

Bestimmung der ernährungsphysiologischen Qualität von Öko-Produkten anhand des antioxidativen Potentials der Lebensmittel

Assessment of the nutritional quality of organic food by quantitating their antioxidative potential

FKZ: 04OE027

Projektnehmer:

Max Rubner-Institut
Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel
Haid- und Neustraße 9, 76131 Karlsruhe
Tel.: +49 721 6625-0
Fax: +49 721 6625-111
E-Mail: poststelle@mri.bund.de
Internet: <http://www.mri.bund.de>

Autoren:

Stracke, B. A.; Rüfer, C. E.; Briviba, K.; Bub, A.; Watzl, B.

Gefördert vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz
im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau (BÖL)

Bundesprogramm Ökologischer Landbau

Schlussbericht

Forschungsprojekt -04OE027-

***„Bestimmung der ernährungsphysiologischen Qualität
von Öko-Produkten anhand des antioxidativen Potenzial
der Lebensmittel“***

M. Sc. B.A. Stracke, Dr. C. E. Rüfer, PD Dr. K. Briviba,

PD Dr. A. Bub, PD Dr. B. Watzl

Max Rubner-Institut

Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel, Karlsruhe

Anschrift:

Max Rubner-Institut

Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel

Haid- und Neustr. 9

76131 Karlsruhe

Tel.: 0721-6625-410

Fax.:0721-6625-404

1. Ziele und Aufgabenstellung

Im Rahmen des Projektes 02OE170/F.1 wurden bei ausgewählten ökologischen Produkten, aus definierten Langzeitversuchen (z.B. DOK-Versuch; Weizen) und Erzeugerproben ausgewählte Methoden zur Bestimmung der Produktqualität eingesetzt. Diese Methoden lassen bisher jedoch keine Aussagen zur ernährungsphysiologischen Qualität der Produkte zu. Ziel des Projektes war es deshalb, in Ergänzung zu dem Projekt 02OE170/F.1 für die vergleichende Bewertung pflanzlicher Rohstoffe aus konventionellem und ökologischem Anbau Messungen zur ernährungsphysiologischen Qualität der Lebensmittel durchzuführen.

Hierfür sollte bei den Lebensmitteln (Apfel, Weizen, Möhren), welche auch im Projekt 02OE170/F.1 eingesetzt wurden, der Carotinoidgehalt sowie das antioxidative Potenzial als Summenparameter für die Gesamtheit aller sekundärer Pflanzenstoffe mit antioxidativer Wirkung bestimmt werden. Darüber hinaus sollte in Humanstudien die Veränderung des Antioxidantienstatus *in vivo* nach dem Verzehr pflanzlicher Lebensmittel ermittelt werden, sowie die Bioverfügbarkeit der Carotinoide und Polyphenole. Beispielhaft sollten Äpfel und Möhren untersucht werden, weil für diese Lebensmittel ein direkter Verzehr ohne weitere Verarbeitung im Vergleich zu Weizen oder Mais üblich ist. Dadurch lassen sich für den Menschen Aussagen zur ernährungsphysiologischen Relevanz der Gehalte an sekundären Pflanzenstoffen in Lebensmitteln aus konventioneller und ökologischer Anbauweise treffen.

Durch diese Untersuchungen sollten Beiträge für die beiden Themenbereiche „*Gehalt und funktionelle Eigenschaften sekundärer Pflanzenstoffe von pflanzlichen Lebensmitteln aus ökologischen und konventionellem Anbau*“ (Bekanntmachung Nr. 04/03/51 der BLE) und „*Analysen zur Qualität ökologisch erzeugter Produkte auch im Vergleich zu konventionell erzeugten Produkten*“ (Förderung von Forschungs- und Entwicklungsvorhaben sowie von Maßnahmen zum Technologie- und Wissenstransfer im ökologischen Landbau; Programm BMVEL) getroffen werden.

Durch die Bearbeitung dieser Ziele sollte ein substantielles Argument der Verbraucher für den Kauf ökologisch erzeugter Lebensmittel wissenschaftlich abgesichert werden.

1.1 Planung und Ablauf des Projekts

Die Planung und der Ablauf des Projekts sahen vor, dass in Zusammenarbeit mit dem Projekt 02OE170/F.1 Vergleichsmessungen an Lebensmitteln aus ökologischem und konventionellem Anbau durchgeführt werden. Die Ergebnisse wurden gemeinsam mit den Projektpartnern ausgewertet. Regelmäßig fanden mit den Projektpartnern Projekttreffen statt, bei denen die bisher erzielten Ergebnisse vorgestellt und diskutiert wurden.

Der Projektablauf wurde in folgende Meilensteine eingeteilt:

Meilenstein 1 (Februar 2005)

Die Ergebnisse der *in vitro* Untersuchungen zum Carotinoidgehalt sowie zum antioxidativen Potenzial der Proben der Ernte 2004 lagen ausgewertet vor.

Korrelationen der eigenen Ergebnisse mit den Ergebnissen des Projekt 02OE170/F.1 wurden durchgeführt und interpretiert.

Meilenstein 2 (August 2005)

Die Daten zum Einfluss auf den antioxidativen Status und den Gesamtpolyphenolgehalt im Plasma nach dem Verzehr von Äpfeln aus unterschiedlicher Anbauweise liegen vor.

Meilenstein 3 (Februar 2006)

Die *in vitro* Untersuchungen zum Carotinoidgehalt sowie zum antioxidativen Potenzial der Proben der Ernte 2005 liegen ausgewertet vor.

Korrelationen der eigenen Ergebnisse mit den Ergebnissen des Projekt 02OE170/F.1 wurden durchgeführt und interpretiert.

Meilenstein 4 (August 2006)

Die Daten der Bioverfügbarkeit der Carotinoide aus Karotten unterschiedlicher Anbauweise und zum Einfluss auf den Antioxidantienstatus des Menschen sind ausgewertet.

Meilenstein 5 (Dezember 2007)

Die *in vitro* Untersuchungen zum Polyphenolgehalt der Apfelproben der Ernte 2006/2007 und der Carotinoidgehalt der Weizenproben (DOK-Versuch) 2006 sind ausgewertet. Die Daten der zweiten Interventionsstudie zur Bioverfügbarkeit der Polyphenole aus Äpfeln unterschiedlicher Anbauweise und zum Einfluss auf den Antioxidantienstatus des Menschen sind analysiert.

Eine Abschlusskonferenz für das Projekt 02OE170/F.1 wurde im September 2006 in Karlsruhe durchgeführt.

1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand

Sekundäre Pflanzenstoffe stellen wertgebende Inhaltsstoffe in pflanzlichen Lebensmitteln dar, denen eine hohe gesundheitliche Bedeutung zukommt (Watzl und Leitzmann 2005). So geht eine hohe Zufuhr an sekundären Pflanzenstoffen wie Carotinoiden und Polyphenolen mit einem signifikant verringerten Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen

und Krebs einher (Knekt et al. 1997, Arts et al. 2001, Holick et al. 2002, Knekt et al. 2002, Sesso et al. 2004). Die dieser protektiven Wirkung zugrundeliegenden Mechanismen der sekundären Pflanzenstoffe werden gegenwärtig intensiv erforscht. Darüber hinaus wurden für viele dieser Verbindungen in den letzten Jahren Analyseverfahren entwickelt, die inzwischen die Quantifizierung der häufigsten in Lebensmitteln vorkommenden sekundären Pflanzenstoffe ermöglichen.

Verschiedene Publikationen bewerteten in den letzten Jahren wissenschaftliche Daten zum Einfluss der Anbauweise auf die Qualität der Lebensmittel (Woese et al. 1997, Brandt und Molgaard 2001, Worthington 2001, Tauscher et al. 2003). Laut dieser Studien ist die Datengrundlage für Vergleichsuntersuchungen bei sekundären Pflanzenstoffen zurzeit gering, da bis vor kurzem keine adäquaten Nachweismethoden zur Verfügung standen. Gerade sekundäre Pflanzenstoffe stellen jedoch auf Grund ihrer Funktion in der Pflanze eine Gruppe von Inhaltsstoffen dar, deren Gehalt durch Einflüsse der Anbauweise stärker modulierbar ist als z.B. der von Mineralstoffen und Proteinen (Brandt und Molgaard 2001). Primär fehlen auch Studien, die von einem wirklich vergleichbaren Versuchsgut ausgehen. Die wenigen publizierten Daten sind somit nur beschränkt aussagekräftig.

Weibel et al. (1997) fanden in ökologisch erzeugten Äpfeln einen um 19% höheren Polyphenolgehalt als in konventionell erzeugten Äpfeln. Kein Unterschied hingegen wurde bei Äpfeln in einer italienischen Studie festgestellt (Tarozzi et al. 2004). Lombardi-Boccia et al. (2004) fanden in ökologisch erzeugten gelben Pflaumen vermehrt β -Carotin sowie Phenolsäuren, während der Gesamtpolyphenolgehalt in konventionell erzeugten Pflaumen höher lag. Im Gegensatz hierzu wurde in Erdbeeren aus Öko-Anbau ein höherer Gesamtpolyphenolgehalt ermittelt (Asami et al. 2003).

Wichtiger als allein der Gehalt an sekundären Pflanzenstoffen ist allerdings, welche funktionellen Wirkungen mit einem veränderten Gehalt an sekundären Pflanzenstoffen assoziiert sind. So konnte *in vitro* gezeigt werden, dass ökologisch erzeugtes Gemüse eine stärkere antimutagene Wirkung besitzt als konventionelles Gemüse (Ren et al. 2001). Ein substantieller Parameter, der sowohl im Lebensmittel als auch beim Menschen nach dem Verzehr des Lebensmittels bestimmt werden kann, ist das antioxidative Potential des Lebensmittels bzw. der Antioxidantienstatus des Menschen. Solche Untersuchungen liegen jedoch zurzeit nicht vor (Tauscher et al. 2002, S. 54). Ergebnisse aus *in vitro* Studien sind für sich alleine betrachtet wenig aussagekräftig für den Menschen, da hierbei der Faktor der Bioverfügbarkeit außer Acht gelassen wird.

Über eine Messung des antioxidativen Potentials (hier Schutz vor LDL-Oxidation) lassen sich Sortenunterschiede z.B. bei Äpfeln (Jonagold und Boskop) bestimmen (Schirmmacher

und Schempp 2003). Deshalb scheint dieser methodische Ansatz auch interessant für die Erfassung von Anbaueinflüssen. Mit einer weiteren Methode zur Bestimmung des antioxidativen Potentials, dem ORAC-Test (Oxygen Radical Absorbance Capacity), wurden kürzlich 100 verschiedene Lebensmittel sowie Tee bzw. Extrakte von grünem Tee untersucht. Dabei korrelierte der Gehalt an sekundären Pflanzenstoffen mit dem ORAC-Wert (Henning et al. 2003, Wu et al. 2004). Weiter eingesetzte Methoden zur Bestimmung des antioxidativen Potentials von Lebensmitteln sind FRAP (Ferric Reducing-Antioxidant Power), TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) sowie TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) (Pellegrini et al. 2003). Da antioxidativen Mechanismen sehr unterschiedliche chemische Reaktionen zugrunde liegen können, kann ein biochemischer Test alleine keine aussagekräftigen Ergebnisse liefern. Deshalb müssen zur Erfassung des antioxidativen Potentials eines Lebensmittels mehrere Methoden eingesetzt werden (Aruoma 2003). Dies gilt auch für Untersuchungen am Menschen. In eigenen Studien konnten wir für Tomaten- und Karottensaft nachweisen, dass diese Gemüsesäfte den Antioxidantienstatus beim Menschen verbessern (Bub et al. 2000, Bub et al. 2004).

Erste Untersuchungen zur Polyphenolzufuhr und -ausscheidung beim Menschen mit kompletter Versorgung mit Lebensmitteln aus ökologischer oder konventioneller Erzeugung zeigten, dass nach 22 Tagen im Urin der mit ökologisch erzeugten Lebensmitteln ernährten Studienteilnehmer mehr Flavonole ausgeschieden wurden (Grinder-Pedersen et al. 2003). Während bei einem Marker für den Antioxidantienstatus (FRAP) kein Unterschied festgestellt wurde, war ein weiterer Parameter (TEAC) bei den mit konventionell erzeugten Lebensmitteln versorgten Probanden signifikant erhöht (Grinder-Pedersen et al. 2003). Allein Sortenunterschiede können jedoch bei ausschließlichem Einsatz von Marktproben Variationen in dem in dieser Studie beobachteten Ausmaß erklären. Deshalb sind Studien erforderlich, die unter wirklich vergleichbaren Bedingungen, wie sie im Rahmen des genehmigten Projektes 02OE170/F gegeben sind, einen Einfluss der Anbauweise auf den Gehalt an sekundären Pflanzenstoffen und auf die funktionelle Wirkung eines Lebensmittels ermöglichen.

2. Material und Methoden

2.1 *in vitro* Untersuchungen

Vom Projekt 02OE170/F.1 wurden für die Analysen Äpfel, Karotten und Weizenvollkorn zur Verfügung gestellt.

Für die Versuche wurden Äpfel der Sorte Golden Delicious und der Sorte Elstar verwendet, die aus fünf (Golden Delicious) bzw. vier (Elstar) benachbarten konventionell bzw. ökologisch bewirtschafteten Standorten stammten. Die Sorte Golden Delicious wurde vom Forschungsinstitut für biologischen Landbau (FiBL) in der Schweiz zur Verfügung gestellt. Die Sorte Elstar stammte aus benachbarten Betrieben in Norddeutschland.

Die Karottenproben wurden in einem Feldversuch der Universität Kassel angebaut (Sorten Rothild und Rodelika jeweils ein Betriebspaar; mit und ohne Stickstoffdüngung). Die Sorten Narbonne und Nerac stammten aus vergleichbaren Betrieben in Norddeutschland [2 Betriebspaare der Sorte Narbonne und 3 Betriebspaare der Sorte Nerac (Ernte 2004) oder 1 Betriebspaar der Sorte Narbonne und vier Betriebspaare der Sorte Nerac (Ernte 2005)].

Die Weizenvollkornproben wurden entweder aus dem DOK-Versuch (Sorte Titlis) in vier unterschiedlichen Düngungsvarianten (siehe Tab. 1) zur Verfügung gestellt oder stammten aus sechs benachbarten Betrieben in Deutschland mit den Sorten Ludwig, Bussard und Capo.

Tab. 1: Aufschlüsselung der DOK Weizenproben

Abkürzung	<i>Anbauvariante</i>
BIODYN	Biologisch-dynamisch
BIOORG	Biologisch-organisch
CONFYM	Konventionell mit Stallmistdüngung
CONMIN	Rein mineralisch gedüngt, viehloses konventionelles Verfahren
Kontrolle	ungedüngt

Die Humanstudien mit Äpfeln wurde mit jeweils einem Betriebspaar der Sorte Golden Delicious (Ernte 2004/2007) durchgeführt. Für die Humanstudie mit Karotten wurde das Betriebspaar der Sorte Narbonne ausgewählt (2005).

Die *in vitro* Untersuchungen umfassten die Bestimmung des antioxidativen Potenzials der wasserlöslichen Antioxidantien mit drei unterschiedlichen *in vitro* Testsystemen: FRAP-,

TEAC- und ORAC-Test für die zu untersuchenden Weizenvollkorn-, Karotten- und Apfelproben der Ernte 2004 und 2005.

Die fettlöslichen Antioxidantien der Karottenproben wurden mit dem modifizierten TEAC-Test durchgeführt.

Der Carotinoidgehalt der Weizenvollkorn- (Ernte 2004, 2005, 2006) und Karottenproben (Ernte 2004, 2005) wurde mittels HPLC/DAD identifiziert und quantifiziert.

Zusätzlich zu den im Projekt beantragten Messungen wurde der Polyphenolgehalt in allen zur Verfügung gestellten Lebensmittel aller Erntejahre mittels HPLC/DAD bestimmt.

Extraktion der gewünschten Substanzen aus den Lebensmitteln

Extraktion der wasserlöslichen Antioxidantien (einschließlich Polyphenole)

Die Extraktion der Apfel- und Karottenproben erfolgte mittels MeOH, die der Weizenproben mit Hilfe eines Methanol/Aceton/Wasser-Gemischs.

Polyphenolbestimmung

Mittels HPLC/DAD/MS wurden die Phenolsäuren und Flavonoide in den Apfel-, Karotten- und Weizenvollkornproben identifiziert und quantifiziert.

Die Bestimmung des wasserlöslichen antioxidativen Potenzials wurde mit den identischen Proben (Polyphenolbestimmung) durchgeführt.

Extraktion der fettlöslichen Antioxidantien aus den Lebensmitteln

Die fettlöslichen Antioxidantien aus Karotten wurden mittels einer Aceton/Hexanextraktion extrahiert.

Extraktion der Carotinoide aus Weizen- und Karottenproben

Die Carotinoide aus den Karotten- und Weizenvollkornproben wurden mit Aceton herausgelöst und mittels Hexan extrahiert.

Bestimmung des antioxidativen Potenzials der Proben

FRAP-Test (Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay)

Der von Benzie & Strain (1999) entwickelte FRAP-Assay wurde zur Messung der Proben angewandt. Die Methode basiert auf den reduzierenden Eigenschaften von Antioxidantien. Antioxidative Substanzen, wie z.B. Polyphenole, können bei niedrigem pH-Wert den Eisen(III)-Tripyridyltriazin-Komplex zur Eisen(II)-Form reduzieren. Bei dieser Reduktion entsteht eine tiefblau gefärbte Lösung, die bei 585 nm spektralphotometrisch gemessen werden kann. Je stärker die Farbentwicklung, desto mehr antioxidativ

wirkenden Substanzen sind in den Proben enthalten. Die Messung erfolgte nach einer 30-minütigen Inkubationszeit bei 37°C. Die Messung der Plasmaproben erfolgte nach einer 10 minütigen Inkubation bei 30°C.

ORAC-Test (Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay)

Der ORAC-Test ist eine fluorimetrische Methode, mittels derer die Reaktivität von Antioxidantien gegenüber Peroxylradikalen gemessen wird. Der ORAC-Test wurde hier nach einer Variante von Cao et al. (1999) durchgeführt. Die Methode beruht darauf, dass durch einen Radikalstarter (ABAP) kontinuierlich Peroxylradikale gebildet werden. Diese gebildeten Peroxylradikale reagieren mit dem Fluoreszenzfarbstoff (Fluorescein), was zu einer Fluoreszenzabnahme führt. Deren Verlauf wird bis zum vollständigen Fluoreszenzverlust verfolgt. In Gegenwart von Antioxidantien wird diese Fluoreszenzabnahme verzögert. Das Ausmaß der Verzögerung dient als Maß für die antioxidative Wirkung. Die Messung erfolgte bei den Lebensmittel- und Plasmaproben bei 37° C und einer Wellenlänge von 485 nm.

TEAC-Test (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity Assay)

Der Test wurde nach einer modifizierten Form von Re et al. (1999) durchgeführt. Das Prinzip dieses Tests beruht darauf, dass Antioxidantien das vorliegende ABTS-Radikal reduzieren. Das reduzierte ABTS-Molekül zeigt keine Absorption bei der Messwellenlänge von 735 nm. Je stärker das Ausmaß der Reduktion des ABTS-Radikals, desto höher die antioxidative Aktivität einer Substanz. Nach 30 min Inkubationszeit erfolgte die Messung bei 37°C. Die Plasmaproben wurden nach 10 min Inkubationszeit bei 30°C gemessen.

Die fettlöslichen Antioxidantien wurden analog zum oben beschriebenen TEAC-Test durchgeführt, allerdings nicht in einem wässrigen (PBS-Puffer) sondern in einem fettlöslichen System (Ethanol/Aceton). Die Messung erfolgte bei 30°C ebenfalls bei 735 nm.

Alle drei antioxidativen Testsysteme wurden mit den gewonnenen Extrakten der Apfel, Karotten-, Weizen- und Plasmaproben durchgeführt. Trolox (ein Vitamin E-Analog) diente als Referenzsubstanz.

Im Antrag wurde zusätzlich als vierter antioxidativer Test der TRAP-Test aufgelistet. Durch Voruntersuchungen konnte festgestellt werden, dass er vergleichbare Ergebnisse wie der ORAC-Test liefert. Aus diesem Grund wurde der Test nicht durchgeführt.

Bestimmung der Carotinoide

Mittels HPLC/DAD wurden die Carotinoide der Karotten- und Weizenvollkornproben identifiziert und quantifiziert. Die Auswertung erfolgte bei 450 nm.

Bestimmung der Polyphenole

Mittels HPLC/DAD/MS wurden die Phenolsäuren und Flavonoide der Apfel-, Weizen- und Karottenproben identifiziert und quantifiziert. Die Auswertungen erfolgten bei 280, 290, 310, 320 und 350 nm.

2.2 *in vivo* Untersuchungen

Hauptziel der Humanstudien war es, zu untersuchen ob Unterschiede in der Bioverfügbarkeit von sekundären Pflanzenstoffen (Carotinoide und Polyphenole) aus ökologisch oder konventionell angebauten Äpfeln bzw. Karotten existierten. Darüber hinaus welchen Einfluss sekundäre Pflanzenstoffe wie Polyphenole und Carotinoide auf den Antioxidantienstatus im Plasma der Studienteilnehmer haben. Hierzu wurden drei humane Interventionsstudien durchgeführt.

Alle Studienprotokolle der drei durchgeführten Humanstudien wurden von der Landesärztekammer Baden-Württemberg geprüft und genehmigt.

Studiendesign Bioverfügbarkeitsstudie mit Äpfeln

Das Studiendesign entsprach einer randomisierten Doppelblindstudie im Cross-over-Design, an der sechs Probanden teilnahmen.

Nach einer zweitägigen polyphenolfreien Ernährung verzehrten sechs Probanden morgens nüchtern 1 kg rohe, ungeschälte Äpfel (Golden Delicious, 2004). Die Probanden wurden in zwei Gruppen eingeteilt (n=3) und erhielten entweder Äpfel aus ökologischem oder konventionellem Anbau. In den nachfolgenden 24 Stunden wurde zu mehreren Zeitpunkten Blut abgenommen. Die Probanden erhielten ein polyphenolfreies Mittag- und Abendessen (Abb.1). Nach einer viertägigen „wash-out“ Phase wurde der Versuch wiederholt. Die Probanden, die vorher die ökologischen Äpfel erhielten, verzehrten jetzt die aus konventionellem Anbau und umgekehrt. So wurde jede Person zu ihrer eigenen Kontrollperson.

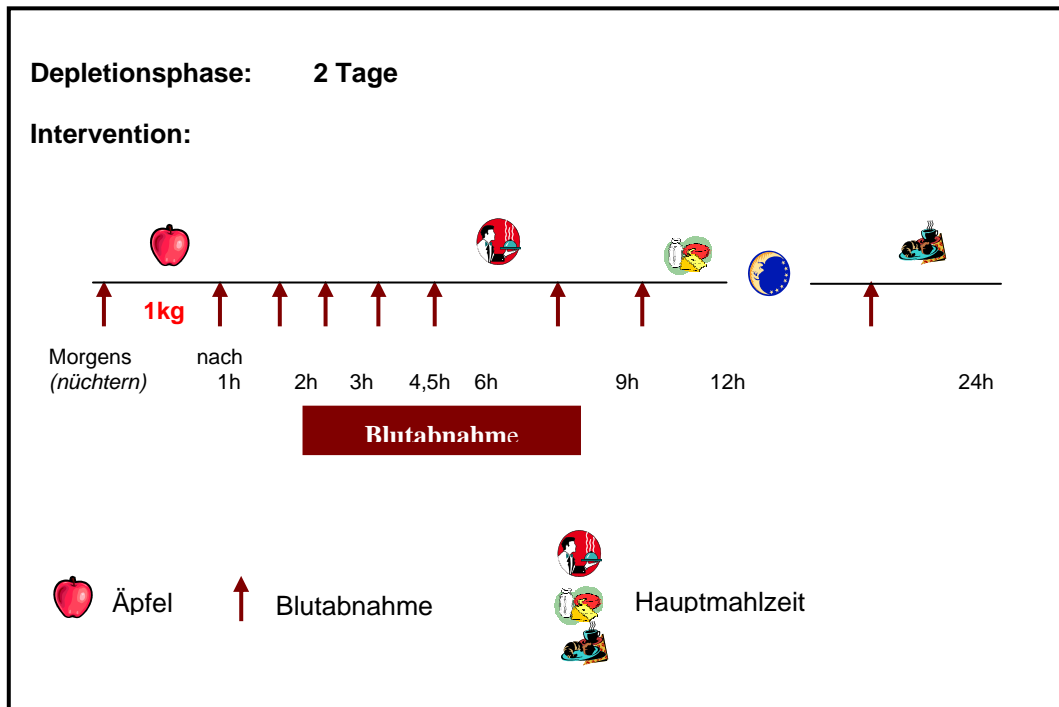


Abb. 1 Studiendesign der Humanstudie mit Äpfeln (Bioverfügbarkeit)

Studiendesign Interventionsstudie mit Äpfeln

Das Studiendesign der Apfelstudie entsprach einer randomisierten doppelblinden Interventionsstudie, an der 43 gesunde Nichtraucher teilnahmen.

Die Probanden wurden in drei Gruppen eingeteilt. Jeweils eine Interventionsgruppe erhielt Äpfel aus ökologischem oder konventionellem Anbau (n=16). Eine dritte Gruppe diente als Kontrollgruppe und erhielt keine Äpfel (n=11). Nach einer einwöchigen Apfel- und Apfelprodukt-freien Ernährung erhielten die Probanden der beiden Interventionsgruppen über einen Zeitraum von vier Wochen täglich 500 g rohe ungeschälte Äpfel aus ökologischem oder konventionellem Anbau. Die Kontrollgruppe ernährte sich sechs Wochen ohne Äpfel. Den Probanden wurde zu Beginn der vierwöchigen Interventionsphase und am Ende Blut abgenommen und Urin gesammelt (Abb. 2).

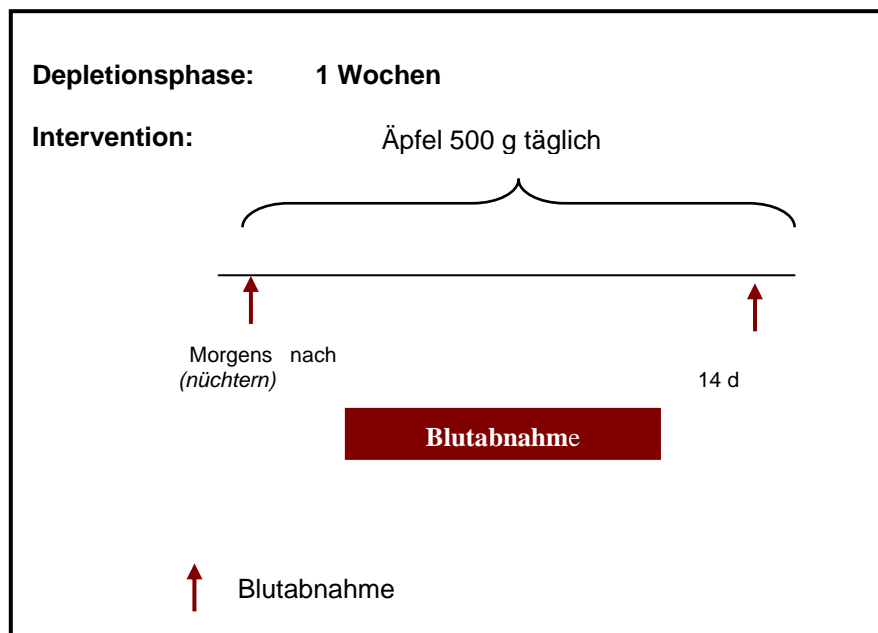


Abb. 2 Studiendesign der Humanstudie Apfel (fünfwöchige Interventionsstudie)

Studiendesign Interventionsstudie mit Karotten

Das Studiendesign der Karottenstudie entsprach einer randomisierten doppelblinden Interventionsstudie, an der 36 gesunde Nichtraucher teilnahmen.

Die Probanden wurden in drei Gruppen eingeteilt. Jeweils eine Interventionsgruppe erhielt Karotten aus ökologischem oder konventionellem Anbau. Eine dritte Gruppe diente als Kontrollgruppe und erhielt keine Karotten (jeweils $n=12$). Nach einer vierwöchigen carotinoidarmen Ernährung erhielten die Probanden der beiden Interventionsgruppen über einen Zeitraum von zwei Wochen täglich 200 g gekochte Karotten aus ökologischem oder konventionellem Anbau. Die Kontrollgruppe ernährte sich sechs Wochen carotinoidarm. Den Probanden wurde zu Beginn der vierwöchigen Interventionsphase und an den Tagen 2, 7 und 14 Blut abgenommen. Bei der ersten und letzten Blutabnahme wurde zusätzlich dazu Urin gesammelt (Abb. 3).

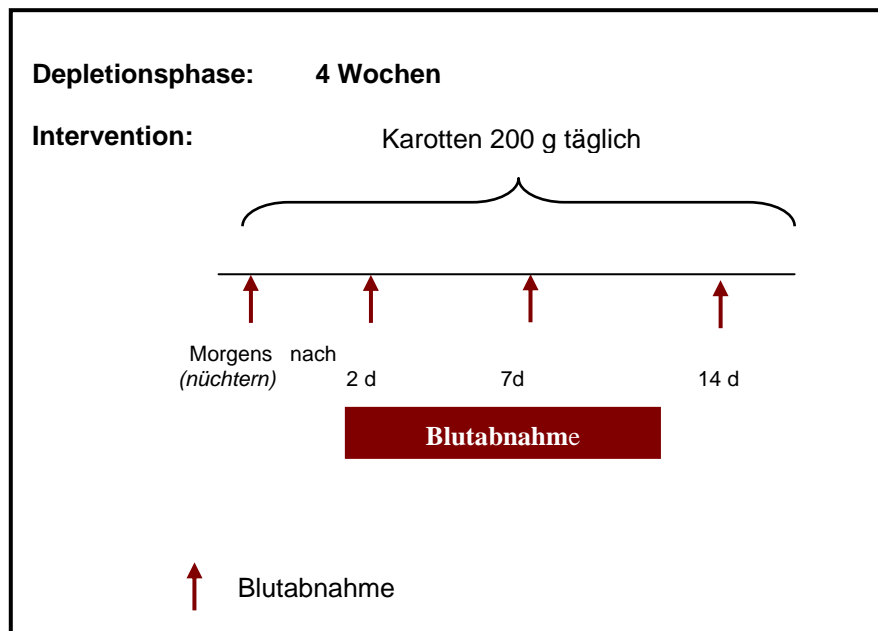


Abb. 3 Studiendesign der Humanstudie Karotten (sechswöchige Interventionsstudie)

Messungen zur vergleichenden Bioverfügbarkeit der Polyphenole, Carotinoide und dem antioxidativen Potenzial der Plasmaproben

Bestimmung des antioxidativen Potenzials der Plasmaproben

Die Bestimmung des antioxidativen Potenzials der Plasmaproben wurde ebenfalls mit den drei antioxidativen Testsystemen FRAP-, ORAC- und TEAC-Test bestimmt (vgl. 2.1.5).

Carotinoidbestimmung der Plasmaproben

Die Carotinoide wurden aus 1 ml Plasma extrahiert. Die Proteine aus dem Plasma wurden mit 1 ml H_3PO_4 -Lösung und 1 ml eiskaltem Ethanol für 1 Stunde bei -20 °C gefällt. Die Carotinoide wurden insgesamt dreimal mit je 2 ml kaltem Extraktionsmittel 5 min im Ultraschallbad extrahiert und zur Phasentrennung 5 min bei 4000 U/min, 0 °C zentrifugiert. Die organischen Phasen wurden gesammelt und unter N_2 abgeblasen.

Für die HPLC-Analyse wurden die Proben in 200 μL Aceton/Dichlormethan resuspendiert und 50 μL wurden in die HPLC injiziert. Die Auswertung erfolgte bei 450 nm.

COMET-Assay

Der Comet Test ist eine elektrophoretische Technik, die es erlaubt, DNA-Einzelstrangbrüche zu detektieren (Östling et al. 1984, Singh et al. 1988). Durch Schädigung der DNA, z.B. durch freie Radikale, kommt es zu Einzel- und Doppelstrangbrüchen der DNA. Die Strangbrüche verletzen die hochgeordnete dichte

Packung der DNA-Schleife. Durch eine Elektrophorese können diese Fragmente aufgetrennt werden. Die DNA wird mit einem Fluoreszenzfarbstoff angefärbt, und die Strangbrücke können unter dem Mikroskop quantifiziert werden.

LDL-Oxidation in Plasmaproben

Zur Bestimmung der oxidierten LDL-Partikel wurde eine modifizierte Methode nach Esterbauer et al. (1989) angewendet.

Bei der Lipidperoxidation wird die Zunahme der Oxidation von mehrfach ungesättigten Fettsäuren bestimmt, die etwa die Hälfte an Fettsäuren der LDL-Partikel ausmachen. Die Oxidation der PUFA kann photometrisch bei 234 nm verfolgt werden.

Gesamtpolyphenolgehalt der Plasmaproben

Der Gesamtpolyphenolgehalt im Plasma wurde mittels Folin-Chiocalteau Test, modifiziert nach Serafini et al. (1998), bestimmt.

2.3 Statistik

Die statistischen Analysen wurden alle mit dem STATVIEW Programm Version 5.0 (SAS Institut, Cary NC; 1998) durchgeführt. Die Ergebnisse werden als Mittelwerte \pm Standardabweichung (SA) dargestellt. Die statistischen Analysen der Lebensmittelproben wurden mit einer zweifaktoriellen ANOVA unter Berücksichtigung der Faktoren Standort x Anbau analysiert. Die Daten der Humanstudien wurden mittels „Repeated-Measured-ANOVA“ oder mit Hilfe des ungepaarten t-Tests ausgewertet.

3. Ergebnisse

Im Folgenden werden ausgewählte Ergebnisse der *in vitro* und *in vivo* Studien dargestellt.

3.1 *in vitro* und *in vivo* Ergebnisse

Ergebnisse antioxidatives Potenzial der Apfelproben Ernte 2004/2005/2006

Bei den Analysen der Apfelproben zeigte sich, dass unter Berücksichtigung des Standorts signifikante Anbauunterschiede in beiden Erntejahren auftreten.

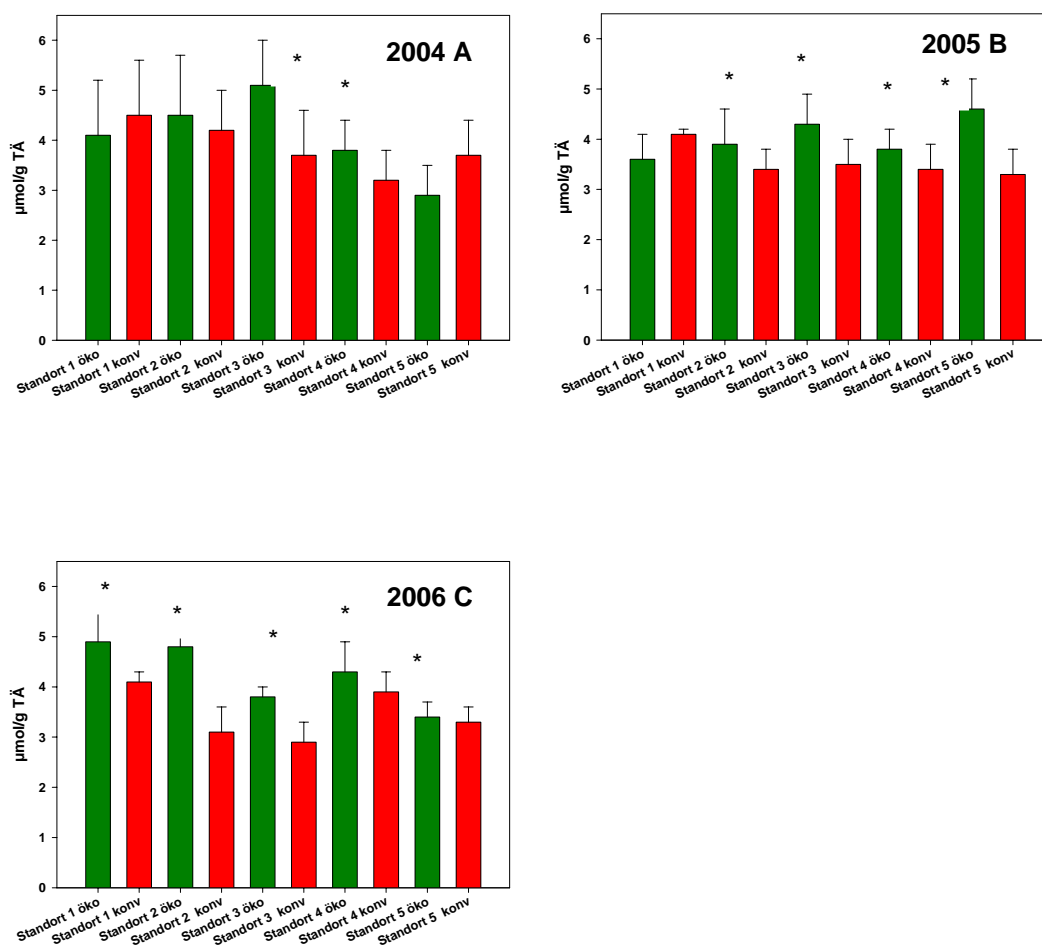


Abb. 4 Antioxidatives Potenzial (FRAP-Test) der Apfelproben der Sorte Golden Delicious der Erntejahre 2004 (A), 2005 (B) und 2006 (C). Die Ergebnisse sind in Frischmasse abgetragen, Werte \pm SA; * $p < 0,05$ vs. konventionell (ANOVA Tuckey Kramer post hoc Test)

Die Ergebnisse der Bestimmung des antioxidativen Potenzials zeigen, dass bei der Ernte 2004 keine signifikanten Unterschiede zwischen ökologisch und konventionell angebauten Äpfeln existieren, gemessen mittels ORAC-Test. Die Ergebnisse des FRAP- und TEAC-

Tests zeigen, dass bei drei von fünf Betriebspaaren signifikante Unterschiede auftreten. Im Erntejahr 2005 und 2006 weisen die ökologisch produzierten Äpfel generell höhere Konzentrationen auf als die konventionell produzierten Äpfel (siehe Abbildung 4).

Die Ergebnisse der Erzeugerproben (Sorte Elstar) (2004) zeigen, dass bei zwei Betrieben die ökologisch angebauten signifikant höhere Konzentrationen aufweisen, bei einem Betrieb können keine Unterschiede gezeigt werden und bei einem anderen die konventionell erzeugten (FRAP, TEAC, ORAC).

Die Ergebnisse der Sorte Elstar (2005) zeigen, dass bei drei von vier Betrieben die ökologisch erzeugten Äpfel ein signifikant höheres Potenzial besitzen als die konventionellen (ORAC), bei einem Betrieb weisen die konventionell erzeugten ein höheres antioxidatives Potenzial auf. Bei den Ergebnissen des FRAP- und TEAC-Tests zeigt sich ein weniger eindeutiges Bild. Hier kann nur für einen Betrieb signifikante Unterschiede bestimmt werden. Bei allen anderen Betrieben treten keine Unterschiede auf.

Insgesamt zeigt sich, dass überwiegend die ökologisch angebauten Äpfel ein höheres antioxidatives Potenzial besitzen, als die konventionell erzeugten. Dies könnte dadurch erklärt werden, dass der Polyphenolgehalt in ökologisch angebauten Äpfeln um ca. 10% höher ist als in konventionellen. Polyphenole sind stark antioxidative Substanzen. Weibel et al. (2001) erklärten die höheren Gehalte an Polyphenolen durch eine bessere Phosphataufnahme der Bio-Äpfel, durch welche zusätzlich Energie zur Synthese bereitgestellt werden könnte.

Darüber hinaus treten Sortenunterschiede in beiden Erntejahren(2004/2005) auf. Die Sorte Elstar besitzt ein signifikant höheres antioxidatives Potenzial als die Sorte Golden Delicious. Das höhere antioxidative Potenzial der Sorte Elstar kann dadurch erklärt werden, dass Elstar-Äpfel generell signifikant höhere Gehalte an Flavanolen (Procyanidine, Catechine) besitzen als die Sorte Golden Delicious. *In vitro* konnte gezeigt werden, dass gerade Procyanidine ein starkes antioxidatives Potenzial besitzen im Vergleich zu anderen Polyphenolen wie z.B. den Cumarsäuren (Tsao et. al. 2005).

Neben der Sorte und der Anbauvariante hat auch der Standort einen Einfluss auf die antioxidative Kapazität. Dies kann darauf zurückzuführen sein, dass die Polyphenolbiosynthese durch Faktoren wie Licht, Temperatur und Feuchtigkeit beeinflusst wird (Nicolas 1994, Awad et al. 2002). Diese Faktoren sind natürlich von Standort zu Standort sehr unterschiedlich und lassen die unterschiedlichen Ergebnisse an einzelnen Standorten erklären.

In Abbildung 5 ist das antioxidative Potenzial der Golden Delicious Äpfel des Betriebspaars abgebildet, welches für die Bioverfügbarkeitstudie (2005) eingesetzt

wurde. Bei diesem Betriebspaar existierten keine signifikanten Anbauunterschiede. Auch beim Betriebspaar, welches für die Interventionsstudie mit Äpfeln (2007) ausgewählt wurde, konnten keine signifikanten Unterschiede gezeigt werden (Ergebnisse nicht dargestellt).

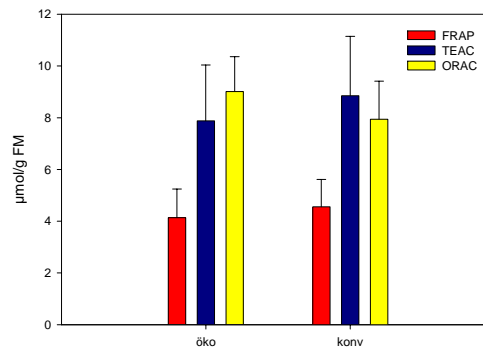


Abb. 5 Antioxidatives Potenzial der Apfelproben, Betriebspaar der Humanstudie, Ernte 2004 (FM=Frishmasse)

Ergebnisse Carotinoidgehalt und antioxidatives Potenzial der Karottenproben Ernte 2004/2005

Die Ergebnisse der Carotinoideanalytik werden im folgenden für die beiden Sorten Narbonne und Nerac dargestellt. Die Ergebnisse der Feldproben (Sorte Rothild und Rodelika) sowie der Polyphenolgehalt der Karotten werden im Bericht nicht vorgestellt.

Anbau

Bei den Analysen des antioxidativen Potenzials der Karottenproben konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen ökologisch und konventionell angebauten Proben gezeigt werden (Ergebnisse nicht dargestellt).

Die Ergebnisse der Carotinoideanalytik der Karottenproben zeigen unter Berücksichtigung des Standorts, dass in beiden Erntejahren Anbauunterschiede im Luteingehalt der Sorte Narbonne auftraten. Im Erntejahr 2004 besaßen die konventionell angebauten Karotten höhere Gehalte und im Erntejahr 2005 die ökologisch angebauten signifikant höhere Gehalte an Lutein. Bei den quantitativ für Karotten bedeutende Carotinoide α - und β -Carotin existierten keine Anbauunterschiede.

Bei der Sorte Nerac konnten in beiden Erntejahren Anbauunterschiede bestimmt werden unter Berücksichtigung des Standortes. Die ökologisch angebaute Karotten wiesen in beiden Erntejahren einen höheren Luteingehalt auf als konventionell angebaute.

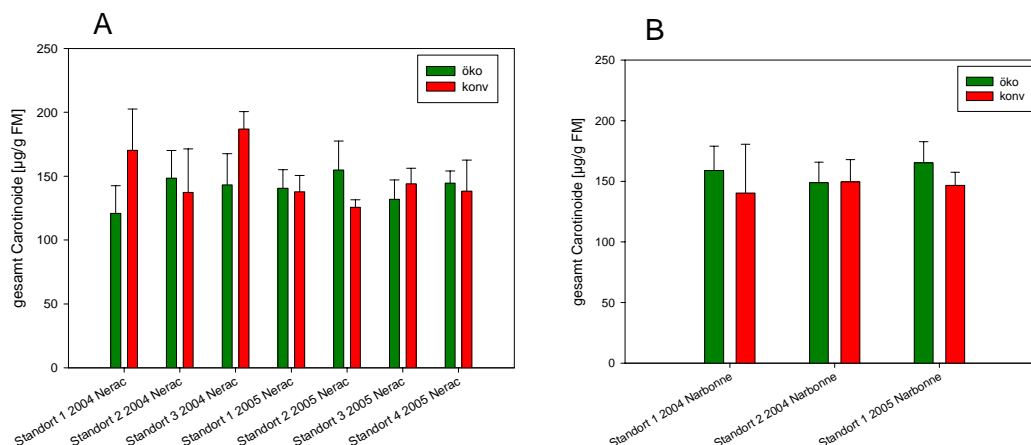


Abb. 6 Gesamt-Carotinoidgehalt der Karottenproben, Nerac (A) und Narbonne (B) (FM=Frishmasse), „Gesamt-Carotinoidgehalt“ entspricht der Summe aus α -, β - Carotin und Lutein.

Bei der Sorte Nerac (2004) konnte gezeigt werden, dass bei zwei Betrieben die konventionell angebaute Karotten signifikant höhere Gehalte an Carotinoiden aufwies als die ökologisch angebaute. Allerdings konnte bei einem Standort der Sorte Nerac keine Unterschiede zwischen ökologischen und konventionell angebaute Karotten gezeigt werden.

Im Erntejahr 2005 konnte bei der Hälfte der Betriebe keine Anbauunterschiede festgestellt werden. Bei β -Carotin traten Anbauunterschiede auf und daher auch bei der Summe der Carotinoide. Bei zwei der vier Betriebe besaßen die biologisch angebaute Paare signifikant höhere β -Carotingehalte als die konventionell angebaute und daher auch höheren Gehalte in der Summe der Carotinoide.

Zusammenfassend zeigt sich, dass der Anbau im Allgemeinen keinen bedeutenden Einfluss auf den Carotinoidgehalt der untersuchten Karottenproben aufweist.

Sorte

Sortenunterschiede zwischen der Sorte Nerac und Narbonne traten nur im Erntejahr 2005 auf. Hier besaß die Sorte Narbonne höhere Gehalte an α -, β - und daraus auch in der Summe aller Carotinoide. Keine Unterschiede wurden bei den Luteingehalten beobachtet.

In Abbildung 7 sind die Konzentrationen an Carotinoiden des Betriebspaars (Narbonne) der Humanstudie abgebildet. Diese Ergebnisse zeigen die Gehalte in rohen sowie in gekochten Karotten (B), wie sie die Probanden erhalten haben. Auch hier treten nur Anbauunterschiede im Luteingehalt auf. Durch den Verarbeitungsprozess kam es zu einer Reduktion der α - und β -Carotingehalte der Proben.

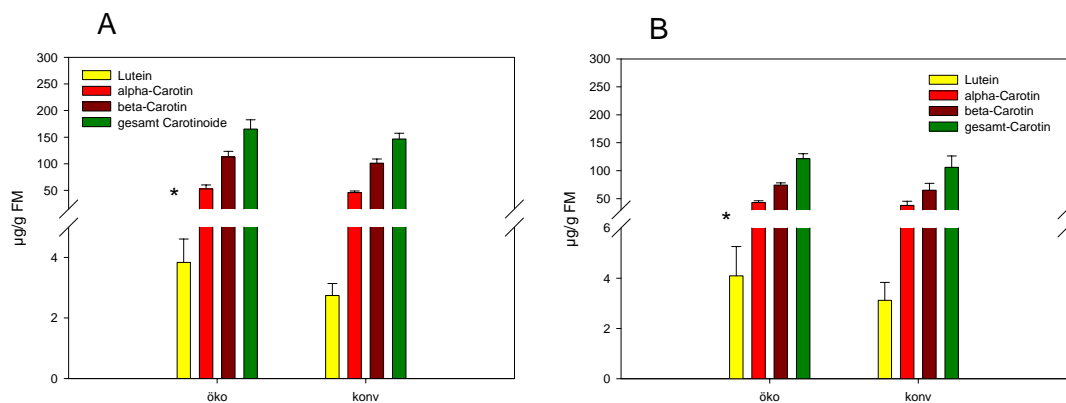


Abb. 7 Carotinoidgehalt des Betriebspaars der Humanstudie (Narbonne, 2005) (FM = Frischmasse), rohem Zustand (A), gegart (B). * $p < 0,05$ vs. konventionell (ungepaarter t-Test).

Ergebnisse Carotinoidgehalt Weizenproben (DOK-Versuch) Ernte 2004/2005/2006

Die Ergebnisse der Carotinoidanalytik der Weizenproben werden im Folgenden für das Erntejahr 2004 dargestellt. Die Ergebnisse der Erntejahre 2005 und 2006 werden in diesem Bericht nicht vorgestellt.

Der Lutein- (Abb. 8A) und der Zeaxanthingehalt (Abb. 8B) sind in den konventionell erzeugten Weizenvollkornproben der Variante CONFYM und in den biologisch erzeugten Weizenvollkornproben der Variante BIOORG am höchsten. Zwischen den anderen Anbauvarianten und der Kontrollvariante konnten keine signifikanten Unterschiede im Carotinoidgehalt analysiert werden (Abb. 8).

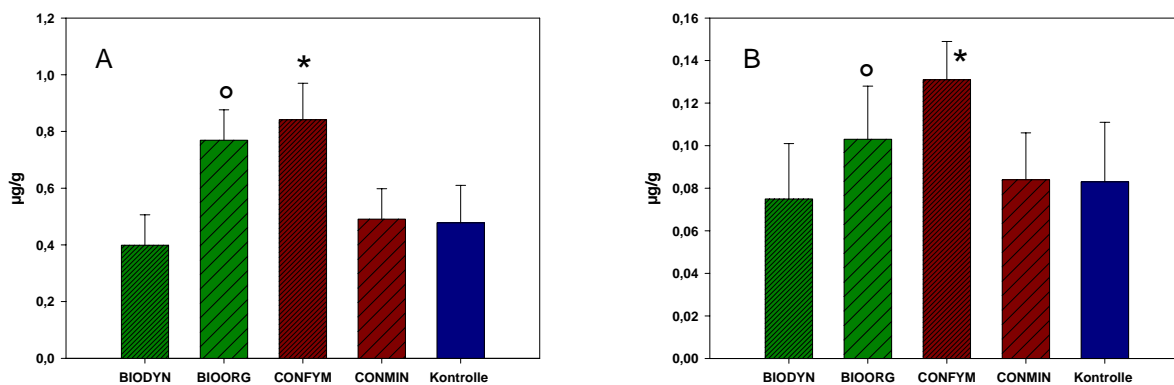


Abb. 8: Lutein- (A) und Zeaxanthingehalt (B) der Weizenvollkornproben (Ernte 2004). Ergebnisse sind in Frischmasse abgetragen Mittelwert \pm SA. * $p < 0,05$ vs. BIODYN, CONMIN, Kontrolle; ° $p < 0,05$ vs. BIODYN, CONMIN, Kontrolle (ANOVA, Tuckey Kramer post hoc Test).

In Abbildung 9 ist der Gesamt-Carotinoidgehalt (Lutein + Zeaxanthin) dargestellt. Es zeigt sich, dass im Erntejahr 2005 unabhängig von den Düngungsvarianten der Carotinoidgehalt signifikant höher war als bei den Ernten der Jahre 2004 und 2006. Das Erntejahr 2004 weist die niedrigsten Carotinoidgehalt von allen Ernten auf.

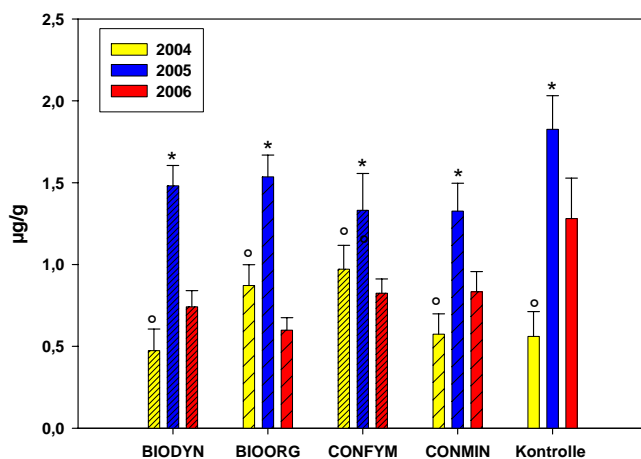


Abb. 9: Jahresunterschiede im Carotinoidgehalt (Summe aus Lutein- und Zeaxanthingehalt) der drei Erntejahre. Ergebnisse sind in Frischmasse abgetragen Mittelwert \pm SA. * $p < 0,05$ vs. 2004, 2006; ° $p < 0,05$ vs. 2005, 2006 (ANOVA, Tuckey Kramer post hoc Test).

Ausgewählte Ergebnisse der Humanstudien

Bioverfügbarkeitsstudie und Interventionsstudie mit Äpfeln

Die antioxidative Kapazität der gewonnenen Blutproben wurde mit den drei genannten antioxidativen Testsystemen beurteilt. Zusätzlich dazu wurde in den Blutleukozyten der Studienteilnehmer die DNA-Schädigungen mittels Comet-Assay bestimmt. Nach dem Apfelverzehr (24 h) konnte eine verbesserter Schutz der DNA vor oxidativen Schäden in beiden Gruppen (ökologisch und konventionell) analysiert werden. Der Apfelverzehr wirkte sich nicht auf die antioxidative Kapazität im TEAC- und ORAC-Test des Plasmas aus. Lediglich der FRAP-Test zeigte nach dem Apfelkonsum bei beiden Versuchsgruppen eine erhöhte antioxidative Kapazität im Blutplasma. Der Anstieg nach dem Apfelverzehr ist vermutlich auf die fruktoseinduzierte Erhöhung der Harnsäurekonzentrationen zurückzuführen. Es ist bekannt, dass die FRAP-Werte stark mit den Harnsäurekonzentrationen korrelieren. Da sich der Apfelverzehr nicht auf den antioxidativen Status auswirkt, treten somit auch keine Unterschiede zwischen ökologisch und konventionell angebauten Äpfeln auf.

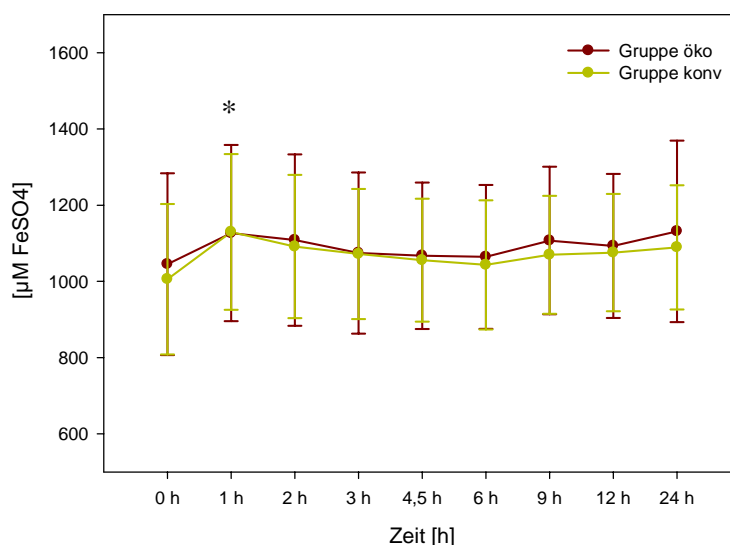


Abb. 10 Antioxidatives Potenzial (beispielhaft FRAP-Test) nach Apfelkonsum im Plasma der Studienteilnehmer. * $p < 0,05$ vs. 0h (repeated measure ANOVA).

Ein Grund hierfür könnte sein, dass Polyphenole aus Äpfeln nur gering absorbiert, in erheblichem Maße vom menschlichen Stoffwechsel umgebaut werden oder erst ein längerfristiger Verzehr von Äpfeln zu einer Erhöhung des antioxidativen Status beim Menschen führt.

Um diese Frage zu klären, wurde eine zweite Humanstudie mit Äpfeln über einen längeren Zeitraum durchgeführt.

Der Verzehr von 500 g Äpfeln pro Tag über einen Zeitraum von 4 Wochen wirkte sich nicht auf den antioxidativen Status der Studienteilnehmer aus. Die antioxidativen Testsysteme (FRAP-, TEAC- und ORAC-Test) zeigten keine signifikante Steigerung durch den Apfelverzehr. Beispielhaft sind die Ergebnisse des FRAP-Tests in Abbildung 11 dargestellt.

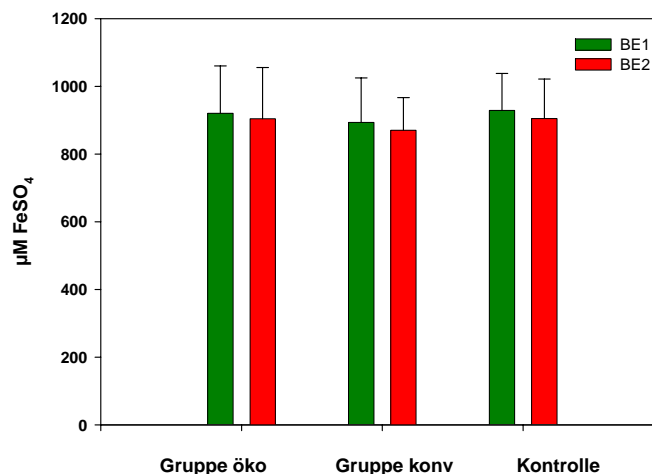


Abb. 11 Antioxidative Kapazität im Plasma (FRAP-Werte) der Studienteilnehmer vor (BE1) und nach (BE2) der Apfelintervention.

Interventionsstudie mit Karotten

Die Ergebnisse der Karottenstudie zeigen, dass der Verzehr von 200 g gekochten Karotten über einen Zeitraum von zwei Wochen zu einer signifikanten Erhöhung der α - und β -Carotingehalte im Plasma der Studienteilnehmer führt (Abb. 12). Der Karottenverzehr führte zu keiner Erhöhung der Luteingehalte im Plasma der Studienteilnehmer. Möglicherweise ist die Konzentration an Lutein in den Karotten zu gering, um eine Erhöhung der Plasmaspiegel zu erzielen.

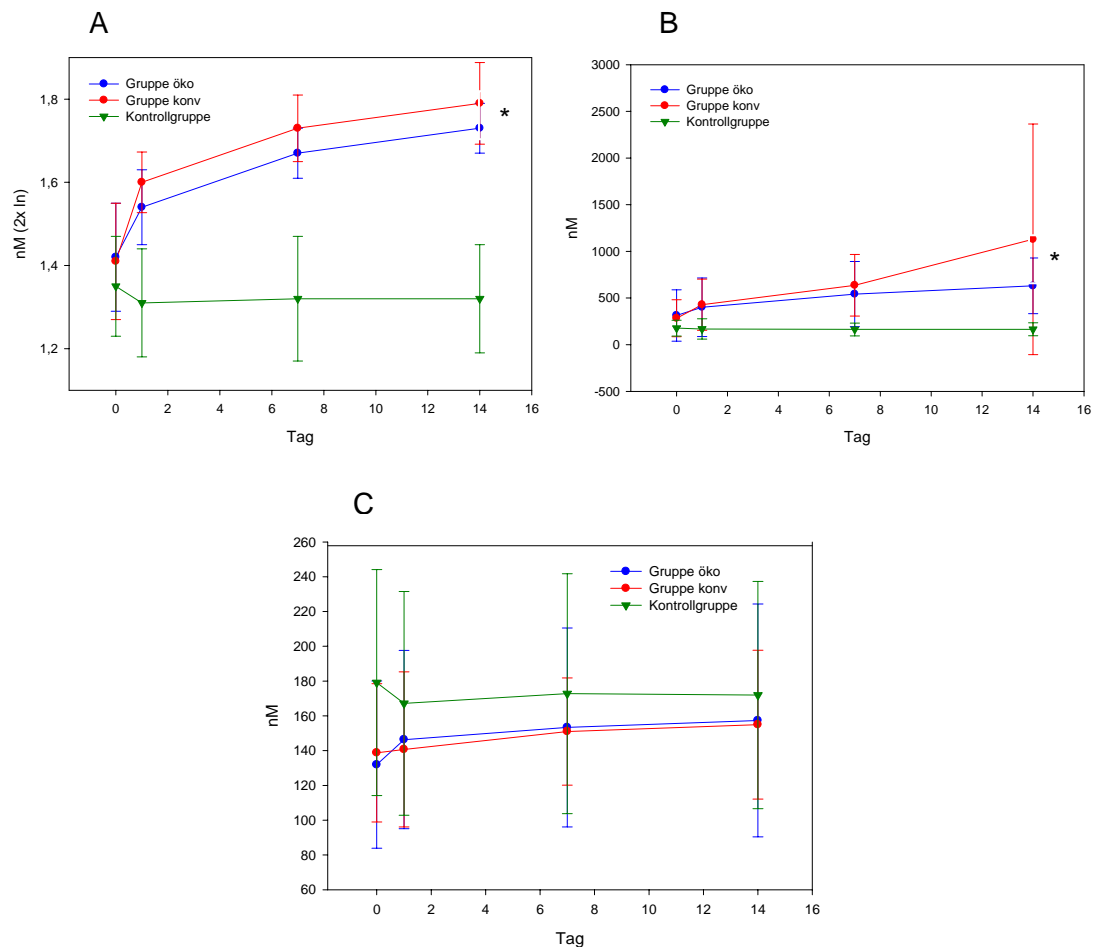


Abb. 12 Carotinoidkonzentration nach dem Verzehr von Karotten im menschlichen Plasma. A α -Carotin, Daten sind zweifach ln-transformiert (Datenstabilität), B β -Carotin und C Luteingehalt; * $p < 0,05$ vs. Tag 0. (repeated measure ANOVA, Tuckey Kramer post hoc Test).

Signifikante anbauabhängige Unterschiede in der Carotinoidbioverfügbarkeit konnten nicht bestimmt werden. Dies könnte dadurch erklärt werden, dass das ausgewählte Betriebspaar keine Unterschiede im Gehalt an Carotinoiden zwischen konventionell und ökologisch angebauten Karotten aufwies (vgl. Abb. 11). Darüber hinaus zeigen diese Ergebnisse, dass anbaubedingte Unterschiede in der Pflanzenmatrix, sich nicht auf die Bioverfügbarkeit von Carotinoiden aus Karotten auswirken.

3.2 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse; Möglichkeiten der Umsetzung oder Anwendung der Ergebnisse für eine Ausdehnung des ökologischen Landbaus

Unabhängig von den ökologischen Vorteilen der alternativen Anbauformen, konnte in diesem Projekt gezeigt werden, dass die Anbauvariante unter Berücksichtigung des

Standorts Einfluss auf die Bildung von sekundären Pflanzenstoffen wie Polyphenole, Carotinoide und dem antioxidativen Potenzial haben kann. Für die Öko-Produkte kann ein leichter statistisch signifikanter höherer Gehalt bzw. antioxidatives Potenzial bestimmt werden. Allerdings ist unter Berücksichtigung von Sortenunterschieden der gemessene Unterschied nur von geringer ernährungsphysiologischer Relevanz.

Die Ergebnisse der Humanstudien zeigen, dass die geringen Anbauunterschiede, die in den Lebensmitteln bestimmt werden konnten, keinen Einfluss auf die Bioverfügbarkeit ausüben. Biologisch erzeugte Äpfel und Karotten besitzen daher keine ernährungsphysiologische Relevanz.

Die gewonnenen Daten sind für die Beurteilung ernährungsphysiologischer Qualität von ökologisch erzeugten Lebensmitteln äußerst wichtig. Sie zeigen, für den Bereich der sekundären Pflanzenstoffe deutlich, dass ökologisch erzeugte Lebensmittel grundsätzlich keine höhere ernährungsphysiologischen Wert im Vergleich zu konventionell produzierten Lebensmitteln besitzen. Diese Erkenntnis ist für die Verbraucherinformation wichtig, da bisher von einem höheren ernährungsphysiologischen Wert ökologisch erzeugter Lebensmittel ausgegangen wurde. Offensichtlich liegen die Vorteile des ökologischen Anbaus in anderen Bereichen (Rückstandsfreiheit, Energieeinsatz etc.). Die Ergebnisse dieses Projektes ermöglichen somit einer sachlich fundierteren Bewertung ökologischer Lebensmittel damit eine verbesserte Verbraucherinformation.

4. Zusammenfassung

Eine hohe ernährungsphysiologische Qualität von Lebensmitteln ist ein entscheidender Faktor für eine gesunde Ernährung. Ob ökologisch erzeugte Lebensmittel sich hinsichtlich ihrer ernährungsphysiologischen Qualität von konventionell erzeugten unterscheiden, war bisher unzureichend erforscht.

Ziel des Projektes war es daher mögliche Unterschiede zwischen konventionell und ökologisch angebauten Lebensmitteln im antioxidativen Potential sowie im Carotinoidgehalt der Lebensmittel zu ermitteln. Sekundären Pflanzenstoffen (Polyphenole und Carotinoide) kommt allgemein eine hohe gesundheitliche Bedeutung zu.

Hierfür sollte bei verschiedenen Lebensmitteln (Äpfel, Karotten und Weizen) der Carotinoidgehalt sowie das antioxidative Potential als Summenparameter für die Gesamtheit aller sekundären Pflanzenstoffe mit antioxidativer Wirkung bestimmt werden. Darüber hinaus wurde in drei Humanstudien, mit Äpfeln und Karotten, die Bioverfügbarkeit der Carotinoide und Polyphenole nach dem Verzehr sowie die zeitliche Veränderung des Antioxidantienstatus *in vivo* bestimmt.

Hierfür wurden zunächst das antioxidative Potenzial in Apfel-, Karotten- und Weizenvollkornproben mit drei unterschiedlichen *in vitro* Testsysteme bestimmt: FRAP-, ORAC- und TEAC-Test. Der Carotinoidgehalt der Karotten- und Weizenproben (α -, β -Carotin, Lutein, Zeaxanthin) wurde mittels HPLC/DAD/MS quantifiziert.

Um Einflüsse der Anbauweise auf die Bioverfügbarkeit von Polyphenolen und Carotinoide sowie Veränderungen im antioxidative Potenzial der Studienteilnehmer zu untersuchen, wurden drei humane Interventionsstudien (Äpfel, Karotten) durchgeführt.

Die Carotinoidekonzentrationen sowie das antioxidative Potenzial im Plasma wurden analog zu den *in vitro* Versuchen bestimmt. Zusätzlich zu den *in vitro* Untersuchungen wurden bei den *in vivo* Analysen der Comet-Assay und die Bestimmung der ox-LDL durchgeführt.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Anbauweise (ökologisch/konventionell) unter Berücksichtigung des Standortes die Bildung von sekundären Pflanzenstoffen wie Polyphenole und Carotinoide und das antioxidative Potenzial beeinflussen kann. Bei den Äpfeln konnten in beiden Erntejahren signifikante Sortenunterschiede im antioxidativen Potenzial gezeigt werden.

In den durchgeführten Humanstudien mit Äpfeln konnten keine Effekte durch den Verzehr von Äpfeln auf den Gesamtpolyphenolgehalt und das antioxidative Potenzial gezeigt werden. Ein verbesserter Schutz der DNA vor oxidativen Schäden konnte in beiden Gruppen (ökologisch/konventionell) nach dem Apfelverzehr (24 h) festgestellt werden.

In der Humanstudie mit Karotten kann gezeigt werden, dass es zu einer Erhöhung der α - und β -Carotingehalte im Plasma der Studienteilnehmer kommt. Unterschiede in der

Carotinoidbioverfügbarkeit konnten zwischen den beiden Gruppen (ökologisch/konventionell) nicht gezeigt werden. Der Karottenverzehr hatte keinen Einfluss auf den Luteinplasmaspiegel.

5. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen

Carotinoidanalytik

In den Karotten- und Weizenproben sowie in den Humanproben sollte der Carotinoidgehalt bestimmt werden. Dieses Arbeitsziel konnte erreicht werden. In den Karotten- (α -, β - und Gesamt-Carotinoidgehalt) und Weizenproben (Lutein, Zeaxanthin) wurde der Carotinoidgehalt in allen drei Erntejahren bestimmt. In den Blutproben wurde der Carotinoidgehalt vor, während und nach dem Verzehr von täglich 200 g gekochten Karotten analysiert (vgl. 3.).

Antioxidatives Potenzial

Das antioxidative Potenzial der unterschiedlich angebauten Lebensmittel sollte *in vitro* unter Einsatz etablierter Testmethoden (ORAC, FRAP, TEAC, LDL-Oxidation) bestimmt werden.

Zusätzlich dazu wurde der fettlösliche TEAC-Assay in den Karottenproben etabliert.

Ernährungsversuche

Für die ernährungsphysiologische Qualität eines Lebensmittels ist die Bioverfügbarkeit der darin enthaltenen Inhaltsstoffe wichtig.

Es konnten alle drei Humanstudien, wie im Antrag beschrieben, erfolgreich durchgeführt werden und alle Messungen des Antioxidantienstatus (ORAC, FRAP, TEAC, LDL-Oxidation) bestimmen werden. Bei den Studien wurden zusätzlich dazu die DNA-Schäden in Blutleukozyten bestimmt und die Aktivität der natürlichen Killerzellen.

Die Humanstudien mit Äpfeln wurden wie im Antrag beschrieben, erfolgreich durchgeführt. Die Messungen zum antioxidativen Potenzial, Gesamtpolyphenolgehalt und die Ergebnisse der DNA-Schäden in Blutleukozyten sind ausgewertet (vgl. 3).

Zusätzlich durchgeführte Arbeitsziele

Neben denen im Projekt dargestellten Arbeitszielen wurde zusätzlich dazu der Polyphenolgehalt aller Lebensmittel bestimmt. Diese Messungen wurden von uns als zusätzlich sehr wichtig erachtet, da wir im gleichen Probenmaterial das antioxidative Potenzial analysierten und nur so einen direkten Vergleich zwischen dem Gehalt an sekundären Pflanzenstoffen und antioxidativer Kapazität möglich war.

Neben dem Gesamtpolyphenolgehalt der Plasmaproben untersuchen wir die einzelnen Polyphenolgruppen im Plasma der Studienteilnehmer, diese Methode wird zum jetzigen Zeitpunkt optimiert. Die Etablierung der Methode wies einige Schwierigkeiten auf. Im November 2007 wurde eine neue LC/MS angeschafft, mit der die Polyphenolgehalte der Plasmaproben von beiden Humanstudien mit Äpfeln analog analysiert werden sollen. Diese Analysen werden trotz Beendigung des Projektes noch durchgeführt und liegen voraussichtlich im Sommer 2008 vor.

6. Literaturverzeichnis

- Arts ICW, Jacobs DR, Harnack LJ, Gross M, Folsom AR (2001) Dietary catechins in relation to coronary heart disease death among postmenopausal women. *Epidemiology* 12: 668-675.
- Aruoma OI (2003) Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutation Res* 523-524: 9-20.
- Asami DK, Hong YJ, Barrett DM, Mitchell AE (2003) Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. *J Agric Food Chem* 51: 1237-1241.
- Benzie IF, Strain JJ (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of „antioxidant power“: the FRAP assay. *Anal Biochem.* 239: 70-76
- Brandt K, Molgaard JP (2001) Organic agriculture: Does it enhance or reduce the nutritional value of plant foods? *J Sci Food Agric* 81: 924-931.
- Bub A, Barth SW, Watzl B, Briviba K, Rechkemmer G (2004) Paraoxonase 1 Q192R (PON1-192) polymorphism is associated with reduced lipid peroxidation in healthy young men on a low carotenoid diet supplemented with tomato juice. (eingereicht)
- Bub A, Watzl B, Abrahamse L, Delincée H, Adam S, Wever J, Müller H, Rechkemmer G (2000) Moderate intervention with carotenoid-rich vegetable products reduces lipid peroxidation in men. *J Nutr* 130: 2200-2206.
- Grinder-Pedersen L, Rasmussen SE, Bügel S, Jörgensen LV, Dragsted LO, Gundersen V, Sandström B (2003) Effect of diets based on foods from conventional versus organic production on intake and excretion of flavonoids and markers of antioxidative defense in humans. *J Agric Food Chem* 51: 5671-5676.
- Henning SM, Fajardo-Lira C, Lee HW, Youssefian AA, Go VL, Heber D (2003) Catechin content of 18 teas and a green tea extract supplement correlates with the antioxidant capacity. *Nutr Cancer* 45: 226-235.
- Holick CN, Michaud DS, Stolzenberg-Solomon R, Mayne ST, Pietinen P, Taylor PR, Virtamo J, Albanes D (2002) Dietary carotenoids, serum β -carotene, and retinol and risk of lung cancer in the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cohort Study. *Am J Epidemiol* 156: 536-547.
- Knekt P, Järvinen R, Heliövaara M, Teppo L, Pukkala E, Aromaa A (1997) Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *Am J Epidemiol* 146: 223-230.
- Knekt P, Kumpulainen J, Järvinen R, Rissanen H, Heliövaara M, Reunanen A, Hakulinen T, Aromaa A (2002) Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am J*

Clin Nutr 76: 560-568.

- Lombardi-Boccia G, Lucarini M, Lanzi S, Aguzzi A, Cappelloni M (2004) Nutrients and antioxidant molecules in yellow plums (*Prunus domestica* L.) from conventional and organic productions: a comparative study. *J Agric Food Chem* 52: 90-94.
- Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL (2001) Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J Agri Food Chem* 49: 4619-4626
- Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, Bianchi M, Brighenti F (2003) Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro methods. *J Nutr* 133: 2812-2819.
- Pulido R, Bravo L, Saura-Calixto F (2000) Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified reducing/antioxidant power assay *J Agri Food Chem* 48: 3396-3402.
- Ren H, Endo H, Hayashi T (2001) The superiority of organically cultivated vegetables to general ones regarding antimutagenic activities. *Mutation Res* 496: 83-88.
- Schirrmacher G, Schempp H (2003) Antioxidative potential of flavonoid-rich extracts as a new quality marker for different apple varieties. *J Appl Botany* 77: 163-166.
- Serafini M, Maiani G, Ferro-Luzzi A (1998) Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. *J Nutr* 128: 1003-1007
- Tarozzi A, Marchesi A, Cantelli-Forti G, Hrelia P (2004) Cold-storage affects antioxidant properties of apples in Caco-2 cells. *J Nutr* 134: 1105-1109.
- Tauscher B, Brack G, Flachowsky G, Henning M, Köpke U, Meier-Ploeger A, Münzing K, Niggli U, Pabst K, Rahmann G, Willhöft C, Mayer-Miebach E (2003) Bewertung von Lebensmitteln verschiedener Produktionsverfahren. Statusbericht 2003. Senatsarbeitsgruppe „Qualitative Bewertung von Lebensmitteln aus alternativer und konventioneller Produktion“. *Schriftenreihe des Bundesministeriums für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft* 499: 1-166.
- Watzl B, Leitzmann C (2005) Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln, 3. Auflage, Hippokrates Verlag, Stuttgart.
- Weibel FP, Bickel R, Leuthold S, Alföldi T (1997) Are organically grown apples tastier and healthier? A comparative field study using conventional and alternative methods to measure fruit quality. *Acta Hort* 517: 417-426.
- Weibel F, Bickel R, Leuthold S, Alföldi T (2001) Are organically grown apples tastier and healthier? A comparative field study using conventional and alternative methods to measure fruit quality. *Acta Hort.* 517: 417-421

- Woese K, Lange D, Boess C, Bögl KW (1997) A comparison of organically and conventionally grown foods – results of a review from the relevant literature. *J Sci Food Agric* 74: 281-293.
- Worthington V (1998) Effect of agricultural methods on nutritional quality. A comparison of organic with conventional crops. *Alternative Therapies* 4: 58-69.
- Wu X, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Prior RL (2004) Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *J Agric Food Chem* 52: 4026-4037.

7. Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen zum Projekt

Veröffentlichungen:

Stracke BA, Briviba K, Bub A, Rüfer CE, Watzl B (2006) Sind Bio-Äpfel gesünder? *Forschungsreport*, 2: 4-6

Briviba K, Stracke BA, Rüfer CE, Watzl B, Weibel FP, Bub A (2007) Effect of Consumption of Organically and Conventionally Produced Apples on Antioxidant Activity and DNA Damage in Humans. *J Agric Food Chem*, 55: 7716–7721

Stracke BA, Rüfer CE, Bub A, Briviba K, Seifert S, Kunz C, Watzl Bioavailability and Efficacy of Carotenoids from Organically and Conventionally Produced Carrots in Healthy Men. **Eingereicht April 2008.**

Stracke BA, Weibel FP, Bub A, B Watzl, Rüfer CE Three-Year Comparison of the Polyphenol Content and the Antioxidant Capacity in Organic and Conventional Apples (Golden Delicious). **Entwurf.**

Vorträge

Rüfer CE, Stracke BA, Bub A, Watzl B, Vergleichende Studie zu Gehalt, Bioverfügbarkeit und antioxidativer Kapazität von sekundären Pflanzenstoffen in ökologisch und konventionell angebautem Gemüse und Obst. Statusseminar - Das Neueste aus der Ressortforschung für den Ökologischen Landbau, Schwerpunkt Pflanze, Detmold, Oktober 2007.

Rüfer CE, Vergleichende Studie zu Gehalt, Bioverfügbarkeit und antioxidativer Kapazität von sekundären Pflanzenstoffen in ökologisch und konventionell angebautem Gemüse und Obst. Institutskolloquium am Institut für Ernährungswissenschaften der Universität Potsdam, Potsdam, Juli 2007.

Rüfer CE, Vergleichende Studie zu Gehalt, Bioverfügbarkeit und antioxidativer Kapazität von sekundären Pflanzenstoffen in ökologisch und konventionell angebautem Gemüse und Obst. Institutskolloquium am Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie der TU Berlin, Berlin, Juli 2007.

Rüfer CE, Sekundäre Pflanzenstoffe in ökologisch und konventionell angebautem Gemüse und Obst. Statusseminar - Das Neueste aus der Ressortforschung für den Ökologischen Landbau, Braunschweig, März 2006.

Stracke BA, Watzl B, Rüfer CE. Lutein- und Zeaxanthingehalt in ökologisch und konventionell angebautem Weizenvollkorn (*Triticum aestivum* L.). Wissenschaftlicher Kongress der Deutschen Gesellschaft für Ernährung e.V. Bonn, (Vol. 12. 2008, 7) 13.-14.3.2008

Stracke BA. Vergleichende Studie zu Gehalt, antioxidatives Potenzial und Bioverfügbarkeit von sekundären Pflanzenstoffen in ökologische und konventionell angebauten Karotten und Äpfeln. Fakultät Gartenbau und Lebensmitteltechnologie (Prof. Meinken), Fachhochschule Weihenstephan, 14.01.2008

Stracke BA. Sekundäre Pflanzenstoffe in Obst und Gemüse biologisch – konventionell. Verbraucherzentrale Bundesverband, „Neue wissenschaftliche Erkenntnisse und Trends in der Ernährungsphysiologie“ Hannover, 12.06.2007

Stracke BA, Bub A, Briviba K, Rüfer CE, Watzl B. Carotinoidgehalt, antioxidatives Potenzial und Bioverfügbarkeit von Carotinoiden aus ökologisch und konventionell angebauten Karotten. Wissenschaftlicher Kongress der Deutschen Gesellschaft für Ernährung e.V. Halle/Saale, (Vol. 9. 2007,8) 8.- 9.3.2007

Stracke BA. Briviba K, Bub A, Rüfer CE, Watzl B. Carotenoids in conventionally and organically produced carrots: Content, bioavailability and antioxidant capacity. 2nd European Conference – New approaches in food quality analysis. Karlsruhe, 14.-15.09.2006

Stracke BA. Polyphenol-, Carotinoidgehalt und antioxidatives Potenzial von Äpfeln und Karotten aus konventionellem und ökologischem Anbau. Institut für Ernährungswissenschaften (Prof. Kunz), Universität Giessen, 12.06.2006

Stracke BA, Bub A, Briviba K, Rüfer CE, Watzl B. Polyphenolgehalt und antioxidatives Potenzial von Äpfeln aus konventionellem und ökologischem Anbau. 43. Wissenschaftlicher Kongress der Deutschen Gesellschaft für Ernährung e.V. Stuttgart, (Vol. 8. 2006, 21-22), 9.-10.3.2006

Watzl, B.: „The content of secondary plant compounds in organically produced food.“
Organic Food Quality & Health Workshop “Newest Research Results on Organic Food
Quality, Food Safety, & Health”, Nürnberg, 16.2.2006

Poster

Stracke BA, Briviba K, Bub A, Rüfer CE, Watzl B. Comparison of organically and
conventionally grown carrots: Carotenoid content, bioavailability and antioxidant capacity.
10th Karlsruhe Nutrition Congress – Health Aspects of Vegetables and Fruits: Scientific
Evidence for “5-a-day”. Karlsruhe, 15.-17.10.2006