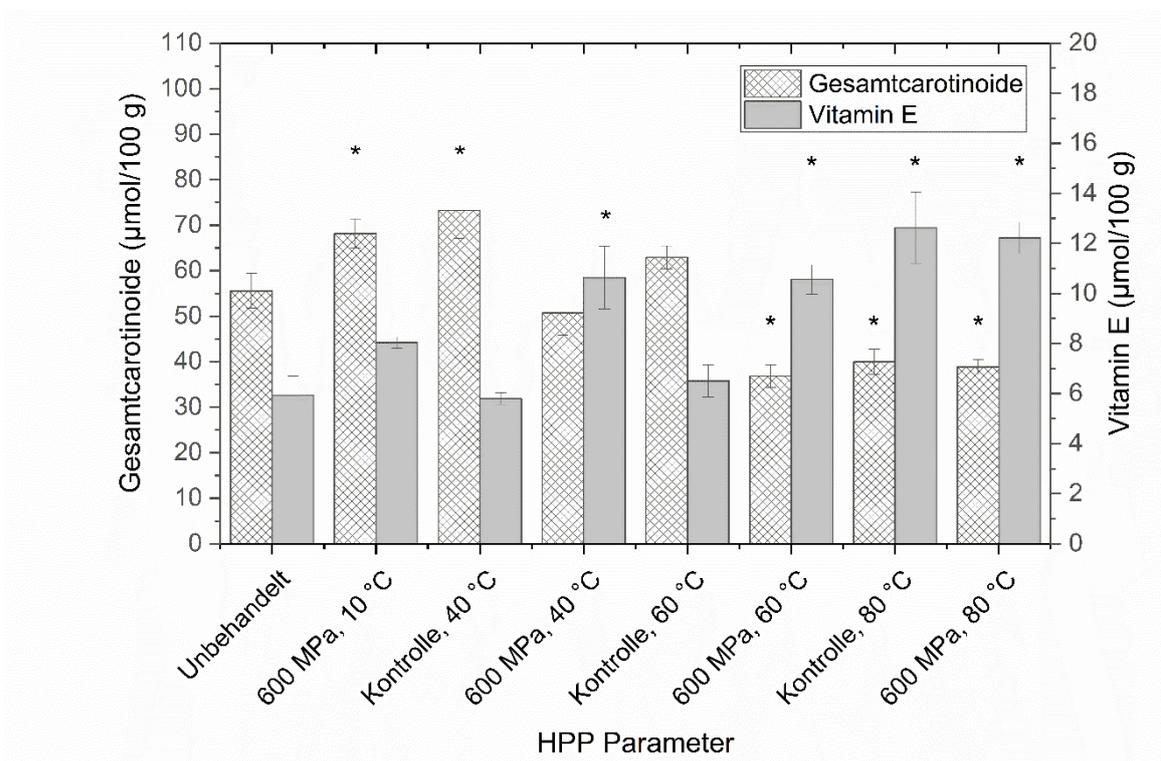


Abb.10: Einfluss der Hochdruckbehandlung bei 600 MPa (5 min) mit Temperaturen bis zu 80 °C, sowie Temperaturkontrollen ohne Druckparameter auf den Gehalt an Gesamtcarotinoiden und Vitamin E in Grünkohl (Manuskript III) unter Verwendung einer HPP-Pilotanlage. Einfaktorieller ANOVA-Test mit Tukey-HSD post-hoc-Test; Balken mit Stern indizieren einen signifikanten Unterschied ($p < 0,05$) zwischen unbehandelten und druckbehandelten Proben.

Chlorophylle

In den Manuskripten I-III wurden in verschiedenen Grünkohlmatrizes Chlorophyll a und Chlorophyll b als natürliche Bestandteile von Grünkohl [181] in einem der Literatur entsprechenden Verhältnis von 3:1 (Chl a/Chl b) ermittelt [218].

In Manuskript I wurden ähnliche Trends hinsichtlich der Konzentrationen von Chlorophyllen beobachtet wie für Carotinoide nach einer Hochdruckbehandlung bis zu 600 MPa mit einer HPP-Laboranlage. Eine Erhöhung der Druckstufen bis zu 600 MPa führte zu einer signifikanten Reduktion des Chlorophyllgehalts, während die Verlängerung der Druckhaltezeiten zu leichten, aber nicht signifikanten Erhöhungen der Chlorophyllkonzentrationen innerhalb einzelner Druckregime führten. Carotinoide sind zwar in Photosynthese-Prozessen für einen protektiven Effekt gegenüber Chlorophyllen verantwortlich [219,220], jedoch kann nach derzeitigen Erkenntnissen nicht angenommen werden, dass diese Effekte auch auf abiotischen Stress durch Hochdruck übertragbar sind. Chlorophylle können in Folge verschiedener Prozessierungsschritte sowohl enzymatischen als auch nicht-enzymatischen Abbaureaktionen unterliegen, welche potenziell auf die

Reduktion des Chlorophyllgehalts in Manuskript I zutreffen könnte. Durch Temperaturerhöhung und unter niedrigem pH-Wert kann Chlorophyll einer sauren Hydrolyse unterliegen [221,222]. Eine Temperaturerhöhung von circa 3 °C pro 100 MPa liegt bei der Hochdruckbehandlung vor und könnte bei einer Starttemperatur von 25 °C zu einer Endtemperatur von 38-40 °C führen. Auch Lipoxygenase und Peroxidase können in Gegenwart von Linolsäure oder Polyphenolen zu einem Chlorophyllabbau durch Co-Oxidation beitragen [223]. Sowohl Lipoxygenasen als auch Peroxidasen sind weit verbreitet in pflanzlichen Spezies wie beispielsweise Kohlsorten [224,225]. Für ein hochdruckbehandeltes Spinatpüree wurden für niedrigere Druckstufen (z. B. 200 MPa) signifikant erhöhte Chlorophyllgehalte im Vergleich zu unbehandelten Proben berichtet. Im Zusammenhang mit einer Druckerhöhung bis 600 MPa wurde jedoch ein Chlorophyllabbau und eine leichte, aber nicht signifikante Konzentrationserhöhung vergleichsweise zu einer unbehandelten Probe ermittelt. [226]

Die Ermittlung von Chlorophyllgehalten in gehacktem Grünkohl (Manuskript II) ergab einen weiteren Hinweis auf eine Abhängigkeit des Einflusses der Hochdruckbehandlung von der Probenvorbehandlung. Im Gegensatz zu Manuskript I konnte in Manuskript II eine signifikante Erhöhung der Chlorophyllkonzentration in Grünkohl nach einer Druckprozessierung von 40 min bei 600 MPa ermittelt werden. Diese Ergebnisse bestätigen einen bereits veröffentlichten Effekt von Hochdruck auf Chlorophyllgehalte in Spinat (600 MPa, 5 min) [206] und verstärken die Vermutung einer Druck-Matrix-Abhängigkeit wie es zuvor für Carotinoide postuliert wurde.

In Manuskript III wurde ein Grünkohlpuée unter anderem mit einer Labor-HPP-Anlage unter Niedrigdruck-Bedingungen < 200 MPa druckbehandelt. Eine leichte, aber nicht signifikante Reduktion des Chlorophyllgehalts wurde in Analogie zu reduzierten Carotinoidgehalten in dem Druckregime von 100 MPa ermittelt. Inwiefern enzymatische oder nicht-enzymatische Abbauprozesse an einem Verlust von Chlorophyllen unter Niedrigdruck-Bedingungen beteiligt sind, kann derzeit nicht eindeutig belegt werden. Verschiedene Enzyme wurden in der Vergangenheit mit einem Abbau von Chlorophyll in Verbindung gebracht. Dazu zählen neben Lipoxygenasen und Peroxidasen ebenso die Mg-Dechelatase, Phäophorbid a-Oxygenase, Rote-Chlorophyll-Katabolit-Reduktase und Chlorophyllase [227]. Weiterhin wurde in Manuskript III der Effekt der Kombination von Hochdruck und thermischer Behandlung auf Chlorophyll mit einer HPP-Pilotanlage untersucht. Auch hierbei konnten den Carotinoidgehalten ähnliche Konzentrationstrends zugeordnet werden. Signifikant erhöhte Chlorophyllgehalte resultierten bei einer Temperaturkontrolle (40 °C) ohne Druckanwendung, während in Analogie zu Carotinoiden für Druck- und Temperaturkombinationen (60-80 °C) bei

600 MPa und einer Temperaturkontrolle bei 80 °C ein signifikanter Verlust an Chlorophyllen ermittelt wurde. Ein mit der Temperaturerhöhung zusammenhängender Chlorophyllabbau wurde insbesondere bei einer Druckbehandlung mit 600 MPa (80 °C) ermittelt. Der Vergleich zu unbehandelten Grünkohlproben resultierte in höheren Verlusten an Chlorophyll a (89,0 %) als Chlorophyll b (48,0 %) und bestätigte literaturbekannte Angaben zu Chlorophyll-stabilitäten nach einer druckunterstützten, thermischen Behandlung (PATP) von Gemüsesorten [228]. Die PATP-Methodik aus Manuskript III kann dennoch im Vergleich zu einer Dampfsterilisation bei 121 °C (Manuskript II) als schonender Prozess beschrieben werden. Ein Verlust von 79,0 % an Gesamtchlorophyllen wurde nach einem PATP-Verfahren (600 MPa, 5 min, 80 °C) im Vergleich zu einem vollständigen Verlust des Gesamtchlorophyllgehalts nach einer Dampfsterilisation in Manuskript II (121 °C, 2 bar, 20 min) ermittelt. Eine signifikante Erhöhung der Extrahierbarkeit von Chlorophyllen bei einer Temperaturkontrolle (40 °C) ohne Druckapplikation kann durch eine Störung der zellulären Integrität erklärt werden [195]. Dieselbe Argumentation kann auf eine Änderung des Chlorophyllgehalts von Grünkohl zutreffen, nachdem Grünkohl-Püreeproben in Manuskript III mit Hilfe einer industriellen HPP-Anlage mit 200-600 MPa (5 min) und bis zu drei Druckzyklen behandelt wurden. Leicht erhöhte, aber nicht signifikante Unterschiede konnten im Vergleich zu unbehandelten Proben ermittelt werden. In Analogie zu untersuchten Carotinoidkonzentrationen ist auch der Zyklenbetrieb in Bezug auf einen erhöhten Chlorophyllgehalt nicht von industrieller Relevanz.

5.2 *In-vitro*-Resorptionsverfügbarkeiten in druckbehandeltem Grünkohl

Im Hinblick auf eine potentielle ernährungsphysiologische Bewertung der Hochdruckeffekte auf lipophile Inhaltsstoffe ist nicht nur eine Untersuchung von lösungsmittelbasierten Extrahierbarkeiten, sondern auch die Ermittlung von Resorptionsverfügbarkeiten von Relevanz. Häufig wird als Folge einer erhöhten Extrahierbarkeit eine ebenso erhöhte Resorptionsverfügbarkeit angenommen. Jedoch handelt es sich bei diesen beiden Untersuchungsmethoden um unterschiedliche Lösungsprozesse von Carotinoiden und Vitamin E in organischen Lösungsmitteln oder den Transfer der Verbindungen aus einer Lebensmittelmatrix in eine Mizell-Umgebung. Eine Bewertung von *in-vitro*-Resorptionsverfügbarkeiten kann nur vorgenommen werden, wenn eine Vielzahl an möglichen Einflussfaktoren berücksichtigt wird, welche nicht notwendigerweise mit der Lebensmittelprozessierung zusammenhängen müssen. Die Stabilität und der Gehalt von Carotinoiden können innerhalb von unterschiedlichen Lebensmittelmatrizes während einer Prozessierung erheblich variieren [229–231]. Unterschiede in Resorptionsverfügbarkeiten von Carotinoiden können ebenso aufgrund einer differenzierten zellulären Lokalisierung der Verbindungen oder zellulärer Strukturschäden auftreten [232], sowie durch eine

unterschiedliche Auflösung von Protein-Carotinoid-Komplexen [233] und entsprechende Löslichkeiten von lipophilen Verbindungen während des Verdauprozesses [234,235] ermittelt werden. Weiterhin kann die Verwendung von unterschiedlichen Ölsorten in einem *in-vitro*-Verdau aufgrund der Fettsäurezusammensetzung und des Sättigungsgrades der Fettsäuren zu signifikanten Unterschieden in den Resorptionsverfügbarkeiten von Lutein und β -Carotin führen [236]. Zuletzt muss berücksichtigt werden, dass Carotinoide innerhalb zellulärer Strukturen in verschiedenen Kompartimenten gelagert sein können. Während in grünblättrigem Gemüse Carotinoide hauptsächlich in der Thylakoidmembran von Chloroplasten gelagert werden, können Carotinoide in Früchten und Wurzeln in membrangebundenen semi-kristallinen Strukturen vorliegen, welche einen Einfluss auf die Resorptionsverfügbarkeit haben können [235]. In Anbetracht einer Vielzahl möglicher Einflussfaktoren kann ein absoluter Studienvergleich häufig nicht zu eindeutigem Erkenntnisgewinn führen. Ein relativer Vergleich zwischen Studien jedoch kann genutzt werden, um beispielsweise Trends hinsichtlich einer bevorzugten Mizellarisierung von lipophilen Pflanzenstoffen auch in Bezug auf eine ermittelte Extrahierbarkeit zu beurteilen.

In Manuskript I wurde deutlich, dass eine signifikant reduzierte Extrahierbarkeit von (*all-E*)-Lutein bei einer Druckbehandlung bei 400 MPa (5-40 min) nicht mit einer verringerten Resorptionsverfügbarkeit aus einem Grünkohlpüree korrelieren muss. Zugleich konnte nicht ausgeschlossen werden, dass in einem Verdaumodell mit ungesättigten Fettsäuren aus Erdnussöl eine mit Druckerhöhung reduzierte Lipoxygenase-Aktivität zu einem höheren Mizellarisierungsgrad beitragen könnte. Folglich konnte noch nicht geklärt werden, ob kompetitive Prozesse wie die Zellstrukturschädigung durch das HPP-Verfahren zu einer Erhöhung der Resorptionsverfügbarkeit führen können, während zugleich eine druckabhängige, LOX-vermittelte Carotinoid-Co-Oxidation [237] zu einem reduzierten Mizellarisierungsanteil von Carotinoiden führen kann. Ein relativer Vergleich von Resorptionsverfügbarkeiten zwischen lipophilen, bioaktiven Pflanzenstoffen bestätigte eine potentielle Mizellarisierung entsprechend der relativen Polarität einer Verbindung ((*all-E*)-Lutein > (*all-rac*)- α -Tocopherol > (*all-E*)- β -Carotin)) [238]. Die Größe gemischter Mizellen in einem Verdaumodell wurde ebenso mit der Resorptionsverfügbarkeit von Carotinen und Xanthophyllen in Korrelation gebracht. In Abhängigkeit von der Mizellgröße werden hydrophobere Carotine mit der hydrophoben Mizellinnenseite und relativ hydrophilere Xanthophylle mit der Außenseite von Mizellen assoziiert. Während eine Verkleinerung der Mizellgröße zu einer größeren Oberfläche für die Mizellarisierung von Xanthophyllen führen kann, wird eine gleichzeitig reduzierte Mizellarisierung von Carotinen durch eine zu geringe Größe der Mizellinnenseite begründet [239–241].

Die Untersuchungen der Druck - und Haltezeitabhängigkeiten (200-600 MPa, 5-40 min) in

Manuskript I resultierten in einer leichten, aber nicht signifikanten Erhöhung der Resorptionsverfügbarkeiten durch die Einstellung längerer Haltezeiten oder höherer Druckregime mit einer HPP-Laboranlage. Diese Ergebnisse konnten erneut in Manuskript III innerhalb einer Niedrigdruckstudie (10-100 MPa, 5-40 min) mit entsprechenden Hochdruckkontrollen (200-600 MPa, 5 min) bestätigt werden. Im Gegensatz zu leicht erhöhten Resorptionsverfügbarkeiten ($p < 0,05$) in Hochdruckregimen über 100 MPa, wurden signifikant reduzierte Verfügbarkeiten von (*all-E*)-Lutein und (*all-E*)- β -Carotin in den Druckbereichen von 50-100 MPa (5-40 min) ermittelt. Ein Abbau von Carotinoiden kann insbesondere unter niedrigen Drücken von enzymatischer Natur sein, wie es für eine Carotinoid-Co-Oxidation durch Lipoxygenase möglich ist [104]. Enzymaktivierungen unterhalb von 200 MPa sind möglich, wobei aufgrund reversibler Proteinfaltung bei Niedrigdruck von einer höheren Anzahl aktiver Stellen während einer verlangsamten Proteinerückfaltung nach der Druckbehandlung ausgegangen wird [242]. Weiterhin kann eine erhöhte Enzymaktivität durch eine höhere Extrahierbarkeit von membran-gebundenen Enzymen nach einer Hochdruckbehandlung erklärt werden [243], wie es für Lipoxygenase in verschiedenen pflanzlichen Zellkompartimenten möglich sein könnte [244]. Die Aktivierung von Enzymen wurde auch mit einer partiellen Denaturierung oder Bindung von Isoenzymen in Zusammenhang gebracht, unter welchen druckstabile und drucklabile Isoenzyme unter Druckeinwirkung aktiv bleiben oder inaktiviert werden können [245].

Druck- und Temperatureffekte wurden für die Hochdruckbehandlung von rohem und thermisch behandeltem Tomatensaft berichtet [246]. Darin resultierte die Kombination von Temperatur und Druck in einer höheren Resorptionsverfügbarkeit von (*all-E*)- β -Carotin im Vergleich zu rohem Tomatensaft. In Manuskript III konnte während eines PATP-Verfahrens ein positiver Einfluss der Druck-Temperatur-Kombination bis zu 80 °C und 600 MPa hinsichtlich einer signifikant erhöhten Resorptionsverfügbarkeit von Carotinoiden und Vitamin E in einem Grünkohlpüree ermittelt werden.

Für eine gepulste Druckanwendung mit bis zu drei Zyklen wurden keine signifikanten Änderungen der Resorptionsverfügbarkeiten von (*all-E*)- β -Carotin, (*all-E*)-Lutein und Vitamin E im Vergleich zu unbehandelten Grünkohlpürees ermittelt, wodurch zuvor ebenso nicht signifikante Änderungen von Extrahierbarkeiten bestätigt wurden.

5.3 Einfluss von Hochdruck auf lipophile, antioxidative Kapazitäten

Antioxidantien aus pflanzlichen Lebensmitteln können innerhalb der Ernährung einen bedeutenden gesundheitsfördernden Einfluss haben [247–249].

Die Beurteilung der antioxidativen Kapazität über die quantitative Analytik aller einzelnen Inhaltsstoffe ist gegenüber Methoden, welche die AOK als Summenparameter behandeln in vielerlei Hinsicht von Nachteil. Eine hohe Diversität in der Zusammensetzung von Antioxidantien pflanzlicher Nahrungsmittel (Sorte, Herkunft, Spezies) führt durch die Analytik von Einzelsubstanzen zu einem enormen Anstieg der Bearbeitungszeit und der finanziellen Mittel. Zudem kann nicht unter allen Umständen von einer Korrelation zwischen der antioxidativen Wirkung einer Substanz und der vorliegenden Konzentration aufgrund synergistischer Effekte mit anderen Verbindungen ausgegangen werden [250].

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Verbindungen erforderten aufgrund eines lipophilen Charakters den Einsatz von modifizierten hydrophilen Assays für die Bestimmung einer lipophilen antioxidativen Kapazität. Verwendet wurden hierfür ein lipophiler TEAC-Test und ein lipophiler ORAC-Test [251]. Die Anwendung von zwei mechanistisch unterschiedlichen Assays legte die Grundlage für eine umfangreichere Evaluation der antioxidativen Kapazität nach einer Hochdruckbehandlung von Grünkohlproben aufgrund unterschiedlicher Test-Sensitivitäten [164].

In den Manuskripten I-III wurden unter anderem gehackte Grünkohlproben mit einer HPP-Laboranlage mit Druckparametern von 200-600 MPa und Haltezeiten von 5-40 min hochdruckbehandelt. Weiterhin erfolgte ein Vergleich der antioxidativen Kapazitäten druckbehandelter Proben mit dampfsterilisierten Proben (121 °C, 10 min).

Die Untersuchung des Einflusses der Haltezeiten auf die antioxidative Kapazität aus Extrakten druckbehandelter Grünkohlproben resultierte in signifikanten Erhöhungen nach Verlängerung der Haltezeiten bei 600 MPa bis zu 40 min (Manuskript I-II). Im Vergleich zu zuvor erhöhten Extrahierbarkeiten von lipophilen Verbindungen im Niederdruckbereich kann bei 600 MPa nicht mehr von einer potentiellen Biosynthese antioxidativ wirksamer Verbindungen ausgegangen werden. Der Einfluss der längeren Haltezeit auf höhere antioxidative Kapazitäten könnte auf eine erhöhte Extrahierbarkeit durch einen zunehmenden Verlust der zellulären Integrität zurückführbar sein [195]. Eine Haltezeitabhängigkeit konnte für druckbehandelten Spinat zuvor nicht innerhalb von hydrophilen TEAC-/ORAC-Assays ermittelt werden [206]. Ein Unterschied zwischen hydrophilen und lipophilen antioxidativen Kapazitäten könnte nicht nur mit der Druckstabilität der Verbindungen, sondern auch mit einer unterschiedlichen Kompartimentierung hydrophober Spezies in pflanzlichem Gewebe zusammenhängen [252,253].

Eine signifikante Erhöhung der lipophilen, antioxidativen Kapazität durch höhere Druckregime bis zu 600 MPa wurde sowohl im L-ORAC-Assay als auch im α TEAC-Assay in Manuskript I ermittelt. Aufgrund einer vorrangigen Publikation hydrophiler antioxidativer Kapazitäten konnten die vorliegenden Ergebnisse in Relation zu entsprechend hydrophilen Assays gesetzt werden. Hierbei stimmen im Kontext die Ergebnisse zu erhöhten antioxidativen Kapazitäten aus Grünkohlextrakten mit ermittelten Trends aus druckbehandelten Säften aus Brokkoli und Kohl bei 600 MPa [254], grünem Spargel (200-600 MPa, 10-20 min) [255] und Zwiebelproben (100-400 MPa, 5 min) [256] überein. Nicht signifikante Änderungen von antioxidativen Kapazitäten in Extrakten aus druckbehandelten Gemüsesorten wurden für Karotten, Brokkoli und Tomaten bei Drücken bis zu 800 MPa und für Tomatensaft bis zu 200 MPa berichtet [257,258], während eine potentielle Rohstoffabhängigkeit hinsichtlich leicht erhöhter oder reduzierter antioxidativer Kapazitäten druckbehandelter Obst- und Gemüsesorten bei 800 MPa ermittelt wurde [259].

In Manuskript III konnte ein Zusammenhang zwischen einer signifikant erhöhten Extrahierbarkeit von Gesamtcarotinoiden nach einer Druckbehandlung (200-600 MPa) von gehacktem Grünkohl für 10 min und einer signifikant erhöhten lipophilen, antioxidativen Kapazität hergestellt werden. Hierdurch konnten die Ergebnisse zu einer druckabhängigen antioxidativen Kapazität aus Manuskript I durch eine erhöhte Konzentration lipophiler Antioxidantien bestätigt werden.

Der Vergleich von hochdruckbehandelten und thermisch, dampfsterilisierten Grünkohlproben zeigte eine deutliche Abweichung der Sensitivitäten zwischen den lipophilen TEAC- und ORAC-Assays (Manuskript I). Während eine Verlängerung der Druckhaltezeiten bei 600 MPa mit einer signifikant erhöhten antioxidativen Kapazität innerhalb beider Assays in Zusammenhang gebracht werden konnten, resultierte eine Dampfsterilisation bei 121 °C (20 min) in signifikant erhöhten ORAC-Werten, während keine signifikante Änderung der antioxidativen Kapazität im lipophilen TEAC-Assay ermittelt wurde. In Anbetracht von signifikant reduzierten Gehalten an Gesamtcarotinoiden und Chlorophyllen sowie einem leicht, aber nicht signifikant reduzierten Vitamin-E-Gehalt in dampfsterilisierten Proben, kann vermutet werden, dass auch potentielle Abbauprodukte von lipophilen, bioaktiven Pflanzenstoffen eine antioxidative Kapazität besitzen können. Oxidationsprodukte von α -Tocopherol [260] wurden in Manuskript II nicht untersucht. Im Gegensatz dazu konnte eine signifikante Zunahme an Pheophytin-Isomeren durch thermischen Chlorophyllabbau ermittelt werden. Weiterhin kann eine thermisch bedingte *Z*-Isomerisierung von Carotinoiden wie (*all-E*)- β -Carotin [261] zu einer Änderung der antioxidativen Kapazität führen, wie es im Vergleich zu (*9Z*)- β -Carotin veröffentlicht wurde [262].

5.4 Lagerfähigkeit hochdruckbehandelter und dampfsterilisierter Grünkohl-Matrizes

In Manuskript II wurde die Lagerfähigkeit von gehacktem Grünkohl in Bezug auf den Gehalt an lipophilen, bioaktiven Pflanzenstoffen vor und nach einer Lagerung untersucht. Dabei erfolgte keine Bestimmung einer Haltbarkeit, sondern eine Charakterisierung der Lagerfähigkeit über die Ermittlung der Gehalte an Gesamtcarotinoiden, Chlorophyllen und Vitamin E sowie der lipophilen antioxidativen Kapazitäten. Ein Vergleich fand statt zwischen einer Hochdruckbehandlung (600 MPa, 10 min, Raumtemperatur) und einer Dampfsterilisation (2 bar, 20 min, 121 °C), mit anschließender Lagerung der Proben bei 5 °C unter Lichtausschluss für zwei Monate.

Während unmittelbar nach der Hochdruckbehandlung (600 MPa, 10-40 min) und ohne Lagerung, signifikant erhöhte Extrahierbarkeiten von Gesamtcarotinoiden ermittelt wurden, resultierte die Lagerstudie in einem signifikanten Verlust (67,0 %) der Carotinoide im Vergleich zur unbehandelten Probe. Die Dampfsterilisation verursachte nach einer 20-minütigen Behandlung einen Verlust von 31,0 % im Vergleich zu unbehandelten Proben, während eine folgende Lagerung der thermisch behandelten Proben keine signifikanten Änderungen der Gesamtcarotinoidkonzentration zur Folge hatte. Ähnliche Gehaltsänderungen wurden für den Vitamin-E-Gehalt ermittelt. Die Lagerung von hochdruckbehandelten Proben resultierte in einem signifikanten Verlust an (*all-rac*)- α -Tocopherol von 90,0 % im Vergleich zu unbehandelten Proben. Im Gegensatz dazu konnten keine signifikanten Unterschiede zu dampfsterilisierten und dampfsterilisiert gelagerten Proben ermittelt werden. Auch der Gesamtchlorophyllgehalt unterlag nach einer zwei-monatigen Lagerung einem signifikanten Verlust von 33,0 %, während aufgrund eines vollständigen Chlorophyllabbaus nach der Dampfsterilisation kein Chlorophyllgehalt in dampfsterilisierten, gelagerten Proben bestimmbar war. Im Vergleich zu unbehandelten Proben konnte ein signifikanter Verlust an antioxidativer Kapazität nur für dampfsterilisierte Grünkohlproben innerhalb des α TEAC-Assays ermittelt werden. Ein Vergleich zwischen den Ergebnissen des L-ORAC- und α TEAC-Tests hinsichtlich gelagerter Proben resultierte in keinen signifikanten Unterschieden. Ein Lagereffekt im Vergleich zu behandelten, nicht gelagerten Proben wurde für HPP-Grünkohl (600 MPa, 10 min) mit einem höheren Verlust antioxidativer Kapazitäten (α TEAC: 78,0 %; L-ORAC: 30,0 %) als bei dampfsterilisierten Proben (α TEAC: 34,0 %; L-ORAC: -20,0 %) ermittelt.

Der Vergleich der Hochdruckbehandlung mit der Dampfsterilisation ohne Lagerkomponente hat gezeigt, dass signifikant erhöhte antioxidative Kapazitäten sowie Extrahierbarkeiten von Gesamtcarotinoiden und Gesamtchlorophyllen durch geeignete Druckparameter erzielt

werden können. Die Störung zellulärer Strukturen durch Hochdruck kann eine somit höhere Freisetzung von bioaktiven Pflanzenstoffen hervorrufen [263]. Zugleich wurde eine druckgetriebene Reduktion der Vitamin-E-Gehalte ermittelt, welche im Widerspruch zu einer zellulären Strukturstörung und somit erhöhten Vitamin-E-Freisetzung steht. Ein Verlust an Vitamin E während einer Hochdruckbehandlung wurde jedoch auch in Manuskript I bereits beobachtet und kann auf einen antioxidativen Effekt von Vitamin E gegenüber Carotinoiden zurückzuführen sein [264]. Im Gegensatz zur Hochdruckbehandlung konnten der Dampfsterilisation signifikante Verluste an Gesamtcarotinoiden und Gesamtchlorophyll zugeordnet werden, welche im Kontext der thermischen Labilität dieser Verbindungen stehen [265,266]. Die thermische Stabilität von Vitamin E [215,216] wurde während der Dampfsterilisation in Manuskript II bestätigt. Ein Vergleich zwischen den Änderungen des Vitamin-E-Gehalts in dampfsterilisierten Proben (Manuskript II, nicht signifikant geändert) und thermisch druckbehandelten Proben bei 600 MPa und 80 °C (Manuskript III, signifikant erhöht), verdeutlicht das Potential einer Druck-Temperatur-Kombination hinsichtlich der Retention bzw. der Erhöhung der Gehalte an Vitamin E in Grünkohl.

Die Lagerung von hochdruckbehandelten Proben bestätigte, dass die Hochdruckbehandlung ohne zusätzliche Temperaturparameter in der Regel nur für eine zeitlich begrenzte Verlängerung der Lagerfähigkeit frischer gekühlter Proben von Vorteil sein kann [267]. Signifikante Verluste an Gesamtcarotinoiden, Gesamtchlorophyll, Vitamin E und antioxidativen Kapazitäten im Vergleich zu ungelagerten, druckprozessierten Proben und zu entsprechend dampfsterilisierten Proben in Manuskript II stehen im Kontext dieser Aussage. Innerhalb der vorliegenden Studien konnte der Verlust der untersuchten Pflanzenstoffe durch Lagerprozesse nicht individuellen Zerfallsmechanismen zugeordnet werden. Jedoch ist bekannt, dass die Hochdruckbehandlung ohne zusätzliche Temperaturkomponente erst bei verwendeten Drücken zwischen 800-1700 MPa bei Raumtemperatur bakterielle Sporen inaktivieren kann [268–270]. Auch enzymatische Aktivitäten, welche zu dem Verlust von bioaktiven Pflanzenstoffen beitragen können, sind als druckstabil beschrieben wurden [88,89,93,190,271,272]. Zusätzlich können während der Lagerung von hochdruckbehandeltem Grünkohl (Manuskript II) Oxidationsprozesse von Pflanzenstoffen durch den Einschluss von Luft innerhalb des Probengefäßes auftreten. Dampfsterilisierte Grünkohlproben hingegen wurden entsprechend der herkömmlichen Verfahrensweise in wässriger Salzlösung (Natriumchlorid) thermisch behandelt. Sowohl ein Abbau von labilen Inhaltsstoffen durch die Temperaturerhöhung als auch durch den Übergang von der Grünkohlmatrix in die wässrige Phase sind möglich. Folglich sind beide Konservierungsverfahren in der Gesamtheit der Probenvorbereitung und der verwendeten Parameter zu betrachten.

Weiterhin können die HPP-Ergebnisse der Lagerstudie in Manuskript II eine begrenzte Lagerfähigkeit entsprechend kommerziell erhältlicher HPP-Lebensmittel mit einer durchschnittlichen Haltbarkeit bei 4 °C von 21 Tagen bis zu 12 Monaten (Säfte und Getränke), 1-6 Monaten (Gemüseprodukte), 21 Tagen - 2 Monaten (Fleischprodukte) sowie für Meeresfrüchte von 10 Tagen - 2 Monaten bestätigen [267].

Die Ergebnisse der untersuchten Lagerfähigkeit von Hochdruckproben aus Manuskript II im Kontext der Ergebnisse zu PATP-Proben aus Manuskript III bestätigten, dass es sich bei der Hochdruckbehandlung unter den gewählten Bedingungen um eine komplementäre Konservierungstechnik im Sinn einer „*hurdle technique*“ handelt, welche durch eine zusätzliche thermische Prozesskomponente für eine schonende Behandlung vergleichend zu einer herkömmlichen Hitzesterilisation ergänzt werden kann. Eine Untersuchung der Lagerfähigkeit von PATP-Proben wurde in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht durchgeführt.

5.5 Beurteilung der Effekte von Parametern unterschiedlicher Hochdruckanlagen

In der vorliegenden Arbeit wurden drei unterschiedliche Hochdruckanlagen für die Druckbehandlung von Grünkohl genutzt. Eine HPP-Laboranlage diente mit einem geringen Druckkammervolumen der Etablierung eines experimentellen Designs und der systematischen Untersuchung von Druckstufen und Druckhaltezeiten im Niederdruck- und Hochdruckbereich. Eine HPP-Pilotanlage wurde genutzt, um die Effekte einer Druck-Temperatur-Kombination zu untersuchen, während eine industrielle HPP-Anlage für eine klassische Hochdruckbehandlung (niedrige Temperatur, hoher Druck) in Verbindung mit einer Druckzyklenoperation genutzt wurde.

Der Grund für die Nutzung dieser HPP-Anlagen lag in unterschiedlichen technischen Voraussetzungen für die Realisierung der festgelegten Hochdruckexperimente. Auch wenn Hochdruckanlagen im Wesentlichen aus hydraulischen Pumpen, Druckverstärkern, Druckkammern, Reservoirs für Flüssigkeiten sowie Ventilen und Rohrleitungen bestehen, so können unterschiedliche Pumpen und Druckverstärker das Erreichen und die damit verbundene Zeitspanne eines bestimmten Druckaufbaus beeinflussen. Die Verwendung von unterschiedlichen Flüssigkeiten in den Druckkammern kann zu einem stärkeren oder geringeren Temperaturanstieg während des Druckaufbaus führen. Weiterhin sind mehrere Druckkammervarianten verfügbar (dickwandig, mehrwandig, drahtgewickelt), welche in Bezug auf bestimmte Anwendungen, wie zum Beispiel für das Erreichen von ultrahohem Druck über 800 MPa oder die Kombination von Druck und Temperatur, Limitierungen aufweisen können. [273]. Hinsichtlich dieser und weiterer, potentieller Einflussfaktoren auf gerätetechnischer

Ebene kann sich eine Vergleichbarkeit von Hochdruckexperimenten bereits als kompliziert erweisen.

Weiterhin wurden innerhalb der vorliegenden Arbeit - entsprechend technischer Voraussetzungen - unterschiedliche Verpackungsarten für die Hochdruckbehandlung von Grünkohl gewählt. Innerhalb der Druckstudien mit Hilfe der HPP-Laboranlage dienten Cryo-Röhrchen aus Polypropylen als Probenreservoirs. Für die Verwendung der HPP-Pilotanlage und der industriellen HPP-Anlage wurden Grünkohlproben nicht in Röhrchen gefüllt, sondern in mehrlagigen Folien (Polyamid, Polyethylen) vakuumiert. Die Entwicklung und Optimierung von Polymermaterialien für die Hochdruckbehandlung von Lebensmitteln ist bereits ein separates Forschungsfeld, weil hierfür nicht nur druckstabile Materialien, sondern inzwischen auch nachhaltige Biopolymere und Werkstoffe benötigt werden, welche weder Fremdstoffe in das Lebensmittel eintragen (z. B. aus recycelten Kunststoffen) sowie aus einer Druckflüssigkeit übertragen. Aus anwendungsorientierter Sicht ist das Vakuumieren von Lebensmitteln die bessere Wahl, um einen potentiellen Gasraum innerhalb der Verpackung und eine damit verbundene Oxidation durch vorhandenen Luftsauerstoff zu reduzieren [273]. Ein solcher Gasraum kann trotz vorsichtiger Probenvorbereitung bei dem Befüllen von Cryo-Röhrchen mit Grünkohl entstanden sein. Hierdurch wird die Vergleichbarkeit zwischen den verwendeten HPP-Anlagen erschwert.

Ein wesentlicher Einflussfaktor kann weiterhin die Probenvorbehandlung sein. Ein Grünkohlpüree wurde für die Druckbehandlung in Manuskript I (Studien zu Druckstufen und Haltezeiten) und Manuskript III (Niedrigdruckstudien mit Laboranlage, Temperaturstudien mit Pilotanlage, Zyklusstudien mit industrieller Anlage) genutzt. In Manuskript II dienten gehackte Grünkohlproben einem Vergleich zwischen der Hochdruckbehandlung und der Dampfsterilisation, um kommerziell erhältliche Grünkohlprodukte realistischer abbilden zu können. Da in einem Grünkohlpüree im Vergleich zu gehacktem Grünkohl die zellulären Strukturen weitgehend gestört sind, kann von einer höheren Freisetzung von Pflanzenstoffen in den extrazellulären Raum ausgegangen werden, wodurch potentielle enzymatische und nicht-enzymatische Abbauprozesse vor, während und nach der Hochdruckbehandlung begünstigt sein könnten.

Ein weiterer Unterschied zwischen den Hochdruckanlagen kann in der Anfangstemperatur bestehen. Während die HPP-Laboranlage unter Raumtemperatur betrieben wurde, dienten Temperaturparameter zwischen 40-80 °C in der Pilotanlage und 10 °C in der industriellen HPP-Anlage als Starttemperaturen vor der Druckbehandlung. Die Wahl einer niedrigen Fluidtemperatur vor dem HP-Prozess kann von Vorteil sein, um die Temperatur bei erreichtem Druckmaximum aufgrund der Kompressionswärme möglichst gering zu halten.

Die hierin beschriebenen Einflussfaktoren sollen verdeutlichen, dass Studien zu der Hochdruckbehandlung nicht nur hinsichtlich der behandelten Proben, sondern auch bezüglich verwendeter Parameter kritisch bewertet werden sollten. Eine Standardisierung der Publikationen von HPP-Studien hinsichtlich eines Minimums an veröffentlichten Parametern kann zu einer zuverlässigeren Vergleichbarkeit beitragen [274].

5.6 Ernährungsphysiologische Relevanz der Hochdruckbehandlung

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass das Hochdruckverfahren einer schonenden Konservierungsmethode entsprechen kann. Im Vergleich zur konventionellen Hitzesterilisation trug die Hochdruckbehandlung zu einer wesentlichen Retention von Pflanzenstoffen wie Carotinoide, Chlorophylle und Vitamin E in Grünkohl bei. Die verwendeten Analysemethoden führten zu neuen Erkenntnissen hinsichtlich der Charakterisierung des hochdruckbehandelten Lebensmittels anhand von Extrahierbarkeiten, antioxidativen Kapazitäten und Resorptionsverfügbarkeiten. Hierdurch konnte gezeigt werden, welche Art und Menge der untersuchten Pflanzenstoffe in einem potentiellen gastrointestinalen System zur Verfügung stehen können. Für eine ernährungsphysiologische Bewertung konnte somit nur teilweise geklärt werden, inwiefern durch hochdruckbehandelte Produkte eine erhöhte Zufuhr bestimmter Lebensmittelinhaltsstoffe für eine Resorption zur Verfügung gestellt werden kann. Gegenstand weiterer Arbeiten kann eine Untersuchung des Einflusses der Hochdruckbehandlung auf die Resorption von lipophilen Inhaltsstoffen in Grünkohl durch die Intestinalschleimhaut hindurch und folglich in die Lymphe oder Blutbahn im Menschen sein. Das für die Resorptionsverfügbarkeit genutzte Modellsystem entsprach einem *in-vitro*-Verdaumodell und ist daher nicht vollständig auf den menschlichen Verdauungsapparat übertragbar.

In Manuskript III konnte gezeigt werden, dass mit der Hochdruckbehandlung in einer industriellen HPP-Anlage (400 MPa, 5 min, 1 Zyklus sowie 600 MPa, 5 min, 3 Zyklen) die Resorptionsverfügbarkeiten von (*all-E*)- β -Carotin, (*all-E*)-Lutein und Vitamin E innerhalb eines Trends leicht, aber nicht signifikant erhöht werden konnten. Signifikant erhöhte Resorptionsverfügbarkeiten wurden in Manuskript III durch eine thermische Druckbehandlung bei 600 MPa, 5 min und 40 °C für (*all-E*)- β -Carotin (+ 189,0 %) und (*all-E*)-Lutein (+ 58,0 %) im Vergleich zu unbehandeltem Grünkohl ermittelt. Eine darin bestehende Harmonisierung der Ergebnisse einer erhöhten Extrahierbarkeit und Resorptionsverfügbarkeit kann von ernährungsphysiologischer Relevanz sein. Besonders (*all-E*)- β -Carotin ist für eine Provitamin-A-Aktivität bekannt, welche in Retinolaktivitätsäquivalenten (*engl.* retinol activity equivalents, RAE) angegeben werden kann. Die *Deutsche Gesellschaft für Ernährung* empfiehlt geschlechterspezifisch für Erwachsene über 19 Jahre und unter 65 Jahre eine tägliche Zufuhr

von 850 µg (männlich) und 700 µg (weiblich) RAE, wobei 1 µg RAE insgesamt 28 µg β-Carotin entsprechen [151].

Die Bioverfügbarkeit von Carotinoiden durch Humanstudien mit generell prozessierten Lebensmitteln wurde bisher nur unzureichend untersucht. Eine 1,8-fach höhere Bioverfügbarkeit von β-Cryptoxanthin wurde in Plasmaproben von Probanden ermittelt, welche pasteurisierten Orangensaft anstatt frischen Orangensaft aufgenommen haben [275]. Eine signifikant höhere Absorption von β-Cryptoxanthin und Lutein wurde für ein fermentiertes Orangensaftgetränk im Vergleich zu frischem Orangensaft berichtet [276]. Eine erhöhte Serumkonzentration wurde für Xanthophylle aus prozessiertem Orangensaft im Vergleich zu Carotinen berichtet, wobei die Erhöhung der Carotinoidkonzentration in Serum nach 14 Tagen zwischen frischem und hochdruckbehandeltem Orangensaft als vergleichbar galt [277].

Die Bioverfügbarkeit von Vitamin C als hydrophile Verbindung wird in der Literatur derzeit noch kontrovers hinsichtlich des Einflusses der Hochdruckbehandlung diskutiert. So wurden sowohl nicht signifikante als auch signifikant erhöhte Bioverfügbarkeiten durch den Konsum von Orangensaft berichtet [278–280].

Die Hochdruckbehandlung kann folglich basierend auf erhöhten Resorptionsverfügbarkeiten in Kombination mit Temperaturen bis 80 °C (vorliegende Arbeit) und hinsichtlich literaturbekannter, erhöhter Bioverfügbarkeiten von lipophilen und hydrophilen Lebensmittelinhaltsstoffen eine ernährungsphysiologische Relevanz haben. Jedoch ist zu beachten, dass die Bioverfügbarkeiten von Antioxidantien aus Früchten und Gemüsearten auch unter anderem von weiteren Lebensmittelbestandteilen, wie aufgenommenen Ballaststoffen, abhängig sein und reduziert werden können [281].

6 Schlussfolgerungen

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Hochdruckbehandlung als alternative Konservierungsmethode die Extrahierbarkeiten und Resorptionsverfügbarkeiten von lipophilen, bioaktiven Pflanzenstoffen in Grünkohl sowie deren lipophile, antioxidative Kapazitäten signifikant beeinflussen kann. Die Komplexität von hydrostatischen Druckeffekten wurde in der Einkomponentenmatrix in Abhängigkeit von Parametern wie Druck, Haltezeit und Temperatur deutlich. Für die Realisierung der HPP-Prozessparameter wurden mehrere Hochdruckanlagen in Labor-, Pilot- und Industriemaßstäben eingesetzt.

Eine Verlängerung der Druckhaltezeiten in einer Laboranlage resultierte in den Manuskripten I und II bei industriell relevantem Hochdruck von 600 MPa in erhöhten Extrahierbarkeiten von Carotinoiden und Chlorophyllen bei 5-minütigen Druckbehandlungen. Jedoch wurde in Manuskript II deutlich, dass zusätzlich die Probenvorbehandlung hinsichtlich einer gehackten Matrix zu signifikant erhöhten Carotinoid- und Chlorophyllgehalten beitragen kann. Dadurch kommt dem Grad der Lebensmittelverarbeitung vor der Hochdruckbehandlung eine besondere Bedeutung zu. Aufgrund einer hohen Beliebtheit von Grünkohl auch als Zutat in potentiell druckprozessierbaren Produkten ergibt sich die Fragestellung, inwiefern der Verarbeitungsgrad auch bei einer saisonal limitierten und zuvor tiefgekühlten Rohware einen Einfluss auf lipophile Inhaltsstoffe nach einer Hochdruckbehandlung haben kann. Hinweise auf vergleichbare Hochdruckeffekte bei frischem und zuvor tiefgefrorenem Grünkohlpüree resultieren aus Manuskript I und III. Mit einer HPP-Laboranlage wurden reduzierte Extrahierbarkeiten von Carotinoiden durch eine Druckstufenerhöhung von 200 auf 600 MPa (5 min) im Vergleich zu unbehandelten Proben ermittelt. Jedoch handelte es sich dabei um saisonal unterschiedliche Rohwaren, wodurch weitere Untersuchungen zum Einfluss der Lebensmittelprozessierung vor einer Hochdruckbehandlung notwendig sind. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit können daher zu der Schlussfolgerung führen, dass nicht nur ein minimal invasives Konservierungsverfahren, sondern auch eine minimale Vorprozessierung zu einem erhöhten Gehalt durch bessere Extrahierbarkeiten lipophiler, bioaktiver Pflanzenstoffe in hochdruckbehandeltem Grünkohl beitragen kann.

Die Erhöhung von Extrahierbarkeiten resultierte nicht nur aus einer geeigneten Probenvorbehandlung, sondern auch aus der Wahl von Druck- und Temperaturparametern. Deutlich wurden diese Effekte in Manuskript III durch die Untersuchung von Niedrigdruckparametern < 200 MPa (Laboranlage) sowie Druck- und Temperaturkombinationen (Pilotanlage). Ein signifikant erhöhter Vitamin-E-Gehalt nach verlängerten Haltezeiten bei 10 - 50 MPa sowie erhöhte Carotinoidgehalte bei milden Temperaturkontrollen

ohne Druckparameter ($< 60 \text{ }^\circ\text{C}$) lassen die Frage offen, inwiefern eine Niederdruckbehandlung mit leicht erhöhten Temperaturen sowohl den Vitamin-E-Gehalt als auch die Carotinoidgehalte signifikant erhöhen kann.

Aus den vorliegenden Ergebnissen könnte geschlussfolgert werden, dass durch die Kombination geeigneter Niederdruck- und Temperaturparameter sowie einer anschließenden Hochdruckbehandlung bei moderaten Temperaturen ein Grünkohlprodukt mit einer verlängerten Lagerfähigkeit als auch erhöhten Extrahierbarkeit bioaktiver, lipophiler Pflanzenstoffe erhalten werden könnte. Die Zielstellung eines Folgeprojekts würde somit eine potentielle HPP-Parameteroptimierung einschließen.

Insbesondere in Manuskript II wurde durch den Vergleich der Hochdruckbehandlung in einer Laboranlage mit einer Dampfsterilisation von gehacktem Grünkohl deutlich, dass das HPP-Verfahren eine alternative und schonende Konservierungsmethode hinsichtlich thermisch labiler, lipophiler Lebensmitteleinstoffe sein kann. Als aufschlussreich erwies sich die darin enthaltene Lagerstudie für den Vergleich beider Konservierungsverfahren. Als vorteilhaft stellten sich die signifikant erhöhte Extrahierbarkeit von Carotinoiden und Chlorophyllen in gehacktem Grünkohl unmittelbar nach der Hochdruckbehandlung heraus sowie eine vergleichsweise längere Lagerfähigkeit von dampfsterilisierten Proben. Die Kombination aus hydrostatischem Druck und moderat erhöhten Temperaturen könnte folglich als Parameteroptimierung sowohl für den Erhalt organoleptischer Eigenschaften als auch für die Retention wertbestimmender Inhaltsstoffe und für hohe antioxidative Kapazitäten dienen.

Aus Manuskript III kann unter anderem geschlussfolgert werden, dass unter industriellen Bedingungen eine zweifache und dreifache Druckbehandlung nicht zu einer signifikanten Optimierung von Carotinoid- und Chlorophyllgehalten führt und deshalb aus kommerzieller Perspektive nicht von Relevanz ist. Dabei wurde jedoch im Vergleich zu Manuskript I deutlich, dass bei industriell relevantem Druck von 600 MPa die Starttemperatur des Druckmediums und die Verpackung eines Grünkohlpürees einen signifikanten Einfluss auf den Gehalt an lipophilen Pflanzenstoffen haben können. Weiterhin kann geschlussfolgert werden, dass eine Kombination aus erhöhtem Druck und moderaten Temperaturen sowohl zu höheren Extrahierbarkeiten als auch zu erhöhten Resorptionsverfügbarkeiten ($p < 0,05$) von Carotinoiden führen kann. Somit kann der Untersuchung des Temperaturparameters in Folgeprojekten eine besondere Bedeutung zukommen, insbesondere aufgrund einer signifikant erhöhten Freisetzung von Vitamin E bereits bei 600 MPa und $40 \text{ }^\circ\text{C}$. Somit bleibt folglich die Frage zu klären, inwiefern ein Temperaturoptimum zwischen $10\text{-}40 \text{ }^\circ\text{C}$ vorliegen kann, welches sowohl zu signifikant erhöhten Extrahierbarkeiten als auch Resorptionsverfügbarkeiten von lipophilen bioaktiven Pflanzenstoffen beiträgt. Auch aus

kommerzieller Perspektive wäre die weitere Reduktion der Prozesstemperatur von Interesse, um Energiekosten zu reduzieren und die benötigte Zeit für das Erwärmen des Druckmediums zu Gunsten eines höheren Durchsatzes im Batch-Verfahren zu reduzieren.

Kritisch an dieser Arbeit ist anzumerken, dass ein quantitativer Vergleich zwischen den verwendeten HPP-Anlagen in Bezug auf die generierten Ergebnisse nicht zulässig ist. Die Art, Größe und das Material von Verpackungen variierten entsprechend technischer Voraussetzungen. Saisonal lagen unterschiedliche Grünkohl-Rohmaterialien vor, um sowohl frische als auch unbehandelte Proben für Hochdruckprozesse verfügbar zu haben. Daher kann hinsichtlich erhöhter Extrahierbarkeiten und Resorptionsverfügbarkeiten von bioaktiven Pflanzenstoffen unter industriellen Bedingungen lediglich von einer Parameteroptimierung ausgegangen werden, welche im Rückschluss durch den Vergleich mit einer Laboranlage unter äquivalenten Bedingungen überprüft werden kann.

Weiterhin konnte nicht geklärt werden, welchen Einfluss enzymatische Abbau- oder Biosyntheseprozesse beispielsweise bei Niedrigdruckbedingungen auf den Gehalt und die Resorptionsverfügbarkeiten von untersuchten Analyten haben können. In Manuskript III wurde zwar vermutet, dass eine reduzierte Resorptionsverfügbarkeit von Carotinoiden durch eine potentiell erhöhte Lipoxygenaseaktivität vorliegen kann, jedoch fehlen hierfür belastbare Ergebnisse. Hilfreich könnte hierbei eine Studie zu LOX-Aktivitäten mit optischen Assaymethoden unter Niedrigdruck- und Hochdruckbedingungen sein. Weiterhin kann ein indirekter Nachweis der LOX-Aktivität über die Untersuchung des Abbaus von Carotinoiden in einem Modellsystem, in Anwesenheit von Lipoxygenase und einem Substrat wie Linolsäure, vor und nach einer Druckbehandlung sein. Sollte ein druckabhängiger Abbau von Carotinoiden durch LOX vorliegen, kann weiterhin ein Vergleich des Abbaus unterschiedlicher Carotinoide, auch in Anwesenheit von antioxidativ wirksamen Substanzen (z. B. Polyphenole, Vitamin C, Vitamin E), vorgenommen werden. Somit kann die Komplexität eines vorliegenden Modellsystems schrittweise an eine biologische Matrix angepasst werden, um Wechselwirkungen zwischen Einzelsubstanzen zu untersuchen.

Zuletzt ist anzumerken, dass perspektivisch nicht nur der Erhalt wertbestimmender Inhaltsstoffe zu bewerten ist, sondern auch die mikrobiologische Stabilität von hochdruckbehandelten Proben, um zusätzlich Informationen über die Sicherheit eines Lebensmittels angeben zu können.

7 Zusammenfassung

Die Ernährung ist ein körperliches Grundbedürfnis des Menschen, in welchem zunehmend die Themen Gesundheit und Nachhaltigkeit an Bedeutung gewinnen. Aufgrund einer wachsenden Weltbevölkerung und klimatischer Veränderungen steht dabei auch das lebensmittelverarbeitende Gewerbe vor einer herausfordernden Aufgabe. So wird geschätzt, dass etwa ein Drittel der produzierten Lebensmittel weltweit als Abfall verloren gehen und zugleich den Grünhausgas-Fußabdruck entlang der Wertschöpfungskette bis zur Deponierung erhöhen. Folglich kann die Konservierung von Lebensmitteln entscheidend für die Reduktion von Lebensmittelverschwendung und damit verbundenen Erhöhung der Nachhaltigkeit in dem Nahrungsmittelsektor sein. Die Hochdruckbehandlung bietet hierbei den Vorteil, dass nicht nur durch geringe Temperaturen, sondern auch durch eine Wiederverwendung des genutzten Druckmediums, ein für Lebensmittelinhaltstoffe schonender und nachhaltiger Konservierungsprozess angeboten werden kann.

Im Vergleich zu der konventionellen Hitzesterilisation ist die Hochdruckbehandlung auch hinsichtlich der Vermarktung druckbehandelter Lebensmittel noch eine alternative und neuartige Konservierungsmethode. Zu den gängigen HPP-Parametern zählen unter anderem die Anpassung von Druckregimen, Haltezeiten sowie der Temperatur entsprechend der zu behandelnden Matrix und der gewünschten Verlängerung der Lagerfähigkeit. Häufig wird bei der Hochdruckbehandlung von einem schonenden Prozess ausgegangen, welcher weitgehend für hydrophile, bioaktive Pflanzenstoffe bestätigt werden konnte. Folglich liegt die Hypothese nahe, dass auch lipophile, sekundäre Lebensmittelinhaltstoffe wie Carotinoide, Vitamin E und amphiphile Chlorophylle keiner signifikanten Reduktion im Gehalt durch das HPP-Verfahren unterliegen. Allerdings wurde die Hypothese insbesondere unter Berücksichtigung von Niederdruck, Hochdruck, Druckzyklen, Druckhaltezeiten und erhöhten Temperaturen nicht ausreichend wissenschaftlich untersucht.

Die Dissertation hatte folgende Zielstellungen für Studien an einer Grünkohl-Matrix:

- Untersuchung der Effekte von Druckparametern wie der Haltezeit und des Druckregimes auf die Extrahierbarkeit von lipophilen, bioaktiven Pflanzenstoffen und auf die antioxidative Kapazität von Grünkohlextrakten mit Hilfe einer HPP-Laboranlage
- Vergleichende Untersuchung zwischen einer konventionellen Dampfsterilisation und der Hochdruckbehandlung von Grünkohl hinsichtlich der antioxidativen Kapazitäten, Lagerfähigkeiten sowie der Extrahierbarkeiten

- Ermittlung des Einflusses einer druckgestützten, thermischen Prozessierung (PATP) mit einer HPP-Pilotanlage und einer zyklischen, industriellen Hochdruckbehandlung bei niedriger Temperatur auf den Gehalt lipophiler Lebensmittelinhaltsstoffe
- Anwendung eines *in-vitro*-Verdaumodells für die Untersuchung der Resorptionsverfügbarkeiten von (*all-E*)- β -Carotin, (*all-E*)-Lutein und Vitamin E hinsichtlich der Effekte von Druckregimen, Druckzyklen, Haltezeiten sowie Druck- und Temperaturkombinationen
- Vergleichende Untersuchung zwischen Niedrigdruck-Regimen mit verlängerter Haltezeit und Hochdruckregimen bezüglich der Extrahierbarkeiten und *in-vitro*-Resorptionsverfügbarkeiten von lipophilen Lebensmittelinhaltsstoffen sowie des Einflusses auf Zellkompartimente in Grünkohl (lichtmikroskopische Studie)

In der vorliegenden Dissertation konnten sieben Carotinoide, Chlorophyll a/b und Vitamin E quantitativ sowie Pheophytin-Isomere semiquantitativ in Grünkohl bestimmt werden. So wurden die Effekte der technischen HPP-Parameter von Druckregimen (10-600 MPa), Haltezeiten (5-40 min) und der Temperatur (10-80 °C, 600 MPa) sowie bis zu drei Druckzyklen (600 MPa) mit Labor-, Pilot- und Industriehochdruckanlagen untersucht. Weiterhin konnten über lichtmikroskopische Studien Hinweise auf Druckeffekte hinsichtlich der Änderungen zellulärer Strukturmerkmale in Grünkohl ermittelt werden. Ein Vergleich zwischen der Hochdruckbehandlung und der konventionellen Hitzesterilisierung erfolgte auch bezüglich der Lagerfähigkeit von Grünkohlproben bis zu acht Wochen unter Lichtausschluss bei 5 °C.

Innerhalb von Untersuchungen mit einer HPP-Laboranlage konnte gezeigt werden, dass die Extrahierbarkeiten lipophiler Pflanzenstoffe in Abhängigkeit von den gewählten Druck- und Haltezeitparametern signifikant im Vergleich zu unbehandelten Proben variieren können. Insbesondere die Probenvorbehandlung zu einem Püree oder zu einer gehackten Matrix konnte auf unterschiedliche Effekte der Druckregime und Haltezeiten zurückgeführt werden. Eine Erhöhung des hydrostatischen Drucks resultierte in einem Grünkohlpüree in reduzierten Gesamtcarotinoid- und Chlorophyllgehalten, während ein entgegengesetzter Effekt für gehackten Grünkohl ermittelt wurde. Eine Verlängerung der Druckhaltezeiten konnte innerhalb mehrerer Druckregime mit erhöhten Extrahierbarkeiten lipophiler bioaktiver Pflanzenstoffe sowohl in einem Grünkohlpüree als auch einer gehackten Matrix in Verbindung gebracht werden. Lipophile antioxidative Kapazitäten (L-ORAC, α TEAC) korrelierten mit ermittelten Extrahierbarkeiten der untersuchten Verbindungen aus druckbehandelten Proben.

Eine konventionelle Dampfsterilisation resultierte im Vergleich zu der Hochdruckbehandlung in signifikant reduzierten Gesamtcarotinoid- und Chlorophyllgehalten, während eine Temperaturstabilität von Vitamin E bestätigt werden konnte. Die lipophilen, antioxidativen Kapazitäten korrelierten bei dampfsterilisierten Proben nicht mit signifikant reduzierten

Gehalten der Gesamtcarotinoide und Chlorophylle, wodurch von zugleich antioxidativ wirksamen, thermischen Abbauprodukten ausgegangen werden könnte. Diese konnten jedoch im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht vollständig identifiziert und quantifiziert werden. Längere Lagerfähigkeiten wurden für dampfsterilisierte Proben in Bezug auf Gesamtcarotinoid- und Vitamin-E-Gehalte, jedoch nicht bezüglich der lipophilen, antioxidativen Kapazitäten, ermittelt. Das HPP-Verfahren kann daher im Vergleich zu der thermischen Behandlung als schonender Prozess mit parameterabhängiger, reduzierter Lagerfähigkeit beschrieben werden.

Die thermische Labilität von Carotinoiden und Chlorophyllen wurde nach dem PATP-Verfahren in einer HPP-Pilotanlage an einem Grünkohlpüree bestätigt. Eine Temperaturerhöhung bis zu 80 °C bei 600 MPa korrelierte mit einer Gehaltsreduktion der untersuchten Verbindungen mit Ausnahme von Vitamin E, dessen Extrahierbarkeit signifikant im Vergleich zu unbehandelten Proben anstieg. Kontrollproben bei moderater Temperatur (40 °C, atmosphärischer Druck) resultierten in signifikant erhöhten Gehalten an Chlorophyllen und Gesamtcarotinoiden im Vergleich zu Proben nach einer Behandlung mit 600 MPa (40 °C Starttemperatur). Insgesamt konnte der PATP-Prozess im Gegensatz zu der thermischen Dampfsterilisation als schonendes Konservierungsverfahren beschrieben werden, weil der Verlust thermisch labiler Verbindungen durch eine Kombination aus Druck und Temperatur reduziert werden konnte. Im Kontrast zu der PATP-Pilotanlage bei moderaten Temperaturen konnten keine signifikant erhöhten Chlorophyllgehalte in einem Grünkohlpüree aus einer industriellen HPP-Anlage (10 °C Starttemperatur) bei 600 MPa ermittelt werden, sondern lediglich erhöhte Gesamtcarotinoidgehalte ($p < 0,05$) nach einer einmaligen Druckbehandlung. Eine zyklische Verfahrensweise mit bis zu drei gepulsten Hochdruckanwendungen resultierte lediglich nach einem zweifachen Zyklus in signifikant erhöhten Vitamin-E-Gehalten. Daher erwies sich die Zyklenoperation diesbezüglich nicht als industriell relevant. Insgesamt konnten mit einer industriellen HPP-Anlage jedoch parameterabhängig signifikant erhöhte Extrahierbarkeiten von lipophilen Lebensmittelinhaltsstoffen ermittelt werden, welche zuvor mit einer Laboranlage in reduzierten Gehalten nach der Druckbehandlung vorlagen.

In-vitro-Resorptionsverfügbarkeiten von (*all-E*)- β -Carotin, (*all-E*)-Lutein und Vitamin E wurden reproduzierbar in einer saisonal unterschiedlichen Grünkohlmatrix nach den Hochdruckbehandlungen in Labor-, Pilot- und Industrieanlagen untersucht. Eine potentielle Abhängigkeit von der Polarität lipophiler Verbindungen resultierte wiederholt in geringen Mizellarisierungsraten von (*all-E*)- β -Carotin im Vergleich zu (*all-E*)-Lutein und Vitamin E. Insbesondere das PATP-Verfahren resultierte in signifikant erhöhten Resorptionsverfügbarkeiten von (*all-E*)- β -Carotin und (*all-E*)-Lutein durch Kombinationen von Druck und Temperatur bis zu 600 MPa (80 und 60 °C) sowie erhöhten Vitamin-E-

Verfügbarkeiten ($p \geq 0,05$). Das Hochdruckverfahren bei niedrigen Temperaturen von 10 °C (industrielle Anlage) sowie bei Raumtemperatur (Laboranlage) konnte mit nicht-signifikanten Trends hinsichtlich erhöhter Resorptionsverfügbarkeiten nach Verlängerung der Druckhaltezeiten, Erhöhung der Druckregime und der Zyklen in Verbindung gebracht werden.

Im Rahmen einer Niedrigdruck-Pilotstudie konnte erstmals mit einer Laboranlage eine um mehr als 100 % erhöhte Vitamin-E-Extrahierbarkeit in Grünkohlpüree nach der Druckbehandlung bei 10 MPa und 50 MPa (40 min) ermittelt werden. Die Erhöhung des Druckregimes auf 100 MPa (5-10 min) resultierte im Vergleich zu anderen Druckstufen (10-600 MPa) in hohem und im Vergleich zu unbehandelten Proben in einem signifikanten Verlust an Gesamtcotinoiden. Inwiefern Biosyntheseprozesse bzw. enzymatische Abbauprozesse zu Änderungen der Extrahierbarkeiten geführt haben können, konnte in der vorliegenden Arbeit nicht geklärt werden. Jedoch wurde lichtmikroskopisch eine Abhängigkeit der Plastoglobuli-Durchmesser (Lipidkörper) in Grünkohl von gewählten Druckstufen ermittelt, welche im Zusammenhang mit einer Vitamin-E-Biosynthese stehen könnten. Weiterhin ergaben signifikant reduzierte Resorptionsverfügbarkeiten von (*all-E*)- β -Carotin und (*all-E*)-Lutein nach einer Niedrigdruckbehandlung (50-100 MPa) einen Hinweis darauf, dass durch eine druckinduzierte Lipoxygenase-Aktivierung die Carotinoidgehalte in Grünkohl reduziert sein könnten.

Zusammenfassend konnte mit der vorliegenden Arbeit belegt werden, dass die Hochdruckbehandlung parameterabhängig sowohl zu einer signifikant reduzierten als auch erhöhten Extrahierbarkeit lipophiler, bioaktiver Pflanzenstoffe aus Grünkohl beitragen kann. Die Probenvorbehandlung erwies sich als potentiell wichtiger Faktor im Vergleich zwischen pürierter und gehackter Rohware. In Bezug auf den Verlust von Carotinoiden und Chlorophyllen können die Hochdruckbehandlungen bei niedrigen Temperaturen und Raumtemperatur sowie das PATP-Verfahren im Vergleich zu einer konventionellen Dampfsterilisation als schonende Konservierungsverfahren beschrieben werden. Dabei wurden mehrere potentielle Verfahrenswege ermittelt, um erhöhte Extrahierbarkeiten von gesundheitsfördernden Verbindungen wie Vitamin E sowie Carotinoiden und Chlorophyllen durch eine Druckbehandlung zu erreichen. Sowohl eine Temperaturerhöhung bei Hochdruck als auch eine Niedrigdruckbehandlung bei Raumtemperatur konnte zu signifikant erhöhten Vitamin-E-Gehalten beitragen. Für Carotinoide und Chlorophylle resultierte nicht nur die klassische Hochdruckbehandlung in höheren Extrahierbarkeiten, sondern auch für eine milde Temperaturerhöhung wurden signifikant gestiegene Resorptionsverfügbarkeiten ermittelt. Deshalb kann sich zukünftig eine Kombination aus Niedrigdruckverfahren und einer milden Druckpasteurisation zu einem interessanten Forschungsgebiet für erhöhte Extrahierbarkeiten und Resorptionsverfügbarkeiten lipophiler, bioaktiver Pflanzenstoffe entwickeln.

8 Summary

Nutrition is a basic human need, in which topics of health and sustainability are becoming increasingly important. Due to a growing world population and climate change, food processing industry is also faced with a challenging task. It is estimated that around a third of globally produced food is lost in terms of waste, which increases greenhouse gas footprints along the whole value chain including landfill. Consequently, food preservation can be crucial for reducing food waste and increasing sustainability in the food sector. High-pressure processing (HPP) offers the advantage that a gentle and sustainable preservation process for food ingredients may be offered not only in terms of low temperatures, but also by reusing the pressure medium.

Compared to conventional heat sterilization, high-pressure processing is also an alternative and new type of preservation with regards to marketing of pressure-treated food. Common HPP parameters may include the adjustment of pressure regimes, holding times and temperature according to a matrix to be treated and the desired extension of shelf life. High-pressure processing is often assumed being a gentle process, which was largely confirmed for hydrophilic, bioactive phytochemicals. Consequently, the hypothesis suggests itself that lipophilic, secondary food ingredients such as carotenoids, vitamin E and amphiphilic chlorophylls are not subject to any significant degradation in content by HPP processes. However, the hypothesis has not been sufficiently and scientifically investigated, especially considering low pressure, high pressure, pressure cycles, pressure holding times and elevated temperatures.

The dissertation included the following objectives for studies on a kale matrix:

- Investigating effects of pressure parameters such as holding time and pressure regimes on the extractability of lipophilic, bioactive plant ingredients and on the antioxidant capacity of kale extracts using an HPP laboratory plant
- Comparative study between conventional steam sterilization and high-pressure treatment of kale with regards to antioxidant capacity, storability and extractability
- Determination of the influence of pressure-assisted thermal processing (PATP) with an HPP pilot plant and a pulsed, industrial high-pressure treatment at low temperature on the content of lipophilic food ingredients
- Application of an *in-vitro* digestion model to investigate the bioaccessibility of (*all-E*)- β -carotene, (*all-E*)-lutein and vitamin E with regards to the effects of pressure regimes, pressure cycles, holding times as well as pressure and temperature combinations

- Comparative investigation between low-pressure regimes with extended holding times and high-pressure regimes with regards to the extractability and *in-vitro* bioaccessibility of lipophilic food ingredients and the influence on cell compartments in kale using light microscopic studies

In the present dissertation, 7 carotenoids, chlorophyll a/b and vitamin E in kale could be determined quantitatively including pheophytin isomers semi-quantitatively. The effects of technical HPP parameters such as pressure regimes (10-600 MPa), holding times (5-40 min) and temperature (10-80 °C, 600 MPa) as well as up to three pressure cycles (600 MPa) were examined with laboratory, pilot and industrial high-pressure plants. Furthermore, indications of pressure effects with regards to changes in cellular, structural features in kale could be determined via light microscopic studies. A comparison between high-pressure treatment and conventional heat sterilization was also carried out with regards to the storability of kale samples for up to 8 weeks under dark conditions (5 °C).

Investigations with an HPP laboratory system showed that extractabilities of lipophilic plant substances may vary significantly compared to untreated samples, depending on selected pressure and holding time parameters. In particular, sample pre-treatment towards a puree or to a chopped matrix could be traced back to different effects of pressure regimes and holding times. Increasing hydrostatic pressure in mashed kale resulted in reduced total carotenoid and chlorophyll levels, while an opposite effect was found for chopped kale. An increase of pressure holding times could be associated with increased extractabilities of lipophilic, bioactive plant substances in both a kale puree and a chopped matrix within several pressure regimes. Lipophilic, antioxidant capacities (L-ORAC, α TEAC) correlated with determined extractabilities of investigated compounds from pressure-treated samples.

Conventional steam sterilization resulted in significantly reduced total carotenoid and chlorophyll content compared to high-pressure treatment, while thermal stability of vitamin E could be confirmed. Lipophilic, antioxidant capacities in steam-sterilized samples did not correlate with significantly reduced levels of total carotenoids and chlorophylls, which means that a presence of thermal degradation products with an antioxidant effect could be assumed at the same time. However, these compounds could not be fully identified and quantified within the present work. Extended storability was determined for steam-sterilized samples in terms of total carotenoid and vitamin E levels, but not in terms of lipophilic antioxidant capacity. Compared to thermal treatments, HPP processing can therefore be described as a gentle process with a parameter-dependent, reduced storability.

Thermal lability of carotenoids and chlorophyll in mashed kale was confirmed by PATP methodology in an HPP pilot plant. A temperature increase of up to 80 °C at 600 MPa correlated with reduced contents of investigated compounds with the exception of vitamin E, whose

extractability increased significantly compared to untreated samples. Control samples at moderate temperature (40 °C, atmospheric pressure) resulted in significantly increased levels of chlorophyll and total carotenoids compared to samples treated at 600 MPa (40 °C start temperature). Overall, PATP methodology could be described as a gentle preservation process compared to conventional steam sterilization because a loss of thermally labile compounds could be reduced by a combination of pressure and temperature. In contrast to the PATP pilot plant at moderate temperatures, no significantly increased chlorophyll levels could be determined in a kale puree from an industrial HPP plant (10 °C starting temperature) at 600 MPa, but only increased total carotenoid levels ($p < 0.05$) after a single pressure treatment. A cyclic procedure with up to three pulsed high-pressure applications resulted in significantly increased vitamin E levels only after a double cycle. Therefore, cycle operation turned out being not of industrial relevance. Overall, significantly increased extractabilities of lipophilic food ingredients could be determined with an industrial HPP system in contrast to previously determined reduced ingredient levels after pressure treatments with a laboratory plant.

In-vitro bioaccessibilities of (*all-E*)- β -carotene, (*all-E*)-lutein and vitamin E were reproducibly investigated in seasonally different kale matrices after high-pressure treatments in laboratory, pilot and industrial plants. A potential dependence on the polarity of lipophilic compounds repeatedly resulted in low micellarization rates of (*all-E*)- β -carotene compared to (*all-E*)-lutein and vitamin E. In particular, the PATP procedure resulted in significantly increased bioaccessibilities of (*all-E*)- β -carotene and (*all-E*)-lutein by combination of pressure and temperature up to 600 MPa (60-80 °C) as well as in an elevated vitamin E bioaccessibility ($p \geq 0,05$). High-pressure processing at low temperatures of 10 °C (industrial plant) and at room temperature (laboratory plant) could be associated with non-significant trends in terms of increasing bioaccessibilities after extending pressure holding times, increasing pressure regimes and applied pressure cycles.

As part of a low-pressure pilot study, it was possible for the first time to determine a more than 100 % increase in vitamin E extractability in kale puree after pressure treatments at 10 MPa and 50 MPa (40 min) with a laboratory plant. Increasing pressure regimes to 100 MPa (5-10 min) resulted in a significant loss of total carotenoids compared to other pressure levels (10-600 MPa). It could not be clarified to what extent biosynthetic processes or enzymatic degradation processes may have led to changes in extractabilities in the present work. However, a dependence of plastoglobule diameters (lipid bodies) in kale on selected pressure was determined by light microscopy, which might be related to vitamin E biosynthesis. Furthermore, significantly reduced bioaccessibilities of (*all-E*)- β -carotene and (*all-E*)-lutein after low-pressure treatment (50-100 MPa) indicated that pressure-induced lipoygenase

activation may have led to reduced carotenoid contents in kale.

In summary, the present work demonstrated that high-pressure processing may contribute to both a significantly reduced and increased extractability of lipophilic, bioactive plant ingredients in kale, depending on pre-treatment and HPP parameters. Sample pre-treatment turned out to be a potentially important factor in comparison between pureed and chopped raw material. With regards to a loss of carotenoid and chlorophyll content, high-pressure treatments at low temperatures and room temperature as well as PATP methodology can be described as a gentle preservation technique compared to conventional steam sterilization. Several potential processing conditions were identified to achieve increased extractabilities of health-promoting compounds such as vitamin E as well as carotenoids and chlorophyll via pressure treatments. Both an increase of temperature at high pressure and a low-pressure treatment at room temperature could contribute to significantly increased vitamin E levels. For carotenoids and chlorophylls, conventional high-pressure treatment at low temperatures as well as a moderately elevated temperature parameter resulted in significantly increased bioaccessibilities. Therefore in future, a combination of low-pressure processes and mild pressure pasteurization may lead to an interesting research area for significantly increased extractabilities and bioaccessibilities of lipophilic, bioactive phytochemicals.

Literaturverzeichnis

- [1] Stange R. Eure Nahrungsmittel mögen Eure Heilmittel sein. Zeitschrift für Komplementärmedizin 2010; 2: 1–1.
doi:10.1055/s-0030-1250013
- [2] Pilcher JM. Nahrung und Ernährung in der Menschheitsgeschichte. Magnus Verlag Essen; 2006.
- [3] Paakki M, Kantola M, Junkkari T, *et al.* “Unhealthy = Tasty”: How Does It Affect Consumers’ (Un)Healthy Food Expectations? Foods 2022; 11: 3139.
doi:10.3390/foods11193139
- [4] Smollich M. Das große Praxisbuch Ernährungsmedizin. 1. Auflage. München: Gräfe und Unzer Verlag GmbH; 2022.
- [5] Behnlian D, Bröder J, Tauer J, *et al.* Einordnung von Lebensmitteln nach dem Verarbeitungsgrad und Bewertung gängiger Klassifizierungssysteme in der Ernährungsforschung. Bonn: Deutsche Gesellschaft für Ernährung; 2023.
- [6] Reddy MB, Love M. The impact of food processing on the nutritional quality of vitamins and minerals. Adv Exp Med Biol 1999; 459: 99–106.
doi:10.1007/978-1-4615-4853-9_7
- [7] van Boekel M, Fogliano V, Pellegrini N, *et al.* A review on the beneficial aspects of food processing. Mol Nutr Food Res 2010; 54: 1215–1247.
doi:10.1002/mnfr.200900608
- [8] European Parliament. Directorate General for Internal Policies of the Union., Langelaan H, Thoden van Velzen U, *et al.* Technology options for feeding 10 billion people: options for sustainable food processing : state of the art report. European Parliament; 2014.
doi:10.2861/43440
- [9] Keating BA, Herrero M, Carberry PS, *et al.* Food wedges: Framing the global food demand and supply challenge towards 2050. Glob Food Secur 2014; 3: 125–132.
doi:10.1016/j.gfs.2014.08.004
- [10] Honorio AR, Pereira GS, Lopes CMA, *et al.* How can previous knowledge about food science/technology and received information affect consumer perception of processed orange juice? J Sens Stud 2019; 34: e12525.
doi:10.1111/joss.12525
- [11] Meier BP, Dillard AJ, Lappas CM. Naturally better? A review of the natural-is-better bias. Soc Personal Psychol Compass 2019; 13: e12494. doi:10.1111/spc3.12494
- [12] Sun D-W, Hrsg. Thermal Food Processing: New Technologies and Quality Issues. 2. Aufl. CRC Press, Boca Raton; 2012.
doi:10.1201/b12112
- [13] Atuonwu JC, Leadley C, Bosman A, *et al.* Comparative assessment of innovative and conventional food preservation technologies: Process energy performance and greenhouse gas emissions. Innov Food Sci Emerg Technol 2018; 50: 174–187.
doi:10.1016/j.ifset.2018.09.008
- [14] Rechkemmer G. Nutritional Aspects. In: Thermal Processing of Food. John Wiley & Sons, Ltd; 2007: 50–65.
doi:10.1002/9783527611492.ch5
- [15] Nabi BG, Mukhtar K, Arshad RN, *et al.* High-Pressure Processing for Sustainable Food Supply. Sustainability 2021; 13: 13908. doi:10.3390/su132413908
- [16] Balasubramaniam VM, Barbosa-Cánovas GV, Lelieveld HLM, Hrsg. High-Pressure Processing Equipment for the Food Industry. In: High Pressure Processing of Food: Principles, Technology and Applications. New York, NY: Springer New York; 2016: 39–65.

- [17] Panel, Koutsoumanis K, Alvarez-Ordóñez A, *et al.* The efficacy and safety of high-pressure processing of food. *EFSA J* 2022; 20: e07128.
doi:10.2903/j.efsa.2022.7128
- [18] Food Safety and Inspections Service, U.S. Department of Agriculture. FSIS Directive 6120.2 - High Pressure Processing (HPP) and Inspection Program Personnel (IPP) Verification Responsibilities. 2012.
- [19] Caner C, Hernandez R, Harte B. High-pressure processing effects on the mechanical, barrier and mass transfer properties of food packaging flexible structures: A critical review. *Packag Technol Sci* 2004; 17: 23–29.
doi:10.1002/pts.635
- [20] Balasubramaniam VM, Barbosa-Cánovas GV, Lelieveld HLM, Hrsg. High Pressure Applications in Various Food Industry Sectors. In: *High Pressure Processing of Food: Principles, Technology and Applications*. New York, NY: Springer New York; 2016: 541–669.
- [21] Bansal V, Siddiqui MW, Rahman MS. Minimally Processed Foods: Overview. In: Siddiqui MW, Rahman MS, Hrsg. *Minimally Processed Foods: Technologies for Safety, Quality, and Convenience*. Cham: Springer International Publishing; 2015: 1–15.
- [22] Ohlsson T. Minimal processing-preservation methods of the future: an overview. *Trends Food Sci Technol* 1994; 5: 341–344.
doi:10.1016/0924-2244(94)90210-0
- [23] Roobab U, Khan AW, Lorenzo JM, *et al.* A systematic review of clean-label alternatives to synthetic additives in raw and processed meat with a special emphasis on high-pressure processing (2018–2021). *Food Res Int* 2021; 150: 110792.
doi:10.1016/j.foodres.2021.110792
- [24] Barbosa-Cánovas GV, Bermúdez-Aguirre D, Gonçalves Franco B, *et al.* Chapter 12 - Novel food processing technologies and regulatory hurdles. In: Martinović A, Oh S, Lelieveld H, Hrsg. *Ensuring Global Food Safety*. Academic Press; 2022: 221–228.
- [25] Serment-Moreno V, Tonello-Samson C. Chapter 17 - An introduction to packaging for commercial high-pressure processing (HPP) applications. In: Barba FJ, Tonello-Samson C, Puértolas E, *et al.*, Hrsg. *Present and Future of High Pressure Processing*. Elsevier; 2020: 381–404.
- [26] Barbhuiya RI, Singha P, Singh SK. A comprehensive review on impact of non-thermal processing on the structural changes of food components. *Food Res Int* 2021; 149: 110647.
doi:10.1016/j.foodres.2021.110647
- [27] Tewari S, Sehrawat R, Nema PK, *et al.* Preservation effect of high pressure processing on ascorbic acid of fruits and vegetables: A review. *J Food Biochem* 2017; 41: e12319.
doi:https://doi.org/10.1111/jfbc.12319
- [28] Taoukis PS, Panagiotidis P, Stoforos NG, *et al.* Kinetics of Vitamin C Degradation under High Pressure–Moderate Temperature Processing in Model Systems and Fruit Juices. In: *High Pressure Food Science, Bioscience and Chemistry*. Elsevier; 1998: 310–316.
doi:10.1533/9781845698379.4.310
- [29] Quaglia GB, Gravina R, Paperi R, *et al.* Effect of High Pressure Treatments on Peroxidase Activity, Ascorbic Acid Content and Texture in Green Peas. *LWT - Food Sci Technol* 1996; 29: 552–555.
doi:10.1006/fstl.1996.0084
- [30] Giorgetti L, Giorgi G, Cherubini E, *et al.* Screening and identification of major phytochemical compounds in seeds, sprouts and leaves of Tuscan black kale *Brassica oleracea* (L.) ssp *acephala* (DC) var. *sabellica* L. *Nat Prod Res* 2018; 32: 1617–1626.
doi:10.1080/14786419.2017.1392953

- [31] Dias JS. Nutritional Quality and Health Benefits of Vegetables: A Review. *Food Nutr Sci* 2012; 03: 1354–1374.
doi:10.4236/fns.2012.310179
- [32] Park S-Y, Choi SR, Lim S-H, *et al.* Identification and quantification of carotenoids in paprika fruits and cabbage, kale, and lettuce leaves. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 2014; 57: 355–358.
doi:10.1007/s13765-014-4081-5
- [33] Müller H. Determination of the carotenoid content in selected vegetables and fruit by HPLC and photodiode array detection. *Z Lebensm Unters Forsch.* 1997; 204: 88–94.
doi:10.1007/s002170050042
- [34] Kurilich AC, Tsau GJ, Brown A, *et al.* Carotene, Tocopherol, and Ascorbate Contents in Subspecies of *Brassica oleracea*. *J Agric Food Chem* 1999; 47: 1576–1581.
doi:10.1021/jf9810158
- [35] Šamec D, Urlič B, Salopek-Sondi B. Kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) as a superfood: Review of the scientific evidence behind the statement. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2019; 59: 2411–2422.
doi:10.1080/10408398.2018.1454400
- [36] Satheesh N, Workneh Fanta S. Kale: Review on nutritional composition, bio-active compounds, anti-nutritional factors, health beneficial properties and value-added products. *Cogent Food Agric* 2020; 6: 1811048.
doi:10.1080/23311932.2020.1811048
- [37] Becerra-Moreno A, Alanís-Garza PA, Mora-Nieves JL, *et al.* Kale: An excellent source of vitamin C, pro-vitamin A, lutein and glucosinolates. *CyTA - J Food* 2014; 12: 298–303.
doi:10.1080/19476337.2013.850743
- [38] Ortega-Hernández E, Antunes-Ricardo M, Jacobo-Velázquez DA. Improving the Health-Benefits of Kales (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC) through the Application of Controlled Abiotic Stresses: A Review. *Plants* 2021; 10: 2629.
doi:10.3390/plants10122629
- [39] Lemos M, Santin JR, Júnior LCK, *et al.* Gastroprotective activity of hydroalcoholic extract obtained from the leaves of *Brassica oleracea* var. *acephala* DC in different animal models. *J Ethnopharmacol* 2011; 138: 503–507.
doi:10.1016/j.jep.2011.09.046
- [40] Kuerban A, Yaghmoor S, Almulaiky Y, *et al.* Therapeutic Effects of Phytochemicals of Brassicaceae for Management of Obesity. *J Pharm Res Int* 2017; 19: 1–11.
doi:10.9734/JPRI/2017/37617
- [41] Charron CS, Novotny JA, Jeffery EH, *et al.* Consumption of baby kale increased cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) activity and influenced bilirubin metabolism in a randomized clinical trial. *J Funct Foods* 2020; 64: 103624.
doi:10.1016/j.jff.2019.103624
- [42] Arenas-Jal M, Suñé-Negre JM, Pérez-Lozano P, *et al.* Trends in the food and sports nutrition industry: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2020; 60: 2405–2421.
doi:10.1080/10408398.2019.1643287
- [43] Vereecken C, Pedersen TP, Ojala K, *et al.* Fruit and vegetable consumption trends among adolescents from 2002 to 2010 in 33 countries. *Eur J Public Health* 2015; 25: 16–19.
doi:10.1093/eurpub/ckv012
- [44] Heinz V, Buckow R. Food preservation by high pressure. *J Verbr Lebensm* 2010; 5: 73–81.
doi:10.1007/s00003-009-0311-x
- [45] Kaloyereas SA. On the History of Food Preservation. *Sci Mon* 1950; 71: 422–424.
<http://www.jstor.org/stable/20208> (aufgerufen am 3. Sept. 2023)
- [46] Rahman MS. *Handbook of Food Preservation*. 3. Aufl. CRC Press, Boca Raton; 2020.

- [47] Monteiro CA, Levy RB, Claro RM, *et al.* A new classification of foods based on the extent and purpose of their processing. *Cad Saúde Pública* 2010; 26: 2039–2049. doi:10.1590/S0102-311X2010001100005
- [48] Romero Ferreiro C, Lora Pablos D, Gómez de la Cámara A. Two Dimensions of Nutritional Value: Nutri-Score and NOVA. *Nutrients* 2021; 13: 2783. doi:10.3390/nu13082783
- [49] Rahman MS, Siddiqui MW, Hrsg. *Minimally Processed Foods: Technologies for Safety, Quality, and Convenience*. 1. Auflage. Springer International Publishing 2015.
- [50] Berk Z. *Food process engineering and technology*. 1. Auflage. Amsterdam Boston London: Academic; 2009.
- [51] Erkmén O, Bozoglu TF, Hrsg. *Enzymatic and Nonenzymatic Food Spoilage*. In: *Food Microbiology: Principles into Practice*. Wiley; 2016: 401–406.
- [52] Rodríguez-González O, Buckow R, Koutchma T, *et al.* Energy Requirements for Alternative Food Processing Technologies—Principles, Assumptions, and Evaluation of Efficiency. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2015; 14: 536–554. doi:10.1111/1541-4337.12142
- [53] Lado BH, Yousef AE. Alternative food-preservation technologies: efficacy and mechanisms. *Microbes Infect* 2002; 4: 433–440. doi:10.1016/S1286-4579(02)01557-5
- [54] Amit SK, Uddin MdM, Rahman R, *et al.* A review on mechanisms and commercial aspects of food preservation and processing. *Agric Food Secur* 2017; 6: 51. doi:10.1186/s40066-017-0130-8
- [55] Lavigne C, Zee J, Simard R, *et al.* Effect of Processing and Storage Conditions on the Fate of Vitamins B1, B2, and C and on the Shelf-Life of Goat's Milk. *J Food Sci* 1989; 54: 30–34. doi:10.1111/j.1365-2621.1989.tb08560.x
- [56] Huang M, Zhang M, Bhandari B. Recent development in the application of alternative sterilization technologies to prepared dishes: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2019; 59: 1188–1196. doi:10.1080/10408398.2017.1421140
- [57] Patazca E, Koutchma T, Balasubramaniam VM. Quasi-adiabatic temperature increase during high pressure processing of selected foods. *J Food Eng* 2007; 80: 199–205. doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.05.014
- [58] Knorr D. Hydrostatic pressure treatment of food: microbiology. In: Gould GW, Hrsg. *New Methods of Food Preservation*. Boston, MA: Springer US; 1995: 159–175.
- [59] DFG Senatskommission zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln (SKLM). *Stellungnahme zur Behandlung von Lebensmitteln mit hydrostatischem Hochdruck*. Bonn: Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); 2019. https://www.dfg.de/download/pdf/dfg_im_profil/geschaeftsstelle/publikationen/stellungnahmen_papiere/2019/191212_sklm_stellungnahme_hochdruck.pdf (aufgerufen am 03.09.2023)
- [60] Balasubramaniam VM, Barbosa-Cánovas GV, Lelieveld HLM, Hrsg. *Preface*. In: *High Pressure Processing of Food: Principles, Technology and Applications*. New York, NY: Springer New York; 2016: v–vii.
- [61] Yordanov D, Angelova GV. High Pressure Processing for Foods Preserving. *Biotechnol Biotechnol Equip* 2010; 24: 1940–1945. doi:10.2478/V10133-010-0057-8
- [62] Schwarzenbolz U. Mit Hochdruck. *Lebensmittelchemie* 2021; 75: 12–15. doi:https://doi.org/10.1002/lemi.202100104
- [63] Tao Y, Sun D-W, Hogan E, Kelly AL. High Pressure Processing of Foods: An Overview. In: *Emerging technologies for food processing*. 2. Auflage. London: Elsevier Academic Press; 2014: 3–24.

- [64] Marangoni Júnior L, Alves RMV, Moreira CQ, *et al.* High-pressure processing effects on the barrier properties of flexible packaging materials. *J Food Process Preserv* 2020; 44: e14865.
doi:10.1111/jfpp.14865
- [65] Elamin WM, Endan JB, Yosuf YA, *et al.* High Pressure Processing Technology and Equipment Evolution : A Review. *J Eng Sci Technol Rev* 2015; 8: 75–83.
doi:10.25103/jestr.085.11
- [66] Koutchma TN. Adapting high hydrostatic pressure (HPP) for food processing operations. 1. Auflage. London, UK San Diego, CA: Elsevier Academic Press; 2014.
- [67] Wang L. Integration of Food Process Engineering and Food Microbial Growth. In: *Handbook of Food Safety Engineering*. John Wiley & Sons, Ltd; 2011: 153–175.
- [68] Szczepańska J, Skąpska S, Lorenzo JM, *et al.* The Influence of Static and Multi-Pulsed Pressure Processing on the Enzymatic and Physico-Chemical Quality, and Antioxidant Potential of Carrot Juice During Refrigerated Storage. *Food Bioprocess Technol* 2021; 14: 52–64.
doi:10.1007/s11947-020-02577-9
- [69] Szczepańska J, Barba FJ, Skąpska S, *et al.* High pressure processing of carrot juice: Effect of static and multi-pulsed pressure on the polyphenolic profile, oxidoreductases activity and colour. *Food Chem* 2020; 307: 125549.
doi:10.1016/j.foodchem.2019.125549
- [70] Szczepańska J, Barba FJ, Skąpska S, *et al.* Changes in the polyphenolic profile and oxidoreductases activity under static and multi-pulsed high pressure processing of cloudy apple juice. *Food Chem* 2022; 384: 132439.
doi:10.1016/j.foodchem.2022.132439
- [71] Buzrul S. Multi-pulsed high hydrostatic pressure inactivation of microorganisms: A review. *Innov Food Sci Emerg Technol* 2014; 26: 1–11.
doi:10.1016/j.ifset.2014.07.004
- [72] Wang L, Xu C, Huang P, *et al.* Single- and multi-cycle high hydrostatic pressure treatment on microbiological quality of mud snail (*Bullacta exarata*) during refrigerated storage. *Food Control* 2016; 65: 1–7.
doi:10.1016/j.foodcont.2016.01.010
- [73] Donsi G, Ferrari G, Maresca P. Pasteurization of Fruit Juices by Means of a Pulsed High Pressure Process. *J Food Sci* 2010; 75: E169–E177.
doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01535.x
- [74] Morales P, Calzada J, Rodríguez B, *et al.* Inactivation of Salmonella Enteritidis in Chicken Breast Fillets by Single-Cycle and Multiple-Cycle High Pressure Treatments. *Foodborne Pathog Dis* 2009; 6: 577–581.
doi:10.1089/fpd.2008.0218
- [75] Balasubramaniam VM, Barbosa-Cánovas GV, Lelieveld HLM, Hrsg. Microbiological Aspects of High-Pressure Processing of Food: Inactivation of Microbial Vegetative Cells and Spores. In: *High Pressure Processing of Food: Principles, Technology and Applications*. New York, NY: Springer New York; 2016: 271–294.
- [76] Serment-Moreno V, Jacobo-Velázquez DA, Torres JA, *et al.* Microstructural and Physiological Changes in Plant Cell Induced by Pressure: Their Role on the Availability and Pressure-Temperature Stability of Phytochemicals. *Food Eng Rev* 2017; 9: 314–334.
doi:10.1007/s12393-017-9158-6
- [77] Jun X. High-Pressure Processing as Emergent Technology for the Extraction of Bioactive Ingredients From Plant Materials. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2013; 53: 837–852.
doi:10.1080/10408398.2011.561380
- [78] Cilla A, Bosch L, Barberá R, *et al.* Effect of processing on the bioaccessibility of bioactive compounds – A review focusing on carotenoids, minerals, ascorbic acid, tocopherols and polyphenols. *J Food Compos Anal* 2018; 68: 3–15.
doi:10.1016/j.jfca.2017.01.009

- [79] Denoya GI, Nanni MS, Apóstolo NM, *et al.* Biochemical and microstructural assessment of minimally processed peaches subjected to high-pressure processing: Implications on the freshness condition. *Innov Food Sci Emerg Technol* 2016; 36: 212–220.
doi:10.1016/j.ifset.2016.06.026
- [80] Jacobo-Velázquez DA, Cuéllar-Villarreal M del R, Welti-Chanes J, *et al.* Nonthermal processing technologies as elicitors to induce the biosynthesis and accumulation of nutraceuticals in plant foods. *Trends Food Sci Technol* 2017; 60: 80–87.
doi:10.1016/j.tifs.2016.10.021
- [81] Jacobo-Velázquez DA, González-Agüero M, Cisneros-Zevallos L. Cross-talk between signaling pathways: The link between plant secondary metabolite production and wounding stress response. *Sci Rep* 2015; 5: 8608.
doi:10.1038/srep08608
- [82] Jacobo-Velázquez DA, Martínez-Hernández GB, del C. Rodríguez S, *et al.* Plants as Biofactories: Physiological Role of Reactive Oxygen Species on the Accumulation of Phenolic Antioxidants in Carrot Tissue under Wounding and Hyperoxia Stress. *J Agric Food Chem* 2011; 59: 6583–6593.
doi:10.1021/jf2006529
- [83] Ortega VG, Ramírez JA, Velázquez G, *et al.* Effect of high hydrostatic pressure on antioxidant content of „Ataulfo“ mango during postharvest maturation. *Food Sci Technol* 2013; 33: 561–568.
doi:10.1590/S0101-20612013005000062
- [84] Ramos-Parra PA, García-Salinas C, Rodríguez-López CE, *et al.* High hydrostatic pressure treatments trigger de novo carotenoid biosynthesis in papaya fruit (*Carica papaya* cv. Maradol). *Food Chem* 2019; 277: 362–372.
doi:10.1016/j.foodchem.2018.10.102
- [85] Van den Broeck I, Ludikhuyze LR, Van Loey AM, *et al.* Inactivation of Orange Pectinesterase by Combined High-Pressure and -Temperature Treatments: A Kinetic Study. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 1960–1970.
doi:10.1021/jf990659s
- [86] Van den Broeck I, Ludikhuyze LR, Van Loey AM, *et al.* Effect of Temperature and/or Pressure on Tomato Pectinesterase Activity. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 551–558.
doi:10.1021/jf990569n
- [87] Nienaber U, Shellhammer TH. High-Pressure Processing of Orange Juice: Kinetics of Pectinmethylesterase Inactivation. *J Food Sci* 2001; 66: 328–331.
doi:10.1111/j.1365-2621.2001.tb11341.x
- [88] Anese M, Nicolli MC, Dall'aglio G, *et al.* Effect of High Pressure Treatments on Peroxidase and Polyphenoloxidase Activities. *J Food Biochem* 1994; 18: 285–293.
doi:10.1111/j.1745-4514.1994.tb00503.x
- [89] Gomes MRA, Ledward DA. Effect of high-pressure treatment on the activity of some polyphenoloxidases. *Food Chem* 1996; 56: 1–5.
doi:10.1016/0308-8146(95)00141-7
- [90] Weemaes C, Ludikhuyze L, Van Den Broeck I, *et al.* High Pressure Inactivation of Polyphenoloxidases. *J Food Sci* 1998; 63: 873–877.
doi:10.1111/j.1365-2621.1998.tb17917.x
- [91] Seyderhelm I, Boguslawski S, Michaelis G, *et al.* Pressure Induced Inactivation of Selected Food Enzymes. *J Food Sci* 1996; 61: 308–310.
doi:10.1111/j.1365-2621.1996.tb14182.x
- [92] Indrawati, Van Loey AM, Ludikhuyze LR, *et al.* Soybean Lipoxygenase Inactivation by Pressure at Subzero and Elevated Temperatures. *J Agric Food Chem* 1999; 47: 2468–2474.
doi:10.1021/jf9811875

- [93] Ludikhuyze L, Indrawati, Van den Broeck I, *et al.* Effect of Combined Pressure and Temperature on Soybean Lipoxygenase. 2. Modeling Inactivation Kinetics under Static and Dynamic Conditions. *J Agric Food Chem* 1998; 46: 4081–4086.
doi:10.1021/jf9802575
- [94] Sun D-W. Emerging technologies for food processing. 2. Auflage. London: Elsevier Academic Press; 2014.
- [95] Mozhaev VV, Heremans K, Frank J, *et al.* Exploiting the effects of high hydrostatic pressure in biotechnological applications. *Trends Biotechnol* 1994; 12: 493–501.
doi:10.1016/0167-7799(94)90057-4
- [96] Mozhaev VV, Heremans K, Frank J, *et al.* High pressure effects on protein structure and function. *Proteins Struct Funct Bioinforma* 1996; 24: 81–91.
doi:10.1002/(SICI)1097-0134(199601)24:1<81::AID-PROT6>3.0.CO;2-R
- [97] Sun MMC, Clark DS. Pressure effects on activity and stability of hyperthermophilic enzymes. In: *Methods in Enzymology*. Academic Press; 2001: 316–327.
doi:10.1016/S0076-6879(01)34479-8
- [98] Michels PC, Clark DS. Pressure Dependence of Enzyme Catalysis. In: *Biocatalysis at Extreme Temperatures*. American Chemical Society; 1992: 108–121.
doi:10.1021/bk-1992-0498.ch008
- [99] Balny C, Masson P. Effects of high pressure on proteins. *Food Rev Int* 1993; 9: 611–628.
doi:10.1080/87559129309540980
- [100] Gross M, Jaenicke R. Proteins under pressure. The influence of high hydrostatic pressure on structure, function and assembly of proteins and protein complexes. *Eur J Biochem* 1994; 221: 617–630.
doi:10.1111/j.1432-1033.1994.tb18774.x
- [101] Morild E. The Theory of Pressure Effects on Enzymes. In: Anfinsen CB, Edsall JT, Richards FM, Hrsg. *Advances in Protein Chemistry*. Academic Press; 1981: 93–166.
doi:10.1016/S0065-3233(08)60519-7
- [102] Stinco CM, Szczepańska J, Marszałek K, *et al.* Effect of high-pressure processing on carotenoids profile, colour, microbial and enzymatic stability of cloudy carrot juice. *Food Chem* 2019; 299: 125112.
doi:10.1016/j.foodchem.2019.125112
- [103] Terefe NS, Buckow R, Versteeg C. Quality-Related Enzymes in Fruit and Vegetable Products: Effects of Novel Food Processing Technologies, Part 1: High-Pressure Processing. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2014; 54: 24–63.
doi:10.1080/10408398.2011.566946
- [104] Chedea VS, Jisaka M. Lipoxygenase and carotenoids: A co-oxidation story. *Afr J Biotechnol* 2013; 12: 2786–2791.
doi:10.5897/AJB12.2944
- [105] Tedjo W, Eshtiaghi M, Knorr D. Impact of Supercritical Carbon Dioxide and High Pressure on Lipoxygenase and Peroxidase Activity. *J Food Sci* 2000; 65: 1284–1287.
doi:10.1111/j.1365-2621.2000.tb10597.x
- [106] Eisenmenger MJ, Reyes-De-Corcuera JI. High pressure enhancement of enzymes: A review. *Enzyme Microb Technol* 2009; 45: 331–347.
doi:10.1016/j.enzmictec.2009.08.001
- [107] Schopfer P, Brennicke A. Produkte und Wege des biosynthetischen Stoffwechsels – eine kleine Auswahl. In: Schopfer P, Brennicke A, Hrsg. *Pflanzenphysiologie*. Berlin, Heidelberg: Springer; 2010: 355–372
- [108] Mendoza N, Silva EME, Mendoza N, *et al.* Introduction to Phytochemicals: Secondary Metabolites from Plants with Active Principles for Pharmacological Importance. IntechOpen; 2018.
doi:10.5772/intechopen.78226
- [109] Taiz L, Zeiger E, Dreßen U, *et al.* *Physiologie der Pflanzen*. 1. Auflage. Heidelberg Berlin: Spektrum Akad Verl; 1999.

- [110] Pyne ME, Narcross L, Martin VJJ. Engineering Plant Secondary Metabolism in Microbial Systems. *Plant Physiol* 2019; 179: 844–861.
doi:10.1104/pp.18.01291
- [111] Câmara JS, Albuquerque BR, Aguiar J, *et al.* Food Bioactive Compounds and Emerging Techniques for Their Extraction: Polyphenols as a Case Study. *Foods* 2021; 10: 37.
doi:10.3390/foods10010037
- [112] Watzl B, Leitzmann C. Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln. 3., unveränd. Aufl. Stuttgart: Hippokrates; 2005.
- [113] Guaadaoui A, Benaïcha S, Elmajdoub N, *et al.* What is a Bioactive Compound? A Combined Definition for a Preliminary Consensus. *Int J Nutr Food Sci* 2014; 3: 174.
doi:10.11648/j.ijnfs.20140303.16
- [114] Dias JS. Major Classes of Phytonutriceuticals in Vegetables and Health Benefits: A Review. *J Nutr Ther* 2012.
doi:10.6000/1929-5634.2012.01.01.5
- [115] Kris-Etherton PM, Lefevre M, Beecher GR, *et al.* Bioactive Compounds in Nutrition and Health-Research Methodologies for Establishing Biological Function: The Antioxidant and Anti-inflammatory Effects of Flavonoids on Atherosclerosis. *Annu Rev Nutr* 2004; 24: 511–538.
doi:10.1146/annurev.nutr.23.011702.073237
- [116] Amiot-Carlin MJ. Digestion and absorption of lipophilic food micronutrients. In: *Designing Functional Foods*. Elsevier; 2009: 171–193.
doi: <https://doi.org/10.1533/9781845696603.1.171>
- [117] Nobel Laureates. *Nature* 1939; 144: 858–859.
doi:10.1038/144858a0
- [118] Gómez-García MDR, Ochoa-Alejo N. Biochemistry and Molecular Biology of Carotenoid Biosynthesis in Chili Peppers (*Capsicum* spp.). *Int J Mol Sci* 2013; 14: 19025–19053.
doi:10.3390/ijms140919025
- [119] Amorim-Carrilho KT, Cepeda A, Fente C, *et al.* Review of methods for analysis of carotenoids. *TrAC Trends Anal Chem* 2014; 56: 49–73.
doi:10.1016/j.trac.2013.12.011
- [120] Rao AV, Rao LG. Carotenoids and human health. *Pharmacol Res* 2007; 55: 207–216.
doi:10.1016/j.phrs.2007.01.012
- [121] Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H, Hrsg. *Carotenoids: Handbook*. Basel: Birkhäuser Basel; 2004.
- [122] Maoka T. Recent progress in structural studies of carotenoids in animals and plants. *Arch Biochem Biophys* 2009; 483: 191–195.
doi:10.1016/j.abb.2008.10.019
- [123] Honda M. Chapter 5 - Carotenoid isomers: A systematic review of the analysis, biological activity, physicochemical property, and methods for isomerization. In: *Attar-Rahman, Hrsg. Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier; 2021: 173–220.
- [124] Hashimoto H, Uragami C, Cogdell RJ. Carotenoids and Photosynthesis. In: *Stange C, Hrsg. Carotenoids in Nature: Biosynthesis, Regulation and Function*. Springer International Publishing; 2016: 111–139.
- [125] Araki G, Murai T. Molecular Structure and Absorption Spectra of Carotenoids. *Prog Theor Phys* 1952; 8: 639–654.
doi:10.1143/PTP.8.639
- [126] Suzuki H, Mizuhashi S. π -Electronic Structure and Absorption Spectra of Carotenoids. *J Phys Soc Jpn* 1964; 19: 724–738.
doi:10.1143/JPSJ.19.724

- [127] Meléndez-Martínez AJ, Mandić AI, Bantis F, *et al.* A comprehensive review on carotenoids in foods and feeds: status quo, applications, patents, and research needs. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2022; 62: 1999–2049.
doi:10.1080/10408398.2020.1867959
- [128] Bhatt T, Patel K. Carotenoids: Potent to Prevent Diseases Review. *Nat Prod Bioprospecting* 2020; 10: 109–117.
doi:10.1007/s13659-020-00244-2
- [129] Meléndez-Martínez AJ. An Overview of Carotenoids, Apocarotenoids, and Vitamin A in Agro-Food, Nutrition, Health, and Disease. *Mol Nutr Food Res* 2019; 63: 1801045.
doi:10.1002/mnfr.201801045
- [130] Jeon Y-J, Myung S-K, Lee E-H, *et al.* Effects of Beta-Carotene Supplements on Cancer Prevention: Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutr Cancer* 2011; 63: 1196–1207.
doi:10.1080/01635581.2011.607541
- [131] Middha P, Weinstein SJ, Männistö S, *et al.* β -Carotene Supplementation and Lung Cancer Incidence in the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study: The Role of Tar and Nicotine. *Nicotine Tob Res* 2019; 21: 1045–1050.
doi:10.1093/ntr/nty115
- [132] Aktualisierte Höchstmengenvorschläge für Vitamine und Mineralstoffe in Nahrungsergänzungsmitteln und angereicherten Lebensmitteln: Stellungnahme Nr. 009/2021 des BfR vom 15. März 2021. *BfR-Stellungnahmen* 2021.
doi:10.17590/20210315-143130
- [133] Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative Stress. *Annu Rev Biochem* 2017; 86: 715–748.
doi:10.1146/annurev-biochem-061516-045037
- [134] Stahl W, Sies H. Antioxidant activity of carotenoids. *Mol Aspects Med* 2003; 24: 345–351.
doi:10.1016/S0098-2997(03)00030-X
- [135] Pérez-Gálvez A, Viera I, Roca M. Carotenoids and Chlorophylls as Antioxidants. *Antioxidants* 2020; 9: 505.
doi:10.3390/antiox9060505
- [136] Evans HM, Bishop KS. On the Existence of a Hitherto Unrecognized Dietary Factor Essential for Reproduction. *Science* 1922; 56: 650–651.
doi:10.1126/science.56.1458.650
- [137] Olcott HS, Mattill HA. The unsaponifiable lipids of lettuce: III. Antioxidant. *J Biol Chem* 1931; 93: 65–70.
doi:10.1016/S0021-9258(18)76489-2
- [138] Best CH, McHenry EW. The Vitamins. *Can Med Assoc J* 1930; 22: 540.
- [139] Sherman HC. The vitamins. V. *J Chem Educ* 1927; 4: 323.
doi:10.1021/ed004p323
- [140] Jiang Q. Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. *Free Radic Biol Med* 2014; 72: 76–90.
doi:10.1016/j.freeradbiomed.2014.03.035
- [141] Müller L, Theile K, Böhm V. In vitro antioxidant activity of tocopherols and tocotrienols and comparison of vitamin E concentration and lipophilic antioxidant capacity in human plasma. *Mol Nutr Food Res* 2010; 54: 731–742.
doi:10.1002/mnfr.200900399
- [142] Traber MG. Utilization of vitamin E. *BioFactors* 1999; 10: 115–120.
doi:10.1002/biof.5520100205
- [143] Weiser H, Vecchi M. Stereoisomers of alpha-tocopheryl acetate. II. Biopotencies of all eight stereoisomers, individually or in mixtures, as determined by rat resorption-gestation tests. *Int J Vitam Nutr Res* 1982; 52: 351–370.

- [144] Sontag TJ, Parker RS. Influence of major structural features of tocopherols and tocotrienols on their ω -oxidation by tocopherol- ω -hydroxylase. *J Lipid Res* 2007; 48: 1090–1098.
doi:10.1194/jlr.M600514-JLR200
- [145] Niki E. Hrsg. Vitamin E: Chemistry and nutritional benefits. *R Soc Chem* 2019.
doi:10.1039/9781788016216
- [146] Burton GW, Ingold KU. Autoxidation of biological molecules. 1. Antioxidant activity of vitamin E and related chain-breaking phenolic antioxidants in vitro. *J Am Chem Soc* 1981; 103: 6472–6477.
doi:10.1021/ja00411a035
- [147] Vrolijk MF, Opperhuizen A, Jansen EHJM, *et al.* The shifting perception on antioxidants: The case of vitamin E and β -carotene. *Redox Biol* 2015; 4: 272–278.
doi:10.1016/j.redox.2014.12.017
- [148] Sotler R. Prooxidant Activities of Antioxidants and Their Impact on Health. *Acta Clin Croat* 2019; 58.
doi:10.20471/acc.2019.58.04.20
- [149] Brigelius-Flohé R, Traber MG. Vitamin E: function and metabolism. *FASEB J* 1999; 13: 1145–1155.
doi:10.1096/fasebj.13.10.1145
- [150] Klein EA, Thompson IM, Tangen CM, *et al.* Vitamin E and the Risk of Prostate Cancer: The Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA* 2011; 306: 1549–1556.
doi:10.1001/jama.2011.1437
- [151] Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Österreichische Gesellschaft für Ernährung, Schweizerische Gesellschaft für Ernährungsforschung, Hrsg. D-A-C-H-Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. 2. Auflage, 7. aktualisierte Ausgabe 2021. Bonn: Deutsche Gesellschaft für Ernährung; 2021.
- [152] Korhonen H. Technology options for new nutritional concepts. *Int J Dairy Technol* 2002; 55: 79–88.
doi:10.1046/j.1471-0307.2002.00050.x
- [153] Rodrigues DB, Marques MC, Hacke A, *et al.* Trust your gut: Bioavailability and bioaccessibility of dietary compounds. *Curr Res Food Sci* 2022; 5: 228–233.
doi:10.1016/j.crfs.2022.01.002
- [154] Shahidi F, Pan Y. Influence of food matrix and food processing on the chemical interaction and bioaccessibility of dietary phytochemicals: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2022; 62: 6421–6445.
doi:10.1080/10408398.2021.1901650
- [155] Minekus M, Alminger M, Alvito P, *et al.* A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. *Food Funct* 2014; 5: 1113–1124.
doi:10.1039/C3FO60702J
- [156] Lee EH, Cha KH, Vuong TT, *et al.* Comparison of static and dynamic in vitro digestion models to estimate the bioaccessibility of lutein in lutein-rich foods. *Appl Biol Chem* 2018; 61: 441–447.
doi:10.1007/s13765-018-0378-0
- [157] Pan Y, Li H, Shahidi F, *et al.* Interactions among dietary phytochemicals and nutrients: Role of cell membranes. *Trends Food Sci Technol* 2022; 124: 38–50.
doi:10.1016/j.tifs.2022.03.024
- [158] Thakur N, Raigond P, Singh Y, *et al.* Recent updates on bioaccessibility of phytonutrients. *Trends Food Sci Technol* 2020; 97: 366–380.
doi:10.1016/j.tifs.2020.01.019
- [159] Werner S, Böhm V. Bioaccessibility of Carotenoids and Vitamin E from Pasta: Evaluation of an in Vitro Digestion Model. *J Agric Food Chem* 2011; 59: 1163–1170.
doi:10.1021/jf103892y

- [160] Sadowska-Bartosz I, Bartosz G. Evaluation of The Antioxidant Capacity of Food Products: Methods, Applications and Limitations. *Processes* 2022; 10: 2031. doi:10.3390/pr10102031
- [161] Munteanu IG, Apetrei C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int J Mol Sci* 2021; 22: 3380. doi:10.3390/ijms22073380
- [162] Huang D, Ou B, Prior RL. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 1841–1856. doi:10.1021/jf030723c
- [163] Frankel EN, Meyer AS. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *J Sci Food Agric* 2000; 80: 1925–1941. doi:10.1002/1097-0010(200010)80:13<1925::AID-JSFA714>3.0.CO;2-4
- [164] Zulueta A, Esteve MJ, Frígola A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chem* 2009; 114: 310–316. doi:10.1016/j.foodchem.2008.09.033
- [165] Müller L, Fröhlich K, Böhm V. Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (α TEAC), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay. *Food Chem* 2011; 129: 139–148. doi:10.1016/j.foodchem.2011.04.045
- [166] Huang D, Ou B, Hampsch-Woodill M, *et al.* Development and Validation of Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay for Lipophilic Antioxidants Using Randomly Methylated β -Cyclodextrin as the Solubility Enhancer. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 1815–1821. doi:10.1021/jf0113732
- [167] Böhm V, Puspitasari-Nienaber NL, Ferruzzi MG, *et al.* Trolox equivalent antioxidant capacity of different geometrical isomers of alpha-carotene, beta-carotene, lycopene, and zeaxanthin. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 221–226. doi:10.1021/jf010888q
- [168] Barclay L Ross Coates, Locke S Jeffrey, MacNeil JM. Autoxidation in micelles. Synergism of vitamin C with lipid-soluble vitamin E and water-soluble Trolox. *Can J Chem* 1985; 63: 366–374. doi:10.1139/v85-062
- [169] Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, *et al.* Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett* 1996; 384: 240–242. doi:10.1016/0014-5793(96)00323-7
- [170] Cao G, Alessio HM, Cutler RG. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radic Biol Med* 1993; 14: 303–311. doi:10.1016/0891-5849(93)90027-R
- [171] Ghiselli A, Serafini M, Maiani G, *et al.* A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. *Free Radic Biol Med* 1995; 18: 29–36. doi:10.1016/0891-5849(94)00102-P
- [172] Glazer AN. Phycoerythrin fluorescence-based assay for reactive oxygen species. In: *Methods in Enzymology*. Academic Press; 1990: 161–168. doi:10.1016/0076-6879(90)86106-6
- [173] Naguib YMA. A Fluorometric Method for Measurement of Oxygen Radical-Scavenging Activity of Water-Soluble Antioxidants. *Anal Biochem* 2000; 284: 93–98. doi:10.1006/abio.2000.4691
- [174] Zhong Y, Shahidi F. 12 - Methods for the assessment of antioxidant activity in foods. In: Shahidi F, Hrsg. *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*. Woodhead Publishing; 2015: 287–333. doi:10.1016/B978-1-78242-089-7.00012-9

- [175] Poulson BG, Alsulami QA, Sharfalddin A, *et al.* Cyclodextrins: Structural, Chemical, and Physical Properties, and Applications. *Polysaccharides* 2022; 3: 1–31.
doi:10.3390/polysaccharides3010001
- [176] Fenyvesi É, Szemán J, Csabai K, *et al.* Methyl-Beta-Cyclodextrins: The Role of Number and Types of Substituents in Solubilizing Power. *J Pharm Sci* 2014; 103: 1443–1452.
doi:10.1002/jps.23917
- [177] Litescu SC, Eremia SAV, Tache A, *et al.* Chapter 25 - The Use of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) Assays in the Assessment of Beverages' Antioxidant Properties. In: Preedy V, Hrsg. *Processing and Impact on Antioxidants in Beverages*. San Diego: Academic Press; 2014: 245–251.
- [178] Goodwin TW. Nature and distribution of carotenoids. *Food Chem* 1980; 5: 3–13.
doi:10.1016/0308-8146(80)90061-8
- [179] Lefsrud MG, Kopsell DA, Sams CE. Irradiance from Distinct Wavelength Light-emitting Diodes Affect Secondary Metabolites in Kale. *HortScience* 2008; 43: 2243–2244.
doi:10.21273/HORTSCI.43.7.2243
- [180] de Azevedo CH, Rodriguez-Amaya DB. Carotenoid composition of kale as influenced by maturity, season and minimal processing. *J Sci Food Agric* 2005; 85: 591–597.
doi:10.1002/jsfa.1993
- [181] Lefsrud M, Kopsell D, Wenzel A, *et al.* Changes in kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) carotenoid and chlorophyll pigment concentrations during leaf ontogeny. *Sci Hortic* 2007; 112: 136–141.
doi:10.1016/j.scienta.2006.12.026
- [182] Kobori CN, Huber LS, Sarantópoulos CIGL, *et al.* Behavior of flavonols and carotenoids of minimally processed kale leaves during storage in passive modified atmosphere packaging. *J Food Sci* 2011; 76: H31-37.
doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01988.x
- [183] Sun T, Yuan H, Cao H, *et al.* Carotenoid Metabolism in Plants: The Role of Plastids. *Mol Plant* 2018; 11: 58–74.
doi:10.1016/j.molp.2017.09.010
- [184] Ngamwonglumlert L, Devahastin S, Chiewchan N, *et al.* Plant carotenoids evolution during cultivation, postharvest storage, and food processing: A review. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2020; 19: 1561–1604.
doi:10.1111/1541-4337.12564
- [185] Rosa LA de la, Alvarez-Parrilla E, González-Aguilar GA, Hrsg. *Fruit and vegetable phytochemicals: chemistry, nutritional value and stability*. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2009.
doi:10.1002/9780813809397
- [186] Bradley DG, Min DB. Singlet oxygen oxidation of foods. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1992; 31: 211–236.
doi:10.1080/10408399209527570
- [187] Ngamwonglumlert L, Devahastin S. Carotenoids. In: Melton L, Shahidi F, Varelis P, Hrsg. *Encyclopedia of Food Chemistry*. Oxford: Academic Press; 2019: 40–52.
- [188] Honda M, Watanabe Y, Murakami K, *et al.* Thermal isomerization pre-treatment to improve lycopene extraction from tomato pulp. *LWT* 2017; 86: 69–75.
doi:10.1016/j.lwt.2017.07.046
- [189] Biacs PA, Daood HG. Lipoxygenase-catalysed degradation of carotenoids from tomato in the presence of antioxidant vitamins. *Biochem Soc Trans* 2000; 28: 839–845.
doi:10.1042/bst0280839

- [190] Hendrickx M, Ludikhuyze L, Van den Broeck I, *et al.* Effects of high pressure on enzymes related to food quality. *Trends Food Sci Technol* 1998; 9: 197–203.
doi:10.1016/S0924-2244(98)00039-9
- [191] Ludikhuyze L, Indrawati, Van den Broeck I, *et al.* Effect of Combined Pressure and Temperature on Soybean Lipoxygenase. 1. Influence of Extrinsic and Intrinsic Factors on Isobaric–Isothermal Inactivation Kinetics. *J Agric Food Chem* 1998; 46: 4074–4080.
doi:10.1021/jf980256c
- [192] Oey I, Van der Plancken I, Van Loey A, *et al.* Does high pressure processing influence nutritional aspects of plant based food systems? *Trends Food Sci Technol* 2008; 19: 300–308.
doi:10.1016/j.tifs.2007.09.002
- [193] Rasanayagam V, Balasubramaniam V, Ting E, *et al.* Compression Heating of Selected Fatty Food Materials during High-pressure Processing. *J Food Sci* 2003; 68: 254–259.
doi:10.1111/j.1365-2621.2003.tb14148.x
- [194] Kim G-C, Kim S-B, Kim J-S, *et al.* Changes in microbial growth, carotenoids, and water-soluble tannin content of ripe persimmon beverage after ultra-high pressure treatment. *Food Sci Technol Int* 2018; 24: 351–360.
doi:10.1177/1082013218754456
- [195] Gonzalez ME, Barrett DM. Thermal, High Pressure, and Electric Field Processing Effects on Plant Cell Membrane Integrity and Relevance to Fruit and Vegetable Quality. *J Food Sci* 2010; 75: R121–R130.
doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01763.x
- [196] González-Angulo M, Serment-Moreno V, Queirós RP, *et al.* 1.03 - Food and Beverage Commercial Applications of High Pressure Processing. In: Knoerzer K, Muthukumarappan K, Hrsg. *Innovative Food Processing Technologies*. Oxford: Elsevier; 2021: 39–73.
- [197] Lemos AT, Martins AP, Delgadillo I, *et al.* Low-pressure long-time or moderate pressure pasteurization at room temperature by hyperbaric inactivation as a new nonthermal preservation approach – A case study on milk. *Food Microbiol* 2022; 105: 104031.
doi:10.1016/j.fm.2022.104031
- [198] Viacava F, Ramos-Parra PA, Welte-Chanes J, *et al.* High Hydrostatic Pressure Processing of Whole Carrots: Effect of Static and Multi-Pulsed Mild Intensity Hydrostatic Pressure Treatments on Bioactive Compounds. *Foods* 2021; 10: 219.
doi:10.3390/foods10020219
- [199] Navarro-Baez JE, Martínez LM, Welte-Chanes J, *et al.* High Hydrostatic Pressure to Increase the Biosynthesis and Extraction of Phenolic Compounds in Food: A Review. *Molecules* 2022; 27: 1502.
doi:10.3390/molecules27051502
- [200] Balasubramaniam VM, Barbosa-Cánovas GV, Lelieveld HLM, Hrsg. Structural Changes in Foods Caused by High-Pressure Processing. In: *High Pressure Processing of Food: Principles, Technology and Applications*. New York, NY: Springer New York; 2016: 509–537.
- [201] McInerney JK, Seccafien CA, Stewart CM, *et al.* Effects of high pressure processing on antioxidant activity, and total carotenoid content and availability, in vegetables. *Innov Food Sci Emerg Technol* 2007; 8: 543–548.
doi:10.1016/j.ifset.2007.04.005
- [202] Kardile NB, Nanda V, Thakre S. Thermal Degradation Kinetics of Total Carotenoid and Colour of Mixed Juice. *Agric Res* 2020; 9: 400–409.
doi:10.1007/s40003-019-00434-6

- [203] Chun J, Lee J, Ye L, *et al.* Tocopherol and tocotrienol contents of raw and processed fruits and vegetables in the United States diet. *J Food Compos Anal* 2006; 19: 196–204.
doi:10.1016/j.jfca.2005.08.001
- [204] Kim MJ, Chiu Y-C, Ku K-M. Glucosinolates, Carotenoids, and Vitamins E and K Variation from Selected Kale and Collard Cultivars. *J Food Qual* 2017; 2017: e5123572.
doi:10.1155/2017/5123572
- [205] Korus A. Effect of pre-treatment and drying methods on the content of minerals, B-group vitamins and tocopherols in kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) leaves. *J Food Sci Technol* 2022; 59: 279–287.
doi:10.1007/s13197-021-05012-9
- [206] Westphal A, Schwarzenbolz U, Böhm V. Effects of high pressure processing on bioactive compounds in spinach and rosehip puree. *Eur Food Res Technol* 2018; 244: 395–407.
doi:10.1007/s00217-017-2964-5
- [207] Böhm F, Edge R, Land EJ, *et al.* Carotenoids Enhance Vitamin E Antioxidant Efficiency. *J Am Chem Soc* 1997; 119: 621–622.
doi:10.1021/ja962512c
- [208] Barba FJ, Esteve MJ, Frigola A. Impact of High-Pressure Processing on Vitamin E (α -, γ -, and δ -Tocopherol), Vitamin D (Cholecalciferol and Ergocalciferol), and Fatty Acid Profiles in Liquid Foods. *J Agric Food Chem* 2012; 60: 3763–3768.
doi:10.1021/jf205355h
- [209] Zhang L, Yao J, Zhang Y, *et al.* Microstructural and morphological behaviors of asparagus lettuce cells subject to high pressure processing. *Food Res Int* 2015; 71: 174–183.
doi:10.1016/j.foodres.2015.01.036
- [210] Niu Y, Zhang Q, Wang J, *et al.* Vitamin E synthesis and response in plants. *Front Plant Sci* 2022; 13.
doi:10.3389/fpls.2022.994058
- [211] Jomova K, Valko M. Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants. *Eur J Med Chem* 2013; 70: 102–110.
doi:10.1016/j.ejmech.2013.09.054
- [212] Eugeni Piller L, Glauser G, Kessler F, *et al.* Role of plastoglobules in metabolite repair in the tocopherol redox cycle. *Front Plant Sci* 2014; 5: 10.
doi:10.3389/fpls.2014.00298
- [213] Xiaoyuan Wang PJQ. The location and function of vitamin E in membranes (Review). *Mol Membr Biol* 2000; 17: 143–156.
doi:10.1080/09687680010000311
- [214] Muñoz P, Munné-Bosch S. Vitamin E in Plants: Biosynthesis, Transport, and Function. *Trends Plant Sci* 2019; 24: 1040–1051.
doi:10.1016/j.tplants.2019.08.006
- [215] Työppönen JT, Hakkarainen RVJ. Thermal Stability of Vitamin E in Barley. *Acta Agric Scand* 1985; 35: 136–138.
doi:10.1080/00015128509435767
- [216] Bruscatto MH, Pestana-Bauer VR, Otero DM, *et al.* Effects of heating temperature on the tocopherol contents of chemically and physically refined rice bran oil. *Grasas Aceites* 2019; 70: e294–e294.
doi:10.3989/gya.0572181
- [217] de la Cruz Quiroz R, Chotyakul N, Saraiva JA, *et al.* Retention of Ascorbic Acid, Retinol, β -Carotene, and α -Tocopherol in Milk Subjected to Pressure-Assisted Thermal Processing (PATP). *Food Eng Rev* 2021; 13: 634–641.
doi:10.1007/s12393-020-09242-z

- [218] Pareek S, Sagar NA, Sharma S, *et al.* Chlorophylls: Chemistry and Biological Functions. In: Fruit and Vegetable Phytochemicals. John Wiley & Sons, Ltd; 2017: 269–284.
doi: <https://doi.org/10.1002/9781119158042.CH14>
- [219] Swapnil P, Meena M, Singh SK, *et al.* Vital roles of carotenoids in plants and humans to deteriorate stress with its structure, biosynthesis, metabolic engineering and functional aspects. *Curr Plant Biol* 2021; 26: 100203.
doi: [10.1016/j.cpb.2021.100203](https://doi.org/10.1016/j.cpb.2021.100203)
- [220] Young AJ. The photoprotective role of carotenoids in higher plants. *Physiol Plant* 1991; 83: 702–708.
doi: [10.1111/j.1399-3054.1991.tb02490.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1991.tb02490.x)
- [221] Heaton JW, Marangoni AG. Chlorophyll degradation in processed foods and senescent plant tissues. *Trends Food Sci Technol* 1996; 7: 8–15.
doi: [10.1016/0924-2244\(96\)81352-5](https://doi.org/10.1016/0924-2244(96)81352-5)
- [222] Heaton JW, Yada RY, Marangoni AG. Discoloration of Coleslaw Is Caused by Chlorophyll Degradation. *J Agric Food Chem* 1996; 44: 395–398.
doi: [10.1021/jf9504475](https://doi.org/10.1021/jf9504475)
- [223] Matile P, Hörtensteiner S, Thomas H. Chlorophyll degradation. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 1999; 50: 67–95.
doi: [10.1146/annurev.arplant.50.1.67](https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.67)
- [224] Baysal T, Demirdöven A. Lipoxygenase in fruits and vegetables: A review. *Enzyme Microb Technol* 2007; 40: 491–496.
doi: [10.1016/j.enzmictec.2006.11.025](https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.11.025)
- [225] Tang L, Wang C, Huang J, *et al.* Comparative analysis of peroxidase profiles in Chinese kale (*Brassica alboglabra* L.): Evaluation of leaf growth related isozymes. *Food Chem* 2013; 136: 632–635.
doi: [10.1016/j.foodchem.2012.08.054](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.054)
- [226] Arnold C, Schwarzenbolz U, Böhm V. Carotenoids and chlorophylls in processed xanthophyll-rich food. *LWT - Food Sci Technol* 2014; 57: 442–445.
doi: [10.1016/j.lwt.2014.01.004](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.01.004)
- [227] Indrasti D, Andarwulan N, Purnomo EH, *et al.* Stability of Chlorophyll as Natural Colorant: A Review for Suji (*Dracaena Angustifolia* Roxb.) Leaves' Case. *Curr Res Nutr Food Sci J* 2018; 6: 609–625.
doi: [10.12944/CRNFSJ.6.3.04](https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.6.3.04)
- [228] Sánchez C, Baranda AB, Martínez de Marañón I. The effect of High Pressure and High Temperature processing on carotenoids and chlorophylls content in some vegetables. *Food Chem* 2014; 163: 37–45.
doi: [10.1016/j.foodchem.2014.04.041](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.041)
- [229] van den Berg H, Faulks R, Granado HF, *et al.* The potential for the improvement of carotenoid levels in foods and the likely systemic effects. *J Sci Food Agric* 2000; 80: 880–912.
doi: [10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7<880::AID-JSFA646>3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<880::AID-JSFA646>3.0.CO;2-1)
- [230] Chandrika UG, Svanberg U, Jansz ER. In vitro accessibility of β -carotene from cooked Sri Lankan green leafy vegetables and their estimated contribution to vitamin A requirement. *J Sci Food Agric* 2006; 86: 54–61.
doi: [10.1002/jsfa.2307](https://doi.org/10.1002/jsfa.2307)
- [231] Reboul E, Richelle M, Perrot E, *et al.* Bioaccessibility of Carotenoids and Vitamin E from Their Main Dietary Sources. *J Agric Food Chem* 2006; 54: 8749–8755.
doi: [10.1021/jf061818s](https://doi.org/10.1021/jf061818s)
- [232] van het Hof KH, Weststrate JA, West CE, *et al.* Dietary Factors That Affect the Bioavailability of Carotenoids. *J Nutr* 2000; 130: 503–506.
doi: [10.1093/jn/130.3.503](https://doi.org/10.1093/jn/130.3.503)

- [233] Rich GT, Faulks RM, Wickham MSJ, *et al.* Solubilization of carotenoids from carrot juice and spinach in lipid phases: II. Modeling the duodenal environment. *Lipids* 2003; 38: 947–956.
doi:10.1007/s11745-003-1148-z
- [234] Faulks RM, Southon S. Challenges to understanding and measuring carotenoid bioavailability. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis* 2005; 1740: 95–100.
doi:10.1016/j.bbadis.2004.11.012
- [235] Granado-Lorencio F, Olmedilla-Alonso B, Herrero-Barbudo C, *et al.* Comparative in Vitro Bioaccessibility of Carotenoids from Relevant Contributors to Carotenoid Intake. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 6387–6394.
doi:10.1021/jf070301t
- [236] Yuan X, Liu X, Julian McClements D, *et al.* Enhancement of phytochemical bioaccessibility from plant-based foods using excipient emulsions: impact of lipid type on carotenoid solubilization from spinach. *Food Funct* 2018; 9: 4352–4365.
doi:10.1039/C8FO01118D
- [237] Hayward S, Cilliers T, Swart P. Lipoxygenases: From Isolation to Application. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2017; 16: 199–211.
doi:10.1111/1541-4337.12239
- [238] Mashurabad PC, Palika R, Jyrwa YW, *et al.* Dietary fat composition, food matrix and relative polarity modulate the micellarization and intestinal uptake of carotenoids from vegetables and fruits. *J Food Sci Technol* 2017; 54: 333–341.
doi:10.1007/s13197-016-2466-7
- [239] Borel P, Grolier P, Armand M, *et al.* Carotenoids in biological emulsions: solubility, surface-to-core distribution, and release from lipid droplets. *J Lipid Res* 1996; 37: 250–261.
doi:10.1016/S0022-2275(20)37613-6
- [240] Borel P. Factors Affecting Intestinal Absorption of Highly Lipophilic Food Microconstituents (Fat-Soluble Vitamins, Carotenoids and Phytosterols). 2003; 41: 979–994.
doi:10.1515/CCLM.2003.151
- [241] Zhang R, Zhang Z, Zou L, *et al.* Enhancing Nutraceutical Bioavailability from Raw and Cooked Vegetables Using Excipient Emulsions: Influence of Lipid Type on Carotenoid Bioaccessibility from Carrots. *J Agric Food Chem* 2015; 63: 10508–10517.
doi:10.1021/acs.jafc.5b04691
- [242] Augusto PED, Tribst AAL, Cristianini M. Chapter 20 - High Hydrostatic Pressure and High-Pressure Homogenization Processing of Fruit Juices. In: Rajauria G, Tiwari BK, Hrsg. *Fruit Juices*. San Diego: Academic Press; 2018: 393–421.
doi:10.1016/B978-0-12-802230-6.00020-5
- [243] Gao G, Zhao L, Ma Y, *et al.* Microorganisms and Some Quality of Red Grapefruit Juice Affected by High Pressure Processing and High Temperature Short Time. *Food Bioprocess Technol* 2015; 8: 2096–2108.
doi:10.1007/s11947-015-1556-2
- [244] Fornaroli S, Petrusa E, Braidot E, *et al.* Purification of a plasma membrane-bound lipoxygenase from soybean cotyledons. *Plant Sci* 1999; 145: 1–10.
doi:10.1016/S0168-9452(99)00066-7
- [245] Liu Y, Zhao XY, Zou L, Hu XS. Effect of high hydrostatic pressure on overall quality parameters of watermelon juice. *Food Sci Technol Int* 2013; 19: 197–207.
doi:10.1177/1082013212442194
- [246] Gupta R, Kopec RE, Schwartz SJ, *et al.* Combined Pressure–Temperature Effects on Carotenoid Retention and Bioaccessibility in Tomato Juice. *J Agric Food Chem* 2011; 59: 7808–7817.
doi:10.1021/jf200575t

- [247] Gey KF. The antioxidant hypothesis of cardiovascular disease: epidemiology and mechanisms. *Biochem Soc Trans* 1990; 18: 1041–1045.
doi:10.1042/bst0181041
- [248] Willett WC. Micronutrients and cancer risk. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 1162S–1165S.
doi:10.1093/ajcn/59.5.1162S
- [249] Gey KF, Puska P, Jordan P, *et al.* Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 326S–334S.
doi:10.1093/ajcn/53.1.326S
- [250] Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, *et al.* Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different In Vitro Assays. *J Nutr* 2003; 133: 2812–2819.
doi:10.1093/jn/133.9.2812
- [251] Schmidt M, Hopfhauer S, Schwarzenbolz U, *et al.* High-Pressure Processing of Kale: Effects on the Extractability, In Vitro Bioaccessibility of Carotenoids & Vitamin E and the Lipophilic Antioxidant Capacity. *Antioxidants* 2021; 10: 1688.
doi:10.3390/antiox10111688
- [252] Paciolla C, Fortunato S, Dipierro N, *et al.* Vitamin C in Plants: From Functions to Biofortification. *Antioxidants* 2019; 8.
doi:10.3390/antiox8110519
- [253] Gerdes S, Lerma-Ortiz C, Frelin O, *et al.* Plant B Vitamin Pathways and their Compartmentation: a Guide for the Perplexed. *J Exp Bot* 2012; 63: 5379–5395.
doi:10.1093/jxb/ers208
- [254] Miček J, Juríková T, Škrovánková S, *et al.* Polyphenol content and antioxidant capacity of fruit and vegetable beverages processed by different technology methods. *Potravinárstvo* 2016; 10: 512–517.
doi:10.5219/635
- [255] Chen X, Qin W, Ma L, *et al.* Effect of high pressure processing and thermal treatment on physicochemical parameters, antioxidant activity and volatile compounds of green asparagus juice. *LWT - Food Sci Technol* 2015; 62: 927–933.
doi:10.1016/j.lwt.2014.10.068
- [256] Roldán-Marín E, Sánchez-Moreno C, Lloría R, *et al.* Onion high-pressure processing: Flavonol content and antioxidant activity. *LWT - Food Sci Technol* 2009; 42: 835–841. doi:10.1016/j.lwt.2008.11.013
- [257] Butz P, Edenharder R, García AF, *et al.* Changes in functional properties of vegetables induced by high pressure treatment. *Food Res Int* 2002; 35: 295–300.
doi:10.1016/S0963-9969(01)00199-5
- [258] Hsu K-C. Evaluation of processing qualities of tomato juice induced by thermal and pressure processing. *LWT - Food Sci Technol* 2008; 41: 450–459.
doi:10.1016/j.lwt.2007.03.022
- [259] Butz P, Fernández García A, Lindauer R, *et al.* Influence of ultra high pressure processing on fruit and vegetable products. *J Food Eng* 2003; 56: 233–236.
doi:10.1016/S0260-8774(02)00258-3
- [260] Ha YL, Scallany AS. Separation of α -tocopherol and its oxidation products by high performance liquid chromatography. *Lipids* 1988; 23: 359–361.
doi:10.1007/BF02537349
- [261] Gheonea (Dima) I, Aprodu I, Enachi E, *et al.* Investigations on thermostability of carotenoids from tomato peels in oils using a kinetic approach. *J Food Process Preserv* 2020; 44: e14303.
doi:10.1111/jfpp.14303
- [262] Levin G, Mokady S. Antioxidant activity of 9-cis compared to all-trans β -carotene in vitro. *Free Radic Biol Med* 1994; 17: 77–82.
doi:10.1016/0891-5849(94)90009-4

- [263] Gómez-Maqueo A, Welte-Chanes J, Cano MP. Release mechanisms of bioactive compounds in fruits submitted to high hydrostatic pressure: A dynamic microstructural analysis based on prickly pear cells. *Food Res Int* 2020; 130: 108909. doi:10.1016/j.foodres.2019.108909
- [264] Sies H, Stahl W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 1315S-1321S. doi:10.1093/ajcn/62.6.1315S
- [265] Schwartz SJ, Woo SL, Von Elbe JH. High-performance liquid chromatography of chlorophylls and their derivatives in fresh and processed spinach. *J Agric Food Chem* 1981; 29: 533–535. doi:10.1021/jf00105a025
- [266] Aslam S, Ahmad M, Riaz M. Stability of Carotenoids. In: Zia-UI-Haq M, Dewanjee S, Riaz M, Hrsg. *Carotenoids: Structure and Function in the Human Body*. Springer Cham; 2021: 251–315. doi: 10.1007/978-3-030-46459-2_8
- [267] Barbosa-Cánovas GV, Juliano P. Food Sterilization by Combining High Pressure and Thermal Energy. In: Gutiérrez-López GF, Barbosa-Cánovas GV, Welte-Chanes J, et al., Hrsg. *Food Engineering: Integrated Approaches*. New York, NY: Springer; 2008: 9–46
- [268] Black EP, Setlow P, Hocking AD, *et al.* Response of Spores to High-Pressure Processing. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2007; 6: 103–119. doi:10.1111/j.1541-4337.2007.00021.x
- [269] Farkas DF, Hoover DG. High Pressure Processing. *J Food Sci* 2000; 65: 47–64. doi:10.1111/j.1750-3841.2000.tb00618.x
- [270] Varzakas T, Tzia C, Katsaros G, Hrsg. High Pressure Processing of Foods. In: *Handbook of Food Processing*. Boca Raton: CRC Press; 2015: 246–281.
- [271] Uranga-Soto MA, Vargas-Ortiz MA, León-Félix J, et al. Comparison of the Effect of Hydrostatic and Dynamic High Pressure Processing on the Enzymatic Activity and Physicochemical Quality Attributes of 'Ataulfo' Mango Nectar. *Molecules* 2022; 27: 1190. doi:10.3390/molecules27041190
- [272] Morales-de la Peña M, Salinas-Roca B, Escobedo-Avellaneda Z, et al. Effect of High Hydrostatic Pressure and Temperature on Enzymatic Activity and Quality Attributes in Mango Puree Varieties (cv. Tommy Atkins and Manila). *Food Bioprocess Technol* 2018; 11: 1211–1221. doi:10.1007/s11947-018-2090-9
- [273] Knoerzer K, Muthukumarappan K. *Innovative food processing technologies: a comprehensive review*. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2021.
- [274] Balasubramaniam VM, Ting EY, Stewart CM, et al. Recommended laboratory practices for conducting high-pressure microbial inactivation experiments. *Innov Food Sci Emerg Technol* 2004; 5: 299–306. doi:10.1016/j.ifset.2004.04.001
- [275] Aschoff JK, Rolke CL, Breusing N, *et al.* Bioavailability of β -cryptoxanthin is greater from pasteurized orange juice than from fresh oranges – a randomized cross-over study. *Mol Nutr Food Res* 2015; 59: 1896–1904. doi:10.1002/mnfr.201500327
- [276] Hornero-Méndez D, Cerrillo I, Ortega Á, *et al.* β -Cryptoxanthin is more bioavailable in humans from fermented orange juice than from orange juice. *Food Chem* 2018; 262: 215–220. doi:10.1016/j.foodchem.2018.04.083
- [277] Olmedilla-Alonso B, Granado-Lorencio F, de Ancos B, *et al.* Greater bioavailability of xanthophylls compared to carotenes from orange juice (high-pressure processed, pulsed electric field treated, low-temperature pasteurised, and freshly squeezed) in a crossover study in healthy individuals. *Food Chem* 2022; 371: 130821. doi:10.1016/j.foodchem.2021.130821

- [278] Evrendilek GA. Effects of High Pressure Processing on Bioavailability of Food Components. *J Nutr Food Sci* 2018; 08.
doi:10.4172/2155-9600.1000676
- [279] Sánchez-Moreno C, Cano MP, de Ancos B, *et al.* High-Pressurized Orange Juice Consumption Affects Plasma Vitamin C, Antioxidative Status and Inflammatory Markers in Healthy Humans. *J Nutr* 2003; 133: 2204–2209.
doi:10.1093/jn/133.7.2204
- [280] Sánchez-Moreno C, Cano MP, de Ancos B, *et al.* Effect of orange juice intake on vitamin C concentrations and biomarkers of antioxidant status in humans. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 454–460.
doi:10.1093/ajcn/78.3.454
- [281] Palafox-Carlos H, Ayala-Zavala JF, González-Aguilar GA. The Role of Dietary Fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability of Fruit and Vegetable Antioxidants. *J Food Sci* 2011; 76: R6–R15.
doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01957.x

Wissenschaftliche Publikationen

- Publikationen

Schmidt, M., Hopfhauer, S., Schneider, F., Ivanovic, J., Schwarzenbolz, U. & Böhm, V. (2023).

Effect of Hydrostatic Pressure and Temperature on Extractability and Bioaccessibility of Lipophilic Micronutrients in Kale. *ACS - Food Science & Technology*, 2023, 3, 1125-1135.

Schmidt, M., Hopfhauer, S., Schwarzenbolz, U. & Böhm, V. (2022).

High pressure processing and heat sterilization of kale: Impact on extractability, antioxidant capacity and storability of carotenoids and vitamin E. *Applied Research*, 2022, 1, e202200025.

Schmidt, M., Hopfhauer, S., Schwarzenbolz, U. & Böhm, V. (2021).

High pressure processing of kale: Effects on the extractability, in vitro bioaccessibility of carotenoids, vitamin E and the lipophilic antioxidant capacity. *Antioxidants*, 2021, 10, 1688.

Schmidt, M., Schwarzenbolz, U., Böhm, V. (2021).

Grünkohl mit 6000 bar - Schonend konserviert?
Lebensmittelchemie, 2021, 75, 210-212.

Schmidt, M., Jansen Van Beek, S., Abou-Ghanem, M., Oliynyk, A.O., Locock, A.J., Styler, S.A. (2019).

Production of Atmospheric Organosulfates via Mineral-Mediated Photochemistry. *ACS Earth and Space Chemistry*, 2019, 3, 424-431.

Scholl, T., Dietze, C., **Schmidt, M.**, Ohla, S., Belder, D. (2018).

Sheathless coupling of microchip electrophoresis to ESI-MS utilising an integrated photo polymerised membrane for electric contacting. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2018, 410, 5741-5750.

Lamotte, S., Gruending, T., Loeb, U., Stritesky, R., Gerhardt, R., **Schmidt, M.**, Deeb, A.A. (2017).

Generic Ultrahigh Resolution HPLC Methods: An Efficient Way to Tackle Singular Analytical Problems in Industrial Analytics. *Chromatographia*, 2017, 80, 763-769.

- **Konferenzbeiträge**

Schmidt, M., Fehn, S., Tauber, S., Hopfhauer, S., Schwarzenbolz, U., Böhm, V.:
Impact of high pressure processing on extractability and distribution of bioactive plant ingredients in kale

Abstract-Book "19th International Symposium on Carotenoids", 09.07.-14.07.2023, Toyama, Japan, 181. (Referat)

Fehn, S., Tauber, S., **Schmidt, M.**, Schwarzenbolz, U., Böhm, V.:

Hochdruckbehandlung mit reduziertem Druck – Einfluss auf lipophile Pflanzenstoffe in Grünkohl und einem Modellsystem

Lebensmittelchemie 77 S1 (2023) 100. (Referat)

Tauber, S., Dörmann, N., **Schmidt, M.**, Schwarzenbolz, U., Böhm, V.:

Einfluss der Hochdruckbehandlung auf lipophile, bioaktive Pflanzenstoffe – Untersuchungen in einem Modellsystem

Proc. Germ. Nutr. Soc. 29 (2023) 63. (Referat)

Schmidt, M., Hopfhauer, S., Schwarzenbolz, U., Böhm, V.:

Traditionelle oder moderne Konservierung? – Effekte der Hochdruckbehandlung und Hitzesterilisierung auf lipophile, bioaktive Pflanzenstoffe in Grünkohl

Lebensmittelchemie 76 S2 (2022) 245. (Referat)

Schmidt, M., Schneider, F., Schwarzenbolz, U., Böhm, V.:

Impact of high pressure processing on extractability and distribution of bioactive plant ingredients in kale

Book of Abstracts "2nd Virtual International Conference on Carotenoids" 12.04.-14.04.2022, 38. (Referat)

Schmidt, M., Schneider, F., Schwarzenbolz, U., Böhm, V.: High Pressure Processing mit reduziertem Druck: Einfluss auf Carotinoide und Vitamin E in Grünkohl

Lebensmittelchemie 76 S1 (2022) 126. (Referat)

Schmidt, M., Ivanovic, J., Schwarzenbolz, U., Böhm, V.:

Grünkohl unter Hochdruck: Einfluss von Scale-Up und Temperatur auf lipophile Inhaltsstoffe

Proc. Germ. Nutr. Soc. 28 (2022) 27. (Referat)

Hopfhauer, S., **Schmidt, M.**, Schwarzenbolz, U., Böhm, V.:

Effekte der Hochdruckbehandlung und der Sterilisierung auf die lipophile, antioxidative Kapazität von Grünkohl

Lebensmittelchemie 75 (2021) S063. (Referat)

Hopfhauer, S., **Schmidt, M.**, Schwarzenbolz, U., Böhm, V.:

Effekte der Hochdruckbehandlung und der Sterilisierung auf die lipophile, antioxidative Kapazität von Grünkohl

Kurzreferate-Band „49. Deutscher Lebensmittelchemikertag 2021“, 30.08.-01.09.2021, Wuppertal (Online), 104. (Referat)

Schmidt, M., Hopfhauer, S., Schwarzenbolz, U., Böhm, V.:

Impact of high pressure processing on bioactive plant ingredients in kale

Book of Abstracts "1st Virtual International Conference on Carotenoids" 22.06.-25.06.2021, 107. (Referat)

Schmidt, M., Schwarzenbolz, U., Böhm, V.:

Untersuchung von lipophilen Inhaltsstoffen in hochdruckbehandeltem Grünkohl

Proc. Germ. Nutr. Soc. 27 (2021) 33. (Referat)

Liang, Z., **Schmidt, M.**, Jefferson, M., Johnson, M., Styler, S., Kostiuik, L., Olfert, J.:

Characterization of VOCs, PAHs and CDD/CDFs from gas flaring at different liquid injection conditions.

Asian Aerosol Conference Hongkong (2019). (Referat)

Styler, S. A., Abou-Ghanem, M., Matchett, L., Lyu, M., Locock, A., **Schmidt, M.**, Jansen van Beek, S. M.:

Chemistry at the surface of titanium-containing minerals: implications for air quality and aerosol composition.

American Geophysical Union, Fall Meeting (2018), 2018AGUFM.A43D..08S. (Referat)

Liang, Z., **Schmidt, M.**, Jefferson, M., Johnson, M., Styler, S., Kostiuik, L., Olfert, J.:

Characterization of VOCs, PAHs and PCDD/Fs from gas flaring at different liquid injections.

Petroleum Technology Alliance Canada - 2018 Methane Emissions Reduction Forum, Banff, Canada (2018). (Referat)

Schmidt, M., Jansen van Beek, S., Styler, S.:

Production of atmospheric organosulfates via mineral-mediated photochemistry. 101st *Canadian Chemistry Conference, Edmonton, Canada (2018), CSC181990.* (Referat)

Schmidt, M., Zhao, B., Jäger, W., Styler, S. A.:

Development of a coolant-free cryofocusing thermodesorption unit for on-line TD-GCFID/MS analysis of atmospheric oxidation processes.

101st *Canadian Chemistry Conference, Edmonton, Canada (2018), CSC181990.* (Referat)

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei apl. Prof. Dr. Böhm für die Bereitstellung des überaus interessanten Themas bedanken. Als mein Doktorvater eröffnete er mir in vielerlei Hinsicht die Möglichkeit wissenschaftlich zu wachsen und meine Ideen zu verwirklichen. Ich möchte mich für das entgegengebrachte Vertrauen sowie die unzähligen interessanten und wertvollen Diskussionen bedanken.

Ein besonderer Dank gilt ebenso Dr. Schwarzenbolz von der Technischen Universität Dresden sowie Frau Dr. Jasna Ivanovic von der Uhde High Pressure Technologies GmbH für die Hochdruckbehandlung einer Vielzahl von Proben sowie alle hilfreichen Hinweise bei der Versuchsplanung und Manuskriptgestaltung. M.Sc. Fabian Schneider aus dem Institut für Ökologie und Evolution danke ich vielmals für die erfolgreiche Zusammenarbeit in Bezug auf lichtmikroskopische Untersuchungen.

Ich danke allen ehemaligen und derzeitigen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Bioaktive Pflanzenstoffe für ein ausgezeichnetes Arbeitsklima und einen gegenseitig rücksichtsvollen Umgang auch in Zeiten hoher Belastungen. Besonders zu nennen sind hierbei Dipl. Chem. Angelika Malarski, M.Sc. Marius Faber, M.Sc. Sofia Hopfhauer, M.Sc. Clara Schubert, M.Sc. Svenja Tauber sowie B.Sc. Simon Fehn und B.Sc. Nicolas Dörmann.

Ein herzliches Dankeschön richtet sich ebenso an meine Kolleginnen Laura Taudte und Sofia Hopfhauer, meine Freunde Anne Krause und Pascal Pusch sowie an meine Ehefrau und Doris für die Unterstützung durch Korrekturlesen.

Bei meiner Familie bedanke ich mich herzlichst für die Unterstützung über alle Jahre hinweg. Meinen Eltern Christine Schmidt und Frank Schwarzer danke ich besonders dafür, dass sie mir diesen Weg geebnet und immer an mich geglaubt haben. Auch meinen Schwiegereltern Doris und Rainer Weilbeer danke ich besonders für Ihre Unterstützung in vielerlei Hinsicht.

Zuletzt richte ich meinen ganz besonderen Dank an meine Ehefrau Dr. Claudia Weilbeer. Die Promotion ist nicht nur für den Promovierenden oft eine Herausforderung, sondern auch für die Partnerin. Für das aufgebrachte Verständnis, das Vertrauen und die Unterstützung auf unserem gemeinsamen Weg danke ich auf das Herzlichste!

Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich eidesstattlich, dass:

- mir die geltende Promotionsordnung der Fakultät für Biowissenschaften der Friedrich-Schiller-Universität Jena bekannt ist.
- ich die vorliegende Dissertation selbst angefertigt und keine Textabschnitte eines Dritten oder eigener Prüfungsarbeiten ohne Kennzeichnung übernommen habe und alle benutzten Hilfsmittel, persönliche Mitteilungen und Quellen in der Arbeit angegeben habe.
- mich lediglich die in den Manuskripten angegebenen Personen bei der Auswahl und der Auswertung des Materials sowie bei der Erstellung der Manuskripte unterstützt haben.
- ich nicht die Hilfe einer kommerziellen Promotionsvermittlung in Anspruch genommen habe.
- Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorliegenden Dissertation stehen.
- ich diese Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe.
- ich weder die gleiche oder eine in wesentlichen Teilen ähnliche, noch eine andere Abhandlung bei einer anderen Hochschule oder anderen Fakultät als Dissertation eingereicht habe.

.....
Ort, Datum

.....
Unterschrift

Tabellarischer Lebenslauf

Mario Schmidt, Asamstraße 2, 93087 Alteglofsheim

Geburtsdatum: 28.04.1989 | Geburtsort: Lutherstadt Wittenberg

WISSENSCHAFTLICHER WERDEGANG

WISSENSCHAFTLER | AB 05/2023 | FRAUNHOFER GESELLSCHAFT

Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung (IVV), Freising

Qualitätssicherung & Methodenentwicklung Analytik, Projektmanagement

DOKTORAND | 11/2019 - 05/2023 | FRIEDRICH-SCHILLER-UNIVERSITÄT JENA

Institut für Ernährungswissenschaften, Jena

Thema: Einfluss der Hochdruckbehandlung auf lipophile Lebensmittelinhaltsstoffe.

STUDIUM M.SC. CHEMIE | 09/2016 - 05/2019 | UNIVERSITY OF ALBERTA

Gunning-Lemieux-Chemistry Center, Faculty of Science, Edmonton

Masterarbeit: Entwicklung eines on-line GC-TD-MS Systems gekoppelt an eine atmosphärische Reaktionskammer für die Untersuchung von Staub-Schadstoff Interaktionen.

WISSENSCHAFTLICHER MITARBEITER | 01/2016 - 05/2016 | FRAUNHOFER GESELLSCHAFT

Institut für extrakorporale Immunmodulation (EXIM), Rostock

Thema: Methodenentwicklung HPLC für die Analytik von Furosemid & Urämietoxinen in Blutplasma und Urin.

WISSENSCHAFTLICHER MITARBEITER | 11/2015 - 12/2015 | UNIVERSITÄT ROSTOCK

Institut für klinische Chemie, Fakultät für Medizin, Rostock

Thema: Methodenentwicklung HPLC für die Analytik von Immunsuppressiva in Vollblut.

POSTGRADUALSTUDIUM | 09/2014 - 06/2016 | UNIVERSITÄT LEIPZIG

Fakultät für Medizin, Leipzig

Zertifikat: Fachchemiker für Toxikologie & Umweltschutz.

STUDIUM M.SC. CHEMIE | 03/2013 - 05/2015 | UNIVERSITÄT LEIPZIG

Fakultät für Chemie & Mineralogie, Leipzig

Masterarbeit: Kopplung mikrofluidischer Chips mit der Massenspektrometrie.

STUDIUM B.SC. CHEMIE | 10/2009 - 05/2013 | UNIVERSITÄT LEIPZIG

Fakultät für Chemie & Mineralogie, Leipzig

Bachelorarbeit: Synthese verschiedener Hydroxycarbonyl-Verbindungen und qualitative Bewertungen von EI Spektren mit GC/MS nach Derivatisierung.

.....
Ort, Datum

.....
Unterschrift Kandidat

Angaben zu Eigenanteilen

Manuskript Nr. I

Schmidt *et al.* (2021), Antioxidants

Beitrag des Doktoranden / der Doktorandin

Beitrag des Doktoranden / der Doktorandin zu Abbildungen, die experimentelle Daten wiedergeben (nur für Originalartikel):

Abbildung(en) 2, 3, 4, 5, 6	<input type="checkbox"/>	100 % (die in dieser Abbildung wiedergegebenen Daten entstammen vollständig experimentellen Arbeiten, die der Kandidat/die Kandidatin durchgeführt hat)
	<input type="checkbox"/>	0 % (die in dieser Abbildung wiedergegebenen Daten basieren ausschließlich auf Arbeiten anderer Koautoren)
	<input checked="" type="checkbox"/>	Etwaiger Beitrag des Doktoranden / der Doktorandin zur Abbildung: 90 % Kurzbeschreibung des Beitrages: Probenaufarbeitung, Extraktion bzw. <i>in-vitro</i> -Verdau, Chromatographie, Auswertung, Erstellung der Abbildung

Abbildung(en) 7 a, 7 b	<input type="checkbox"/>	100 % (die in dieser Abbildung wiedergegebenen Daten entstammen vollständig experimentellen Arbeiten, die der Kandidat/die Kandidatin durchgeführt hat)
	<input type="checkbox"/>	0 % (die in dieser Abbildung wiedergegebenen Daten basieren ausschließlich auf Arbeiten anderer Koautoren)
	<input checked="" type="checkbox"/>	Etwaiger Beitrag des Doktoranden / der Doktorandin zur Abbildung: 40 % Kurzbeschreibung des Beitrages: Methodenentwicklung, Datenauswertung, Erstellung der Abbildung

Manuskript Nr. IISchmidt *et al.* (2022), Applied Research**Beitrag des Doktoranden / der Doktorandin**

Beitrag des Doktoranden / der Doktorandin zu Abbildungen, die experimentelle Daten wiedergeben (nur für Originalartikel):

Abbildung(en) 1	<input type="checkbox"/> 100 % (die in dieser Abbildung wiedergegebenen Daten entstammen vollständig experimentellen Arbeiten, die der Kandidat/die Kandidatin durchgeführt hat) <input type="checkbox"/> 0 % (die in dieser Abbildung wiedergegebenen Daten basieren ausschließlich auf Arbeiten anderer Koautoren) <input checked="" type="checkbox"/> Etwaiger Beitrag des Doktoranden / der Doktorandin zur Abbildung: 90 % Kurzbeschreibung des Beitrages: Probenaufarbeitung, Extraktion, Chromatographie, Auswertung, Erstellung der Abbildung
-------------------------------	---

Abbildung(en) 2, 3, 4, 5	<input type="checkbox"/> 100 % (die in dieser Abbildung wiedergegebenen Daten entstammen vollständig experimentellen Arbeiten, die der Kandidat/die Kandidatin durchgeführt hat) <input type="checkbox"/> 0 % (die in dieser Abbildung wiedergegebenen Daten basieren ausschließlich auf Arbeiten anderer Koautoren) <input checked="" type="checkbox"/> Etwaiger Beitrag des Doktoranden / der Doktorandin zur Abbildung: 70 % Kurzbeschreibung des Beitrages: Probenvorbereitung, Methodenentwicklung, Datenauswertung, Erstellung der Abbildung
--	--

Manuskript Nr. IIISchmidt *et al.* (2023), ACS Food Sci. Technol.**Beitrag des Doktoranden / der Doktorandin**

Beitrag des Doktoranden / der Doktorandin zu Abbildungen, die experimentelle Daten wiedergeben (nur für Originalartikel):

Abbildung(en) 1,2,3,4,5	<input type="checkbox"/>	100 % (die in dieser Abbildung wiedergegebenen Daten entstammen vollständig experimentellen Arbeiten, die der Kandidat/die Kandidatin durchgeführt hat)
	<input type="checkbox"/>	0 % (die in dieser Abbildung wiedergegebenen Daten basieren ausschließlich auf Arbeiten anderer Koautoren)
	<input checked="" type="checkbox"/>	Etwaiger Beitrag des Doktoranden / der Doktorandin zur Abbildung: 90 %
		Kurzbeschreibung des Beitrages: Probenaufarbeitung, Extraktion, Chromatographie, Auswertung, Erstellung der Abbildung

Abbildung(en) 6	<input type="checkbox"/>	100 % (die in dieser Abbildung wiedergegebenen Daten entstammen vollständig experimentellen Arbeiten, die der Kandidat/die Kandidatin durchgeführt hat)
	<input type="checkbox"/>	0 % (die in dieser Abbildung wiedergegebenen Daten basieren ausschließlich auf Arbeiten anderer Koautoren)
	<input checked="" type="checkbox"/>	Etwaiger Beitrag des Doktoranden / der Doktorandin zur Abbildung: 40 %
		Kurzbeschreibung des Beitrages: Methodenentwicklung, Datenauswertung, Erstellung der Abbildung

Abbildung(en) 7, S5, S6	<input type="checkbox"/>	100 % (die in dieser Abbildung wiedergegebenen Daten entstammen vollständig experimentellen Arbeiten, die der Kandidat/die Kandidatin durchgeführt hat)
	<input type="checkbox"/>	0 % (die in dieser Abbildung wiedergegebenen Daten basieren ausschließlich auf Arbeiten anderer Koautoren)
	<input checked="" type="checkbox"/>	Etwaiger Beitrag des Doktoranden / der Doktorandin zur Abbildung: 20 %
		Kurzbeschreibung des Beitrages: Probenvorbereitung

Abbildung(en) S4	<input type="checkbox"/>	100 % (die in dieser Abbildung wiedergegebenen Daten entstammen vollständig experimentellen Arbeiten, die der Kandidat/die Kandidatin durchgeführt hat)
	<input type="checkbox"/>	0 % (die in dieser Abbildung wiedergegebenen Daten basieren ausschließlich auf Arbeiten anderer Koautoren)
	<input checked="" type="checkbox"/>	Etwaiger Beitrag des Doktoranden / der Doktorandin zur Abbildung: 40 %
		Kurzbeschreibung des Beitrages: Methodenentwicklung, Datenauswertung, Erstellung der Abbildung

.....
 Unterschrift Kandidat
 M.Sc. Mario Schmidt

.....
 Unterschrift Betreuer
 (apl. Prof. Dr. Volker Böhm)