

Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften (IEL) - Ernährungsphysiologie

---

**Bolusgabe von Weißem und Grünem Tee bei Gesunden:  
Plasmakinetik von Flavan-3-olen und Einfluss auf oxidative Biomarker**

**I n a u g u r a l – D i s s e r t a t i o n**

zur  
Erlangung des Grades  
Doktor der Ernährungs- und Haushaltswissenschaft  
(Dr. oec. troph.)

der  
Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät  
der  
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität  
zu Bonn

genehmigte Dissertation

vorgelegt am 26.02.2010

von

Nadine Müller

aus Dortmund

Referent: Prof. Dr. Peter Stehle

Korreferent: PD Dr. Gudrun Ulrich-Merzenich

Tag der mündlichen Prüfung: 10.09.2010

Erscheinungsjahr: 2010

***Meiner Familie***

## Kurzfassung

### **Bolusgabe von Weißem und Grünem Tee bei Gesunden: Plasmakinetik von Flavan-3-olen und Einfluss auf oxidative Biomarker**

**Einleitung:** Es wird angenommen, dass der Konsum von Weißem Tee und Grünem Tee aufgrund des hohen Gehalts an antioxidativ wirkenden Flavan-3-olen das pro-/antioxidative Gleichgewicht beeinflusst. Somit gilt der Anstieg der Plasmaspiegel an Flavan-3-olen als Voraussetzung für die gesundheitsfördernden Effekte unfermentierter Tees. Ziel dieser offenen, randomisierten, kontrollierten Studie war es, den Einfluss einer Bolusgabe von Weißem Tee und Grünem Tee auf die Plasmakinetik von Flavan-3-olen (Catechin, Epicatechin, Epigallocatechingallat, Epicatechingallat) bei gesunden Nichtrauchern im Vergleich zu einer Kontrollgruppe (Mineralwasser) zu untersuchen. Zusätzlich wurde die Wirkung der Bolusgabe von 600 mL dieser Getränke auf die antioxidative Kapazität im Plasma sowie oxidative Biomarker untersucht.

**Methoden:** 68 gesunde Nichtraucher (21 ♂, 47 ♀; 24±4 Jahre; BMI 22,0±2,2 kg/m<sup>2</sup>) erhielten nach polyphenolarmer Kost am Vortag morgens nüchtern 600 mL Weißen Tee (EC: 28 µmol/L; ECGC: 46 µmol/L; ECG: 11 µmol/L), Grünen Tee (EC: 88 µmol/L; EGCG: 201 µmol/L; ECG: 25 µmol/L) oder Wasser. Blutentnahmen erfolgten vor sowie 1, 2, 3, 5 und 8 h nach Konsum für die Plasmakinetik und vor sowie 2 und 5 h nach Konsum für die weiteren Parameter. Die Konzentration von C, EC, ECG und EGCG wurde mittels HPLC-EC bei 0,6 V im Plasma als Summe von freien Flavan-3-olen und glucuronidierten sowie sulfatierten Metaboliten bestimmt und daraus AUC<sub>0-8h</sub>, C<sub>max</sub>, T<sub>max</sub> und T<sub>1/2</sub> ermittelt. Der Gesamtphenolgehalt sowie die Harnsäure wurden photometrisch und Vitamin C mittels HPLC bestimmt. Im Plasma wurden weiterhin die antioxidative Kapazität als TEAC und 8-Isoprostaglandin-F<sub>2α</sub> mittels ELISA erfasst. DNA-Einzelstrangbrüche in Leukozyten wurden *in vivo* und *ex vivo* (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Behandlung) mit Comet Assay gemessen. Die statistische Auswertung erfolgte mit Mann-Whitney-U und Wilcoxon-Test.

**Ergebnisse:** Zur Baseline lagen die Konzentrationen der Flavan-3-ole unter den jeweiligen Nachweisgrenzen und waren mit Ausnahme von ECG (WT vs. Kontrolle, p=0,02) zwischen den Gruppen nicht verschieden. T<sub>max</sub> von EC, ECG und EGCG wurde 2 h nach GT-Konsum erreicht, bei WT nach 2 h (ECG), 3 h (EGCG) bzw. 5 h (EC). Die AUC<sub>0-8h</sub> von EC war bei GT im Vergleich zu größer zu WT und Kontrolle größer (beide: p<0,01). Die AUC<sub>0-8h</sub> von EGCG (WT, GT: p<0,01) und ECG (WT, GT: p<0,001) war größer nach Konsum von WT und GT im Vergleich zur Kontrolle, aber nicht untereinander verschieden.

Die weiteren Baselinewerte waren zwischen den Gruppen, mit Ausnahme von Harnsäure, nicht verschieden. TEAC wurde durch Teekonsum nicht verändert, nahm aber in der Kontrollgruppe ab. Vitamin C stieg 2 h nach GT- und Wasserkonsum und fiel nach 5 h auf das Baselineniveau ab. In allen Gruppen wurde nach 2 h ein temporärer Anstieg der DNA-Schäden *in vivo* beobachtet, während kein Effekt auf DNA-Schäden *ex vivo* und F<sub>2</sub>-Isoprostane gemessen wurde.

**Schlussfolgerungen:** Unterschiede in der Plasmakinetik sind wahrscheinlich durch den unterschiedlichen Flavan-3-ol-Gehalt der Tees sowie durch ihr Flavan-3-ol-Muster zu erklären. Die Effekte von Grünem Tee sind trotz der höheren Konzentration an Flavan-3-olen im Teeaufguss nicht verschieden von denen von Weißem Tee, da die Absorption einzelner Flavan-3-ole aus Weißem Tee höher zu sein scheint. Das Ausbleiben von Effekten auf Biomarker für oxidativen Stress wie F<sub>2</sub>-Isoprostane und DNA-Einzelstrangbrüche *ex vivo* könnte durch den hohen antioxidativen Schutz bei gesunden Nichtrauchern erklärbar sein. Die Bolusgabe unfermentierter Tees führt zu einem Anstieg der Flavan-3-ole im Plasma, aber beeinflusst nicht die antioxidative Kapazität sowie oxidative Biomarker.

## **Abstract**

### **Bolus ingestion of White and Green Tea in healthy volunteers: Plasma kinetics of flavan-3-ols and influence on oxidative biomarkers**

**Introduction:** It is well accepted that the ingestion of White tea and Green tea affects the pro/antioxidative balance due to their high content of antioxidative flavan-3-ols. Thus the increase of flavan-3-ols in plasma is assumed as a requirement for the health-promoting effects of non-fermented teas. The aim of this open, randomized, controlled trial was to determine the influence of a bolus consumption of White tea and Green tea on plasma kinetics of flavan-3-ols (catechin, epicatechin, epigallocatechin gallate, epicatechin gallate) in healthy nonsmokers compared with a control group (mineral water). In addition the effects of the bolus intake of 600 mL of these beverages were examined on the antioxidant capacity in plasma as well as on oxidative biomarkers.

**Methods:** 68 healthy nonsmokers (21 ♂, 47 ♀; 24±4 years; BMI 22,0±2,2 kg/m<sup>2</sup>) consumed after a polyphenol-free diet on the day before treatment 600 mL White tea (EC: 28 µmol/L; EGCG: 46 µmol/L; ECG: 11 µmol/L), Green tea (EC: 88 µmol/L; EGCG: 201 µmol/L; ECG: 25 µmol/L) or water. Blood was withdrawn before as well as 1, 2, 3, 5 and 8 h after consumption for the plasma kinetics and before as well as 2 and 5 h after consumption for the further parameters. The concentrations of C, EC, ECG and EGCG were measured by HPLC-EC with 0,6 V as the sum of free flavan-3-ols as well as glucuronidated and sulfated conjugates in the plasma and from this AUC<sub>0-8h</sub>, C<sub>max</sub>, T<sub>max</sub> and T<sub>1/2</sub> were determined. The total phenol content as well as uric acid were determined photometrically and vitamin C was measured by HPLC. In addition the antioxidative capacity as TEAC and 8-isoprostaglandine-F<sub>2α</sub> were measured with ELISA. DNA single strand breaks in leukocytes were measured *in vivo* and *ex vivo* (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment) with the Comet Assay. The statistic evaluation was performed with Mann-Whitney-U and Wilcoxon test.

**Results:** The concentrations of the flavan-3-ols were under the respective detection limits at baseline and were not different between the groups with exception of ECG (WT vs. control, p=0,02). T<sub>max</sub> of EC, ECG and EGCG was reached 2 h after GT consumption and with WT intake after 2 h (ECG), 3 h (EGCG) and/or 5 h (EC). The AUC<sub>0-8h</sub> of EC was higher with GT compared with WT and controls (both: p<0.01). The AUC<sub>0-8h</sub> of EGCG (WT, GT: p<0.01) and ECG (WT, GT: p<0.001) was higher after consumption of WT and GT in the comparison controls, but not between themselves. The further baseline values were not different between the groups, with exception of uric acid. TEAC was not changed by tea consumption, however decreased in the control group. Vitamin C increased 2 h after GT and water consumption and decreased after 5 h to baseline value. A temporary increase of the DNA damage was observed *in vivo* in all groups after 2 h, while no effect was measured on DNA damage *ex vivo* as wells as F<sub>2</sub>-isoprostanes.

**Conclusions:** Differences in plasma kinetics are probably to be explained by the different content of flavan-3-ols of the teas as well as by their flavan-3-ol composition. The effects of Green tea are not different to White tea despite the higher concentration of flavan-3-ols, since absorption of individual flavan-3-ols from White tea seems to be higher. The lacking effect on biomarkers for oxidative stress like F<sub>2</sub>-isoprostane and DNA single strand breaks *ex vivo* could be explained by the high anti-oxidative protection in healthy nonsmokers. The bolus consumption of non-fermented teas leads to an increase of flavan-3-ols, but has no effect on antioxidative capacity as well as oxidative biomarkers.

# Inhaltsverzeichnis

<b>KURZFASSUNG</b> .....	<b>4</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>5</b>
<b>INHALTSVERZEICHNIS</b> .....	<b>6</b>
<b>ANLAGENVERZEICHNIS</b> .....	<b>8</b>
<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>9</b>
<b>TABELLENVERZEICHNIS</b> .....	<b>10</b>
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>11</b>
<b>1 EINLEITUNG</b> .....	<b>13</b>
1.1 KONSUM, HERSTELLUNG UND INHALTSSTOFFE VON WEIßEM UND GRÜNEM TEE IM TEEBLATT SOWIE IM AUFGUSS.....	13
1.2 FLAVAN-3-OLE – CHEMISCHE STRUKTUR, ANTIOXIDATIVE KAPAZITÄT UND BIOTRANSFORMATION IM MENSCHLICHEN ORGANISMUS .....	14
1.3 INTERVENTIONSSTUDIEN ZUM BOLUSKONSUM UNFERMENTIERTER TEES.....	16
1.3.1 <i>Weißer Tee</i> .....	16
1.3.2 <i>Grüner Tee</i> .....	17
<b>2 ZIELSETZUNG</b> .....	<b>26</b>
<b>3 MATERIAL UND METHODEN</b> .....	<b>27</b>
3.1 STUDIENDESIGN .....	27
3.2 STUDIENGETRÄNKE .....	27
3.3 PROBANDEN .....	28
3.3.1 <i>Ein-/Ausschlusskriterien</i> .....	28
3.3.2 <i>Fallzahlabschätzung</i> .....	29
3.4 STUDIENTAGE.....	29
3.4.1 <i>Zeitlicher Ablauf</i> .....	29
3.4.2 <i>Blutentnahmen und Aufbereitung der Blutproben</i> .....	30
3.5 LABORANALYTIK .....	31
3.5.1 <i>Gesamtphenolgehalt</i> .....	31
3.5.2 <i>Flavan-3-ole</i> .....	33
3.5.3 <i>Ascorbinsäure</i> .....	41
3.5.4 <i>Harnsäure</i> .....	43
3.5.5 <i>Antioxidative Kapazität</i> .....	45
3.5.6 <i>F<sub>2</sub>-Isoprostane</i> .....	47
3.5.7 <i>DNA-Einzelstrangbrüche</i> .....	50
3.6 BESTIMMUNG DER ENERGIE-, NÄHRSTOFF- UND POLYPHENOLZUFUHR AM VORTAG .....	53
3.7 STATISTIK.....	54

---

<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>55</b>
4.1	PROBANDEN .....	55
4.2	ERNÄHRUNGSVERHALTEN UND COMPLIANCE .....	56
4.3	GESAMTPHENOLGEHALT.....	56
4.4	FLAVAN-3-OLE .....	57
4.5	VITAMIN C .....	62
4.6	HARNSÄURE .....	63
4.7	ANTIOXIDATIVE KAPAZITÄT .....	64
4.8	F <sub>2</sub> -ISOPROSTANE.....	65
4.9	DNA-EINZELSTRANGBRÜCHE .....	66
<b>5</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>68</b>
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>83</b>
	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>85</b>
	<b>DANKSAGUNG</b> .....	<b>105</b>

## Anlagenverzeichnis

ANLAGE 1: FRAGEBOGEN FÜR PROBANDEN/PROBANDINNEN .....	93
ANLAGE 2: LEBENSMITTEL-LEITFADEN ZUR POLYPHENOL-ARMEN ERNÄHRUNG .....	95
ANLAGE 3: 24 H-ERNÄHRUNGSPROTOKOLL .....	98

## Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: STRUKTURFORMELN DER IN DER STUDIE GEMESSENEN FLAVAN-3-OLE .....	15
ABBILDUNG 2: CHROMATOGRAMM EINES FLAVAN-3-OL-MISCHSTANDARDS (JE 80 $\mu$ MOL/L) AUS EPIGALLOCATECHIN (EGC), CATECHIN (C), EPICATECHIN (EC), EPIGALLOCATECHINGALLAT (EGCG) UND EPICATECHINGALLAT (ECG) GEMESSEN GEGENÜBER AG/AGCL BEI +0,6 V .....	40
ABBILDUNG 3: CHROMATOGRAMM EINES VITAMIN C-STANDARDS (70,12 $\mu$ MOL/L) BEI 243 NM UV/VIS-DETEKTION .....	43
ABBILDUNG 4: ZELLKERNE VON LEUKOZYTEN BEI 400-FACHER VERGRÖßERUNG IM FLUORESCENZ- MIKROSKOP NACH ANFÄRBUNG MIT PROPIDIUMIODID BEI A) UNGESCHÄDIGTEN ZELLEN UND B) ZELLEN MIT DNA-EINZELSTRANGBRÜCHEN .....	53
ABBILDUNG 5: EPICATECHIN-PLASMAKONZENTRATION VOR SOWIE 1 H, 2 H, 3 H, 5 H UND 8 H NACH BOLUSGABE VON 600 ML WEIßEM TEE, GRÜNEM TEE ODER MINERALWASSER .....	58
ABBILDUNG 6: EGCG-PLASMAKONZENTRATION VOR SOWIE 1 H, 2 H, 3 H, 5 H UND 8 H NACH BOLUSGABE VON 600 ML WEIßEM TEE, GRÜNEM TEE ODER MINERALWASSER .....	60
ABBILDUNG 7: EPICATECHINGALLAT-PLASMAKONZENTRATION VOR SOWIE 1 H, 2 H, 3 H, 5 H UND 8 H NACH BOLUSGABE VON 600 ML WEIßEM TEE, GRÜNEM TEE ODER MINERALWASSER .....	61
ABBILDUNG 8: ANTIOXIDATIVE KAPAZITÄT [IN MMOL/L TAE] VOR SOWIE 2 H UND 5 H NACH BOLUSGABE VON 600 ML WEIßEM TEE, GRÜNEM TEE ODER MINERALWASSER .....	64
ABBILDUNG 9: F <sub>2</sub> -ISOPROSTAN-KONZENTRATION VOR SOWIE 2 H UND 5 H NACH BOLUSGABE VON 600 ML WEIßEM TEE, GRÜNEM TEE ODER MINERALWASSER .....	65
ABBILDUNG 10: DNA-SCHÄDEN <i>IN VIVO</i> (TAIL-MOMENT) VOR SOWIE 2 H UND 5 H NACH BOLUSGABE VON 600 ML WEIßEM TEE, GRÜNEM TEE ODER MINERALWASSER .....	66
ABBILDUNG 11: DNA-SCHÄDEN <i>EX VIVO</i> (TAIL-MOMENT) VOR SOWIE 2 H UND 5 H NACH BOLUSGABE VON 600 ML WEIßEM TEE, GRÜNEM TEE ODER MINERALWASSER .....	67

## Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: INTERVENTIONSSTUDIEN ZUR PLASMAKINETIK VON EPICATECHIN NACH BOLUSKONSUM VON GRÜNEM TEE .....	19
TABELLE 2: INTERVENTIONSSTUDIEN ZUR PLASMAKINETIK VON EPIGALLOCATECHINGALLAT NACH BOLUSKONSUM VON GRÜNEM TEE .....	19
TABELLE 3: INTERVENTIONSSTUDIEN ZUR PLASMAKINETIK VON EPICATECHINGALLAT NACH BOLUSKONSUM VON GRÜNEM TEE .....	20
TABELLE 4: INTERVENTIONSSTUDIEN ZUR WIRKUNG EINES BOLUSKONSUM VON GRÜNEM TEE AUF DIE ANTIOXIDATIVE KAPAZITÄT IM PLASMA .....	23
TABELLE 5: INTERVENTIONSSTUDIE ZUR WIRKUNG EINES BOLUSKONSUMS VON GRÜNEM TEE AUF MARKER FÜR OXIDATIVEN STRESS .....	25
TABELLE 6: KONZENTRATION EINZELNER INHALTSSTOFFE UND ANTIOXIDATIVE KAPAZITÄT DER TEEAUFGÜSSE .....	28
TABELLE 7: DEMOGRAPHISCHE DATEN UND ERNÄHRUNGSVERHALTEN AM STUDIENVORTAG .....	55
TABELLE 8: VITAMIN C- UND FLAVONOIDZUFUHR AM VORTAG .....	56
TABELLE 9: MITTLERE WERTE PLASMA-GESAMTPHENOLGEHALT VOR SOWIE 2 H UND 5 H NACH BOLUSGABE VON 600 ML WEIßEM TEE, GRÜNEM TEE ODER MINERALWASSER .....	56
TABELLE 10: PLASMAKINETIK VON CATECHIN NACH BOLUSGABE VON WEIßEM TEE, GRÜNEM TEE UND MINERALWASSER .....	57
TABELLE 11: PLASMAKINETIK VON EPICATECHIN NACH BOLUSGABE VON WEIßEM TEE, GRÜNEM TEE UND MINERALWASSER .....	59
TABELLE 12: PLASMAKINETIK VON EPIGALLOCATECHINGALLAT NACH BOLUSGABE VON WEIßEM TEE, GRÜNEM TEE UND MINERALWASSER .....	60
TABELLE 13: PLASMAKINETIK VON EPICATECHINGALLAT NACH BOLUSGABE VON WEIßEM TEE, GRÜNEM TEE UND MINERALWASSER .....	62
TABELLE 14: PLASMA-VITAMIN C-SPIEGEL VOR SOWIE 2 H UND 5 H NACH BOLUSGABE VON 600 ML WEIßEM TEE, GRÜNEM TEE ODER MINERALWASSER .....	62
TABELLE 15: PLASMA-HARNSÄURESPIEGEL IN DEN INTERVENTIONSGRUPPEN VOR UND 2 H BZW. 5 H NACH KONSUM EINER BOLUSGABE 600 ML WEIßEM TEE, GRÜNEM TEE ODER MINERALWASSER .....	63

## Abkürzungsverzeichnis

8-Iso-PGF <sub>2α</sub>	8-iso Prostaglandin F <sub>2α</sub>
8-OHdG	8-Hydroxy-2-deoxy-Guanosin
ABTS	2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonsäure)
ACN	Acetonitril
AUC	Area under the curve = Fläche unter der Kurve
BHT	Butyl-Hydroxytoluen
BMI	Body-Mass-Index
BT	Schwarzer Tee
BtMG	Gesetz über den Verkehr mit Betäubungsmitteln
C	Catechin
CAE	Catechin-Äquivalente
C <sub>max</sub>	Maximale Konzentration
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EC	Epicatechin
ECG	Epicatechingallat
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EGC	Epigallocatechin
EGCG	Epigallocatechingallat
eGT	Entkoffeinierter Grüner Tee
eGTE	Entkoffeinierter Grünteeextrakt
eV	Eingetragener Verein
FRAP	ferric reducing ability of plasma
GCP	Good Clinical practise
GT	Grüner Tee
GTE	Grünteeextrakt
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
HCl	Salzsäure
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitchromatographie
LDL	Low density Lipoprotein
MDA	Malondialdehyd
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Natriumcarbonat
NaOH	Natriumhydroxid
NO	Stickstoffmonoxid
NSB	Nicht-spezifische Bindung
OH	Hydroxyl-Gruppe

ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay
PBS	Phenolphthalein-Glucuronidsubstrat-Lösung
PCOOH	Phosphotidylcholinhydroperoxid
PheP-Gluc	Phenolphthalein-Glucuronid-Lösung
PNCS	p-Nitrocatecholsulfat-Lösung
ROS	Radikale Sauerstoffspezies
$T_{1/2}$	Halbwertszeit
TAE	Trolox-Äquivalente
TEAC	Trolox-Equivalent Antioxidant Capacity
THF	Tetrahydrofuran
Tmax	Zeitpunkt der maximalen Konzentration
TRAP	Total reactive antioxidant potential
U	Units
USDA	United States Department of Agriculture
vs.	Versus
W	Wasser
WT	Weißer Tee

# 1 Einleitung

## 1.1 Konsum, Herstellung und Inhaltsstoffe von Weißem und Grünem Tee im Teeblatt sowie im Aufguss

Der Aufguss von Blättern, Blüten, Stengeln und Knospen des immergrünen Teestrauchs *Camellia sinensis* wird als Tee bezeichnet.

Tee ist nach Wasser das meist konsumierte Getränk weltweit [1]. In asiatischen Ländern werden traditionell überwiegend unfermentierte sowie halbfermentierte Tees getrunken, in Europa hingegen fermentierte Tees [2]. In den letzten Jahren wurden unfermentierte Tees in Deutschland immer beliebter. Im Jahr 2008 entfielen nach Angaben des Deutschen Teeverbands ca. 77 % des Konsums auf Schwarzen Tee und ca. 23 % auf Grünen Tee [3]. Nach Einschätzung des Deutschen Teeverbands trägt auch die gestiegene Nachfrage nach Weißem Tee zu der größeren Nachfrage nach unfermentierten Tees bei [4]. Weißer Tee wird aus jungen Blättern der Teepflanze und den Blüten/Knospen gewonnen. Grüner Tee hingegen wird aus jungen sowie älteren Blättern hergestellt.

Beide Tees werden im Unterschied zu Oolong Tee (halbfermentiert) sowie Schwarzem Tee und Rotem Tee (Pu Erh) nicht fermentiert [5, 6]. Bei der Fermentation von Tee werden Flavan-3-ole zu ihren Kondensationsprodukten (Thearubigene und Theaflavine) oxidiert. An der Fermentation sind 2 Enzyme beteiligt: die Peroxidase, die überwiegend in jungen Teeblättern vorkommt, und die Polyphenoloxidase. Dieses Enzym liegt im Teeblatt räumlich getrennt von den Flavan-3-olen, einer Untergruppe der Flavonoide, vor, so dass es erst während der Verarbeitung zur Oxidation der Flavan-3-ole kommt [7-10]. Bei unfermentierten Tees werden diese Enzyme durch Erhitzen inaktiviert und somit der Verlust an monomeren Flavan-3-olen minimiert [1]. Die Inaktivierung der Polyphenoloxidase erfolgt bei der Produktion von Weißem Tee zu einem früheren Zeitpunkt als bei der Herstellung von Grünem Tee [11].

Neben Flavan-3-olen (30-42 %) und ihren Kondensationsprodukten (2-4 %) sind im Teeaufguss von Grünem Tee Flavonole (5-10 %) und Methylxanthine (7-9 %) sowie Vitamin C (1-2 %) und einige Mineralstoffe (6-8 %) enthalten [2, 6].

Die Konzentration der Polyphenole, zu denen die Flavonoide und somit auch die Flavan-3-ole gehören, ist im Teeblatt abhängig von der Unterart der Teepflanze, Fermentation, Entkoffeinierung, Alter der Blätter, Pflückzeit, Dünger, Klima und Bodenbeschaffenheit. Im Aufguss wird die Konzentration der Polyphenole weiterhin durch Wassertemperatur, Ziehzeit und Anzahl der Aufgüsse beeinflusst [12-19].

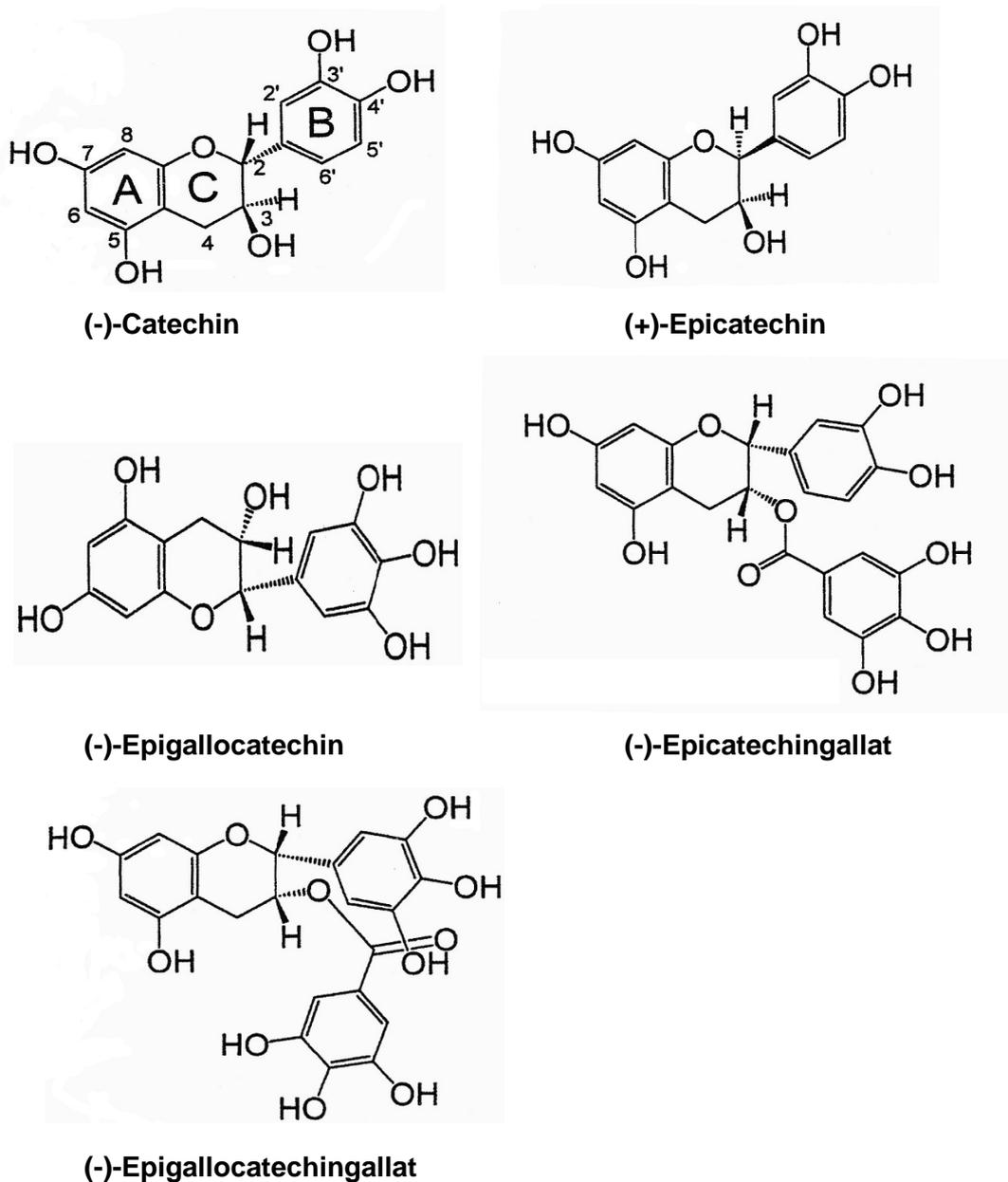
In verschiedenen Studien wurden Konzentrationsunterschiede an Flavan-3-olen, in den Teeblättern einzelner Teesorten gemessen [20-25]. Friedman et al. untersuchten 36 handelsübliche Teesorten, darunter verschiedene Sorten Grünen Tees und eine Sorte Weißen Tees auf ihren Flavan-3-ol-Gehalt. Exotica China White war beispielsweise bezüglich der

Epigallocatechingallat-Konzentration von  $30,4 \pm 0,8$  mg/g Tee vergleichbar zu der in Grünen Tees. Einzelne Sorten Grüner Tee wie Premium Green enthielten hingegen bis zu einem Drittel mehr Epigallocatechingallat (EGCG) als diese Sorte Weißen Tees [19].

Das Flavan-3-ol-Muster von Weißem und Grünem Tee ist unterschiedlich [5]. Weißer Tee enthält bei gleicher Zubereitung höhere Konzentrationen an Gallussäure, Epigallocatechin (EGC), Epigallocatechingallat (EGCG), Epicatechin (EC) und Epicatechingallat (ECG) sowie Koffein. Grüner Tee enthält hingegen mehr Catechin (C) sowie Theophyllin. Die Konzentration an Theobromin ist in beiden Tees vergleichbar [26].

## ***1.2 Flavan-3-ole – chemische Struktur, antioxidative Kapazität und Biotransformation im menschlichen Organismus***

Flavan-3-ole gehören zu den Flavonoiden, einer Untergruppe der Polyphenole. Sie besitzen die für Flavonoide typische 2-Phenyl-benzopyran-Struktur ( $C_6C_3C_6$ ) und sind charakterisiert durch eine Di- oder Tri-Hydroxyl-Substitution am B-Ring und eine meta-5,7-Dihydroxyl-Substitution am A-Ring (siehe Abbildung 1). Die 4 im frischen Teeblatt mengenmäßig dominierenden, wasserlöslichen Flavan-3-ole EC, ECG, EGC und EGCG tragen zum bitteren und adstringierenden Geschmack bei [8]. Flavan-3-ole mit 3 Hydroxyl-Gruppen am B-Ring bezeichnet man als Gallocatechine; die Flavan-3-ole, die an der dritten Hydroxyl-Gruppe des C-Rings mit Gallussäure verestert sind, werden als Catechingallate bezeichnet [27].



**Abbildung 1: Strukturformeln der in der Studie gemessenen Flavan-3-ole [19]**

Flavan-3-ole sind aufgrund ihrer Catechol Struktur starke Antioxidantien; bei Galloflavan-3-olen werden die antioxidativen Eigenschaften durch eine 5'-Hydroxy-Gruppe noch verstärkt [8, 28]. Die stärksten Antioxidantien aus unfermentiertem Tee sind in wässrigem Milieu ECG und EGCG, deren antioxidative Kapazität identisch ist. Die antioxidative Kapazität von EGC ist geringer als von ECG und EGCG; EGC zeigt sich *in vitro* als ein stärkeres Antioxidans als EC und C [27]. Im Teeblatt konnten 3 methylierte Metabolite von EGCG nachgewiesen werden, von denen eins eine stärkere Inhibition (bei 40  $\mu\text{mol/L}$ : 32 % mehr Inhibition) von NO aufwies als EGCG [15].

Nach Aufnahme werden Flavan-3-ole im menschlichen Organismus im Intestinum, im Colon sowie in der Leber glucuronidiert, sulfatiert und/oder methyliert [29]. Entsprechende Konjugate und Metabolite konnten im Blut und Urin nach Konsum von einzelnen Flavan-3-olen sowie

Grünteextrakt nachgewiesen werden: Meng et al. fanden in Humanplasma 4',4''-Dimethyl-EGCG neben EGCG nach Konsum von Grünteextrakt (GTE). Nach 2 h wurde die maximale Konzentration (C<sub>max</sub>) von EGCG und seinem Metabolit im Plasma erreicht, wobei die C<sub>max</sub> beim Metaboliten 8-fach geringer als bei EGCG war [30]. Auch verschiedene Metabolite von EC und EGC konnten in humanem Plasma nach Konsum von Grünteextrakt oder einzelnen Flavan-3-olen detektiert werden [31-33]. Laut Lee et al. liegen nach Konsum von entkoffeiniertem Grünteextrakt mehr als 80 % der Flavan-3-ole in konjugierter Form im Plasma vor [34]. Die Literaturangaben zu einzelnen Flavan-3-olen sind diesbezüglich unterschiedlich. Etwa 77-90 % an EGCG liegen nach Konsum von reinem EGCG sowie von Grünteextrakt in freier Form im Plasma vor. Catechin und EC liegen nahezu vollständig metabolisiert vor; EC wird im Plasma dabei zu ca. 2/3 sulfatiert und zu ca. 1/3 glucuronidiert. EGC wird überwiegend glucuronidiert (57-71 % glucuronidiert, 23-36 % sulfatiert, 5-13 % in freier Form) [34-38].

Die maximale Konzentration von metabolisierten und freien Flavan-3-olen im Plasma wird nach Konsum von Grünteextrakt (GTE) nach 2 bis 4 Stunden erreicht [6, 39].

Der Anteil und die Art der Metabolite ist abhängig von der Art des Lebensmittels, mit dem die Flavan-3-ole aufgenommen werden [40], und wird auch durch gleichzeitig konsumierte Lebensmittel beeinflusst. So lagen EC und EGC ohne zeitgleichen Verzehr einer Standardkost vermehrt in ihrer freien Form vor [41].

### **1.3 Interventionsstudien zum Boluskonsum unfermentierter Tees**

#### **1.3.1 Weißer Tee**

Die Effekte eines Boluskonsums wie auch eines wiederholten Konsums von Weißem Tee auf die Plasmakinetik, die antioxidative Kapazität im Plasma oder Biomarker für oxidativen Stress wurden bisher beim Menschen nicht untersucht.

Hinweise auf krebopräventive und antimutagene Eigenschaften lieferten Tier- und *in vitro* Studien: Der Weiße Tee zeigte präventive Eigenschaften auf die intestinale Tumorgenese sowie im Test auf antimutagene Aktivität (*Salmonella Assay*). Die krebopräventiven und antimutagenen Eigenschaften des Weißen Tees waren im Vergleich zu Grünem Tee stärker ausgeprägt [5, 26, 42-45].

Erste Ergebnisse auf die antioxidative Kapazität, gemessen als FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) und TRAP (total radical-trapping antioxidant parameter) im Plasma sowie in verschiedenen Organen von 25 Mäusen, lieferten konträre Ergebnisse. So konnte der Konsum von Weißem Tee die antioxidative Kapazität im Plasma zwar nicht erhöhen aber die antioxidative Kapazität im Gewebe von Herz und Lunge verstärken [46]. Camouse et al. konnten in Gewebeproben von 10 gesunden Probanden protektive Effekte auf UV-induzierte

DNA-Schäden (gemessen als 8-Hydroxy-2-deoxy-Guanosin (8-OHdG)) von Weißteeextrakt sowie Grünteeextrakt nach Applikation auf die Haut nachweisen. Die Konzentration einzelner Flavan-3-ole wurde in dieser Studie nicht bestimmt; Angaben bezüglich des Dosierungsschemas oder zum Probandenkollektiv wurden nicht veröffentlicht [47].

### 1.3.2 Grüner Tee

Der Großteil der Interventionsstudien zur Wirkung von Grünem Tee auf die Plasmakinetik einzelner Flavan-3-ole, die antioxidative Kapazität im Plasma sowie Biomarker für oxidativen Stress wurde nicht mit frischem Aufguss sondern mit Grünteeextrakten oder einzelnen, in Wasser gelösten Flavan-3-olen durchgeführt. Die zugeführte Flavan-3-ol-Konzentration war in diesen Studien bis zu 1000-fach höher als die Dosis, die bei Teekonsum aufgenommen wird [48]. In Studien konnten signifikante Unterschiede in der Plasmakinetik sowie Effekte auf die antioxidative Kapazität durch Konsum von Grünem Tee und seinen Extrakten nachgewiesen werden [49]. Interventionsstudien und epidemiologischen Untersuchungen bezüglich der protektiven Effekte eines regelmäßigen Teekonsums vor Krebs- und koronaren Herzerkrankungen weisen unterschiedliche Ergebnisse auf. Diese Unterschiede werden auf die verschiedenen Supplemente zurückgeführt [50].

In ca. 75 % der Studien, die Angaben zur Plasmakinetik machen, stand die Flavan-3-ol-Analytik einzelner Flavan-3-ole im Vordergrund. Zur Optimierung der analytischen Methoden ist es jedoch nicht erforderlich die Proben von unterschiedlichen Probanden zu untersuchen, weswegen nur wenig Probanden rekrutiert wurden (maximal n=6). In nahezu allen Studien mit Grünem Tee [51-54] aber auch in Studien mit Grünteeextrakt [34, 36, 38, 55, 56] zeigten sich große inter-individuelle Unterschiede in der Bioverfügbarkeit und Plasmakinetik von Flavan-3-olen. Angesichts der geringen Fallzahl von bis zu 6 Probanden sind keine generellen Aussagen zur Bioverfügbarkeit oder Plasmakinetik der Flavan-3-ole aus Grünem Tee möglich. Diese Studien wurden ebenfalls ohne Mitführen einer Kontrollgruppe oder Randomisierung der Probanden durchgeführt.

- **Plasmakinetik von Flavan-3-olen**

Die Plasmakinetik von Flavan-3-olen nach Boluskonsum von Grünem Tee bei gesunden Probanden wurde in 4 Studien gemessen [49, 51, 52, 57]. Die Tabellen 1 bis 3 zeigen, dass in allen Studien die Konzentration der untersuchten Flavan-3-ole im Plasma anstieg: Kotani et al. sowie Henning et al. bestimmten die Plasmaspiegel von EC, EGCG und ECG [49, 52], Pietta et al. von EGCG und ECG [57], während Maiani et al. in ihrer Studie EGCG bestimmten [51]. Die Catechinkonzentration im Plasma wurde bisher nach Bolusgabe nicht analysiert. In allen 4

Studien wurde der Zeitpunkt der maximalen Konzentration ( $T_{max}$ ), aber nicht die Halbwertszeit ( $T_{1/2}$ ) der Flavan-3-ole im Plasma bestimmt. Kotani et al. gaben das Konzentrationsmaximum ( $C_{max}$ ) bei allen 3 Flavan-3-olen nicht an [52]. Die Konzentration der Flavan-3-ole zur Baseline wurde ausschließlich bei Henning et al. angegeben [49].

#### Epicatechin

Die Plasmakinetik von EC wurde von Henning et al. sowie Kotani et al. bestimmt (siehe Tabelle 1) [49, 52]. Bei Henning et al. betrug die Konzentration im Plasma zur Baseline ca.  $0,001 \mu\text{mol/L}$  ( $n=30$ ). Nach Bolusgabe (3 Teebeutel Grüner Tee in 426 mL Wasser, Ziehzeit 5 min) stieg die Plasmakonzentration innerhalb 1,2 h auf  $0,33 \mu\text{mol/L}$  an [49]. Bei Kotani et al. wurde nach Bolusgabe von 340 mL Grünem Tee die  $T_{max}$  nach 1 h im Plasma der 2 Probanden erreicht [52].

#### Epigallocatechingallat

Die Plasmakinetik von EGCG wurde in allen 4 Studien untersucht (siehe Tabelle 2) [49, 51, 52, 57]. Lediglich Henning et al. bestimmten die Plasmakonzentration von EGCG zur Baseline (ca.  $0,001 \mu\text{mol/L}$ ). Die  $C_{max}$  von EGCG betrug in dieser Studie  $0,08 \mu\text{mol/L}$  und wurde nach 1,2 h erreicht [49]. Nach Aufnahme von 118 mg EGCG wurde bei Maiani et al. nach Konsum von Grünem Tee bei 4 Frauen die  $C_{max}$  von  $5,15 \mu\text{mol/L}$  nach 0,5 h Stunden ( $T_{max}$ ) erreicht [51]. Pietta et al. detektierten im Plasma von 6 gesunden Probanden nach Bolusgabe von 300 mL Grünem Tee (Flavan-3-olgehalt: 400 mg) EGCG mit einer  $C_{max}$  von  $2 \mu\text{mol/L}$ , die nach 2 h ( $T_{max}$ ) gemessen wurde [57]. Die  $T_{max}$  wurde bei Kotani et al. nach 1 h erreicht [52].

#### Epicatechingallat

Henning et al., Kotani et al. sowie Pietta et al. untersuchten die Plasmakinetik von ECG (siehe Tabelle 3) [49, 52, 57]. Die Ergebnisse zu ECG von Kotani et al. ( $T_{max}$ ) und Pietta et al. ( $T_{max}$  und  $C_{max}$ ) entsprachen ihren Ergebnissen zu EGCG [52, 57]. Auch bei Henning et al. war die Konzentration von ECG zur Baseline wie auch die  $C_{max}$  von ECG vergleichbar zu EGCG, allerdings wurde sie 0,1 h später erreicht [49].

**Tabelle 1: Interventionsstudien zur Plasmakinetik von Epicatechin nach Boluskonsum von Grünem Tee**

	Jahr	Probanden	Supplement	Dosis	Blutentnahmen	Ct <sub>0</sub>	Cmax	Tmax	T <sub>1/2</sub>
Henning et al. [49]	2004	n=30 (14♂, 16♀)	3 TB in 426 mL W, Zz 5 min)	kA	0 <sup>ER;SF</sup> , 1, 2, 4, 6, 8 h	~ 0,001 µmol/L	0,33 µmol/L	1,2 h	kA
Kotani et al. [52]	2003	n=2 (♂); 22-28 J; NR	340 mL	kA	Pr. 1: 0 <sup>ER;N</sup> , 1, 11/2, 2, 3, 4, 6 h Pr. 2: 0 <sup>ER;N</sup> , 1, 2, 4, 6 h	kA	kA	1 h	kA

n: Probandenanzahl; J: Jahre; NR: Nichtraucher; TB: Teebeutel; W: Wasser; Zz: Ziehzeit; ER: Ernährungsrestriktion; SF: Standardfrühstück; N: nüchtern; kA: keine Angabe; Ct<sub>0</sub>: Konzentration zur Baseline, Cmax: maximale Konzentration, Tmax: Zeit zum Erreichen der Cmax; T<sub>1/2</sub>: Halbwertszeit

**Tabelle 2: Interventionsstudien zur Plasmakinetik von Epigallocatechingallat nach Boluskonsum von Grünem Tee**

	Jahr	Probanden	Supplement	Dosis	Blutentnahmen	Ct <sub>0</sub>	Cmax	Tmax	T <sub>1/2</sub>
Henning et al. [49]	2004	n=30 (14♂, 16♀)	3 TB in 426 mL W, Zz 5 min	kA	0 <sup>ER;SF</sup> , 1, 2, 4, 6, 8 h	~ 0,001 µmol/L	0,08 µmol/L	1,3 h	kA
Kotani et al. [52]	2003	n=2 (♂); 22-28 J; NR	340 mL	kA	Pr. 1: 0 <sup>ER;N</sup> , 1, 11/2, 2, 3, 4, 6 h Pr. 2: 0 <sup>ER;N</sup> , 1, 2, 4, 6 h	kA	kA	1 h	kA
Maiani et al. [51]	1997	n=4 (♀); 26-32 J	kA	EGCG: ~ 118 mg	0 <sup>N</sup> , 1/2, 5,6 h	kA	5,15 µmol/L	0,5 h	kA
Pietta et al. [57]	1998	n=6	300 mL	Flavan-3- ole: 400 mg	0 <sup>ER</sup> , 1, 2, 3, 4, 5 h	kA	2 µmol/L	2 h	kA

n: Probandenanzahl; J: Jahre; NR: Nichtraucher; TB: Teebeutel; W: Wasser; Zz: Ziehzeit; kA: keine Angaben; EGCG: Epigallocatechingallat; Pr.: Proband; ER: Ernährungsrestriktion; SF: Standardfrühstück; N: nüchtern; Ct<sub>0</sub>: Konzentration zur Baseline, Cmax: maximale Konzentration, Tmax: Zeit zum Erreichen der Cmax; T<sub>1/2</sub>: Halbwertszeit

**Tabelle 3: Interventionsstudien zur Plasmakinetik von Epicatechingallat nach Boluskonsum von Grünem Tee**

	Jahr	Probanden	Supplement	Dosis	Blutentnahmen	Ct <sub>0</sub>	Cmax	Tmax	T <sub>1/2</sub>
Henning et al. [49]	2004	n=30 (14♂, 16♀)	3 TB in 426 mL W, Zz 5 min	kA	0 <sup>ER;SF</sup> , 1, 2, 4, 6, 8 h	~ 0,001 µmol/L	0,08 µmol/L	1,4 h	kA
Kotani et al. [52]	2003	n=2 (♂); 22-28 J; NR	340 mL	kA	Pr. 1: 0 <sup>ER;N</sup> , 1, 11/2, 2, 3, 4, 6 h Pr. 2: 0 <sup>ER;N</sup> , 1, 2, 4, 6 h	kA	kA	1 h	kA
Pietta et al. [57]	1998	n=6	300 mL	Flavan-3- ole: 400 mg	0 <sup>ER</sup> , 1, 2, 3, 4, 5 h	kA	2 µmol/L	2 h	kA

n: Probandenanzahl; J: Jahre; NR: Nichtraucher; TB: Teebeutel; W: Wasser; Zz: Ziehzeit; kA: keine Angaben; Pr.: Proband; ER: Ernährungsrestriktion; SF: Standardfrühstück; N: nüchtern; h: Stunden; Ct<sub>0</sub>: Konzentration zur Baseline, Cmax: maximale Konzentration, Tmax: Zeit zum Erreichen der Cmax; T<sub>1/2</sub>: Halbwertszeit

- **Effekte des Boluskonsums auf die antioxidative Kapazität**

Methoden zur Messung der antioxidativen Kapazität erfassen die Gesamtheit aller antioxidativ wirkenden Substanzen sowie deren mögliche Synergie-Effekte. Der Effekt einer Bolusgabe auf die antioxidative Kapazität im Plasma wurde in 9 Interventionsstudien untersucht (siehe Tabelle 4). Zur Analytik wurden verschiedene Methoden eingesetzt. Vier Studien untersuchten den Einfluss mittels TRAP [57-60] und 2 Studien mittels FRAP [61, 62]. In 2 weiteren Studien wurde der TEAC (Trolox Equivalent Antioxidative Capacity) bestimmt [49, 63] und in einer Studie das ELISA-Verfahren TAS (total antioxidative status) eingesetzt [64]. In 6 Studien zeigte sich ein Anstieg der antioxidativen Kapazität [57, 59-63]. Unter diesen 6 Studien waren beide Studien mit FRAP, 3 von 4 Studien, in denen TRAP eingesetzt wurde und eine der 2 Studien mit TEAC. In 3 Studien blieb die antioxidative Kapazität unverändert [49, 58, 64]. Diese 3 Studien unterschieden sich weder durch die Testverfahren noch durch das Probandenkollektiv (Verhältnis Männer zu Frauen) sowie in der (angenommene) Dosierung der Flavan-3-ole von den Studien, die Anstiege der antioxidativen Kapazität zeigten. Allein bei Alexopoulos et al. wurden ebenfalls Raucher rekrutiert, wobei die Verteilung auf die 3 Gruppen nicht nach dem Nikotinkonsum stratifiziert wurde [64]. Da Raucher im Vergleich zu Nichtrauchern eine geringe antioxidative Kapazität im Plasma aufweisen, wäre ein Anstieg der antioxidativen Kapazität zu erwarten gewesen. Die höhere Fallzahl (Ausnahme bei Leenen et al.) sowie die Ernährungsrestriktion von maximal einem halben Tag könnte bei Hodgson et al. und Henning et al. einen Einfluss auf die Ergebnisse gehabt haben und den ausbleibenden Effekt der Bolusgabe auf die antioxidative Kapazität erklären [49, 58]. Lediglich in 2 Studien wurde zeitgleich zur Messung der antioxidativen Kapazität die Flavan-3-ol-Konzentration im Plasma bestimmt [49, 57]. Der Grüne Tee bei Pietta et al., den 6 Probanden nach 7-tägiger flavonoidfreien Ernährung konsumierten, hatte im Vergleich zu den Tees in anderen Studien eine hohe Flavan-3-ol-Konzentration [57]. Im Gegensatz konnten Henning et al. in einer kontrollierten, randomisierten Studie mit 30 Probanden keinen Anstieg der antioxidativen Kapazität im Plasma messen [49].

Es ist unklar, ob die Zunahme der antioxidativen Kapazität, wie bei Pietta et al. [57] gezeigt, in Studien anderer Arbeitsgruppen tatsächlich auf einen Anstieg der Flavan-3-ol-Konzentrationen zurückgeführt werden kann [59-63]. Bei Henning et al. kam es trotz eines Anstiegs einzelner Flavan-3-ole im Plasma zu keinem Anstieg der antioxidativen Kapazität [49].

Tabelle 4 zeigt, dass die prozentual größten Effekte auf die antioxidative Kapazität durch Boluskonsum von Grünem Tee in den Studien gemessen wurden, die den TRAP Test einsetzten (Anstieg der antioxidativen Kapazität zwischen 20 % und 40 %), während die

Studien mit FRAP nur vergleichbar geringere Effekte zeigten (Anstieg der antioxidativen Kapazität zwischen 3 und 4 %). In der Studie, in der mittels TEAC die antioxidative Kapazität bestimmt wurde, konnten in Abhängigkeit von der eingesetzten Teemenge Anstiege zwischen 6,0 % und 12,7 % gemessen werden.

**Tabelle 4: Interventionsstudien zur Wirkung eines Boluskonsum von Grünem Tee auf die antioxidative Kapazität im Plasma**

	Jahr	Design	n	♂, ♀	Alter	R/NR	Ernährung	Supplement	Methode	Ergebnis
Alexopoulos et al. [64]	2008	RD, CO	14	9♂, 5♀	27-33 J	7R/ 7NR	Restriktion : -1 d: keine Flav. -0,5 d: kein Koffein, Alkohol 0 d: nüchtern	GT (6 g/450 mL) GT + Koffein (125g) W (450 mL)	TAS	X  X X
Benzie et al. [61]	1999	K, CO	10	5♂, 5♀	kA	kA	kA	GT (20 g/500 mL, filtriert, auf 400 mL aufgefüllt) W	FRAP	↑ (+ 4 %)  X
Henning et al. [49]	2004	RD, K, CO	30	14♂, 16♀	20-39 J	kA	Standardisiert 0 d: Kost	3 TB in 426 mL W (Kontrolle: GTE, BT)	TEAC	X
Hodgson et al. [58]	2000	RD, K, Latin square	20	20♂	35-73 J	-/NR	Restriktion -0,5 d: kein Tee, Kaffee, weitere 0 d: nüchtern	GT (7,6 g/400 mL) W (400 mL)	TRAP	X  X
Leenen et al. [62]	2000	RD, ST, K, CO	21	10♂, 11♀	18-70 J	-/NR	Restriktion -1 d: kein Tee, Wein	GT (2 g/300 mL W) W (300 mL)	FRAP	↑ 3 % (1; 1,5; 2 h) X
Pietta et al. [57]	1998	UK	6	kA	kA	kA	Restriktion -7 d: keine Flav.	GT (300 mL); Flavan-3-ole 400 mg	TRAP	↑ (+20 %)
Serafini et al. [59]	1996	K, P	10	kA	kA	kA	Restriktion 0 d: nüchtern	GT (300 mL) W (300 mL))	TRAP	↑ (40 % (0,5-<1 h) X
Serafini et al. [60]	2000	K, P	5	kA	25-50 J	-/NR	Restriktion 0 d: nüchtern	GT (300 mL) W (300 mL)	TRAP	↑ (+40 % (0,5 h)) X
Sung et al. [63]	2000	UK	10	5♂, 5♀	23-25 J	kA	Restriktion -7 d: kein GT; 0 d: nüchtern	GT a) 2,5 g/150 mL b) 5,0 g/300 mL c) 7,5 g/450 mL	TEAC	a) X b) ↑ (vs. t0) (1 h: 7,0 %; 2 h: 6,1 %) c) ↑ (vs. t0) (1 h: 12,%, 2 h:12,7 %)

RD: randomisiert; CO: cross-over; K: kontrolliert; ST: stratifiziert nach Geschlecht; UK: Unkontrolliert; P: Parallelgruppendesign; n: Probandenanzahl; J: Jahre; R: Raucher; NR: Nichtraucher; - : kein Einschluss, kA: keine Angabe; d: Tage; Flav: Flavonoide; GT: Grüner Tee; GTE: Grünteeextrakt, BT: Schwarzer Tee; W: Wasser; TB: Teebeutel; t0: Baseline, X = keine Änderung; ↑ = Anstieg

- **Effekte des Boluskonsum auf die Entstehung von reaktiven Sauerstoffspezies**

Oxidativer Stress im Körper entsteht infolge eines Ungleichgewichts zwischen Antioxidantien und oxidativ-wirkenden reaktiven Sauerstoffspezies (ROS). Durch oxidativen Stress steigt das Risiko für irreversible Schädigungen im Organismus. Schäden der DNA und an den Zellmembranen, verursacht durch Lipidperoxidation, sind die schwersten Schädigungen, die durch ROS verursacht werden können [65]. Die Zunahme von oxidativen DNA-Schäden erhöht das Risiko für die Entwicklung von Krebserkrankungen [66]. Somit gilt die Messung der Anzahl von DNA-Strangbrüchen als Surrogatmarker für das Risiko der Entstehung von Krebserkrankung [67]. Die Bestimmung der Lipidperoxidation gilt als geeigneter Surrogatmarker in Interventionsstudien, um den Einfluss einer Maßnahme auf das Risiko für koronare Herzerkrankungen bewerten zu können [68].

Alexopoulos et al. konnten in einer randomisierten, kontrollierten Cross-over Studie mit 14 gesunden Probanden (50 % Raucher) keine Effekte einer Bolusgabe von Grünem Tee (6 g/450 mL) auf den gesamten oxidativen Stress im Plasma (TOC-Test, standardisiertes ELISA-Testverfahren zur Bestimmung von Lipidperoxiden, gesamt) messen [64]. Hodgson et al. konnten in einer randomisierten, kontrollierten Studie im Latin-Square-Design mit 20 gesunden, männlichen Nichtrauchern keine Änderungen der Lipidperoxidation *ex vivo* durch Konsum von 400 mL Grünem Tee feststellen; Frauen wurden im Rahmen dieser Studie nicht untersucht [58]. Eine Interventionsstudie untersuchte die Wirkung einer Bolusgabe Grünen Tees auf UV-induzierte DNA-Schäden bei Gesunden. Morley et al. konnten bei 10 gesunden Nichtrauchern eine Senkung des Risikos für UV-induzierte Strangbrüche (Comet Assay) nach Konsum von Grünem Tee (7,5 g/540 mL) messen [69]. Inwiefern diese Ergebnisse übertragbar sind auf durch ROS verursachte DNA-Schäden ist unklar.

Die Tabelle 5 zeigt eine Übersicht der drei Studien zu Effekten einer Bolusgabe von Grünem Tee auf Biomarker für oxidativen Stress.

**Tabelle 5: Interventionsstudie zur Wirkung eines Boluskonsums von Grünem Tee auf Marker für oxidativen Stress**

	Jahr	Design	n	♂, ♀	Alter	R/NR	Ernährung	Supplement	Marker	Ergebnis
Alexopoulos et al. [64]	2008	RD, CO	14	9♂, 5♀	27-33 J	7R/ 7NR	Restriktion : -1 d: keine Flav. -0,5 d: kein Koffein, Alkohol 0 d: nüchtern	GT (6 g/450 mL) GT + Koffein (125 g) W (450 mL)	TOS	X  X X
Hodgson et al. [58]	2000	RD, K, Latin square	20	20♂	35-73 J	-/NR	Restriktion: -0,5 d: kein Tee, Kaffee, andere Koffeinhaltige Produkte 0 d: nüchtern	GT (7,6 g/400 mL, Zz 4 min) W (400 mL) W + Koffein	LDL Oxidation <i>ex vivo</i> (Lag Time*, Propagationsrate#, AUC)	X  X X
Morley et al. [69]	2005	UK	10	4♂, 6♀	30-57 J	-/NR	Restriktion: -1 d +0 d: kein Alkohol	GT (7,5 g/540 mL; Zz 2 min)	DNA-Einzelstrangbrüche (Leukozyten; UV-induziert)	Nach 40 min: ↓ bei 12 min Bestrahlung

RD: randomisiert; CO: cross-over; K: kontrolliert; UK: unkontrolliert; n: Probandenanzahl; J: Jahre; R: Raucher; NR: Nichtraucher; d: Tag; Flav.: Flavonoide; GT: Grüner Tee; W: Wasser; Zz: Ziehzeit; LDL : Low-density Lipoprotein ; UV: Ultraviolett; min: Minuten; X = keine Änderung; ↓ = Abnahme  
\*Zeitraum zwischen Zugabe eines Prooxidants und dem Beginn der Oxidation, # maximale Geschwindigkeit der Oxidation

## 2 Zielsetzung

Die vorliegende Studie soll folgende Fragestellungen beantworten:

- Führt die Bolusgabe von jeweils 600 mL Weißem oder Grünem Tee im Vergleich zu Mineralwasser (flavan-3-olfreie Kontrolle) zu einem Anstieg der Plasmaspiegel der Flavan-3-ole? Falls ja, gibt es Unterschiede in der Plasmakinetik?
- Beeinflusst die Bolusgabe von Weißem oder Grünem Tee im Vergleich zu Mineralwasser die antioxidative Kapazität und verschiedene Biomarker für oxidativen Stress im Plasma?

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Studiendesign**

Die offene, kontrollierte, randomisierte, dreiarmlige Interventionsstudie wurde gemäß den Empfehlungen des Weltärztebundes (Deklaration von Helsinki) und den Grundsätzen der „Good Clinical Practice“ durchgeführt. Die Probanden wurden nach Geschlecht stratifiziert und mittels Losverfahren („Ziehen ohne Zurücklegen“) auf die Gruppen verteilt.

Die Studie wurde am 15.04.2005 von der Ethik-Kommission der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn geprüft und zustimmend bewertet (Lfd Nr.031/05). Medizinischer Leiter dieser klinischen Prüfung war Prof. Dr. H. Berthold. Die Durchführung erfolgte an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn am Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften, Fachbereich Ernährungsphysiologie, in Kooperation mit der Medizinischen Poliklinik, Universitätsklinikum Bonn.

### **3.2 Studiengetränke**

Zur Herstellung der Teeaufgüsse wurden handelsübliche Teesorten verwendet, die von der Firma Tee Gschwendner, Meckenheim, zur Verfügung gestellt wurden. Der Weiße Tee wurde aus Teeblättern der Sorte „Fancy White Peony“ (China) bereitet, der Grüne Tee aus der Sorte „Sencha“ (Japan).

Die Aufgüsse wurden mit 11 g Teeblättern und 600 mL kochendem Wasser hergestellt. Die Ziehzeit betrug 5 min. Die Kontrollgruppe erhielt 600 mL eines Mineralwassers. In Tabelle 6 sind der Gesamtphenolgehalt, die Konzentration einzelner Flavan-3-ole und die Vitamin C-Konzentration in den Teeaufgüssen sowie die antioxidative Kapazität (TEAC) in den Tees dargestellt. Die Bestimmungen der Inhaltsstoffe erfolgte analog der in den Kapiteln 3.5.1 bis 3.5.3 sowie 3.5.5 beschriebenen Laboranalytik.

**Tabelle 6: Konzentration einzelner Inhaltsstoffe und antioxidative Kapazität der Teeaufgüsse**

	Weißer Tee (WT)	Grüner Tee (GT)	Verhältnis WT : GT
Gesamtphenolgehalt [mg CAE/L] <sup>1</sup>	226	395	1 : 1,8
<b>Flavan-3-ole<sup>2</sup></b>			
Catechin [nmol/L]	5.190	6.016	1 : 1,2
Catechingallat [nmol/L]	n. d.	n. d.	-
Epicatechin [nmol/L]	27.912	87.794	1 : 3,2
Epicatechingallat [nmol/L]	11.008	25.118	1 : 2,3
Epigallocatechin [nmol/L]	47.685	354.074	1 : 7,4
Epigallocatechingallat [nmol/L]	45.938	201.378	1 : 4,4
Vitamin C [mg/L] <sup>3</sup>	0,7	14,8	1 : 21,1
TEAC [mmol/L TAE] <sup>4</sup>	2,3	2,5	1 : 1,1

CAE: Catechin Äquivalent; TAE: Trolox Äquivalent; TEAC: Trolox equivalent antioxidative capacity; n. d.: nicht detektierbar; <sup>1</sup>Bestimmung analog Kapitel 3.5.1; <sup>2</sup>Bestimmung analog Kapitel 3.5.2; <sup>3</sup>Bestimmung analog Kapitel 3.5.3; <sup>4</sup>Bestimmung analog Kapitel 3.5.5

### 3.3 Probanden

#### 3.3.1 Ein-/Ausschlusskriterien

Die Probanden wurden durch Aushänge in studentischen Einrichtungen und durch Ankündigungen in Vorlesungen rekrutiert.

Die Interessenten wurden schriftlich sowie mündlich bei einer Informationsveranstaltung, bei der ein Arzt für medizinische Fragen zur Verfügung stand, informiert. An der Studie konnten gesunde Erwachsene teilnehmen, die folgende **Einschlusskriterien** erfüllten:

- Nichtraucher,
- Alter 18 – 50 Jahre,
- schriftliche Einverständniserklärung.

Zum **Ausschluss** führten folgende Kriterien:

- Regelmäßige Supplementierung von Vitamin C, Vitamin E, Carotinoiden, Ballaststoffen,
- Bekannte Unverträglichkeit gegenüber den Testgetränken,
- Bekannte Erkrankungen der Leber, der Nieren und des Gastrointestinaltrakts,
- Bestehende Stoffwechselerkrankungen (z. B. Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus),
- Essstörungen (Anorexia nervosa, Bulimia nervosa),
- Schwangerschaft/Stillzeit,
- Drogenmissbrauch (BtMG-pflichtige oder andere psychotrope Substanzen),
- Blutspende ein Monat vor Studienbeginn,
- Teilnahme an einer anderen Studie gleichzeitig oder innerhalb der letzten 30 Tage.

Die Ein- und Ausschlusskriterien wurden anhand Fragebögen überprüft. Darüber hinaus wurde die sportliche Aktivität der Probanden erfragt. Die Fragebögen wurden vom Prüfarzt begutachtet und somit über eine Studienteilnahme entschieden.

### **3.3.2 Fallzahlabschätzung**

Die Fallzahl wurde mit der Software SAS (Statistical Analysis System) berechnet. Sie beruht auf Daten einer Pilotstudie mit Grünem und Schwarzem Tee. Als Parameter der Fallzahlabschätzung diente die Fläche der Konzentration von Gesamtphenolen im Plasma (AUC, Messzeitraum 6 h) nach Bolusgabe von Grünem Tee im Vergleich zur Kontrollgruppe (Mineralwasser). Bei einem pH-Wert von 0,05, einer Macht („Power“) von 70 % und einer Gruppengröße von  $n=20$  kann bei einer Standardabweichung von 135 ein Unterschied zwischen den AUCs von 110 (arbiträre Einheiten, berechnet auf der Grundlage der Gesamtphenole Grüner Tee vs. Wasser aus der vorherigen Studie) durch nicht-parametrische Tests nachgewiesen werden.

## **3.4 Studientage**

### **3.4.1 Zeitlicher Ablauf**

Es wurden verschiedene Termine zwischen Mai und August 2005 für die Untersuchung angeboten, an denen jeweils 5 Probanden teilnehmen konnten.

Die Probanden wurden angewiesen, sich am Studienvortrag polyphenolarm zu ernähren. Hierzu erhielten sie einen Leitfaden zur polyphenolarmen Ernährung, einige Menüvorschläge

und ein 24 h-Ernährungsprotokoll zur Dokumentation der Nahrungsaufnahme. Zwölf Stunden vor Studienbeginn sollte auf jede Nahrungsaufnahme verzichtet werden.

Nach der ersten Blutentnahme erhielten die Probanden 600 mL ihres Testgetränks, das sie innerhalb von 15 min konsumierten. Es erfolgten 5 weitere Blutentnahmen im Abstand von einer, 2, 3, 5 und 8 Stunden. Die ersten 4 Blutentnahmen erfolgten stündlich, da Veränderungen der Gesamt-Flavan-3-ol-Konzentration im Plasma vor allem in den ersten zwei Stunden zu erwarten sind und eine engmaschige Verlaufskontrolle genaue Daten zur Plasmakinetik liefert. Da Veränderungen der übrigen Parameter zum Zeitpunkt der höchsten Flavan-3-ol-Konzentration im Plasma zu erwarten sind, wurden diese vor, sowie 2 h und 5 h nach der Intervention bestimmt. Nach der 3. Blutentnahme durften die Probanden Wasser trinken. Nach der 4. und 5. Blutentnahme erhielten die Studienteilnehmer eine standardisierte Mahlzeit (je 2 Brötchen belegt mit Gouda oder Kochschinken).

### **3.4.2 Blutentnahmen und Aufbereitung der Blutproben**

Am Untersuchungstag wurden 6 Blutentnahmen durch medizinisch-technische Assistentinnen der Medizinischen Poliklinik unter ärztlicher Aufsicht vor sowie 1, 2, 3, 5 und 8 Stunden nach Konsum der Studiengetränke durchgeführt.

Das Blut wurde in EDTA-Vacutainer (ca. 3 x 3 mL; BD, UK, Ref. 368856) und zusätzlich bei Blutentnahme 1, 3 und 5 in einer mit Heparin benetzten Spritze (10 mL) entnommen und kühl gelagert.

Von dem heparinisierten Vollblut wurden jeweils 100  $\mu$ L für den Test auf DNA-Strangbrüche (Comet Assay) in Reaktionsgefäße pipettiert. Diese wurden bis zur Analytik dunkel bei Raumtemperatur aufbewahrt. Die Probenaufbereitung für den Comet Assay wurde jeweils am Tag der Probenentnahme durchgeführt. Das übrige Blut wurde bei 3.000 x g 20 min bei +4°C zentrifugiert. Das Plasma wurde in Reaktionsgefäße aliquotiert.

Zur Bestimmung der Vitamin C-Konzentration wurden 500  $\mu$ L Plasma mit der gleichen Menge kalter (+7°C) 6 % (w/w) Perchlorsäure / 2 % (w/w) Metaphosphorsäure-Mischung versetzt und 10 Sekunden gemischt.

Anschließend wurden die Proben 10 min bei 3000 x g und +4°C zentrifugiert. Der Überstand wurde entnommen, in ein Reaktionsgefäß überführt und mit dem übrigen Plasma bis zur Analyse bei -80°C tiefgefroren. Die Aufbereitung der Blutproben war innerhalb 45 min abgeschlossen.

### 3.5 Laboranalytik

#### 3.5.1 Gesamtphenolgehalt

##### Geräte

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Spezifizierung</u>
Inkubationsbad	GFL, Burgwedel, D	MOT
Rotoshake	Scientific Industries, USA	Rotoshake Genie
Spektralphotometer	Kontron Instruments, CH	Uvikon 810
Tischzentrifuge	Thermo Electron (Kendro), Langenselbold, D	Heraeus Megafuge 1.0 R
Zentrifuge	Eppendorf, Hamburg, D	5415

##### Verbrauchsmaterial

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Spezifizierung</u>
Einmal-Rührspatel, PS	Brand, Wertheim, D	759800
Glasröhrchen	Schott Glas, Mainz, D	Zentrifugenröhrchen, 26 135 11 55, 12 X 100, ø7.15
Küvetten	Roth, Karlsruhe, D	PS Halbmikroküvetten
Spritzen	Braun, Melsungen, D	Omnifix-Spritzen, 5 mL
Spritzenfilter	Roth, Karlsruhe, D	Rotilabo-Spritzenfilter Nylon, 0,45 µmol/L, Art P814.1

##### Reagenzien

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Produktnummer</u>
Aceton	Roth, Karlsruhe, D	7028.2
(+)-Catechin	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	C-1251
Ethanol	Merck, Darmstadt, D	1.11727.2500
Folin-Ciocalteu-Phenol- Reagenz	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	F-9252
Meta-Phosphorsäure	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	M-5043
Methanol	Roth, Karlsruhe, D	7342,2
Natriumcarbonat	Merck, Darmstadt, D	6398
Natriumhydroxid	Merck, Darmstadt, D	1.06498.1000
Salzsäure	Merck, Darmstadt, D	100319

## **Lösungen**

### **NaOH in 75 % Methanol, 2 M**

8 g Natriumhydroxid wurde in 25 mL *Aqua bidest.* gelöst und zu 75 mL Methanol gegeben.

### **Meta-Phosphorsäure, 2 M**

100 g Meta-Phosphorsäure (40 %) wurden in 250 mL *Aqua bidest.* gelöst.

### **Aceton-Lösung**

Aceton wurde 1:2 mit *Aqua bidest.* verdünnt. Die Lösung wurde an jedem Versuchstag neu hergestellt.

### **Natriumcarbonat - Lösung**

75 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  wurde in 1 L *Aqua bidest.* gelöst und bei +4°C aufbewahrt.

### **Folin-Ciocalteu-Arbeitslösung**

Folin-Ciocalteu-Phenol-Reagenz wurde im Verhältnis von 1:10 mit *Aqua bidest.* verdünnt und bis zum Gebrauch dunkel gelagert. Die Lösung wurde täglich frisch angesetzt.

### **Catechin-Stammlösung, 500 mg/L**

23,35 mg Catechinhydrat (= 23 mg Catechin) wurde in 900  $\mu\text{L}$  Ethanol gelöst und mit 45,1 mL *Aqua bidest.* verdünnt. Die Stammlösungen wurden in Aliquots von 1200  $\mu\text{L}$  in Reaktionsgefäßen tiefgefroren und bis zur Analyse bei -80°C aufbewahrt.

## **Einführung und Prinzip**

Die Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes im Plasma wurde mittels der Folin-Ciocalteu-Methode nach Singleton und Rossi [70] durchgeführt. Im alkalischen Milieu reagieren die oxidierbaren OH-Gruppen der Probe mit Folin-Ciocalteu-Reagenz. Hierbei entsteht ein blauer Farbstoff, dessen Extinktion photometrisch bei 765 nm gemessen wird. Die Konzentration der Gesamtphenole im Plasma wird anhand einer Catechin-Standardgerade bestimmt und als Catechin-Äquivalente (CAE) in mg/L angegeben.

Folin-Ciocalteu-Reagenz reagiert nicht spezifisch mit phenolischen Gruppen sondern mit allen oxidierbaren OH-Gruppen der Probe. Daher wurde das beschriebene Verfahren zur Probenaufbereitung (Entfettung und Proteinfällung) nach Serafini et al. verwendet und die Modifikationen von Arendt et al. (Erhöhung der Meta-Phosphorsäure Konzentration) übernommen [71, 72].

## **Durchführung**

### **Probenaufbereitung:**

Das bei Raumtemperatur aufgetaute Plasma wurde 5 min bei 12.000 x g zentrifugiert. Der Überstand (500  $\mu\text{L}$ ) wurde in ein Glasröhrchen zu 1 mL einer 1 molaren HCl pipettiert, 1 min gemischt und 30 min bei +37°C im Inkubationsbad inkubiert. Von dem NaOH/Methanol-Gemisch wurde 1 mL zugesetzt und das Röhrchen 5 min invertiert. Die Probe wurde 30 min bei +37°C inkubiert. Anschließend wurde 1 mL Meta-Phosphorsäure zugesetzt und 5 min invertiert. Die Röhrchen wurden 10 min bei 1.500 x g zentrifugiert, der Überstand

entnommen und auf Eis dunkel gelagert. Nach Zugabe von 1 mL Aceton-Lösung zum Pellet wurde gemischt und bei 2.700 x g 10 min zentrifugiert. Der Überstand wurde dem ersten Überstand zugefügt. Der gesamte Überstand wurde gemischt, bei 2.700 x g 3 min zentrifugiert und durch einen 0,45 µmol/L Nylon-Filter filtriert.

Je 200 µL des Filtrats bzw. der Catechin-Standardlösungen (5, 10, 15, 20, 30 und 50 mg/L) wurden in Halbmikroküvetten zu 1 mL Folin-Ciocalteu-Arbeitslösung gegeben. Es wurde 800 µL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung zugesetzt und gemischt. Die Proben wurden 2 h dunkel bei Raumtemperatur inkubiert.

#### Probenmessung:

Die Messung erfolgt photometrisch bei 765 nm gegenüber *Aqua bidest.* Der Gesamtphenolgehalt der Proben wurde anhand der Standardgeraden bestimmt und in mg/L Catechin-Äquivalenten (CAE) angegeben. Aufgrund der Verdünnung der Probe (1:9) während der Aufbereitung wurde das Ergebnis mit dem Faktor 9 multipliziert. Die Bestimmung des Gesamtphenolgehalts erfolgte als Doppelbestimmung. Die Korrelation der Messungen zur Linearität der Standardgeraden lag bei  $R^2=0,999$  und der Variationskoeffizient der Einzelmessungen unter 2 %.

### **3.5.2 Flavan-3-ole**

#### **Geräte**

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Spezifizierung</u>
Inkubationsbad	GFL, Burgwedel, D	MOT
Roto-Shake	Scientific Industries, USA	Roto-Shake Genie
Spektralphotometer	Kontron Instruments, CH	Uvikon 922
Zentrifuge	Thermo Electron (Kendro), Langenselbold, D	Heraeus Megafuge 1.0 R

**HPLC-Analytik**

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Spezifizierung</u>
EC-Detektor	Biometra, Göttingen, D	EP 30
Probenaufgabesystem	Spark Holland, NL	Triathlon
Pumpe	Sykam, Fürstenfeldbruck, D	S 1100
Säulenofen	Sykam, Fürstenfeldbruck, D	S4010
Trennsäule	Thermo Elektron, Dreieich, D	Hypersil ODS 250 x 4 mm, 3 µmol/L
Vorsäule	Thermo Elektron, Dreieich, D	Hypersil ODS 4mm, 3 µmol/L

**Verbrauchsmaterial**

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Spezifizierung</u>
Dialysesystem	Roth, Karlsruhe, D	Spectra/Por DispoDialyzer Cellulose Ester, 2 mL, MWCO 3,500
HPLC-Filter	Schleicher & Schuell, Dassel, D	Spartan 13/30, 0.2 µmol/L RC
Küvetten	Roth, Karlsruhe, D	PS Halbmikroküvetten
Reaktionsgefäße	Eppendorf, Hamburg, D	Safe Lock, 1,5 mL
Spritzen	Braun, Melsungen, D	Omnifix-Spritzen, 5 mL
Vial-Deckel	CS-Chromatographie, Langenwehe, D	Bördelkappe R11-1.3, Art- Nr. 301079
Vials	Macherey-Nagel, Düren, D	Probengläser N-11-03 PP (Art 702 809)
Zentrifugenröhrchen	Roth, Karlsruhe, D	Zentrifugengläser mit Rundbogen, Duran, C102.1
Zentrifugenröhrchen	Greiner, Solingen, D	PP-Röhrchen, steril, 15 mL

**Reagenzien zur Bestimmung der Enzymaktivität**

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Produktnummer</u>
Ethanol	Merck, Darmstadt, D	1.11727.2500
Glycin, freie Base	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	G-7126
Natriumacetat Trihydrat	Merck, Darmstadt, D	1.06267.1000
Natriumchlorid	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	S-9625
Natriumhydroxid	Merck, Darmstadt, D	1.06498.1000
p-Nitrocatecholsulfat – Lösung	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	N-7251
Phenolphthalein	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	P-9750
Phenolphthalein- Glucuronidsubstrat- Lösung	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	P-0376

**Reagenzien: Plasma-Aufbereitung/HPLC**

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Produktnummer</u>
(-)-Epicatechin	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	E-1753
(+)-Catechinhydrat	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	C-1251
Acetonitril	Roth, Karlsruhe, D	8825
Aluminiumoxid	Merck, Darmstadt, D	101097
Butyl-Hydroxytoluen	Merck, Darmstadt, D	822021
Catechingallat	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	C-0692
Diethylether	Roth, Karlsruhe, D	3942.4
Epicatechingallat	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	E3893
Epigallocatechin	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	E3768
Epigallocatechingallat	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	E4143
Glucuronidase Enzym- Lösung	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	G7017
Methanol	Roth, Karlsruhe, D	7342,2
Orthophosphorsäure	Merck, Darmstadt, D	100573
Perchlorsäure	Merck, Darmstadt, D	100519
Tetrahydrofuran	Roth, Karlsruhe, D	7344

**Lösungen für die Enzymaktivität**

Natriumacetatpuffer, 200 mmol/L, pH 5,0 bei +37°C

2,7216 g Natriumacetat Trihydrat wurden in 100 mL *Aqua bidest.* gelöst und ein pH 5,0 bei +37°C mit 1 molarer HCl eingestellt. Der Puffer wurde bei +7°C gelagert.

Natriumacetatpuffer, 100 mmol/L, pH 5,0 bei +37°C

1,3608 g Natriumacetat Trihydrat wurden in 100 mL *Aqua bidest.* gelöst und ein pH 5,0 bei +37°C mit 1 molarer HCl eingestellt. Der Puffer wurde bei +7°C gelagert.

Natriumchlorid-Lösung, 0,2 %

0,2 g Natriumchlorid wurden in 100 mL *Aqua bidest.* gelöst. Die Lösung wurde bei +7°C gelagert.

Glycerinpuffer, 200 mmol/L, pH 10,4 bei +37°C

0,7507 g Glycerin wurden in 50 mL *Aqua bidest.* gelöst und ein pH von 10,4 bei +37°C mit 1 molarer NaOH eingestellt. Der Puffer wurde bei +7°C gelagert.

**p-Nitrocatecholsulfat-Lösung (PNCS), 6,25 mmol/L**

0,01946 g Dikalium-p-Nitrocatecholsulfat wurden in 10 mL *Aqua bidest.* gelöst. Die Lösung wurde täglich frisch angesetzt.

**Phenolphthalein-Glucuronid-Lösung (PheP-Gluc), 1,2 mmol/L**

0,00620 g Salz der Natrium-Phenolphthalein-glucuronsäure in 10 mL *Aqua bidest.* gelöst. Die Lösung wurde täglich frisch angesetzt.

**Phenolphthalein-Standardlösung, 0,05 %**

1 mg Phenolphthalein wurde mit Ethanol auf 2 mL aufgefüllt.

**Enzymlösung Sulfatase-Test, ~ 5 U/mL**

20 µL Enzymlösung wurden mit 14980 µL kalter 0,2 %-iger Kochsalzlösung gemischt. Die Lösung wurde täglich frisch angesetzt.

**Enzymlösung Glucuronidase-Test, ~ 500 U/mL**

20 µL Enzymlösung wurden mit 2602 µL kalter 0,2 %-iger Kochsalzlösung gemischt. Die Lösung wurde täglich frisch angesetzt.

**Lösungen für die Analytik****Catechin-Stammlösung, 400 µmol/L**

1,16 mg Catechin-Hydrat wurden in 10 mL *Aqua bidest.* gelöst.

**Epicatechin-Stammlösung, 400 µmol/L**

1,16 mg wurden in 10 mL *Aqua bidest.* gelöst.

**Epigallocatechin-Stammlösung, 400 µmol/L**

1,224 mg wurden in 10 mL *Aqua bidest.* gelöst.

**Epigallocatechingallat-Stammlösung, 400 µmol/L**

1,8336 mg wurden in 10 mL *Aqua bidest.* gelöst.

**Epicatechingallat-Stammlösung, 400 µmol/L**

1,696 mg wurden in 10 mL *Aqua bidest.* gelöst.

**Catechingallat-Stammlösung, 400 µmol/L**

1,696 mg wurden in 10 mL *Aqua bidest.* gelöst.

**Methanol mit Butyl-Hydroxytoluen, 1 g/L**

500 mL Methanol wurden mit 0,5 g BHT gemischt. Die Lösung ist bei +4°C Wochen haltbar.

**Methanol:Perchlorsäure:*Aqua bidest* - Lösung (8:1:1)**

4320 mL Methanol wurden mit 540 mL Perchlorsäure und mit 540 mL *Aqua bidest.* gemischt. Die Lösung wurde täglich frisch angesetzt.

**0,2 %-ige Phosphorsäure, filtriert**

Zu 4900 mL *Aqua bidest.* wurden 11,75 mL Orthophosphorsäure pipettiert und die Lösung auf 5000 mL mit *Aqua bidest.* aufgefüllt. Anschließend wurde die Phosphorsäure durch einen Membranfilter (0,45 µmol/L Porendurchmesser) filtriert. Die 0,2 %-ige Phosphorsäure wurde bis Gebrauch bei +4°C gelagert.

**0,2 %-ige Phosphorsäure:Acetonitril:Tetrahydrofuran (86:12,5:1,5) [Laufmittel]**

1720 mL der filtrierten 0,2 %-igen Phosphorsäure wurde mit 250 mL Acetonitril (ACN) und 30 mL Tetrahydrofuran (THF) versetzt. Das Laufmittel wurde 10 min mit Helium entgast.

## **Prinzip**

Die Tee- und Plasmaproben wurden nach Kivits et al. [56] aufbereitet und mittels HPLC mit elektrochemischer Detektion gemessen.

Da bei dieser Analytik nur freie Flavan-3-ole erfasst werden, wurden die Plasmaproben mit einer Enzymlösung, die Glucuronidase sowie Sulfatase enthält, versetzt um die Gesamtkonzentration als Summe der freien und konjugierten Flavan-3-ole zu bestimmen. Da in der Enzymlösung weitere Substanzen enthalten sind, die die Peaks der Flavan-3-ole im Chromatogramm überlagern, wurde die Enzymlösung vor Zugabe zu den Proben dialysiert. Die Plasmaproteine wurden mit Methanol gefällt. Nach Festphasenextraktion mit Aluminiumoxid werden die Flavan-3-ole durch Senkung des pH-Werts von der Festphase gelöst und in Laufmittel aufgenommen.

## **Durchführung**

### Aufbereitung der Enzymlösung:

Die Enzymlösung wurde in Dialyseröhrchen gegeben und 20 h bei +4°C im Dunkeln dialysiert. Als Medium wurde hierbei *Aqua bidest.* eingesetzt, welches mit 0,05 molare HCl auf pH 5,5 angesäuert wurde.

### Bestimmung der Enzymaktivität:

Im Dialysat wurde die Glucuronidase- und Sulfataseaktivität gemäß der Testanleitung der Firma Sigma-Aldrich bestimmt.

#### a) Bestimmung der Glucuronidaseaktivität:

- In Zentrifugenröhrchen wurden 700 µL Natriumacetatpuffer (100 mmol/L) mit 700 µL PheP-Gluc versetzt, gemischt und die Lösung auf +37°C erwärmt. Zu der Lösung wurden 100 µL der Enzymlösungen (~ 50 U/mL) gegeben, gemischt und bei +37°C 30 min inkubiert. Dann wurde 5000 µL NaOH in alle Röhrchen gegeben und in das Röhrchen für die Bestimmung des Leerwert 100 µL der Enzymlösung pipettiert.
- Für die Standardkurve wurden 4 Standardlösungen (S1-S4) sowie ein Leerwert benötigt. Zur Herstellung der Standardlösungen und des Leerwerts wurde je 700 µL Natriumacetatpuffer (100 mmol/L) mit 700 µL PheP-Gluc versetzt und gemischt. Danach wurde in das Röhrchen von S1 30 µL Phenolphthalein-Standardlösung, zu S2 50 µL, zu S3 70 µL und zu S4 100 µL pipettiert. Im Anschluss wurden zu S1 70 µL, zu S2 50 µL, zu S3 30 µL und zum Leerwert 100 µL Ethanol (95 %) gegeben. In alle Röhrchen wurde abschließend 5000 µL Glycerinpuffer pipettiert und gemischt.

- jeweils 1 mL wurde in Küvetten überführt und die Extinktion der Proben/Standards bei 540 nm gegen ihren jeweiligen Leerwert gemessen. Anhand der Standardkurve wurde die Glucuronidaseaktivität in den Dialysaten berechnet.
- b) Bestimmung der Sulfataseaktivität:
- Für die Bestimmung der Sulfataseaktivität wurden zu jeweils 500  $\mu\text{L}$  Natriumacetatpuffer (200 mmol/L) 400  $\mu\text{L}$  PNCS pipettiert, gemischt und auf +37°C erwärmt. In die Röhren für die Dialysate wurden 100  $\mu\text{L}$  der Enzymlösung (~ 5 U/mL) gegeben, gemischt und die Lösungen für 30 min bei +37°C inkubiert. Im Anschluss wurde in alle Röhren 5000  $\mu\text{L}$  NaOH pipettiert, zusätzlich in das Röhren für die Bestimmung des Leerwerts 100  $\mu\text{L}$  Enzymlösung gegeben und gemischt.
  - Alle Proben wurden bei 515 nm im Photometer gegen Leerwert gemessen und aus den Extinktionen die Enzymaktivität der Dialysate berechnet.

Die Lösungen wurden aliquotiert und bis zur Probenaufbereitung bei -80°C eingefroren. Zum Ausschluss verbliebener Verunreinigungen wurden ein Teil der Enzymlösungen (1000 U Glucuronidase) durch Zugabe zu 500  $\mu\text{L}$  Wasser analog zur Probenaufbereitung aufbereitet und mittels HPLC gemessen. Erst nach dieser Qualitätskontrolle wurden die Lösungen in der Probenaufbereitung eingesetzt.

#### Probenaufbereitung:

Die Plasmaproben (500  $\mu\text{L}$ ) wurden aufgetaut, mit der Enzymlösung (1000 U Glucuronidase, ~ 2 U Sulfatase) versetzt und bei +37°C 45 min in Zentrifugenröhren unter Stickstoff inkubiert.

Die Proben wurden mit 1500  $\mu\text{L}$  Methanol-BHT-Lösung versetzt und wiederum mit Stickstoff begast. Es wurde gemischt und 5 min auf dem Rotoshake invertiert. Nach Zentrifugation bei 3.000 x g (+4°C, 10 min) wurden 1600  $\mu\text{L}$  des Überstandes in Glasröhren mit 0,05 g Aluminiumoxid überführt. Die Proben wurden 15 min auf dem Rotoshake gemischt und anschließend bei 2.700 x g und +4°C für 5 min zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Pellet in 1,5 mL Diethylether aufgenommen. Die Röhren wurden 1,5 min gemischt und bei 2.700 x g und +4°C 5 min zentrifugiert.

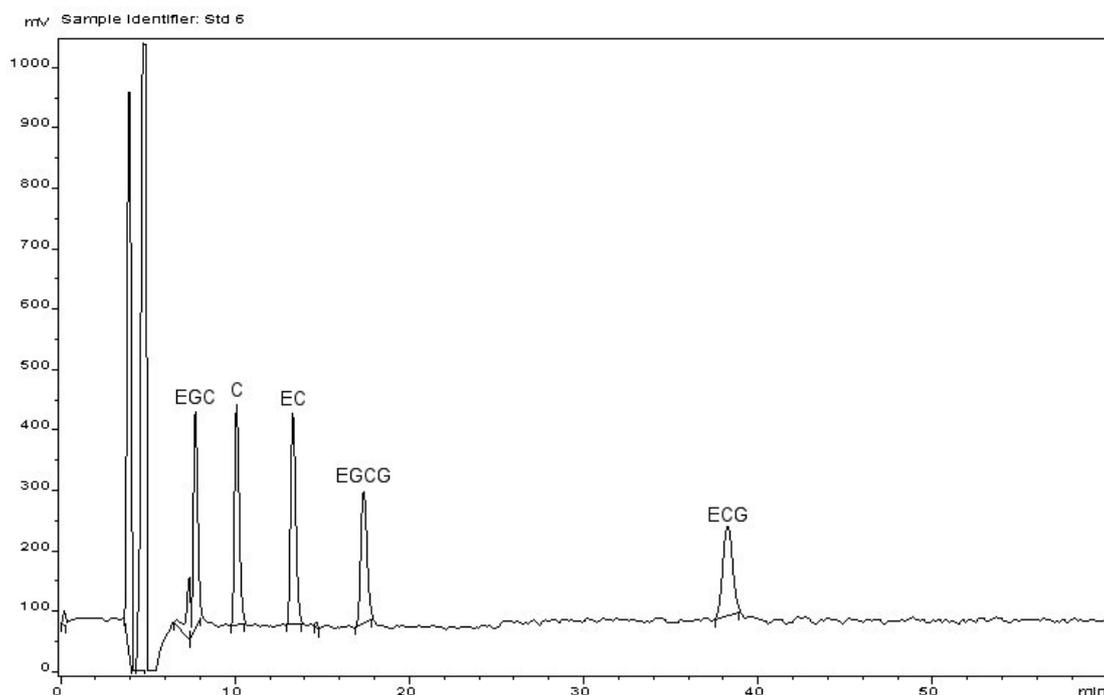
Der Ether wurde abpipettiert und die Reste im Inkubationsbad bei +37°C abgedampft. Das Pellet wurde mit 50  $\mu\text{L}$  Methanol-Perchlorsäure-*Aqua bidest*-Lösung versetzt und 1,5 min gemischt. Anschließend wurden 450  $\mu\text{L}$  Laufmittel zugesetzt und für 1,5 min gemischt. Zur Abtrennung des Aluminiumoxids wurden die Proben 5 min bei 2.700 x g und +4°C zentrifugiert und der Überstand durch einen HPLC-Spritzenfilter (0,45  $\mu\text{mol/L}$ ) filtriert. Das Filtrat (150  $\mu\text{L}$ ) wurde in Microvials pipettiert und bei -80°C bis zur Analyse tiefgefroren.

### Probenmessung:

Die Proben wurden mittels HPLC-Analytik in Doppelbestimmung gemessen. Durch ein kühlbares Probenaufgabesystem (+4°C) wurden 20 µL der Proben aufgebracht. Als Laufmittel wurde ein Gemisch aus 0,2 %-igen Phosphorsäure:ACN:THF (86:12,5:1,5) eingesetzt. Die einzelnen Flavan-3-ole wurden durch eine auf +30°C temperierte C-18 ODS-Säule aufgetrennt und anschließend mittels EC-Detektion bei +0,6 V gegen Ag/AgCl gemessen. Die Flussrate betrug zu Beginn 0,6 mL pro Minute und wurde ab der Minute 25 auf 0,75 mL pro Minute erhöht.

Die Reproduzierbarkeit der HPLC Anlage wurde bei einer Zehnfach-Messung eines 80 nmol/L Flavan-3-ol-Mischstandards gemessen, der durchschnittliche Variationskoeffizient dieser Messungen lag bei 2,5 %. Die Linearität war zwischen den Detektionslimits und 80 nmol/L bei einem durchschnittlichen R<sup>2</sup> von 0,98 gegeben. Die Wiederfindungsrate der einzelnen Flavan-3-ole aus einer Aufbereitung lag für Catechin bei 31 %, für EC bei 30 %, für EGCG bei 54 % und bei 49 % für ECG. Die Messwerte wurden entsprechend der Verlusten korrigiert. Die Retentionszeiten betragen für Catechin 9,5 min, für EC 12,5 min, für EGCG 16 min und für ECG 36 min.

Die nach DIN 32645 ermittelten Nachweisgrenzen lagen für Catechin bei 2,0 nmol/L, für EC bei 3,5 nmol/L, für EGCG bei 1,5 nmol/L und bei 3,0 nmol/L für ECG.



**Abbildung 2: Chromatogramm eines Flavan-3-ol-Mischstandards (je 80 µmol/L) aus Epigallocatechin (EGC), Catechin (C), Epicatechin (EC), Epigallocatechingallat (EGCG) und Epicatechingallat (ECG) gemessen gegenüber Ag/AgCl bei +0,6 V**

### 3.5.3 Ascorbinsäure

#### Geräte

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Spezifizierung</u>
Zentrifuge	Eppendorf, Hamburg, D	5435

#### HPLC-Analytik

Probenaufgabesystem	SparkHolland, NL	Triathlon
Pumpe	Sykam, Fürstfeldbruck, D	S1100
Säulenofen	Sykam, Fürstfeldbruck, D	S4010
Trennsäule	MZ, Mainz, D	Inertsil ODS-2, 250 x 4,6 mm, 5 µmol/L (Art-Nr. 250.4,6.2010.R)
UV-Detektor	Spectra-Physics, Darmstadt, D	UVIS-205, Linear

#### Verbrauchsmaterial

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Spezifizierung</u>
Reaktionsgefäße	Eppendorf, Hamburg, D	Safe Lock (1,5 mL)
Vial-Deckel	CS-Chromatographie, Langenwehe, D	Bördelkappe R11-1.3, Art-Nr. 301079
Vials	Macherey-Nagel, Düren, D	Probengläser N-11-03 PP (Art-Nr. 702 809)

#### Reagenzien

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Produktnummer</u>
L-Ascorbinsäure	Merck, Darmstadt, D	944F223027
Metaphosphorsäure	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	M-5043
Natriumdihydrogenphosphat-1-Hydrat	Merck, Darmstadt, D	A617046 508
Orthophosphorsäure	Merck, Darmstadt, D	100573
Perchlorsäure	Merck, Darmstadt, D	100519

## **Lösungen**

### **6 % (w/w) Perchlorsäure/2 % (w/w) Metaphosphorsäure-Lösung**

1 g Metaphosphorsäure wurde mit 6 %-iger Perchlorsäure auf 20 g aufgefüllt. Die Lösung ist im Kühlschrank 2 Tage stabil.

### **3 % (w/w) Perchlorsäure/1 % (w/w) Metaphosphorsäure-Lösung**

7,5 g Metaphosphorsäure wurden mit 3 %-iger (w/w) Perchlorsäure auf 300 g aufgefüllt.

### **Ascorbinsäure-Stammlösung (7013,44 $\mu\text{mol/L}$ $\triangleq$ 1200 mg/L)**

60 mg L-Ascorbinsäure wurden mit der 3 % Perchlorsäure/1 % Metaphosphorsäure-Lösung zu 300 g ergänzt. Die Stammlösung wurde täglich frisch angesetzt.

### **Ascorbinsäure-Standards, 7,01 $\mu\text{mol/L}$ $\triangleq$ 1,2 mg/L und 70,13 $\triangleq$ 12 mg/L**

Ascorbinsäure-Stammlösung wurden mit der 3 % Perchlorsäure/1 % Metaphosphorsäure-Lösung 1:1000 bzw. 1:100-fach verdünnt.

### **Phosphatpuffer (pH 2,0), 0,045 mol/L [Laufmittel]**

1,38 g Natriumdihydrogenphosphat-1-hydrat wurden in 1000 mL *Aqua bidest.* gelöst und mit 14 %-iger Orthophosphorsäure (ca. 23 mL) auf pH 2,0 eingestellt.

Der Lösung wurde durch einen 0,45  $\mu\text{L}$  Filter aufgereinigt und 10 min mit Helium entgast. Das HPLC-Laufmittel ist ca. 2 Tage stabil.

## **Prinzip**

Der L-Ascorbinsäurespiegel im Plasma wurde nach dem Verfahren von Steffan [73] bestimmt.

Die Plasmaproteine wurden zuvor mit Perchlorsäure/Metaphosphorsäure-Lösung gefällt und dabei gleichzeitig die L-Ascorbinsäure stabilisiert. Die Konzentration der L-Ascorbinsäure im Überstand wurde mittels HPLC-UV/VIS bei 243 nm gemessen.

## **Durchführung**

### Probenaufbereitung:

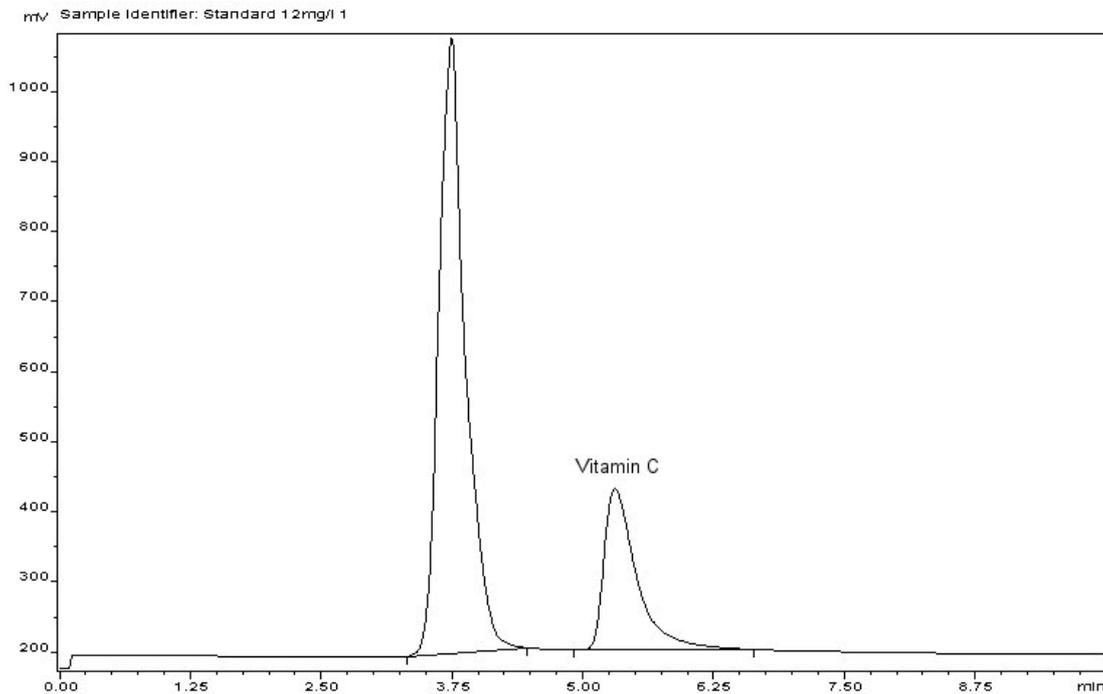
Die Aufbereitung der Proben erfolgte wie unter Kapitel 3.4.2 beschrieben. Nach dem Auftauen wurden die Proben gemischt und bei 14.000 x g für 30 sec zentrifugiert. Vom Überstand und Ascorbinsäure-Standards wurden je 200  $\mu\text{L}$  in Microvials gegeben.

### Probenmessung:

Von den Proben wurden 20  $\mu\text{L}$  mit Hilfe eines kühlbaren Probenaufgabesystems (+4°C) injiziert und mittels UV/VIS-Detektion bei 243 nm gemessen. Die Flussrate betrug linear 0,8 mL/min. Die Trennung erfolgte über eine C-18 Phase bei einer Säulentemperatur von +25°C. Die Bestimmung wurde als Doppelbestimmung durchgeführt. Die Messung und Auswertung erfolgte mit Hilfe der Software Pyramid (Sykam, Fürstenfeldbruck, D)

Die Linearität lag bei der Messung eines 12 mg/L Vitamin C-Standards bei  $R^2=0,994$  und die durchschnittliche Wiederfindung bei 110 %. Der durchschnittliche Variationskoeffizient der

Einzelmessungen der Proben lag bei 1,8 %. Die Retentionszeit von Vitamin C betrug 5,5 min.



**Abbildung 3: Chromatogramm eines Vitamin C-Standards (70,12  $\mu\text{mol/L}$ ) bei 243 nm UV/VIS-Detektion**

### 3.5.4 Harnsäure

#### *Geräte und Verbrauchsmaterialien*

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Spezifizierung</u>
Einmal-Rührspatel, PS	Brand, Wertheim, D	759800
Küvetten	Roth, Karlsruhe, D	PS Halbmikroküvetten
Spektralphotometer	Kontron Instruments, CH	Uvikon 810

#### *Reagenzien*

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Produktnummer</u>
Harnsäure-Testkit	Diaglobal, Berlin, D	HSR 013

## **Lösungen**

Im Test-Kit enthaltene Lösungen:

- Farbreagenz
- Pufferlösung

### **Reaktionslösung**

50 mL des Farbreagenz wurden entsprechend Vorschrift mit 50 mL Pufferlösung gemischt. Die Reaktionslösung ist bei + 4°C circa 3 Monate haltbar.

## **Prinzip**

Die Bestimmung des Harnsäurespiegels im Plasma erfolgte photometrisch durch ein indirektes, enzymatisches Verfahren (Uricase-PAP-Methode).

Harnsäure wird durch Uricase oxidiert. Hierbei entsteht Wasserstoffperoxid, welches in einer Peroxidase-katalysierten Reaktion zu einem Indaminfarbstoff umgesetzt wird (Trinder-Reaktion). Da die Konzentration dieses Farbstoffs zur Harnsäurekonzentration im Plasma proportional ist, kann anhand der Extinktion (546 nm) der Harnsäurespiegel der Probe berechnet werden.

## **Durchführung**

Die Plasmaproben wurden 30 sec gemischt. In Halbmikroküvetten wurden 1000 µL der Reaktionslösung vorgelegt, 20 µL Plasma zugefügt und gemischt. Nach 10 min Inkubation bei Raumtemperatur wurden die Proben gegen den Leerwert (Reaktionslösung) bei 546 nm im Spektralphotometer gemessen.

Die Harnsäure-Konzentration im Plasma wurde nach folgender Formel berechnet:

$$C_{\text{Harnsäure}} \text{ (mg/dL)} = 47,5 \times \text{Extinktion}$$

Die Bestimmung erfolgte als Dreifachbestimmung. Der durchschnittliche Variationskoeffizient der Einzelmessungen betrug 2 %.

### 3.5.5 Antioxidative Kapazität (TEAC)

#### *Geräte und Verbrauchsmaterial*

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Spezifizierung</u>
Einmal-Rührspatel, PS	Brand, Wertheim, D	759800
Inkubationsbad	GFL, Burgwedel, D	MOT
Küvetten	Roth Karlsruhe, D	PS Halbmikroküvetten
Spektralphotometer	Kontron Instruments, CH	Uvikon 922 A
Zentrifuge	Eppendorf, Hamburg, D	5415

#### *Reagenzien*

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Produktnummer</u>
ABTS	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	27,172-1
Dinatriumhydrogenphosphat (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	Ferak, Berlin, D	1143
Kaliumdihydrogenphosphat (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	Fluka (Sigma-Aldrich), Steinheim, D	60218
Myoglobin (Metmyoglobinanteil > 90 %)	Serva, Heidelberg, D	29895
NaCl	Merck, Darmstadt, D	31387447
PBS	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	
Trolox	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	23,881-3
Wasserstoffperoxid (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), 30 %-ig	AppliChem, Darmstadt, D	A1134,0250

## Lösungen

### PBS-Puffer, 5 mmol/L, pH 7,4

Stammlösung A: 0,68045 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  wurden mit *Aqua bidest.* auf 1 L aufgefüllt.

Stammlösung B: 0,88995 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  wurden mit *Aqua bidest.* auf 1 L aufgefüllt.

197 mL der Stammlösung A und 803 mL der Stammlösung B wurden mit 9 g NaCl versetzt und auf pH 7,4 mit einer der Stammlösungen eingestellt.

### Metmyoglobin, 70 $\mu\text{mol/L}$

Die Metmyoglobinkonzentration wurde über den Whitburn-Algorithmus durch Messungen bei 490, 560 und 580 nm bestimmt. Mit Hilfe von PBS wurde eine Konzentration auf 70  $\mu\text{mol/L}$  eingestellt.

Whitburn – Algorithmus:

$$\begin{aligned} [\text{MetMb}] &= 146 A (490 \text{ nm}) - 108 A (560 \text{ nm}) + 2,1 A (580 \text{ nm}) \\ [\text{Ferryl Mb}] &= -62 A (490 \text{ nm}) - 242 A (560 \text{ nm}) - 123 A (580 \text{ nm}) \\ [\text{MbO}_2] &= 2,8 A (490 \text{ nm}) - 127 A (560 \text{ nm}) + 153 A (580 \text{ nm}) \end{aligned}$$

### ABTS, 500 $\mu\text{mol/L}$

0,02743 g ABTS wurden in 10 mL PBS gelöst und 1:10 auf 500  $\mu\text{mol/L}$  verdünnt. Die ABTS-Lösung wurde täglich frisch angesetzt.

### $\text{H}_2\text{O}_2$ , 450 $\mu\text{mol/L}$

515  $\mu\text{L}$  einer 30 %-igen Lösung wurde mit PBS auf 10 mL aufgefüllt. Von dieser Lösung (500 mmol/L) wurden 50,1  $\mu\text{L}$  verwendet und mit PBS auf 50 mL aufgefüllt.

### Trolox, 2,5 mmol/L

0,15641 g Trolox in 250 mL PBS (5 mmol/L, pH 7,4) im Ultraschallbad lösen. Bei  $-20^\circ\text{C}$  ist die Stammlösung 6 Monate, bei  $+4^\circ\text{C}$  eine Woche stabil.

Die Standardreihe (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 mmol/L) wurde aus der Stammlösung durch Verdünnung mit PBS hergestellt.

## Prinzip

Die antioxidative Kapazität im Plasma wurde anhand der "Trolox equivalent antioxidative capacity" (TEAC) bestimmt. Diese Messung basiert auf der Methodenbeschreibung nach Miller et al. [74].

Metmyoglobin induziert in Gegenwart von  $\text{H}_2\text{O}_2$  und ABTS die Bildung des Radikalkations 2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzthiazolin)-6-sulfonat (ABTS<sup>\*</sup>). Die Konzentration des ABTS-Radikals kann bei 734 nm photometrisch gemessen werden. In Gegenwart von Antioxidantien wird diese Reaktion gehemmt. Als Referenzsubstanz dient Trolox – ein synthetisches, wasserlösliches Vitamin E-Analogon. Die antioxidative Kapazität der Proben wird in mmol/L Trolox-Äquivalenten (TAE) angegeben.

## ***Durchführung***

### Probenaufbereitung:

Die Proben wurden nach dem Auftauen 3 min bei 14000 x g zentrifugiert. In Halbmikroküvetten wurde 8,4 µL der Probe bzw. des Trolox-Standards (0; 0,5; 1; 1,5; 2 und 2,5 mmol/L) oder ein Referenzplasma pipettiert und mit 506 µL PBS-Puffer (pH 7,4) versetzt. Nach Zugabe von 36 µL Metmyoglobin und 300 µL ABTS-Arbeitslösung wurden die Proben gemischt und bei +30°C 3 min inkubiert. Nach Zugabe von 150 µL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> wurde gemischt und 3 min inkubiert.

### Probenmessung:

Die photometrische Messung der Proben erfolgte bei 734 nm gegen PBS (Blindwert). Anhand der Trolox-Standardgeraden wurde die antioxidative Kapazität der Probe und des Referenzplasmas ermittelt. Der TEAC des Referenzplasmas wurde über alle Messungen bestimmt und die antioxidative Kapazität der Proben um die Abweichungen der Einzelmessungen vom Mittelwert korrigiert. Die Bestimmung des TEAC erfolgte als Doppelbestimmung. Die Linearität der Standardgerade lag durchschnittlich bei R<sup>2</sup>=0,999 und der durchschnittliche Variationskoeffizient der Einzelmessungen bei 1,0 %.

## **3.5.6 F<sub>2</sub>-Isoprostane**

### ***Geräte und Verbrauchsmaterial***

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Produktnummer</u>
Direct 8-iso-Prostaglandine F <sub>2α</sub> Enzyme Immunoassay Kit	Assay Designs Inc., USA	900-091
Inkubationsbad	GFL, Burgwedel, D	MOT
Mikroplatten Reader	Tecan, Österreich	Sunrise
Mikroplattenschüttler	Janke & Kunkel GmbH & Co. KG, Staufen i. Br., D	IKA Vibrax – VXR
Mikroplatten Washer	Tecan, Österreich	Columbus plus - Basic
Zentrifuge	Eppendorf, Hamburg, D	5415

## Reagenzien

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Produktnummer</u>
Direct 8-iso-Prostaglandine F <sub>2α</sub> Enzyme Immunoassay Kit	Assay Designs Inc., USA	900-091
Natriumhydroxid	Merck, Darmstadt, D	1.06498.1000
Salzsäure	Merck, Darmstadt, D	100319

## Lösungen

Im Test-Kit enthaltene Lösungen:

- 8-iso-PGF<sub>2α</sub> Konjugat
- 8-iso-PGF<sub>2α</sub> Antikörper
- 8-iso-PGF<sub>2α</sub> Proben-Diluent
- 8-iso-PGF<sub>2α</sub> Stammlösung
- Neutralisierungsreagenz
- Wasch-Puffer-Konzentrat
- P-Nitrophenyl-Phosphat-Substrat Lösung
- Stopp-Lösung

### 8-iso-PGF<sub>2α</sub>-Standard

Nach Auftauen der Stammlösung (1000000 pg/mL) wurden die Standards in Glasröhrchen gemischt.

- S1, 100000 pg/mL: 900 µL Diluent + 100 µL Stammlösung
- S2, 20000 pg/mL: 800 µL Diluent + 200 µL S1, mischen
- S3, 4000 pg/mL: 800 µL Diluent + 200 µL S2, mischen
- S4, 800 pg/mL: 800 µL Diluent + 200 µL S3, mischen
- S5, 160 pg/mL: 800 µL Diluent + 200 µL S4, mischen

Haltbarkeit der Standards: 1 h bei Raumtemperatur.

### Wasch-Puffer

5 mL des konzentrierten Wasch-Puffers wurden mit 95 mL *Aqua bidest.* gemischt. Bei Raumtemperatur ist die Lösung für 3 Monate bei Raumtemperatur haltbar.

### NaOH, 10N

40 g NaOH wurde mit 100 mL *Aqua bidest. gemischt.*

### Konzentrierte HCl (12.1N)

## Prinzip

Die F<sub>2</sub>-Isoprostane (8-iso-PGF<sub>2α</sub>) im Plasma wurden mit Hilfe eines kompetitiven Immunoassays bestimmt. Hierbei binden Polyklonale Antikörper 8-iso-PGF<sub>2α</sub> kompetitiv. Anschließend wird ein Substrat zugegeben, welches sich an die F<sub>2</sub>-Isoprostane bindet und ebenfalls mit einem Enzym-Farbstoff reagiert. Die Extinktion des Farbkomplexes ist proportional zur Konzentration der F<sub>2</sub>-Isoprostane.

## ***Durchführung***

### Probenaufbereitung:

Nach dem Auftauen wurden die Plasmaproben im Verhältnis 4:1 mit 10N NaOH gemischt und bei +45°C für 2 h inkubiert. Nach dem Abkühlen wurden die Proben mit 100 µL konzentrierter Salzsäure (12,1N) versetzt und 5 min bei 15000 x g zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und bis zur Messung bei -80°C aufbewahrt.

### ELISA:

Vor Beginn der Messung wurden alle Reagenzien auf Raumtemperatur erwärmt.

Zur Messung der totalen Aktivität und zur Ermittlung des Leerwerts wurden in die entsprechenden Wells jeweils 50 µL des Neutralisierungsreagenz pipettiert. In die Wells für die Nicht-spezifische Bindung (NSB) und den Null-Standard (Bo, 0 pg/mL Standard) wurden jeweils 50 µL Diluent pipettiert. Jeweils 50 µL der Standards und der Proben wurden in die entsprechenden Wells gegeben.

Danach wurde 50 µL des Diluenten in die NSB Wells pipettiert. Mit Ausnahme der Messung der totalen Aktivität und des Leerwerts wurde ein blaues Konjugat in die Wells gegeben. Es wurde 50 µL des gelben Antikörpers außer zur Messung der totalen Aktivität, des Leerwerts und NSP in die Wells pipettiert.

Die Platte wurde 2 h bei Raumtemperatur auf dem Mikroplattenschüttler inkubiert. Danach wurden der Wells entleert und dreimal mit 400 µL Wasch-Puffer gewaschen. Nach dem dritten Waschschrift wurde der Wasch-Puffer entfernt und 5 µL des Konjugat in die Wells für totale Aktivität pipettiert. P-Nitrophenyl-Phosphat-Substrat (200 µL) wurde in alle Wells gegeben und 45 min bei Raumtemperatur inkubiert. Zuletzt wurden 50 µL Stopplösung zugegeben.

### Probenmessung:

Die Mikroplatten wurden bei 405 nm im Mikroplatten-Reader gemessen. Die Bestimmung erfolgte als Doppelbestimmung. Der Median der Variationskoeffizienten lag für den ELISA Intra-Assay bei 5,7 % und für den ELISA Inter-Assay bei 5,8 %.

### 3.5.7 DNA-Einzelstrangbrüche

#### **Geräte**

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Spezifizierung</u>
Adapter	Leica, Bensheim, D	MPV Adapter, HC 11621500 Ø 37
Bildanalysesystem	Perceptive Instruments, GB	Comet Assay III für Windows NT4/2000/XP Pro
Filtersystem	Leica, Bensheim, D	N2.1 L, Art-Nr. 11513812
Inkubationsbad	GFL, Burgwedel, D	MOT
Kamera	Leica, Bensheim, D	DC 100, Art-Nr. 10446273
Mikroskop	Leica, Bensheim, D	DMLB, Ident. Nr. 020-519.010-000
Netzgerät Gelelektrophorese	Faust, Meckenheim, D	Consort – Power Supply, E835
UV-Lampe	Leica, Bensheim, D	Quecksilber-Dampflampe HBO 103W/2, Art-Nr. 11513812

#### **Verbrauchsmaterial**

Deckgläschen	Paul Marienfeld, Lauda-Königshofen, D	24 x 60 mm, Art-Nr. 0101242
Objektträger	Engelbrecht, Edermünde, D	Geputzt, geschnitten, gebrauchsfertig, 76 x 26 mm
Objektträger	Erie Scientific, GB	Geschliffen 75 x 25 mm, Art. Nr. ES-370-LE24

**Reagenzien**

<u>Produkt</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Produktnummer</u>
Agarose	Serva, Heidelberg, D	11408
Borat	Merck, Hohenbrunn, D	1.00165.0500
Ethylendiamintetraessig-säure (EDTA)	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	EDS
N-Lauroylsaronisat	Merck, Hohenbrunn, D	8.14715.0100
NaCl	Merck, Darmstadt, D	31387447
Natriumlaurylsulfat (SDS)	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	L5750
Phosphate Buffered Saline (PBS)	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	P3813
Propidiumiodid	Sigma-Aldrich, Steinheim, D	287075-25MG
Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan	Carl Roth, Karlsruhe, D	4855.2
Wasserstoffperoxid (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), 30 %	AppliChem, Darmstadt, D	A1134,0250

**Lösungen****PBS, 10 mmol/L, pH 7,4**

9,55 g ( $\approx$  1 Päckchen) PBS-Pulver wurden mit *Aqua bidest.* auf 1 L aufgefüllt.

**Agarose, 0,1 % bzw. 0,75 % in PBS**

Zum Vorbeschichten der Objektträger wurden 0,01 g, zum Auftragen der Zellen 0,075 g Agarose in 10 mL PBS kurz aufgekocht. Danach wurde die Agaroselösung 20 min bei +80°C im Wasserbad inkubiert. Die 0,1 %-ige Agarose wurde anschließend auf +60°C, die 0,75 %-ige auf +42°C abgekühlt.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 300  $\mu$ mol/L**

51,6  $\mu$ L einer 30 %-igen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung wurden in 5 mL PBS geben und davon 769  $\mu$ L mit PBS auf 200 mL aufgefüllt.

**Lyselösung, pH 9,5**

25 g SDS, 10 g N-Lauroylsaronisat und 7,305 g EDTA wurden mit *Aqua bidest.* auf 1 L aufgefüllt und auf pH 9,5 mit 10 M NaOH eingestellt.

**Elektrophoresepuffer**

14,2 g Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan, 5,6 g Borat und 0,74 g EDTA wurden mit *Aqua bidest.* auf 1 L aufgefüllt (pH 8,3).

**Propidiumiodid, 25  $\mu$ mol/L**

Zur Herstellung der Propidiumiodid-Stammlösung wurden im Verhältnis 1 mg Propidiumiodid in 1 mL *Aqua bidest.* gelöst. Die Stammlösung wurde dunkel aufbewahrt.

3,08 g Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan und 1,468 g NaCl wurden in 200 mL *Aqua bidest.* gelöst. Von der Stammlösung wurden 4,175 mL zugegeben und mit 1 M HCl auf pH 7,5 eingestellt.

### **Prinzip**

Heparinisiertes Vollblut wird mit flüssiger Agarose vermischt und auf einen mit Agarose beschichteten Objektträger aufgetragen. Nach dem Gelieren der Agarose werden DNA-Einzelstrangbrüche in Leukozyten durch Inkubation der Objektträger in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induziert. Zur Ermittlung von bereits *in vivo* vorhandenen Strangbrüchen (endogene Strangbrüche) werden die Objektträger in PBS inkubiert. Nach Lyse der Zell- und der Kernmembran wird die DNA mit Strangbrüchen durch Elektrophorese aufgetrennt. Nach einer Trocknung werden die Objektträger bis zur Analyse bei -20°C eingefroren.

Nach Anfärben der DNA mit DNA-Farbstoff werden die Strangbrüche im Fluoreszenzmikroskop sichtbar.

### **Durchführung**

#### Vorbeschichten der Objektträger:

Die Objektträger wurden mit 500 µL einer 0,1 %-igen Agaroselösung beschichtet und 20 min auf einer Wärmeplatte getrocknet. Die Haltbarkeit der beschichteten Objektträger beträgt bei +4°C eine Woche.

#### Probenaufbereitung:

Im abgedunkelten Labor wurde 90 µL PBS und 10 µL heparinisiertes Vollblut in Reaktionsgefäße gegeben. Nach Mischung mit 500 µL flüssiger Agarose wurde die Lösung auf die Objektträger aufgetragen. Zum Gelieren wurden die Objektträger für 10 min bei +4°C dunkel gelagert. Im Anschluss folgte eine Inkubation bei +4°C für 20 min in 200 mL PBS oder H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Induzierung von DNA-Einzelstrangbrüchen). Nach Lyse der Zellen bei +15°C (15 min), erfolgte ein 5-minütiger Waschschrift bei +4°C in *Aqua bidest.*

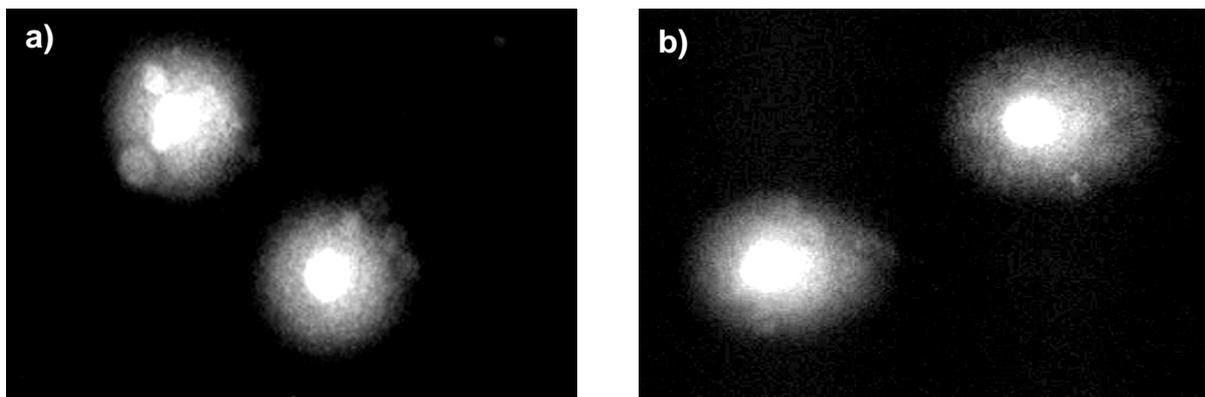
Nach dem Waschen wurden die Objektträger in eine Elektrophoresekammer gegeben und mit Elektrophoresepuffer (+4°C) bedeckt. Die Elektrophorese wurde 4 min bei 1,1 V/cm (39 V) durchgeführt. Es erfolgte ein zweiter Waschschrift (10 min) bei +4°C in *Aqua bidest.* Nach Trocknung der Gele auf der Wärmeplatte bei +50°C für ca. 30 min wurden die Objektträger bei -20°C bis zur Analyse gelagert. Die Haltbarkeit der aufbereiteten Proben beträgt bis zu 6 Monaten.

### Probenmessung:

Zur Messung der DNA-Einzelstrangbrüche wurden die Gele 15 min bei +4°C für 15 Minuten hydriert. Nach Zugabe von 100 µL Propidiumiodid wurden die Proben für 25 Minuten inkubiert. Im Fluoreszenzmikroskop wurden bei 400-facher Vergrößerung jeweils 50 Zellkerne mit Hilfe der Software Comet Assay III (Perceptive Instruments, Suffolk, GB) ausgewertet. Bestimmt wurde als Parameter für DNA-Einzelstrangbrüche das Tail Moment, der sich durch Multiplikation der Fluoreszenzintensität im Kometenschweif (prozentualer Anteil an DNA-Strangbrüchen im Schweif) mit der Schweiflänge berechnet.

Das TM der DNA Schäden *in vivo* wurde aus den PBS-behandelten Proben ermittelt. Die DNA Schäden *ex vivo* wurden als Differenz der H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induzierten und unstimuliertem PBS-behandelten DNA-Einzelstrangbrüche berechnet.

Bei allen Proben wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt. Der durchschnittliche Variationskoeffizient der Einzelmessungen betrug 22 %.



**Abbildung 4: Zellkerne von Leukozyten bei 400-facher Vergrößerung im Fluoreszenz-Mikroskop nach Anfärbung mit Propidiumiodid bei a) ungeschädigten Zellen und b) Zellen mit DNA-Einzelstrangbrüchen**

### **3.6 Bestimmung der Energie-, Nährstoff- und Polyphenolzufuhr am Vortag**

Die Energie-, Nährstoff-, Ballaststoff- und Polyphenolaufnahme am Vortag wurde anhand eines 24 h-Ernährungsprotokolls bestimmt. Die Aufnahme an Energie, Hauptnährstoffen, Ballaststoffen und den Vitaminen A, B<sub>2</sub>, C, E und  $\beta$ -Carotin wurde mit Hilfe der Software EBISpro für Windows, 2001, quantifiziert. Die Berechnung der Flavonoide basierte auf der „USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods – 2003“ [75].

### **3.7 Statistik**

Die statistische Analyse wurde mit SPSS 17.0 für Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) durchgeführt. Unterschiede der Gruppen wurden mit dem Kruskal-Wallis-Test und Mann-Whitney-U-Test untersucht und Veränderungen zwischen jeweils 2 Entnahmetermenen innerhalb einer Gruppe mit dem Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben überprüft. Die statistischen Berechnungen wurden mit nicht-parametrischen Tests durchgeführt, da bei den Flavan-3-olen keine Normalverteilung vorlag.

Bei den Flavan-3-olen wurden die Messwerte gemäß den sich durch die Probenaufbereitung ergebenden Verlusten korrigiert. Zur Berechnung von Vergleichen zwischen den Gruppen wurde bei Messwerten unter der Nachweisgrenze gemäß Hartung et al. die halbe Nachweisgrenze herangezogen [76].

Als Signifikanzniveau wurde  $\alpha=0,05$  zugrunde gelegt und die Ergebnisse wurden, soweit nicht anders vermerkt, als Median und 25%- sowie 75%-Perzentile angegeben.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Probanden

Es wurden 71 Probanden rekrutiert. Zwei Teilnehmer schieden aufgrund von Kreislaufproblemen bei der ersten Blutentnahme aus. Ein Proband erschien nicht zu Studienbeginn. Die Studie wurde von 68 Probanden beendet.

Die Probanden wurden zu je 23 bzw. 22 Teilnehmern auf die 3 Interventionsgruppen verteilt. Tabelle 7 zeigt die demographischen Merkmale der Probanden der 3 Gruppen. Das Verhältnis zwischen den Frauen und Männern in allen Gruppen betrug dabei ca. 2:1. Die Teilnehmer waren im Durchschnitt 24 Jahre alt und der durchschnittliche Body-Mass-Index (BMI) lag bei  $22,0 \pm 2,2$  kg/m<sup>2</sup>. Hinsichtlich Körpergröße, Körpergewicht, BMI und sportlicher Aktivität unterschieden sich die 3 Gruppen nicht voneinander.

**Tabelle 7: Demographische Daten und Ernährungsverhalten am Studienvortag**

	Weißer Tee (n=23)	Grüner Tee (n=22)	Mineralwasser (n=23)
Geschlecht [♂ / ♀]	8 / 15	6 / 16	7 / 16
Alter [Jahre]	25±5 (20 ; 39)	24±5 (20 ; 43)	24±4 (20 ; 32)
Körpergröße [m]	1,73±0,09 (1,62 ; 1,92)	1,73±0,08 (1,63 ; 1,94)	1,73±0,12 (1,55 ; 2,00)
Körpergewicht [kg]	67±13 (52 ; 103)	64±9 (52 ; 85)	67±11 (54 ; 90)
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	22,1±2,5 (19,4 ; 26,6)	21,4±2,1 (18,7 ; 26,4)	22,4±2,0 (19,3 ; 27,5)
Sportliche Aktivität [h/Wo]	3±3 (0 ; 10)	4±4,5 (0 ; 20)	4±4 (0 ; 16)

Angaben: MW±SD (Min ; Max); BMI = Body-Mass-Index; h/Wo = Stunden pro Woche

## 4.2 Ernährungsverhalten und Compliance

Die Compliance mit den diätetischen Restriktionen am Vortag der Studie wurde über ein 24 h-Ernährungsprotokoll überprüft. Mit Ausnahme eines Probanden gaben alle Studienteilnehmer ein Protokoll ab.

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied bezüglich Energie-, Makronährstoff-, Vitamin- und Ballaststoffaufnahme zwischen den Gruppen. In keiner Gruppe wurden Flavonoide aufgenommen. Die Zufuhr an Vitamin C betrug im Mittel  $11 \pm 16$  mg.

**Tabelle 8: Vitamin C- und Flavonoidzufuhr am Vortag**

	Weißer Tee (n=23)	Grüner Tee (n=21)	Mineralwasser (n=23)
Vitamin C [mg]	15±21 (0 ; 92)	9±13 (0 ; 46)	9±12 (0 ; 36)
Flavonoide [mg]	0±0	0±0	0±0

Angaben: MW±SD (Min ; Max)

## 4.3 Gesamtphenolgehalt

Der Gesamtphenolgehalt im Plasma der Probanden lag zur Baseline im Mittel bei 21,9 mg CAE/L. Es gab zu Studienbeginn sowie nach 2 h und 5 h keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Die Differenzen des Phenolgehalts im Plasma nach 2 h oder 5 h im Vergleich zur Baseline waren zwischen den Gruppen nicht verschieden. Tabelle 9 gibt einen Überblick über den Gesamtphenolgehalt im Plasma vor und nach Konsum der Testgetränke.

**Tabelle 9: Mittlere Werte Plasma-Gesamtphenolgehalt vor sowie 2 h und 5 h nach Bolusgabe von 600 mL Weißem Tee, Grünem Tee oder Mineralwasser**

	Gesamtphenolgehalt [mg CAE/L]		
	0 h	2 h	5 h
Weißer Tee (n=23)	23,5 (19,3 ; 24,3)	22,7 (19,3 ; 25,4)	22,7 (19,4 ; 25,7)
Grüner Tee (n=22)	22,3 (20,6 ; 24,2)	22,9 (20,2 ; 25,7)	22,4 (20,1 ; 24,2)
Mineralwasser (n=23)	21,0 (20,1 ; 24,4)	21,6 (20,6 ; 23,4)	21,6 (20,2 ; 24,1)

Angaben: Median (Perzentile 25 ; Perzentile 75); CAE = Catechin-Äquivalente

#### 4.4 Flavan-3-ole

Zu Studienbeginn lag die Konzentration der untersuchten Flavan-3-ole C, EC, EGCG und ECG im Mittel in allen Gruppen unter den Nachweisgrenzen. Die Konzentrationen an C, EC und EGCG war zwischen den Gruppen zur Baseline nicht verschieden. Die Gruppe Weißer Tee und die Kontrollgruppe unterschieden sich zur Baseline signifikant bezüglich der Konzentration an ECG ( $p=0,002$ ), waren aber beide nicht verschieden von der Gruppe Grüner Tee (siehe Tabelle 10 bis Tabelle 13).

##### Catechin:

In der Gruppe Weißer Tee war die Catechinkonzentration nach 2 h verschieden zur Baseline ( $p=0,05$ ), dennoch blieb der Median unverändert unterhalb der Nachweisgrenze (siehe Tabelle 10). In den anderen beiden anderen Gruppen veränderte sich die Catechinkonzentration nicht. Die Fläche unter der Kurve (AUC) war in allen 3 Gruppen bei 0 nmol/L über die gemessenen 8 h. Die weiteren Parameter zur Beschreibung der Plasmakinetik waren dadurch nicht auswertbar.

**Tabelle 10: Plasmakinetik von Catechin nach Bolusgabe von Weißem Tee, Grünem Tee und Mineralwasser**

	Catechin				
	AUC <sub>0-8h</sub> (nmol · h/L)	Ct <sub>0</sub> (nmol/L)	Cmax (nmol/L)	Tmax (h)	T <sub>1/2</sub> (h)
Weißer Tee (n=22)	0,0 (0,0 ; 32,9)	<2,0 (<2,0 ; <2,0)	<2,0 (<2,0 ; 21,7)	-	-
Grüner Tee (n=22)	0,0 <sup>a</sup> (0,0 ; 21,1)	<2,0 (<2,0 ; 5,4)	<2,0 (<2,0 ; 21,1)	-	-
Mineralwasser (n=18)	0,0 <sup>a</sup> (0,0 ; 0,0)	<2,0 (<2,0 ; <2,0)	<2,0 (<2,0 ; <2,0)	-	-

Angaben: Median (Perzentile 25 ; Perzentile 75)

AUC: Fläche unter der Kurve; Ct<sub>0</sub>: Konzentration zur Baseline, Cmax: maximale Konzentration,

Tmax: Zeit zum Erreichen der Cmax; T<sub>1/2</sub>: Halbwertszeit

Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen: a:  $p=0,009$

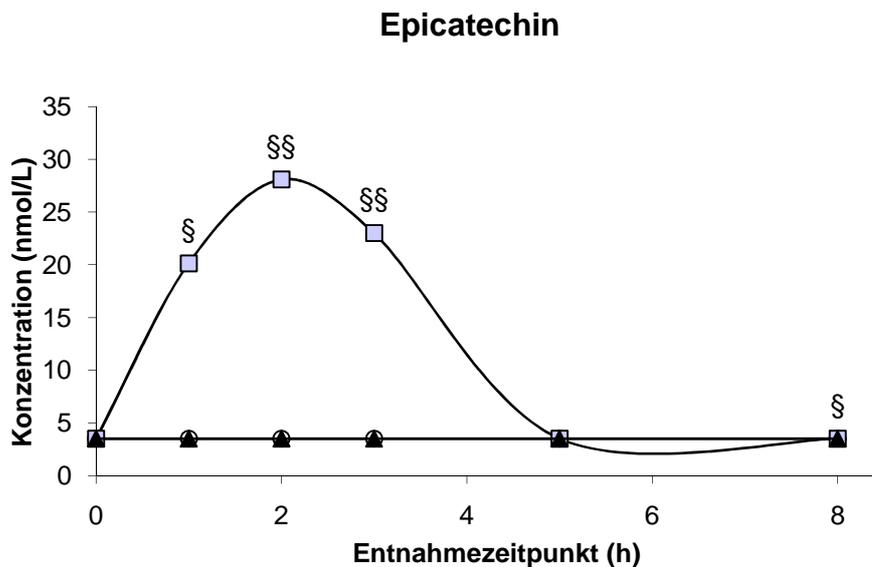
Epicatechin:

Nach Boluskonsum von Weißem Tee und Mineralwasser veränderte sich die EC-Konzentration nicht. In der Gruppe Grüner Tee war die Konzentration nach 1 h ( $p=0,011$ ), 2 h ( $p=0,002$ ), 3 h ( $p=0,004$ ) und nach 8 h ( $p=0,043$ ) erhöht im Vergleich zur Baseline (siehe Abbildung 5).

Die AUCs waren in den Gruppen unterschiedlich (WT vs. GT:  $p=0,003$ ; WT vs. W:  $p=0,005$ ; GT vs. W:  $p<0,001$ ; siehe Tabelle 11).

In der Gruppe Weißer Tee wurde die maximale Konzentration von 2,9 nmol/L nach 5 h erreicht. Die Halbwertszeit lag bei 6,7 h.

In der Gruppe Grüner Tee erreichte die Konzentration nach 2 h ihr Maximum von 28,1 nmol/L. Die Halbwertszeit lag bei ca. 3,7 h.



**Abbildung 5: Epicatechin-Plasmakonzentration vor sowie 1 h, 2 h, 3 h, 5 h und 8 h nach Bolusgabe von 600 mL Weißem Tee, Grünem Tee oder Mineralwasser**

Symbole zur Kennzeichnung der Kurvenverläufe der einzelnen Gruppen: ▲: Weißer Tee; ■: Grüner Tee; ○: Mineralwasser

Symbole kennzeichnen signifikante Unterschiede zur Baseline in der jeweiligen Gruppe: \*: Weißer Tee; §: Grüner Tee: \*/§:  $p\leq 0,05$ ; \*\*/§§:  $p\leq 0,01$ ; \*\*\*/§§§:  $p\leq 0,001$ .

**Tabelle 11: Plasmakinetik von Epicatechin nach Bolusgabe von Weißem Tee, Grünem Tee und Mineralwasser**

	Epicatechin				
	AUC <sub>0-8h</sub> (nmol · h/L)	C <sub>t0</sub> (nmol/L)	C <sub>max</sub> (nmol/L)	T <sub>max</sub> (h)	T <sub>1/2</sub> (h)
Weißer Tee (n=22)	0,0 <sup>a,b</sup> (0,0 ; 48,0)	<3,5 (<3,5 ; 11,0)	2,9 (<3,5 ; 21,4)	5,0	6,7
Grüner Tee (n=22)	104,6 <sup>a,c</sup> (0,7 ; 183,4)	<3,5 (<3,5 ; <3,5)	28,1 (<3,5 ; 42,4)	2,0	3,7
Mineralwasser (n=18)	0,0 <sup>b,c</sup> (0,0 ; 0,0)	<3,5 (<3,5 ; <3,5)	<3,5 (<3,5 ; <3,5)	-	-

Angaben: Median (Perzentile 25 ; Perzentile 75)

AUC: Fläche unter der Kurve; C<sub>t0</sub>: Konzentration zur Baseline; C<sub>max</sub>: maximale Konzentration;

T<sub>max</sub>: Zeit zum Erreichen der C<sub>max</sub>; T<sub>1/2</sub>: Halbwertszeit

Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen: a: p=0,003; b: p=0,005;

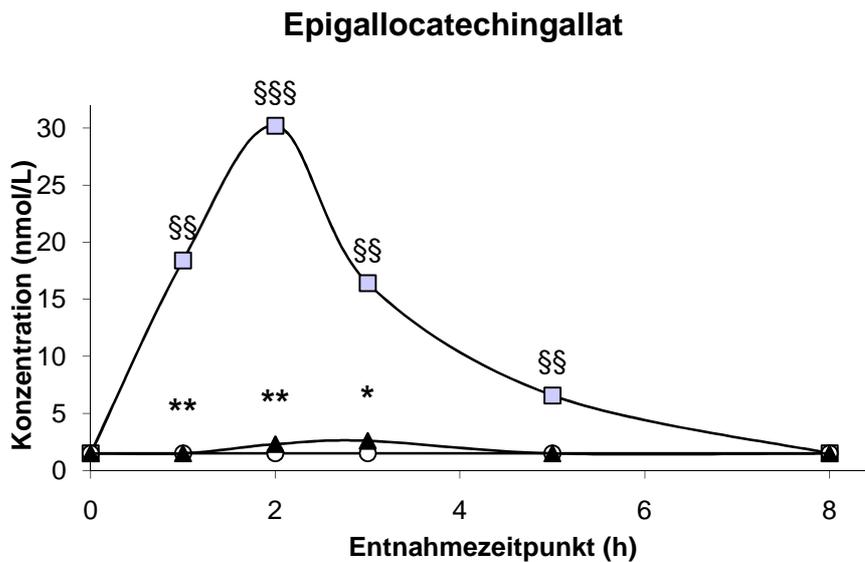
c: p<0,001

### Epigallocatechingallat:

Nach Konsum von Weißem Tee stieg die Konzentration von EGCG nach 1 h (p=0,008), 2 h (p=0,009) und nach 3 h (p=0,05) zur Baseline an. In der Gruppe Grüner Tee waren die Konzentrationen zu diesen Zeitpunkten (1 h: p=0,004; 2 h: p=0,001; 3 h: 0,002) wie auch nach 5 h (p=0,008) erhöht im Vergleich zur Anfangskonzentration (siehe Abbildung 6).

Die AUCs der beiden Teegruppen waren unterschiedlich von der AUC der Kontrollgruppe (WT vs. W: p=0,008, GT vs. W: p=0,002).

Nach 3 h wurde im Mittel in der Gruppe Weißer Tee das C<sub>max</sub> von 2,6 nmol/L erreicht und die Halbwertszeit von EGCG betrug ca. 3,9 h. In der Gruppe Grüner Tee betrug die C<sub>max</sub> 39,8 nmol/L nach 2 h, die Halbwertszeit der Konzentration ca. 2,7 h (siehe Tabelle 12).



**Abbildung 6: EGCG-Plasmakonzentration vor sowie 1 h, 2 h, 3 h, 5 h und 8 h nach Bolusgabe von 600 mL Weißem Tee, Grünem Tee oder Mineralwasser**

Symbole zur Kennzeichnung der Kurvenverläufe der einzelnen Gruppen: ▲: Weißer Tee; ■: Grüner Tee ○: Mineralwasser  
 Symbole kennzeichnen signifikante Unterschiede zur Baseline in der jeweiligen Gruppe:  
 \*: Weißer Tee; §: Grüner Tee: \*/§: p≤0,05; \*\*/§§: p≤0,01; \*\*\*/§§§: p≤0,001.

**Tabelle 12: Plasmakinetik von Epigallocatechingallat nach Bolusgabe von Weißem Tee, Grünem Tee und Mineralwasser**

	Epigallocatechingallat				
	AUC <sub>0-8h</sub> (nmol · h/L)	C <sub>t0</sub> (nmol/L)	C <sub>max</sub> (nmol/L)	T <sub>max</sub> (h)	T <sub>1/2</sub> (h)
Weißer Tee (n=22)	8,9 <sup>a</sup> (0,0 ; 168,2)	<1,5 (<1,5 ; <1,5)	2,6 (<1,5 ; 27,4)	3,0	3,9
Grüner Tee (n=22)	30,4 <sup>b</sup> (0,0 ; 223,5)	<1,5 (<1,5 ; 9,3)	30,2 (7,2 ; 55,9)	2,0	2,7
Mineralwasser (n=22)	0,0 <sup>a,b</sup> (0,0 ; 0,0)	<1,5 (<1,5 ; <1,5)	<1,5 (<1,5 ; <1,5)	-	-

Angaben: Median (Perzentile 25 ; Perzentile 75)

AUC: Fläche unter der Kurve; C<sub>t0</sub>: Konzentration zur Baseline; C<sub>max</sub>: maximale Konzentration;

T<sub>max</sub>: Zeit zum Erreichen der C<sub>max</sub>; T<sub>1/2</sub>: Halbwertszeit

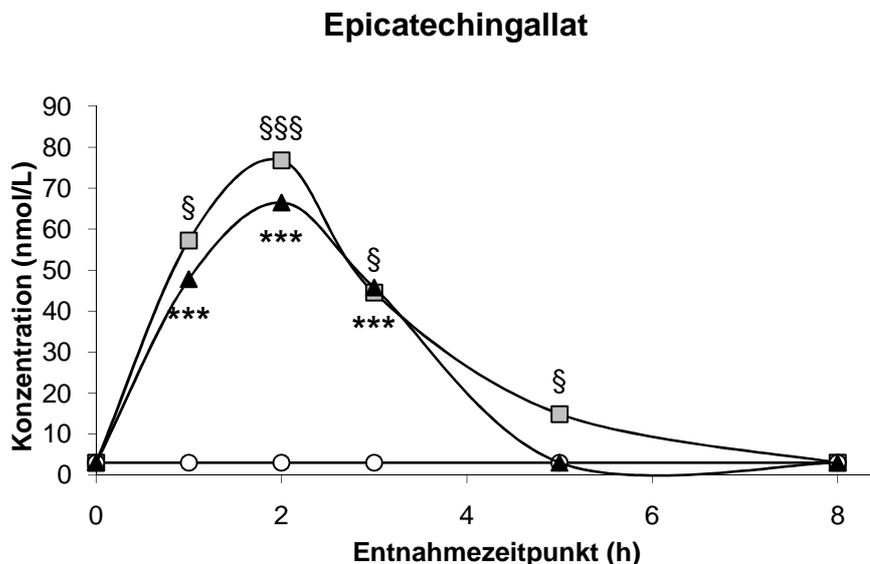
Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen: a: p=0,008; b: p=0,002

Epicatechingallat:

Die ECG-Konzentration war nach Bolusgabe von Weißem Tee nach 1 h, 2 h und 3 h (jeweils  $p < 0,001$ ) verschieden zum Ausgangswert. In der Grünteegruppe wurden Unterschiede zur Baseline nach 1 h ( $p = 0,013$ ), 2 h ( $p = 0,001$ ), 3 h ( $p = 0,011$ ) und nach 5 h ( $p = 0,050$ ) gemessen (siehe Abbildung 7).

Tabelle 13 gibt einen Überblick über die Veränderung der Plasmakinetik von Epicatechingallat nach Konsum der Testgetränke. Bei ECG waren die AUCs der beiden Teegruppen verschieden von der AUC der Kontrollgruppe (WT vs. W:  $p < 0,001$ , GT vs. W:  $p < 0,001$ ). In der Gruppe Weißer Tee wurde die maximale Konzentration von 66,5 nmol/L nach 2 h erreicht. Die Halbwertszeit lag bei 3,5 h.

In der Gruppe Grüner Tee erreichte die Konzentration nach 2 h ihr Maximum von 76,8 nmol/L. Die Halbwertszeit nach ca. 3,3 h erreicht.



**Abbildung 7: Epicatechingallat-Plasmakonzentration vor sowie 1 h, 2 h, 3 h, 5 h und 8 h nach Bolusgabe von 600 mL Weißem Tee, Grünem Tee oder Mineralwasser**

Symbole zur Kennzeichnung der Kurvenverläufe der einzelnen Gruppen: ▲: Weißer Tee  
■: Grüner Tee; ○: Mineralwasser

Symbole kennzeichnen signifikante Unterschiede zur Baseline in der jeweiligen Gruppe:  
\*: Weißer Tee; §: Grüner Tee: \*/§:  $p \leq 0,05$ ; \*\*/§§:  $p \leq 0,01$ ; \*\*\*/§§§:  $p \leq 0,001$ .

**Tabelle 13: Plasmakinetik von Epicatechingallat nach Bolusgabe von Weißem Tee, Grünem Tee und Mineralwasser**

	Epicatechingallat				
	AUC <sub>0-8h</sub> (nmol · h/L)	C <sub>t0</sub> (nmol/L)	C <sub>max</sub> (nmol/L)	T <sub>max</sub> (h)	T <sub>1/2</sub> (h)
Weißer Tee (n=22)	165,6 <sup>a</sup> (38,1 ; 298,1)	<3,0 (<3,0 ; 16,0)	66,5 (41,5 ; 102,3)	2,0	3,5
Grüner Tee (n=22)	156,7 <sup>b</sup> (0,0 ; 277,5)	<3,0 (<3,0 ; <3,0)	76,8 (53,3 ; 107,4)	2,0	3,3
Mineralwasser (n=22)	0,0 <sup>a,b</sup> (0,0 ; 0,0)	<3,0 (<3,0 ; <3,0)	<3,0 (<3,0 ; <3,0)	-	-

Angaben: Median (Perzentile 25 ; Perzentile 75)

AUC: Fläche unter der Kurve; C<sub>t0</sub>: Konzentration zur Baseline; C<sub>max</sub>: maximale Konzentration;

T<sub>max</sub>: Zeit zum Erreichen der C<sub>max</sub>; T<sub>1/2</sub>: Halbwertszeit

Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen: a: p<0,001; b: p<0,001

#### 4.5 Vitamin C

Der Vitamin C-Gehalt im Plasma lag zu Studienbeginn im Mittel bei 57,51 µmol/L (45,93 µmol/L; 68,19 µmol/L) und war zwischen den Gruppen nicht verschieden.

Zwei Stunden nach Konsum der Testgetränke nahm die Plasmakonzentration in den Gruppen Grüner Tee und Mineralwasser zu (GT: p=0,004; MW: p=0,004). Nach 5 h nahm in der Gruppe Grüner Tee die Konzentration ab und war nicht verschieden vom Baselinenniveau (p=0,014). Die Differenz der Vitamin C-Konzentration zu 2 h vs. 0 h war in der Gruppe Grüner Tee verschieden zu Gruppe Weißer Tee (p=0,038). Tabelle 14 zeigt den Plasmaspiegel von Vitamin C vor und nach Bolusgabe von 600 mL der Testgetränke.

**Tabelle 14: Plasma-Vitamin C–Spiegel vor sowie 2 h und 5 h nach Bolusgabe von 600 mL Weißem Tee, Grünem Tee oder Mineralwasser**

	Vitamin C [µmol/L]		
	0 h	2 h	5 h
Weißer Tee (n=21)	50,51 <sup>A</sup> (43,90 ; 65,22)	53,78 <sup>A</sup> (43,65 ; 68,45)	50,24 (43,61 ; 68,74)
Grüner Tee (n=21)	57,51 <sup>A,§</sup> (45,61 ; 68,22)	63,62 <sup>A,§,#</sup> (50,24 ; 75,06)	62,18 <sup>#</sup> (38,50 ; 75,89)
Mineralwasser (n=21)	59,84 <sup>+</sup> (50,86 ; 70,31)	67,28 <sup>+</sup> (47,26 ; 75,03)	61,90 (50,12 ; 71,08)

Angaben: Median (Perzentile 25 ; Perzentile 75)

Großbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede in der Differenz zwischen 2 h und Baseline zwischen den Gruppen: <sup>A</sup>: p=0,038;

Symbole kennzeichnen signifikante Unterschiede innerhalb einer Gruppe: <sup>§/+</sup>: p=0,004; <sup>#</sup>: p=0,014

#### 4.6 Harnsäure

Der Harnsäurespiegel in der Gruppe Weißer Tee lag zu Studienbeginn im Mittel bei 178,5 mmol/L, in der Gruppe Grüner Tee bei 163,6 mmol/L und in der Kontrollgruppe bei 220,1 mmol/L. Die Harnsäure-Plasmaspiegel in den Gruppen Weißer Tee (WT vs. MW:  $p=0,031$ ) und Grüner Tee (GT vs. MW:  $p=0,039$ ) waren zur Baseline niedriger als in der Kontrollgruppe.

Die Gruppe Weißer Tee zeigte nach 5 h gegenüber 2 h einen Anstieg des Harnsäurespiegels ( $p=0,023$ ). Bei der Gruppe Grüner Tee war der Harnsäurespiegel nach 5 h höher im Vergleich zur Baseline ( $p=0,004$ ) und nach 2 h ( $p=0,003$ ). In der Kontrollgruppe blieb der Harnsäurespiegel unverändert. Die Differenz zwischen 5 h und Baseline sind in der Gruppe Grüner Tee verschieden von denen der Gruppen Weißer Tee ( $p=0,019$ ) und Wasser ( $p=0,039$ ). In Tabelle 15 sind die Harnsäurespiegel vor und nach Bolusgabe von 600 mL Weißem Tee, Grünem Tee oder Mineralwasser zusammengefasst.

**Tabelle 15: Plasma-Harnsäurespiegel in den Interventionsgruppen vor und 2 h bzw. 5 h nach Konsum einer Bolusgabe 600 mL Weißem Tee, Grünem Tee oder Mineralwasser**

	Harnsäure [mmol/L]		
	0 h	2 h	5 h
Weißer Tee (n=23)	178,5 <sup>a</sup> (148,7; 202,3)	178,5 <sup>*</sup> (148,7 ; 202,3)	178,5 <sup>*</sup> (160,6; 208,2)
Grüner Tee (n=22)	163,6 <sup>b,§</sup> (138,3 ;230,5)	166,6 <sup>#</sup> (130,9 ;232,0)	181,4 <sup>§,#</sup> (139,8 ;235,0)
Mineralwasser (n=23)	220,1 <sup>a,b</sup> (196,3 ;249,9)	214,2 (178,5 ;249,9)	208,2 (190,4 ;249,9)

Angaben: Median (Perzentile 25 ; Perzentile 75)

Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen: <sup>a</sup>:  $p=0,031$ ; <sup>b</sup>:  $p=0,039$ ;

Symbole kennzeichnen signifikante Unterschiede innerhalb einer Gruppe: <sup>\*</sup>:  $p=0,023$ ; <sup>§</sup>:  $p=0,004$ ;

<sup>#</sup>:  $p=0,003$

#### 4.7 Antioxidative Kapazität

Die antioxidative Kapazität im Plasma, gemessen als TEAC, betrug vor Konsum der Testgetränke durchschnittlich 1,68 mmol/L Trolox-Äquivalente (TAE) und war zur Baseline zwischen den Gruppen nicht verschieden voneinander. In den Teegruppen traten keine Veränderungen auf. Fünf Stunden nach Konsum von Mineralwasser nahm die antioxidative Kapazität im Vergleich zur Baseline ( $p=0,003$ ) und zum 2 h-Wert ab ( $p<0,001$ ).

Die Differenzen der antioxidativen Kapazität 5 h und 0 h wie 5 h und 2 h waren zwischen der Kontrollgruppe und den beiden Teegruppen unterschiedlich (WT vs. W: 5 h-0 h:  $p=0,010$ , 5 h-2 h:  $p=0,010$ ; GT vs. W: 5 h-0 h:  $p=0,013$ , 5 h-2 h:  $p<0,001$ ). Einen Überblick über den TEAC im Mittel vor und nach Konsum von je 600 mL der beiden Tees und Mineralwasser gibt Abbildung 8.

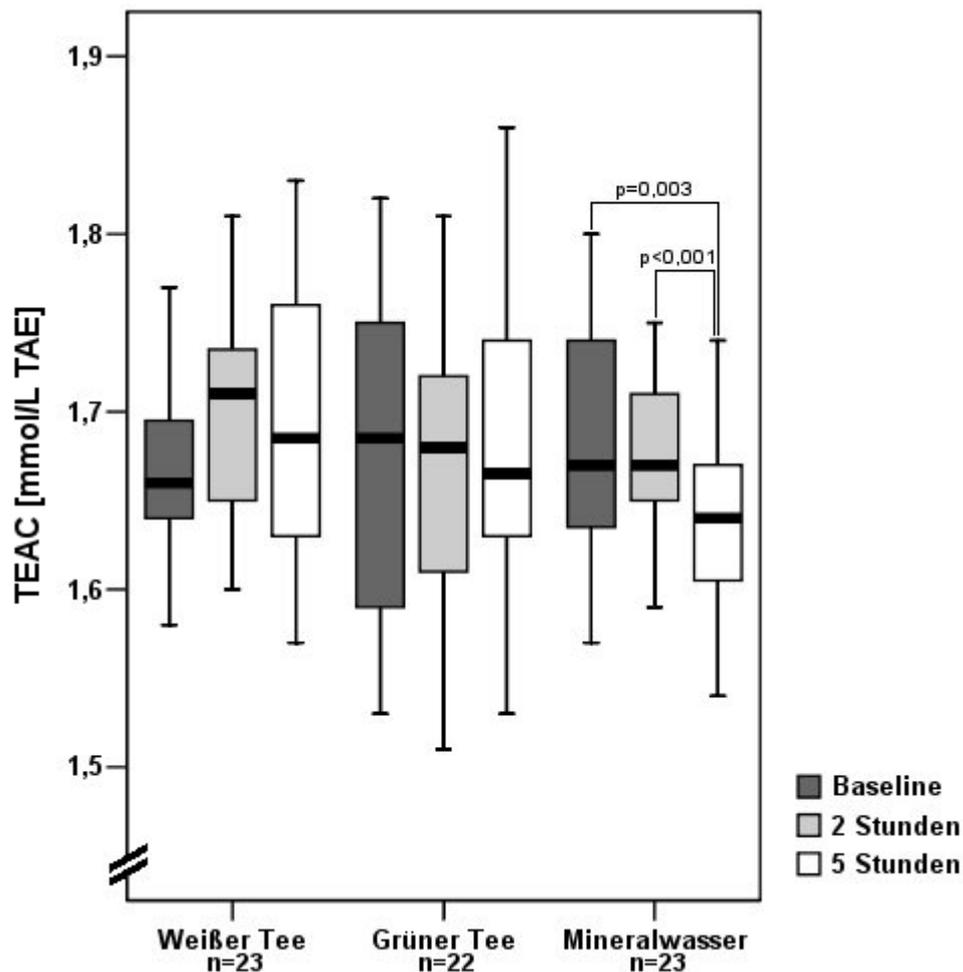


Abbildung 8: Antioxidative Kapazität [in mmol/L TAE] vor sowie 2 h und 5 h nach Bolusgabe von 600 mL Weißem Tee, Grünem Tee oder Mineralwasser

#### 4.8 F<sub>2</sub>-Isoprostane

Die Konzentration der F<sub>2</sub>-Isoprostane (8-iso-PGF<sub>2α</sub>) im Plasma war zur Baseline zwischen den Gruppen nicht verschieden. In beiden Teegruppen veränderte sich der F<sub>2</sub>-Isoprostanspiegel nicht, während in der Kontrollgruppe die Konzentration der F<sub>2</sub>-Isoprostane nach 5 h gegenüber 2 h (p=0,031) zunahm. Die Differenz 2 h vs. 5 h war in der Kontrollgruppe nicht unterschiedlich zu denen der Teegruppen. Abbildung 9 zeigt die Konzentration der F<sub>2</sub>-Isoprostane im Plasma vor, 2 h und 5 h nach Konsum von Weißem Tee, Grünem Tee und Mineralwasser.

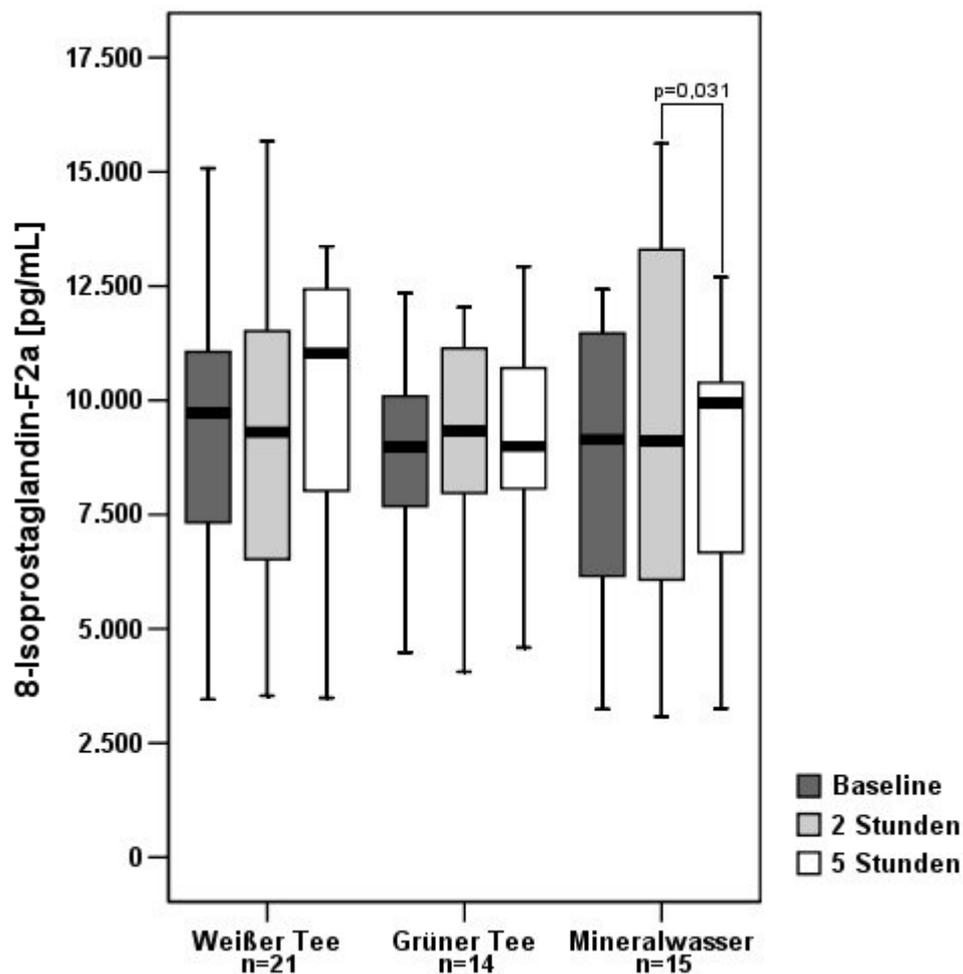


Abbildung 9: F<sub>2</sub>-Isoprostan-Konzentration vor sowie 2 h und 5 h nach Bolusgabe von 600 mL Weißem Tee, Grünem Tee oder Mineralwasser

#### 4.9 DNA-Einzelstrangbrüche

Vor Konsum wurde kein Unterschied an endogenen und exogenen DNA-Einzelstrangbrüchen gemessen als Tail Moment zwischen den Gruppen festgestellt. Die endogenen DNA-Strangbrüche nahmen in allen Gruppen 2 h nach Konsum gegenüber der Baseline zu (WT:  $p=0,012$ ; GT:  $p=0,001$ ; W:  $p=0,002$ ) und fielen anschließend in den Teegruppen auf das Ausgangsniveau ab (WT:  $p=0,030$ ; GT:  $p=0,007$ ; W:  $p=0,001$ ). In der Kontrollgruppe lagen 5 h nach Konsum von Mineralwasser weniger endogene DNA-Strangbrüche vor als zur Baseline ( $p=0,015$ ). Die Differenzen zwischen den jeweiligen Messzeitpunkten waren in den Gruppen nicht verschieden voneinander.

Die exogenen DNA-Strangbrüche waren zur Baseline in den Gruppen nicht verschieden und veränderten sich nicht durch Boluskonsum der Testgetränke. In Abbildung 10 sind die endogenen und in Abbildung 11 die exogenen DNA-Strangbrüche der peripheren Leukozyten vor sowie 2 h und 5 h nach Bolusgabe von 600 mL Weißem Tee, Grünem Tee oder Mineralwasser dargestellt.

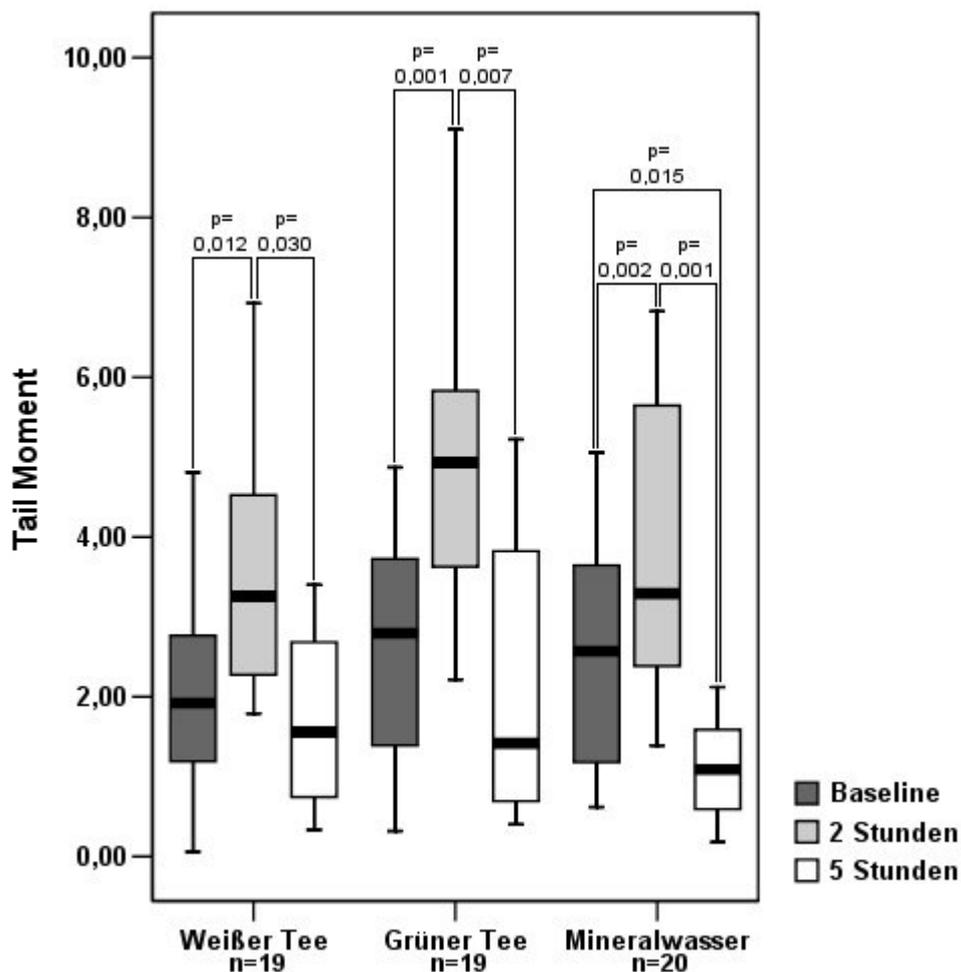


Abbildung 10: DNA-Schäden *in vivo* (Tail-Moment) vor sowie 2 h und 5 h nach Bolusgabe von 600 mL Weißem Tee, Grünem Tee oder Mineralwasser

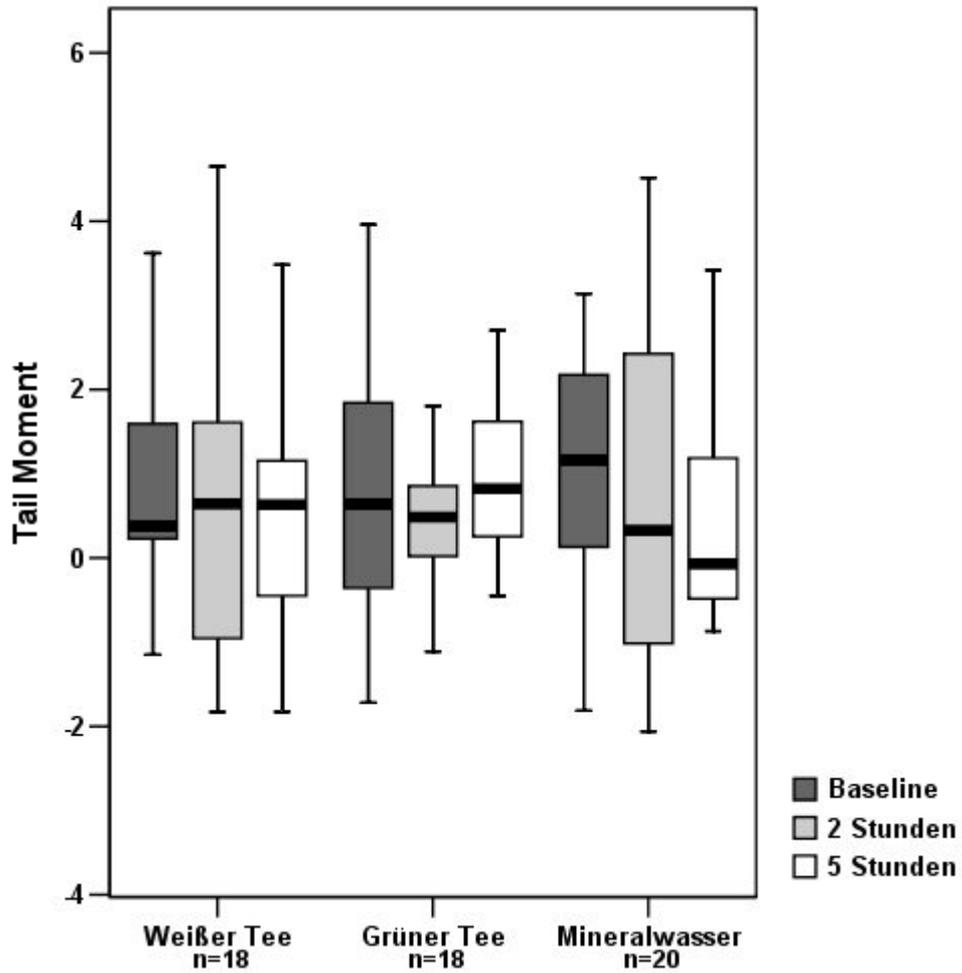


Abbildung 11: DNA-Schäden *ex vivo* (Tail-Moment) vor sowie 2 h und 5 h nach Bolusgabe von 600 mL Weißem Tee, Grünem Tee oder Mineralwasser

## 5 Diskussion

Die vorliegende Studie wurde durchgeführt, um den Effekt einer Bolusgabe von Weißem und Grünem Tee im Vergleich zu Mineralwasser (flavan-3-olfreies Kontrollgetränk), auf die Plasmakinetik einzelner Flavan-3-ole zu untersuchen. Zusätzlich wurde untersucht, ob die Bolusgabe unfermentierter Tees im Vergleich zum Kontrollgetränk die antioxidative Kapazität im Plasma sowie Biomarker für oxidativen Stress beeinflusst.

Hierzu wurden im Rahmen einer offenen, randomisierten, kontrollierten, dreiarmligen Interventionsstudie 71 gesunde Nichtraucher rekrutiert. Vor der Randomisierung wurden die Probanden bezüglich Geschlecht stratifiziert, um geschlechtsspezifische Unterschiede zwischen den Gruppen auszuschließen. Eine Verblindung war aufgrund des Konsums verschiedener, den Probanden bekannter Getränke nicht praktikabel.

Die 3 Gruppen unterschieden sich zu Studienbeginn weder bezüglich Alter, BMI oder sportlicher Aktivität noch in ihrem Ernährungsverhalten am Vortag und waren somit untereinander gut vergleichbar. Anhand der Auswertung der 24 h-Ernährungsprotokolle wurden am Tag vor der Bolusgabe keine Flavonoide und nur 14 % der empfohlenen Zufuhr (DACH-Referenzwert) an Vitamin C aufgenommen (siehe Tabelle 8). Am Studientag wurde den Probanden ebenfalls eine polyphenolarme und flavan-3-olfreie Kost gereicht. Ein direkter Einfluss von aufgenommenen Polyphenolen aus der Kost am Vortag oder Studientag auf die Ergebnisse der Intervention und/oder von antioxidativ wirksamen Vitaminen auf Biomarker für oxidativen Stress kann somit ausgeschlossen werden. Des Weiteren spricht der Verzicht auf polyphenolhaltige Kost gemäß der Ernährungsrestriktion für eine gute Compliance der Studienteilnehmer.

Für die Plasmakinetik wurden die Flavan-3-ole Catechin, EC, EGCG und ECG in Plasma mittels EC-HPLC-Analytik nach vorheriger Aufbereitung der Proben quantitativ bestimmt. Bezüglich Linearität, Reproduzierbarkeit und Nachweisgrenzen ist die verwendete Methode vergleichbar zu bereits beschriebenen Verfahren [34, 51, 77-79]. Die Daten von Epigallocatechin im Plasma konnten nicht ausgewertet werden, da es aufgrund der eingesetzten Enzymlösung, trotz Aufbereitung, zu Überlagerungen des Epigallocatechin-Peaks kam. Auch mit der vorliegenden Methode können keine methylierten Metabolite bestimmt werden, was eine methodisch bedingte Limitierung bei der Bestimmung aller Flavan-3-ole darstellt.

Zusätzlich zu den Flavan-3-olen wurden die Plasmaspiegel der auch antioxidativ wirkenden Harnsäure und des Vitamin C bestimmt. Das photometrische Verfahren zur Harnsäurebestimmung basiert auf der Uricase-PAP-Methode. Laut Herstellerangaben korrelieren die Ergebnisse des in der vorliegenden Studie verwendeten Testkits stark ( $r = 0,997$ ) mit anderen auf dieser Methode basierenden Testverfahren, was eine gute

Vergleichbarkeit der Studienergebnisse der vorliegenden Arbeit mit denen anderer Studien ermöglicht. Der Vitamin C-Gehalt wurde nach der Methode nach Steffan [73] bestimmt, die eine zuverlässige und schnelle Bestimmung ohne aufwendige Plasma-Aufbereitung möglich macht. Die Variationskoeffizienten beider Verfahren waren niedrig ( $VKs \leq 2,0 \%$ ), was für eine gute Reproduzierbarkeit der Studiendaten spricht.

Die antioxidative Kapazität ist ein Maß für den gesamten körpereigenen Schutz vor Radikalen und die synergistische Wirkung aller Antioxidantien im Plasma. Der Gesamtphenolgehalt wurde mittels Folin–Ciocalteu–Methode [70] mit Modifikationen (Proteinfällung, Entfettung) [71, 72] bestimmt. Die Folin–Ciocalteu–Methode erfasst alle reduzierenden OH-Gruppen und gilt als eines der Standardverfahren zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität in Lebensmitteln sowie zur Untersuchung der Wirkung von phenolischen Antioxidantien [80-82]. Dieser Elektronentransfertest ist laut Huang et al. zur Messung der antioxidativen Kapazität geeignet, einfach in der Durchführung und liefert reproduzierbare Ergebnisse [81]. Neben der Messung des Gesamtphenolgehalts mittels Folin–Ciocalteu–Methode wurde in der vorliegenden Arbeit die antioxidative Kapazität im Plasma mit TEAC bestimmt. Dieser weitere Elektronentransfertest wurde bereits in Studien [49, 63] mit Boluskonsum von Grünem Tee zur Bestimmung von Effekten auf die antioxidative Kapazität eingesetzt.

Zur Beurteilung von oxidativem Stress ist die Kombination verschiedener Biomarker eine Voraussetzung um fundierte Aussagen treffen zu können. Als Biomarker für oxidativen Stress wurden in der vorliegenden Studie die Lipidperoxidation als Messung der  $F_2$ -Isoprostane (8-iso-PGF<sub>2α</sub>) im Plasma und DNA-Einzelstrangbrüche in Leukozyten mittels Comet Assay bestimmt. Beide Verfahren gelten derzeit als die Verfahren, die die verlässlichsten Messdaten liefern [83]. So gilt die Messung der  $F_2$ -Isoprostane als derzeitiger Goldstandard zur Bestimmung der Lipidperoxidation. Die in der vorliegenden Studie verwendete ELISA-Methode korreliert stark ( $r=0,99$ ) mit den Ergebnissen gaschromatographisch-massenspektrometrischer Methoden [84], welche als derzeit sensitivstes Verfahren zur Bestimmung der  $F_2$ -Isoprostane gelten [85, 86]. Der Comet Assay gilt als sensitive Methode um DNA-Einzelstrangbrüche *in vivo* im Plasma und nach Induktion durch ROS (*ex vivo*) zu erfassen und zu quantifizieren [83, 87]. Der Variationskoeffizient der Doppel-Bestimmungen mit dem Comet Assay lag in dieser Studie mit 22 % in einer ähnlichen Größenordnung wie bei Roggenbuck (24 %) [88] und damit ca. halb so hoch wie bei Collins & Dusinska [89], die im Gegensatz zur vorliegenden Studie und zur Studie von Roggenbuck ausschließlich Lymphozyten untersuchten. Verschiedene Zellen wie Granulozyten und mononukleare Zellen reagieren unterschiedlich sensitiv auf die Induzierung von DNA-Strangbrüchen [90], was diese Unterschiede erklären kann.

Die in der Studie eingesetzten unfermentierten Tees unterschieden sich in den Konzentrationen einzelner Flavan-3-ole, wobei der Grüne Tee mit Ausnahme von Catechin eine bis zu 7,4-fach höhere Flavan-3-ol-Konzentrationen enthielt als der Weiße Tee (siehe Tabelle 6). Andere Arbeitsgruppen konnten ebenfalls eine höhere Flavan-3-ol-Konzentration im Grünen Tee im Vergleich zum Weißen Tee messen [19, 91, 92], während in einigen Studien auch der Weiße Tee im Vergleich zu Grünem Tee höhere Konzentrationen an Flavan-3-olen aufwies [5, 26, 93]. In der vorliegenden Studie unterschieden sich die unfermentierten Tees in ihrer antioxidativen Kapazität als TEAC nicht nennenswert voneinander (siehe Tabelle 6). Neben den Flavan-3-olen und dem Vitamin C müssen somit weitere Antioxidantien zum TEAC des Weißen Tees beigetragen haben. Bei Koutelidakis et al. konnte ebenfalls kein Unterschied in der antioxidativen Kapazität von Weißem und Grünem Tee (jeweils 8 g/100 mL; Ziehzeit 5 min) mittels TAC gemessen werden [46]. Hingegen konnten Kwon et al. eine in Abhängigkeit vom Testverfahren bis zu 5-fach höhere antioxidative Kapazität im eingesetzten Grünen Tee im Vergleich zu Weißem Tee (jeweils 10 g/100 mL; Ziehzeit 1 h) messen [94]. Hingegen war die antioxidative Kapazität des Weißen Tees bei Thring et al. doppelt so groß, wie die des Grünen Tees (jeweils 500 mg/10 mL; Ziehzeit 15 min) [93]. Wie in Kapitel 1.1 beschrieben wirken sich verschiedene Einflussfaktoren auf den Gehalt von Polyphenolen im Tee aus. Konträre Ergebnisse verschiedener Arbeitsgruppen bezüglich Flavan-3-ol-Konzentration und -Muster sowie antioxidativer Kapazität der unfermentierten Tees verdeutlichen, dass die in Studien eingesetzten Tees genau charakterisiert werden müssen um vergleichbare Daten zu gewinnen.

Eine gute Compliance der Probanden zeigte sich auch anhand der Baseline-Konzentrationen der in der vorliegenden Studie bestimmten Flavan-3-ole, da diese im Mittel unterhalb der jeweiligen Nachweisgrenze lagen. Es kann daher angenommen werden, dass der Unterschied in der ECG-Konzentration zur Baseline zwischen den Gruppen Weißer Tee und Kontrolle war statistisch verschieden, aber nicht von klinischer Bedeutung war. Ebenfalls war die Baseline-Konzentration von ECG bei beiden Gruppen nicht verschieden zur anfänglichen Konzentration in der Gruppe Grüner Tee.

Der in der vorliegenden Studie verwendete Grüne Tee enthielt im Vergleich zum Weißen Tee höhere Konzentrationen der gemessenen Flavan-3-ole (siehe Tabelle 6). Catechin wies in beiden Tees die niedrigste Konzentration aller Flavan-3-ole auf. Die aufgenommene Catechin-Dosis mit den unfermentierten Tees war wahrscheinlich zu gering, um die Plasmakonzentration durch Boluskonsum signifikant zu beeinflussen (siehe Tabelle 10). Trotz eines statistischen Unterschieds nach 2 h versus Baseline blieb die Catechinkonzentration im Mittel in der Gruppe Weißer Tee über die Zeit unterhalb der

Nachweisgrenze. In der vorliegenden Studie wurde erstmals, die Plasmakinetik von Catechin aus unfermentierten Tees oder ihren Produkten nach Boluskonsum untersucht.

Die EC-Konzentration stieg wohl aufgrund der 3-fach höheren Dosis im Grünen Tee (siehe Tabelle 6) nur in dieser Gruppe im Plasma nachweisbar an (siehe Tabelle 11). Mit Ausnahme des 5 h-Werts waren die Konzentrationen zu den Untersuchungszeitpunkten unterschiedlich zur Baseline, wobei sie bis zum Messzeitpunkt nach 2 h anstieg und danach aufgrund von Abbau- und Metabolisierungsprozessen abnahm. Der erneute Anstieg nach 8 h war zwar statistisch signifikant, aber voraussichtlich nicht klinisch relevant, da die Konzentration im Mittel unter der Nachweisgrenze lag. Ein Einfluss durch die gereichte Kost am Studientag kann ausgeschlossen werden, da diese polyphenolarm war. Die AUC von EC im Plasma war nach Boluskonsum von Grünem Tee in der vorliegenden Studie ebenfalls größer als die AUCs der anderen Gruppen. Die  $C_{max}$  in der Gruppe Grüner Tee wurde nach 2 h erreicht und die  $T_{1/2}$  nach 3,7 h. Auch in der Studie von Henning et al. (siehe Tabelle 1) stieg die EC-Konzentration im Plasma nach Bolusgabe von Grünem Tee bei gesunden Probanden an ( $C_{t_0\_Henning}$ :  $\sim 0,001 \mu\text{mol/L}$ ;  $C_{max\_Henning}$ :  $0,330 \mu\text{mol/L}$ ) [49]. Die  $C_{max}$  der vorliegenden Arbeit wurde mit einer  $T_{max}$  von 2 h ca. 1 Stunde später erreicht als in den Studien von Henning et al. ( $T_{max\_Henning}=1,2 \text{ h}$ ) und Kotani et al. ( $T_{max\_Kotani}=1,0 \text{ h}$ ). In einer Studie mit Grünteeextrakt wurde gezeigt, dass durch Verdopplung oder Verdreifachung der EC-Dosis die  $T_{max}$  ca. 24 min später erreicht wurde [95]. In der vorliegenden Studie wurde hingegen trotz 3-fach höherer EC-Konzentration im Grünen Tee im Vergleich zum Weißen Tee (siehe Tabelle 6), die  $T_{max}$  in der Gruppe Grüner Tee 3 h früher erreicht. Auch im Vergleich der Grünteegruppe bei Henning et al., die eine 3-fach höhere EC-Dosis aufnahmen, mit der entsprechenden Gruppe der vorliegenden Studie wurde die  $T_{max\_Henning}$  mehr als 45 min früher erreicht.

Im Vergleich von 2 Studien der Arbeitsgruppe Lee et al. kann geschlossen werden, dass bei zeitgleichem Konsum eines Grünteeextrakts zusammen mit einem Standard-Frühstück die  $T_{max}$  von EC ca. 30 min früher erreicht wird als bei alleinigem Konsum [34, 38]. Dies könnte zwar den Unterschied zu den Ergebnissen der vorliegenden Studie in der Gruppe Grüner Tee zu denen von Henning et al. [49], aber weder die unterschiedlichen  $T_{max}$  der Teegruppen in der vorliegenden Studie noch die Unterschiede zu Kotani et al. [52] erklären. Unter Berücksichtigung inter-individueller Unterschiede der Probanden bezüglich der Bioverfügbarkeit von Flavan-3-olen [34, 36, 38, 51-56, 96, 97], ist eine Studie mit 2 Probanden im Hinblick auf Parameter der Plasmakinetik nicht aussagekräftig genug um große Schwankungen der Ergebnisse einzelner Probanden zu minimieren. Darüber hinaus wurden die Flavan-3-ole bei beiden Probanden zu teils unterschiedlichen Messzeitpunkten detektiert (siehe Tabelle 1) [52]. In beiden Studien wurden Ernährungsrestriktionen in Hinblick auf Teegetränke durchgeführt. EC ist allerdings nicht allein in Tees sondern auch in

anderen Lebensmitteln wie Kakao/Schokolade, Äpfeln sowie Wein enthalten [23, 40, 54, 79, 98-102]. Somit könnten bei Henning et al. sowie bei Kotani et al., im Gegensatz zur vorliegenden Studie, Effekte durch die Kost des Vortags nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Da die Plasmaspiegel der Probanden zumindest bei Henning et al. zur Baseline unterhalb der Nachweisgrenze lagen, kann man eine Beeinflussung der EC Plasmaspiegel durch die Kost am Vortag ausschließen. Im Hinblick auf die unterschiedlichen Ergebnisse in den Teegruppen der vorliegenden Studie kann angenommen werden, dass sich auch die unterschiedlichen Flavan-3-ol-Muster der unfermentierten Tees auf die Absorption von EC ausgewirkt haben könnte. So wurde beispielsweise in einer Studie mit Ratten gezeigt, dass C und EC bei gleichzeitiger oraler Aufnahme um die Absorption im Gastrointestinaltrakt konkurrieren [103].

Die  $T_{1/2}$  von EC wurde nach Bolusgabe unfermentierter Tees bisher nicht untersucht. In der vorliegenden Studie wurde nach Konsum von Weißem Tee mit dreifach niedrigerer EC-Konzentration, die  $T_{1/2}$  3 h später erreicht als nach Konsum von Grünem Tee. Auffällig ist, dass zwischen  $T_{max}$  und  $T_{1/2}$  in beiden Gruppen jeweils 1,7 h liegen, was für eine ähnliche Eliminationsrate aus dem Plasma spricht. Inwiefern die Absorption von EC in der Gruppe Weißer Tee vielleicht verzögert wurde, ist unklar. Die späte  $T_{max}$  von EC in der Gruppe Weißer Tee könnte ebenfalls auf einen Abbau von ECG zu EC im Plasma zurückgeführt werden, denn in einer Cross-over Studie konnte im Plasma von 10 gesunden Nichtrauchern nach Boluskonsum von reinem ECG (1,5 mmol/150 mL) ebenfalls EC nachgewiesen werden [33].

Im Gegensatz zu EC stieg die EGCG-Konzentration nach Bolusgabe von Weißem sowie Grünem Tee an (siehe Abbildung 6). Die AUCs beider Teegruppen waren verschieden zur Kontrollgruppe, aber nicht voneinander. Die  $T_{max}$  wurde nach Konsum von Weißem Tee eine Stunde später erreicht als nach Konsum von Grünem Tee. Entsprechend unterschiedlich waren die  $T_{1/2}$  im Plasma: Bei der Gruppe Weißer Tee lag die  $T_{1/2}$  bei 3,9 h und in der Gruppe Grüner Tee bei 2,7 h (siehe Tabelle 12). Ähnlich zu den Ergebnissen bei EC zeigen sich auch bei EGCG vergleichbare Eliminationsraten aus dem Plasma nach Konsum unfermentierter Tees. Vergleicht man das Verhältnis von EGCG in den Teegetränken (WT:GT  $\triangleq$  1,0:4,4) mit dem Verhältnis der AUCs (WT:GT  $\triangleq$  1,0:3,5) zeigt sich, dass die Absorptionsrate von EGCG aus Weißem Tee unter Annahme eines identischen Turn-overs höher zu sein scheint als aus Grünem Tee.

In einer Studie mit Grünteeextrakt konnte gezeigt werden, dass bei einer Erhöhung der gegebenen EGCG-Dosis, die  $T_{max}$  bis zu 2 h später, hingegen die  $T_{1/2}$  ca. 45 min früher erreicht wird [36]. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie sind bezüglich  $T_{max}$  verschieden von den Studien mit Grünteeextrakt, da trotz höherer EGCG-Aufnahme mit Grünem Tee als mit Weißem Tee die  $T_{max}$  1 h früher erreicht wurde. Hingegen wurde die  $T_{1/2}$  nach

Grünteekonsum in der vorliegenden Studie analog zu den Studien mit Grünteextrakt ca. 72 min vor der  $T_{max}$  nach Konsum von Weißem Tee erreicht. Ein Einfluss auf die Plasmakinetik durch das Flavan-3-ol-Muster konnte durch Konsum einer äquivalenten EGCG Konzentration als Einzelsubstanz oder zusammen mit weiteren Flavan-3-olen gezeigt werden [36, 53]. In Abhängigkeit der gegebenen Dosis wurde bei Chow et al. ( $n=20$ ) die  $C_{max}$  bei Bolusgabe von EGCG in freier Form im Vergleich zur Aufnahme mit Grünteextrakt 8 bis 60 min früher erreicht. Die  $T_{1/2}$  von EGCG wurde hingegen bei Dosierung unter 400 mg bis zu 38 min früher mit der freien Form im Vergleich zum Grünteextrakt erreicht [36]. Somit könnten auch in der vorliegenden Studie weitere Inhaltsstoffe oder das Flavan-3-ol-Muster die Absorptionsrate wie auch die Plasmakinetik von EGCG beeinflusst haben.

In der Gruppe Grüner Tee wurde bei Henning et al. die  $C_{max}$  nach Boluskonsum bereits nach 1,3 h erreicht [49]. Wie Tabelle 2 zeigt, waren die AUCs sowie die  $C_{max}$  bei Henning et al. ca. 3-fach höher als in der vorliegenden Studie nach Grünteekonsum ( $GT_{Henning}$ :  $C_{max}$   $80\pm 10$  nmol/L;  $AUC_{0-8h}$   $270\pm 20$  nmol h/L). Unter Berücksichtigung der mehr als doppelten Dosis an EGCG bei Henning et al. sind die genannten Unterschiede im Vergleich der Grünteegruppen beider Studien erklärbar.

Tabelle 2 zeigt, dass die  $T_{max}$  bei alleinigem Teekonsum früher erreicht wird ( $T_{max_{Kotani}}$ : 0,5 h;  $T_{max_{Maijani}}$ : 1,0 h) als bei Konsum zusammen mit einem Standardfrühstück ( $T_{max_{Henning}}$  1,3 h) [49, 51, 52]. Da in der vorliegenden Studie beide Tees nüchtern konsumiert wurden, erklärt dies nicht, warum sich die  $T_{max}$  der beiden Teegruppen um eine Stunde unterschieden ( $T_{max}$  WT: 3 h;  $T_{max}$  GT: 2 h) und beide nicht vor der gemessenen  $T_{max}$  von Henning et al. erreicht wurden [49]. Ein Einfluss der Flüssigkeitsmenge scheint eher ausgeschlossen werden zu können, da bei Pietta et al. die  $T_{max}$  später ( $T_{max_{Pietta}}$ : 2 h) erreicht wurde als bei den Vergleichsstudien, obwohl hier die niedrigste Flüssigkeitsmenge (300 mL) aufgenommen wurde (siehe Tabelle 2).

Analog zu EGCG waren auch die AUCs von ECG in beiden Teegruppen zwar verschieden zur AUC der Kontrollgruppe, aber nicht verschieden untereinander (siehe Tabelle 13), obwohl nach 5 h allein in der Gruppe Grüner Tee noch eine größere Konzentration als zur Baseline der Gruppe vorlag (siehe Abbildung 7). Sowohl  $C_{max}$ ,  $T_{max}$  wie auch  $T_{1/2}$  von ECG waren in den Teegruppen vergleichbar (siehe Tabelle 13). Bezüglich der Plasmakinetik von ECG nach Konsum der unfermentierten Tees konnte kein Unterschied zwischen den Teegruppen gezeigt werden. Das Verhältnis der ECG-Dosen von Weißem und Grünem Tee lag im Aufguss bei 1,0:2,3, das Verhältnis der AUCs zueinander bei ca. 1,1:1,0, was für eine höhere Absorption von ECG aus Weißem Tee sprechen könnte. Inwiefern die Absorption durch die höhere aufgenommene Dosis mit Grünem Tee beeinflusst wird, ist auch bei ECG

unklar. Bei Henning et al. wurde trotz 10-fach höherer Dosis ein C<sub>max</sub> in ähnlicher Höhe wie in der vorliegenden Studie gemessen, bei einer doppelt so hohe AUC im Vergleich zur Grünteegruppe der vorliegenden Studie. Dies könnte eine Folge einer wie bei Scalbert und Williamson beschriebene Limitierung der Aufnahme einzelner Polyphenole bei hohen Dosierungen sein, wodurch es nicht zu Plasmaspiegeln über 1 µmol/L kommen soll, um den Körper vor einer zu starken Beeinflussung des pro-/antioxidative Gleichgewichts zu schützen [104]. Hingegen bestimmte Pietta et al. ein C<sub>max</sub> von 2000 nmol/L (siehe Tabelle 3 und Tabelle 13) [49, 57]. Eine höhere Ausgangskonzentration (keine Angabe), auf die das höhere C<sub>max</sub> bei Pietta et al. hindeutet, könnte unter Umständen auch zur späteren T<sub>max</sub> geführt haben. So wurde bei Pietta et al. analog zu den Ergebnissen der vorliegenden Studie ein T<sub>max</sub> von 2 h bestimmt. Die T<sub>max</sub> bei Henning et al. lag hingegen bei 1,4 h (426 mL GT) und bei Kotani et al. bei 1 h (340 mL GT).

Die T<sub>1/2</sub> von ECG wurde in keiner der anderen Teestudien bestimmt. Da in beiden Teegruppen T<sub>max</sub> sowie T<sub>1/2</sub> nicht verschieden voneinander waren, war auch bei ECG die Eliminationsrate nicht verschieden.

Generell waren die Konzentrationen einzelner Flavan-3-ole im Tee in der vorliegenden Studie niedriger als in anderen Studien (siehe Tabelle 1 bis Tabelle 3), was sich ebenfalls auf die Höhe der Plasmaspiegel einzelner Flavan-3-ole auswirkte. Es ist nicht auszuschließen, dass die gemessenen niedrigen Plasmakonzentrationen auch auf Verluste während der Lagerung zurückzuführen sind. Anhand der Mediane und Perzentilen der Konzentrationen einzelner Flavan-3-ole (vgl. C<sub>max</sub>) zeigen sich auch in der vorliegenden Studie große inter-individuelle Unterschiede. Aufgrund der großen Streuung der Messergebnisse in den Teegruppen wird in einigen Fällen ein statistisch signifikanter Unterschied berechnet, während die Messwerte im Mittel unverändert blieben.

Höchstwahrscheinlich werden die Unterschiede in der Plasmakinetik zwischen den Gruppen der vorliegenden Studie primär durch die unterschiedlichen Flavan-3-ol-Muster der eingesetzten Tees bedingt, da sich die Gruppen anhand weiterer Einflussfaktoren nicht unterscheiden und anhand der Gruppengröße individuelle Unterschiede zwischen den Probanden minimiert werden. Zumindest konnte an Ratten nachgewiesen werden, dass einzelne Flavan-3-ole bei gleichzeitigem Konsum um die Absorption im Gastrointestinaltrakt konkurrieren. Auffällig sind die Plasmaspiegel von EGCG und ECG nach Konsum von Weißem und Grünem Tee (siehe Tabelle 12 und Tabelle 13). Obwohl die Ausgangskonzentrationen im Grünen Tee bei EGCG 7-fach und bei ECG doppelt so hoch war wie bei Weißem Tee, waren die AUCs von EGCG und ECG in beiden Teegruppen nicht verschieden voneinander. In der vorliegenden Studie und auch im Vergleich zur Studie von Henning et al. könnte eine höhere Konzentration von EGCG und ECG in Grünem Tee die

Absorptionsrate im Darm vermindert haben. Studien mit C und EC am Rattendünndarm zeigten hingegen, dass die Konzentration dieser Catechine nicht die Absorptionsrate beeinflusst [105]. Inwiefern dieses Ergebnis auch auf Galloflavan-3-ole und auf Studien an Menschen übertragbar ist, ist derzeit noch unklar. Zumindest die Elimination einzelner Flavan-3-ole aus dem Plasma scheint nach Konsum unfermentierter Tees gleich schnell zu verlaufen.

Neben den Flavan-3-olen enthalten unfermentierte Tees noch weitere Polyphenole, die ebenfalls absorbiert werden. Eine qualitative Bestimmung aller Substanzen ist im Plasma nach Konsum eines polyphenolreichen Lebensmittels mit dem derzeitigen Stand der Technik nicht möglich, da die Konzentrationen einzelner Substanzen unter der Detektionsgrenze chromatographischer Verfahren liegen könnten. Trotzdem tragen auch diese nicht bestimmten Polyphenole, wie auch weitere Antioxidantien, zur antioxidativen Kapazität im Plasma bei. Der Gesamtphenolgehalt im Weißen Tees war ca. 40 % niedriger als im Grünen Tee. Trotzdem unterschieden sich die Teegruppen nach Boluskonsum der Tees nicht hinsichtlich der antioxidativen Kapazität im Plasma, gemessen mittels Gesamtphenolgehalt. Es ist wahrscheinlich, dass die zugeführte Dosis an Polyphenolen in beiden Gruppen zu gering war, um den Gesamtphenolgehalt im Plasma bzw. die antioxidative Kapazität signifikant zu beeinflussen. Vergleichsstudien mit dieser Methode zum Boluskonsum unfermentierter Tees fehlen. Benzie et al. konnten in einer kontrollierten Studie mit 10 gesunden Probanden nach Bolusgabe von 400 mL Grünem Tee einen Anstieg des Gesamtphenolgehalts im Urin nach 1 bis 1,5 h aber nicht nach 2 h messen; Veränderungen im Plasma wurden hingegen nicht bestimmt. Die in der Studie von Benzie et al. eingesetzte Teemenge (20 g in 500 mL Wasser, filtriert und mit Wasser auf 400 mL aufgefüllt) war fast doppelt so hoch wie in dieser Studie [61]. Die aufgenommene Dosis bei Benzie et al. könnte dementsprechend ebenfalls höher als in der vorliegenden Studie gewesen sein.

Zur Beurteilung, inwiefern der Boluskonsum unfermentierter Tees die antioxidative Kapazität im Plasma gesunder Probanden beeinflusst, wurde zusätzlich eine Bestimmung der antioxidativen Kapazität mittels TEAC vorgenommen. Im Gegensatz zum Gesamtphenolgehalt unterschieden sich die beiden Tees im Hinblick auf die antioxidative Kapazität gemessen als TEAC nur marginal (siehe Tabelle 6). In dieser Studie führte die Bolusgabe von Weißem und Grünem Tee nicht zu einem Anstieg des TEAC. Stattdessen nahm der TEAC in der Kontrollgruppe 5 h nach Konsum zur Baseline ab. Unklar ist, inwiefern sich der zeitgleiche Anstieg verschiedener Antioxidantien in den Teegruppen auf die antioxidative Kapazität ausgewirkt hat. Im Plasma waren EGCG und ECG 5 h nach Teekonsum erhöht gegenüber der Baseline. Da EGCG und ECG im wässrigen Milieu die stärkste antioxidative Kapazität *in vitro* unter den Flavan-3-olen besitzen [27], könnte dies

erklären, warum es im Gegensatz zur Kontrollgruppe in den Teegruppen nicht zu einem verminderten TEAC kam.

In beiden Teegruppen stieg zeitgleich der Harnsäurespiegel an, während er in der Kontrollgruppe unverändert blieb (siehe Tabelle 15). Unterschiede des Harnsäurespiegels der Probanden konnten 5 h vs. 2 h nach Konsum von Weißem Tee gezeigt werden. Die Harnsäurekonzentration nach 2 h und 5 h lag im Mittel bei 178,5 mmol/L – der Mittelwert zeigt jedoch einen Anstieg um ca. 4 % (2 h: 185,7 mmol/L; 5 h: 193,0 mmol/L). In der Gruppe Grüner Tee nahm die Konzentration nach 5 h gegenüber dem 2 h Wert und Baseline signifikant um fast 18 % zu.

Es ist daher nicht auszuschließen, dass die ausbleibende Veränderung der antioxidativen Kapazität im Plasma ebenfalls durch den Anstieg des Harnsäurespiegels und nicht allein durch den Anstieg der Flavan-3-ole (EC in der Gruppe Grüner Tee sowie EGCG und ECG in beiden Teegruppen) bedingt sein könnte. Harnsäure trägt ca. ein Drittel zum TEAC bei [74]. Da dieser Anstieg in der Kontrollgruppe ebenfalls ausblieb könnte dies ebenfalls die fehlende Stabilisierung der antioxidativen Kapazität erklären. Zur Baseline war die Harnsäurekonzentration zwischen den beiden Teegruppen und der Kontrollgruppe verschieden voneinander (siehe Tabelle 15) was nicht zu erwarten war und bei einem Variations-Koeffizient von 2 % nicht aufgrund von Messungenauigkeiten bedingt wurde. In allen Gruppen lag der Harnsäurespiegel zur Baseline wie auch nach 2 h und nach 5 h im physiologischen Bereich (Harnsäure ♀: 143-339 µmol/L, ♂: 202-416 µmol/L). In Studien an Gesunden (n=46) wie auch an Diabetes-Patienten (n=59; 40 Diabetes-Patienten und 19 Gesunde als Kontrolle) wurde gezeigt, dass der Harnsäurespiegel im Tagesverlauf schwankt. Hierbei wurden die höchsten Plasmaspiegel am frühen Morgen (um ca. 6 Uhr) gemessen. Danach sank die Harnsäurekonzentration im Plasma bis zum Abend (zwischen 19 und 21 Uhr) ab [106, 107]. Unter Annahme dieser zirkadianen Schwankungen wäre ein Absinken des Harnsäurespiegels im Studienverlauf zu erwarten gewesen und kein Anstieg wie in den Teegruppen. *In vitro* Untersuchungen zeigen, dass Flavan-3-ole die Xanthinoxidase hemmen [108, 109], wodurch ein Anstieg der Harnsäure im Plasma nicht zu erwarten gewesen wäre. Derivate von Methylxanthinen wie Koffein und Theophyllin, die beide sowohl im Weißen und Grünen Tee enthalten sind [26], könnten nach Konsum der unfermentierten Tees für den Anstieg des Harnsäurespiegels im Plasma zumindest mitverantwortlich sein. Sie sind von der Struktur ähnlich der Harnsäure und werden mit der Uricase-PAP-Methode ebenfalls erfasst [110]. Zumindest beeinflusst der Konsum von Koffein in Wasser die antioxidative Kapazität (TRAP) nach Bolusgabe nicht [58].

Vitamin C ist ein antioxidativ wirksames Vitamin, das in beiden Tees enthalten war (siehe Tabelle 6) und zur antioxidativen Kapazität im Plasma beiträgt (Beitrag zum TEAC je nach Angabe zwischen 3 und 9 %) [74, 111]. Die Vitamin C-Aufnahme mit Weißem Tee betrug

0,4 mg, die Zufuhr mit Grünem Tee ca. 9 mg. Nach 2 h stieg die Konzentration in der Gruppe Grüner Tee temporär an und die absolute Änderung nach 2 h vs. 0 h war in der Gruppe Grüner Tee höher als in der Gruppe Weißer Tee (siehe Tabelle 14). Die höhere Zufuhr an Vitamin C mit dem Grünen Tee kann diese Veränderung nicht allein erklären, da auch in der Kontrollgruppe nach 2 h Vitamin C-Konzentration im Plasma gegenüber der Baseline anstieg. Die absolute Veränderung der Plasmakonzentrationen von 2 h zu 0 h war zwischen der Kontrollgruppe nicht verschieden zu jeder der beiden Teegruppen. Zirkadiane Schwankungen des Plasmaspiegels wie bei Harnsäure sind für Vitamin C nicht bekannt [112]. Die gemessenen Veränderungen (> 9 %) sind nicht auf Messungenauigkeiten zurückführbar, da sie größer als der für dieses Verfahren bestimmte Variationskoeffizient von 1,8 % waren. Der Anstieg der Vitamin C-Konzentration in der Kontrollgruppe war zu gering, um eine Abnahme der antioxidativen Kapazität zu kompensieren.

In einer unkontrollierten Interventionsstudie wurde nach Konsum von Grünem Tee (5 g/300 mL sowie 7,5 g/450 mL) mit vergleichbarer antioxidativer Kapazität wie beim Grünen Tee der vorliegenden Studie ein signifikanter Anstieg des TEAC im Plasma der Probanden (n=10) von bis zu 12,7 % gemessen (siehe Tabelle 4 und Tabelle 6). Bei einer Dosierung von 2,5 g Grünem Tee (150 mL) blieb der TEAC nach Boluskonsum unverändert [63]. Berücksichtigt man auch an dieser Stelle die großen inter-individuellen Unterschiede in der Plasmakinetik von Flavan-3-olen, so könnte die Fallzahl in jener Studie zu gering gewesen sein um übertragbare Ergebnisse zu liefern. Bei einer Cross-over-Studie mit 30 Probanden konnte kein Effekt auf den TEAC durch Konsum von Grünem Tee (5,4 mg/426 mL) nachgewiesen werden [49].

Tabelle 4 zeigt, dass sich die antioxidative Kapazität in Studien, in denen Elektronentransfertests wie TEAC oder TRAP zur Bestimmung eingesetzt wurden, nach Bolusgabe von Grünem Tee zwischen 3,0 % und 12,7 % veränderte [61-63]. In dieser Studie nahm der TEAC in der Kontrollgruppe in ähnlicher Größenordnung (3 %) ab. Studien, in denen H-Atom-Transfertests wie FRAP eingesetzt wurden, zeigten hingegen Steigerungen der antioxidativen Kapazität von 20 bis 40 % [57, 59, 60]. Diese beiden Testgruppen erfassen verschiedene Messparameter. Während Elektronentransfertests die Fähigkeit eines Antioxidans zur Reduktion eines Oxidans, welches hierdurch seine Farbe ändert, messen, wird bei H-Atom-Transfertest verglichen, inwieweit Antioxidanten mit Substraten um Peroxylradikale konkurrieren [81]. Die Ergebnisse mit Elektronentransfertests sind somit nicht vergleichbar zu Studienergebnissen mit H-Atom-Transfertests.

Berücksichtigt man die strikte Ernährungsrestriktion mit geringer Zufuhr an exogenen Antioxidantien in der vorliegenden Studie und die vergleichbar geringe Konzentration an einzelnen Flavan-3-olen im Weißen wie auch im Grünen Tee, so könnte dies erklären,

warum es in dieser Studie nur zu Effekten in der Kontrollgruppe kam. Unterschiede zwischen den Ergebnissen können auf unterschiedliche Studiendesigns wie Parallelgruppenvergleich vs. Cross-over-Studien, Probandenkollektive (geschlechtsspezifische Unterschiede sowie der Rekrutierung von Rauchern oder Nicht-Rauchern), die teilweise großen inter-individuelle Unterschiede in Absorption und Metabolismus von Flavan-3-olen sowie auf unterschiedliche Testverfahren zurückgeführt werden [49, 63, 113].

Bei den gemessenen einzelnen Antioxidantien in dieser Studie wurden durch Konsum der Studiengetränke die Plasmakonzentrationen von Flavan-3-olen, Vitamin C und Harnsäure signifikant beeinflusst. In beiden Teegruppen stiegen vereinzelte Flavan-3-ole sowie Harnsäure im Plasma an. Trotzdem veränderte sich weder der Gesamtphenolgehalt noch der TEAC in diesen Gruppen. *In vitro* konnten Konzentrationen von über 7,5  $\mu\text{mol/L}$  eines einzigen Flavan-3-ols bzw. einer Gesamtkonzentration von EC, EGC, ECG und EGCG eine signifikante Veränderung des TEAC herbeiführen [49]. Die antioxidativen Effekte von in humanem Plasma bereits nachgewiesener Metabolite und Konjugate der einzelnen Flavan-3-ole wurde bei der *in vitro* Messung nicht berücksichtigt. Addiert man die jeweils nach 2 h gemessenen  $C_{\text{max}}$  von freiem und konjugiertem EC, EGCG und ECG der Gruppe Grüner Tee so ergibt sich eine Gesamtkonzentrationen von 135,1 nmol/L (EGC nicht berücksichtigt). Die in der vorliegenden Studie nach Boluskonsum von Weißem sowie Grünem Tee gemessenen Plasmakonzentrationen der Flavan-3-ole waren voraussichtlich zu niedrig, um die antioxidative Kapazität im Plasma zu beeinflussen.

Eine nicht bedarfsgerechte Zufuhr an Antioxidantien wie in der vorliegenden Studie, bedingt durch die diätetische Restriktion am Vortag, könnte die Abnahme des TEAC in der Kontrollgruppe erklären. Die Flavan-3-ole sind als wasserlösliche Substanzen besonders im wässrigen Milieu aktiv und tragen somit synergistisch zur Stabilisierung der antioxidativen Kapazität im Plasma bei.

Änderungen des pro-/antioxidativen Gleichgewichts im Plasma nach Bolusgabe unfermentierter Tees könnten auch die Lipidperoxidation im Plasma beeinflussen. Phospholipide enthalten mehrfach ungesättigte Fettsäuren und sind daher eine der primären Angriffstellen für Oxidantien; darüber hinaus werden Kettenreaktionen durch diese Struktur begünstigt [65]. In der vorliegenden Studie blieb nach Bolusgabe unfermentierter Tees die Plasmakonzentration der  $F_2$ -Isoprostane, gemessen als 8-iso-PGF<sub>2 $\alpha$</sub> , trotz zeitgleicher Anstiege der Flavan-3-ole im Plasma, unverändert. Hingegen stiegen die  $F_2$ -Isoprostane in der Kontrollgruppe nach 5 h vs. 2 h aber nicht im Vergleich zur Baseline an. Die absolute Änderung in der Kontrollgruppe war jedoch nicht verschieden zu der absoluten Änderung nach 2 h vs. 0 h sowie zur absoluten Änderung nach 5 h vs. 2 h in beiden Teegruppen. Dies

spricht dafür, dass der gemessene Unterschied nach 5 h vs. 2 h in der Kontrollgruppe statistisch, aber nicht klinisch signifikant war.

Auch in einer randomisierten, kontrollierten Interventionsstudie im Latin-Square-Design mit 20 männlichen Nichtrauchern wurde durch Bolusgabe von Grünem Tee (7,6 g/400 mL) oder Wasser keine Änderung der Lipidperoxidation, gemessen als LDL-Oxidation *ex vivo*, festgestellt (siehe Tabelle 5) [58]. Nach Bolusgabe von Grünteeextrakt einer vergleichbaren Flavan-3-ol-Dosis (254 mg) wie in der vorliegenden Studie blieb die MDA Konzentration bei 18 männlichen Nichtrauchern ebenfalls unverändert [114]. Da die Bestimmung der Lipidperoxidation mit TBARS und MDA als wenig spezifisch eingestuft wird [115, 116], könnte diskutiert werden, ob aufgrund der Methodenwahl keine Effekte einer Bolusgabe auf die Lipidperoxidation gezeigt werden konnten. In der vorliegenden Studie wurden gleichzeitig die F<sub>2</sub>-Isoprostane als derzeit sensitivste Methode zur Messung der „aktuellen“ Lipidperoxidation eingesetzt, was die Aussagekraft der Ergebnisse unterstreicht. Ebenfalls können die nicht-vorhandenen Unterschiede nicht auf mangelnde Sensitivität der Messmethode zurückgeführt werden. Es konnte in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Studien kein Effekt auf die Lipidperoxidation durch Bolusgabe von unfermentierten Tees gezeigt werden.

Laut Erba et al. können bei gesunden Nichtrauchern, einem Probandenkollektiv das kaum oxidativem Stress ausgesetzt ist, nur in geringem Umfang protektive Effekte erwartet werden [117]. Die Probanden in dieser Studie gehörten diesem Kollektiv an. Somit kann der ausbleibende Effekt auf die F<sub>2</sub>-Isoprostane-Konzentration auch mit der Wahl der rekrutierten Probanden begründet werden.

Laut Hirano-Ohmori et al. liegt die Differenz zwischen der Wirkung in Interventionsstudien zu epidemiologischen Studien darin begründet, dass meist die Wirkungen von Grünteeextrakt mit Konsum von Grünem Tee verglichen werden [50]. In dieser Studie wurde zwar Grüner Tee sowie Weißer Tee zur Intervention eingesetzt, aber es konnten ebenfalls keine signifikanten Veränderungen durch Boluskonsum gezeigt werden. Ob die in epidemiologischen Studien gezeigte Risikosenkende Wirkung von regelmäßigem Grünteeconsum auf Koronare Herzerkrankungen durch Hemmung der Lipidperoxidation erklärbar ist, bleibt daher offen. Studien mit wiederholtem, täglichem Konsum von Grünteeextrakt (Tagesdosis: 6,3 bis 10 g GTE bzw. 10 Kapseln) [50, 118, 119] konnten analog zu den Ergebnissen der vorliegenden Studie keinen Effekt auf die Lipidperoxidation als F<sub>2</sub>-Isoprostane (Urin) nach 1 und 4 Wochen zeigen, während MDA nach 2 – 4 Wochen abnahm [50, 118]. Alexopoulos et al. konnten in 14 gesunden Probanden durch Boluskonsum von 6 mg Grünteeextrakt positive Effekte auf die Endothelialfunktion, aber nicht auf Marker für antioxidative Kapazität oder oxidativen Stress messen. Somit führt die

Arbeitsgruppe protektive Effekte vor koronaren Erkrankungen auf diese Ergebnisse zurück [64].

Dotan et al. konnten zeigen, dass Marker der Lipidperoxidation zwar miteinander, aber nicht mit Markern für DNA Schäden korrelieren [120]. In der vorliegenden Studie wurden DNA-Einzelstrangbrüche in Leukozyten nach Bolusgabe von Tee analysiert, um neben den Effekten auf den antioxidativen Status im Plasma, mögliche Veränderungen auf zellulärer Ebene zu erfassen.

Die temporäre Zunahme der Einzelstrangbrüche *in vivo* können in der vorliegenden Studie nicht durch die Tees erklärt werden, da sie auch in der Kontrollgruppe auftraten. Diese temporären Schwankungen sind höchstwahrscheinlich physiologischen Ursprungs durch zirkadiane Wechsel zwischen Reparatur- und Transkriptionsprozessen bedingt und nicht beeinflusst durch die Testgetränke. Zu Beginn des Untersuchungstages schien ein Teil der Probanden, die zum ersten Mal an einer Studie teilnahmen, im Hinblick auf die Anzahl der Blutentnahmen leicht angespannt. Der damit verbundene mentale Stress könnte für eine temporäre Zunahme an DNA Schäden *in vivo* ursächlich sein. So fanden Sivonová et al. einen Zusammenhang zwischen mentalem und oxidativem Stress [121]. Henning et al. konnten ebenfalls nach Bolusgabe von EGCG (580 mg aus EGCG-Kapseln bzw. 616 mg EGCG plus weitere Flavan-3-ole in GTE) keine Effekte auf DNA Schäden in Lymphozyten in einer Cross-over Studie mit 20 Männern mittels 8-OHdG-Bestimmung (HPLC) über 24 h messen [53]. Trotz angestiegener ECG-Plasmaspiegel in der Gruppe Schwarzer Tee, kam es nach 2 h nach Bolusgabe von 450 mL Schwarzem Tee oder Wasser zu keiner Zunahme von DNA Schäden (8-OHdG) bei 66 Rauchern und Nichtrauchern (74 % ♂) [122].

Die H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induzierten DNA-Strangbrüche *ex vivo* veränderten sich in keiner Gruppe in der vorliegenden Studie. Hingegen konnten 40 min nach Boluskonsum von Grünem Tee (7,5 g/540 mL) eine Abnahme von UV-induzierten DNA-Schäden mittels Comet Assay (n=10) gemessen werden [69]. Durch die Fallzahl von 10 Probanden könnten sich in der Studie von Morley et al. auch bei DNA Schäden inter-individuelle Effekte deutlich stärker bemerkbar gemacht haben. Diese inter-individuellen Unterschiede zeigten sich nach Collins & Dusinka in einem Variationskoeffizient von ca. 56 % [89]. Bei Morley et al. wurden die DNA-Schäden durch UV-Bestrahlung (12 min) induziert, so dass die Vergleichbarkeit mit der vorliegenden Studie bei der die DNA-Einzelstrangbrüche mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induziert wurden, fraglich ist. Daneben lag die in beiden Studien eingesetzte EGCG-Dosis deutlich über der der vorliegenden Studie. Laut Wasson et al. sind die Effekte von EGCG auf DNA Schäden rein Konzentrationsabhängig. *In vitro* schützte EGCG in Konzentrationen von 10 bis 15 µmol/L die DNA verschiedener humaner Zelllinien vor induzierten Strangbrüchen, während höhere Konzentrationen DNA Strangbrüche verursachen [123]. Die Plasmakonzentration in der vorliegenden Studie an EGCG wie auch in der Summe der gemessenen Flavan-3-ole liegt

ca. um Faktor 10 unter dem Konzentrationsbereich, der *in vitro* vor DNA-Strangbrüchen schützt.

Eine Studie mit wiederholtem, täglichen Konsum von Grünteeextrakt (tägliche Aufnahme von 250 mg Flavan-3-olen über 6 Wochen) zeigte protektive Effekte auf DNA-Strangbrüche [117]. Eine Bolusgabe in vergleichbarer Dosierung wie in der vorliegenden Studie (zumindest durch Konsum von Grünem Tee) könnte nicht ausreichend sein, um bei gesunden Nichtrauchern den Schutz vor DNA-Schäden in der Zelle zu verbessern und nur der wiederholte Konsum von Tee könnte, eventuell bedingt durch Akkumulation der Flavan-3-ole in den Zellen, protektiv gegenüber DNA-Schäden wirken. Diese Hypothese, dass der wiederholte, tägliche Konsum von Tee von mehr als 10 Tassen (~ 1500 mL) pro Tag das Risiko für Krebserkrankungen senkt, zeigt sich bereits in epidemiologischen Studien [124-126]. Obwohl in dieser Studie zumindest die Teemenge, die laut Herstellerempfehlung für ein Liter Tee ausreichend wäre, für den unfermentierten Tee verwendet wurde, konnte kein Schutz vor DNA-Einzelstrangbrüchen gemessen werden. Laut Hoetzel et al. sind die Mechanismen die zu DNA-Einzelstrangbrüchen führen, auch heutzutage noch nicht vollständig geklärt, um einen wirklichen Beweis der Prävention vor Erkrankungen durch bestimmte Ernährungsvorgaben zu belegen [83].

Der Comet Assay wird als sensitive Methode für die Messung von DNA-Strangbrüchen angesehen, trotzdem korrelieren die Ergebnisse des Comet Assay nicht mit den Messungen von 8-OHdG mittels HPLC oder ELISA [127]. Somit sind die bislang mit Grünem Tee durchgeführten Bolusstudien nicht direkt mit der vorliegenden Studie vergleichbar.

Anhand dieser offenen, randomisierten, kontrollierten Interventionsstudie mit 68 Probanden konnte gezeigt werden, dass durch Boluskonsum von Weißem sowie Grünem Tee die Plasmaspiegel an EGCG und ECG, nach Grünteeconsum auch von EC, ansteigen. C<sub>max</sub> und AUCs von EGCG und ECG unterschieden sich nicht zwischen den Teegruppen. Bezüglich T<sub>max</sub> und T<sub>1/2</sub> der Flavan-3-ole EGCG und EC unterschieden sich die Teegruppen voneinander. Die Absorptionsrate von ECG sowie EGCG ist voraussichtlich bedingt durch das gesamte Flavan-3-ol-Muster aus Weißem Tee höher als aus Grünem Tee.

Die gestiegenen Plasmaspiegel an Flavan-3-olen hatten weder einen Effekt auf verschiedene Parameter zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität im Plasma noch auf sensitive Biomarker für oxidativen Stress im Plasma sowie auf zellulärer Ebene. Bei gesunden Nichtrauchern besteht eine pro-/antioxidative Balance, die durch Boluskonsum unfermentierter Tees nicht signifikant beeinflusst wird. Eine eintägige, Nicht-Bedarfsgerechte Zufuhr exogener Antioxidantien, wie durch die diätetischen Restriktionen am Vortrag der vorliegenden Studie bedingt, scheint die antioxidative Kapazität im Plasma minimal beeinflussen zu können. Inwieweit der Konsum unfermentierter Tees in diesem Fall durch

Zufuhr von antioxidativ wirkender Flavan-3-olen zur Aufrechterhaltung der antioxidativen Kapazität im Plasma beitragen kann, ist unklar. Die vorliegende Studie ist die erste Interventionsstudie, in der nach eingehender Analyse der unfermentierten Tees, die Plasmakinetik der Flavan-3-ole nach Boluskonsum von Weißen sowie Grünen Tee sowie zeitgleich die Effekte auf antioxidative Kapazität und oxidative Biomarker erfasst wurden.

## 6 Zusammenfassung

Die vorliegende Interventionsstudie untersuchte die Wirkungen einer Bolusgabe von Weißem und Grünem Tee auf die Plasmakinetik von Flavan-3-olen sowie den antioxidativen Status im Plasma, die Lipidperoxidation und DNA-Schäden.

Diese Studie wurde offen, randomisiert, kontrolliert und im Parallelgruppendesign durchgeführt. Hierzu wurden 71 gesunde Nichtraucher rekrutiert; 68 Probanden beendeten die Studie. Nach einer polyphenolarmen Kost am Vortag konsumierten sie 600 mL Weißen Tee, Grünen Tee oder Mineralwasser (Kontrolle). Blutentnahmen erfolgten vor und 1, 2, 3, 5 und 8 h nach Konsum des Testgetränks.

Catechin, EC, EGCG und ECG wurden mittels HPLC-EC zu allen Messzeitpunkten gemessen und  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $T_{1/2}$  und AUC als Parameter für die Plasmakinetik ermittelt. Weitere Parameter wurden vor sowie 2 und 5 h nach Konsum im Plasma analysiert. Zur Bestimmung des antioxidativen Status wurden der Gesamtphenolgehalt (photometrisch), Harnsäure (photometrisch) und Vitamin C (HPLC-UV) sowie die antioxidative Kapazität als TEAC (photometrisch) bestimmt. Ergänzend wurden  $F_2$ -Isoprostane im Plasma (ELISA) und DNA-Einzelstrangbrüche in Leukozyten (Comet Assay; *in vivo* und *ex vivo*) gemessen.

Die Absorption von EGCG und ECG war trotz niedrigerer Dosis aus Weißem Tee höher als aus Grünem Tee. EC stieg ausschließlich nach Konsum von Grünem Tee an. Die Plasmakonzentration von Catechin blieb durch Teekonsum unverändert.

Die Vitamin C-Konzentration stieg in den Gruppen Grüner Tee und Mineralwasser an, ebenso stieg die Harnsäurekonzentration in den Teegruppen nach 5 h an. Der TEAC veränderte sich nach 5 h nur in der Kontrollgruppe indem die antioxidative Kapazität im Plasma abnahm. Der Gesamtphenolgehalt blieb durch Boluskonsum unverändert. Die DNA-Schäden *in vivo* nahmen temporär in allen Gruppen zu, hingegen blieben die  $H_2O_2$ -induzierten DNA-Einzelstrangbrüche *ex vivo* sowie  $F_2$ -Isoprostane unverändert.

Die polyphenolarme Kost am Vortag war mit einer, im Hinblick auf die Empfehlungen, unzureichenden Zufuhr an ebenfalls antioxidativ wirkenden Sekundären Pflanzenstoffen und Vitaminen verbunden.

In beiden Teegruppen blieb die antioxidative Kapazität gemessen als TEAC im Gegensatz zur Kontrollgruppe unverändert. Inwieweit dies durch die Zufuhr der antioxidativ wirksamen Flavan-3-ole sowie durch den Anstieg des gemessenen Harnsäurespiegels stabilisiert wurde, ist unklar. Eine Erhöhung der Vitamin C-Konzentration innerhalb des physiologischen Bereichs, wirkte sich in der Kontrollgruppe nicht protektiv aus. Auf zellulärer Ebene kam es in allen Gruppen *in vivo* kurzfristig zu einer Zunahme an DNA-Einzelstrangbrüchen, die sich durch physiologische Schwankungen, aber nicht durch prooxidative Effekte der Flavan-3-ole erklären lassen. Das Ausbleiben von Effekten auf die DNA-Einzelstrangbrüche *ex vivo* und

F<sub>2</sub>-Isoprostane könnte sich hingegen mit einem hohen antioxidativen Schutz bei gesunden Nichtrauchern auf zellulärer Ebene sowie im Plasma begründen lassen.

Der Konsum von Grünem Tee zeigte trotz eines höheren Gehalts von EC, EGCG, ECG und EGC sowie Vitamin C keine stärkere antioxidative Wirkung gemessen mit TEAC und Gesamtphenolgehalt als der Weiße Tee. Da die antioxidative Kapazität (TEAC) beider Tees vergleichbar war, scheinen weitere antioxidative Substanzen im Weißen Tee zu den antioxidativen Effekten beizutragen.

## Literaturverzeichnis

1. Weisburger, J.H., *Tea and health: the underlying mechanisms*. Proc Soc Exp Biol Med, 1999. **220**(4): p. 271-5.
2. Graham, H.N., *Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry*. Prev Med, 1992. **21**(3): p. 334-50.
3. Deutscher Teeverband e.V., H., Deutschland, *Tee als Wirtschaftsfaktor - Aktuelles Zahlenmaterial*. 2009. **Juni 2009**: p. 1-13.
4. Deutscher Teeverband e.V., H., Deutschland, *Tee als Wirtschaftsfaktor - Aktuelles Zahlenmaterial*. Mai 2006.
5. Santana-Rios, G., et al., *Potent antimutagenic activity of white tea in comparison with green tea in the Salmonella assay*. Mutat Res, 2001. **495**(1-2): p. 61-74.
6. Cabrera, C., R. Artacho, and R. Gimenez, *Beneficial effects of green tea--a review*. J Am Coll Nutr, 2006. **25**(2): p. 79-99.
7. Dix, M., et al., *Fermentation of tea in aqueous suspension. Influence of tea peroxidase*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1979. **32**(9): p. 920 - 932.
8. Balentine, D.A., S.A. Wiseman, and L.C. Bouwens, *The chemistry of tea flavonoids*. Crit Rev Food Sci Nutr, 1997. **37**(8): p. 693-704.
9. Beecher, G.R., B.A. Warden, and H. Merken, *Analysis of tea polyphenols*. Proc Soc Exp Biol Med, 1999. **220**(4): p. 267-70.
10. Higdon, J.V. and B. Frei, *Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions*. Crit Rev Food Sci Nutr, 2003. **43**(1): p. 89-143.
11. Dashwood, R.H., *White tea - a new cancer inhibitor*. Foods & Food Ingredients Journal of Japan, 2002. **200**: p. 19-26.
12. Hu, Q., J. Xu, and G. Pang, *Effect of selenium on the yield and quality of green tea leaves harvested in early spring*. J Agric Food Chem, 2003. **51**(11): p. 3379-81.
13. Huang, Y., J. Xu, and Q. Hu, *Effect of selenium on preservation quality of green tea during autumn tea-processing season*. J Agric Food Chem, 2005. **53**(19): p. 7444-7.
14. Kilmartin, P.A. and C.F. Hsu, *Characterisation of polyphenols in green, oolong, and black teas, and in coffee, using cyclic voltammetry*. Food Chem, 2003. **82**(4): p. 501-512.
15. Chiu, F.L. and J.K. Lin, *HPLC analysis of naturally occurring methylated catechins, 3' '- and 4' '-methyl-epigallocatechin gallate, in various fresh tea leaves and commercial teas and their potent inhibitory effects on inducible nitric oxide synthase in macrophages*. J Agric Food Chem, 2005. **53**(18): p. 7035-42.
16. Lin, Y.S., et al., *Factors affecting the levels of tea polyphenols and caffeine in tea leaves*. J Agric Food Chem, 2003. **51**(7): p. 1864-73.
17. Astill, C., et al., *Factors affecting the caffeine and polyphenol contents of black and green tea infusions*. J Agric Food Chem, 2001. **49**(11): p. 5340-7.
18. Lakenbrink, C., et al., *Flavonoids and other polyphenols in consumer brews of tea and other caffeinated beverages*. J Agric Food Chem, 2000. **48**(7): p. 2848-2852.
19. Friedman, M., et al., *Antimicrobial activities of tea catechins and theaflavins and tea extracts against Bacillus cereus*. J Food Prot, 2006. **69**(2): p. 354-61.

20. Sano, M., et al., *Simultaneous determination of twelve tea catechins by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection*. *Analyst*, 2001. **126**(6): p. 816-20.
21. Khokhar, S. and S.G. Magnusdottir, *Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom*. *J Agric Food Chem*, 2002. **50**(3): p. 565-70.
22. Fernandez, P.L., et al., *HPLC determination of catechins and caffeine in tea. Differentiation of green, black and instant teas*. *Analyst*, 2000. **125**(3): p. 421-5.
23. Arts, I.C., B. van De Putte, and P.C. Hollman, *Catechin contents of foods commonly consumed in The Netherlands. 2. Tea, wine, fruit juices, and chocolate milk*. *J Agric Food Chem*, 2000. **48**(5): p. 1752-7.
24. Goto, T. and Y. Yoshida, *Simultaneous Analysis of Individual Catechins and Caffeine in Green Tea*. *Methods Enzymol*, 1999. **299**: p. 107-113.
25. Henning, S.M., et al., *Catechin content of 18 teas and a green tea extract supplement correlates with the antioxidant capacity*. *Nutr Cancer*, 2003. **45**(2): p. 226-35.
26. Orner, G.A., et al., *Suppression of tumorigenesis in the Apc(min) mouse: down-regulation of beta-catenin signaling by a combination of tea plus sulindac*. *Carcinogenesis*, 2003. **24**(2): p. 263-7.
27. Rice-Evans, C.A., N.J. Miller, and G. Paganga, *Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids*. *Free Radic Biol Med*, 1996. **20**(7): p. 933-956.
28. Hashimoto, R., et al., *Inhibition of radical reaction of apolipoprotein B-100 and alpha-tocopherol in human plasma by green tea catechins*. *J Agric Food Chem*, 2000. **48**(12): p. 6380-3.
29. Spencer, J.P., et al., *Bioavailability of flavan-3-ols and procyanidins: gastrointestinal tract influences and their relevance to bioactive forms in vivo*. *Antioxid Redox Signal*, 2001. **3**(6): p. 1023-39.
30. Meng, X., et al., *Identification and characterization of methylated and ring-fission metabolites of tea catechins formed in humans, mice, and rats*. *Chem Res Toxicol*, 2002. **15**(8): p. 1042-50.
31. Natsume, M., et al., *Structures of (-)-epicatechin glucuronide identified from plasma and urine after oral ingestion of (-)-epicatechin: differences between human and rat*. *Free Radic Biol Med*, 2003. **34**(7): p. 840-9.
32. Vaidyanathan, J.B. and T. Walle, *Glucuronidation and sulfation of the tea flavonoid (-)-epicatechin by the human and rat enzymes*. *Drug Metab Dispos*, 2002. **30**(8): p. 897-903.
33. Van Amelsvoort, J.M., et al., *Plasma concentrations of individual tea catechins after a single oral dose in humans*. *Xenobiotica*, 2001. **31**(12): p. 891-901.
34. Lee, M.J., et al., *Analysis of plasma and urinary tea polyphenols in human subjects*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1995. **4**(4): p. 393-399.
35. Manach, C., et al., *Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies*. *Am J Clin Nutr*, 2005. **81**(1 Suppl): p. 230S-242S.
36. Chow, H.H., et al., *Phase I pharmacokinetic study of tea polyphenols following single-dose administration of epigallocatechin gallate and polyphenon E*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2001. **10**(1): p. 53-8.
37. Williamson, G., et al., *In vitro biological properties of flavonoid conjugates found in vivo*. *Free Radic Res*, 2005. **39**(5): p. 457-69.

38. Lee, M.J., et al., *Pharmacokinetics of tea catechins after ingestion of green tea and (-)-epigallocatechin-3-gallate by humans: formation of different metabolites and individual variability*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2002. **11**(10 Pt 1): p. 1025-32.
39. Umegaki, K., et al., *Analytical method of measuring tea catechins in human plasma by solid-phase extraction and HPLC with electrochemical detection*. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 2001. **47**(6): p. 402-8.
40. Baba, S., et al., *Bioavailability of (-)-epicatechin upon intake of chocolate and cocoa in human volunteers*. *Free Radic Res*, 2000. **33**(5): p. 635-41.
41. Chow, H.H., et al., *Effects of dosing condition on the oral bioavailability of green tea catechins after single-dose administration of Polyphenon E in healthy individuals*. *Clin Cancer Res*, 2005. **11**(12): p. 4627-33.
42. Carter, O., et al., *Comparison of White Tea, Green Tea, Epigallocatechin-3-Gallate, and Caffeine as Inhibitors of PhIP-Induced Colonic Aberrant Crypts*. *Nutr Cancer*, 2007. **58**(1): p. 60-5.
43. Dashwood, W.M., G.A. Orner, and R.H. Dashwood, *Inhibition of beta-catenin/Tcf activity by white tea, green tea, and epigallocatechin-3-gallate (EGCG): minor contribution of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at physiologically relevant EGCG concentrations*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002. **296**(3): p. 584-8.
44. Orner, G.A., et al., *Response of Apc(min) and A33 (delta N beta-cat) mutant mice to treatment with tea, sulindac, and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)*. *Mutat Res*, 2002. **506-507**: p. 121-7.
45. Santana-Rios, G., et al., *Inhibition by white tea of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine-induced colonic aberrant crypts in the F344 rat*. *Nutr Cancer*, 2001. **41**(1-2): p. 98-103.
46. Koutelidakis, A.E., et al., *Green tea, white tea, and Pelargonium purpureum increase the antioxidant capacity of plasma and some organs in mice*. *Nutrition*, 2009. **25**(4): p. 453-8.
47. Camouse, M.M., et al., *Topical application of green and white tea extracts provides protection from solar-simulated ultraviolet light in human skin*. *Exp Dermatol*, 2009. **18**(6): p. 522-6.
48. Ullmann, U., et al., *A single ascending dose study of epigallocatechin gallate in healthy volunteers*. *J Int Med Res*, 2003. **31**(2): p. 88-101.
49. Henning, S.M., et al., *Bioavailability and antioxidant activity of tea flavanols after consumption of green tea, black tea, or a green tea extract supplement*. *Am J Clin Nutr*, 2004. **80**(6): p. 1558-64.
50. Hirano-Ohmori, R., et al., *Green tea consumption and serum malondialdehyde-modified LDL concentrations in healthy subjects*. *J Am Coll Nutr*, 2005. **24**(5): p. 342-6.
51. Maiani, G., et al., *Application of a new high-performance liquid chromatographic method for measuring selected polyphenols in human plasma*. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 1997. **692**(2): p. 311-7.
52. Kotani, A., N. Miyashita, and F. Kusu, *Determination of catechins in human plasma after commercial canned green tea ingestion by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection using a microbore column*. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2003. **788**(2): p. 269-75.
53. Henning, S.M., et al., *Bioavailability and antioxidant effect of epigallocatechin gallate administered in purified form versus as green tea extract in healthy individuals*. *J Nutr Biochem*, 2005. **16**(10): p. 610-6.

54. Ito, H., et al., *Polyphenol levels in human urine after intake of six different polyphenol-rich beverages*. Br J Nutr, 2005. **94**(4): p. 500-9.
55. Nakagawa, K. and T. Miyazawa, *Chemiluminescence-high-performance liquid chromatographic determination of tea catechin, (-)-epigallocatechin 3-gallate, at picomole levels in rat and human plasma*. Anal Biochem, 1997. **248**(1): p. 41-9.
56. Kivits, G.A.A., van der Sman, F. J. P., Tijburg, L. B. M., *Analysis of catechins from green and black tea in humans: a specific and sensitive colorimetric assay of total catechins in biological fluids*. Int J Food Sci Nutr, 1997. **48**: p. 387-392.
57. Pietta, P.G., et al., *Catechin metabolites after intake of green tea infusions*. Biofactors, 1998b. **8**(1-2): p. 111-8.
58. Hodgson, J.M., et al., *Acute effects of ingestion of black and green tea on lipoprotein oxidation*. Am J Clin Nutr, 2000. **71**(5): p. 1103-7.
59. Serafini, M., A. Ghiselli, and A. Ferro-Luzzi, *In vivo antioxidant effect of green and black tea in man*. Eur J Clin Nutr, 1996. **50**(1): p. 28-32.
60. Serafini, M., et al., *Inhibition of human LDL lipid peroxidation by phenol-rich beverages and their impact on plasma total antioxidant capacity in humans*. J Nutr Biochem, 2000. **11**(11-12): p. 585-590.
61. Benzie, I.F., et al., *Consumption of green tea causes rapid increase in plasma antioxidant power in humans*. Nutr Cancer, 1999. **34**(1): p. 83-87.
62. Leenen, R., et al., *A single dose of tea with or without milk increases plasma antioxidant activity in humans*. Eur J Clin Nutr, 2000. **54**(1): p. 87-92.
63. Sung, H., et al., *In vivo antioxidant effect of green tea*. Eur J Clin Nutr, 2000. **54**(7): p. 527-529.
64. Alexopoulos, N., et al., *The acute effect of green tea consumption on endothelial function in healthy individuals*. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 2008. **15**(3): p. 300-5.
65. Marnett, L.J., *Oxyradicals and DNA damage*. Carcinogenesis, 2000. **21**(3): p. 361-70.
66. Hakim, I.A., et al., *Effect of a 4-month tea intervention on oxidative DNA damage among heavy smokers: role of glutathione S-transferase genotypes*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2004. **13**(2): p. 242-9.
67. Botto, N., et al., *Elevated levels of oxidative DNA damage in patients with coronary artery disease*. Coron Artery Dis, 2002. **13**(5): p. 269-74.
68. Galassetti, P. and A. Pontello, *Dietary effects on oxidation of low-density lipoprotein and atherogenesis*. Curr Atheroscler Rep, 2006. **8**(6): p. 523-9.
69. Morley, N., et al., *The green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate and green tea can protect human cellular DNA from ultraviolet and visible radiation-induced damage*. Photodermatol Photoimmunol Photomed, 2005. **21**(1): p. 15-22.
70. Singleton, V.L. and J.A.J. Rossi, *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*. Am. J. Enol. Vitic., 1965. **16**: p. 144-158.
71. Serafini, M., G. Maiani, and A. Ferro-Luzzi, *Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans*. J Nutr, 1998. **128**(6): p. 1003-7.
72. Arendt, B.M., et al., *Single and repeated moderate consumption of native or dealcoholized red wine show different effects on antioxidant parameters in blood and DNA strand breaks in peripheral leukocytes in healthy volunteers: a randomized controlled trial (ISRCTN68505294)*. Nutr J, 2005. **4**: p. 33.

73. Steffan, J., *Bestimmung von L-Ascorbinsäure und Dehydro-L-ascorbinsäure in Humanplasma und Leukozyten mit HPLC/UV und HPLC/EC: Methodenentwicklung, Validierung und Anwendung*. Universität Paderborn, 1999: p. 1-178.
74. Miller, N.J., et al., *A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates*. Clin Sci (Colch), 1993. **84**(4): p. 407-412.
75. USDA, *Database for the Flavonoid Content of Selected Foods 2003*. 2003.
76. Hartung, J., B. Elpelt, and K.-H. Klösener, *Statistik. Lehr- und Handbuch der angewandten Statistik*. Oldenbourg Verlag, 2005. **14. Auflage**: p. 1004.
77. Rein, D., et al., *Epicatechin in human plasma: in vivo determination and effect of chocolate consumption on plasma oxidation status*. J Nutr, 2000. **130**(8S Suppl): p. 2109S-14S.
78. Lee, M.J., et al., *An improved method for the determination of green and black tea polyphenols in biomatrices by high-performance liquid chromatography with coulometric array detection*. Anal Biochem, 2000. **279**(2): p. 164-9.
79. Richelle, M., et al., *Plasma kinetics in man of epicatechin from black chocolate*. Eur J Clin Nutr, 1999. **53**(1): p. 22-6.
80. Prior, R.L., X. Wu, and K. Schaich, *Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements*. J Agric Food Chem, 2005. **53**(10): p. 4290-302.
81. Huang, D., B. Ou, and R.L. Prior, *The chemistry behind antioxidant capacity assays*. J Agric Food Chem, 2005. **53**(6): p. 1841-56.
82. Vinson, J.A., J. Proch, and P. Bose, *Determination of quantity and quality of polyphenol antioxidants in foods and beverages*. Methods Enzymol, 2001. **335**: p. 103-14.
83. Hoelzl, C., et al., *Use of single cell gel electrophoresis assays for the detection of DNA-protective effects of dietary factors in humans: recent results and trends*. Mutat Res, 2009. **681**(1): p. 68-79.
84. Wang, Z., et al., *Immunological characterization of urinary 8-epi-prostaglandin F2 alpha excretion in man*. J Pharmacol Exp Ther, 1995. **275**(1): p. 94-100.
85. Yin, H., N.A. Porter, and J.D. Morrow, *Separation and identification of F2-isoprostane regioisomers and diastereomers by novel liquid chromatographic/mass spectrometric methods*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2005. **827**(1): p. 157-64.
86. Schwedhelm, E. and R.H. Böger, *Application of Gas Chromatography-Mass Spectrometry for Analysis of Isoprostanes: Their Role in Cardiovascular Disease*. Clin Chem Lab Med, 2003. **41**(12): p. 1552-1561.
87. Collins, A.R., et al., *The comet assay: topical issues*. Mutagenesis, 2008. **23**(3): p. 143-51.
88. Roggenbuck, C., *Interventionsstudie zur Wirkung eines Trinksupplements auf antioxidativen Status und oxidative Stress- und Entzündungsmarker bei Patienten mit aktivem Morbus Crohn*. Universität Bonn, 2007: p. 1-131.
89. Collins, A. and M. Dusinka, *Oxidation of Cellular DNA Measured with the Comet Assay*. Methods in Molecular Biology: Oxidative Stress Biomarkers and Antioxidant Protocols. **186**(Chapter 17): p. 147-159.
90. Giovannelli, L., et al., *Measurement of DNA breaks and oxidative damage in polymorphonuclear and mononuclear white blood cells: a novel approach using the comet assay*. Mutat Res, 2003. **538**(1-2): p. 71-80.

91. Horzic, D., et al., *The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions*. Food Chemistry, 2009. **115**(2): p. 441-448.
92. Rusak, G., et al., *Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used*. Food Chemistry, 2008. **110**(4): p. 852-858.
93. Thring, T.S., P. Hili, and D.P. Naughton, *Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants*. BMC Complement Altern Med, 2009. **9**: p. 27.
94. Kwon, Y., E. Apostolidis, and K. Shetty, *Inhibitory Potential of Wine and Rea against  $\alpha$ -Amylase and  $\alpha$ -Glucosidase for Management of Hyperglycemia linked to type 2 Diabetes*. J Food Biochem, 2006. **32**(1): p. 15-31.
95. Yang, C.S., et al., *Blood and urine levels of tea catechins after ingestion of different amounts of green tea by human volunteers*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 1998. **7**(4): p. 351-4.
96. Carando, S., P.L. Teissedre, and J.C. Cabanis, *Comparison of (+)-catechin determination in human plasma by high-performance liquid chromatography with two types of detection: fluorescence and ultraviolet*. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1998. **707**(1-2): p. 195-201.
97. Unno, T., et al., *Analysis of (-)-epigallocatechin gallate in human serum obtained after ingesting green tea*. Biosci Biotechnol Biochem, 1996. **60**(12): p. 2066-8.
98. Mayr, U., et al., *Developmental changes in the phenol concentrations of 'golden delicious' apple fruits and leaves*. Phytochemistry, 1995. **38**(5): p. 1151-5.
99. Gutmann, M., D. Treutter, and W. Feucht, *Analyse der Phenole bei Apfelsorten und Wildarten des Apfels mittels HPLC-CRD Technik*. Mitteilungen Klosterneuburg, 1990. **40**: p. 80-83.
100. De Pascual-Teresa, S., J.C. Rivas-Gonzalo, and C. Santos-Buelga, *Prodelphinidins and related flavanols in wine*. Int J Food Sci Technol, 2000. **35**: p. 33-40.
101. Murphy, K.J., et al., *Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (Theobroma cacao) inhibit platelet function*. Am J Clin Nutr, 2003. **77**(6): p. 1466-73.
102. Engler, M.B., et al., *Flavonoid-rich dark chocolate improves endothelial function and increases plasma epicatechin concentrations in healthy adults*. J Am Coll Nutr, 2004. **23**(3): p. 197-204.
103. Baba, S., et al., *In vivo comparison of the bioavailability of (+)-catechin, (-)-epicatechin and their mixture in orally administered rats*. J Nutr, 2001. **131**(11): p. 2885-91.
104. Scalbert, A. and G. Williamson, *Dietary intake and bioavailability of polyphenols*. J Nutr, 2000. **130**(8S Suppl): p. 2073S-85S.
105. Breidenassel, C., *Intestinale Verwertung von Flavan-3-olen – Perfusionsstudien am isolierten Rattendünndarm*. 2007: p. 138.
106. Kanabrocki, E.L., et al., *Circadian Relationship of Serum Uric Acid and Nitric Oxide*. JAMA, 2000. **283**(17): p. 2240-1.
107. Devgun, M.S. and H.S. Dhillon, *Importance of diurnal variations on clinical value and interpretation of serum urate measurements*. J Clin Pathol, 1992. **45**(2): p. 110-3.
108. Aucamp, J., et al., *Inhibition of xanthine oxidase by catechins from tea (Camellia sinensis)*. Anticancer Res, 1997. **17**(6D): p. 4381-5.

109. Ozyurek, M., et al., *Measurement of xanthine oxidase inhibition activity of phenolics and flavonoids with a modified cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) method.* Anal Chim Acta, 2009. **636**(1): p. 42-50.
110. Yuan, S.C., et al., *Effect of tea and coffee consumption on serum uric acid levels by liquid-chromatographic and uricase methods.* Bull Environ Contam Toxicol, 2000. **65**(3): p. 300-6.
111. Cao, G. and R.L. Prior, *Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum.* Clin Chem, 1998. **44**(6 Pt 1): p. 1309-15.
112. Levine, M., et al., *Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: evidence for a recommended dietary allowance.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1996. **93**(8): p. 3704-9.
113. Bub, A., et al., *Fruit juice consumption modulates antioxidative status, immune status and DNA damage.* J Nutr Biochem, 2003. **14**(2): p. 90-98.
114. Nakagawa, K., et al., *Tea catechin supplementation increases antioxidant capacity and prevents phospholipid hydroperoxidation in plasma of humans.* J Agric Food Chem, 1999. **47**(10): p. 3967-73.
115. Manhart, N., *Freie Radikale und Antioxidantien.* GIN - Gesundheitsinformationsnetz, 2005: p. 1-4.
116. Brown, R.K. and F.J. Kelly, *Evidence for increased oxidative damage in patients with cystic fibrosis.* Pediatr Res, 1994. **36**(4): p. 487-93.
117. Erba, D., et al., *Effectiveness of moderate green tea consumption on antioxidative status and plasma lipid profile in humans.* J Nutr Biochem, 2005. **16**(3): p. 144-9.
118. Freese, R., et al., *Green tea extract decreases plasma malondialdehyde concentration but does not affect other indicators of oxidative stress, nitric oxide production, or hemostatic factors during a high-linoleic acid diet in healthy females.* Eur J Nutr, 1999. **38**(3): p. 149-157.
119. Hodgson, J.M., et al., *Regular ingestion of tea does not inhibit in vivo lipid peroxidation in humans.* J Nutr, 2002. **132**(1): p. 55-8.
120. Dotan, Y., D. Lichtenberg, and I. Pinchuk, *Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress.* Prog Lipid Res, 2004. **43**(3): p. 200-27.
121. Sivonova, M., et al., *Oxidative stress in university students during examinations.* Stress, 2004. **7**(3): p. 183-8.
122. Widlansky, M.E., et al., *Effects of black tea consumption on plasma catechins and markers of oxidative stress and inflammation in patients with coronary artery disease.* Free Radic Biol Med, 2005. **38**(4): p. 499-506.
123. Wasson, G.R., V.J. McKelvey-Martin, and C.S. Downes, *The use of the comet assay in the study of human nutrition and cancer.* Mutagenesis, 2008. **23**(3): p. 153-62.
124. Imai, K., K. Suga, and K. Nakachi, *Cancer-preventive effects of drinking green tea among a Japanese population.* Prev Med, 1997. **26**(6): p. 769-75.
125. Nakachi, K., et al., *Preventive effects of drinking green tea on cancer and cardiovascular disease: epidemiological evidence for multiple targeting prevention.* Biofactors, 2000. **13**(1-4): p. 49-54.
126. Shibata, K., et al., *Green tea consumption and chronic atrophic gastritis: a cross-sectional study in a green tea production village.* J Epidemiol, 2000. **10**(5): p. 310-6.
127. Gedik, C.M., et al., *Oxidative stress in humans: validation of biomarkers of DNA damage.* Carcinogenesis, 2002. **23**(9): p. 1441-6.

## Anlagen



<b>Rauchen</b>		
Rauchen Sie?		
Wenn ja, wie viele Zigaretten pro Tag?		
Haben Sie in den letzten 6 Monaten geraucht?		
<b>Schwangerschaft / Stillzeit</b>		
Nehmen Sie orale Kontrazeptiva („Pille“) ein?		
Sind Sie schwanger?		
Stillen Sie?		
<b>Medikamente</b>		
Nehmen Sie regelmäßig Medikamente ein?		
Wenn ja, welche?		
<b>Erkrankungen</b>		
Leiden Sie an einer Essstörung?		
Besteht bei Ihnen eine Allergie (bestimmte Nahrungsmittel, Heuschnupfen etc)		
Wenn ja, gegen welche Stoffe (z B. Hühnereiweiß, Äpfel, Birkenpollen)?		
Leiden Sie an einer Fructose- oder Glucose-Intoleranz?		
Leiden Sie an einem Diabetes mellitus (Zuckerkrankheit)?		
Leiden Sie an einer Störung des Fettstoffwechsels (z.B. erhöhte Werte an Cholesterin, Triglyceride)?		
Leiden Sie unter Bluthochdruck?		
Leiden Sie unter Hyperurikämie (erhöhte Harnsäurewerte) / Gicht?		
Leiden Sie an einer Erkrankung des Magen-Darm-Traktes?		
Leiden Sie an einer Erkrankung der Bauchspeicheldrüse oder der Leber/Galle?		
Leiden Sie an einer Erkrankung der Nieren?		
Leiden Sie an Autoimmunerkrankungen (z.B. Morbus Addison, Lupus Erythematodes, Hashimoto Thyreoiditis, primäres Myxödem, Colitis Ulcerosa, Rheumatoide Arthritis)?		
Leiden Sie an sonstigen Erkrankungen des Immunsystems?		
Leiden Sie momentan unter einer Infektionskrankheit?		
Haben Sie sonstige gesundheitliche Probleme?		
Wenn ja, welcher Art?		
Sind Sie momentan in einer besonderen Stresssituation?		

---

 Ort, Datum

---

 Unterschrift der Probandin

---

 Ort, Datum

---

 Unterschrift des Arztes

## Anlage 2: Lebensmittel-Leitfaden zur polyphenol-armen Ernährung

### Lebensmittel-Leitfaden zur polyphenol-armen Ernährung

Folgende Lebensmittel sind **einen Tag vor dem Testtag** besonders zu beachten:

erlaubte Lebensmittel	zu meidende Lebensmittel
<b>Getränke</b>	
Mineralwasser, Limonaden, Milch, Spirituosen (außer auf Kräuterbasis, Obstbasis)	Kaffee, Tee, Kakao, Fruchtsaft, Fruchtnektar, Fruchtsaftgetränke, Bier, Wein
<b>Brot und Backwaren</b>	
Weißbrot, helle Brötchen, weißes Toastbrot, Kuchen, Torten, Kekse	Vollkornprodukte Schokoladenkuchen, -kekse, Obstkuchen, Gemüsekekse, Lebkuchen
<b>Hauptgerichte, Beilagen</b>	
Polierter Reis	Naturreis, Mediterraner Reis, Kartoffeln
Helle Nudeln	Vollkornnudeln
Fleisch, Geflügel, Wurstwaren	Sülze, Mett mit Zwiebeln, Zwiebelmettwurst, Leberwurst mit Apfel,
Eier	
Fisch	Fisch in Tomatensoße, in anderem Gemüse
<b>Obst, Gemüse</b>	
	Frisch, gefroren, getrocknet, Konserven, Suppen, Soßen
	z.B. keine Zwiebeln, Broccoli, Knoblauch, Äpfel, Beerenobst, Trauben, Zitrusfrüchte, Pilze, Oliven, Salate, Tomatensoßen, Ketchup, Zaziki (Tzaziki)

<b>Brotbelag</b>	
Käse (ohne Kräuter)	Kräuterkäse, Vegetarische Brotaufstriche
Butter	Margarine
Honig	Marmelade, Konfitüre, Nuss-Nougat-Creme, Apfelkraut, Pflaumenmus

<b>Milch, Milchprodukte</b>	
Milchprodukte pur	Milchprodukte mit Früchten, Kräutern, Kakao, Vanille-, Erdbeer-, Bananenmilch, Schokoladen-, Cappuccino-, Vanillepudding

<b>Süßwaren, Knabbereien</b>	
Milcheis	Eis auf Fruchtbasis (Zitrone, Erdbeere, etc), Stracciatella-, Schokoladeneis
	Schokolade
Salzstangen, Chips (gesalzen)	Nüsse, Erdnussflips, Tacos mit Dips, Nachos

<b>Nahrungsergänzungsmittel</b>	
Eiweißpräparate, Mineralstoffe	Vitaminpräparate, Rotwein-, Grünteekapseln, Schwarzkümmel-Präparate, Bioaktivstoffpräparate (Spirulina etc), Anti- Aging-Präparate

<b>Sonstiges</b>	
Öl, Fett	
Salz, Gewürze, Essig, Zucker	Kräuter (auch Küchenkräuter wie Kräuter der Provence etc), Apfel-, Weinessig

**Beispiele, wie Sie sich ernähren könnten:****Frühstück/Abendbrot:**

- heiße Milch mit Honig
- Ei mit Salz
- Rührei mit Speck (ohne Zwiebeln)
- Croissant mit Quark und Honig
- Brötchen mit Butter und Salami
- Brot mit Käse
- „blinder“ Weckmann (eben ohne Rosinen)
- Weißes Toastbrot mit Butter und Kochschinken

**Für Zwischendurch:**

- Naturjoghurt mit Honig
- Quark, natur
- Salzgebäck
- Butterplätzchen
- Stück Käsekuchen ohne Früchte

**Hauptmahlzeiten:**

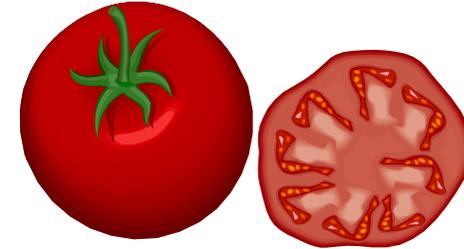
- Tortellini mit Fleischfüllung in Schinken-Sahnesoße
- Schnitzelfleisch mit Butterreis
- Nudeln in Käsesahnesoße
- Thunfischtoasts mit Käse überbacken
- Halbes Grillhähnchen
- Pfannkuchen, natur
- Lachs mit Nudeln

Einige Rezeptideen zum Stöbern haben wir auch noch als Kopien für Sie vorbereitet.

### Anlage 3: 24 h-Ernährungsprotokoll

Ernährungsprotokoll vom .....

Probandennummer: .....  
Name: .....  
Adresse: .....  
.....



#### **Beachten Sie bitte beim Ausfüllen:**

1. Nehmen Sie Ihr Ernährungsprotokoll überall mit hin. Notieren Sie bitte alles. Auch z.B. Nüsse, Bonbons und Zwischenmahlzeiten beim Fernsehen.
2. Machen Sie jeweils einen Strich für eine angegebene Kücheneinheit. Sollten Sie beispielsweise nur die Hälfte konsumieren, vermerken Sie dies durch  $\frac{1}{2}$ .
3. Die Bezeichnung „Glas“ ist ein Maß für die Menge, die in ein normales Glas mit einem Fassungsvermögen von 200 mL passt.
4. Ändern Sie bitte nicht die vorgegebenen Mengenbezeichnungen.
5. Zählen Sie bitte am Ende des Tages Ihre Striche zusammen und tragen Sie die Anzahl der Striche ins Feld „Summe“ ein.
6. Bitte achten Sie genau auf die Bezeichnung des Lebensmittels. Tragen Sie beispielsweise den konsumierten Fruchtsaft nicht versehentlich unter Fruchtsaftgetränk ein.

Lebensmittel	Kücheneinheit	Anzahl	Summe
<b>Brot/ Brötchen etc</b>			
Graubrot-Mehrkornbrot	Scheibe: 45g		
Graubrot-Weizenmischbrot	Scheibe: 45g		
Vollkornbrot	Scheibe: 50g		
Weißbrot-Toastbrot	Scheibe: 30g		
Brötchen	Stück: 45g		
Vollkornbrötchen	Stück: 60g		
Knäckebrot	Scheibe: 10g		
Zwieback	Stück: 10g		
<b>Fette:</b>			
Butter	Normale Portion: 10g		
Margarine pflanzlich Linolsäure 30-50 %	Normale Portion: 10g		
Margarine halbfett Linolsäure 30-50 %	Normale Portion: 10g		
Olivenöl	Normale Portion: 12 mL		
Sonnenblumenöl	Normale Portion: 12 mL		
Rüböl (Rapsöl)	Normale Portion: 12 mL		
Walnußöl	Normale Portion: 12 mL		
Weizenkeimöl	Normale Portion: 12 mL		
Maiskeimöl	Normale Portion: 12 mL		
<b>Süßer Brotaufstrich:</b>			
Blütenhonig-Mischungen	Normale Portion: 20g		
Nuß-Nougat-Creme süß	Normale Portion: 20g		
Aprikose Konfitüre	Normale Portion: 25g		
Brombeere Konfitüre	Normale Portion: 25g		
Erdbeerkonfitüre	Normale Portion: 25g		
Heidelbeere Konfitüre	Normale Portion: 25g		
Himbeere Konfitüre	Normale Portion: 25g		
Johann. schwarz Konfitüre	Normale Portion: 25g		
Johannisbeere rot Konfitüre	Normale Portion: 25g		
Sauerkirsche Konfitüre	Normale Portion: 25g		
Pflaumenmus	Normale Portion: 25g		
Marmelade	Normale Portion: 25g		

Lebensmittel	Kücheneinheit	Anzahl	Summe
<b>Frühstückscerealien:</b>			
Hafer Flocken	Normale Portion: 60g		
Früchte-Müsli	Normale Portion: 50g		
Schoko-Müsli	Normale Portion: 50g		
Cornflakes	Normale Portion: 30g		
Reiscrispies	Normale Portion: 50g		
Getreideflocken	Normale Portion: 10g		
<b>Eier:</b>			
Hühnerei frisch gegart	Stück: 60g		
Spiegeleier (R)	Normale Portion: 120g		
Rührei mit Speck/Schinken (R)	Normale Portion: 150g		
<b>Milch und Milchprodukte:</b>			
Buttermilch	Normale Portion: 150 mL		
Joghurt fettarm mit Früchten	Normale Portion: 150g		
Joghurt teilentrahmt	Normale Portion: 150g		
Joghurt vollfett	Normale Portion: 150g		
Joghurt vollfett mit Früchten	Normale Portion: 150g		
Kondensmilch 10 % Fett	Normale Portion: 15 mL		
Kuhmilch Trinkmilch fettarm	Normale Portion: 150 mL		
Kuhmilch Trinkmilch vollfett	Normale Portion: 150 mL		
Quark Fettstufe	Normale Portion: 30 g		
Quark Halbfettstufe	Normale Portion: 30g		
Quark Magerstufe	Normale Portion: 30g		
Quark mit Früchten	Normale Portion: 30g		
Quark mit Kräutern Fettstufe	Normale Portion: 30g		
Saure Sahne 20 % Fett	Normale Portion: 25ml		
Schlagsahne 30 % Fett	Normale Portion: 25 mL		

Lebensmittel	Kücheneinheit	Anzahl	Summe
<b>Käse:</b>			
Camembert	Scheibe: 30g		
Edamer	Scheibe: 30g		
Emmentaler Vollfettstufe	Scheibe: 30g		
Frischkäse	Scheibe: 30g		
Gouda	Scheibe: 30g		
Schafskäse	Scheibe: 30g		
Tilsiter	Scheibe: 30g		
<b>Fleisch und Fleischprodukte:</b>			
Brathähnchen Brustfilet frisch	Normale Portion: 150g		
Brathähnchen Schenkel frisch gegart	Normale Portion: 150g		
Bratwurst (R)	Normale Portion: 150g		
Frikadelle (R)	Normale Portion: 125g		
Hackbraten (R)	Normale Portion: 125g		
Putenschnitzel (R)	Normale Portion: 150g		
Rind/Schwein Hackfleisch gegart	Normale Portion: 100g		
Rindergulasch (R)	Normale Portion: 200g		
Rumpsteak (R)	Normale Portion: 150g		
Schwein Kotelett (mf) frisch gegart	Normale Portion: 150g		
Schwein Speck roh geräuchert	Normale Portion: 30g		
Schweineschnitzel natur (R)	Normale Portion: 150g		
Schweineschnitzel paniert (R)	Normale Portion: 150g		
Würstchen/Bockwurst/Wiener Würstchen	Normale Portion: 100g		
<b>Wurstwaren:</b>			
Cervelatwurst	Scheibe: 30g		
Fleischwurst / Stadtwurst	Scheibe: 30g		
Geflügelmortadella	Scheibe: 30g		
Kalbsleberwurst	Scheibe: 30g		
Salami	Scheibe: 30g		
Schwein Schinken roh geräuchert (Lachsschinken)	Scheibe: 30g		
Teewurst	Scheibe: 30g		

Lebensmittel	Kücheneinheit	Anzahl	Summe
<b>Fisch und Fischprodukte:</b>			
Fische gegart	Normale Portion: 150g		
Fischfilet gebraten (R)	Normale Portion: 180g		
Fischkonserve (R)	Normale Portion: 150g		
Fischstäbchen paniert tiefgefroren	Normale Portion: 150g		
Krebstiere (Krustentiere) gegart	Normale Portion: 100g		
Thunfisch Konserve in Öl	Normale Portion: 65g		
<b>Beilagen:</b>			
<b>Kartoffeln:</b>			
Bratkartoffeln (R)	Normale Portion: 200g		
Kartoffelbrei (R)	Normale Portion: 200g		
Kartoffelgratin (R)	Normale Portion: 250g		
Kartoffelkloß gekocht Trockenprodukt	Normale Portion: 100g		
Kartoffeln geschält frisch gegart	Normale Portion: 200g		
Kartoffelpuffer (R)	Normale Portion: 200g		
Pommes Frites (R)	Normale Portion: 150g		
Semmelknödel (R)	Normale Portion: 200g		
<b>Reis:</b>			
Reis geschält gegart	Normale Portion: 180g		
Reis parboiled gegart	Normale Portion: 180g		
Reis ungeschält gegart	Normale Portion: 180g		
<b>Nudeln:</b>			
Eierteigwaren gegart	Normale Portion: 125g		
Nudeln, Spätzle (R)	Normale Portion: 200g		
Schupfnudeln (R)	Normale Portion: 200g		
Teigwaren ohne Ei	Normale Portion: 50g		
Vollkorneierteigwaren	Normale Portion: 50g		
Vollkornteigwaren ohne Ei	Normale Portion: 50g		

Lebensmittel	Kücheneinheit	Anzahl	Summe
<b>Gewürze, Kräuter und Soßen:</b>			
Kräutermischung	TL: 2g		
Mayonnaise 80% Fett	EL: 25g		
Petersilienblatt frisch	TL: 5g		
Salatmayonnaise 50% Fett	EL: 25g		
Schnittlauch frisch	TL: 2g		
Senf	EL: 15g		
Speisesalz	TL: 5g		
Tomatenketchup	EL: 20g		
Tomatenmark	TL: 5g		
Würzsoßen und andere Würzmittel	EL: 20g		
Zucker	TL: 4g		
Bechamelsoße (R)	Normale Portion: 60g		
Bratensoße flüssig (R)	Normale Portion: 250g		
Tomatensoße (R)	Normale Portion: 60g		
<b>Fertig- und Schnellgerichte:</b>			
Bohneneintopf mexikanisch (R)	Normale Portion: 300g		
Bratlinge vegetarisch tiefgefroren	Normale Portion: 100g		
Cheeseburger (R)	Normale Portion: 150g		
Curry-Bratwurst	Normale Portion: 150g		
Eierpfannkuchen (R)	Normale Portion: 200g		
Frühlingsrolle (R)	Normale Portion: 200g		
Gemüseauflauf (R)	Normale Portion: 250g		
Gemüserisotto (R)	Normale Portion: 300g		
Hamburger (R)	Normale Portion: 150g		
Kebab, Gyros (R)	Normale Portion: 200g		
Lasagne mit Hackfleisch (R)	Normale Portion: 250g		
Makkaroni mit Tomatensoße (R)	Normale Portion: 200g		
Maultaschen (R)	Normale Portion: 200g		
Nasi Goreng (R)	Normale Portion: 300g		
Paella (R)	Normale Portion: 250g		

Lebensmittel	Kücheneinheit	Anzahl	Summe
Paprika gefüllt mit Hackfleisch (R)	Normale Portion: 250g		
Pizza (R)	Normale Portion: 420g		
Ratatouille (R)	Normale Portion: 300g		
Ravioli mit Tomatensoße (R)	Normale Portion: 250g		
Spaghetti Bolognese (R)	Normale Portion: 250g		
Zwiebelkuchen	Normale Portion: 100g		
<b>Suppen:</b>			
Champignoncremesuppe Trockenprodukt	Normale Portion: 25g		
Gemüsesuppe (R)	Normale Portion: 350g		
Gemüsesuppe mit Wurst (R)	Normale Portion: 350g		
Gulaschsuppe Konserve	Normale Portion: 250g		
Hülsenfruchtgerichte Konservensuppen	Normale Portion: 250g		
Kartoffelsuppe (R)	Normale Portion: 350g		
Klare Suppe mit Einlage (R)	Normale Portion: 250g		
Nudelsuppe (R)	Normale Portion: 250g		
Spargelcremesuppe (R)	Normale Portion: 250g		
Tomatencremesuppe (R)	Normale Portion: 250g		
Eintopf (R)	Normale Portion: 350g		
<b>Salate:</b>			
Chicoree frisch	Normale Portion: 50g		
Eisbergsalat frisch	Normale Portion: 50g		
Endivien frisch	Normale Portion: 50g		
Feldsalat frisch	Normale Portion: 50g		
Gurke frisch	Normale Portion: 150g		
Kopfsalat frisch	Normale Portion: 50g		
Kresse frisch	Normale Portion: 150g		
Oliven grün gesäuert	Normale Portion: 20g		
Oliven schwarz gesäuert	Normale Portion: 20g		
Radieschen frisch	Normale Portion: 100g		
Eiersalat (R)	Normale Portion: 150g		
Fleischsalat (R)	Normale Portion: 200g		

Lebensmittel	Kücheneinheit	Anzahl	Summe
Geflügelsalat (R)	Normale Portion: 150g		
Gewürzgurken Sauerkonserve	Normale Portion: 100g		
Griechischer Salat (R)	Normale Portion: 150g		
Kartoffelsalat (R)	Normale Portion: 200g		
Krautsalat (R)	Normale Portion: 150g		
Obstsalate (R)	Normale Portion: 125g		
<b>Gemüse:</b>			
Aubergine frisch gegart	Normale Portion: 150g		
Blumenkohl frisch gegart	Normale Portion: 150g		
Bohnen grün Konserve gegart	Normale Portion: 150g		
Bohnen grün tiefgefroren gegart	Normale Portion: 150g		
Broccoli frisch gegart	Normale Portion: 150g		
Champignon frisch	Normale Portion: 100g		
Chinakohl frisch gegart	Normale Portion: 150g		
Erbsen grün Konserve gegart	Normale Portion: 150g		
Erbsen grün tiefgefroren gegart	Normale Portion: 150g		
Fenchel frisch gegart	Normale Portion: 150g		
Gemüsepaprika grün frisch	Normale Portion: 150g		
Gemüsepaprika rot frisch	Normale Portion: 150g		
Grünkohl frisch gegart	Normale Portion: 150g		
Knoblauch frisch	Normale Portion: 2g		
Knollensellerie frisch gegart	Normale Portion: 150g		
Kohlrabi frisch	Normale Portion: 150g		
Kohlrabi frisch gegart	Normale Portion: 150g		
Mohrrübe frisch	Normale Portion: 150g		
Mohrrübe frisch gegart	Normale Portion: 150g		
Paprikaschoten frisch gegart	Normale Portion: 150g		
Pilze frisch gegart	Normale Portion: 100g		
Pilze Konserve gegart abgetropft	Normale Portion: 150g		
Rosenkohl frisch gegart	Normale Portion: 150g		
Rote-Beete Sauerkonserve	Normale Portion: 50g		

Lebensmittel	Kücheneinheit	Anzahl	Summe
Rotkohl frisch gegart	Normale Portion: 150g		
Schwarzwurzel frisch gegart	Normale Portion: 150g		
Sojabohnen getrocknet	Normale Portion: 25g		
Spinat tiefgefroren gegart	Normale Portion: 150g		
Tomaten frisch gegart	Normale Portion: 80g		
Weißkohl frisch gegart	Normale Portion: 150g		
Zwiebeln frisch	Normale Portion: 30g		
Zwiebeln frisch gegart	Normale Portion: 30g		
<b>Obst:</b>			
Ananas frisch	Normale Portion: 125g		
Apfel frisch	Normale Portion: 125g		
Apfel frisch gegart	Normale Portion: 125g		
Apfel frisch mit Küchenabfall	Normale Portion: 125g		
Aprikose frisch	Normale Portion: 50g		
Banane frisch	Normale Portion: 100g		
Birne frisch	Normale Portion: 140g		
Dattel getrocknet	Normale Portion: 10g		
Feige frisch	Normale Portion: 20g		
Feige getrocknet	Normale Portion: 10g		
Grapefruit frisch	Normale Portion: 250g		
Kiwi frisch	Normale Portion: 45g		
Mandarine frisch	Normale Portion: 40g		
Orange frisch	Normale Portion: 150g		
Pfirsich frisch	Normale Portion: 115g		
Pflaumen frisch	Normale Portion: 125g		
Sauerkirsche Konserve abgetropft	Normale Portion: 125g		
Süßkirsche Konserve abgetropft	Normale Portion: 125g		
Weintrauben frisch	Normale Portion: 125g		

Lebensmittel	Kücheneinheit	Anzahl	Summe
<b>Süßspeisen:</b>			
Cremeeis	Große Kugel: 50g		
Flammerie, Pudding (R)	Normale Portion: 150g		
Fruchteis	Große Kugel: 50g		
Grießbrei (R)	Normale Portion: 180g		
Milchreis (R)	Normale Portion: 150g		
Obst, Kompott (R)	Normale Portion: 150g		
<b>Kuchen und Kekse:</b>			
Honigkuchen	Stück: 50g		
Marmorkuchen aus Rührmasse	Stück: 70g		
Nußkuchen	Stück: 50g		
Obstkuchen (allgemein)	Stück: 100g		
Plätzchen Kekse	Stück: 10g		
Sandkuchen	Stück: 60g		
Vollkornkeks	Stück: 10g		
<b>Süßigkeiten:</b>			
Gummibonbons	Normale Portion: 15g		
Kaugummi	Streifen: 3g		
Lakritze	Normale Portion: 50g		
Milchschokolade	Riegel: 20g		
Milchschokolade Vollmilch-Nuß	Riegel: 20g		
Müsli-Riegel	Riegel: 100g		
Pralinen gefüllt mit Alkohol	Stück: 10g		
Pralinen gefüllt mit Nüssen	Stück: 10g		
Pralinen gefüllt mit Sonstigem	Stück: 10g		
Schokolade weiß	Riegel: 20g		
Schokoladenüberzugsmassen	EL: 10g		
Zartbitterschokolade	Riegel: 20g		

Lebensmittel	Kücheneinheit	Anzahl	Summe
<b>Knabberartikel:</b>			
Cashewnuß geröstet	Normale Portion: 60g		
Erdnuß geröstet	Normale Portion: 100g		
Haselnuß frisch	Normale Portion: 60g		
Kartoffelchips (verzehrfsfertig)	Tüte: 150g		
Knabbergebäck	Beutel: 150g		
Paranuß frisch	Normale Portion: 60g		
Salzstangen	Beutel: 150g		
Walnuß europäisch	Normale Portion: 40g		
<b>Heiße Getränke:</b>			
Kaffee (Getränk)	Tasse: 150 mL		
Kaffee mit Milch (Getränk)	Tasse: 150 mL		
Kaffee mit Milch und Zucker (Getränk)	Tasse: 150 mL		
Kaffee mit Zucker (Getränk)	Tasse: 150 mL		
Kaffee-Ersatz (Getränk)	Tasse: 150 mL		
Kräutertee (Getränk)	Teetasse: 125 mL		
Tee (Getränk)	Teetasse: 125 mL		
Trinkmilch mit Kakao/Schokolade	Tasse: 150 mL		
<b>Alkoholfreie Getränke:</b>			
Fruchtsaft, -nektar:			
Apfel Fruchtnektar	Glas: 200 mL		
Apfel Fruchtsaft	Glas: 200 mL		
Aprikose Fruchtnektar	Glas: 200 mL		
Birne Fruchtnektar	Glas: 200 mL		
Johannisbeere rot Fruchtnektar	Glas: 200 mL		
Johannisbeere schwarz Fruchtnektar	Glas: 200 mL		
Orange Fruchtnektar	Glas: 200 mL		
Orange Fruchtsaft	Glas: 200 mL		
Weintrauben Fruchtsaft	Glas: 200 mL		
Zitrone Fruchtsaft	Glas: 200 mL		

<b>Lebensmittel</b>	<b>Kücheneinheit</b>	<b>Anzahl</b>	<b>Summe</b>
<b>Alkoholische Getränke:</b>			
Bier	Bierglas: 300 mL		
Bier alkoholfrei (<0,5Gew% Alkohol)	Bierglas: 300 mL		
Weißwein trocken	Weinglas: 130 mL		
Weißwein halbtrocken	Weinglas: 130 mL		
Weißwein Auslese (lieblich)	Weinglas: 130 mL		
Rotwein mittel Qualitätswein	Weinglas: 130 mL		
Rotwein schwer	Weinglas: 130 mL		
Glühwein	Tasse: 200 mL		
Sekt	Sektglas: 100 mL		
Kräuter-/ Gewürz-/ Bitterlikör	Schnapsglas: 20 mL		
Branntwein aus Getreide (Brände aus Getreide)	Schnapsglas: 20mL		
<b>Lebensmittel</b>	<b>Kücheneinheit</b>	<b>Anzahl</b>	<b>Summe</b>
<b>Sonstiges:</b>			

## Danksagung

Ich möchte mich bei allen Beteiligten bedanken, die mich bei der Durchführung der Studie und der Anfertigung der Doktorarbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt:

Prof. Dr. Peter Stehle für die Überlassung des Themas, die gute Betreuung als Doktorvater sowie die fachliche Diskussionen.

PD Dr. Gudrun Ulrich-Merzenich für die Übernahme des Koreferats und ihre wissenschaftlich sowie weitere tatkräftige Unterstützung im Rahmen der Studienplanung und –durchführung.

Dr. Sabine Ellinger für die wissenschaftlichen Diskussionen, intensive Betreuung und außerordentliche Unterstützung während des ganzen Projekts und darüber hinaus.

Dr. Birgit Alteheld für die stets wertvollen Tipps und Diskussionen rund um die Analytik.

Prof. Dr. Heiner Berthold für die medizinische Leitung und die hilfreiche Tipps zur Planung der Studie sowie die Hilfe bei statistischen Fragestellungen.

Prof. Vetter für die gute Kooperation und die medizinische Unterstützung.

Dr. Thomas Henn und Tee Gschwendner für die Bereitstellung der Tees.

Tina Dimmer, Jörg Scharfhausen und Vera Schlüter für die herausragende Unterstützung im Labor, die tollen Ideen und spannenden Diskussionen.

Tomislav Balen, Anke Berchtold, Christel Bierschbach, Erika Blatzheim sowie Adelheid Schuch für jegliche Hilfestellung und die gute Zusammenarbeit im Labor.

Jörg Langrock für sein jederzeit offenes Ohr.

Dr. Darius Panek für die gute Kooperation, die Hilfestellungen bei der Studiendurchführung und den Verzicht auf Kaffee am Studienvortrag.

Alexander Hennerici für die praktische Hilfestellung während der Studiendurchführung sowie dem Zusammentragen für Rezeptideen.

Meinen Probanden für ihre hervorragende Kooperationsbereitschaft, die große Compliance sowie das Engagement und Durchhaltevermögen bei den Untersuchungen.

Meinen Kollegen, die meine Arbeit kritisch und diskussionsfreudig gelesen haben.

Allen kleinen und großen Mitgliedern meiner Familie, die mich immer unterstützt und motiviert haben.