

Lycopin-Isomere in Lebensmitteln und Humanplasma -  
Strukturaufklärung, antioxidative Aktivität, Gehalte  
und relative (*E*)-(*Z*)-Verhältnisse

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat)

vorgelegt dem Rat der Biologisch-Pharmazeutischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena



---

seit 1558

von

staatl. gepr. Dipl. Lebensmittelchem. Kati Fröhlich  
geboren am 16.11.1975 in Querfurt

Jena, Januar 2007

**Gutachter:**

1. PD Dr. Volker Böhm
2. Prof. Dr. Gerhard Jahreis
3. Prof. Dr. Wilhelm Stahl

Mündliche Prüfung: 04.04.2007

Verteidigung: 23.04.2007

	Seite
<b>1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>2 LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Allgemeine Aussagen zu der Stoffklasse der Carotinoide .....</b>	<b>3</b>
<b>2.2 Lycopin .....</b>	<b>5</b>
2.2.1 Chemische Struktur .....	6
2.2.2 Strukturcharakterisierung einzelner Lycopinisomere.....	9
2.2.3 Eigenschaften von Lycopin und seinen Isomeren .....	12
<b>2.3 Lycopinaufnahme beim Menschen .....</b>	<b>15</b>
2.3.1 Vorkommen von Lycopin.....	15
2.3.2 Absorption, Transport und Verteilung von Lycopin im Organismus.....	17
2.3.3 Durchschnittliche tägliche Lycopinaufnahme .....	20
2.3.4 Bioverfügbarkeit von Lycopin.....	22
2.3.5 Verteilung und Gehalte von Lycopin im menschlichem Organismus.....	27
2.3.6 Metabolisierung von Lycopin.....	33
<b>2.4 Funktionen und Wirkungen von Lycopin und seinen Metaboliten.....</b>	<b>34</b>
2.4.1 Protektive Wirkungen von Lycopin und seinen Metaboliten.....	34
2.4.2 Wirkmechanismen von Lycopin.....	36
<b>2.5 Testsysteme für die Messung der antioxidativen Kapazität.....</b>	<b>38</b>
<b>3 MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>41</b>
<b>3.1 Untersuchungen zu Lycopin und seinen geometrischen Isomeren.....</b>	<b>41</b>
3.1.1 Isomerisierung und Stabilität von Lycopin .....	41
3.1.2 Charakterisierung der Struktur von ausgewählten Lycopinisomeren.....	41
3.1.3 Untersuchungen zur antioxidativen Aktivität von Lycopinisomeren.....	43
<b>3.2 Untersuchungen von Lebensmitteln .....</b>	<b>44</b>
3.2.1 Tomaten und Tomatenprodukte.....	44
3.2.2 Hagebutten und Hagebuttenprodukte .....	45
3.2.3 Weitere lycopinhaltige Lebensmittel.....	46
<b>3.3 Humanstudien.....</b>	<b>47</b>
3.3.1 Tomaten-Interventionsstudie .....	47
3.3.2 Raucher-Interventionsstudie.....	49
3.3.3 Hagebutten-Interventionsstudien.....	49
3.3.4 Kinetik-Pilotstudien.....	51
<b>3.4 Analysenmethoden .....</b>	<b>52</b>
3.4.1 Bestimmung von Carotinoiden.....	52
3.4.2 Bestimmung von Vitamin E .....	55
3.4.3 Bestimmung von Vitamin C.....	56

3.4.4	Bestimmung der antioxidativen Aktivität .....	57
3.4.4.1	Bestimmung der lipophilen antioxidativen Aktivität .....	57
3.4.4.2	Bestimmung des oxidierten und des reduzierten Glutathions .....	58
3.4.4.3	Bestimmung von Lipidperoxidationsprodukten (TBARS) .....	58
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>59</b>
<b>4.1</b>	<b>Lycopinisomere.....</b>	<b>59</b>
4.1.1	Untersuchungen zu Isomerisierung und Stabilität von Lycopin .....	59
4.1.1.1	Iod-Photo-Isomerisierung an unterschiedlichen Tagen.....	59
4.1.1.2	Isomerisierung von ( <i>all-E</i> )-Lycopin mit 5 % Iod und unterschiedlichen UV-Bestrahlungen .....	60
4.1.1.3	Isomerisierung von ( <i>all-E</i> )-Lycopin mit unterschiedlichen Iodmengen ohne UV-Bestrahlung .....	61
4.1.1.4	Stabilität der Lycopin-Standardlösung und von Humanplasmaextrakten im Autosampler .....	62
4.1.2	Charakterisierung von Lycopinisomeren .....	62
4.1.2.1	UV-vis-Spektroskopie .....	63
4.1.2.2	LC-MS-Analyse .....	64
4.1.2.3	NMR-Analyse.....	65
4.1.3	Untersuchungen zur antioxidativen Aktivität von Lycopinisomeren.....	70
<b>4.2</b>	<b>Untersuchungen von Lebensmitteln .....</b>	<b>71</b>
4.2.1	Tomaten und Tomatenprodukte.....	71
4.2.2	Hagebutten und Hagebuttenprodukte .....	75
4.2.3	Weitere lycopinhaltige Lebensmittel.....	79
<b>4.3</b>	<b>Humanstudien.....</b>	<b>80</b>
4.3.1	Tomaten-Interventionsstudie .....	80
4.3.1.1	Zusammensetzung des Interventionsmaterials .....	80
4.3.1.2	Änderungen der Carotinoidgehalte im Plasma.....	81
4.3.1.3	Änderungen der Vitamin-E-Gehalte im Plasma.....	84
4.3.1.4	Änderungen der Vitamin-C-Gehalte im Plasma.....	85
4.3.1.5	Änderungen der Triglyceridgehalte im Plasma.....	85
4.3.1.6	Änderungen des antioxidativen Status´ im Vollblut.....	85
4.3.2	Raucher-Interventionsstudie.....	88
4.3.2.1	Änderungen der Lycopingehalte im Plasma.....	88
4.3.2.2	Änderungen der Vitamin-E- und Vitamin-C-Gehalte im Plasma .....	91
4.3.2.3	Änderungen der Triglyceridgehalte im Plasma.....	92
4.3.2.4	Änderungen des antioxidativen Status´ im Vollblut.....	92
4.3.3	Hagebutten-Interventionsstudien.....	93
4.3.3.1	Hagebutten-Interventionsstudie I .....	93
4.3.3.2	Hagebutten-Interventionsstudie II .....	96
4.3.4	Kinetik-Pilotstudien.....	98
4.3.4.1	Kinetik-Pilotstudie I .....	98
4.3.4.2	Kinetik-Pilotstudie II .....	98
<b>5</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>102</b>

---

<b>5.1</b>	<b>Lycopinisomere</b> .....	<b>102</b>
5.1.1	Untersuchungen zu Isomerisierung und Stabilität von Lycopin .....	102
5.1.1.1	Isomerisierung von Lycopin.....	102
5.1.1.2	Stabilität von Lycopin .....	103
5.1.2	Charakterisierung von Lycopinisomeren .....	103
5.1.2.1	UV-vis-Spektroskopie .....	104
5.1.2.2	LC-MS-Analyse .....	106
5.1.2.3	NMR-Analyse.....	107
5.1.2.4	Zuordnung der charakterisierten Lycopinisomere in HPLC- Chromatogrammen .....	108
5.1.3	Untersuchungen zur antioxidativen Aktivität von Lycopinisomeren.....	113
<b>5.2</b>	<b>Untersuchungen von Lebensmitteln</b> .....	<b>114</b>
5.2.1	Tomaten und Tomatenprodukte.....	114
5.2.2	Hagebutten und Hagebuttenprodukte .....	119
5.2.3	Weitere lycopinhaltige Lebensmittel.....	122
5.2.4	Zusammenfassende Darstellung des Lycopinprofils ausgewählter Lebensmittel .....	123
<b>5.3</b>	<b>Humanstudien</b> .....	<b>124</b>
5.3.1	Tomaten-Interventionsstudie .....	124
5.3.1.1	Zusammensetzung des Interventionsmaterials .....	124
5.3.1.2	Änderungen der Carotinoidgehalte im Plasma.....	124
5.3.1.3	Änderungen der Vitamin-E-Gehalte im Plasma.....	129
5.3.1.4	Änderungen der Vitamin-C-Gehalte im Plasma.....	130
5.3.1.5	Änderungen der Triglyceridgehalte im Plasma.....	130
5.3.1.6	Änderungen des antioxidativen Status´ im Vollblut.....	131
5.3.2	Raucher-Interventionsstudie.....	133
5.3.2.1	Änderungen der Carotinoidgehalte im Plasma.....	133
5.3.2.2	Änderungen der Vitamin-E- und Vitamin-C-Gehalte im Plasma .....	136
5.3.2.3	Änderungen der Triglyceridgehalte im Plasma.....	136
5.3.2.4	Änderungen des antioxidativen Status´ im Vollblut.....	137
5.3.3	Hagebutten-Interventionsstudien.....	138
5.3.3.1	Hagebutten-Interventionsstudie I .....	138
5.3.3.2	Hagebutten-Interventionsstudie II .....	140
5.3.4	Kinetik-Pilotstudien.....	141
5.3.4.1	Kinetik-Pilotstudien.....	141
5.3.5	Zusammenfassende Diskussion der Lycopin-Isomerenverteilung in physiologischen Materialien.....	144
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUSSFOLGERUNGEN</b> .....	<b>149</b>
<b>7</b>	<b>LITERATUR</b> .....	<b>L1</b>
<b>8</b>	<b>EIGENE VERÖFFENTLICHUNGEN, TAGUNGSBEITRÄGE, EHRUNGEN</b> V1	
<b>ANHANG</b> .....		<b>A1</b>

---

<b>I</b>	<b>ANALYSEVORSCHRIFTEN</b>	<b>A1</b>
<b>I.I</b>	<b>Carotinoidstammlösungen</b>	<b>A1</b>
I.I.I	Herstellung der Carotinoidstammlösungen und -standardlösungen	A1
I.I.II	Photometrische Ermittlung der Konzentration der Carotinoidstammlösungen	A1
<b>I.II</b>	<b>Versuche zu Isomerisierung und Stabilität von Lycopin</b>	<b>A2</b>
I.II.I	Herstellung der ( <i>all-E</i> )-Lycopinlösung	A2
I.II.II	Iod-Photo-Isomerisierung	A2
I.II.III	Isomerisierung mit unterschiedlichen Iodmengen ohne UV-Bestrahlung	A2
I.II.IV	Isomerisierung mit 5 % Iod und unterschiedlichen UV-Bestrahlungen	A3
I.II.V	HPLC für I.II.I bis I.II.IV	A3
I.II.VI	Stabilität der Lycopin-Standardlösung im Autosampler	A4
<b>I.III</b>	<b>Isomerenidentifizierung</b>	<b>A4</b>
I.III.I	Iod-Photo-Isomerisierung	A4
I.III.II	Fraktionierung der Isomere	A5
I.III.III	Reinheitsprüfung der isolierten Isomere	A5
I.III.IV	UV-Vis Spektroskopie	A6
I.III.V	HPLC-MS-Analyse	A6
I.III.VI	NMR-Analyse	A7
<b>I.IV</b>	<b>Antioxidative Aktivität der Lycopinisomere</b>	<b>A7</b>
I.IV.I	Iod-Photo-Isomerisierung und Fraktionierung der Isomere	A7
I.IV.II	Reinheitsprüfung und Konzentrationsbestimmung der isolierten Isomere	A8
I.IV.III	TEAC-Test lipophil	A8
I.IV.IV	PCL	A8
<b>I.V</b>	<b>Untersuchungen von Lebensmitteln</b>	<b>A9</b>
I.V.I	Carotinoide	A9
I.V.II	Tocopherole, Tocotrienole	A11
I.V.III	Vitamin C	A12
<b>I.VI</b>	<b>Humanstudien</b>	<b>A13</b>
I.VI.I	Aufarbeitung der Blutproben	A13
I.VI.II	Carotinoide	A14
I.VI.III	Tocopherole, Tocotrienole	A16
I.VI.IV	Vitamin C	A16
I.VI.V	Triglyceride	A17
I.VI.VI	Oxidiertes bzw. reduziertes Glutathion	A17
I.VI.VII	Lipidperoxidationsprodukte (TBARS)	A18
<b>I.VII</b>	<b>Statistische Analyse</b>	<b>A20</b>
<b>II</b>	<b>ANALYSENDATEN</b>	<b>A21</b>

**Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Biosynthese von Carotinoiden	5
Abbildung 2: Strukturformel von ( <i>all-E</i> )-Lycopin (die stereochemisch effektiven Doppelbindungen sind mit * gekennzeichnet)	6
Abbildung 3: <i>cis-trans</i> -Isomerie an Doppelbindungen	7
Abbildung 4: A) sterisch ungehinderte und B) sterisch gehinderte Doppelbindungen in der <i>cis</i> -Konfiguration	7
Abbildung 5: Physikalische und chemische Eigenschaften von Lycopin	13
Abbildung 6: Schematische Darstellung des Aufnahmeweges von Carotinoiden am Beispiel von Lycopin in den menschlichen Körper	18
Abbildung 7: Strukturformeln ausgewählter Lycopinmetabolite	34
Abbildung 8: Schematische Darstellung möglicher Wirkmechanismen des Lycopins	37
Abbildung 9: Fotos von den vier untersuchten Tomatensorten: Bloody Butcher, Black Cherry, Celsior, Sieger	44
Abbildung 10: Fotos von den untersuchten Reifestadien (grün, orange, rot) der Hagebuttensorte <i>Rosa rugosa</i>	45
Abbildung 11: HPLC-Chromatogramm eines Carotinoid-Standardgemisches	53
Abbildung 12: HPLC-Chromatogramm eines Standardgemisches aus 4 Tocopherolen und 4 Tocotrienolen	56
Abbildung 13: HPLC-Chromatogramm eines Iod-Photo-isomerisierten Lycopin-gemisches (5 % Iod, 15 min UV)	59
Abbildung 14: HPLC-Chromatogramme von Lycopin-gemischen, isomerisiert mit unterschiedlichen Iodmengen, A) 0 % Iod, 1:10 verd.; B) 0,1 % Iod, unv.; C) 5 % Iod, unv.; D) 20 % Iod, unv	61
Abbildung 15: Abhängigkeit der relativen Anteile [%] der Lycopinisomere und Lycopinoxidationsprodukte in Abhängigkeit von der Iodzugabe bei der Isomerisierung ohne UV-Bestrahlung	62
Abbildung 16: HPCL-Chromatogramm einer Iod-Photo-isomerisierten Lycopin-lösung	63
Abbildung 17: Vergleich von UV-vis-Spektren verschiedener, isolierter Lycopinisomere (in MTBE)	64

---

Abbildung 18: Struktur von ( <i>all-E</i> )-Lycopin ( <b>5</b> ) mit Nummerierung der einzelnen Protonen	<b>65</b>
Abbildung 19: <sup>1</sup> H-NMR-Spektren des aliphatischen Bereiches von ( <i>all-E</i> )-Lycopin ( <b>5</b> ) (oberes Spektrum) und ( <i>5Z</i> )-Lycopin ( <b>6</b> ) (unteres Spektrum)	<b>66</b>
Abbildung 20: ROESY-Spektrum von ( <i>9Z</i> )-Lycopin ( <b>3</b> )	<b>66</b>
Abbildung 21: <sup>1</sup> H-NMR-Spektren des olefinischen Bereiches von ( <i>5Z,9'Z</i> )-Lycopin ( <b>2</b> ) (oberes Spektrum) und ( <i>5Z,9Z</i> )-Lycopin ( <b>4</b> ) (unteres Spektrum)	<b>67</b>
Abbildung 22: <sup>1</sup> H-NMR-Spektren des aliphatischen Bereiches von ( <i>5Z,9'Z</i> )-Lycopin ( <b>2</b> ) (oberes Spektrum) und ( <i>5Z,9Z</i> )-Lycopin ( <b>4</b> ) (unteres Spektrum)	<b>67</b>
Abbildung 23: Strukturen von ( <i>5Z,9'Z</i> )-Lycopin ( <b>2</b> ) und ( <i>5Z,9Z</i> )-Lycopin ( <b>4</b> ) mit Kennzeichnung der wichtigsten ROESY-Korrelationen mittels Pfeilen	<b>68</b>
Abbildung 24: COSY-Spektren von ( <i>5Z,9'Z</i> )-Lycopin ( <b>2</b> ) (oberes, linkes Spektrum), ( <i>9Z</i> )-Lycopin ( <b>3</b> ) (oberes, rechtes Spektrum) und ( <i>5Z,9Z</i> )-Lycopin ( <b>4</b> ) (unteres Spektrum)	<b>69</b>
Abbildung 25: Antioxidative Aktivität von fünf ( <i>Z</i> )-Lycopinisomeren im Vergleich zu ( <i>all-E</i> )-Lycopin im TEAC- und PCL-Test ( $\bar{x} + s$ )	<b>70</b>
Abbildung 26: HPLC-Chromatogramm einer Carotinoidtrennung eines Tomatenextraktes	<b>71</b>
Abbildung 27: Gehalte an ( <i>Gesamt</i> )-Lycopin [mg/100 g] der einzelnen Tomaten- und Tomatenproduktproben ( $\bar{x} + s$ ) sowie die Mittelwerte der Produktgruppen	<b>72</b>
Abbildung 28: Gehalte an ( <i>Gesamt</i> )- $\beta$ -Carotin [mg/100 g] der einzelnen Tomaten- und Tomatenproduktproben ( $\bar{x} + s$ ) sowie die Mittelwerte der Produktgruppen	<b>73</b>
Abbildung 29: Gehalte an Vitamin C [mg/100 g] der einzelnen Tomaten- und Tomatenproduktproben ( $\bar{x} + s$ ) sowie die Mittelwerte der Produktgruppen	<b>75</b>
Abbildung 30: HPLC-Chromatogramme einer Carotinoidtrennung eines unverseiften Hagebuttenextraktes [A] und eines verseiften Hagebuttenextraktes [B]	<b>77</b>

---

Abbildung 31: HPLC-Chromatogramme von Carotinoidtrennungen von unverseiften Extrakten A) grüner, B) oranger, C) roter Hagebutten ( <i>Rosa rugosa</i> ); gleiche Extraktkonzentration (2 g Probe auf 10 mL) eingesetzt	78
Abbildung 32: HPLC-Chromatogramm eines Plasmaextraktes aus der Tomaten-Interventionsstudie nach vierwöchiger Intervention (T4) mit Tomaten	81
Abbildung 33: Änderungen der ( <i>Gesamt</i> )-Lycopingehalte [ $\mu\text{mol/L}$ ] im Plasma der Probanden während der Tomaten-Interventionsstudie ( $\bar{x} + s$ )	82
Abbildung 34: Änderungen der relativen Anteile [%] von ( <i>all-E</i> )-Lycopin ( $\blacksquare$ ) und der Summe der ( <i>Z</i> )-Lycopinisomere ( $\square$ ) am ( <i>Gesamt</i> )-Lycopin im Plasma der Probanden während der Tomaten-Interventionsstudie	83
Abbildung 35: Änderungen der Gehalte [ $\mu\text{g/mL}$ ] an GSH, GSSG sowie der GSH/GSSG-Verhältnisse im Vollblut der Probanden während der Tomaten-Interventionsstudie ( $\bar{x} + s$ )	87
Abbildung 36: Änderungen der Gehalte an Lipidperoxidationsprodukten (TBARS) [ $\text{nmol/mL}$ ] ( $\bar{x} + s$ ) Abbildung 37: HPLC-Chromatogramm eines Plasmaextraktes aus der Raucher-Interventionsstudie nach zweiwöchiger Intervention (T2) mit Tomatenmark	88
Abbildung 37: Unterschiede in den ( <i>Gesamt</i> )-Lycopingehalten [ $\mu\text{mol/L}$ ], ( $\bar{x} + s$ ) zwischen Rauchern und Nichtrauchern während der Raucher-Interventionsstudie	89
Abbildung 38: Unterschiede in den ( <i>Gesamt</i> )-Lycopingehalten [ $\mu\text{mol/L}$ ], ( $\bar{x} + s$ ) zwischen Rauchern und Nichtrauchern während der Raucher-Interventionsstudie	90
Abbildung 39: Unterschiede in den Gehalten an ausgewählten Lycopinisomeren [ $\mu\text{mol/L}$ ], ( $\bar{x} + s$ ) bei Rauchern und Nichtrauchern während der Raucher-Interventionsstudie	91
Abbildung 40: Unterschiede in den GSH-Gehalten [ $\mu\text{g/mL}$ ], ( $\bar{x} + s$ ) zwischen Rauchern und Nichtrauchern während der Raucher-Interventionsstudie	93
Abbildung 41: HPLC-Chromatogramme von Plasmaextrakten aus der Hagebutten-Interventionsstudie I [A] vor Supplementationsbeginn (T0) und [B] nach der vierwöchigen Intervention (T4) mit Hagebuttenmark (HM 0)	94
Abbildung 42: Änderungen der Gehalte [ $\mu\text{mol/L}$ ] an ( <i>Gesamt</i> )-Lycopin und Rubixanthin im Plasma der Probanden der Hagebutten-Interventionsstudie I ( $\bar{x} + s$ )	95

---

Abbildung 43: Änderungen der Gehalte [ $\mu\text{mol/L}$ ] an Vitamin C im Plasma der Probanden der Hagebutten-Interventionsstudie I ( $\bar{x} + s$ )	<b>95</b>
Abbildung 44: Änderungen der Gehalte [ $\mu\text{mol/L}$ ] an ( <i>Gesamt</i> )-Lycopin, Rubixanthin und Vitamin C im Plasma der Probanden der Hagebutten-Interventionsstudie II ( $\bar{x} + s$ )	<b>97</b>
Abbildung 45: Änderungen der Gehalte [ $\mu\text{mol/g TG}$ ] an ( <i>Gesamt</i> )-Lycopin, ( <i>all-E</i> )-Lycopin, ( <i>Gesamt</i> )-(Z)-Lycopin im Plasma des Probanden 2 der Kinetik-Pilotstudie II nach dem Verzehr von Tomatenmark	<b>99</b>
Abbildung 46: Änderungen der relativen Anteile [%] von ( <i>all-E</i> )-Lycopin (■) und der Summe der (Z)-Lycopinisomere (□) am ( <i>Gesamt</i> )-Lycopin im Plasma des Probanden 2 der Kinetik-Pilotstudie II nach dem Verzehr von Tomatenmark	<b>100</b>
Abbildung 47: Strukturformeln der im Rahmen dieser Arbeit charakterisierten Lycopinisomere	<b>110</b>
Abbildung 48: HPLC-Chromatogramm eines Plasmaextraktes	<b>111</b>
Abbildung 49: Gehalte an ( <i>Gesamt</i> )-Lycopin [ $\text{mg}/100 \text{ g FM}$ ] der untersuchten Lebensmittel unterteilt in Anteile von ( <i>all-E</i> )-Lycopin (■) und der Summe der (Z)-Lycopinisomere (□)	<b>123</b>
<hr/>	
Abbildung A 1: Änderungen der Gehalte [ $\mu\text{mol/g TG}$ ] an ( <i>Gesamt</i> )-Lycopin im Plasma der Probanden der Kinetik-Pilotstudie I	<b>A33</b>
Abbildung A 2: Änderungen der Gehalte [ $\mu\text{mol/g TG}$ ] an ( <i>Gesamt</i> )-Lycopin, ( <i>all-E</i> )-Lycopin und ( <i>Gesamt</i> )-(Z)-Lycopin im Plasma der Probanden der Kinetik-Pilotstudie II	<b>A34</b>

**Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1:	Zusammenstellung der 72 strukturell bevorzugten Stereoisomere des Lycopins	7
Tabelle 2:	Unterschiede der ( <i>Z</i> )-Lycopinisomere im Vergleich zum ( <i>all-E</i> )-Lycopin	8
Tabelle 3:	Zusammenstellung von Literaturdaten zur Strukturcharakterisierung verschiedener Lycopinisomere	10
Tabelle 4:	Lycopinhaltige Pflanzen [modifiziert nach (Nguyen & Schwartz, 1999)]	16
Tabelle 5:	Prozentuale Lycopinverteilung in den Lipoprotein-Fractionen des Menschen	19
Tabelle 6:	Tägliche Aufnahme von Lycopin durch die Nahrung	20
Tabelle 7:	Einflussfaktoren („SLAMENGI“) auf die Carotinoidbioverfügbarkeit nach (Castenmiller & West, 1998)	24
Tabelle 8:	Lycopinkonzentrationen [ $\mu\text{mol/L}$ ] in Humanserum oder -plasma bei normaler Ernährung	28
Tabelle 9:	Änderung der Lycopinkonzentrationen [ $\mu\text{mol/L}$ ] in Humanserum oder -plasma bei definierter Lycopinsupplementation	31
Tabelle 10:	Lycopinkonzentrationen [ $\text{nmol/g}$ ] in menschlichen Geweben	32
Tabelle 11:	Deklarierte Inhaltsstoffe und Fruchtgehalte der untersuchten Hagebuttenprodukte	46
Tabelle 12:	Alter [ <i>a</i> ] und Body-Mass-Index (BMI) [ $\text{kg/m}^2$ ] (jeweils $\bar{x}$ , Min. – Max.) der weiblichen und männlichen Probanden	48
Tabelle 13:	Zusammenstellung der Wiederfindungsraten des Internen Standards (Echinenon oder $\beta$ -Apo-8'-carotinal) bei der Carotinoidanalyse von Lebensmittel- und Plasmaproben	53
Tabelle 14:	Nachweis und Bestimmungsgrenzen für Carotinoide	54
Tabelle 15:	Linearitätsbereiche der einzelnen Carotinoide mit dem jeweiligen Korrelationskoeffizienten	54
Tabelle 16:	Nachweis und Bestimmungsgrenzen für Tocopherole und Tocotrienole	56

Tabelle 17:	Mittlere relative Anteile [%] des ( <i>all-E</i> )-Lycopins und der Summe der ( <i>Z</i> )-Lycopinisomere am ( <i>Gesamt</i> )-Lycopin in Tomaten und Tomatenprodukten ( $\bar{x} \pm s$ )	<b>73</b>
Tabelle 18:	( <i>Gesamt</i> )-Carotinoidgehalte [ $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ], ( <i>Gesamt</i> )-Lycopin-gehalte [ $\text{mg}/100\text{ g}$ ] ( $\bar{x} \pm s$ ) sowie relative Anteile [%] des ( <i>all-E</i> )-Lycopins und der Summe der ( <i>Z</i> )-Lycopinisomere am ( <i>Gesamt</i> )-Lycopin in verschiedenen Tomaten und Tomatenerzeugnissen	<b>74</b>
Tabelle 19:	Gehalte an Vitamin C [ $\text{mg}/100\text{ g FM}$ ] in Hagebuttenprodukten ( $\bar{x} \pm s$ )	<b>76</b>
Tabelle 20:	( <i>Gesamt</i> )-Carotinoidgehalte [ $\mu\text{mol}/100\text{ g FM}$ ], Gehalte an ( <i>Gesamt</i> )-Lycopin und ( <i>Gesamt</i> )- $\beta$ -Carotin [ $\text{mg}/100\text{ g FM}$ ] ( $\bar{x} \pm s$ ) sowie relative Anteile [%] der ( <i>all-E</i> )-Isomere und der Summe der ( <i>Z</i> )-Isomere am ( <i>Gesamt</i> )-Lycopin- bzw. ( <i>Gesamt</i> )- $\beta$ -Carotingehalt in unterschiedlichen Hagebuttenprodukten	<b>79</b>
Tabelle 21:	( <i>Gesamt</i> )-Carotinoidgehalte [ $\mu\text{mol}/100\text{ g FM}$ ] und Gehalte an ( <i>Gesamt</i> )-Lycopin [ $\text{mg}/100\text{ g FM}$ ] ( $\bar{x} \pm s$ ) sowie relative Anteile [%] des ( <i>all-E</i> )-Lycopins und der Summe der ( <i>Z</i> )-Lycopinisomere am ( <i>Gesamt</i> )-Lycopin in verschiedenen Lebensmitteln	<b>80</b>
Tabelle 22:	Relative Anteile [%] der einzelnen Carotinoide am ( <i>Gesamt</i> )-Carotinoidgehalt im Plasma der Probanden der Tomaten-Interventionsstudie	<b>84</b>
Tabelle 23:	Vergleich der ermittelten Q-Verhältnisse <sup>1</sup> von ausgewählten Lycopinisomeren mit Literaturdaten ( <sup>a</sup> Stahl <i>et al.</i> , 1992; <sup>b</sup> Yeum <i>et al.</i> , 1996; <sup>c</sup> Schierle <i>et al.</i> , 1997; <sup>d</sup> Holloway <i>et al.</i> , 2000; <sup>e</sup> Breitenbach <i>et al.</i> , 2001; <sup>f</sup> Lee & Chen, 2001; <sup>g</sup> Lin & Chen, 2003)	<b>105</b>
Tabelle 24:	Zusammenstellung publizierter absorptionskinetischer Untersuchungen zu Carotinoiden	<b>142</b>
_____		
Tabelle A 1:	Zur photometrischen Konzentrationsbestimmung der Carotinoidlösungen verwendete Lösungsmittel, Wellenlängen und $E_{1\%, 1\text{cm}}$ -Werte der Carotinoide (Craft <i>et al.</i> , 1988; Olmedilla <i>et al.</i> , 1990; Hart & Scott, 1995; Schierle <i>et al.</i> , 1995; Britton <i>et al.</i> , 2004)	<b>A2</b>
Tabelle A 2:	HPLC-Gradient für Reinheitsprüfung	<b>A6</b>
Tabelle A 3:	HPLC-Gradient für HPLC-MS-Analyse	<b>A6</b>

---

Tabelle A 4:	Pipettierschema beim PCL-Test	<b>A9</b>
Tabelle A 5:	HPLC-Gradient für Tomatenproben	<b>A10</b>
Tabelle A 6:	HPLC-Gradient für Hagebuttenproben	<b>A11</b>
Tabelle A 7:	Carotinoid-Standardmischungen	<b>A11</b>
Tabelle A 8:	HPLC-Gradient für Tomaten-Interventionsstudie	<b>A15</b>
Tabelle A 9:	HPLC-Gradient für Raucher-Interventionsstudie	<b>A15</b>
Tabelle A 10:	HPLC-Gradient für Hagebutten-Interventionsstudie I	<b>A15</b>
Tabelle A 11:	HPLC-Gradient für Kinetikstudien	<b>A16</b>
Tabelle A 12:	Relative Anteile <sup>1</sup> [%] der bekannten Lycopinisomere sowie anderer Lycopinmetabolite in Iod-Photo-isomerisierten Lycopingemischen an unterschiedlichen Isomerisierungstagen	<b>A21</b>
Tabelle A 13:	Relative Anteile <sup>1</sup> [%] der bekannten Lycopinisomere in Iod-Photo-isomerisierten Lycopingemischen an unterschiedlichen Isomerisierungstagen	<b>A21</b>
Tabelle A 14:	Flächeneinheiten der Isomerisierungsprodukte in Iod-isomerisierten Lycopingemischen in Abhängigkeit von der zugegebenen Iodmenge ( $\bar{x} \pm s$ )	<b>A22</b>
Tabelle A 15:	Flächeneinheiten der Isomerisierungsprodukte in Iod-Photo-isomerisierten Lycopingemischen in Abhängigkeit von der Bestrahlungsart und -dauer	<b>A22</b>
Tabelle A 16:	Flächeneinheiten (FE) und relative Anteile <sup>1</sup> [%] von ( <i>all-E</i> )-Lycopin und ( <i>Z</i> )-Lycopin-isomeren im Lycopinstandard in Abhängigkeit von der Standzeit [h] im Autosampler ( $\bar{x} \pm s$ )	<b>A23</b>
Tabelle A 17:	Absorptionsmaxima [nm] und Q-Verhältnisse der isolierten Lycopinisomere in verschiedenen organischen Lösungsmitteln	<b>A23</b>
Tabelle A 18:	<sup>1</sup> H-NMR-Daten der isolierten Lycopinisomere (CDCl <sub>3</sub> , ref = 7.27 ppm; T = 25°C; 500 MHz)	<b>A24</b>
Tabelle A 19:	Antioxidative Aktivitäten ( $\bar{x} \pm s$ ) sowie relative antioxidative Potentiale ausgewählter Lycopinisomere in TEAC- und PCL-Test	<b>A26</b>
Tabelle A 20:	Gehalte [mg/100 g FM] an Vitamin C und Carotinoiden in Tomaten- und Tomatenprodukten ( $\bar{x} \pm s$ )	<b>A26</b>

---

Tabelle A 21: Anteile vom ( <i>all-E</i> )-Lycopin und der Summe der ( <i>Z</i> )-Lycopinisomere [%] an den ( <i>Gesamt</i> )-Lycopingehalten in Tomaten und Tomatenprodukten ( $\bar{x} \pm s$ )	<b>A27</b>
Tabelle A 22: Gehalte [mg/100 g] an Carotinoiden (unverseifter Extrakt) und Vitamin C in verschiedenen Reifestadien (grün, orange, rot) der Hagebuttensorte <i>Rosa rugosa</i> ( $\bar{x} \pm s$ )	<b>A28</b>
Tabelle A 23: Gehalte an Lycopin [mg/100 g], ( <i>Gesamt</i> )-Tocopherolen [ $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ] und Ascorbinsäure [mg/100 g] im Interventionsmaterial der verschiedenen Studien ( $\bar{x} \pm s$ )	<b>A29</b>
Tabelle A 24: Gehalte [ $\mu\text{mol}/\text{L}$ ] an Lycopinisomeren im Plasma der Probanden der Tomaten-Interventionsstudie ( $\bar{x} \pm s$ )	<b>A29</b>
Tabelle A 25: Relative Anteile [%] der Lycopinisomere an den ( <i>Gesamt</i> )-Lycopingehalten im Plasma der Probanden der Tomaten-Interventionsstudie ( $\bar{x} \pm s$ )	<b>A30</b>
Tabelle A 26: Gehalte [ $\mu\text{mol}/\text{L}$ ] an Lutein, Zeaxanthin, Canthaxanthin, $\beta$ -Cryptoxanthin, $\alpha$ -Carotin, $\beta$ -Carotin im Plasma der Probanden der Tomaten-Interventionsstudie ( $\bar{x} \pm s$ )	<b>A30</b>
Tabelle A 27: Gehalte an ( <i>Gesamt</i> )-Tocopherol [ $\mu\text{mol}/\text{L}$ ], Vitamin C [ $\mu\text{mol}/\text{L}$ ], Triglyceriden [mg/dL] im Plasma sowie Gehalte an GSH [ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ], GSSG [ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ], GSH/GSSG, TBARS [nmol/mL] im Vollblut der Probanden der Tomaten-Interventionsstudie ( $\bar{x} \pm s$ )	<b>A31</b>
Tabelle A 28: Gehalte an ( <i>Gesamt</i> )-Lycopin [ $\mu\text{mol}/\text{L}$ ], ( <i>Gesamt</i> )-Tocopherol [ $\mu\text{mol}/\text{L}$ ], Vitamin C [ $\mu\text{mol}/\text{L}$ ], Triglyceriden [mg/dL] im Plasma sowie Gehalte an GSH [ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ], GSSG [ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ], GSH/GSSG, TBARS [nmol/mL] im Vollblut der Probanden der Raucher-Interventionsstudie ( $\bar{x} \pm s$ )	<b>A32</b>

**Abkürzungsverzeichnis**

1D	eindimensional
2D	zweidimensional
$\delta$	chemische Kopplung
a	Jahre
ABTS	2,2'-Azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure)
ACN	Acetonitril
ACW	Antioxidative Kapazität wasserlöslicher Substanzen
AMVN	2,2'-azobis(2,4-dimethylvaleronitril)
Ascorbins.	Ascorbinsäure
AUC	Area under the concentration-time curve
Ausgangslsg.	Ausgangslösung
BHT	Butylhydroxytoluol
BMI	Body-Mass-Index
BuOH	Butanol
BW	Blindwert
bzw.	beziehungsweise
c	Konzentration
C	Kohlenstoff
ca.	zirka
COSY	Correlation Spectroscopy
d	day/Tag
DAD	Diodenarraydetektor
Canthax.	Canthaxanthin
Car.	Carotin
CHYL	Chylomikronen
Cryptox.	Cryptoxanthin
dest.	destilliert
DNP	2,4-Dinitrophenylhydrazin
E	Extinktion
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EPIC	European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition
<i>et al.</i>	et altera
FE	Flächeneinheiten
Fe <sup>2+</sup> /Fe(II)	zweiwertiges Eisen
Fe <sup>3+</sup> /Fe(III)	dreiwertiges Eisen
Fe/NTA	Eisennitriлотriacetat
FM	Frischmasse
FRAP	Ferric reducing ability of plasma / Ferric reducing antioxidant power
GAE	Gallussäure-Äquivalente
ges.	gesamt
getr.	getrocknete
GSH	Glutathion, reduzierte Form
GSSG	Glutathion, oxidierte Form
h	Stunde

---

HCl	Salzsäure
HDL	High Density Lipoprotein, Lipoprotein hoher Dichte
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie)
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Schwefelsäure
IS	Interner Standard
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
k. A.	keine Angabe
KG	Körpergewicht
KK	Kalibrierkurve
konz.	konzentriert
LC	Liquid Chromatography
LDL	Low Density Lipoprotein, Lipoprotein geringer Dichte
Lut	Lutein
Lyc	Lycopin
m	männlich oder Masse
M	Molare Masse
m/z	Masse-Ladungsverhältnis
Max	Maximum
MeOH	Methanol
min	Minuten
Min	Minimum
MnO <sub>2</sub>	Mangandioxid
MS	Massenspektroskopie
MW	Arithmetisches Mittel
NaOH	Natriumhydroxid
n	Anzahl, Probenanzahl
nd	nicht detektierbar
NH <sub>4</sub> Ac	Ammoniumacetat
NMR	Nuklear Magnet Resonanz
p	Signifikanz
PCL	Photochemolumineszens
Prod.	Produkte
PUFA	Poly unsaturated fatty acid, mehrfach ungesättigte Fettsäuren
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
RP	Reverse-phase
RT	Raumtemperatur
s	Standardabweichung
sec	Sekunden
TBARS	Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen
TCA	Trichloressigsäure
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity
THF	Tetrahydrofuran
TLR	Triglycerid-reiche Lipoproteinfraktion
TM	Trockenmasse

---

Tocoph.	Tocopherol
TOCSY	Total Correlation Spectroscopy
TROESY	Transverse Rotating Frame Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
Trolox <sup>®</sup>	6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylsäure
u. a.	unter anderem
U/min	Umdrehungen pro Minute
unidentif.	unidentifiziert
UV	Ultraviolett
v. a.	vor allem
VERA	Verbundstudie Ernährungserhebung und Risikofaktorenanalytik
VLDL	Very Low Density Lipoprotein, Lipoproteine sehr geringer Dichte
w	weiblich
wo	Wochen
$\bar{x}$	Mittelwert
z. B.	zum Beispiel
Zeax	Zeaxanthin
Ø	Durchschnitt, durchschnittlich

## 1 Einleitung und Zielsetzung

In den letzten Jahrzehnten hat die Häufigkeit von degenerativen Erkrankungen stetig zugenommen. Krebs und Herz-Kreislauf-Erkrankungen sind in Europa und in anderen Industrieländern die häufigste Todesursache beim Menschen. Die Rolle der Ernährung bei der Prävention dieser Erkrankungen steht im Mittelpunkt zahlreicher Untersuchungen. Epidemiologischen Studien belegen einen Zusammenhang zwischen dem häufigen Verzehr von Obst und Gemüse und dem verringerten Auftreten bestimmter degenerativer Erkrankungen. Tomaten sind neben Kartoffeln das am häufigsten verzehrte Gemüse in Europa und machen in Deutschland etwa 22 % des Gesamtgemüseverzehrs aus. Sie enthalten neben verschiedenen Vitaminen und Mineralstoffen auch eine Vielzahl von sekundären Pflanzenstoffen, wie beispielsweise Carotinoide und Polyphenole. Verschiedene epidemiologische Studien deuten darauf hin, dass auch der Verzehr von Tomaten und Tomatenprodukten organspezifische, chemopräventive Effekte auf einige Krebsarten und auf kardiovaskuläre Erkrankungen hat. Obwohl die Mechanismen der protektiven Wirkungen bis heute nicht eindeutig geklärt sind, gibt es zahlreiche Hinweise darauf, dass ein Teil der Effekte dem Lycopin zuzuschreiben ist.

Lycopin ist ein azyklisches Carotinoid, welches nur in wenigen Lebensmitteln zu finden ist. Die Hauptlycopinquellen des Menschen sind Tomaten und Tomatenprodukte. Aber auch Wassermelonen, Guaven, Papayas, Sanddorn und Hagebutten enthalten den roten Farbstoff. Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war die Ermittlung der Gehalte an Carotinoiden, speziell an Lycopin und seinen Isomeren, sowie an anderen relevanten antioxidativen Inhaltsstoffen (Vitamin C, Vitamin E) in verschiedenen Lebensmitteln.

Um seine biologische Wirkung entfalten zu können, muss Lycopin in den Körper aufgenommen werden. Die Bioverfügbarkeit von Lycopin wurde in verschiedenen Human-Interventionsstudien untersucht. Ziel dieser Studien war zum einen, die Lycopinaufnahmen aus verschiedenen Lebensmitteln miteinander zu vergleichen. Der zweite Schwerpunkt lag in der Untersuchung der Lycopin-Isomerenmuster in den verzehrten Lebensmitteln und im Plasma der Probanden. Lycopin liegt in Pflanzen hauptsächlich in der (*all-E*)-Konfiguration vor, wogegen im menschlichen Plasma und Gewebe eine hohe Anzahl von verschiedenen (*Z*)-Lycopinisomeren zu finden sind. Die beobachteten Änderungen der Isomeren-

---

muster im Plasma lieferten neue Erkenntnisse zur Metabolisierung, speziell zur Isomerisierung, von Lycopin im Körper.

Ein weiterer Schwerpunkt der Arbeit lag in der Aufklärung der Struktur von ausgewählten Lycopinisomeren, welche auch in Lebensmitteln und im menschlichen Körper zu finden sind. Von diesen Isomeren wurde außerdem die antioxidative Kapazität mit zwei unterschiedlichen *in-vitro*-Methoden bestimmt. Ausgangspunkt dieser Untersuchungen war, dass aufgrund von Daten aus epidemiologischen Studien, Tierstudien und Zellversuchen die antioxidative Aktivität von Lycopin als einer der Wirkmechanismen in der Krankheitsprävention angesehen wird. Zusätzlich dazu zeigt Lycopin einen Effekt auf die Zell-Zell-Kommunikation, auf die Aktivierung von Phase-II-Enzymen, auf die Inhibierung des Tumorzellwachstums etc.. Die genauen Mechanismen, auf welchen die biologischen Wirkungen des Lycopins beruhen, sind bis heute noch nicht vollständig geklärt und bedürfen weiterer intensiver Untersuchungen.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Allgemeine Aussagen zu der Stoffklasse der Carotinoide

**Carotinoide** sind eine in der Natur weit verbreitete Farbstoffklasse. Über 700 verschiedene Carotinoide konnten bis heute aus natürlichen Quellen isoliert und charakterisiert werden (Britton *et al.*, 2004). Jedoch sind nur etwa 50 dieser Verbindungen in der menschlichen Nahrung zu finden sind (Nguyen & Schwartz, 1999). Carotinoide können ausschließlich von höheren Pflanzen, Bakterien, Algen und Pilzen synthetisiert werden. Vom menschlichen und tierischen Organismus werden sie ausschließlich über die Nahrung aufgenommen. Die wichtigsten Nahrungsquellen für Carotinoide sind intensiv rot und gelb gefärbte Obst- und Gemüsesorten sowie dunkelgrünes Blattgemüse. Oftmals wird die Farbe der Carotinoide vom Grün des Chlorophylls überdeckt. Dieser Zusammenhang ist besonders im Herbst zu beobachten, wenn kein Chlorophyll mehr gebildet wird und die typische Herbstfärbung durch die Carotinoide eintritt.

Die **Hauptaufgaben** von Carotinoiden in der Natur sind neben der Farbgebung auch der Schutz von Zellen vor photooxidativen Schäden sowie die Wirkung als lichtabsorbierender Farbstoff in der Photosynthese (Demmig-Adams *et al.*, 1996). Einige Nahrungscarotinoide können außerdem im Körper von Mensch und Tier in Retinol umgewandelt werden und somit zur Vitamin-A-Versorgung beitragen. Voraussetzung für die Provitamin-A-Wirksamkeit ist, dass mindestens ein  $\beta$ -Ionon-Ring und das Polyensystem von Retinol vorhanden ist. Etwa 60 Vitamin-A-aktive Carotinoide sind bisher bekannt, von denen jedoch nur ein sehr geringer Teil (z. B.  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -Carotin) eine Rolle in der menschlichen Ernährung spielt (Elmadfa & Leitzmann, 1998).

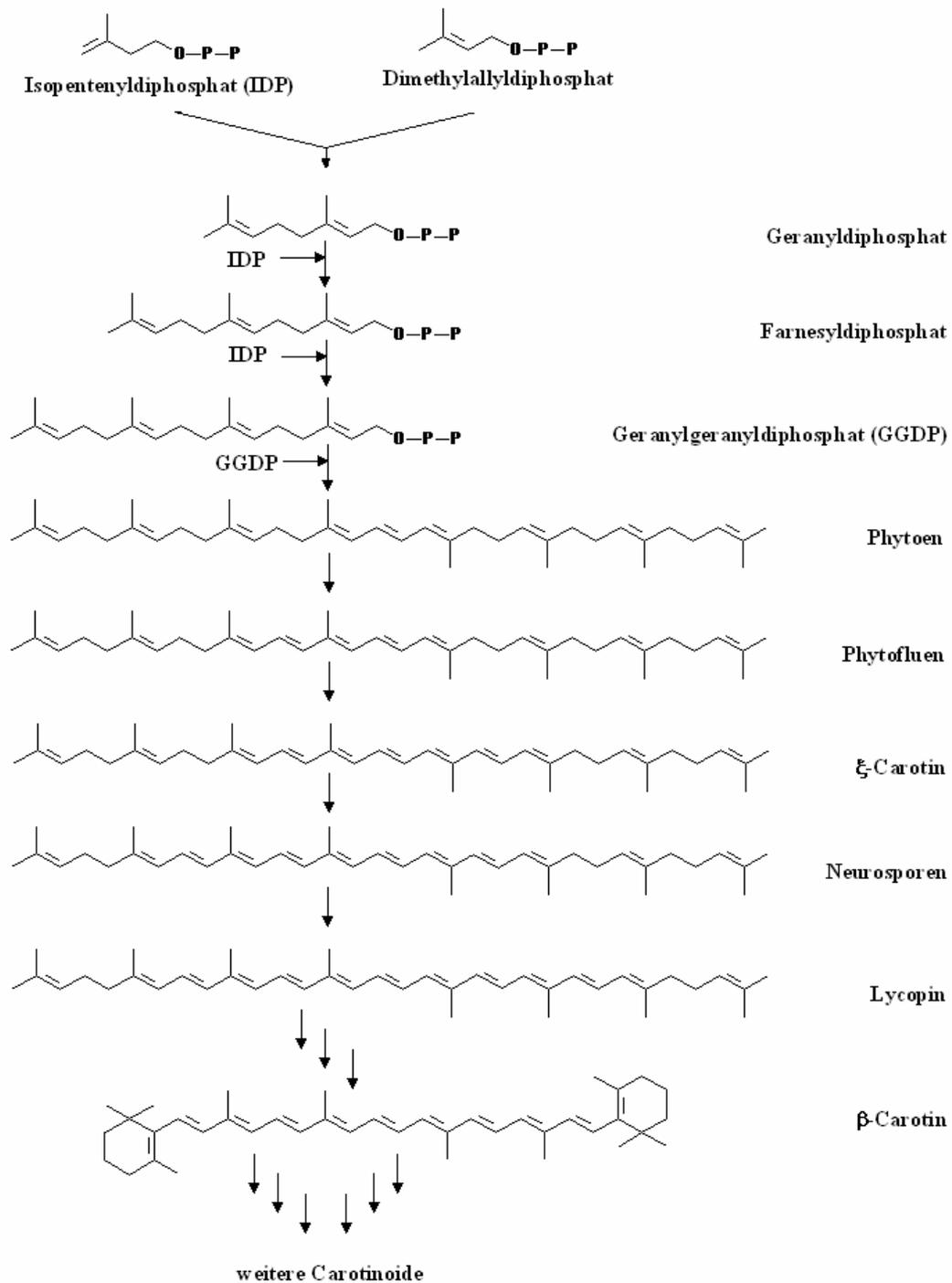
Carotinoide sind Tetraterpene, die aus acht Isopreneinheiten aufgebaut sind. Die Biosynthese der Carotinoide (siehe Abbildung 1) geht vom Isopentenyldiphosphat (IDP) und seinem Isomer dem Dimethylallyldiphosphat aus. Mit Hilfe von Prenyltransferase wird aus diesen beiden Verbindungen Geranyldiphosphat und durch weitere Reaktion mit IDP Farnesyl- und Geranylgeranyldiphosphat (GGDP) gebildet. Durch eine „Schwanz-zu-Schwanz“-Kondensation zweier GGDP-Moleküle mittels Phytoensynthetasen entsteht das Tetraterpen Phytoen. Über vier durch Phytoen- bzw.  $\xi$ -Carotindesaturasen vermittelte Dehydrierungsreaktionen, bei denen jeweils zwei Wasserstoffatome entfernt werden und so-

mit das konjugierte Doppelbindungssystem um jeweils zwei Doppelbindungen erweitert wird, entstehen Phytofluen,  $\zeta$ -Carotin, Neurosporin und letztendlich das Lycopin. Die Engruppen des Neurosporens bzw. des Lycopins, welche eine zentrale Rolle im Biosyntheseweg von Carotinoiden einnehmen, können mittels Cyclasen zu Ringstrukturen modifiziert werden. Dabei können monocyclische ( $\delta$ -Carotin,  $\gamma$ -Carotin) oder dicyclische Carotinoide ( $\alpha$ -Carotin,  $\beta$ -Carotin,  $\epsilon$ -Carotin) entstehen sowie auch Ringstrukturen, welche mit Oxogruppen substituiert sind (Shi & Le Maguer, 2000; Bramley, 2002; Park *et al.*, 2002; Lewinsohn *et al.*, 2005).

Die Carotinoide werden in zwei **Hauptgruppen** eingeteilt. Die erste Gruppe sind die Carotine, welche ausschließlich aus Kohlenstoff und Wasserstoff bestehen. Zu den Vertretern der Carotine zählen beispielsweise  $\alpha$ -Carotin,  $\beta$ -Carotin und Lycopin. Die zweite Gruppe bilden die Xanthophylle (Oxocarotinoide), welche ein oder mehrere Sauerstoffatome in Form von Hydroxyl-, Epoxy-, Aldehyd- oder Ketogruppen enthalten. Zu den Xanthophyllen sind beispielsweise Lutein, Zeaxanthin und Canthaxanthin zuzuordnen.

Die **Bezeichnung der Carotinoide** erfolgt üblicherweise mittels eines Trivialnamens, welcher sich in den meisten Fällen von der biologischen Quelle ableitet, aus denen die Verbindung erstmalig isoliert wurde. Eine weitere Bezeichnungsmöglichkeit ist der IUPAC-Name, welcher von der International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) und der International Union of Biochemistry (IUB) entwickelt wurde. Der IUPAC-Name beschreibt die vollständige Struktur eines Carotinoids, inklusive der Stereochemie (Britton *et al.*, 2004).

Aufgrund ihrer langen Kohlenstoffketten sind Carotinoide sehr unpolare Verbindungen und demzufolge nicht bzw. nur sehr gering in Wasser aber gut in Lipiden und unpolaren Lösungsmitteln wie z. B. Hexan oder Toluol löslich. Die **Lipophilität** ist bei den Carotinen stärker ausgeprägt als bei den Xanthophyllen. Durch ihre **Polarität** sind Carotinoide in den hydrophoben Kompartimenten von Zellen, wie beispielsweise den Inneren von Zellmembranen, zu finden. Die Bindung an Proteine ermöglicht den Carotinoiden jedoch, auch in wässrigen Umgebungen zu existieren (Britton, 1995).



**Abbildung 1:** Biosynthese von Carotinoiden

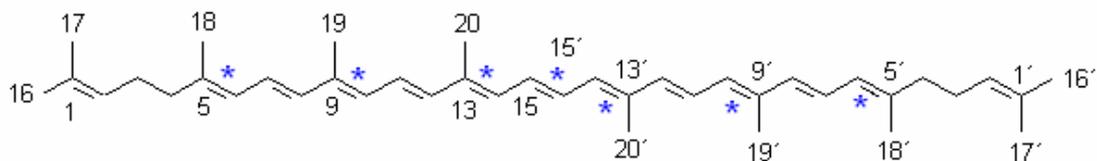
## 2.2 Lycopin

Lycopin wurde erstmals 1873 von Hartsen *et al.* aus den Beeren einer Giftpflanze mit dem Namen Schmerzwurz (*Tamus communis L.*) als rote kristalline Substanz isoliert. Zwei Jahre später (1875) stellte Millardet *et al.* Extrakte aus Tomaten her, welche hohe Mengen

an Lycopin enthielten. Jedoch gab Schunk erst 1903 der roten Verbindung den Namen Lycopin, nachdem er beobachtet hatte, dass der aus Tomaten erhaltene Farbstoff ein anderes Absorptionsspektrum zeigte als die Carotine der Karotten (Nguyen & Schwartz, 1999).

### 2.2.1 Chemische Struktur

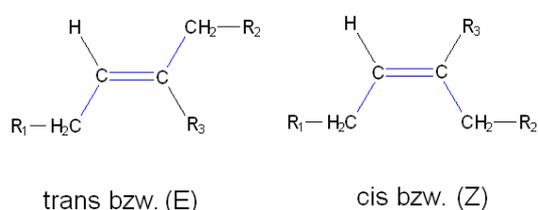
Lycopin (IUPAC-Name:  $\Psi,\Psi$ -Carotin) ist eine symmetrische, offenkettige, ungesättigte Kohlenwasserstoffverbindung, welche aus 40 Kohlenstoffatomen und 56 Wasserstoffatomen besteht und demzufolge der Gruppe der Carotine zuzuordnen ist. Die Strukturformel wurde 1932 von Karree und kurze Zeit später auch von Kuhn und Grundmann erstmalig beschrieben (Reich *et al.*, 1960). Die Polyenkette ist linear angeordnet und hat keine Ringstrukturen. Das Lycopinmolekül besitzt insgesamt 13 Doppelbindungen, von denen im Chromophor 11 Doppelbindungen konjugiert vorliegen (Abbildung 2).



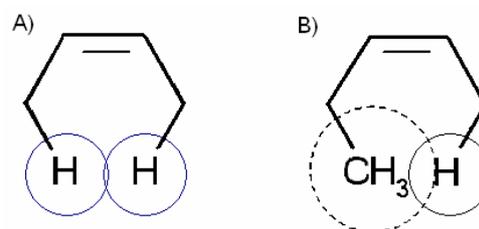
**Abbildung 2:** Strukturformel von (*all-E*)-Lycopin (die stereochemisch effektiven Doppelbindungen sind mit \* gekennzeichnet)

Aufgrund der im Molekül vorkommenden Doppelbindungen ist die freie Drehbarkeit der Substituenten um die Kohlenstoff-Kohlenstoff-Achse beim Lycopin eingeschränkt und das Phänomen der *cis-trans*-Isomerie zu beobachten. Prinzipiell kann jede Doppelbindung der Polyenkette durch 180°-Rotation um die Doppelbindungen in zwei Konfigurationen (*trans*- und *cis*-Konfiguration) vorliegen (Abbildung 3). Nachfolgend wird die *all-trans*-Konfiguration mit (*all-E*) und die *cis*-Konfigurationen mit (*Z*) bezeichnet. Aufgrund der hohen Doppelbindungsanzahl können die Carotinoide zusätzlich zur (*all-E*)-Form in sehr vielen verschiedenen mono- und poly-(*Z*)-Konfigurationen auftreten. Die Anwesenheit von (*Z*)-Doppelbindungen führt zu sterischen Hinderungen zwischen benachbarten Wasserstoffatomen und/oder Methylgruppen, so dass die *cis*-Isomere prinzipiell thermodynamisch instabiler sind als die *all-trans*-Form. Einige der Doppelbindungen im Molekül sind jedoch in der nicht-planaren „twisted“-Konformation aufgrund der stärkeren Hinderung zwischen Wasserstoff und Methylgruppe im Vergleich zu zwei Wasserstoffatomen (siehe Abbildung

4) als „stereochemisch inaktiv“ anzusehen. Isomere, die solche sterisch gehinderten Doppelbindungen enthalten, sind extrem instabil und deshalb in der Natur kaum zu finden (Britton, 1995). Kalkulationen der relativen sterischen Energie ( $\Delta E_S$ ) von verschiedenen mono-(Z)-Isomeren im Vergleich zu (*all-E*)-Lycopin bestätigen diese Unterschiede zwischen den Lycopinisomeren. Bei dreifach substituierten Doppelbindungen (d. h. für (5Z)-, (9Z)- und (13Z)-Lycopin) sind bei der Umwandlung in die (Z)-Konfiguration keine bzw. nur geringe sterische Behinderungen zu beobachten ( $\Delta E_S < 1$  kcal/mol). Im Gegensatz dazu führen die Wechselwirkungen zwischen Methylgruppe und Wasserstoffatom bei zweifach substituierten Doppelbindungen (d. h. für (7Z)- und (11Z)-Lycopin) zu erheblichen sterischen Hinderungen ( $\Delta E_S$ : 3-4 kcal/mol) (Müller *et al.*, 1997).



**Abbildung 3:** *cis-trans*-Isomerie an Doppelbindungen



**Abbildung 4:** A) Sterisch ungehinderte und B) sterisch gehinderte Doppelbindungen in der *cis*-Konfiguration

Theoretisch kann Lycopin aufgrund seiner 11 konjugierten Doppelbindungen in 2048 ( $2^{11}$ ) verschiedenen konfigurationsisomeren Formen vorliegen. Von diesen 11 Doppelbindungen sind jedoch aus den vorher beschriebenen Gründen nur 7 als „stereochemisch effektive“ Doppelbindungen ( $n$ ) anzusehen (siehe Abbildung 2). Zur Ermittlung der Isomerenanzahl ist weiterhin von Bedeutung, dass Lycopin ein strukturell und stereochemisch symmetrisches Chromophor ist. Nach Zechmeister lässt sich die Anzahl der strukturell begünstigten Isomere ( $N$ ) bei symmetrischen Ketten und ungerader Anzahl effektiver Doppelbindungen folgendermassen berechnen:  $N = 2^{(n-1)/2} (2^{(n-1)/2} + 1)$ . Für Lycopin ( $n = 7$ ) ergibt sich demzufolge eine Isomerenanzahl von 72 (Zechmeister, 1944). Diese 72 strukturell bevorzugten Stereoisomere des Lycopins sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

**Tabelle 1:** Zusammenstellung der 72 strukturell bevorzugten Stereoisomere des Lycopins

<b><i>all-trans</i></b> 1 Isomer	<b><i>mono-cis</i></b> 4 Isomere	<b><i>di-cis</i></b> 12 Isomere	<b><i>tri-cis</i></b> 19 Isomere
<i>(all-E)</i>	<i>(5Z)</i> <i>(9Z)</i> <i>(13Z)</i> <i>(15Z)</i>	<i>(5Z,9Z)</i> <i>(5Z,13Z)</i> <i>(5Z,15Z)</i> <i>(5Z,13'Z)</i> <i>(5Z,9'Z)</i> <i>(5,5'Z)</i> <i>(9Z,13Z)</i> <i>(9Z,15Z)</i> <i>(9Z,13'Z)</i> <i>(9Z,9'Z)</i> <i>(13Z,15Z)</i> <i>(13Z,13'Z)</i>	<i>(5Z,9Z,13Z)</i> <i>(5Z,9Z,15Z)</i> <i>(5Z,9Z,5'Z)</i> <i>(5Z,9Z,9'Z)</i> <i>(5Z,9Z,13'Z)</i> <i>(5Z,13Z,15Z)</i> <i>(5Z,13Z,5'Z)</i> <i>(5Z,13Z,9'Z)</i> <i>(5Z,13Z,13'Z)</i> <i>(5Z,15Z,5'Z)</i> <i>(5Z,15Z,9'Z)</i> <i>(5Z,15Z,13'Z)</i> <i>(5Z,9'Z,13'Z)</i> <i>(9Z,13Z,15Z)</i> <i>(9Z,13Z,9'Z)</i> <i>(9Z,13Z,13'Z)</i> <i>(9Z,15Z,9'Z)</i> <i>(9Z,15Z,13'Z)</i> <i>(13Z,15Z,13'Z)</i>
<b><i>tetra-cis</i></b> 19 Isomere	<b><i>penta-cis</i></b> 12 Isomere	<b><i>hexa-cis</i></b> 4 Isomere	<b><i>hepta-cis</i></b> 1 Isomer
<i>(5Z,9Z,13Z,15Z)</i> <i>(5Z,9Z,13Z,5'Z)</i> <i>(5Z,9Z,13Z,9'Z)</i> <i>(5Z,9Z,13Z,13'Z)</i> <i>(5Z,9Z,15Z,5'Z)</i> <i>(5Z,9Z,15Z,9'Z)</i> <i>(5Z,9Z,15Z,13'Z)</i> <i>(5Z,9Z,5'Z,9'Z)</i> <i>(5Z,9Z,5'Z,13'Z)</i> <i>(5Z,9Z,9'Z,13'Z)</i> <i>(5Z,13Z,15Z,5'Z)</i> <i>(5Z,13Z,15Z,9'Z)</i> <i>(5Z,13Z,15Z,13'Z)</i> <i>(5Z,13Z,5'Z,13'Z)</i> <i>(5Z,13Z,9'Z,13'Z)</i> <i>(5Z,15Z,9'Z,13'Z)</i> <i>(9Z,13Z,15Z,9'Z)</i> <i>(9Z,13Z,15Z,13'Z)</i> <i>(9Z,13Z,9'Z,13'Z)</i>	<i>(5Z,9Z,13Z,15Z,5'Z)</i> <i>(5Z,9Z,13Z,15Z,9'Z)</i> <i>(5Z,9Z,13Z,15Z,13'Z)</i> <i>(5Z,9Z,13Z,5'Z,9'Z)</i> <i>(5Z,9Z,13Z,5'Z,13'Z)</i> <i>(5Z,9Z,13Z,9'Z,13'Z)</i> <i>(5Z,9Z,15Z,5'Z,9'Z)</i> <i>(5Z,9Z,15Z,9'Z,13'Z)</i> <i>(5Z,13Z,15Z,5'Z,9'Z)</i> <i>(5Z,13Z,15Z,5'Z,15'Z)</i> <i>(5Z,13Z,15Z,9'Z,15'Z)</i> <i>(9Z,13Z,15Z,9'Z,13'Z)</i>	<i>(5Z,9Z,13Z,15Z,5'Z,9'Z)</i> <i>(5Z,9Z,13Z,15Z,5'Z,13'Z)</i> <i>(5Z,9Z,13Z,15Z,9'Z,13'Z)</i> <i>(5Z,9Z,13Z,5'Z,9'Z,13'Z)</i>	<i>(5Z,9Z,13Z,15Z,5'Z,9'Z,13'Z)</i>

Die Bildungswege der (Z)-Lycopinisomere sind bis heute noch kaum geklärt. In Pflanzen erfolgen die Umwandlungsprozesse teilweise mit Hilfe von Enzymen. Beispielsweise wird das von Tangerine-Tomaten bekannte (7Z,9Z,7'Z,9'Z)-Lycopin (Prolycopin) durch eine spezifische Prolycopin-Isomerase (CrtISO) zu (*all-E*)-Lycopin umgewandelt. Dagegen scheint die Bildung von (5Z)-, (9Z)- und (13Z)-Lycopin in Pflanzen durch nicht-enzymatische Isomerisierungsreaktionen aus (*all-E*)-Lycopin zu erfolgen (Breitenbach *et al.*, 1999; Giuliano *et al.*, 2002; Breitenbach & Sandmann, 2005). Lee und Chen vermuteten außer-

dem, dass mono-(*Z*)-Isomere durch Umwandlungen von (*all-E*)-Lycopin entstehen und aus diesen mono-(*Z*)-Isomeren dann di-(*Z*)-Isomere und in weiteren Schritten die poly-(*Z*)-Isomere gebildet werden (Lee & Chen, 2001).

## 2.2.2 Strukturcharakterisierung einzelner Lycopinisomere

Abgesehen von wenigen Ausnahmen, liegt Lycopin in Pflanzen hauptsächlich als (*all-E*)-Lycopin vor, welches thermodynamisch am stabilsten ist. In einigen wenigen Pflanzen kommt Lycopin jedoch auch in hohen Anteilen in der (*Z*)-Konfiguration vor. Beispielsweise ist Lycopin in Tangerine-Tomaten, einer Tomatensorte mit gelb-orangen Früchten, über 90 % in der tetra-*cis*-Form (*7Z,9Z,7'Z,9'Z*)-Lycopin (Prolycopin) zu finden (Isaacson *et al.*, 2002; Lewinsohn *et al.*, 2005). Auch eine bestimmte Aprikosenspezies (*Prunus armeniaca L.*) zeigt ein auffälliges Lycopinisomerenmuster. Etwa 53 % des enthaltenen Lycopingehaltes liegt als (*7Z,9Z*)-Lycopin und nur 8 % als (*all-E*)-Lycopin vor (Schierle *et al.*, 1997). In Proben von Tier (Boileau *et al.*, 2000; Ferreira *et al.*, 2000; Korytko *et al.*, 2003) und Mensch dominieren ebenfalls die (*Z*)-Konfigurationen. In menschlichem Blut machen die verschiedenen (*Z*)-Isomere über 50 % und in menschlichen Geweben sogar über 75 % des (*Gesamt*)-Lycopins aus (Krinsky *et al.*, 1990; Stahl *et al.*, 1992; Clinton *et al.*, 1996; Fröhlich *et al.*, 2006). Zwischen 20 und 30 verschiedene Lycopinisomere konnten im Humanblut bzw. -gewebe beobachtet werden (Clinton *et al.*, 1996; Clinton, 1998), jedoch wurde nur von wenigen dieser Stereoisomere die Struktur bisher eindeutig geklärt.

Die chemischen und physikalischen Eigenschaften der verschiedenen Lycopinisomere sind annähernd gleich, jedoch sind in einigen Punkten geringfügige Unterschiede feststellbar (siehe Tabelle 2). Einige dieser Eigenschaften können für die Charakterisierung der Struktur einzelner Isomere bedingt zu Hilfe genommen werden.

**Tabelle 2:** Unterschiede der (*Z*)-Lycopinisomere im Vergleich zum (*all-E*)-Lycopin

<p><b>Chemische Eigenschaften:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Abnahme des Schmelzpunktes</li> <li>2. Löslichkeiten</li> </ol>
<p><b>Spektroskopische Eigenschaften:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. hypochromer Effekt: Verschiebung des Absorptionsmaximums (<math>\lambda_{\max}</math>) zu kürzeren Wellenlängen hin</li> <li>2. hypochromer Effekt: Abnahme der Farbintensität und des Extinktionskoeffizienten</li> <li>3. Verringerung der Feinstruktur des UV-vis-Spektrums</li> <li>4. Auftreten des sogenannten „<i>cis</i>-Peaks“</li> </ol>

Besonders der sogenannte „*cis*-Peak“ (*cis*-Bande) und das daraus ermittelbare Q-Verhältnis (Verhältnis zwischen „*cis*-Peak“ und Hauptabsorptionsmaximum) liefern wichtige Informationen für die Strukturzuordnung von Konfigurationsisomeren. Der Grund für das Auftreten eines „*cis*-Peaks“ im UV-Bereich liegt in der Änderung der Molekülsymmetrie. Das langgestreckte Molekül des (*all-E*)-Lycopins besitzt ein Symmetriezentrum, was bedeutet, dass der Grundzustand symmetrisch ist und Übergänge in einen g-Zustand verboten sind. Beim Vorliegen von (*Z*)-Doppelbindungen ist diese Symmetrie nicht mehr gegeben und demzufolge sind Übergänge in angeregte g-Zustände erlaubt. Diese Änderung der Elektronenstruktur bedingt das zusätzliche Absorptionsmaximum bei etwa 320 - 380 nm. Die Intensität dieser Absorptionsbande ist um so grösser, je näher sich die *cis*-Bindung am Molekülzentrum befindet, d. h. beim (*15Z*)-Lycopin ist der „*cis*-Peak“ am grössten. Bei symmetrischen di- oder poly-(*Z*)-Molekülen ist die „*cis*-Bande“ dagegen nur schwach ausgebildet. (Zechmeister & Schroeder, 1943; Britton *et al.*, 1995)

Schon seit einigen Jahren steht die Strukturidentifizierung einzelner Lycopinisomere im Blickpunkt der Untersuchungen verschiedener Arbeitsgruppen. Die dabei entstandenen Daten lieferten jedoch teilweise voneinander abweichende Informationen zur Strukturzuordnung einzelner Lycopinisomere. Tabelle 3 zeigt eine Zusammenstellung der bis heute vorhandenen Literaturquellen, die sich mit der Strukturcharakterisierung von Lycopinisomeren beschäftigen. Die meisten Arbeitsgruppen ordneten die einzelnen Isomere nur aufgrund ihrer UV-vis- oder DAD-Daten bestimmten Isomerenstrukturen zu oder haben die Technik der Isomerencharakterisierung nicht angegeben. In einigen wenigen Quellen wurde jedoch auch eine Identifizierung ausgewählter Lycopinisomere mittels NMR-Spektroskopie vorgenommen.

**Tabelle 3:** Zusammenstellung von Literaturdaten zur Strukturcharakterisierung verschiedener Lycopinisomere

Literaturquelle	Charakterisierte Isomere [Retentionszeiten]	HPLC-Bedingungen	Methoden der Strukturcharakterisierung
(Hengartner <i>et al.</i> , 1992)	( <i>9Z,13'Z</i> )-Lycopin [~14,7 min] ( <i>9Z,9'Z</i> )-Lycopin [~15,5 min] ( <i>13Z</i> )-Lycopin [~18,4 min] ( <i>7Z,7'Z</i> )-Lycopin [~21 min] ( <i>9Z</i> )-Lycopin [~23,2 min] ( <i>7Z</i> )-Lycopin [~26,6 min] ( <i>5Z,5'Z</i> )-Lycopin [~26,3 min] ( <i>all-E</i> )-Lycopin [~26,8 min] ( <i>5Z</i> )-Lycopin [~28,2 min]	C <sub>18</sub> -Säule, Isokratisch mit Hexan- <i>N</i> -Ethyl- diisopropylamin	Synthese oder semipräparative HPLC zur Isolierung, MS, NMR, UV-vis-Daten (Q-Verhältnisse)

	ohne Angabe von Retentionszeiten: (15Z)-Lycopin (7Z,9Z)-Lycopin (7Z,9Z,7'Z,9'Z)-Lycopin (5Z,9'Z)-Lycopin (5Z,9Z,5'Z)-Lycopin (5Z,13Z,5'Z)-Lycopin		
(Stahl & Sies, 1992)	( <i>all-E</i> )-Lycopin [~13,3 min] (9Z)-Lycopin [~13,8 min] (13Z)-Lycopin [~14,1 min] (15Z)-Lycopin [~14,4 min]	C <sub>18</sub> -Säule, Isokratisch mit MeOH-ACN- CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O, 1 mL/min	DAD-Spektren (Q- Verhältnisse)
(Emenhiser <i>et al.</i> , 1995)	(15Z)-Lycopin [~20 min] (13Z)-Lycopin [~20,5 min] ( <i>all-E</i> )-Lycopin [~58,5 min]	C <sub>30</sub> -Säule, Isokratisch mit MeOH-MTBE, 1 ml/min, RT	DAD-Spektren (Q- Verhältnisse)
(Yeum <i>et al.</i> , 1996)	(15Z)-Lycopin [~25 min] (13Z)-Lycopin [~27,5 min] (9Z)-Lycopin [~30,5 min] ( <i>all-E</i> )-Lycopin [~33 min]	C <sub>30</sub> -Säule, Gradient aus MeOH-MTBE-H <sub>2</sub> O (NH <sub>4</sub> Ac), 1 mL/min, 16 °C	DAD-Spektren (Q- Verhältnisse), NMR
(Schierle <i>et al.</i> , 1997)	(13Z)-+(15Z)-Lycopin [~17 min] (9Z)-Lycopin [~22 min] (5Z,5'Z)-Lycopin [~24 min] ( <i>all-E</i> )-Lycopin [~25 min] (5Z)-Lycopin [~26min]	3 C <sub>18</sub> -Säulen, Isokratisch mit Hexan- <i>N</i> -Ethyl- diisopropylamin, 1 mL/min	DAD-Daten und UV- vis-Spektren (Q-Ver- hältnisse), NMR
(Strohschein, 1997)	(13Z)-Lycopin [~9 min] (9Z)-Lycopin [~12 min] (5Z,9Z)-Lycopin [~12,75 min] (5Z,5'Z,7Z)-Lycopin [~15,5 min] (7Z)-Lycopin [~18 min] ( <i>all-E</i> )-Lycopin [~33 min] (5Z)-Lycopin [~19,5 min] (5Z,5'Z)-Lycopin [~20 min]	Silica-Gel-Säulen, 100 % Aceton, 1 mL/min	LC-MS, LC-NMR
(Sander <i>et al.</i> , 1999)	(9Z)-Lycopin [~25,5 min] (5Z,9Z)-Lycopin [~26,5 min] ( <i>all-E</i> )-Lycopin [~30,5 min] (5Z)-Lycopin [~31 min]	C <sub>30</sub> -Säule, Gradient aus Aceton-Natrium- boratpuffer und MeOH-MTBE-H <sub>2</sub> O	nicht angegeben
(Holloway <i>et al.</i> , 2000)	Geordnet nach steigenden Retentionszeiten: (13Z)-Lycopin (9Z)-Lycopin ( <i>all-E</i> )-Lycopin (5Z)-Lycopin	C <sub>30</sub> -Säule, Gradient aus MeOH-MTBE-H <sub>2</sub> O (NH <sub>4</sub> Ac)	Zuordnung erfolgte durch Vergleich der Retentionszeiten und DAD-Daten (Q- Verhältnisse) mit (Yeum <i>et al.</i> , 1996)
(Breitenbach <i>et al.</i> , 2001)	(15Z)-Lycopin [~43,3 min] (13Z)-Lycopin [~43,5 min] (5Z,13'Z)-Lycopin [~44,3 min] (9Z)-Lycopin [~47,5 min] (5Z,9'Z)-Lycopin [~48 min] (7Z)-Lycopin [~51,7 min] ( <i>all-E</i> )-Lycopin [~52,7 min] (5Z)-Lycopin [~53,2 min]	C <sub>30</sub> -Säule, Gradient aus MeOH-MTBE-H <sub>2</sub> O, 1 mL/min, 26 °C	Nicht eindeutig angegeben, teilweise mittels NMR-Daten und DAD-Daten (Q- Verhältnisse)
(Re <i>et al.</i> , 2001)	(13Z)-Lycopin (9Z)-Lycopin ( <i>all-E</i> )-Lycopin (5Z)-Lycopin	C <sub>30</sub> -Säule, Gradient aus MeOH-MTBE-H <sub>2</sub> O (NH <sub>4</sub> Ac), 1 mL/min, 25 °C	Zuordnung erfolgte durch Vergleich der Retentionszeiten und DAD-Daten (Q- Verhältnisse) mit (Holloway <i>et al.</i> ,

(Lee & Chen, 2001); (Lee & Chen, 2002); (Wang & Chen, 2006)	(15Z)-Lycopin [~9,8 od. 11 min] (13Z)-Lycopin [~11,5 od. 12,5 min] (9Z)-Lycopin [~17,3 od. 15,5 min] (5Z)-Lycopin [~20 od. 22 min] (all-E)-Lycopin [~32 od. 35 min]	C <sub>30</sub> -Säule, Isokratisch mit 1-BuOH-ACN- CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 1 od. 2 mL/min	2000) DAD-Spektren (Q- Verhältnisse), NMR
(Glaser & Albert, 2002)	(9Z,13Z)-Lycopin [~29,5 min] (13Z)-Lycopin [~30 min] (9Z,13Z)-Lycopin [~30,5 min] (9Z)-Lycopin [~32 min] (all-E)-Lycopin [~35 min]	C <sub>30</sub> -Säule, Gradient aus Aceton- H <sub>2</sub> O oder aus MeOH-MTBE- H <sub>2</sub> O, 1 mL/min, RT	LC-NMR
(Lin & Chen, 2003); (Lin & Chen, 2005)	(9Z,13Z)-Lycopin [~13,6 min] (15Z)-Lycopin [~15,4 min] (13Z)-Lycopin [~18,2 min] (9Z,13Z)-Lycopin [~22,5 min] (9Z)-Lycopin [~27,5 min] (5Z)-Lycopin [~30,9 min] (all-E)-Lycopin [~47,4 min]	C <sub>30</sub> -Säule, Gradient aus 1-BuOH-ACN- CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 2 mL/min	Zuordnung erfolgte durch Vergleich der Retentionszeiten und DAD-Daten (Q- Verhältnisse) mit (Lee & Chen, 2001) u. a.
(Tiziani <i>et al.</i> , 2006)	(13Z)-Lycopin [~40,5 min] (9Z)-Lycopin [~45,8 min] (all-E)-Lycopin [~50,6 min] (5Z)-Lycopin [~51,5 min]	C <sub>30</sub> -Säule, Gradient aus MeOH-MTBE, 1 mL/min	LC-NMR

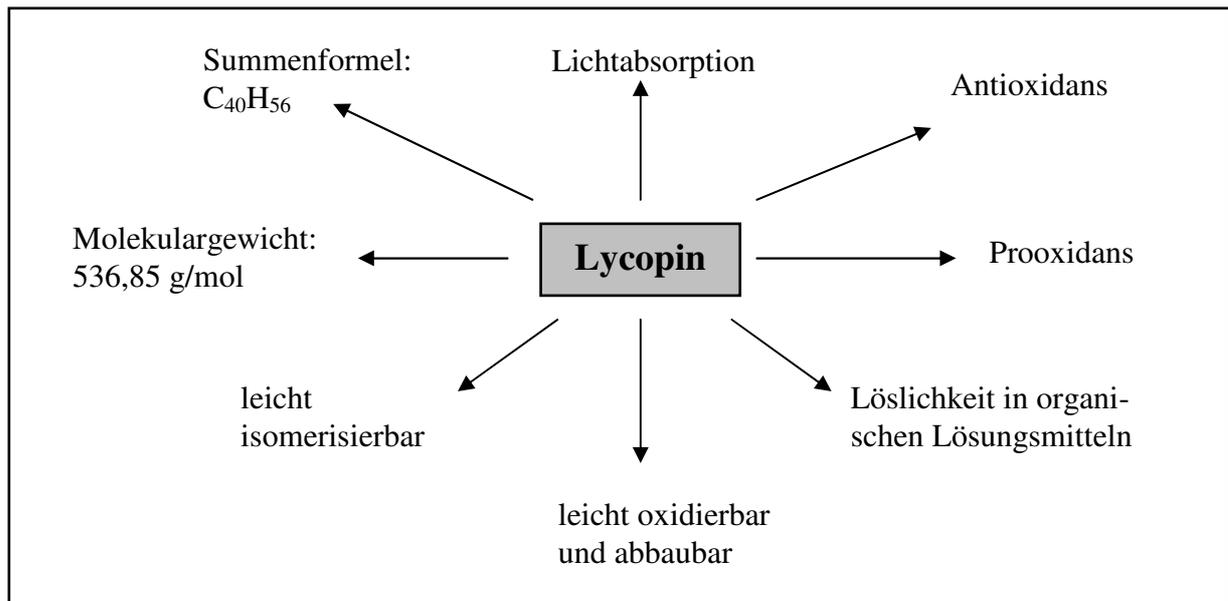
### 2.2.3 Eigenschaften von Lycopin und seinen Isomeren

#### Physikalische und chemische Eigenschaften

Als hoch-konjugiertes Polyen ist Lycopin stark oxidationsanfällig und wird bei Licht- und Sauerstoffexposition, Hitzeeinwirkung, extremen pH-Werten, Anwesenheit von Metallionen wie beispielsweise Cu<sup>2+</sup> und Fe<sup>3+</sup> und aktiven Oberflächen schnell isomerisiert, oxidiert und abgebaut (Henry *et al.*, 1998). In Untersuchungen an einem Sonnenblumen-Modellsystem konnten beispielsweise doppelt so hohe Reaktionsraten in Bezug auf Oxidation und thermische Degeneration im Vergleich zu anderen Carotinoiden beobachtet werden (Takeoka *et al.*, 2001). Eigene Studien zeigten, dass Lycopin eingeschlossen in der Tomatenmatrix über einen längeren Zeitraum und auch unter Hitze und UV-Einwirkung stabil ist. In organischen Lösungsmitteln waren dagegen schon in wenigen Tagen bzw. Wochen Änderungen zu beobachten, wobei die Art des verwendeten Lösungsmittel eine starke Rolle zu spielen scheint (Daten nicht gezeigt). Diese Instabilität erschwert das analytische Arbeiten mit Lycopin, speziell mit seinen Isomeren, beträchtlich.

Isomerisierung von (*all-E*)-Lycopin zu seinen (*Z*)-Isomeren resultiert u. a. in einer Abnahme der Farbintensität, einer Schmelzpunktniedrigung, einer Verschiebung des Lambda-Maximums und je nach Stellung der *cis*-Doppelbindungen in der Bildung eines

neuen Maximums im UV-Bereich („*cis*-Peak“). (*Z*)-Isomere sind geringfügig polarer als die (*all-E*)-Form und neigen aufgrund ihrer gewinkelten Struktur weniger zur Kristallisation. Weiterhin zeigten die (*Z*)-Isomere eine höhere Löslichkeit in Lipiden und kohlenwasserstoffhaltigen Lösungsmitteln (Shi & Le Maguer, 2000). Weitere Angaben zu den physikalischen und chemischen Eigenschaften von Lycopin und seinen Isomeren sind in Tabelle 2 sowie in Abbildung 5 zu finden.



**Abbildung 5 :** Physikalische und chemische Eigenschaften von Lycopin

### Antioxidative und prooxidative Eigenschaften

Aufgrund des ausgedehnten konjugierten Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungssystems können Carotinoide als Reduktionsmittel agieren und mit leicht oxidierbaren Verbindungen reagieren. Das Carotinoid wird dabei dann selbst oxidiert (Elektronenabgabe) und schützt demzufolge andere Moleküle vor Oxidationsprozessen. Weiterhin können Carotinoide Energie von elektronisch angeregten Verbindungen aufnehmen.

Eine hohe Anzahl an *in-vivo*- (Matos *et al.*, 2000) und *in-vitro*-Untersuchungen (Rao *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 2001; Böhm *et al.*, 2002) zeigten, dass auch Lycopin ein starkes antioxidatives Potential aufweist. Unter anderem konnte beobachtet werden, dass dieses Carotinoid in der Lage ist, reaktive Sauerstoffspezies (ROS) wie beispielsweise Singulett-Sauerstoff ( $^1O_2^*$ ), Superoxidradikale ( $O_2^{\bullet-}$ ), Hydroxyl-Radikale ( $OH^{\bullet}$ ), Peroxyl-Radikale ( $ROO^{\bullet}$ ), Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) abzufangen (zu „quenchen“) (Di Mascio *et al.*, 1989)

und auch andere freie Radikale wie Stickstoffdioxid- ( $\text{NO}_2^\bullet$ ), Thiyl- ( $\text{RS}^\bullet$ ) und Sulphonyl-Radikale ( $\text{RSO}_2^\bullet$ ) zu deaktivieren (Mortensen *et al.*, 1997).

Die beim Lycopin durch die Öffnung des  $\beta$ -Ionon-Rings gesteigerte Anzahl an Doppelbindungen erhöht die Quenching-Aktivität dieses Moleküls (Di Mascio *et al.*, 1992). Untersuchungen zeigten, dass Lycopin einer der stärksten Singulett-Sauerstoff-Quencher in der Natur ist. Seine Quenching-Rate ist etwa doppelt so hoch wie die vom  $\beta$ -Carotin und zehnfach höher als die vom  $\alpha$ -Tocopherol (Di Mascio *et al.*, 1989; Levy *et al.*, 1995; Miller *et al.*, 1996).

Das Lycopin-Radikalkation ist stabiler als die meisten anderen Carotinoid-Radikationen und demzufolge unter den Carotinoiden der effektivste Quencher von freien Radikalen (Mortensen *et al.*, 1997). Auch Carotinoidradikale können durch andere Carotinoide abgefangen werden. Dabei erwies sich das Lycopin als das am leichtesten oxidierbare Carotinoid und demzufolge ist es in der Lage, andere Carotinoidradikationen zu reparieren (El-Agamey *et al.*, 2004).

Unter bestimmten Bedingungen können Carotinoide im Gegensatz zu ihren antioxidativen Effekten auch prooxidativ wirken (Haila *et al.*, 1996; Lowe *et al.*, 2003). Yeh und Hu untersuchten beispielsweise die Wirkungen von Lycopin und  $\beta$ -Carotin in Zellstudien, wobei als Biomarker die Lipidperoxidation, gemessen als Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen (TBARS), verwendet wurde. Dabei zeigte sich, dass beide Carotinoide in Abhängigkeit von der eingesetzten Carotinoidkonzentration, aber auch von der Art des im Test verwendeten Oxidans' (Fe/NTA oder AMVN) sowohl als Antioxidans als auch als Prooxidans reagieren können (Yeh & Hu, 2000). Weiterhin beeinflusst die vorliegende Sauerstoff-Atmosphäre das Antioxidans-Prooxidans-Verhältnis. Einen sehr starken Einfluss auf die antioxidative-prooxidative Wirkung hat die Konzentration des Carotinoids. In verschiedenen Untersuchungen konnte beobachtet werden, dass bei hohen Carotinoidkonzentrationen der prooxidative Effekt überwiegt (Lowe *et al.*, 2003). Eine genaue Festlegung dieser „kritischen“ Konzentration erwies sich bisher als sehr schwierig.

Obwohl der unter bestimmten Umständen auftretende prooxidative Effekt des Lycopins eindeutig *in vitro* nachgewiesen werden konnte, ist bisher unklar, ob Lycopin auch *in vivo*

eine prooxidative Aktivität hat. Negative Effekte von Lycopin, welches durch Nahrung oder Supplemente aufgenommen wurde, sind bei gesunden Menschen bisher nicht bekannt (Trumbo, 2005).

### **Toxische und histopathologische Eigenschaften**

Verschiedene Untersuchungen zeigten, dass für Lycopin keine toxischen oder mutagenen Effekte zu beobachten sind. Einige Lycopinabbauprodukte dagegen könnten möglicherweise mutagene Wirkungen besitzen, jedoch liegen bis heute dazu noch keine abschließenden Resultate vor (McClain & Bausch, 2003; Trumbo, 2005). Basierend auf verschiedenen Sicherheitsstudien konnten bei der sehr hohen täglichen Dosis von 3 g Lycopin pro kg Körpergewicht keine negativen Wirkungen beobachtet werden, unabhängig davon, ob Lycopin durch die Nahrung oder über Supplemente aufgenommen wurde. Demzufolge wurde der NOAEL-Wert (no-observed-adverse-effect level) auf 3 g/(kg\*d) festgelegt. Dies bedeutet beispielsweise bei einer Person von 70 kg eine tägliche Aufnahme 210 g Lycopin pro Tag, was durch Nahrungsmittel und auch kaum durch Supplemente möglich ist. Jedoch kann „Lycopopenia“ schon bei niedrigeren Dosen auftreten, wobei jedoch außer Farbveränderungen von Haut und Fettgewebe keine direkten negativen Auswirkungen auf die Gesundheit festgestellt wurden. 1960 beschrieben Reich *et al.* das Auftreten von „Lycopopenia“ bei einer 61jährigen Frau, welche über mehrere Jahre täglich etwa 2 Liter Tomatensaft konsumierte (Reich *et al.*, 1960). Sie zeigte eine deutliche Veränderung der Hautfarbe ins rötliche, sowie Ablagerungen von Lycopin im Fettgewebe (hauptsächlich in der Leber), jedoch keine gesundheitlichen Einschränkungen (Reich *et al.*, 1960).

## **2.3 Lycopinaufnahme beim Menschen**

### **2.3.1 Vorkommen von Lycopin**

Im Gegensatz zu anderen Carotinoiden, wie beispielsweise  $\alpha$ -,  $\beta$ -Carotin, Lutein und Zeaxanthin, welche in einer Vielzahl von Obst- und Gemüsesorten anzutreffen sind, ist Lycopin nur in wenigen von den Menschen verzehrbaren Lebensmitteln zu finden. Etwa 85 % des konsumierten Lycopins gehen auf Tomaten und Tomatenprodukte zurück, wobei je nach landesspezifischer Ernährung auch Wassermelone, Papaya und Pink Grapefruit einen Beitrag zur täglichen Aufnahme leisten (Grünwald, 2002 #196). Eine Zusammenstellung lycopinhaltiger Pflanzen ist in Tabelle 4 angegeben. Nur wenige dieser dort aufgelisteten

Pflanzen sind bei normaler Ernährung für die Lycopinversorgung des Menschen von Bedeutung. Bei einigen Pflanzen handelt es sich um Giftpflanzen, die aber teilweise auch unter bestimmten Bedingungen als Heilpflanzen verwendet werden. Andere sind nur in bestimmten Regionen zu finden und werden demzufolge nur von einer kleinen Bevölkerungsgruppe verzehrt (z. B. Gac-Früchte). Außerdem sind bei einigen Pflanzen die Lycopingehalte sehr gering (z. B. frische Aprikosen: 5 µg/100 g) und liefern demzufolge kaum einen Beitrag zur Lycopinversorgung.

**Tabelle 4:** Lycopinhaltige Pflanzen [modifiziert nach (Nguyen & Schwartz, 1999)]

Botanische Bezeichnung	Pflanzenname	lycopinhaltiges Pflanzenteil
<i>Aglaonema commutatum</i>	Kolbenfaden (Giftpflanze)	Früchte
<i>Arum maculatum</i>	Gefleckter Aronstab (Giftpflanze)	Knollen
<i>Brassica napus var. napobrassica</i>	Rote Kohlrübe, Steckrübe	Wurzeln
<i>Bryonia dioica</i>	Rotbeerige Zaunrübe (Giftpflanze)	Pflanzen
<i>Calendula officinalis</i>	Ringelblume	Blüten
<i>Capsicum annuum, Piper nigrum</i>	Spanischer Pfeffer, Schwarzer Pfeffer	Früchte
<i>Citrullus lanatus</i>	Wassermelone	Früchte
<i>Citrus paradisi</i>	Grapefruit	Früchte
<i>Crocus sativus</i>	Safran	Samen
<i>Daucus carota</i>	Wildmöhre	Wurzeln
<i>Diospyros kaki</i>	Sharon, Kaki	Früchte
<i>Elaeis spp.</i>	Palmöl	Öl
<i>Gazania rigens</i>	Mittagsblume	Pflanzen
<i>Hippophae rhamnoides</i>	Sanddorn	Früchte
<i>Lycopersicon esculentum</i>	Tomate	Früchte
<i>Mangifera indica</i>	Mango	Früchte
<i>Momordica charantia</i>	Bittermelone, Balsambirne	Früchte
<i>Phoenix dactylifera</i>	Dattelpalme	Früchte
<i>Prunus armeniaca</i>	Aprikose	Früchte
<i>Prunus domestica</i>	Zwetschken	Früchte
<i>Psidium guajava</i>	Guave	Früchte
<i>Prunus persica</i>	Pfirsich	Früchte
<i>Rosa damacena, Rosa rugosa ...</i>	Hagebutte (verschiedene Sorten)	Früchte
<i>Rubus chamaemorus</i>	Moltebeere	Früchte
<i>Solanum dulcamara</i>	Bittersüßer Nachtschatten (Giftpflanze)	Früchte
<i>Solanum melongena</i>	Aubergine	Früchte
<i>Tamus communis</i>	Schmerzwurz (Giftpflanze)	Früchte
<i>Taxus baccata</i>	Europäische Eibe	Früchte
<i>Urtica dioica</i>	Rote Brennessel	Pflanzen
<i>Vaccinium vitis</i>	Cranberry	Früchte

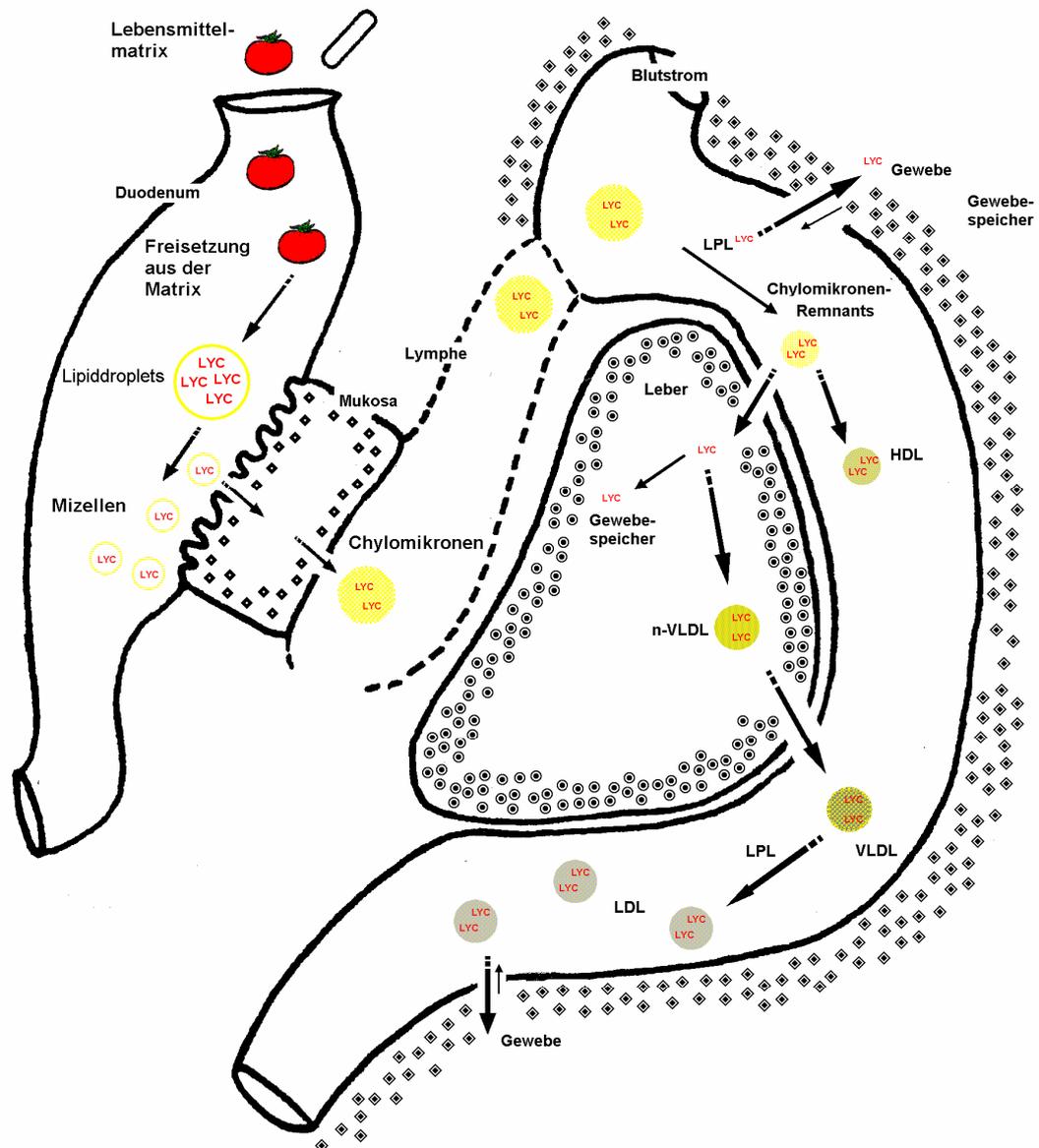
Eine Frucht, die beachtliche Mengen an Lycopin enthält, ist die vietnamesische Gac-Frucht (*Momordica cochinchinensis*). Sie wird in Vietnam und den umliegenden Ländern haupt-

sächlich aufgrund ihrer ebenfalls hohen  $\beta$ -Carotingehalte verzehrt, um in diesen Regionen häufig auftretenden Vitamin-A-Mangel-Erkrankungen vorzubeugen (Vuong *et al.*, 2002; Ishida *et al.*, 2004). Die Gac-Frucht enthält bis zu 200 mg Lycopin pro 100 g Frischsubstanz. Auch in den rundlichen, erbsengrossen Früchten der in Japan, Korea und China vorkommenden Korallen-Ölweide (*Elaeagnus umbellata*) sind hohe Mengen an Lycopin (15 – 54 mg/100 g) zu finden (Fordham *et al.*, 2001). Im Vergleich dazu haben die Hauptlycopinlieferanten mit etwa 3 – 30 mg/100g für Tomaten und Tomatenprodukte (Kapitel 4.2.1) und mit 3,3 – 10 mg/100 g für Wassermelonen (Perkins-Veazie *et al.*, 2006) relativ niedrige Lycopingehalte.

Neuere Untersuchungen zeigten, dass auch die Frucht der Passionsblume, die Maracuja, nicht zu vernachlässigende Mengen an Lycopin enthält (Mourvaki *et al.*, 2005). Zusätzlich zu der Wildmöhre (Tabelle 4) sind heutzutage Züchtungen von Karotten bekannt, welche ihre rote Wurzelfarbe dem Lycopin verdanken (Horvitz *et al.*, 2004). Auch einige Mutanten von Zitrusfrüchten wie z. B. rote Orangensorten (*Citrus sinensis* Osbeck, Cara-Cara-Orange) oder auch die Pink Grapefruit bzw. Rote Pummelo sind in der Lage, Lycopin zu bilden (Xu *et al.*, 2006).

### **2.3.2 Absorption, Transport und Verteilung von Lycopin im Organismus**

Die Aufnahme von Carotinoiden und somit auch von Lycopin in den menschlichen Körper erfolgt analog zur Resorption von Lipiden und fettlöslichen Vitaminen. In der nachfolgenden Abbildung 6 ist dieser Aufnahmeweg schematisch dargestellt.



**Abbildung 6:** Schematische Darstellung des Aufnahmeweges von Carotinoiden am Beispiel von Lycopin in den menschlichen Körper

Nach der Freisetzung der Carotinoide aus der Lebensmittelmatrix und der Spaltung der Carotinoid-Protein-Komplexe werden sie in Lipiddroplets gelöst. Aus diesen bilden sich im ersten Abschnitt des Dünndarms, d. h. im Zwölffingerdarm (Duodenum), mit Hilfe von Gallensäuren, freien Fettsäuren, Monoglyzeriden und Phospholipiden gemischte Mizellen. Die unpolaren Carotine (z. B. Lycopin) befinden sich dabei fast ausschließlich im Inneren der Mizellen, während die polareren Xanthophylle vorrangig an der Oberfläche eingebunden sind. Anschließend werden die Mizellen hauptsächlich durch konzentrationsabhängige, passive Diffusion von den Enterozyten in die Darmschleimhaut (Mukosa) aufgenommen.

In den letzten Jahren wurde jedoch auch eine Aufnahme durch spezifische oder nichtspezifische Rezeptoren diskutiert, wobei bis jetzt diese Möglichkeit nicht abschließend geklärt ist (Erdman *et al.*, 1993; Gustin *et al.*, 2004; Zaripheh & Erdman, 2005). Nicht resorbierte Carotinoide (50 % bis 98 %) werden über den Darm und somit über die Fäzes ausgeschieden (Erdman *et al.*, 1993; Briviba *et al.*, 2004). Intakte Carotinoide sowie Carotinoidabbauprodukte (inklusive Vitamin A) werden dann in Chylomikronen inkorporiert und über das Lymphsystem und den Blutkreislauf zur Leber und in andere Gewebe transportiert. In der Leber werden die Carotinoide teilweise gespeichert oder wiederum an Lipoproteine gebunden und über den Blutstrom weiter im Körper verteilt (Nicoleit, 1997; van het Hof *et al.*, 1998; Williams *et al.*, 1998). Aufgrund ihrer unterschiedlichen Polarität werden Carotine wie  $\beta$ -Carotin und Lycopin vorrangig von LDL (Low Density Lipoprotein) und Xanthophylle (z. B. Lutein, Zeaxanthin) zu etwa gleichen Teilen von HDL (High Density Lipoprotein) und LDL transportiert (Romanchik *et al.*, 1995). Untersuchungen verschiedener Arbeitsgruppen zur Lycopinverteilung in den unterschiedlichen Lipoprotein-Fractionen des menschlichen Körpers lieferten vergleichbare Resultate. 73 - 85 % des Blutlycopins liegen an LDL, 5 - 17 % an HDL und 3 - 10 % an VLDL gebunden vor (Tabelle 5).

**Tabelle 5:** Prozentuale Lycopinverteilung in den Lipoprotein-Fractionen des Menschen

Literatur	VLDL	LDL	HDL
(Clevidence & Bieri, 1993)	10 %	73 %	17 %
(Oshima <i>et al.</i> , 1997)	6 %	74 %	20 %
(Paetau <i>et al.</i> , 1998)	7 %	76 %	17 %
(Forman <i>et al.</i> , 1998)	3-4 %	84-85 %	5-6 %

Obwohl Carotinoide in den meisten Geweben nachzuweisen sind, existieren Hinweise auf eine selektive Aufnahme. Lycopin ist vor allem in den Nebennieren, der Leber, den Hoden und der Prostata zu finden (Stahl *et al.*, 1992; Clinton *et al.*, 1996; Clinton, 1998; Nguyen & Schwartz, 1999; Agarwal & Rao, 2000). Anscheinend wird Lycopin, welches an Lipoproteine gebunden transportiert wird, hauptsächlich in Geweben anreichert, die eine grosse Anzahl an LDL-Rezeptoren und somit eine hohen Lipoproteinaufnahme aufweisen (Kaplan *et al.*, 1990; Schmitz *et al.*, 1991). Aber auch andere Faktoren beeinflussen die Lycopinaufnahme ins Gewebe, wie beispielsweise der Fettgehalt und der Carotinoidgehalt des Gewebes, die Konfiguration der Lycopinmoleküle und die „metabolische Rate“ des Gewebes (Schwartz, 2005). Einige Wissenschaftler vermuten, dass Proteine existieren, welche spezifisch Lycopin binden und wodurch die bevorzugte Lycopinaufnahme in einige

Gewebe erklärt werden kann (Zaripheh & Erdman, 2005). Bisher konnten jedoch noch keine carotinoid- bzw. lycopinspezifischen Bindungs- oder Transportproteine eindeutig identifiziert werden.

### 2.3.3 Durchschnittliche tägliche Lycopinaufnahme

In verschiedenen Humanstudien konnten Lycopindosen ermittelt werden, welche durchschnittlich von Probanden täglich verzehrt wurden. Diese täglichen Lycopinaufnahmen unterschieden sich mit 1 mg/d bis zu 25 mg/d teilweise sehr stark voneinander (siehe Tabelle 6). Die Art und Weise der Datenerfassung (verwendete Datenbanken, Ernährungsfragebögen etc.) beeinflusste dabei stark die ermittelten Werte..

**Tabelle 6:** Tägliche Aufnahme von Lycopin durch die Nahrung

Literatur	Land	Geschlecht	Alter in Jahren	Probandenanzahl	Lycopinaufnahme in mg/d
(Yong <i>et al.</i> , 1994)	USA	w	28,6 ± 5,1	98	3,4 (0,3 – 15)
(Brady <i>et al.</i> , 1996)	USA	m + w	65 ± 9	400	0,67 ± 0,58
(Stahl & Sies, 1996a)	UK	k. A.	k. A.	k. A.	1,1
	USA				3,7
	Finnland				0,7 – 0,9
(Michaud <i>et al.</i> , 1998)	USA	m	55,4 ± 10,5	121	11,1 ± 6,2
		w	52,7 ± 7,2	186	11,3 ± 7,2
(Rao <i>et al.</i> , 1998)	Kanada	k. A.	k. A.	k. A.	25,2
(Slattery <i>et al.</i> , 2000)	USA	m	30 - 79	2410	6,6 ± 7,8
		w			5,7 ± 6,5
(Hininger <i>et al.</i> , 2001)	Europa	m	25 - 45	175	4,8 ± 0,4
(Sesso <i>et al.</i> , 2003)	USA	w	53,9 ± 7,0	38445	9,2 ± 6,4
(Kabagambe <i>et al.</i> , 2005)	Costa Rica	m + w	58 ± 11	1456	1,9 ± 1,7
	UK	m + w	k. A.	42	1,1 ± 0,9
	Irland	m + w	k. A.	149	4,8 (2,1 – 8,3)
	Spanien	m + w	k. A.	134	1,6 (0,5 – 2,6)
	Frankreich	m + w	k. A.	151	4,8 (2,1 – 8,3)
	Niederlande	m + w	k. A.	147	4,9 (2,8 – 7,5)
	Kanada	m + w	k. A.	1543	6,4 ± 11,8
	Australien	m + w	k. A.	115	3,8 (0,5 – 9,8)
(Kirsh <i>et al.</i> , 2006)	USA	m	Ø 63,3	> 30000	11,5 ± 8,5
(Wang <i>et al.</i> , 2006)	USA	w	54,5 ± 7,0	35782	9,2 ± 6,4

Für die tägliche Lycopinaufnahme in Deutschland liegen bis heute kaum Literaturdaten vor. In der nationalen Verzehrsstudie von 1998 wurde eine durchschnittliche konsumierte Lycopindosis von 1,28 mg/d ermittelt (Pelz *et al.*, 1998).

Bis heute ist nicht bekannt, welche Mengen an Lycopin idealerweise täglich aufgenommen werden sollten. Jedoch deuteten verschiedene epidemiologische und Interventionsstudien darauf hin, dass durch eine Lycopinaufnahme von über 6 mg/d genügend hohe Plasmapycopinkonzentrationen erreicht werden, um protektive Wirkungen beobachten zu können.

Lycopin wird vom Menschen hauptsächlich in Form von Tomaten und Tomatenprodukten aufgenommen. Untersuchungen an einem großen Probandenkollektiv von Frauen in den USA (Sesso *et al.*, 2003) zeigten eine Verteilung der Lycopinzufuhr auf Tomatensauce (40,5 %), Tomaten (39,8 %), Tomatensaft (12,3 %), Pizza (4,7 %) und Grapefruits (2,7 %). In einer erst kürzlich durchgeführten Studie nahmen Männer in den USA eine tägliche Lycopindosis von  $11,5 \pm 8,5$  mg (Kirsh *et al.*, 2006) über Tomatensauce (19,3 %), Tomaten-/Gemüsesaft (18,8 %), Chili (9,2 %), Ketchup (6,8 %), Pizza (6,3 %), Rindereintopf (6,1 %), Dosentomaten (5,8 %), Wassermelonen (5,6 %), Lasagne (5,2 %), Tomaten-/Gemüsesuppe (5,2 %), rohe Tomaten (2,6 %), Burritos/Tacos (2,3 %) und sonstige Lebensmittel (6,8 %) auf.

Die Lycopinzufuhr hängt einerseits davon ab, in wieweit lycopinhaltige Lebensmittel in den verschiedenen Ländern verfügbar sind. Aus diesem Grund liegen beispielsweise in China, Indien oder Thailand die Lycopinaufnahmemengen sehr viel niedriger als in den westlichen Industrieländern. Zusätzlich zu der Verfügbarkeit der Lebensmittel spielen die Ernährungsgewohnheiten einzelner Bevölkerungsgruppen eine grosse Rolle. Häufig konnte bei jüngeren Personengruppen aufgrund des höheren Verzehrs an Tomatenprodukten (Tomatensauce, Pizza, etc.) eine höhere Lycopinaufnahme im Vergleich zu älteren Personen beobachtet werden. Untersuchungen zur Abhängigkeit der täglich konsumierten Lycopinmenge vom Geschlecht der Probanden lieferten bisher keine eindeutigen Resultate. Wang *et al.* ermittelten beispielsweise einen höheren Lycopinkonsum von Frauen im Vergleich zu Männern und erklärte dies mit einer tendentiell gesünderen Ernährung von Frauen (Wang *et al.*, 2006). Fraglich ist jedoch, ob ein erhöhter Verzehr an Pizza, Pasta mit Tomatensauce etc. unbedingt als „gesunde Ernährung“ anzusehen ist. In einigen Studien konsumierten jedoch auch Männer mehr Tomaten und Tomatenprodukte und somit auch mehr Lycopin als Frauen.

Die tägliche Lycopinaufnahme ist nur ein Maß dafür, welche Menge an Lycopin durch die Nahrung am Tag verzehrt wird, jedoch nicht, wie viel dem menschlichen Körper wirklich zur Verfügung steht. Die Bioverfügbarkeit von Lycopin ist von sehr vielen Faktoren abhängig, welche im nachfolgenden Kapitel etwas genauer diskutiert werden.

#### 2.3.4 Bioverfügbarkeit von Lycopin

Die **Bioverfügbarkeit** von Carotinoiden hängt von einer Reihe nahrungsbedingter und nicht-nahrungsbedingter Faktoren ab, die sowohl förderlich als auch hinderlich sein können, und ist Voraussetzung für die Verstoffwechslung von Carotinoiden im Körper. Für den Begriff „Bioverfügbarkeit“ liegen einerseits unterschiedliche Definitionen vor, andererseits werden für die Bestimmung der Bioverfügbarkeit eines Stoffes bzw. einer Stoffklasse eine Vielzahl verschiedener Methoden verwendet (Parker *et al.*, 1999). Häufig wird die Bioverfügbarkeit definiert als die Fraktion der aufgenommenen Nahrung, welche durch ihre Absorption für den Körper verfügbar ist und in ihm metabolisiert und ihre Wirkungen entfalten kann (Shi & Le Maguer, 2000).

Während der Carotinoidaufnahme in den menschlichen Körper (Kapitel 2.3.2) kann an unterschiedlichen Stellen eine Beeinflussung der Carotinoidabsorption stattfinden. Schon in den ersten Schritten, der Freisetzung der Carotinoide aus der Lebensmittelmatrix und der Aufhebung molekularer Wechselwirkungen (Carotinoid-Protein-Komplex etc.), wird die Absorption und somit die Carotinoidbioverfügbarkeit durch den Matrixtyp, die Lebensmittelverarbeitung, die Carotinoidart, das gleichzeitige Vorliegen von Lipiden etc. beeinflusst. Auch während der Aufnahme der Carotinoide in die Lipiddroplets, der Mizellenbildung, der Aufnahme in Enterozyten sowie der Inkorporation in Chylomikronen können verschiedene Faktoren (Carotinoidmenge und -art, Lipidmenge und -art, Ballaststoffe, andere Nahrungsinhaltsstoffe, Medikamente etc.) positive oder negative Wirkungen auf die Carotinoidbioverfügbarkeit haben.

Im Vergleich zu anderen Nahrungsinhaltsstoffen ist bei **Carotinoiden** die **Bioverfügbarkeit** aus Lebensmitteln relativ **gering**. Olson und Krinsky beobachteten Carotinoidabsorptionsraten um 5 % aus rohem Obst und Gemüse, während aus mizellaren Lösungen die Absorptionsraten über 50 % lagen (Olson & Krinsky, 1995). Eine Humanstudie mit deuteriertem Lycopin zeigte, dass nach dem Verzehr von synthetischem bzw. Tomatenlycopin nur

etwa 1,2 % bzw. 0,2 - 0,3 % des Lycopins im Blutkreislauf wiedergefunden wurde (Tang *et al.*, 2005a). In weiteren Studien konnten nach dem Verzehr von Lycopin in Form von Tomatenmark ein zirkulierender Anteil von 0,17 % (Gärtner *et al.*, 1997) bzw. nach dem Verzehr von Tomatenmark oder Lactolycopin (Supplement: Lycopin in Molkenprotein eingeschlossen) ein Anteil von etwa 0,2 % (Richelle *et al.*, 2002) ermittelt werden.

Dabei ist die Einbindung der Carotinoide in die Chylomikronen einer der am stärksten limitierenden Faktoren der gesamten Carotinoidverdauung. O'Neill und Thurnham beschrieben beispielsweise eine Chylomikronenabsorptionsrate von 3,5 % für  $\beta$ -Carotin und 2,5 % für Lycopin aus einer Dosis von 40 mg des entsprechenden Carotinoids (O'Neill & Thurnham, 1998).

**Lycopin** weist eine **geringere Bioverfügbarkeit** als die meisten anderen durch die Nahrung aufgenommenen Carotinoide auf (Micozzi *et al.*, 1992; Carughi & Hooper, 1994; Clark *et al.*, 1998; Clark *et al.*, 2000; Sugawara *et al.*, 2001).  $\beta$ -Carotin hatte beispielsweise mit 11 % eine signifikant höhere Absorptionsrate als Lycopin mit etwa 2,5 % (During *et al.*, 2002). Tyssandier *et al.* beschrieben u. a. die Mizellenbildung als limitierenden Faktor für die Lycopinbioverfügbarkeit. In einem *in-vivo*-Modell konnte nachgewiesen werden, dass der Transfer von Lipid-Emulsionströpfchen in die Mizellen bei stark unpolaren Carotinoiden wie dem Lycopin geringer ist im Vergleich zu polareren Carotinoiden wie den Xanthophyllen. Diese Untersuchungen zeigten weiterhin auch eine Abhängigkeit der Mizelleneinbindung von dem pH-Wert und der Konzentration der Gallensalze (Garrett *et al.*, 1999; Tyssandier *et al.*, 2001). Der Anteil der mit der Nahrung aufgenommenen Carotinoide, welcher in der mizellaren Phase des menschlichen Duodenums (Zwölffingerdarm) gemessen werden konnte, ist sehr gering (< 7 %), was möglicherweise die geringe Bioverfügbarkeit dieser sekundären Pflanzenstoffe erklärt (Tyssandier *et al.*, 2003).

Die Bioverfügbarkeit von Carotinoiden und somit auch von Lycopin ist von zahlreichen Faktoren abhängig, von denen die wichtigsten in Tabelle 7 zu finden sind. Einige dieser Faktoren werden nachfolgend etwas genauer beschrieben.

**Tabelle 7:** Einflussfaktoren („SLAMENGI“) auf die Carotinoidbioverfügbarkeit nach (Castenmiller & West, 1998)

	„SLAMENGI“	Einflussfaktoren
<b>S</b>	Species of carotenoids	Carotinoidart
<b>L</b>	Linkages at molecular level, carotenoid structure	Wechselwirkungen auf molekularer Ebene, Carotenoidstruktur
<b>A</b>	Amount of carotenoids	Carotinoidgehalte
<b>M E</b>	Matrix Effectors (dietary fat, fiber, food preparation etc)	Matrixeffekte (Nahrungslipide, Ballaststoffe, Lebensmittelverarbeitung etc.)
<b>N</b>	Nutrient status	Ernährungsstatus
<b>G</b>	Genetic factors	Genetische Faktoren
<b>H</b>	Host-related factors (BMI, stomach activity, infections, lipid malabsorption etc.)	Personenabhängige Faktoren (BMI, Magenaktivität, Infektionen, Lipidmalabsorption etc.)
<b>I</b>	Interactions among these variables, competitions among carotenoids	Wechselwirkungen zwischen den Parametern, Konkurrenz zwischen Carotinoiden

Die **chemische Struktur** beeinflusst u. a. die Polarität des Carotinoids und somit die Löslichkeit und Einbindung in die Chylomikronen und Mizellen während der Verdauung. Schon geringfügige Änderungen in der Carotinoidstruktur, wie beispielsweise bei Konfigurationsisomeren eines Carotinoids, können Abweichungen in der Mizelleneinbindung bewirken. Untersuchungen zeigten beispielsweise, dass (*Z*)-Isomere des Lycopins aufgrund ihrer gewinkelten und somit kürzeren Struktur bzw. ihrer geringfügig höheren Polarität im Vergleich zum (*all-E*)-Lycopin eine bessere Löslichkeit in gemischten Mizellen aufwiesen und besser in Chylomikronen eingebaut werden konnten (Parker, 1997; Boileau *et al.*, 2002). Einige Arbeitsgruppen begründen mit diesen Ergebnissen die häufig beschriebene **bessere Bioverfügbarkeit** von Lycopin aus **verarbeiteten Tomatenprodukten** verglichen mit rohen unverarbeiteten Tomaten (Stahl & Sies, 1992; Gärtner *et al.*, 1997; van het Hof *et al.*, 2000a). Bei kritischer Betrachtung ist jedoch wahrscheinlicher, dass die bessere Verfügbarkeit von Lycopin aus verarbeiteten Lebensmitteln hauptsächlich auf die bei thermischer und mechanischer Beanspruchung stattfindende Zerstörung der Zellwände sowie der Spaltung der Carotinoid-Protein-Komplexe zurückzuführen ist (Erdman *et al.*, 1993; Shi & Le Maguer, 2000; van het Hof *et al.*, 2000a).

Da die Carotinoidverdauung mit der Fettverdauung zusammenhängt (ähnlicher Aufnahmeweg) spielt auch die **Zufuhr von Fett** eine grosse Rolle bei der Absorption von Carotinoiden. Für ihre Absorption in den menschlichen Körper müssen beim Konsum von carotinoidhaltigen Produkten mindestens 3 – 5 g Fett mit verzehrt werden (Boileau *et al.*, 2002;

Brown *et al.*, 2004). Carotinoide sind stark hydrophobe Verbindungen und demzufolge ist ihre Absorption nach der Freisetzung aus der Lebensmittelmatrix abhängig von ihrer Einbindung in Nahrungsmizellen, wobei Gallensäuren und Verdauungsenzyme dabei von Bedeutung sind. Gleichzeitig aufgenommene Nahrungsfette stimulieren den Gallenfluss und somit die Mizellenbildung (Furr & Clark, 1997). Zusätzlich zur Fettmenge hat auch die Art des aufgenommenen Lipids einen Einfluss auf die Absorption. So scheinen langkettige Fettsäuren positivere Auswirkungen auf die Carotinoidbioverfügbarkeit auszuüben als mittelkettige Fettsäuren (Borel *et al.*, 1998). Clark *et al.* beobachtete außerdem in Rattenversuchen eine schlechtere Lycopinabsorption beim gleichzeitigen Verzehr von Maiskeimöl im Vergleich zu Olivenöl. Die niedrigere Carotinoidbioverfügbarkeit liegt vermutlich an den hohen Anteilen an PUFAs (mehrfach ungesättigten Fettsäuren) im Maiskeimöl. Bisher ist jedoch noch nicht eindeutig geklärt, welche Mechanismen für die negative Wirkung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren wie z. B. Linolsäure oder Linolensäure auf die Carotinoidabsorption verantwortlich sind. Diskutiert wird, dass ein hoher PUFA-Anteil möglicherweise die Carotinoidoxidation im Darm fördert und somit weniger intakte Carotinoide für die Absorption zur Verfügung stehen. Ein verringerter Transport der Carotinoide aus der Lipidemulsion mit hohem Anteil an PUFAs in die gemischten Mizellen wäre ebenfalls denkbar. Mizellen, welche viele mehrfach ungesättigte Fettsäuren enthalten, sind größer als Mizellen mit hauptsächlich gesättigten Fettsäuren. Deshalb wird auch vermutet, dass diese großen Mizellen langsamer in die Enterocyten aufgenommen werden, was ebenfalls die geringere Bioverfügbarkeit erklären würde (Clark *et al.*, 2000). In einer Humanstudie beobachteten Unlu *et al.* einen Zusammenhang zwischen dem Verzehr von Avocado-Lipiden und einer höheren Lycopinabsorption. Vermutlich wirkt sich die Fettsäurezusammensetzung von Avocados (etwa 66 % Ölsäureanteil) positiv auf die Bildung der Chylomikronen aus (Unlu *et al.*, 2005).

Aufgrund des Zusammenhangs zwischen Carotinoid- und Fettstoffwechsel haben auch **Medikamente** oder **Lebensmittelzusatzstoffe**, welche in den Fettstoffwechsel eingreifen, Auswirkungen auf die Carotinoidabsorption. Beispielsweise verringerten lipid- bzw. cholesterin-senkende Medikamente wie z. B. Cholestyramin oder Probucaol die Plasmakonzentrationen von Lycopin und  $\beta$ -Carotin um 50 – 60 % (Elinder *et al.*, 1995). Auch bei einer kombinierten Aufnahme von Sucrose-Polyestern (z. B. Olestra) bzw. mit Pflanzensterolen angereicherter Margarine und Nahrungscarotiniden wurden reduzierte Carotinoid-

konzentrationen im Plasma beobachtet (Koonsvitsky *et al.*, 1997; Weststrate & Meijer, 1998; Boileau *et al.*, 2002). Für Lycopin konnte die negative Wirkung eines Langzeitkonsums von Olestra auf den Serumspiegel in einer Humanstudie ebenfalls nachgewiesen werden (Tulley *et al.*, 2005).

Weiterhin beeinflusst die **Art der konsumierten Lycopinquelle** die Bioverfügbarkeit von Lycopin. Eine Humaninterventionsstudie von Edwards *et al.* zeigte beispielsweise, dass Lycopin aus Wassermelonensaft ebenso gut aufgenommen wird wie aus Tomatensaft (Edwards *et al.*, 2003). Aus roten, lycopinhaltigen Karotten dagegen war Lycopin nur 44 % so gut verfügbar wie aus Tomatenpaste. Die in den verzehrten Karotten enthaltenen Ballaststoffe wirkten sich dabei negativ auf die Lycopinaufnahme aus (Horvitz *et al.*, 2004). In mehreren Studien wurde die Bioverfügbarkeit von Lycopin aus verschiedenen Supplementen (Paetau *et al.*, 1998; Rao & Agarwal, 1998; Böhm & Bitsch, 1999; Böhm, 2002; Richelle *et al.*, 2002) untersucht und mit der aus natürlichen Quellen verglichen. Dabei konnten in den meisten Fällen keine bzw. nur geringe Unterschiede in der Bioverfügbarkeit zwischen den verschiedenen Lycopinquellen festgestellt werden.

Die prozentuale Carotinoideaufnahme aus der Nahrung sinkt mit steigender **Carotinoiddosis** und bereits hohen **Blut- und Gewebecarotinoidspiegeln** (Stahl & Sies, 1992; Müller *et al.*, 1999; Diwadkar-Navsariwala *et al.*, 2003). Für den Einfluss von **Wechselwirkungen zwischen Carotinoiden** auf ihre Bioverfügbarkeit liegen bisher nur einige wenige Untersuchungen vor, welche keine einheitlichen Aussagen zulassen. Johnson *et al.* beobachteten in einer Humanstudie beispielsweise bei einer gleichzeitigen Aufnahme von Lycopin und  $\beta$ -Carotin eine gesteigerte Resorption von Lycopin, doch keine Beeinflussung der  $\beta$ -Carotin-Resorption (Johnson *et al.*, 1997). Bei der Untersuchung des Effekts einer Einmaldosis an  $\beta$ -Carotin kombiniert mit Lutein oder Lycopin auf den Plasmagehalt von  $\beta$ -Carotin wurde in einer Humanstudie dagegen festgestellt, dass Lutein einen negativen Einfluss auf die  $\beta$ -Carotin-Absorption hat, während die gleichzeitige Aufnahme von Lycopin keinen Einfluss zeigte (van den Berg & van Vliet, 1998). Im Gegensatz dazu sank in einer Studie mit Frettchen die Bioverfügbarkeit von  $\beta$ -Carotin bei kombinierter Gabe von  $\beta$ -Carotin und Lycopin (White *et al.*, 1993). Vermutet wird, dass Lycopin und  $\beta$ -Carotin möglicherweise um dieselben Transport- oder Absorptionsmechanismen konkurrieren (Gaziano *et al.*, 1995).

### 2.3.5 Verteilung und Gehalte von Lycopin im menschlichem Organismus

Im menschlichem Körper konnten bisher zwischen 10 und 20 verschiedene Carotinoide detektiert werden, wobei  $\beta$ -Carotin und Lycopin die mengenmäßig häufigsten Carotinoide sind. Stahl und Sies publizierten beispielsweise eine durchschnittliche Carotinoidverteilung im Blut (ermittelt aus 8 verschiedenen Humanstudien) von 33 % Lycopin, 24 %  $\beta$ -Carotin, 23 % Lutein+Zeaxanthin, 15 %  $\beta$ -Cryptoxanthin und 5 %  $\alpha$ -Carotin (Stahl & Sies, 1996b).

Obwohl nur etwa 1 % des Gesamtcarotinoid-Pools des menschlichen Körpers im Plasma bzw. Serum zu finden sind (Smith, 1998), wurden aufgrund ihrer relativ guten Verfügbarkeit die meisten Untersuchungen in diesen Medien durchgeführt. Der Plasma-/Serumgehalt gibt jedoch nur Auskunft darüber, wie viel der Carotinoide die intestinale Barriere überwunden haben, jedoch nicht darüber, wie die Aufnahme durch die Nahrung die Gewebekonzentration beeinflusst. Die Plasma-/Serumkonzentrationen spiegeln den aktuellen Versorgungszustand wieder, während die Konzentrationen in Organen Aussagen über die längerfristige Carotinoidversorgung zulassen.

In Tabelle 8 sind durchschnittliche Lycopinkonzentrationen im Humanplasma oder -serum angegeben. Ausgewählt wurden dabei Studien aus verschiedenen Ländern und verschiedenen Altersgruppen, in welchen die Probandenanzahl über 100 Personen lag und sich die Probanden normal ernährten (Basisdaten). Im Rahmen der aktuellen EPIC-Studie wurden auch Probandenkollektive in Deutschland untersucht. In den neuen Bundesländern lagen die Plasmagehalte an Lycopin bei  $0,65 \pm 0,32 \mu\text{mol/L}$  und in den alten Bundesländern bei  $0,58 \pm 0,29 \mu\text{mol/L}$  (Jenab *et al.*, 2005).

**Tabelle 8:** Lycopinkonzentrationen [ $\mu\text{mol/L}$ ] in Humanserum oder -plasma bei normaler Ernährung

Literatur	Land	Probandenzahl (Geschlecht <sup>1</sup> )	Untersuchungsmedium <sup>2</sup>	Lycopinkonzentration [ $\mu\text{mol/L}$ ]
(Alberg <i>et al.</i> , 2000)	USA	789 (m) / 801 (w)	P	$0,32 \pm 0,02 / 0,41 \pm 0,02$
(Brady <i>et al.</i> , 1996)	USA	400 (m, w)	S	$0,23 - 0,47$
(El-Soheemy <i>et al.</i> , 2002)	Costa Rica	334 (m) 115 (w)	P	$0,50 \pm 0,34$ $0,59 \pm 0,34$
(Jansen <i>et al.</i> , 2004)	Holland	284 (m) 287 (w)	P	$0,62 \pm 0,31$ $0,66 \pm 0,34$
(Jenab <i>et al.</i> , 2005)	Europa	$\sim 14\,000$ (m, w)	P	$0,72 \pm 0,42$
(Klipstein-Grobusch <i>et al.</i> , 2000)	Holland	109 (m, w)	S	$0,13 \pm 0,09$
(Koonsvitsky <i>et al.</i> , 1997)	USA	219 (m, w)	S	$0,24 \pm 0,01$
(Kritchewsky <i>et al.</i> , 2000)	USA	4 557 (m, w)	S	$0,45 \pm 0,20$
(Lu <i>et al.</i> , 2001)	USA	130 (m)	P	$0,31 \pm 0,19$
(Mayne <i>et al.</i> , 1999)	USA	111 (m, w)	P	$0,30 - 0,86$
(Michaud <i>et al.</i> , 1998)	USA	112 (m) / 186 (w)	P	$0,82 \pm 0,38$ $0,76 \pm 0,32$
(Nierenberg <i>et al.</i> , 1997)	k. A.	108 (m, w)	P	$0,61 - 0,62$
(Nomura <i>et al.</i> , 1997)	Hawaii	142 (m)	S	$\emptyset 0,25$
(Rissanen <i>et al.</i> , 2003)	Finnland	2 682 (m)	S	$0,15 \pm 0,14$
(Scott <i>et al.</i> , 1996)	UK	162 (w)	P	$0,25 - 0,39$
(Sesso <i>et al.</i> , 2004)	USA	483 (w) / 483 (w)	P	$0,30 \pm 0,14 / 0,31 \pm 0,15$
(Sesso <i>et al.</i> , 2005b)	USA	508 (w) / 508 (w)	P	$0,20 \pm 0,11 / 0,19 \pm 0,09$
(Sesso <i>et al.</i> , 2005a)	USA	499 (m) / 499 (m)	P	$0,19 \pm 0,09 / 0,18 \pm 0,09$
(Vogel <i>et al.</i> , 1997)	USA	230 (m) / 408 (w)	P	$0,64 \pm 0,0,40 / 0,59 \pm 0,36$
(Vogt <i>et al.</i> , 2002)	USA	2 296 (m)	S	$0,27 - 0,35$
(Vuong <i>et al.</i> , 2002)	Vietnam	752 (m, w)	P	$0,08 \pm 0,14$
(Wei <i>et al.</i> , 2001)	USA	2 488 (m) / 2894 (w)	S	$0,51 \pm 0,01 / 0,44 \pm 0,01$

<sup>1</sup> m = männlich, w = weiblich; <sup>2</sup> S = Serum, P = Plasma

Bei normaler Ernährung liegen die Lycopinkonzentrationen in Plasma bzw. Serum größtenteils unter  $1 \mu\text{mol/L}$  (Tabelle 8). Lycopingehalte über  $1 \mu\text{mol/L}$  sind jedoch bei längerfristiger lycopinreicher Ernährung (Supplementation, Interventionsstudien etc.) möglich (Tabelle 9). Auch in mediterranen Ländern sind aufgrund des hohen Tomatenverzehrsmalevel über  $1 \mu\text{mol/L}$  keine Seltenheit.

Die Lycopingehalte im Körper werden u. a. durch die aufgenommene Lycopinmenge und durch die Bioverfügbarkeit aus den verzehrten lycopinhaltigen Lebensmitteln bzw. Supplementen beeinflusst. Obwohl in mehreren Humanstudien beobachtet wurde, dass die Gehalte hauptsächlich mit der Aufnahme von Tomaten und Tomatenprodukten korrelieren, zeigten einige Untersuchungen auch nur geringe bzw. keine **Korrelation** zwischen der **Lycopinaufnahme** durch die Nahrung und den **Lycopinspiegeln** im Körper (Porrini & Riso,

2005). Scott *et al.* beobachteten eine signifikante höhere Lycopinaufnahme im Sommer und Herbst, wobei im Plasma der Probanden jedoch keine saisonalen Unterschiede in den Lycopinkonzentrationen feststellbar waren (Scott *et al.*, 1996). In Abhängigkeit von der **geographischen Region** und den damit verbundenen Ernährungsgewohnheiten können die Lycopingehalte im menschlichen Körper von Land zu Land sehr unterschiedlich sein. In Nordeuropa und Japan waren beispielsweise die Plasmalycopinlevel 2-8fach niedriger als in Nordamerika und in Mittel- und Südeuropa (Wertz *et al.*, 2004). Auch in Vietnam lagen die Lycopingehalte im Plasma mit  $0,08 \pm 0,14 \mu\text{mol/L}$  sehr niedrig, da in dieser Region lycopinhaltige Lebensmittel (Tomaten, Wassermelonen etc.) schwer erhältlich sind und auch von der Bevölkerung kaum akzeptiert werden (Vuong *et al.*, 2002).

Eine Vielzahl von Studien beschäftigte sich mit der möglichen Abhängigkeit der Lycopinlevel im menschlichen Körper (hauptsächlich Plasma, Serum) von unterschiedlichen Faktoren. Im Gegensatz zu  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin waren die Plasmakonzentrationen von Lycopin in den meisten Studien bei **Frauen** nicht höher als bei **Männern** (Olmedilla *et al.*, 1994; Brady *et al.*, 1996). Mit zunehmendem Alter der Probanden wurde eine Abnahme der Lycopinkonzentration im Serum beobachtet (Brady *et al.*, 1996; Rissanen *et al.*, 2003). Zwischen **Körpermasse** und Lycopinlevel scheint im Gegensatz zu  $\beta$ -Carotin kein Zusammenhang zu bestehen (Grünwald, 2002 #196). Weiterhin wurde häufig der Einfluss von **Alkohol- und Tabakkonsum** auf den Lycopinstatus diskutiert, wobei bis heute nur uneinheitliche Aussagen vorliegen. Der übermäßige Konsum von Alkohol und damit häufig auftretende Leberdysfunktionen zeigten in einigen Studien einen eindeutigen negativen Einfluss auf den Lycopinspiegel (Brady *et al.*, 1996; Albanes *et al.*, 1997), wobei in anderen Studien dagegen kein Zusammenhang beobachtet werden konnte. Auch zum Einfluss von Tabakrauch auf Lycopin liegen bisher nur kontroverse Daten vor. In einigen wenigen Studien waren die Lycopinspiegel von Rauchern niedriger als die von Nichtrauchern, wobei diese Unterschiede teilweise nicht signifikant waren (Sanders *et al.*, 1993; Pamuk *et al.*, 1994; Wei *et al.*, 2001; Lagiou *et al.*, 2003). Der größte Anteil der Untersuchungen zeigte jedoch beim Lycopin keine Unterschiede zwischen Rauchern und Nichtrauchern (Thompson *et al.*, 1985; Stryker *et al.*, 1988; Morrow *et al.*, 1995; Ross *et al.*, 1995; Brady *et al.*, 1996; Albanes *et al.*, 1997; Mayne *et al.*, 1999; Rissanen *et al.*, 2003).

In Tabelle 9 ist eine Auswahl von **Humaninterventionsstudien** angegeben, welche ab dem Jahr 2000 veröffentlicht wurden. Neben der Ausgangskonzentration an Lycopin im Plasma oder Serum wurde die Stärke des Lycopinspiegelanstieges u. a. durch die Lycopindosis, die Länge der Lycopinintervention, die Art der verzehrten Lycopinquelle, die Zusammensetzung des Probandenkollektives etc. beeinflusst. In diesen und anderen Studien wurde durch die Aufnahme einer definierten Lycopinmenge in den meisten Fällen ein 2-3facher Anstieg der Lycopinspiegel beobachtet. Jedoch stiegen bei einer Supplementation mit Lycopin die Blutspiegel nicht so stark an, wie bei einer vergleichbaren Aufnahme von beispielsweise  $\alpha$ -,  $\beta$ -Carotin oder Lutein (Agarwal & Rao, 1998; Paetau *et al.*, 1998; Olmedilla *et al.*, 2002), was in der geringeren Bioverfügbarkeit von Lycopin im Vergleich zu anderen Carotinoiden begründet liegt (Kapitel 2.3.4).

Auch bei exzessiver Lycopinaufnahme (hohe Lycopindosen über einen längeren Zeitraum) wurden bisher kaum Plasma-/Serumlycopingehalte über 1,5  $\mu\text{mol/L}$  beobachtet. Demzufolge liegt die Vermutung nahe, dass unter bestimmten Bedingungen eine **Sättigung** des Plasmas/Serums mit Lycopin vorliegt und keine weitere Erhöhung der Plasmakonzentration durch erneute Lycopinzufuhr möglich ist. Bis heute konnte noch nicht abschließend geklärt werden, ab welchen Lycopinmengen eine Sättigung auftritt und welche Faktoren diesen Zustand beeinflussen. Ein möglicher Sättigungseffekt während der Lycopinaufnahme wurde schon 1992 von Stahl und Sies beschrieben, welche in einer Humanstudie mit Tomatensaft eine größere Effizienz in der Lycopinabsorption bei niedrigeren Dosen im Vergleich zu hohen Dosen beobachteten (Stahl & Sies, 1992). Pateau *et al.* beschrieben ein Plateau in der Plasmakonzentration bei der täglichen Aufnahme von 70-75 mg/d (Pateau *et al.*, 1998). Jedoch konnte auch bei der Aufnahme von täglich 5 mg Lycopin über mehrere Wochen dieser „Plateau-effekt“ beobachtet werden (Böhm & Bitsch, 1999). Obwohl bei diesen beiden Studien unterschiedlich hohe Lycopindosen verzehrt wurden, waren die Plateaukonzentrationen mit 0,2 – 0,3  $\mu\text{mol/L}$  ähnlich. Diwadkar-Navsariwala *et al.* untersuchten in einer Humanstudie, wie der Verzehr unterschiedlicher einmaliger Dosen an Lycopin (10 – 120 mg) den Lycopinspiegel im Serum der Probanden beeinflusste. Dabei konnten keine signifikanten Unterschiede der absorbierten Absolutmenge zwischen den unterschiedlichen Lycopinmengen festgestellt werden. Die durchschnittliche absorbierte Menge an Lycopin lag bei  $4,69 \pm 0,55$  mg. Diese Resultate weisen darauf hin, dass mög-

licherweise bei etwa 5 mg eine Sättigung des Absorptionsmechanismus vorliegt (Diwadkar-Navsariwala *et al.*, 2003).

**Tabelle 9:** Änderung der Lycopinkonzentrationen [ $\mu\text{mol/L}$ ] in Humanserum oder -plasma bei definierter Lycopinsupplementation

Literatur	Auswaschphase <sup>1</sup>		Interventionsphase		
	Länge <sup>2</sup>	Konzentration vor Supplementation [ $\mu\text{mol/L}$ ] <sup>3</sup>	Länge <sup>2</sup>	Konzentration nach Supplementation [ $\mu\text{mol/L}$ ]	
(Allen <i>et al.</i> , 2002)	7 d	0,78 $\pm$ 0,11 0,64 $\pm$ 0,18	3 d	Tomaten, 50 mg/d Tomatensaft, 50 mg/d	0,89 $\pm$ 0,12 0,82 $\pm$ 0,19
(Allen <i>et al.</i> , 2003)	2 wo	0,56 $\pm$ 0,03 0,56 $\pm$ 0,03 0,56 $\pm$ 0,03	4 wo	Tomatensauce, 21 mg/d Tomatensuppe, 12 mg/d Tomatensaft, 17 mg/d	0,78 $\pm$ 0,11 0,64 $\pm$ 0,18 0,64 $\pm$ 0,18
(Bowen <i>et al.</i> , 2002)	keine	0,64 $\pm$ 0,06	3 wo	Kapseln <sup>4</sup> , 30 mg/d	1,26 $\pm$ 0,10
(Böhm, 2002)	2 wo	0,04 $\pm$ 0,06 0,13 $\pm$ 0,10 0,08 $\pm$ 0,11 0,10 $\pm$ 0,07 0,14 $\pm$ 0,16	4 wo	Kapseln Nr. 1 <sup>4</sup> , 5 mg/d Kapseln Nr. 2 <sup>4</sup> , 5 mg/d Kapseln Nr. 3 <sup>4</sup> , 5 mg/d Kapseln Nr. 4 <sup>6</sup> , 5 mg/d Kapseln Nr. 5 <sup>4</sup> , 5 mg/d	0,35 $\pm$ 0,15 0,32 $\pm$ 0,08 0,38 $\pm$ 0,12 0,29 $\pm$ 0,10 0,25 $\pm$ 0,18
(Briviba <i>et al.</i> , 2004)	2 wo	0,20 $\pm$ 0,18	2 wo	Tomatensaft, 37 mg/d	0,46 $\pm$ 0,23
(Chopra <i>et al.</i> , 2000)	8 d	0,25 $\pm$ 0,20	7 d	Tomaten, Wassermelonen, 45 $\pm$ 15 mg/d	0,85 $\pm$ 0,34
(Carroll <i>et al.</i> , 2000; Corridan <i>et al.</i> , 2001)	keine	0,10 $\pm$ 0,06	12 wo	Lycopinkapseln, 13,3 mg/d	0,27 $\pm$ 0,10
(Edwards <i>et al.</i> , 2003)	4 wo	0,45 $\pm$ 0,04 0,40 $\pm$ 0,04 0,43 $\pm$ 0,05	3 wo	Melonensaft <sup>5</sup> , 20,1 mg/d Melonensaft <sup>5</sup> , 40,2 mg/d Tomatensaft, 18,4 mg/d	1,08 $\pm$ 0,11 1,18 $\pm$ 0,14 0,96 $\pm$ 0,12
(Hadley <i>et al.</i> , 2003)	7 d	0,55 $\pm$ 0,07 0,57 $\pm$ 0,07 0,37 $\pm$ 0,05	15 d	Tomatensuppe, 35 $\pm$ 1 mg/d Tomatensuppe, 23 $\pm$ 1 mg/d Gemüsesaft, 25 $\pm$ 1 mg/d	0,78 $\pm$ 0,08 0,55 $\pm$ 0,06 0,57 $\pm$ 0,06
(Hininger <i>et al.</i> , 2001)	keine	0,63 $\pm$ 0,21	12 wo	Kapseln <sup>4</sup> , 15 mg/d	1,17 $\pm$ 0,15
(Hoppe <i>et al.</i> , 2003)	keine	0,33 $\pm$ 0,12 0,38 $\pm$ 0,18	28 d	Kapseln <sup>6</sup> , 15 mg/d Kapseln <sup>4</sup> , 15 mg/d	0,91 $\pm$ 0,30 0,95 $\pm$ 0,20
(Kim <i>et al.</i> , 2003a)	keine	0,64 $\pm$ 0,06	3 wo	Tomatensauce, 30 mg/d	1,26 $\pm$ 0,10
(Pellegrini <i>et al.</i> , 2000; Porrini & Riso, 2000)	1 wo	0,13 $\pm$ 0,06	2 wo	Tomatensaft, 7 mg/d	0,55 $\pm$ 0,21
(Porrini <i>et al.</i> , 2005)	keine	0,31 $\pm$ 0,17	26 d	Oleoresinetränk <sup>7</sup> , 5,7 mg/d	0,52 $\pm$ 0,17
(Riso <i>et al.</i> , 2004)	1 wo	0,34 $\pm$ 0,03	3 wo	Tomatenprodukte, 8 mg/d	0,52 $\pm$ 0,03
(Richelle <i>et al.</i> , 2002)	3 wo	0,38 $\pm$ 0,05 0,28 $\pm$ 0,02	8 wo	Lactolycopin, 25 mg/d Tomatenpaste, 25 mg/d	0,96 $\pm$ 0,13 0,75 $\pm$ 0,07
(van Breemen <i>et al.</i> , 2002)	keine	0,66 $\pm$ 0,46	3 wo	Spaghettisauce, 30 mg/d	1,30 $\pm$ 0,74
(Visioli <i>et al.</i> , 2003)	1 wo	0,34 $\pm$ 0,03	3 wo	Tomatenprodukte, 8 mg/d	0,53 $\pm$ 0,03
(Vuong <i>et al.</i> , 2002)	keine	0,08 $\pm$ 0,14	30 d	Gac-Frucht, ~ 8 mg/d	0,73 $\pm$ 0,59

(Watzl <i>et al.</i> , 2003)	2 wo	0,21 ± 0,12 0,12 ± 0,10	2 wo	Tomatensaft, 37 mg/d Tomatensaft, 37 mg/d	0,52 ± 0,20 0,48 ± 0,21
------------------------------	------	----------------------------	------	--	----------------------------

<sup>1</sup>lycopinarme Kost vor Beginn der Supplementation; <sup>2</sup>d = Tage, wo = Wochen; <sup>3</sup>nach Beendigung der Auswaschphase (falls vorliegend); <sup>4</sup>Tomatenoleoresinkapseln; <sup>5</sup>Wassermelonensaft; <sup>6</sup>synthetisches Lycopin in Kapseln; <sup>7</sup>Getränk mit Zusatz von Tomatenoleoresin

In verschiedenen Studien wurden für Lycopin unterschiedliche **Plasmahalbwertszeiten** ermittelt, welche zwischen 2 bis 33 Tagen lagen. Demzufolge ist für eine Senkung des Lycopinplasmaspiegels, was teilweise für bestimmte Fragestellungen in Humanstudien notwendig ist, eine Auswaschphase von mindestens zwei Wochen sinnvoll. (Brown *et al.*, 1989; Micozzi *et al.*, 1992; Rock *et al.*, 1992; Stahl & Sies, 1992; Oshima *et al.*, 1997; Cohn *et al.*, 2004)

Lycopin konnte in fast allen **Geweben** des Menschen gefunden werden, jedoch liegen Hinweise vor, dass dieses Carotinoid bevorzugt in Nebennieren, Leber, Hoden und Prostata aufgenommen wird (Tabelle 10). Die Anhäufung von Carotinoiden in spezifischen Geweben weist darauf hin, dass diese Verbindungen spezielle Funktionen in den Geweben haben. Die Aufnahme von Lycopin ins Gewebe ist u. a. abhängig von der Anzahl der LDL-Rezeptoren im Gewebe, vom Gewebefettgehalt, von der „metabolischen Rate“ des Gewebes und von der Anwesenheit von Bindungs- bzw. Transporterproteinen im Gewebe. Auch die Struktur des Lycopins (*trans*- oder *cis*-Konfiguration), die schon im Gewebe vorliegenden Lycopingehalte und der damit verbundene „Lycopinbedarf“ des entsprechenden Gewebes beeinflussen die Aufnahme. (Schwartz, 2005)

Gewebeuntersuchungen werden nur sehr selten durchgeführt, da die Entnahme von Gewebeproben sehr aufwendig und kostenintensiv ist und auch die Detektion von Carotinoiden aufgrund ihrer geringen Konzentration in Geweben sich oftmals als problematisch erweist. Demzufolge wurden bisher nur wenige Daten zu Lycopingehalten in unterschiedlichen Humangeweben publiziert. Eine Auswahl verschiedener Gewebekonzentrationen ist in Tabelle 10 angegeben. Von Rao und Agarwal wurden inter-individuelle Variationen der Lycopingewebespiegel von über das 100fache beschrieben (Rao & Agarwal, 1999).

**Tabelle 10:** Lycopinkonzentrationen [nmol/g] in menschlichen Geweben

	(Kaplan <i>et al.</i> , 1990)	(Schmitz <i>et al.</i> , 1991)	(Stahl <i>et al.</i> , 1992)	(Clinton <i>et al.</i> , 1996)
<b>Hoden</b>	21,4		4,3 (9,4 - 9,4)	
<b>Nebenniere</b>	21,6		1,9 (0,2 - 5,6)	
<b>Leber</b>	2,5	5,4 (0 - 20,7)	1,3 (0,1 - 4,1)	

<b>Prostata</b>			0,8 (0 - 1,7)
<b>Fettgewebe</b>	1,3		0,2 (0 - 0,5)
<b>Pankreas</b>	0,7		
<b>Lunge</b>		0,6 (0,1 - 4,2)	
<b>Niere</b>	0,4	0,6 (0,1 - 2,4)	0,2 (0,1 - 0,3)
<b>Eierstöcke</b>	0,3		0,3 (0,1 - 0,4)

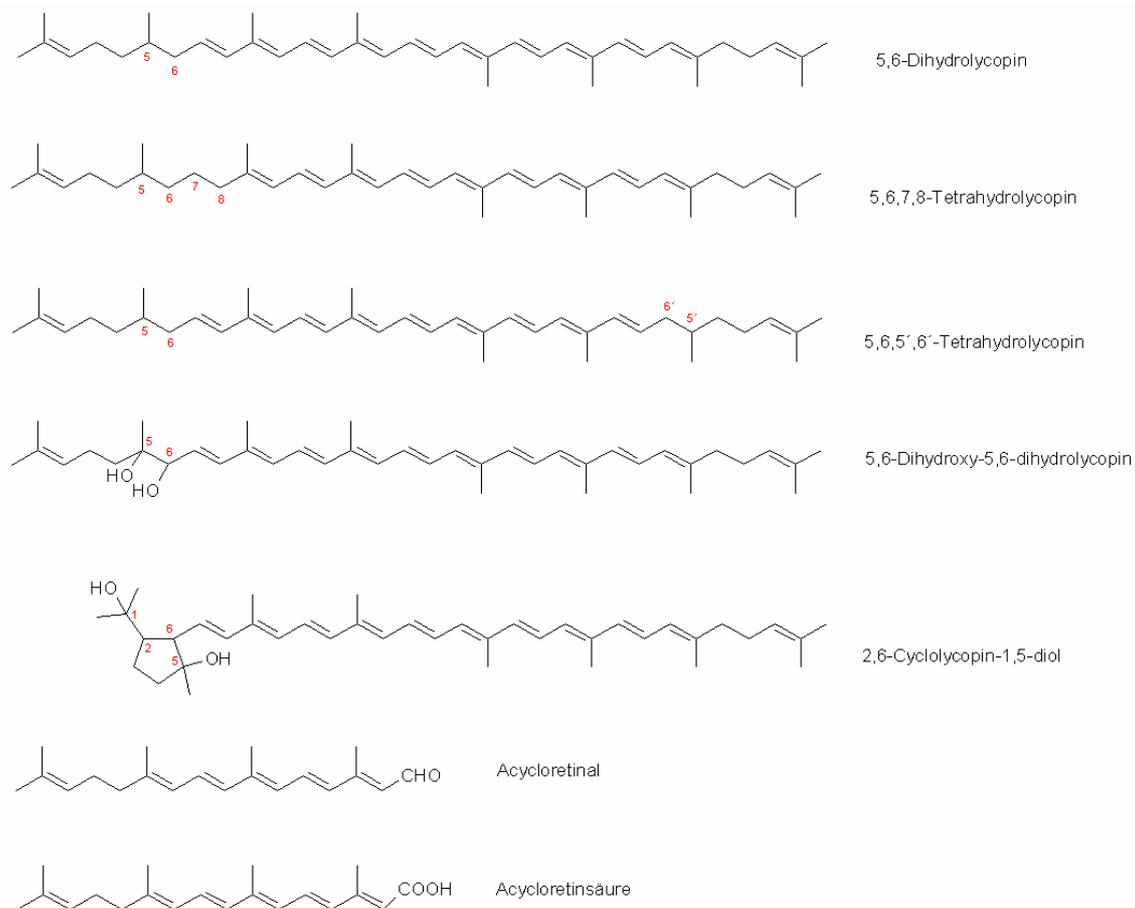
### 2.3.6 Metabolisierung von Lycopin

Zum heutigen Zeitpunkt ist nur wenig über die Metabolisierung von Nicht-Provitamin-A-Carotinoiden, wie dem Lycopin, im menschlichen Körper bekannt. Im Gegensatz zu den Provitamin-A-wirksamen Carotinoiden, welche zu einem geringen Teil in den Mucosazellen und zum größeren Teil in der Leber zu Vitamin A metabolisiert werden, ist beim Lycopin aufgrund seiner Struktur diese Vitamin-A-Bildung nicht möglich. Jedoch konnten zusätzlich zu den zahlreichen Lycopinisomeren einige wenige Lycopinabbauprodukte in menschlichem Blut und Gewebe detektiert und identifiziert werden.

Khachik *et al.* fanden im Humanserum beispielsweise das 5,6-Dihydroxy-5,6-dihydrolycopin, ein Lycopinmetabolit, welcher möglicherweise durch Oxidationsprozesse im Körper aus Lycopin gebildet wurde (Khachik *et al.*, 1995). In der Milch sowie im Serum stillender Mütter konnten die Epimere 2,6-Cyclolycopin-1,5-diol A und B nachgewiesen werden (Khachik *et al.*, 1997). Die Autoren vermuteten, dass die Oxidation von Lycopin über das instabile Lycopin-5,6-epoxid abläuft, welches dann zum 2,6-Cyclolycopin-1,5-epoxid weiterreagiert. Dieses Epoxid wird enzymatisch oder säurekatalysiert zum 2,6-Cyclolycopin-1,5-diol hydrolysiert. Noch ist jedoch nicht geklärt, ob diese Metabolite *in vivo* aus Lycopin gebildet werden oder über die Nahrung aufgenommen werden. Geringe Mengen dieser Verbindungen wurden auch in Tomaten und Tomatenprodukten gefunden (Khachik *et al.*, 2002a; Sicilia *et al.*, 2005). Sicilia *et al.* identifizierten außerdem verschiedene Stereoisomere der zwei Lycopinmetabolite 5,6-Dihydrolycopin und Tetrahydrolycopin in Kälbern nach der Supplementation mit Lycopin. Die Autoren beurteilten jedoch die Untersuchung an Kälbern als ein Tiermodell, welches schlecht auf den Menschen übertragbar ist (Sicilia, 2004).

Im Gegensatz zu den wenigen Untersuchungen von Metaboliten *in vivo* liegen heutzutage eine Reihe von Daten zur Umwandlung von Lycopin in verschiedenen *in-vitro*-Modellen vor. Beispielsweise stellte eine französische Arbeitsgruppe verschiedene Lycopinmetabo-

lite, welche auch *in vivo* eine Bedeutung haben könnten, durch *in-vitro*-Oxidation her. Mit Hilfe von Kaliumpermanganat bzw. einem Metallporphyrin-System wurden aus Lycopin elf Apo-Lycopinale/-one und sechs Apo-Carotindiale gebildet, von denen einige auch in Tomaten bzw. Tomatenpüree detektiert werden konnten. (Caris-Veyrat *et al.*, 2004) Nagao *et al.* beschrieben die Bildung von Acycloretinal, Acycloretinsäure und Apolycopinale aus Lycopin *in vitro* durch nicht-enzymatische Abbauege und die Wirkung dieser Autooxidationsprodukte in Zellversuchen (siehe auch Kapitel 2.4.2). Acycloretinsäure kann möglicherweise enzymatisch aus Acycloretinal exponiert durch oxidativen Stress auch in menschlichen Geweben gebildet werden. (Kim *et al.*, 2001; Nagao, 2004).



**Abbildung 7:** Strukturformeln ausgewählter Lycopinmetabolite

## 2.4 Funktionen und Wirkungen von Lycopin und seinen Metaboliten

### 2.4.1 Protektive Wirkungen von Lycopin und seinen Metaboliten

Lycopin besitzt neben den allgemeinen Funktionen (Färbung und Schutz von Pflanzen und Tieren etc.), welche alle Carotinoide haben (siehe Kapitel 2.1) auch verschiedene protek-

tive Wirkungen auf den menschlichen Körper. Weiterhin ist das Lycopin u. a. an der Bildung von Aromakomponenten in Tomaten und Wassermelonen beteiligt (Lewinsohn *et al.*, 2005).

Verschiedene epidemiologische und klinische Studien haben zeigt, dass der Verzehr von Tomaten chemopräventive Wirkungen auf einige chronische Erkrankungen, wie verschiedenen Krebsarten (Giovannucci *et al.*, 2002; Etminan *et al.*, 2004) und Herz-Kreislaufkrankungen (Kohlmeier *et al.*, 1997; Klipstein-Grobusch *et al.*, 2000; Rissanen *et al.*, 2002) haben kann. Dieser Zusammenhang zwischen Tomaten- bzw. Lycopinaufnahme und dem Auftreten von Krebserkrankungen war besonders aufgeprägt für Prostatakrebs, aber auch teilweise für Blasen-, Lungen-, Gebärmutterhals- und Brustkrebs, sowie Krebsarten des Gastrointestinaltrakts nachweisbar (Burney *et al.*, 1989; Helzlsouer *et al.*, 1989; Giovannucci *et al.*, 1995; Arab *et al.*, 2001; Arab *et al.*, 2002); (Gerster, 1997; Sesso *et al.*, 2005b). Weiterhin wird auch die Rolle von Lycopin bzw. Tomatenprodukten bei der Prävention von Entzündungserkrankungen (Dugas *et al.*, 1998; Balestrieri *et al.*, 2004), rheumatischen Erkrankungen (Vektor-Lycopin, Privatkorrespondenz mit Prof. C.-P. Siegers, Lübeck), Immunerkrankungen (Heber & Lu, 2002) und Hypertonie (Engelhard *et al.*, 2006) diskutiert.

Aufgrund seiner krebspräventiven Wirkung wurde in neueren Studien der mögliche Einsatz von Lycopin als Medikament bei der Krebstherapie untersucht (Matlaga *et al.*, 2001; Ansari & Gupta, 2004). Ansari & Gupta konnten in einer prospektiven Humanstudie beispielsweise zeigen, dass beim Verzehr von 10 mg Lycopin pro Tag positive Effekte (Verringerung der prostataspezifischen Antigene, Schmerzreduktion etc.) bei Prostatakrebspatienten erkennbar waren. Besonders der Einsatz von Lycopin in Kombination mit anderen Krebsmedikamenten (z. B. Adriamycin, Gentamycin) erschien sinnvoll, um den schädigenden Wirkungen dieser Verbindungen entgegenzuwirken (Yilmaz *et al.*, 2006; Karahan *et al.*, 2005).

Obwohl Tomaten und Tomatenprodukte eine Vielzahl gesundheitsfördernder Inhaltsstoffe besitzen, deuteten Human-, Tier- und Zellstudien darauf hin, dass diese schützenden Effekte hauptsächlich dem roten Tomateninhaltsstoff Lycopin zugeschrieben werden können (Rao & Agarwal, 1999; Etminan *et al.*, 2004; Tang *et al.*, 2005b). Jedoch sind auch sy-

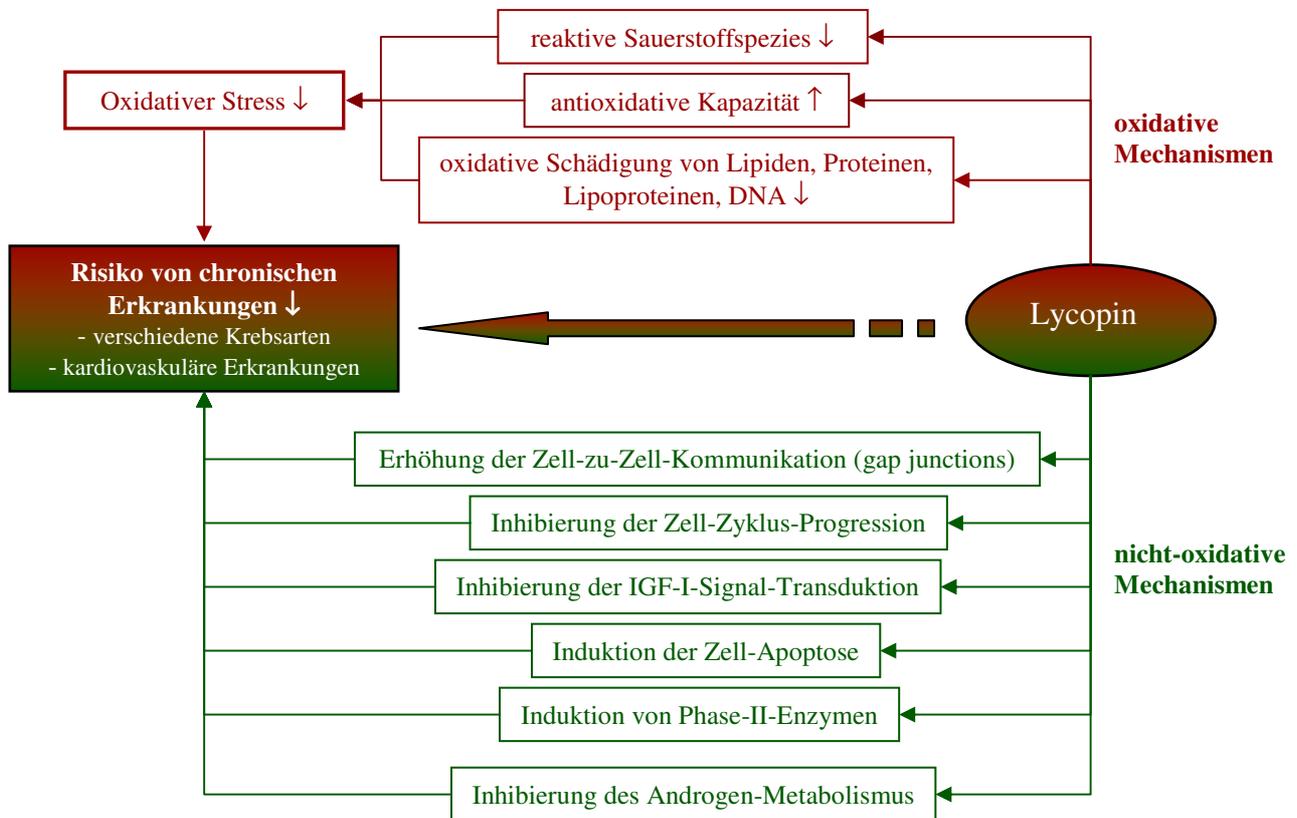
nergistische Wirkungen von Lycopin mit anderen Lebensmittelinhaltsstoffen denkbar. Beispielsweise konnten Synergismen zwischen Lycopin und  $\alpha$ -Tocopherol oder 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in verschiedenen Untersuchungen nachgewiesen werden (Pastori *et al.*, 1998; Amir *et al.*, 1999; Balestrieri *et al.*, 2004).

#### 2.4.2 Wirkmechanismen von Lycopin

Die Mechanismen der Lycopinwirkung im menschlichen Körper sind bis heute noch nicht eindeutig geklärt. Obwohl die antioxidative Wirkung von Lycopin als einer der Hauptmechanismen angesehen wird, ist es auch möglich, dass Lycopin in andere, nicht-oxidative Mechanismen involviert ist (Abbildung 8). *In vitro* ist die antioxidative Wirkung von Carotinoiden sehr gut dokumentiert, aber ihre antioxidative Wirkung *in vivo* ist bis heute noch unklar (siehe auch Kapitel 2.2.3). Auch die anderen möglichen Wirkmechanismen konnten größtenteils bisher nur *in vitro* beobachtet werden.

Die Möglichkeit von Lycopin, als Antioxidans und Fänger von freien Radikalen zu wirken, wurde von vielen Wissenschaftlern als möglicher Hauptmechanismus für die protektiven Effekte des Lycopins auf die menschliche Gesundheit postuliert (Di Mascio *et al.*, 1989; Stahl & Sies, 1993; Halliwell, 1994; Gerster, 1997). Im menschlichen Organismus stellt sich ein Gleichgewicht zwischen oxidativen Prozessen und antioxidativen Reaktionen ein. Die Verschiebung dieses Gleichgewichtes resultiert in dem sogenannten „oxidativen Stress“, der schliesslich zu unterschiedlichen Erkrankungen wie beispielsweise Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Krebs führen kann. Die Quenching-Eigenschaft von Lycopin wurde bisher hauptsächlich für Singulett-Sauerstoff beschrieben, eine reaktiven Sauerstoff-Verbindung, welche mit der Initialisierung von verschiedenen degenerativen Erkrankungen in Verbindung gebracht wird (Di Mascio *et al.*, 1989; Halliwell, 1994; Halliwell, 1996). Weitere Studien zeigten auch eine protektive Wirkung des Lycopins vor Schäden, welche durch NO<sub>2</sub> (Böhm *et al.*, 2001), CCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub> (Yaping *et al.*, 2002), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Riso *et al.*, 1999) und UV-Strahlung (Ribaya-Mercado *et al.*, 1995; Stahl & Sies, 2002) hervorgerufen wurden. Zwischen der antioxidativen Funktion des Lycopins und der Verringerung von DNA-Schäden und Oxidationsschäden an Proteinen, Lipiden und anderen Zellkomponenten besteht dabei ein Zusammenhang (Shi & Le Maguer, 2000). Rao und Agarwal publizierten die erste Studie zur *in-vivo*-Wirkung von Tomatenprodukten auf die antioxidative Aktivität inklusive der DNA-Oxidation sowie der Lipid- und Proteinperoxidation beim Menschen

(Rao & Agarwal, 1998). Jedoch konnten die beobachteten Effekte nicht eindeutig nur dem Lycopin zugeschrieben werden. Die Wirkungen waren wahrscheinlich in dem Zusammenspiel mehrerer Tomateninhaltsstoffe begründet.



**Abbildung 8:** Schematische Darstellung möglicher Wirkmechanismen des Lycopins (Breinholt *et al.*, 2000; Karas *et al.*, 2000; Stahl *et al.*, 2000; Siler *et al.*, 2004; Wertz *et al.*, 2004; Bowen, 2005)

Bis heute konnte nicht eindeutig geklärt werden, ob das intakte Lycopin und/oder im Körper gebildete Lycopinmetabolite für die präventiven Wirkungen verantwortlich sind. *In-vivo*- und *in-vitro*-Untersuchungen wiesen darauf hin, dass auch einige Lycopinoxidationsprodukte schützende Wirkungen haben können (Stahl *et al.*, 2000; Aust *et al.*, 2003). Für die Konfigurationsisomere des Lycopins liegen bis heute mit Ausnahme der antioxidativen Kapazität keine Untersuchungen zu ihrer biologischen Aktivität vor. Seit einigen Jahren wird diskutiert, ob der Einfluss von Nahrungslycopin auf das Krebszellenwachstum möglicherweise auf der Wechselwirkung von Metaboliten des Lycopins mit den Retinsäurerezeptor (RAR) begründet ist (Ben-Dor *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2001; Nagao, 2004; Zaripheh & Erdman, 2005).

Stahl *et al.* stellten fest, dass die aus dem Lycopin gebildete Acycloretinsäure auch einen Einfluss auf die Zellkommunikation hat. Die Acycloretinsäure zeigte jedoch eine geringe Wirksamkeit im Vergleich zur Retinsäure, welche aus Vitamin-A-wirksamen Carotinoiden gebildet wird. Als ein weiteres biologisch aktives Lycopinoxidationsprodukt konnte das 2,7,11-Trimethyltetradecaheptaen-1,14-dial identifiziert werden. (Stahl *et al.*, 2000; Aust *et al.*, 2003). In Zellstudien wurde durch einige Lycopinoxidationsprodukte (Acycloretinal, Acycloretinsäure, Apolycopinale) auch die Zellapoptose induziert. Möglich wäre, dass analog zu Retinsäure beispielsweise die Acycloretinsäure eine Wirkung bei der Regulation der Genexpression hat. (Kim *et al.*, 2001; Nagao, 2004).

Zahlreiche weitere *in-vitro*- und *in-vivo*-Untersuchungen sind in der Zukunft noch notwendig, um die biologischen Wirkungen inklusive der Wirkmechanismen von Lycopin und seinen Metaboliten besser verstehen zu können.

## 2.5 Testsysteme für die Messung der antioxidativen Kapazität

Die antioxidative Kapazität ist ein Summenparameter und kann von Einzelverbindungen, Lebensmitteln bzw. physiologischen Proben auf unterschiedlicher Weise ermittelt werden. Dabei lässt sich zwischen hydrophiler, lipophiler und gesamter antioxidativer Kapazität unterscheiden. Bei der hydrophilen antioxidativen Kapazität einer Probe werden alle hydrophilen Stoffe erfasst, d. h. alle in Wasser löslichen Verbindungen. Von einigen Arbeitsgruppen werden jedoch auch alkoholische Probenextrakte als hydrophil bezeichnet. Die Definition des Begriffs der lipophilen antioxidativen Kapazität erweist sich als sehr schwierig. Darunter wird meistens das antioxidative Potential eines Lösungsmittelextraktes einer Probe verstanden. Die verwendeten Lösungsmittel sind dabei sehr vielfältig und reichen je nach Forschungsgruppe von Alkoholen (Methanol, Ethanol) über Dichlormethan bis zu Hexan. Die Bezeichnung eines in einer alkoholischen Lösung gemessenen Wertes als lipophile antioxidative Kapazität ist jedoch sehr fraglich, da dabei sicherlich auch hydrophile Substanzen mit erfasst werden.

Die Messprinzipien, auf denen die verschiedenen antioxidativen Tests beruhen, unterscheiden sich untereinander sehr stark. Beispielsweise können die Antioxidanzien einer Probe gebildete Messradikale teilweise eliminieren oder aber auch die Bildung der Radikale über Oxidation inhibieren. Der Einsatz einer Vielzahl verschiedener Radikale ist heut-

zutage bekannt (Cao & Prior, 1998; Gardner *et al.*, 1998; Arnao *et al.*, 2000; Aldini *et al.*, 2001; Rohe, 2001; Schlesier *et al.*, 2002; Yeum *et al.*, 2004; Huang *et al.*, 2005).

Für die Messung der hydrophilen antioxidativen Kapazität eines wäßrigen Extraktes stehen heutzutage viele verschiedene Methoden zur Verfügung, von denen sich die meisten auch schon längere Zeit in der Praxis gut bewährt haben. Häufig eingesetzt werden u. a. der hydrophile TEAC-Assay (Trolox equivalent antioxidant capacity), der FRAP-Assay (ferric reducing antioxidant power), der ORAC-Assay (oxygen radical absorbance capacity), der TRAP-Assay (total radical-trapping antioxidant parameter), der LDL-Oxidationstest (*quasi-ex-vivo*-Test) und auch die ESR-Spektroskopie (Elektronenspinresonanz).

Die Messung der reinen lipophilen antioxidativen Kapazität ist bis heute dagegen noch sehr problematisch. Zum einen werden häufig Extrakte verwendet, die neben den lipophilen Verbindungen auch hydrophile Stoffe enthalten, welche mit erfasst werden. Ein weiteres Problem ist, dass die lipophilen Varianten oft eine geringere Empfindlichkeit aufweisen als die hydrophilen Testsysteme, wodurch die Anwendung bei biologischen Proben (Plasma, Gewebe) nicht möglich ist. Dies zeigte sich in eigenen Untersuchungen auch bei der hydrophilen und lipophilen Variante des TEAC-Tests (Daten nicht gezeigt).

Huang *et al.* sowie auch Bangalore *et al.* modifizierten den hydrophilen ORAC-Assay, indem sie verschiedene Cyclodextrine als Lösungsvermittler einsetzten und ihn so auch für lipophile Substanzen zugänglich machten (Huang *et al.*, 2002; Bangalore *et al.*, 2005). Eigene Untersuchungen zeigten, dass diese Methode sich gut für die Messung der antioxidativen Aktivität von Tocopherolen und Tocotrienolen einsetzen ließ. Die Untersuchung von Carotinoiden, speziell vom Lycopin erwies sich jedoch als sehr problematisch (Daten nicht gezeigt).

Adom und Liu beschrieben eine weitere Methode, in der Cyclodextrin als Lösungsvermittler verwendet wurde, den sogenannten PSC-Assay (rapid peroxy radical scavenging capacity). Der Test basiert auf der Inhibierung der Oxidation von Dichlorofluorescein durch Antioxidanzien. Die Bildung der Peroxylradikale, welche von den Antioxidantien abgefangen wurden, erfolgte durch thermischen Abbau von 2,2'-Azobis(amidinopropan). (Adom & Liu, 2005)

Naguib veröffentlichte eine Fluoreszenz-Methode für die Messung der Peroxylradikal-Scavenger-Aktivität von lipophilen Antioxidanten (Naguib, 1998). Aldini *et al.* benutzten dieses Testsystem, um neben der hydrophilen auch die lipophile antioxidative Kapazität von Plasmaproben zu ermitteln. Für die lipophile Variante wurde dabei ein lipophiler Radikalinitiator (MeO-AMVN) und BODIPY als Fluoreszenz-Indikator eingesetzt (Aldini *et al.*, 2001). In wie weit dieses Testsystem auch Lycopin erfasst, ist bisher nicht geklärt. Zukünftig ist unumgänglich, neue Testsysteme für die Messung der lipophilen antioxidativen Kapazität zu entwickeln bzw. bestehende Assays zu optimieren.

Ein allgemeines Problem von antioxidativen Tests sollte nicht außer Acht gelassen werden. Die meisten antioxidativen Testsysteme sind *in-vitro*-Methoden, welche teilweise auch mit synthetischen Radikalen arbeiten. Demzufolge können die daraus erhaltenen Resultate nicht unbedingt mit denen in Mensch und Tier (*in vivo*) gleichgesetzt werden. Sie geben lediglich Hinweise auf die mögliche Wirkung im lebenden Organismus.

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Untersuchungen zu Lycopin und seinen geometrischen Isomeren**

#### **3.1.1 Isomerisierung und Stabilität von Lycopin**

Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene Vorversuche zu Isomerisierung und Stabilität von Lycopin unter ausgewählten Bedingungen durchgeführt. Zum einen wurde die Bildung von Lycopinisomeren und -oxidationsprodukten aus (*all-E*)-Lycopin mit unterschiedlichen Iodmengen, sowie unterschiedlicher Art und Dauer der UV-Bestrahlung untersucht. Da die Analysenzeiten der HPLC-Carotinoidtrennungen (über 1 h pro Probe) sehr lang sind und die Proben demzufolge über mehrere Stunden im Autosampler stehen, wurde weiterhin die Stabilität von Lycopin-Standardlösungen sowie von Humanplasmaextrakten im Autosampler getestet.

Alle Untersuchungen wurden jeweils als Doppelbestimmung an zwei unterschiedlichen Tagen durchgeführt. Die Konzentrationen der verwendeten (*all-E*)-Lycopinlösungen wurden vor Versuchsbeginn photometrisch bestimmt (siehe Anhang Kapitel I.I.II).

#### **3.1.2 Charakterisierung der Struktur von ausgewählten Lycopinisomeren**

Aufgrund der bis heute nicht eindeutigen Datenlage zur Strukturcharakterisierung einzelner Lycopinisomere (siehe 2.2.2) war es bisher kaum möglich, bei den verwendeten HPLC-Bedingungen (Hausmethode) den detektierten Lycopinmetaboliten entsprechende Isomerenstrukturen sicher zuzuordnen. Ziel dieser Untersuchungen war demzufolge, ausgewählte Lycopinisomere, welche auch in Lebensmitteln und Humanplasma zu finden sind, durch die Kombination verschiedener spektroskopischer Methoden eindeutig zu identifizieren.

Die Lycopinisomerisierung wurde nach der Methode von Zechmeister (Zechmeister, 1944) durchgeführt, welche leicht modifiziert wurde. Für die Herstellung des zur Isolierung verwendeten Lycopinmetabolitengemisches wurde zu einer konzentrierten (*all-E*)-Lycopinlösung eine definierte Menge Iodlösung (5 % des Carotinoidgewichts) zugegeben und diese Mischung 15 Minuten mit UV-Licht bestrahlt. Das überschüssige Iod musste danach entfernt werden, um eine weitere Isomerisierung bzw. Oxidation des entstandenen Metabolitengemisches zu verhindern. Dies erfolgte nach Konzentrierung der Metabolitenlösung im Rotationsverdampfer durch Abblasen des restlichen Lösungsmittels mittels Stickstoff. Um das Iod vollständig entfernen zu können, war darauf zu achten, dass ein relativ starker Stickstoffstrom

angewandt und die Stickstoffzufuhr auch nach Vorliegen des trockenen Metabolitengemisches noch mindestens fünf Minuten aufrechterhalten wurde. Der Rückstand wurde nachfolgend für die Vorisolierung in Cyclohexan/Toluol (8+2, v/v) bzw. für die Endisolierung in mobiler Phase (Methanol/MTBE, 1+1, v/v) gelöst. Die konzentrierten Lycopinmetabolitenlösungen waren mehrere Wochen im Tiefkühlschrank stabil, wobei sich sogar eine längere Lagerung der Mischung für die Stabilität der isolierten Isomere als vorteilhaft erwies (Daten nicht gezeigt).

Die Fraktionierung von sechs verschiedenen Lycopinisomeren wurde mittels präparativer HPLC an einer 30 cm langen C<sub>30</sub>-Säule mit einem Durchmesser von 10 mm und einer Porengröße von 5 µm durchgeführt. Die Trennung erfolgte mit unterschiedlichen Mischungen aus Methanol und MTBE als mobile Phase bei einer Flussrate von 4,0 mL/min und einer Detektionswellenlänge von 450 nm.

Für die NMR-Messungen von (5Z,9'Z)-, (9Z)- und (5Z,9Z)-Lycopin war eine Vorfraktionierung der 3er-Gruppe bestehend aus (5Z,9'Z)-, (9Z)- und (5Z,9Z)-Lycopin notwendig, um eine genügend grosse Menge des jeweiligen Isomers zu erhalten. Dafür wurde die Lycopinmetabolitenmischung in Cyclohexan/Toluol (8+2, v/v) gelöst und mit einem Gemisch aus Methanol und MTBE (1+1, v/v) fraktioniert. Für jedes dieser drei Isomere waren für die NMR-Messungen 15 bis 20 Vortrennungen notwendig. Die konzentrierte Mischung aus den drei Isomeren war etwa zwei Wochen bei -30 °C stabil.

Für die Haupttrennung der einzelnen Isomere wurde die Lycopinmetabolitenmischungen und die Vorfraktion der 3er-Gruppe jeweils in der mobilen Phase gelöst und mit einer Mischung aus Methanol und MTBE (6+4, v/v) als mobile Phase getrennt. Die isolierten Lycopinisomere wurden getrocknet und bis zu den entsprechenden spektroskopischen Untersuchungen tiefgekühlt (mindestens -18 °C) gelagert. Die Reinheit der isolierten Lycopinisomere lag je nach Verbindung und Tag der Fraktionierung zwischen 95 % und 100 %.

Aufgrund der sehr geringen Stabilität der isolierten Lycopinisomere mussten alle Schritte schnellstmöglich und unter reduziertem Licht durchgeführt werden. In ersten Untersuchungen wurden die Isomere in Hexan überführt, indem sie in Glasröhrchen aufgefangen wurden, die schon wenige Milliliter Hexan enthielten. Der Ausgangspunkt dieser Methode war, dass so die isolierten Lycopinisomere in geringen Volumina vorlagen und die nachfolgende Konzen-

trierung weniger zeitaufwendig war. Jedoch zeigte sich, dass die Stabilität einzelner Isomere in Hexan sehr gering war, was eine schnelle Rückisomerisierung zur Folge hatte. Deshalb wurde bei den nachfolgenden Isolierungen die mobile Phase mit den darin enthaltenen Lycopinmetaboliten aufgefangen und weiterverarbeitet, was die Probleme mit der Stabilität deutlich verringerte. Die isolierten, trockenen Isomere waren bei  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  (mit Stickstoff oder Argon überschichtet) etwa 6 bis 8 Tage stabil. Bei Raumtemperatur dagegen setzte der Abbau bzw. die Rückisomerisierung schon nach wenigen Stunden ein (Daten nicht gezeigt).

Fünf bzw. sechs verschiedene Lycopinisomere wurden isoliert und mittels UV-vis-Spektroskopie, Massen-Spektroskopie (MS) und Nuklear-Magnet-Resonanz-Spektroskopie (NMR-Spektroskopie) analysiert. Die MS-Messungen wurden im Institut für Lebensmittelchemie und die NMR-Messungen im Institut für Chemie an der Universität Hohenheim in Stuttgart durchgeführt. Die genauen Messbedingungen der einzelnen Methoden sind im Anhang (I.III.IV, I.III.V, I.III.VI) angegeben.

### 3.1.3 Untersuchungen zur antioxidativen Aktivität von Lycopinisomeren

Schon seit langem ist bekannt, dass die antioxidative Aktivität von Stoffen und Stoffklassen stark mit der Struktur der Verbindungen korreliert. Die Wirkung von ausgewählten Carotinoiden als Antioxidans wurde von mehreren Arbeitsgruppen mit unterschiedlichen Testsystemen untersucht und miteinander verglichen. Meines Wissens existieren zum heutigen Zeitpunkt jedoch kaum Aussagen zum antioxidativen Potential verschiedener Lycopinisomere. Einzig frühere Untersuchungen von Böhm *et al.* zeigten, dass Carotinoidisomere im lipophilen TEAC-Assay unterschiedliche antioxidative Aktivitäten in Abhängigkeit von ihrer Struktur aufwiesen (Böhm *et al.*, 2002). Bei Betrachtung der Isomerenzusammensetzung von Lycopin in Lebensmitteln sowie im menschlichen und tierischen Organismus (Kapitel 2.2.1) und des antioxidativen Effekts als einer der biologischen Wirkmechanismen des Lycopins (Kapitel 2.4.2) zeigt sich die Wichtigkeit dieser Untersuchungen.

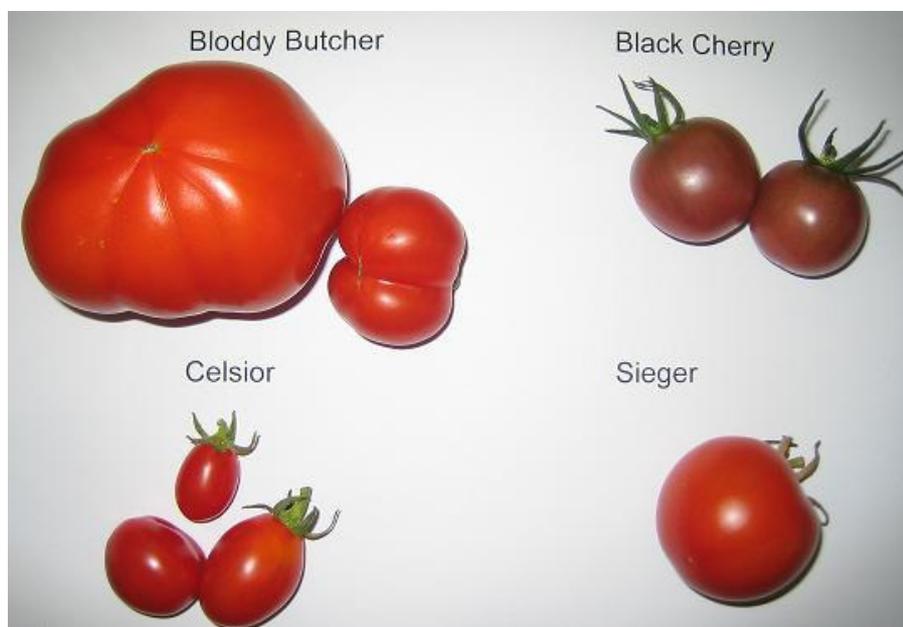
Die Isomerisierung einer gesättigten Lycopinlösung (in Cyclohexan/Toluol, 4+1, v/v) erfolgte in Anlehnung an die Methode von Zechmeister (Zechmeister, 1944). Nachfolgend wurden sechs ausgewählte Isomere mittels präparativer  $\text{C}_{30}$ -HPLC fraktioniert und ihre Reinheit mittels analytischer  $\text{C}_{30}$ -HPLC getestet. Die antioxidative Aktivität der isolierten Isomere (*all-E*)-, (*5Z*)-, (*5Z,9Z*)-, (*5Z,9'Z*), (*9Z*)- und (*13Z/15Z*)-Lycopin wurde mit zwei unterschiedlichen Testsystemen, dem lipophilen TEAC-Assay und dem PCL-Assay (ACL-

Kit), gemessen und miteinander verglichen. Als Bezugssubstanz wurde Trolox<sup>®</sup>, ein wasserlösliches Vitamin-E-Analogon, verwendet (siehe auch Kapitel 3.4.4.1).

## 3.2 Untersuchungen von Lebensmitteln

### 3.2.1 Tomaten und Tomatenprodukte

Anhand der Carotinoid- und Vitamin-C-Gehalte wurden exemplarisch die Unterschiede von protektiv wirksamen Tomateninhaltsstoffen in verschiedenen Tomaten und Tomatenprodukten untersucht. Dafür lagen eine Reihe von auf dem deutschen Lebensmittelmarkt erhältlichen Handelsprodukten vor, welche vom Hessischen Rundfunk (Frankfurt am Main) zur Verfügung gestellt wurden. Der Probenumfang belief sich auf 9 Tomatenproben, 9 Tomatensäfte, 9 Tomatenketchups, 9 Dosentomaten (Pizzatomaten), 9 Muster passierte Tomaten (Tetrapack) und 8 Tomatensaucen (Gläser). Die Proben wurden homogenisiert (jeweils 5 Tomaten bzw. eine Packung) und bei -20 °C bis zur Analyse portionsweise eingefroren. Die Bestimmung der Carotinoidgehalte erfolgte flüssigchromatographisch (3.4.1) und die des Vitamin-C-Gehaltes spektral-photometrisch (3.4.3). Die Analysen wurden jeweils als Dreifachbestimmung durchgeführt.



**Abbildung 9:** Fotos von den vier untersuchten Tomatensorten: Bloody Butcher, Black Cherry, Celsior, Sieger

Des Weiteren wurden vier verschiedene Tomatenproben mit den Sortenbezeichnungen Celsior, Black Cherry, Bloody Butcher und Sieger (Abbildung 9) sowie drei verschiedene Tomatenpulver und eine Probe getrocknete Tomatenscheiben auf ihre Carotinoidzusammen-

setzung untersucht. Die Proben wurden entweder von Privatpersonen oder von Firmen zur Verfügung gestellt.

### 3.2.2 Hagebutten und Hagebuttenprodukte

Die Hagebutten von einer Vielzahl verschiedener Wildrosensorten unterschiedlicher Anbaugebiete (Varel, Niedersachsen; Sangerhausen, Sachsen-Anhalt; Kleineichstädt, Sachsen-Anhalt) und Erntejahre wurden auf ausgewählte, antioxidativ wirksame Inhaltsstoffe (Vitamin C, Carotinoide) untersucht (Laske, 2005; Hohbein, 2007). Um die Veränderung ausgewählter Inhaltsstoffe während der Reifung der Früchte zu verfolgen, wurden zusätzlich zu drei verschiedenen Zeitpunkten Hagebutten der Sorte *Rosa rugosa* von demselben Wildrosenstrauch (Ort: Kleineichstädt, Sachsen-Anhalt) gesammelt. Die drei Reifestadien wurden nach der Farbe der Hagebutten (grün, orange, rot) beurteilt (Abbildung 10).



**Abbildung 10:** Fotos von den untersuchten Reifestadien (grün, orange, rot) der Hagebuttensorte *Rosa rugosa*

Die Hagebutten (20 – 100 Früchte) einer Art wurden entkernt, grob zerkleinert, im gefrorenen Zustand homogenisiert und portionsweise bis zur Analyse bei  $-30\text{ °C}$  eingefroren. Die Hagebuttenproben wurden u. a. spektral-photometrisch auf ihre Gehalte an Vitamin C (3.4.3) und mittels HPLC auf ihre Gehalte an Carotinoiden (3.4.1) untersucht. Für den Vergleich der Hagebuttensorten bzw. Reifestadien untereinander wurden aufgrund unterschiedlicher Wassergehalte der Hagebuttenfrüchte die analysierten Gehalte auf die Trockenmasse bezogen angegeben.

Zusätzlich zu den unverarbeiteten Hagebutten wurden acht verschiedene Hagebuttenprodukte untersucht. Dies waren, mit Ausnahme der Hagebutten-Marmelade, industriell hergestellte Hagebuttenerzeugnisse, welche im Deutschen Lebensmittelhandel zu finden sind bzw. waren. Die Probenbezeichnungen sowie die dazugehörigen deklarierten Inhaltsstoffe und Fruchtgehalte sind in Tabelle 11 angegeben. Bei der Hagebutten-Marmelade handelte es sich um eine in Eigenproduktion aus Hagebuttenart *Rosa Rugosa*, Äpfeln, Zucker und Rotwein hergestellte Fruchtmasse. In den homogenen Hagebuttenprodukten wurden die Gehalte an Vitamin C (3.4.3) und Carotinoiden (3.4.1) bestimmt. Um die ernährungsphysiologische Relevanz dieser Erzeugnisse besser einschätzen zu können, wurden die ermittelten Gehalte der Hagebuttenprodukte auf Frischmasse bezogen angegeben..

**Tabelle 11:** Deklarierte Inhaltsstoffe und Fruchtgehalte der untersuchten Hagebuttenprodukte

<b>Bezeichnung des Hagebuttenprodukts</b>	<b>Deklarierte Inhaltsstoffe</b>	<b>Deklarierte Fruchtgehalte</b>
Hagebutten-Wildfrucht-Aufstrich	Brauner Rohrzucker, Hagebutten, Wasser, Geliermittel Pektin, Säuerungsmittel Zitronensäure, Antioxidationsmittel Ascorbinsäure, ungehärtetes Pflanzenfett	39 g Früchte je 100 g
Hagebutte Frucht & Honig	Hagebutten, Bienenhonig, Geliermittel: Pektin, Zitronensaft	Fruchtgehalt 75 %
Hagebuttenmus	Hagebutten, Zucker, Zitronensaft, Geliermittel Pektin	62 g Früchte je 100 g
Wildfrucht Hagebuttenmark	Hagebuttenmark, Honig, Acerolasaft	Hagebuttenmark 80 %
Hagebutten-Marmelade	Eigenproduktion	nicht vorliegend
Hagebutten-Konfitüre	Rohrohrzucker, Hagebutten, Säuerungsmittel Zitronensäure, Geliermittel Apfelpektin	45 g Früchte je 100 g
Fränkisches Hiffenmark	Hagebutten, Zucker, Glukosesirup, Geliermittel Pektin, Säuerungsmittel Zitronensäure	45 g Früchte je 100 g
Hiffenmark Hagebutten-Konfitüre extra	Hagebutten, Zucker, Geliermittel Pektin, Säuerungsmittel Zitronensäure	45 g Früchte je 100 g

### 3.2.3 Weitere lycopinhaltige Lebensmittel

Zusätzlich zu den aufgeführten Tomaten- und Hagebuttenprodukten wurden folgende lycopinhaltige Erzeugnisse flüssigchromatographisch auf ihre Carotinoidzusammensetzung (3.4.1) untersucht: zwei Sanddornöle, vier Sanddornprodukte (ein Fruchtaufstrich, drei Säfte), zwei rot gefärbte Wassermelonen und zwei Pink Grapefruits. Die Proben wurden entweder im deutschen Lebensmittelhandel käuflich erworben oder von Firmen zur Verfügung gestellt.

### **3.3 Humanstudien**

Die vorliegenden Untersuchungen am Menschen umfassten zum einen vier Interventionsstudien (Tomaten-Interventionsstudie, Raucher-Interventionsstudie, Hagebutten-Interventionsstudie I und II), bei welchen von Probanden täglich über einen längeren Zeitraum Tomaten, Tomatenmark, Tomatensaft bzw. Hagebuttenmark verzehrt wurden. Im Blut bzw. Plasma der Probanden wurden die Änderungen ausgewählter Parameter innerhalb der Studiendauer untersucht. Weiterhin wurden zwei Kinetik-Pilotstudien durchgeführt, in denen nach einmaliger oraler Gabe von Tomatensaft bzw. Tomatenmark die Lycopin-Plasmaantwort innerhalb eines Zeitraumes von 24 bzw. 96 Stunden beobachtet wurde.

Ausschlusskriterien für die Teilnahme waren in allen durchgeführten Studien folgende Erkrankungen: Allergien, Magen-Darm-Erkrankungen sowie Leber- und Nierenerkrankungen. Schwangere und stillende Frauen wurden ebenfalls ausgeschlossen. Die Einnahme von Carotinoid- und Vitaminsupplementen war während der gesamten Studiendauer nicht erlaubt. Die Probanden wurden ausführlich mündlich und schriftlich über die Studie unterrichtet und darüber informiert, dass sie jederzeit, ohne Angabe von Gründen, die Teilnahme an der Studie abbrechen können, ohne dass ihnen daraus Nachteile entstehen. Alle Probanden gaben ihr schriftliches Einverständnis. Der Prüfplan wurde der örtlichen Ethikkommission vorgelegt und dort genehmigt.

#### **3.3.1 Tomaten-Interventionsstudie**

Ziel der Tomaten-Interventionsstudie war, den Einfluss einer täglichen Aufnahme von drei verschiedenen Tomatenprodukten (Tomaten, Tomatensaft, Tomatenmark) auf die Gehalte an Carotinoiden, Tocopherolen, Ascorbinsäure und Triglyceriden im Plasma sowie auf den antioxidativen Status im Blut (Glutathionstatus, Lipidperoxidationsprodukte) zu untersuchen. Das Hauptinteresse der Untersuchungen lag aufgrund der unterschiedlichen antioxidativen Aktivitäten der einzelnen Lycopinisomere (siehe 4.1) auf der Änderung der Lycopinisomerenverhältnisse in Abhängigkeit von der Lebensmittelmatrix. Die Tomaten-Interventionsstudie wurde im Rahmen der Diplomarbeit von Karin Kaufmann durchgeführt (Kaufmann, 2003).

An der Humanstudie nahmen 17 Probanden teil. Diese wurden zufällig in drei Gruppen (Tomaten-, Tomatensaft-, Tomatenmarkgruppe) unterteilt. Tabelle 12 zeigt die Charakterisierung

der Probanden hinsichtlich Geschlecht, Alter und Body-Mass-Index. Alle Probanden waren Nichtraucher.

**Tabelle 12:** Alter [a] und Body-Mass-Index (BMI) [kg/m<sup>2</sup>] (jeweils  $\bar{x}$ , Min. - Max.) der weiblichen und männlichen Probanden

	Alter				BMI			
	$\bar{x}$		Min. - Max.		$\bar{x}$		Min. - Max.	
	w	m	w	m	w	m	w	m
<b>Tomaten-Interventionsstudie</b>								
Tomatengruppe (w = 5, m = 1)	23,1	23,0	22 - 24	23	21,8	21,3	19,5 - 24,2	21,3
Tomatensaftgruppe (w = 4, m = 2)	22,3	24,0	19 - 25	23 - 25	21,7	20,9	19,6 - 24,1	19,3 - 22,5
Tomatenmarkgruppe (w = 4, m = 1)	22,8	21,0	21 - 25	21	20,8	19,9	18,9 - 23,6	19,9
<b>Raucher-Interventionsstudie</b>								
(w = 3, m = 2)	23,3	23,5	22 - 26	23 - 24	23,9	21,5	20,8 - 25,3	21,4 - 21,5
<b>Hagebutten-Interventionsstudien</b>								
<b>Nr. I</b> (w = 3, m = 2)	21,3	22,5	20 - 24	22 - 23	21,6	23,9	19,5 - 24,2	21,5 - 26,3
<b>Nr. II</b> (w = 2, m = 2)	25,5	25,5	25 - 26	25 - 26	18,9	24,5	18,4 - 19,4	22,7 - 26,2

Nach einer zweiwöchigen Auswaschphase verzehrten die Probanden vier Wochen lang je nach Lycopingehalt der Lebensmittel täglich 145 - 320 g Tomaten, 94 - 101 g Tomatensaft bzw. 25 - 28 g Tomatenmark. Diese Mengen entsprachen einer Lycopindosis von 12,5 mg pro Tag. Die Zusammensetzung des Interventionsmaterials ist in Tabelle A 23 angegeben. Die Probanden wurden dazu aufgefordert, die Tomatenprodukte während des Frühstücks zu sich zu nehmen und dabei auf ausreichende Fettzufuhr (Butter etc.) zu achten. Nüchtern-Blutproben (10 mL) wurden in EDTA-beschichteten Monovetten vor Studienbeginn (T-2), nach der zweiwöchigen Auswaschphase (T0) und dann wöchentlich (T1, T2, T3, T4) entnommen. Für die Bestimmung von GSH, GSSG und TBARS wurde jeweils zusätzlich eine Probe Vollblut (Lithium-Heparin-beschichtete Monovetten) entnommen.

Während der gesamten Studienzeit sollten die Probanden sich lycopinarm ernähren, indem sie auf den Verzehr von Tomaten und Tomatenprodukten sowie Paprika und Chili, Wassermelonen, Aprikosen, Pink Grapefruits, Papayas, Guaven, Hagebutten- und Sanddornprodukte verzichteten.

Nach Gewinnung des Plasmas wurden in den Plasmaproben folgende Parameter bestimmt: Carotinoide, Vitamin C, Tocopherole und Triglyceride. Die Bestimmung des oxidierten und

reduzierten Glutathions sowie der Lipidperoxidationsprodukte (TBARS) erfolgte im Vollblut. Jede Bestimmung wurde mindestens als Doppelbestimmung durchgeführt.

### **3.3.2 Raucher-Interventionsstudie**

Ziel der Raucher-Interventionsstudie war, den Einfluss einer täglichen Aufnahme von Tomatenmark auf die Lycopinisomerenzusammensetzung und auf die Gehalte an antioxidativen Verbindungen im Plasma zwischen Rauchern und Nichtrauchern zu vergleichen. Weiterhin sollte untersucht werden, ob Oxidationsprodukte des Lycopins im Plasma der Probanden detektiert werden können. Die Raucher-Interventionsstudie wurde im Rahmen der Diplomarbeit von Doreen Reuter durchgeführt (Reuter, 2004).

An der Studie nahmen drei weibliche und zwei männliche Raucher teil, welche zwischen 5 und 15 Zigaretten pro Tag rauchten. Als Kontrollgruppe wurde die Tomatenmarkgruppe aus der Tomaten-Interventionsstudie verwendet. Tabelle 12 zeigt die Charakterisierung der Probanden hinsichtlich Geschlecht, Alter und Body-Mass-Index.

Nach einer zweiwöchigen Auswaschphase verzehrten die Probanden zwei Wochen lang eine definierte Menge Tomatenmark (25 - 28 g), die einer täglichen Lycopinzufuhr von 12,5 mg (Nichtraucher) bzw. 14,0 mg (Raucher) entsprach. Die Zusammensetzung des Interventionsmaterials ist in Tabelle A 23 angegeben. Nüchtern-Blutproben (10 mL) wurden in EDTA-beschichteten Monovetten vor Studienbeginn (T-2), nach der zweiwöchigen Auswaschphase (T0) und nach der zweiwöchigen Interventionsphase (T2) entnommen. Für die Bestimmung von GSH, GSSG und TBARS wurde jeweils zusätzlich eine Probe Vollblut (Lithium-Heparin-beschichtete Monovetten) entnommen.

Während der gesamten Studienzeit sollten die Probanden sich analog zur Tomaten-Interventionsstudie lycopinarm ernähren. Dafür bekamen sie eine Liste mit lycopinhaltigen Lebensmitteln, die sie während der Dauer der Studie nicht verzehren durften.

### **3.3.3 Hagebutten-Interventionsstudien**

Zusätzlich zu einigen Vorstudien (Daten nicht gezeigt) wurden zwei voneinander unabhängige Humanstudien durchgeführt, in denen der Einfluss einer täglichen Aufnahme von Hagebuttenmark auf verschiedene Plasmaparameter untersucht wurde. Im Rahmen dieser Ar-

beit lag das Hauptaugenmerk auf der Veränderung der Lycopinisomerenzusammensetzung im Plasma. Weitere Informationen zu den Plasmagehalten an Vitamin E und Vitamin C sind in den entsprechenden Diplomarbeiten von Grit Laske (Hagebutten-Interventionsstudie I) und Juliane Hohbein (Hagebutten-Interventionsstudie II) zu finden (Laske, 2005; Hohbein, 2007).

An der Hagebutten-Interventionsstudie I nahmen drei weibliche und zwei männliche und an der Hagebutten-Interventionsstudie II zwei weibliche und zwei männliche Nichtraucher teil. Tabelle 12 zeigt die Charakterisierung der Probanden hinsichtlich Geschlecht, Alter und Body-Mass-Index.

Nach einer zweiwöchigen Auswaschphase verzehrten die Probanden vier Wochen lang zweimal täglich eine definierte Menge des jeweiligen Hagebuttenmarks (2x 38 – 55 g), zu welchem jeweils 2,5 g Sonnenblumenöl (zur Gewährleistung einer optimalen Absorption der lipophilen Inhaltsstoffe) gegeben wurde. Dies entsprach einer täglichen Zufuhr von 5 mg Lycopin. Das Hinzufügen der Hagebuttenmark-Sonnenblumenöl-Mischung zu anderen Lebensmitteln (Milch, Joghurt) war erlaubt. Die Zusammensetzung des Interventionsmaterials ist in Tabelle A 23 angegeben. Nüchtern-Blutproben wurden vor Studienbeginn (T-2), nach der zweiwöchigen Auswaschphase (T0) und während der Interventionsphase wöchentlich bzw. alle zwei Wochen (T1, T2, T3, T4) entnommen. Während der gesamten Studienzzeit sollten die Probanden sich analog zur Tomaten-Interventionsstudie lycopinarm ernähren. Dafür bekamen sie eine Liste mit lycopinhaltigen Lebensmitteln, die sie während der Studiedauer nicht verzehren durften.

In der **Hagebutten-Interventionsstudie I** verzehrten alle fünf Probanden das als HM 0 bezeichnete Hagebuttenmark der Firma „Voelkel GmbH, Höhbeck“. Bei diesem Hagebuttenmark war nicht bekannt, ob bzw. wie lange es während der Herstellung erhitzt wurde.

In der **Hagebutten-Interventionsstudie II** verzehrten zwei Probanden (1 m, 1 w) das Hagebuttenmark HM A und zwei Probanden (1 m, 1 w) das Hagebuttenmark HM B. Das bei  $-30 \pm 1^\circ\text{C}$  gelagerte Hagebuttenmark (Voelkel GmbH, Höhbeck) aus der Studie I wurde zwei Stunden im Backofen bei ca.  $80^\circ\text{C}$  erhitzt und anschließend bis zum Verzehr portionsweise eingefroren. Dieses Hagebuttenmark wurde als HM A bezeichnet. Das als HM B bezeichnete Hagebuttenmark stammte von der Firma „Maintal Konfitüren GmbH, Haßfurt“ und war bereits während der Herstellung mindestens eine Stunde erhitzt wurden.

### 3.3.4 Kinetik-Pilotstudien

Das Hauptinteresse der Kinetik-Pilotstudien lag auf der Untersuchung des zeitlichen Verlaufes der Lycopinaufnahme ins Blut nach dem Verzehr von Tomatenprodukten. Besonderes Interesse galt wiederum den Veränderungen der Lycopinisomeren-Verhältnisse. Die Pilotstudien sind Ausgangspunkt weiterer in Zukunft geplanter Untersuchungen.

Die erste Studie (**Kinetik-Pilotstudie I**) wurde im Rahmen der Diplomarbeit von Karin Kaufmann durchgeführt (Kaufmann, 2003). Vier gesunde, normalgewichtige, weibliche Nichtraucherinnen nahmen an dieser Studie teil. Jeweils zwei Probandinnen nahmen frühmorgens eine Einmaldosis von 50 mg Lycopin in Form von Tomatensaft bzw. Tomatenmark auf. Die Lycopingehalte des Interventionsmaterials sind in Tabelle A 23 angegeben. Zusammen mit den Tomatenprodukten wurde ein Käsebrötchen verzehrt. Auf eine Auswaschphase wurde aus Zeitgründen bei der Kinetik-Pilotstudie I verzichtet. Die Blutentnahmen erfolgten im Universitätsklinikum (Jena-Lobeda). In den ersten 12 Stunden wurde halbstündlich Blut entnommen. Eine weitere Blutabnahme erfolgte 24 Stunden nach der Supplementation. Während der 24-stündigen Studienphase verzehrten die Probandinnen ausschließlich verschiedene lycopin- und nahezu fettfreie Lebensmittel (Äpfel, fettarme Tütensuppen, Brötchen).

An der **Kinetik-Pilotstudie II** nahmen vier gesunde, normalgewichtige (BMI: 20,2 – 24,1 kg/m<sup>2</sup>), weibliche Nichtraucherinnen im Alter von 21 - 23 Jahren teil. Jeweils zwei Probandinnen nahmen frühmorgens eine Einmaldosis von 47,4 mg bzw. 46,0 mg Lycopin in Form von Tomatensaft bzw. Tomatenmark auf. Zusammen mit den Tomatenprodukten wurde ein Butterbrötchen belegt mit einer Scheibe Käse (entsprach 15 – 16 g Fett) verzehrt. Die Lycopingehalte des Interventionsmaterials sind in Tabelle A 23 angegeben. Um den Lycopinspiegel im Plasma zu senken, ging der eigentlichen Studienphase (nach Intervention) eine vierwöchige Auswaschphase voraus, in der sich die Probandinnen lycopinarm ernährten. Zu folgenden Zeitpunkten wurde den Probandinnen von Dr. U. Kuhn (Klinische Pharmakologie) Blut in EDTA-beschichtete Monovetten entnommen: während der 4 Wochen Auswaschphase einmal wöchentlich (-672 h, -504 h, -336 h, -168 h), vor der Supplementation (0 h), in den ersten 12 Stunden nach der Supplementation stündlich (1 h bis 12 h) und dann zusätzlich 24 Stunden (24 h) und 4 Tage (96 h) nach der Supplementation. Während der ersten 24 Stunden nach der Aufnahme der Tomatenprodukte verzehrten die Probandinnen definierte Mengen an verschiedenen lycopin- und nahezu fettfreien Lebensmitteln (Äpfel, Bananen,

Brötchen, Erdbeer- und Kirschmarmelade). Außerdem wurden sie angehalten, sich auch bis zum letzten Blutabnahmezeitpunkt weiter lycopinarm zu ernähren.

### 3.4 Analysenmethoden

Die detaillierten Arbeitsvorschriften zu den einzelnen Bestimmungsmethoden mit Angabe der verwendeten Geräte und Chemikalien sind im Anhang (Kapitel 8) angegeben.

#### 3.4.1 Bestimmung von Carotinoiden

Die Bestimmung des Carotinoidgehaltes besteht aus einer Extraktion der Carotinoide mit einem organischen Lösungsmittelgemisch, anschließender Trennung (HPLC) der einzelnen Verbindungen sowie der Detektion der Substanzen mittels Dioden-Array-Detektor. Die gesamte Analyse sollte schnellstmöglich, unter Lichtausschluß und unter Vermeidung hoher Temperaturen durchgeführt werden, um Abbau- und Isomerisierungsreaktionen zu vermeiden.

Die Identifizierung der einzelnen Verbindungen erfolgte über Retentionszeitenvergleich und die Quantifizierung über Peakflächenvergleich mit Standardsubstanzen definierter Konzentrationen. Die Konzentrationen der (*Z*)-Lycopinisomere wurden aufgrund fehlender Lycopinisomerenstandards über den (*all-E*)-Lycopin-Standard berechnet. Da die Extinktionskoeffizienten der Isomere teilweise vom dem des (*all-E*)-Lycopins abweichen, sind die ermittelten Konzentrationen keine Absolutwerte. Die realen Konzentrationen würden somit etwas höher als die über das (*all-E*)-Lycopin ermittelten Werte liegen, da die Extinktionskoeffizienten der (*Z*)-Isomere verglichen mit (*all-E*)-Lycopin niedriger sind.

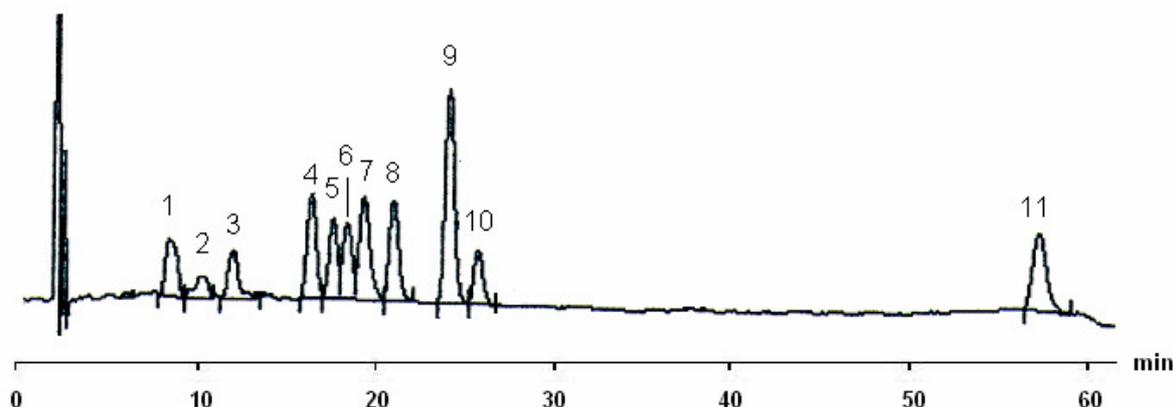
Bei der Konzentrationsberechnung wurde die Wiederfindungsrate des internen Standards mit einbezogen. Dafür wurde vor Beginn der Probenaufarbeitung eine definierte Menge Echinenon oder  $\beta$ -Apo-8'-Carotinal als Interner Standard zugesetzt. Die mittleren prozentualen Wiederfindungsraten der durchgeführten Untersuchungen sind in Tabelle 13 zusammengestellt.

**Tabelle 13:** Zusammenstellung der Wiederfindungsraten des Internen Standards (Echinenon oder  $\beta$ -Apo-8'-carotinal) bei der Carotinoidanalyse von Lebensmittel- und Plasmaproben

Lebensmittelanalysen		Plasmaanalysen	
n <sup>1</sup>	% <sup>2</sup>	n <sup>1</sup>	% <sup>2</sup>
Tomaten und Tomatenprodukte		Tomaten-Interventionsstudie	
185	93,1 ± 19,7	280	96,0 ± 12,2
Hagebutten		Hagebutten-Interventionsstudie I	
213	91,3 ± 32,7	105	84,5 ± 13,8
Sonstige		Hagebutten-Interventionsstudie II	
69	87,5 ± 25,9	48	87,4 ± 7,9
		Kinetik-Pilotstudien	
		452	92,7 ± 10,5

<sup>1</sup> Anzahl der Bestimmungen; <sup>2</sup> Wiederfindung

Die Konzentrationen der Carotinoidstammlösungen wurden in regelmäßigen Abständen photometrisch bestimmt (Anhang Kapitel I.I.II). Aus diesen Stammlösungen wurden täglich die Standardlösungen durch entsprechendes Verdünnen mit mobiler Phase (1:10 bis 1:100) hergestellt. Die verwendeten Kombinationen der Carotinoidstandards sind in Tabelle A 7 angegeben. Der Mischstandard aus 11 Carotinoiden (Standard 1) diente nur zur Kontrolle der Trennung und nicht zur Quantifizierung. Abbildung 11 zeigt eine entsprechende HPLC-Trennung dieses Standardgemisches.

**Abbildung 11:** HPLC-Chromatogramm eines Carotinoid-Standardgemisches

HPLC-Bedingungen: YMC C<sub>30</sub> (250 x 4,6 mm, 5 µm), 1,3 mL/min, Gradient aus Methanol und MTBE (siehe Tabelle A 8), 23 ± 1°C, 450 nm

1 = (*all-E*)-Lutein, 2 = (*all-E*)-Zeaxanthin, 3 = (*all-E*)-Canthaxanthin, 4 = (*all-E*)- $\beta$ -Cryptoxanthin, 5 = Echinenon (IS), 6 = (*15Z*)- $\beta$ -Carotin, 7 = (*13Z*)- $\beta$ -Carotin, 8 = (*all-E*)- $\alpha$ -Carotin, 9 = (*all-E*)- $\beta$ -Carotin, 10 = (*9Z*)- $\beta$ -Carotin, 11 = (*all-E*)-Lycopin

Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen wurden wie folgt festgelegt. Ausgehend vom Basislinienrauschen entspricht die Nachweisgrenze etwa dem Dreifachen und die Bestimmungsgrenze etwa dem Zehnfachen des Basislinienrauschen (Kromidas *et al.*, 1995). Die Nachweis-

und Bestimmungsgrenzen der einzelnen Carotinoide unter Verwendung der verschiedenen Säulentypen sind in Tabelle 14 und die Linearitätsbereiche in Tabelle 15 aufgeführt.

**Tabelle 14:** Nachweis und Bestimmungsgrenzen für Carotinoide

Carotinoide	Nachweisgrenze		Bestimmungsgrenze	
	[ $\mu\text{g/mL}$ ]	[ $\mu\text{mol/L}$ ]	[ $\mu\text{g/mL}$ ]	[ $\mu\text{mol/L}$ ]
<b>C<sub>30</sub> Analysensäule Trentec 5 <math>\mu\text{m}</math> / 250 x 4,6 mm (Trentec, Gerlingen)</b>				
( <i>all-E</i> )-Lutein	0,064	0,113	0,213	0,376
( <i>all-E</i> )-Zeaxanthin	0,044	0,774	0,147	0,258
( <i>all-E</i> )-Canthaxanthin	0,040	0,068	0,133	0,230
( <i>all-E</i> )- $\beta$ -Cryptoxanthin	0,073	0,132	0,243	0,440
(15 <i>Z</i> )- $\beta$ -Carotin	0,045	0,084	0,150	0,279
(13 <i>Z</i> )- $\beta$ -Carotin	0,022	0,040	0,073	0,133
(9 <i>Z</i> )- $\beta$ -Carotin	0,037	0,069	0,123	0,231
( <i>all-E</i> )- $\beta$ -Carotin	0,082	0,153	0,273	0,509
( <i>all-E</i> )- $\alpha$ -Carotin	0,070	0,130	0,233	0,435
( <i>all-E</i> )-Rubixanthin	0,061	0,116	0,203	0,387
( <i>all-E</i> )-Lycopin	0,068	0,127	0,227	0,422
<b>C<sub>30</sub> Analysensäule Vertex YMC Carotinoid S-5 <math>\mu\text{m}</math> / 250 x 4,6 mm (YMC Europe, Schermbeck)</b>				
( <i>all-E</i> )-Lutein	0,021	0,037	0,070	0,123
( <i>all-E</i> )-Zeaxanthin	0,019	0,033	0,063	0,114
( <i>all-E</i> )-Canthaxanthin	0,035	0,062	0,117	0,207
( <i>all-E</i> )- $\beta$ -Cryptoxanthin	0,047	0,085	0,157	0,284
(15 <i>Z</i> )- $\beta$ -Carotin	0,011	0,020	0,036	0,067
(13 <i>Z</i> )- $\beta$ -Carotin	0,020	0,037	0,067	0,124
(9 <i>Z</i> )- $\beta$ -Carotin	0,023	0,042	0,077	0,143
( <i>all-E</i> )- $\beta$ -Carotin	0,046	0,086	0,153	0,285
( <i>all-E</i> )- $\alpha$ -Carotin	0,042	0,078	0,140	0,261
( <i>all-E</i> )-Rubixanthin	-	-	-	-
( <i>all-E</i> )-Lycopin	0,025	0,047	0,083	0,155

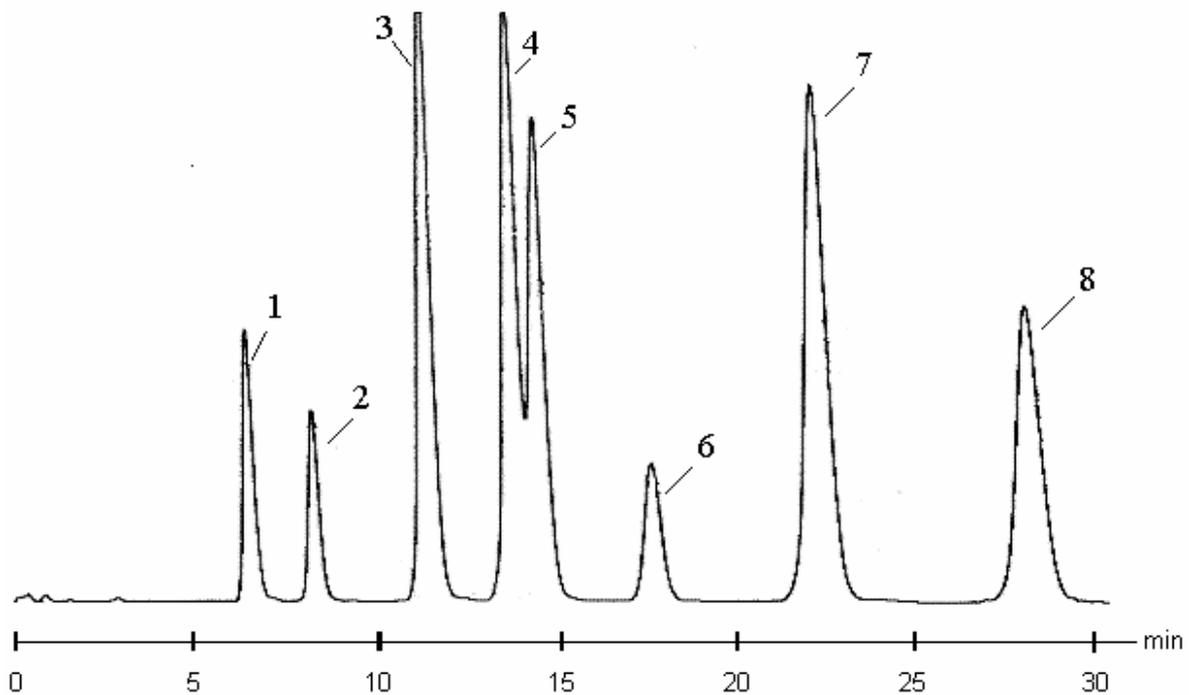
**Tabelle 15:** Linearitätsbereiche der einzelnen Carotinoide mit dem jeweiligen Korrelationskoeffizienten

	C <sub>30</sub> Analysensäule Trentec 5 $\mu\text{m}$ / 250 x 4,6 mm (Trentec, Gerlingen)		C <sub>30</sub> Analysensäule Vertex YMC Carotinoid S-5 $\mu\text{m}$ / 250 x 4,6 mm (YMC Europe, Schermbeck)	
	Linearitätsbereich [ $\mu\text{g/mL}$ ]	Korrelations- koeffizient r	Linearitätsbereich [ $\mu\text{g/mL}$ ]	Korrelations- koeffizient r
( <i>all-E</i> )-Lutein	0,06 – 6,61	0,9977	0,02 – 5,83	0,9973
( <i>all-E</i> )-Zeaxanthin	0,04 – 3,48	0,9981	0,02 – 4,28	0,9982
( <i>all-E</i> )-Canthaxanthin	0,04 – 4,80	0,9998	0,04 – 5,12	0,9983
( <i>all-E</i> )- $\beta$ -Cryptoxanthin	0,07 – 7,29	0,9972	0,05 – 7,00	0,9970
(15 <i>Z</i> )- $\beta$ -Carotin	0,05 – 5,41	0,9992	0,01 – 5,26	0,9991
(13 <i>Z</i> )- $\beta$ -Carotin	0,02 – 3,87	0,9998	0,02 – 4,01	0,9996
(9 <i>Z</i> )- $\beta$ -Carotin	0,04 – 3,71	0,9997	0,02 – 3,93	0,9992
( <i>all-E</i> )- $\beta$ -Carotin	0,08 – 9,89	0,9995	0,05 – 9,32	0,9992
( <i>all-E</i> )- $\alpha$ -Carotin	0,07 – 8,34	0,9996	0,04 – 8,11	0,9997
( <i>all-E</i> )-Rubixanthin	0,06 – 5,34	0,9974	-	-
( <i>all-E</i> )-Lycopin	0,07 – 8,19	0,9972	0,03 – 8,34	0,9973

Die HPLC-Analyse der Carotinoide erfolgte in Anlehnung an eine von Böhm publizierte Methode (Böhm, 2001), wobei diese in Abhängigkeit von der zu messenden Probenart bzw. der verwendeten HPLC-Säule modifiziert wurde. Grosse Probleme mit der Trennleistung und Reproduzierbarkeit bereiteten die benutzten C<sub>30</sub>-HPLC-Säulen. Bei der Verwendung von Säulen verschiedener Hersteller, aber auch zwischen unterschiedlichen Chargen eines Herstellers wurden gravierende Unterschiede bei der Trennung von Carotinoidmischungen beobachtet. Für jede Säule mussten die HPLC-Bedingungen wie Gradientenzusammensetzung, Säulentemperatur, Flussrate neu optimiert werden. Bei einigen Säulen war trotz entsprechender Änderungen der HPLC-Parameter keine zufriedenstellende Trennung möglich. Problematisch war auch teilweise das Material der verwendeten Säuleneingangsfritten bzw. Säulenmäntel. Laut Aussagen der Hersteller handelte es sich zwar immer um Edelmateriale, jedoch zeigten eigene Untersuchungen, dass in einigen Fällen die Carotinoide an der Säule oxidiert wurden. Besonders Lycopin war für solche Oxidationsprozesse sehr empfänglich. Im HPLC-Chromatogramm traten in diesen Fällen Störpeaks im vorderen Chromatogrammbereich (< 30 min) auf und die Peakfläche des (*all-E*)-Lycopins war signifikant verringert (Daten nicht gezeigt). Dieses Problem konnte durch Verwendung von PAT-Säuleneingangsfritten (PEEK mit Teflon legiert) und Säulenmäntel aus Kunststoff behoben werden.

### 3.4.2 Bestimmung von Vitamin E

Die Bestimmung der Gehalte an Tocopherolen und Tocotrienolen erfolgte mittels Normalphasen-HPLC (Diol-Säule) mit Fluoreszenzdetektion (Balz *et al.*, 1992; Seybold *et al.*, 2004) bei einer Säulentemperatur von  $50 \pm 1^\circ\text{C}$  mit einer Mischung aus Hexan und MTBE als mobile Phase. Die HPLC-Trennung eines Standardgemisches aus  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -Tocopherol und  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -Tocotrienol ist in Abbildung 12 dargestellt. Die Summe aus allen vier Tocopherolen wurde als (*Gesamt*)-Tocopherol, die Summe aus den vier Tocotrienolen als (*Gesamt*)-Tocotrienol und die Summe aus allen Tocopherolen und Tocotrienolen als Vitamin E bezeichnet. Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der einzelnen Verbindungen wurden wie bei den Carotinoiden beschrieben (Kapitel 3.4.1) ermittelt und sind in Tabelle 16 aufgelistet.



**Abbildung 12:** HPLC-Chromatogramm eines Standardgemisches aus 4 Tocopherolen und 4 Tocotrienolen

HPLC-Bedingungen: Eurospher 100 DIOL (250 x 4,0 mm, 7  $\mu$ m), 1,3 mL/min, n-Hexan/ MTBE (96+4, v/v),  $50 \pm 1$  °C, Fluoreszenzdetektion (292 nm, 330 nm)

1 =  $\alpha$ -Tocopherol, 2 =  $\alpha$ -Tocotrienol, 3 =  $\beta$ -Tocopherol, 4 =  $\gamma$ -Tocopherol, 5 =  $\beta$ -Tocotrienol, 6 =  $\gamma$ -Tocotrienol, 7 =  $\delta$ -Tocopherol, 8 =  $\delta$ -Tocotrienol

**Tabelle 16:** Nachweis und Bestimmungsgrenzen für Tocopherole und Tocotrienole

Carotinoide	Nachweisgrenze		Bestimmungsgrenze	
	[ $\mu$ g/mL]	[ $\mu$ mol/L]	[ $\mu$ g/mL]	[ $\mu$ mol/L]
<b>Tocopherole</b>				
$\alpha$ -Tocopherol	0,015	0,035	0,050	0,116
$\beta$ -Tocopherol	0,015	0,030	0,050	0,120
$\gamma$ -Tocopherol	0,023	0,055	0,075	0,180
$\delta$ -Tocopherol	0,023	0,057	0,075	0,186
<b>Tocotrienole</b>				
$\alpha$ -Tocotrienol	0,075	0,177	0,250	0,589
$\beta$ -Tocotrienol	0,030	0,073	0,100	0,244
$\gamma$ -Tocotrienol	0,075	0,183	0,250	0,609
$\delta$ -Tocotrienol	0,075	0,189	0,250	0,631

### 3.4.3 Bestimmung von Vitamin C

Die Ermittlung der Vitamin-C-Gehalte in Lebensmitteln und Plasma erfolgte mittels einer spektroskopischen Methode nach Speitling *et al.* (Speitling *et al.*, 1992). Nach Extraktion aus der Probe mittels meta-Phosphorsäure wird die Ascorbinsäure zu Dehydroascorbinsäure oxidiert und anschließend mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin umgesetzt. Die Messung des gebildeten

roten Farbkomplexes erfolgt photometrisch bei 520 nm. Die photometrische Bestimmung von Vitamin C erfasst sowohl die Ascorbinsäure, als auch die Monodehydroascorbinsäure (instabil) und Dehydroascorbinsäure.

### **3.4.4 Bestimmung der antioxidativen Aktivität**

#### **3.4.4.1 Bestimmung der lipophilen antioxidativen Aktivität**

##### **Lipophiler TEAC-Assay (Trolox equivalent antioxidant capacity assay)**

Die Messung der antioxidativen Aktivität der lipophilen Carotinoide ist mit den beschriebenen hydrophilen TEAC-Testsystemen nicht möglich. Daher wurde für die Messung der antioxidativen Aktivität der isolierten Lycopinisomere eine modifizierte lipophile TEAC-Variante nach Miller *et al.* verwendet (Miller *et al.*, 1996; Böhm *et al.*, 2002). Aus dem Radikalbildner ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure)) wurde durch Oxidation mit Mangan-dioxid das grün gefärbte Radikalkation  $ABTS^{\bullet+}$  gebildet. Dieses Radikation wurde durch die Antioxidanzien in dem lipophilen Probenextrakt reduziert und die daraus resultierende Extinktionsabnahme photometrisch bei 734 nm gemessen. Über die Kalibrierung mit Trolox<sup>®</sup>, einem wasserlöslichen Vitamin-E-Analogen, wird der TEAC-Wert ermittelt, der angibt, welcher Troloxkonzentration in mmol/L die antioxidative Aktivität der Probenlösung (1 mmol/L) entspricht.

##### **Lipophiler PCL-Assay (Photosensibilisierte Chemolumineszenz) mit ACL-Kit**

Mit Hilfe der optischen Anregung eines Photosensibilisators wurden reaktive Sauerstoffspezies gebildet (Popov & Levin, 2000). Die chemoluminometrische Detektion der freien Radikale wurde durch die Dismutation (Disproportionierung) von zwei freien Radikalen erreicht, bei der ein Teil der freiwerdenden Energie in Form eines Lichtquanten frei wird. Die Vereinigung der photo-chemischen Methode der Bildung von freien Radikalen mit ihrem chemoluminometrischen Nachweis wurde im Messgerät Photochem<sup>®</sup> realisiert. Über die Kalibrierung mit Trolox<sup>®</sup>, einem wasserlöslichen Vitamin-E-Analogen, wird der TEAC-Wert ermittelt, der angibt, welcher Troloxkonzentration in mmol/L die antioxidative Aktivität der Probenlösung (1 mmol/L) entspricht.

#### 3.4.4.2 Bestimmung des oxidierten und des reduzierten Glutathions

Die Gehalte an GSH (reduziertes Glutathion) und GSSG (oxidiertes Glutathion) im Blut wurden nach einer modifizierten Methode nach Ellman und Hissin und Hilf bestimmt. Reduziertes Glutathion reagiert mit 5,5'-Dithio-bis(2-nitrobenzoesäure). Dabei wird 2-Nitro-5-Mercaptobenzoensäure abgespalten, welche gelb gefärbt ist. Die photometrische Messung der Farbintensität gibt Auskunft über die Konzentration an reduziertem Glutathion. Der Nachweis von oxidiertem Glutathion erfolgt fluorimetrisch, nachdem dieses in einer pH-abhängigen Reaktion ( $\text{pH} < 10$ ) mit o-Phthaldialdehyd reagiert hat. (Ellman, 1959; Hissin & Hilf, 1976)

#### 3.4.4.3 Bestimmung von Lipidperoxidationsprodukten (TBARS)

Der TBARS-Assay ist eine weitverbreitete Methode zur Bestimmung der Malondialdehyd-Bildung durch die Lipidperoxidation. Der Gehalt an Lipidperoxidationsprodukten im Vollblut wurde nach der Methode von Yagi bestimmt. Unter Einwirkung von Radikalen werden ungesättigte Fettsäuren zu Malondialdehyd peroxidiert. Malondialdehyd bildet mit Thiobarbitursäure einen roten Farbkomplex, welcher fluorimetrisch bestimmt wird (Anregung: 515 nm, Emission: 553 nm). Der Gehalt an thiobarbitursäurereaktiven Substanzen (TBARS) wird berechnet und in  $\mu\text{mol/L}$  angegeben. (Yagi, 1987)

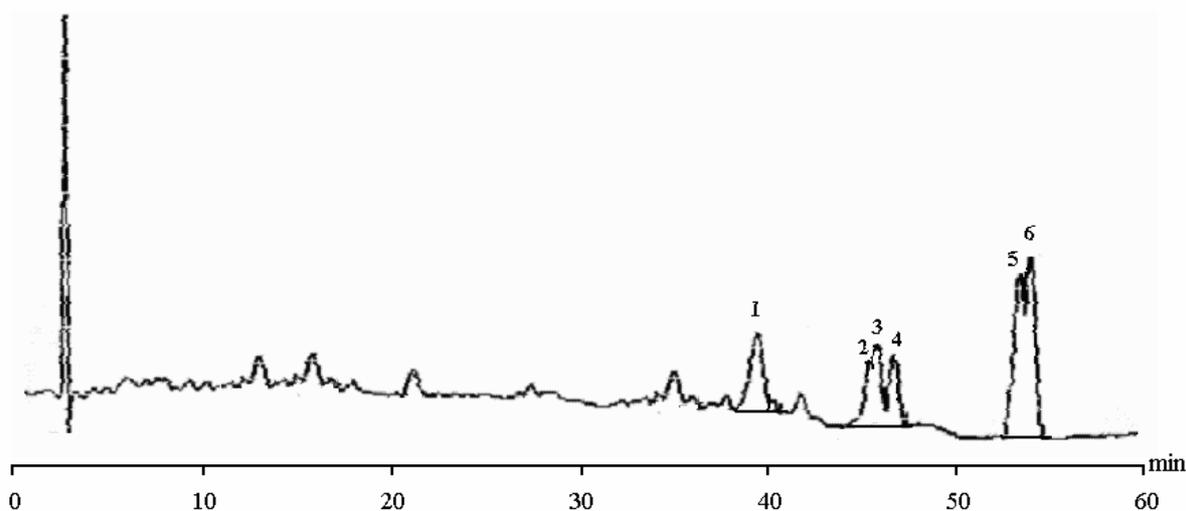
## 4 Ergebnisse

### 4.1 Lycopinisomere

#### 4.1.1 Untersuchungen zu Isomerisierung und Stabilität von Lycopin

##### 4.1.1.1 Iod-Photo-Isomerisierung an unterschiedlichen Tagen

Im Rahmen der Untersuchungen zur Isomerenidentifizierung wurde an insgesamt 15 Tagen (*all-E*)-Lycopin mit Hilfe von Iod (5 % des Carotinoidgewichts) und 15-minütiger Bestrahlung mit UV-Licht isomerisiert. Dabei bildete sich ein Gemisch aus (*all-E*)-Lycopin, verschiedenen (*Z*)-Lycopinisomeren und zahlreichen Oxidationsprodukten. Abbildung 13 zeigt ein HPLC-Chromatogramm einer isomerisierten Lycopinlösung. In den ersten Minuten (< 30 min) eluierten die Lycopin-Oxidationsprodukte, im hinteren Teil des Chromatogramms verschiedene geometrische Isomere des Lycopins. Die Unterscheidung zwischen Oxidationsprodukten und Isomeren wurde mit Hilfe von LC-MS-Analysen (Daten nicht gezeigt) vorgenommen.



**Abbildung 13:** HPLC-Chromatogramm eines Iod-Photo-isomerisierten Lycopingemisches (5 % Iod, 15 min UV)

HPLC-Bedingungen: YMC<sub>30</sub> (250 x 4,6 mm, 5 µm), 1,3 mL/min, Gradient aus Methanol und MTBE (siehe Tabelle A 2), 23 ± 1°C, 463 nm

1 = (13*Z*/15*Z*)-Lycopin, 2 = (5*Z*,9'*Z*)-Lycopin, 3 = (9*Z*)-Lycopin, 4 = (5*Z*,9*Z*)-Lycopin, 5 = (*all-E*)-Lycopin, 6 = (5*Z*)-Lycopin (siehe 5.1.2)

Mit Hilfe der Flächeneinheiten der einzelnen Peaks im HPLC-Chromatogramm wurden die relativen Anteile [%] der einzelnen Isomere bzw. Isomerengruppen berechnet. Die Isomere (5*Z*,9'*Z*)-, (9*Z*)-, (5*Z*,9*Z*)-Lycopin wurden aufgrund unzureichender Trennung auf der verwendeten C<sub>30</sub>-Säule als Summe ausgewertet. Obwohl die Isomerisierung jeden Tag unter identischen Bedingungen (5 % Iod, 15 min UV-Bestrahlung) durchgeführt wurde, variierten die Zusammensetzungen der isomerisierten Lycopinlösungen zum Teil relativ stark (Tabelle A 12,

Tabelle A 13). In Tabelle A 12 sind die prozentualen Anteile der sechs Lycopinisomere mit bekannter Struktur sowie anderer entstandener Lycopinmetabolite an der Gesamtfläche aller detektierten Verbindungen angegeben. Unter dem Begriff „andere Lycopinmetabolite“ wurden Oxidationsprodukte, welche den größten Anteil ausmachten, und bisher noch nicht genauer charakterisierte Lycopinisomere zusammengefasst. Der Anteil der bekannten Lycopinisomere (*all-E*)-, (*13Z/15Z*)-, (*5Z,9'Z*)-, (*9Z*)-, (*5Z,9Z*)- und (*5Z*)-Lycopin im isomerisierten Gemisch schwankte zwischen 31,5 % und 89,9 % und somit der Anteil der anderen Isomerisierungsprodukte zwischen 10,1 % und 68,5 %.

Dagegen variierten die Verhältnisse der sechs bekannten Lycopinisomere untereinander mit (*all-E*) : (*13Z/15Z*) : (*5Z,9'Z*)+(9Z)+(5Z,9Z) : (*5Z*) gleich 1,0 : 1,0 ± 0,3 : 1,5 ± 0,4 : 1,5 ± 0,3 an den unterschiedlichen Isomerisierungstagen kaum (Tabelle A 13).

#### 4.1.1.2 Isomerisierung von (*all-E*)-Lycopin mit 5 % Iod und unterschiedlichen UV-Bestrahlungen

In der Isomerisierungsmethode von Zechmeister (Zechmeister, 1944) wurde Lycopin mit Hilfe von Iod und UV-Licht isomerisiert. Um den Einfluss der UV-Bestrahlung auf die Iod-Isomerisierung näher zu untersuchen, wurde eine (*all-E*)-Lycopinlösung (221,4 µg/mL) mit Iod (5 % der eingesetzten Lycopinmenge) versetzt und dann unterschiedlich lange (5 sek – 15 min) mit Hilfe einer UV-Lampe (Derma Spac Skin Imager, Avon) bestrahlt. Parallel dazu wurden die Lycopin-Iod-Mischungen bei normaler Laborbeleuchtung stehen gelassen. Die Umgebungstemperatur änderte sich während der Bestrahlungszeit nicht, d. h. ein Einfluss durch die mögliche Wärmeentwicklung infolge der Bestrahlung konnte ausgeschlossen werden. Die einzelnen Flächeneinheiten der entstandenen Isomerisierungsprodukte in Abhängigkeit von der Bestrahlungsart und -dauer sind in Tabelle A 15 angegeben.

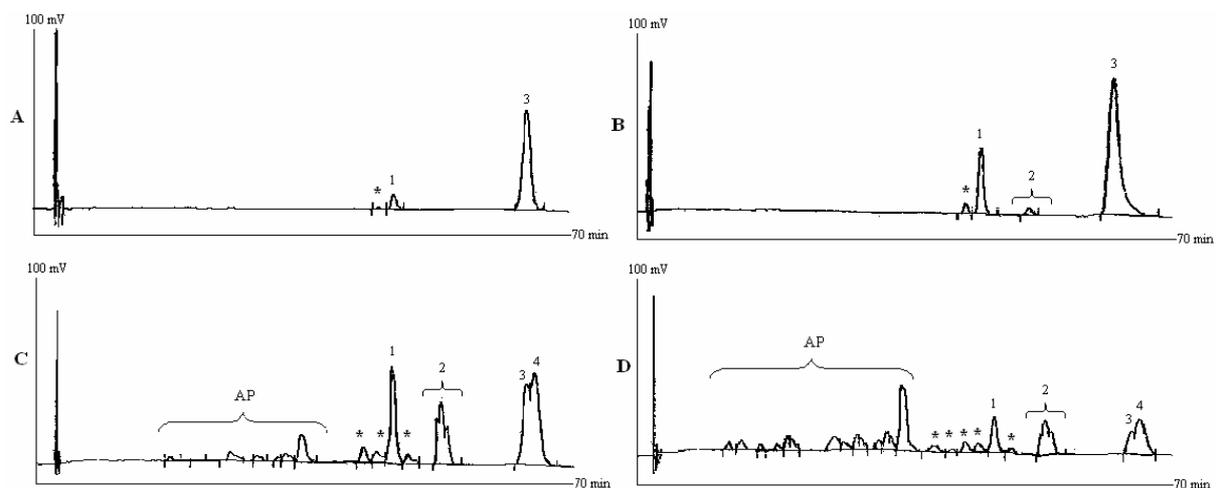
Die Zusammensetzung des durch die Einwirkung von Iod und UV-Strahlung entstandenen Isomerisierungsgemisch änderte sich in Abhängigkeit von der Bestrahlungslänge. Die einzelnen Lycopinisomere verhielten sich dabei nicht gleich. Während die Fläche des (*all-E*)-Lycopin-Peaks mit steigender Bestrahlungszeit stetig abnahm, waren keine signifikanten Änderungen beim (*13Z/15Z*)-Isomer zu beobachten. Im Gegensatz dazu stiegen die Flächeneinheiten der 3er-Isomerengruppe (Summe aus (*5Z,9'Z*), (*9Z*) und (*5Z,9Z*)) bis zu einer UV-Bestrahlungsdauer von 5 Minuten an und sanken bei längeren Bestrahlungszeiten wieder ab. Beim (*5Z*)-Lycopin war mit steigenden Bestrahlungszeiten ein stetiges Absinken der Peakflächen zu beo-

bachten, während die Oxidationsprodukte stetig anstiegen. Bei normaler Laborbeleuchtung (ohne zusätzliche UV-Bestrahlung) waren dagegen keine bzw. nur geringfügige Änderungen der Flächeneinheiten mit steigender Standzeit im Laborlicht zu beobachten.

Bei Wiederholung dieser Versuche mit einer Iodzugabe von 2,5 % bzw. 7,5 % waren vergleichbare Tendenzen zu beobachten (Daten nicht gezeigt).

#### 4.1.1.3 Isomerisierung von (*all-E*)-Lycopin mit unterschiedlichen Iodmengen ohne UV-Bestrahlung

Um dem Einfluss der zugesetzten Iodmenge bei der Lycopinisomerisierung zu testen, wurde eine (*all-E*)-Lycopinlösung (144,8 µg/mL) im abgedunkeltem Labor mit Iodmengen zwischen 0 % und 20 % des Carotinoidgewichtes behandelt. Wie in den HPLC-Chromatogrammen (Abbildung 14) zu erkennen ist, bildete sich ein Gemisch aus Lycopinisomeren und zahlreichen anderen Lycopin-Abbauprodukten (hauptsächlich Oxidationsprodukten).



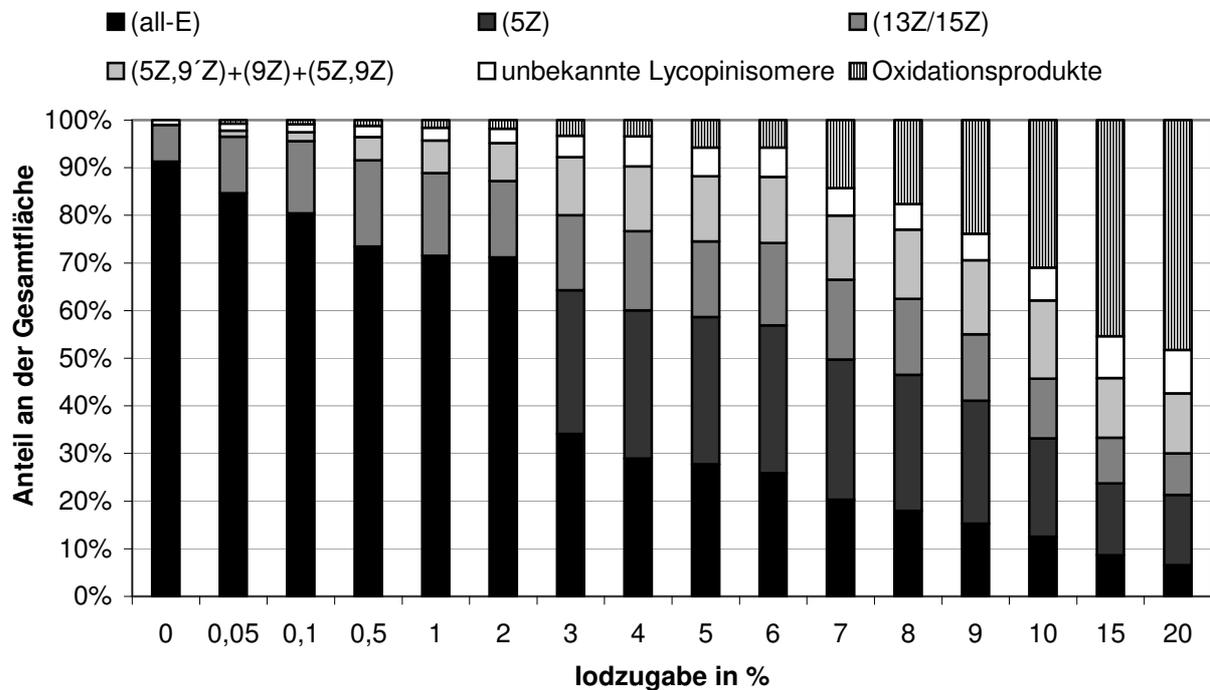
**Abbildung 14:** HPLC-Chromatogramme von Lycopingemischen, isomerisiert mit unterschiedlichen Iodmengen, A) 0 % Iod, 1:10 verd.; B) 0,1 % Iod, unv.; C) 5 % Iod, unv.; D) 20 % Iod, unv.

HPLC-Bedingungen: YMC C30 (250 x 4,6 mm, 5 µm), 1,3 mL/min, Gradient aus Methanol und MTBE (siehe Tabelle A 6), 17 ± °C, 463 nm

1 = (*13Z/15Z*)-Lycopin, 2 = (*5Z,9'Z*)-+(*9Z*)-+(*5Z,9Z*)-Lycopin, 3 = (*all-E*)-Lycopin, 4 = (*5Z*)-Lycopin, \* = unbekannte Lycopinisomere, AP = Lycopin-Abbauprodukte (Oxidationsprodukte)

Die einzelnen Flächeneinheiten der durch die Einwirkung von verschiedenen Iodmengen entstandenen Verbindungen sind im Anhang (Tabelle A 14) zu finden. Mit steigender Iodzugabe änderte sich die Zusammensetzung des Iod-isomerisierten Lycopingemisches (Abbildung 15). Die maximalen Peakflächen waren beim (*13Z/15Z*)-Lycopin bei einer Iodzugabe von etwa 7 %, bei der 3er-Isomerengruppe (Summe aus (*5Z,9'Z*), (*9Z*) und (*5Z,9Z*)) bei etwa 9 % und beim

(5Z)-Lycopin bei etwa 6 % zu beobachten. Die Gesamt-Peakfläche der detektierten Oxidationsprodukte sowie der prozentuale Anteil im Gemisch erhöhte sich mit steigender Iodmenge.



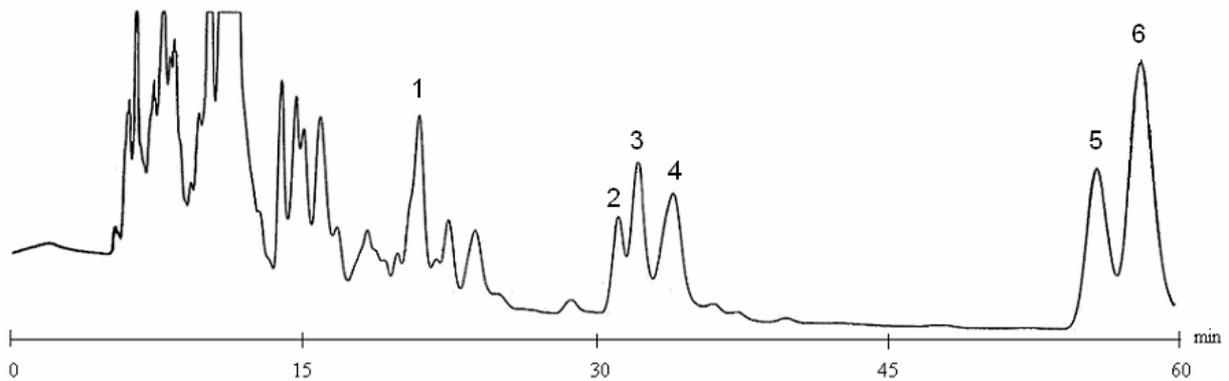
**Abbildung 15:** Abhängigkeit der relativen Anteile [%] der Lycopinisomere und Lycopinoxidationsprodukte in Abhängigkeit von der Iodzugabe bei der Isomerisierung ohne UV-Bestrahlung

#### 4.1.1.4 Stabilität der Lycopin-Standardlösung und von Humanplasmaextrakten im Autosampler

Da die Analysenzeiten der HPLC-Carotinoidtrennungen (über 1 h pro Probe) sehr lang sind und die Proben demzufolge über mehrere Stunden bei Raumtemperatur im Autosampler stehen, wurde weiterhin die Stabilität von Lycopin-Standardlösungen sowie von Humanplasmaextrakten im Autosampler getestet. Bei einer Standzeit von 24 Stunden wurden weder bei Lycopin-Standardlösungen (Tabelle A 16) noch bei Humanplasmaextrakten (Daten nicht gezeigt) signifikante Änderungen in den Peakflächen der einzelnen Lycopinisomere beobachtet.

#### 4.1.2 Charakterisierung von Lycopinisomeren

Abbildung 16 zeigt eine HPLC-Trennung eines Lycopinmetabolitengemisches mit der präparativen HPLC-Anlage. Sechs verschiedene Lycopinisomere wurden isoliert und für die weiteren Untersuchungen verwendet.

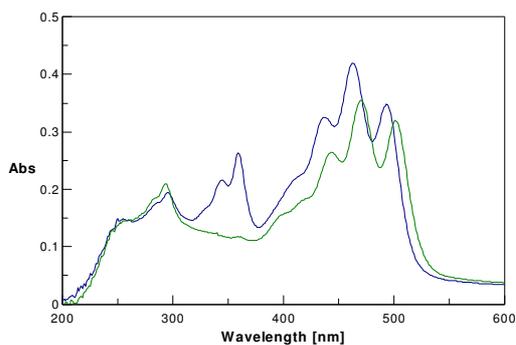


**Abbildung 16:** HPCL-Chromatogramm einer Iod-Photo-isomeren-Lycopinlösung  
HPLC-Bedingungen: YMC C30 (300 x 10,0 mm, 5  $\mu$ m), 4,0 mL/min Methanol/MTBE (6+4, v/v), RT, 450 nm  
**1** = (13Z/15Z)-Lycopin, **2** = (5Z,9Z)-Lycopin, **3** = (9Z)-Lycopin, **4** = (5Z,9Z)-Lycopin, **5** = (*all-E*)-Lycopin, **6** = (5Z)-Lycopin (Strukturzuordnung der einzelnen Isomere siehe Kapitel 5.1.2)

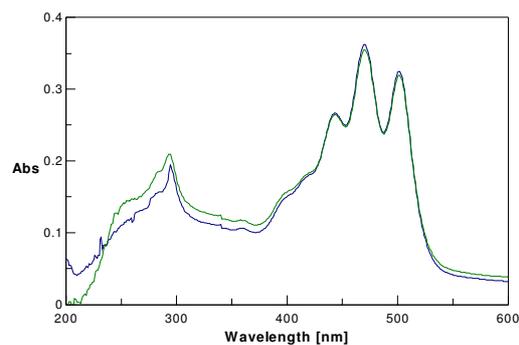
#### 4.1.2.1 UV-vis-Spektroskopie

Die UV-vis-Daten (Absorptionsmaxima, Q-Verhältnisse) der sechs isolierten Isomere sind in Abbildung 17 sowie im Anhang (Tabelle A 17) angegeben. Die Wellenlängen der Absorptionsmaxima waren vom jeweiligen Lösungsmittel abhängig. Das Absorptionsmaximum von (*all-E*)-Lycopin (**5**) lag zwischen 469 nm in Petrolether und 482 nm in Dichlormethan. Isomer **6** ((5Z)-Lycopin) zeigte die gleichen spektralen Eigenschaften in allen getesteten Lösungsmitteln wie das (*all-E*)-Lycopin (**5**). Dies ist auch besonders deutlich in Abbildung 17 B zu sehen, wo die UV-vis-Spektren dieser beiden Isomere (**5** und **6**) übereinandergelagert dargestellt sind. Im Unterschied dazu wiesen die Isomere **2 – 4** ((5Z,9Z)-, (9Z)-, (5Z,9Z)-Lycopin) eine hypsochrome Verschiebung um 5 - 7 nm auf, d. h. eine Wellenlängenverschiebung zum kurzwelligeren, energiereicheren Wellenlängenbereich (Abbildung 17 C). Die Spektren dieser drei Isomere (**2 - 4**) waren untereinander jedoch nahezu identisch (Abbildung 17 D).

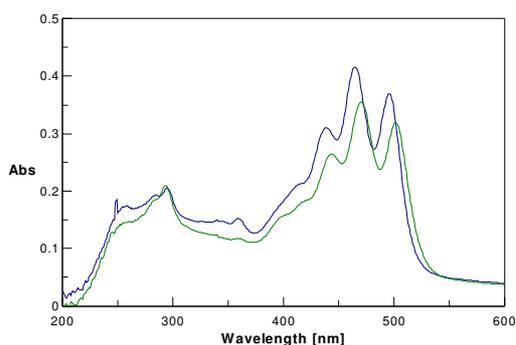
Weiterhin wurden die Q-Verhältnisse (Tabelle A 17) zur Identifizierung der Isomere zu Hilfe genommen, welche die Verhältnisse der Extinktion des Nebenmaximums („cis-Peak“) zu der Extinktion des Hauptmaximums sind. Die Q-Verhältnisse lagen bei den vorliegenden Messungen in verschiedenen Lösungsmitteln bei 0,09 bis 0,17 für Isomer **5**, 0,08 bis 0,12 für Isomer **6** und 0,14 bis 0,25 für die Isomere **2 – 4**.



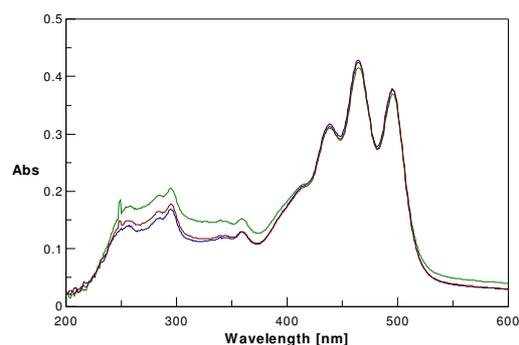
A) (15Z/13Z)-Lycopin (1) (blau) und (all-E)-Lycopin (5) (grün)



B) (5Z)-Lycopin (6) (blau) und (all-E)-Lycopin (5) (grün)



C) (9Z)-Lycopin (3) (blau) und (all-E)-Lycopin (5) (grün)



D) (5Z,9'Z)-Lycopin (2) (blau), (9Z)-Lycopin (3) (grün) und (5Z,9Z)-Lycopin (4) (braun)

**Abbildung 17:** Vergleich von UV-vis-Spektren verschiedener, isolierter Lycopinisomere (in MTBE)

Zusätzlich zu den UV-vis-Spektren in acht verschiedenen Lösungsmitteln (Tabelle A 17) wurden von der isolierten Verbindung 1 ((13Z/15Z)-Lycopin) mehrere UV-vis-Spektren (in Methanol/MTBE 1+1, v/v) sowie DAD-Spektren aus verschiedenen HPLC-Läufen (Gradient aus Methanol und MTBE) zur Bestimmung der Q-Verhältnisse dieses Isomers herangezogen. Die ermittelten Q-Verhältnisse zeigten bei beiden Methoden relativ grosse Schwankungen. Aus den DAD-Daten ( $n = 23$ ) wurde ein Q-Verhältnis von  $0,49 \pm 0,07$  ( $0,41 - 0,69$ ) und aus den UV-vis-Spektren ( $n = 14$ ) von  $0,56 \pm 0,04$  ( $0,51 - 0,66$ ) ermittelt.

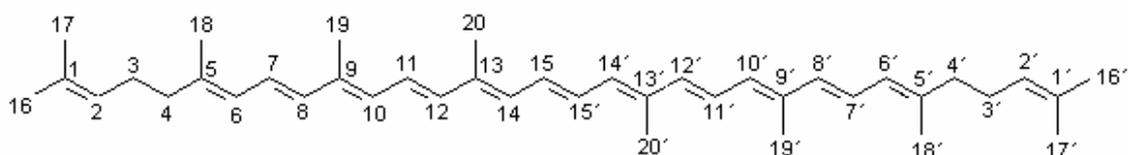
#### 4.1.2.2 LC-MS-Analyse

Alle isolierten Isomere zeigten in ihren Massen-Spektren ein starkes Massensignal bei  $m/z$  537,4, was dem Molekülion vom Lycopin entspricht.

### 4.1.2.3 NMR-Analyse

Um eine eindeutige Charakterisierung der Struktur ausgewählter (*Z*)-Lycopinisomere (Isomere **2** bis **6** aus Abbildung 16) zu erhalten, wurden nach Isolierung von (*all-E*)-Lycopin und vier (*Z*)-Lycopinisomeren diese mittels unterschiedlicher NMR-Techniken (1D-NMR:  $^1\text{H}$  NMR, 2D-NMR: gCOSY, TROESY, TOCSY) untersucht und anhand ihrer chemischen Verschiebungen ( $\delta$ ) und Kopplungskonstanten ( $J$ ) charakterisiert.

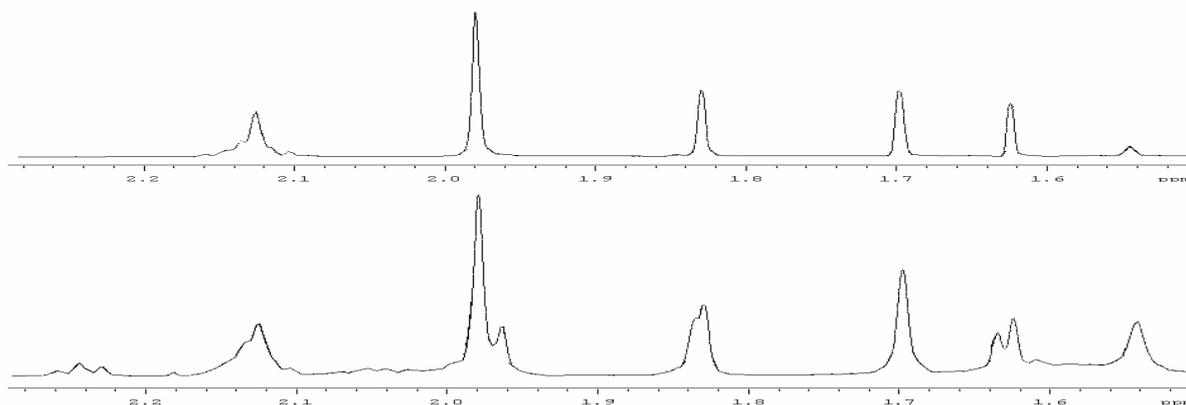
Die Nummerierung der Protonen im Lycopinmolekül ist in Abbildung 18 zu sehen.  $^1\text{H}$ -NMR-Daten (chemische Verschiebungen) der einzelnen Isomere sind im Anhang Tabelle A 18 angegeben. Die genaue Strukturzuordnung erfolgte hauptsächlich über die 2D-NMR-Techniken.



**Abbildung 18:** Struktur von (*all-E*)-Lycopin (**5**) mit Nummerierung der einzelnen Protonen

#### (5Z)-Lycopin (6):

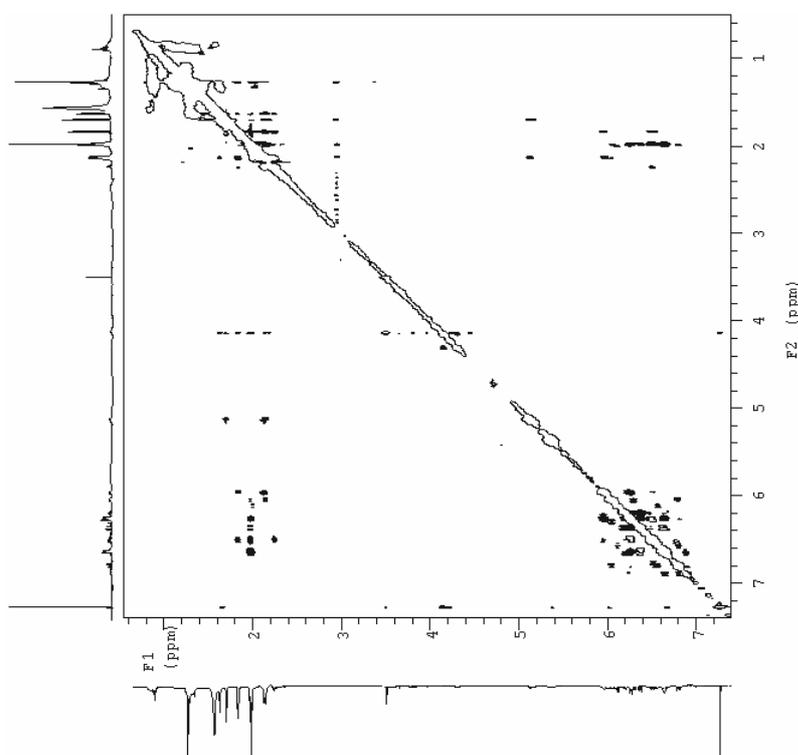
In Abbildung 19 sind die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren von (*all-E*)-Lycopin (**5**) und (*5Z*)-Lycopin (**6**) zu sehen, wo die Unterschiede der Resonanzfrequenzen der äquivalenten Methylgruppen gut zu erkennen sind. Zusätzlich zeigte das (*5Z*)-Lycopin (**6**) eine Tieffeldverschiebung des Protons 2 (H-2) um  $\Delta\delta = 0,04$  ppm und des Protons 4 (H-4) um  $\Delta\delta = 0,11$  ppm verglichen mit dem (*all-E*)-Lycopin (**5**). Außerdem waren Kern-Overhauser-Effekte zwischen der 18. Methylgruppe (Me-18) und dem 6. Proton (H-6), sowie zwischen H-4 und H-7 zu beobachten.



**Abbildung 19:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren des aliphatischen Bereiches von (*all-E*)-Lycopin (**5**) (oberes Spektrum) und (*5Z*)-Lycopin (**6**) (unteres Spektrum)

(9Z)-Lycopin (3):

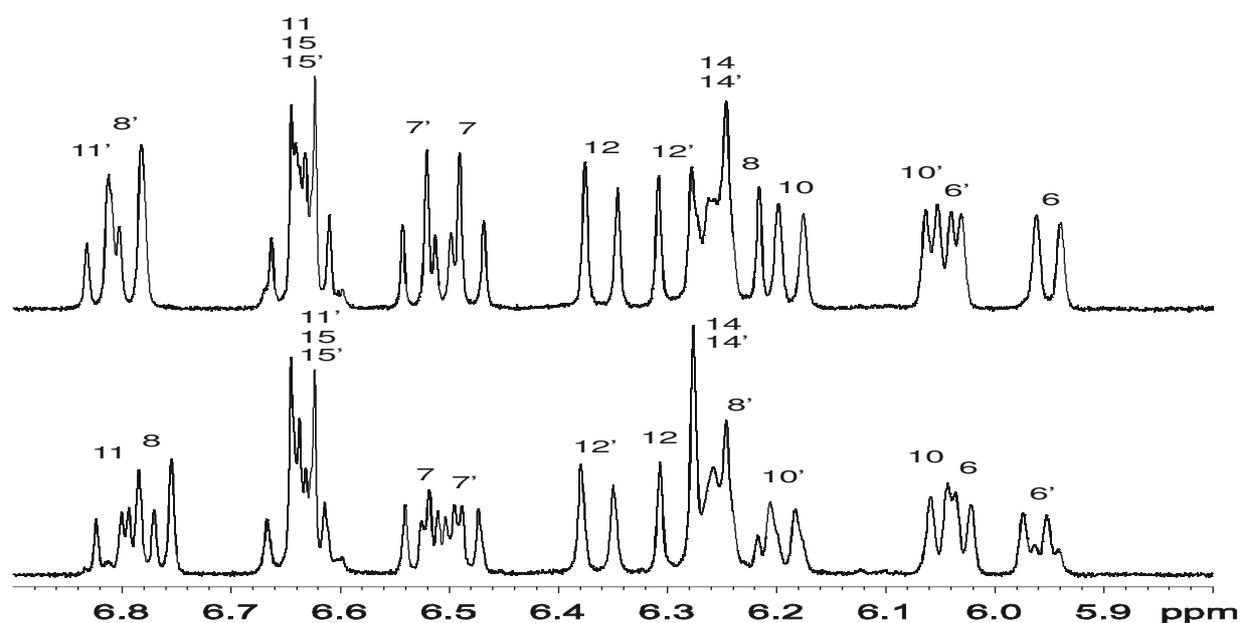
Beim (*9Z*)-Lycopin (**3**) waren ebenfalls die typischen chemischen Verschiebungen im Vergleich zum (*all-E*)-Lycopin zu beobachten: Tieffeldverschiebungen von H-6 ( $\Delta\delta = 0,08$  ppm), H-7 ( $\Delta\delta = 0,02$  ppm), H-8 ( $\Delta\delta = 0,54$  ppm) und H-11 ( $\Delta\delta = 0,17$  ppm) sowie Hochfeldverschiebungen von H-10 ( $\Delta\delta = 0,14$  ppm) und H-12 ( $\Delta\delta = 0,07$  ppm). Weiterhin war bei dem Lycopinisomer **3** ein Kreuzsignal zwischen H-10 und Me-19 im ROESY-Spektrum zu erkennen (Abbildung 20).



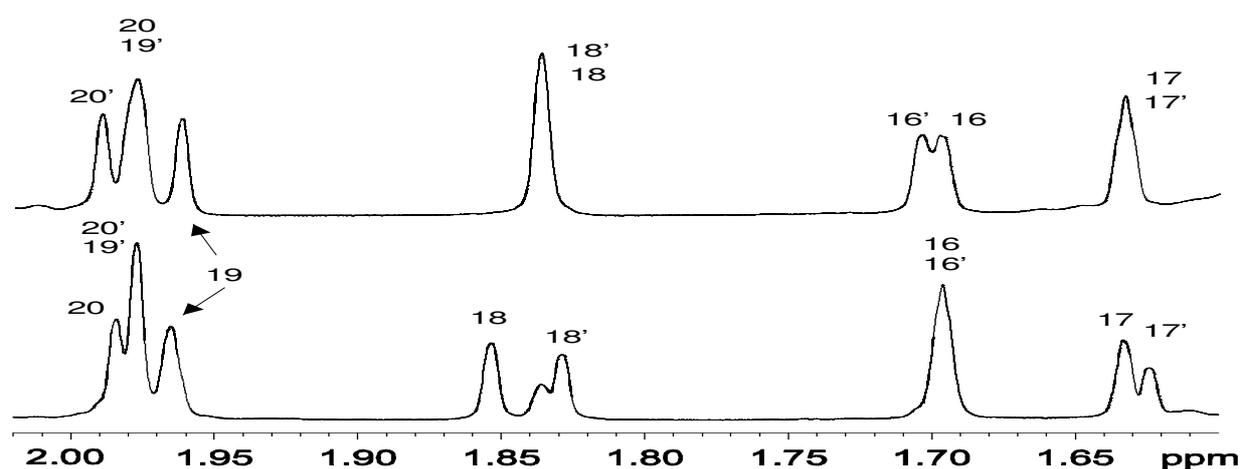
**Abbildung 20:** ROESY-Spektrum von (*9Z*)-Lycopin (**3**)

(5Z,9'Z)-Lycopin (2) und (5Z,9Z)-Lycopin (4):

Die Lycopinisomere **2** und **4** zeigten zum (9Z)-Lycopin identische  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren im olefinischen Bereich (Abbildung 21). Der Hauptunterschied lag in der chemischen Verschiebungen ( $\Delta\delta = 0,03$  ppm) zwischen dem Dublett von Isomer **2** bei  $\delta = 6,80$  ppm und dem Duplett von Isomer **4** bei  $\delta = 6,77$  ppm. Weiterhin traten signifikante Unterschiede in den chemischen Verschiebungen im Bereich der Methylgruppen auf (Abbildung 22).



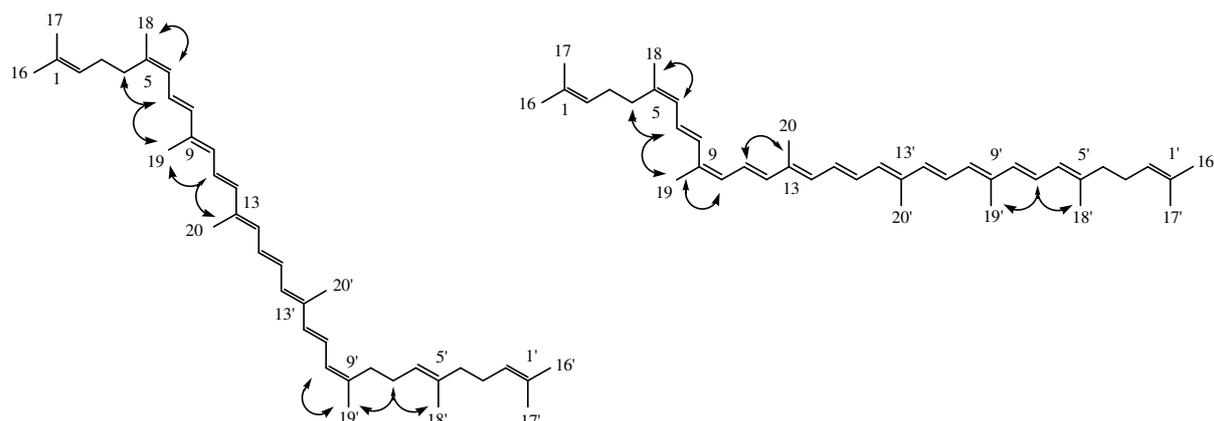
**Abbildung 21:**  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren des olefinischen Bereiches von (5Z,9'Z)-Lycopin (**2**) (oberes Spektrum) und (5Z,9Z)-Lycopin (**4**) (unteres Spektrum)



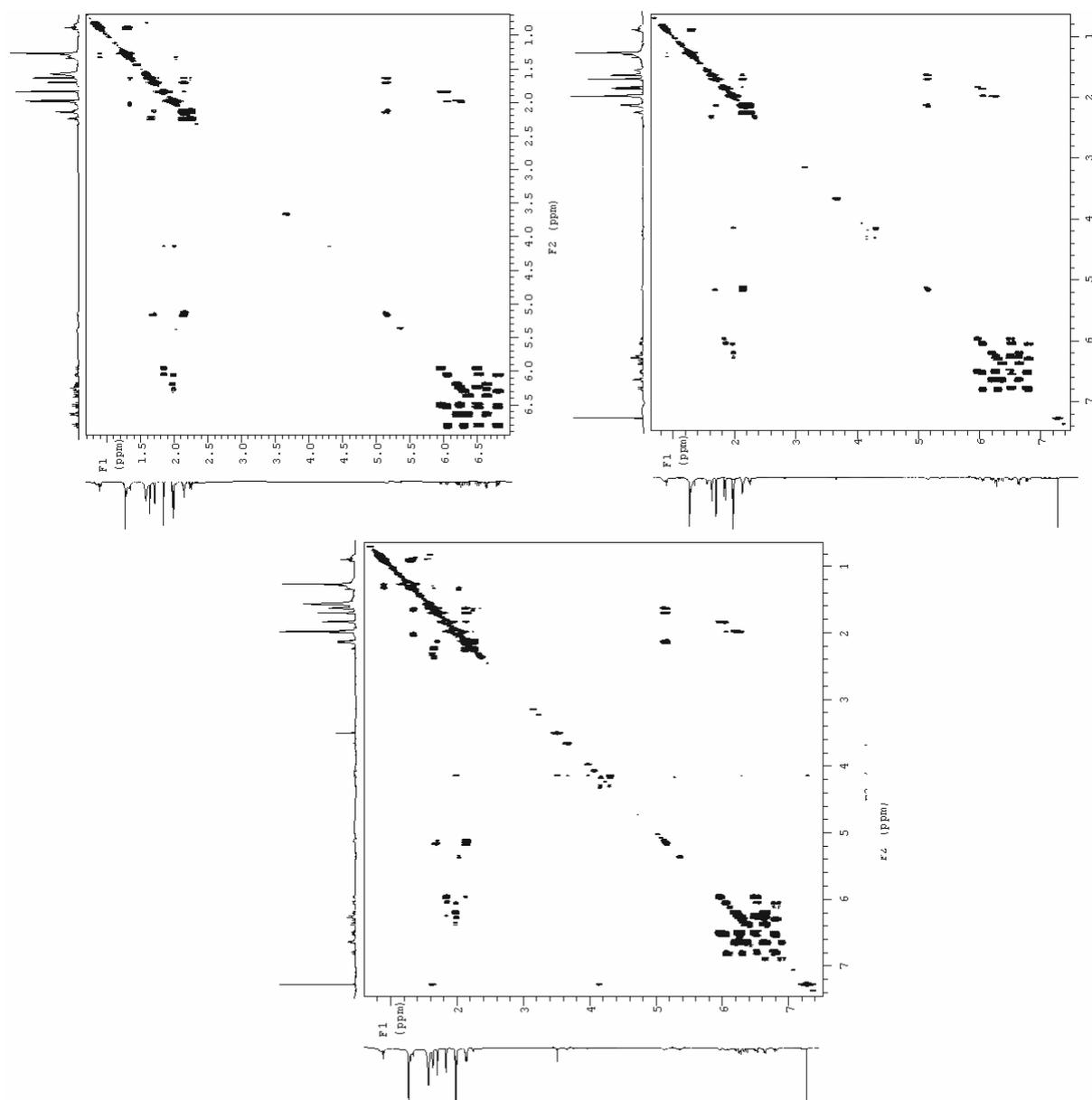
**Abbildung 22:**  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren des aliphatischen Bereiches von (5Z,9'Z)-Lycopin (**2**) (oberes Spektrum) und (5Z,9Z)-Lycopin (**4**) (unteres Spektrum)

Bei Betrachtung der 2D-NMR-Spektren konnten eindeutige Unterschiede zwischen den beiden Verbindungen beobachtet werden (Abbildung 23, Abbildung 24). In Abbildung 23 wurden die einzelnen ROESY-Experimente mittels Pfeilen in den entsprechenden Strukturformeln gra-

phisch dargestellt. Charakteristisch für die Verbindung **4** waren die ROESY-Korrelationen zwischen H-4 und H-7, Me-18 und H-6, H-7 und Me-19 sowie zwischen Me-19 und H-10. Dagegen waren die Kern-Overhauser-Effekte zwischen H-4 und H-7, Me-18 und H-6, H-7 und Me-19, Me-19 und H-11, H-10' und Me-19', Me19' und H-7' sowie zwischen H-7' und Me-18' charakteristisch für die Verbindung **2**.



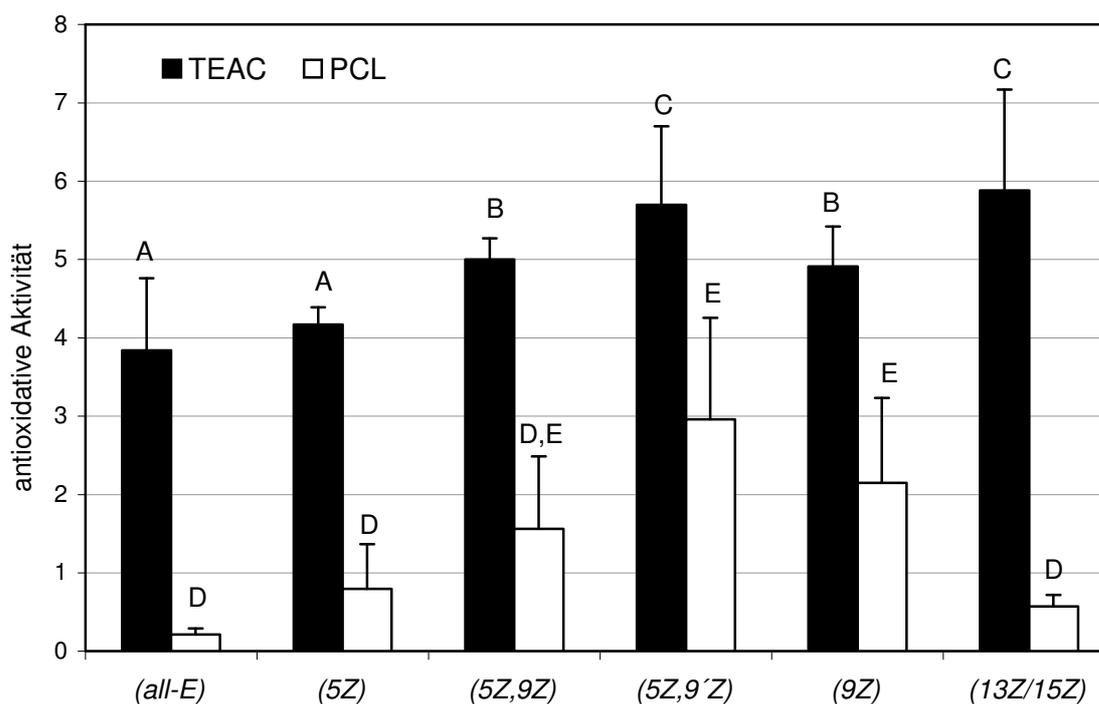
**Abbildung 23:** Strukturen von (5Z,9'Z)-Lycopin (**2**) und (5Z,9Z)-Lycopin (**4**) mit Kennzeichnung der wichtigsten ROESY-Korrelationen mittels Pfeilen



**Abbildung 24:** COSY-Spektren von (5Z,9'Z)-Lycopin (**2**) (oberes, linkes Spektrum), (9Z)-Lycopin (**3**) (oberes, rechtes Spektrum) und (5Z,9Z)-Lycopin (**4**) (unteres Spektrum)

### 4.1.3 Untersuchungen zur antioxidativen Aktivität von Lycopinisomeren

(*all-E*)-Lycopin und fünf (*Z*)-Lycopinisomere wurden mittels präparativer C<sub>30</sub>-HPLC isoliert und ihre antioxidative Aktivität im TEAC- und PCL-Assay bestimmt. Die Messwerte der einzelnen Isomere und die daraus berechneten relativen antioxidativen Aktivitäten (bezogen auf (*all-E*)-Lycopin) sind in Abbildung 25 bzw. im Anhang in Tabelle A 19 angegeben. Die Mittelwerte enthalten jeweils mindestens fünf Einzelmessungen, wobei die Reinheit der untersuchten Isomerenfraktionen immer über 80 % lag (Daten nicht gezeigt).



**Abbildung 25:** Antioxidative Aktivität von fünf (*Z*)-Lycopinisomeren im Vergleich zu (*all-E*)-Lycopin im TEAC- und PCL-Test ( $\bar{x} + s$ ), Werte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ , einfaktorielle ANOVA, Tukey-HSD)

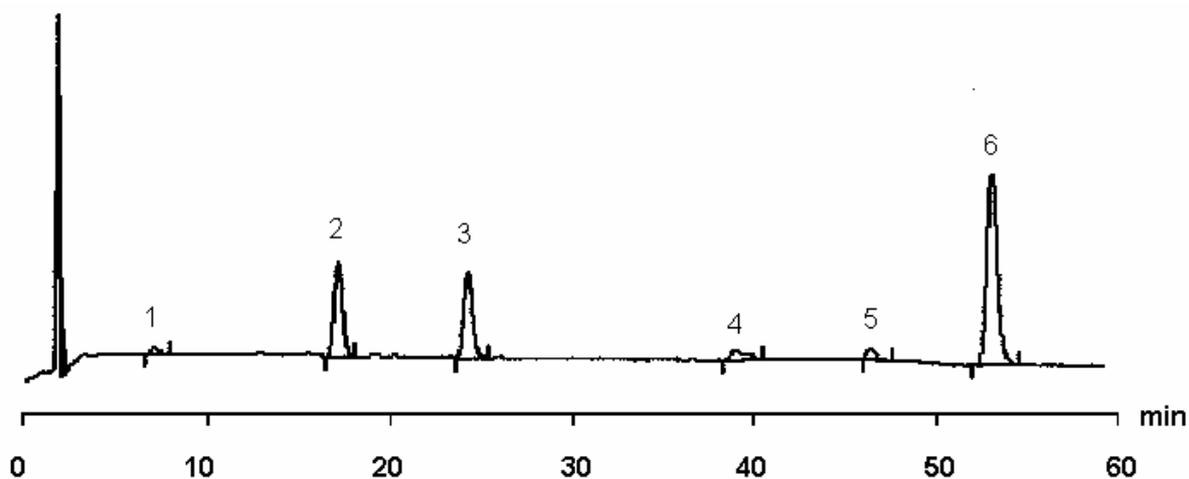
Die Untersuchungen zeigten, dass das (5*Z*)-Lycopin in beiden Testsystemen keine signifikanten Unterschiede zum (*all-E*)-Lycopin aufwies. Dagegen war die antioxidative Aktivität der anderen Lycopinisomere höher als die vom (*all-E*)-Lycopin. Die TEAC-Werte der Lycopinisomere (5*Z*,9*Z*), (5*Z*,9'*Z*), (9*Z*) und (13*Z*/15*Z*) sind 1,3fach bis 1,5fach höher als die vom (*all-E*)-Lycopin. Diese Unterschiede stellten sich im TEAC-Test allesamt als signifikant ( $p < 0,05$ ) heraus. Im PCL-Test waren die Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Messwerte aufgrund der hohen Standardabweichungen nur teilweise als signifikant nachzuweisen. Aufgrund verschiedener Schwierigkeiten mit der lipophilen PCL-Methode und dem Photochem<sup>®</sup>-Gerät sind die erhaltenen Messwerte kritisch zu betrachten. Sie zeigten jedoch (mit Ausnahme des (13*Z*/15*Z*)-Lycopins) zum TEAC-Assay vergleichbare Tendenzen.

## 4.2 Untersuchungen von Lebensmitteln

### 4.2.1 Tomaten und Tomatenprodukte

Von verschiedenen tomatenhaltigen Lebensmitteln (Tomaten, Tomatensäfte, Tomatenketchups, Dosentomaten, passierte Tomaten und Tomatensaucen) wurden jeweils 8 bzw. 9 Handelsproben auf die Gehalte an Carotinoiden und Vitamin C untersucht. Des Weiteren wurden vier Tomatenproben mit den Sortenbezeichnungen Celsior, Black Cherry, Bloody Butcher und Sieger, drei verschiedene Tomatenpulver und eine Probe getrocknete Tomatenscheiben auf ihre Carotinoidzusammensetzung analysiert. Die Angabe aller gemessenen Werte erfolgte bezogen auf 100 g Frischmasse.

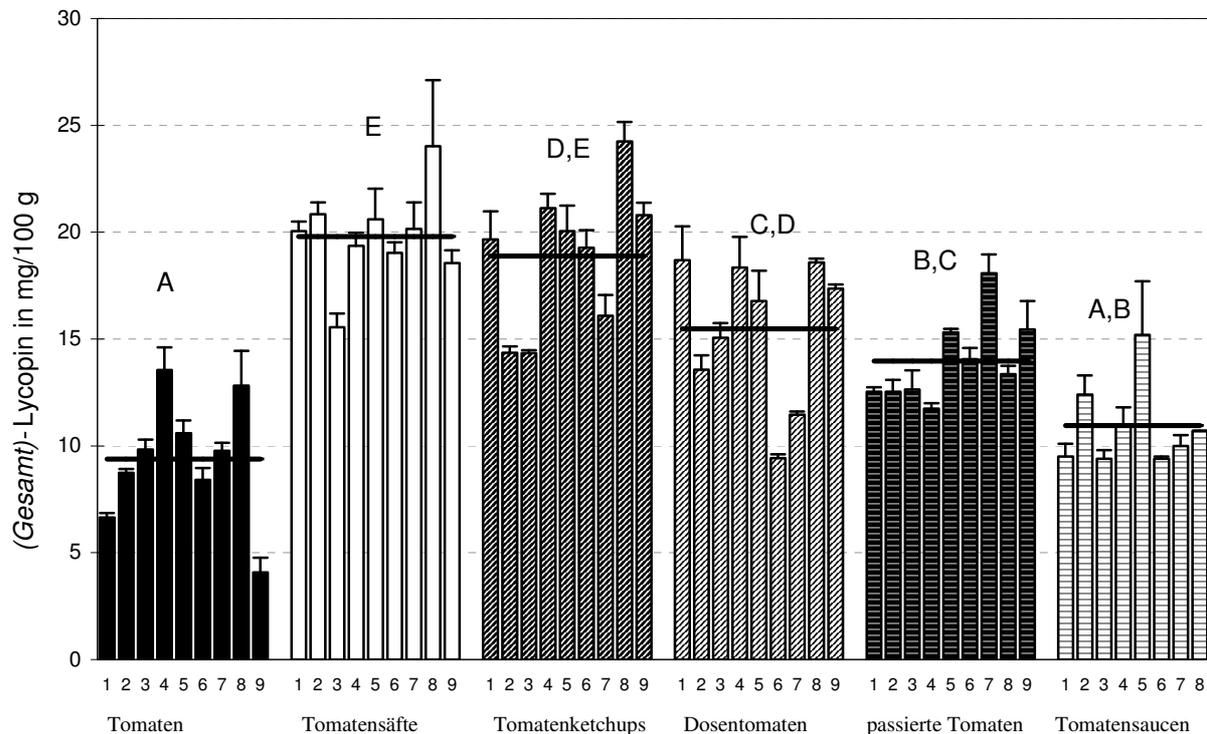
Abbildung 26 zeigt ein typisches HPLC-Chromatogramm einer Carotinoidtrennung für eine Tomatenprobe. In allen Tomaten- und Tomatenproduktproben konnten (*all-E*)-Lycopin, (*all-E*)- $\beta$ -Carotin und verschiedene (*Z*)-Isomere der beiden Carotinoide detektiert werden. In rohen Tomaten waren zusätzlich auch noch geringe Mengen (*all-E*)-Lutein (0,04 bis 0,10 mg/100 g) enthalten.



**Abbildung 26:** HPLC-Chromatogramm einer Carotinoidtrennung eines Tomatenextraktes  
 HPLC-Bedingungen: YMC C<sub>30</sub> (250 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m), 1,3 mL/min, Gradient aus Methanol und MTBE (siehe Tabelle A 5), 23  $\pm$  1°C, 450 nm  
 1 = (*all-E*)-Lutein, 2 = Echinenon (IS), 3 = (*all-E*)- $\beta$ -Carotin, 4 = (*13Z*)-+(*15Z*)-Lycopin, 5 = (*9Z*)-Lycopin, 6 = (*all-E*)-Lycopin

Lycopin war mit 89 % bis 99 % des (*Gesamt*)-Carotinoidgehaltes das mengenmäßig bedeutendste Carotinoid in den untersuchten Tomaten und Tomatenprodukten. Den niedrigsten durchschnittlichen Gehalt an (*Gesamt*)-Lycopin hatte mit  $9,4 \pm 2,9$  mg/100 g die Produktgruppe der Tomaten, gefolgt von den Tomatensaucen mit  $11,0 \pm 2,0$  mg/100 g. Der höchste durchschnittliche (*Gesamt*)-Lycopingehalt war mit  $19,8 \pm 2,2$  mg/100 g bei den Tomatensäften zu finden (Abbildung 27). Innerhalb einer Produktgruppe schwankten die Lycopingehalte zum

Teil sehr stark. Die Werte der einzelnen Handelsproben und die signifikanten Unterschiede zwischen den Einzelproben sind im Anhang Tabelle A 20 angegeben.



**Abbildung 27:** Gehalte an (*Gesamt*)-Lycopin [mg/100 g] der einzelnen Tomaten- und Tomatenproduktproben ( $\bar{x} + s$ ) sowie die Mittelwerte der Produktgruppen, Gruppen mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ , einfaktorische ANOVA, Tukey-HSD)

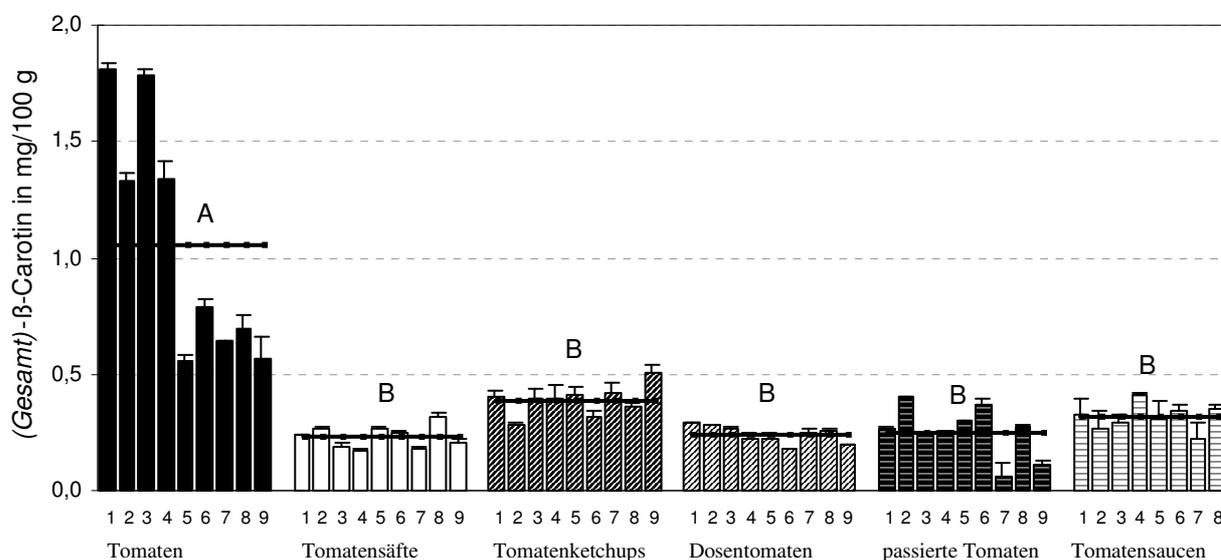
Lycopin war in allen untersuchten Proben zum überwiegenden Teil in der *trans*-Isomerenform, d. h. als (*all-E*)-Lycopin zu finden (Tabelle 17, Tabelle A 21). Neben dem (*all-E*)-Lycopin wurden verschiedene (*Z*)-Lycopinisomere detektiert. Bei Retentionszeiten um 39 – 40 min eluierten zwei Isomere, welche jedoch bei den verwendeten HPLC-Bedingungen nicht vollständig voneinander abgetrennt werden konnten. Der vordere Teil des Doppelpeaks (Peak Nr. 4 im Chromatogramm Abbildung 26) konnte eindeutig mit Hilfe der Retentionszeit und des DAD-Spektrums dem (*13Z*)-Lycopin und der hintere Teil dem (*15Z*)-Lycopin zugeordnet werden. Die Verbindung, welche im Bereich von 46 min bis 48 min eluiert, wurde als (*9Z*)-Lycopin identifiziert. Genauere Angaben zur eindeutigen Charakterisierung der einzelnen Lycopinisomere sind im Kapitel 4.1.2 zu finden. In allen untersuchten Proben waren die erwähnten Lycopinisomere vorhanden und wurden summarisch als (*Z*)-Lycopin ausgewertet. Tomaten, Tomatensäfte, Tomatenketchups, Dosentomaten und passierte Tomaten zeigten vergleichbare ( $p > 0,05$ ) Verhältnisse zwischen (*all-E*)- und (*Z*)-Lycopin. Der Anteil von (*all-E*)-Lycopin am (*Gesamt*)-Lycopin betrug 93 % bis 96 % und der Anteil der Summe der (*Z*)-Lycopinisomere

demzufolge 4 % bis 7 %. Im Gegensatz dazu war bei den Tomatensaucen ein signifikant ( $p < 0,05$ ) geringerer Anteil an (*all-E*)-Lycopin (etwa 82 %) und demzufolge ein erhöhter Anteil an (*Z*)-Isomeren (etwa 18 %) zu beobachten.

**Tabelle 17:** Mittlere relative Anteile [%] des (*all-E*)-Lycopins und der Summe der (*Z*)-Lycopinisomere am (*Gesamt*)-Lycopin in Tomaten und Tomatenprodukten ( $\bar{x} \pm s$ ), Gruppen mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ , einfaktorische ANOVA, Tukey-HSD)

	Tomaten <sup>A</sup>	Tomatensäfte <sup>A</sup>	Tomatenketchups <sup>A</sup>	Dosentomaten <sup>A</sup>	Passierte Tomaten <sup>A</sup>	Tomatensaucen <sup>B</sup>
( <i>all-E</i> )	95,2 ± 1,5	94,0 ± 1,0	93,6 ± 2,0	94,6 ± 1,9	93,1 ± 0,7	81,7 ± 10,1
Σ( <i>Z</i> )	4,8 ± 1,5	6,0 ± 1,0	6,4 ± 2,0	5,4 ± 1,9	6,9 ± 0,7	18,3 ± 10,1

β-Carotin lag in den untersuchten Proben hauptsächlich als (*all-E*)-β-Carotin (> 98 %) vor. Zusätzlich konnten z. T. geringe Mengen an (*13Z*)- und (*9Z*)-β-Carotin detektiert werden. Die Gehalte an (*Gesamt*)-β-Carotin in den untersuchten Tomaten und Tomatenprodukten betragen je nach Probe zwischen 0,1 mg/100 g und 1,8 mg/100 g (Abbildung 28, Tabelle A 20). Im Gegensatz zum Lycopin waren die β-Carotingehalte in rohen Tomaten etwa zweifach höher als in verarbeiteten Tomatenprodukten.



**Abbildung 28:** Gehalte an (*Gesamt*)-β-Carotin [mg/100 g] der einzelnen Tomaten- und Tomatenproduktproben ( $\bar{x} + s$ ) sowie die Mittelwerte der Produktgruppen, Gruppen mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ , einfaktorische ANOVA, Tukey-HSD)

Zusätzlich zu den oben dargestellten Tomaten und Tomatenprodukten wurden weitere Proben auf Tomatenbasis untersucht. In Tabelle 18 sind die (*Gesamt*)-Carotinoidgehalte, die (*Gesamt*)-Lycopingehalte und die Lycopinisomerenverhältnisse von vier Tomatensorten, drei Tomaten-

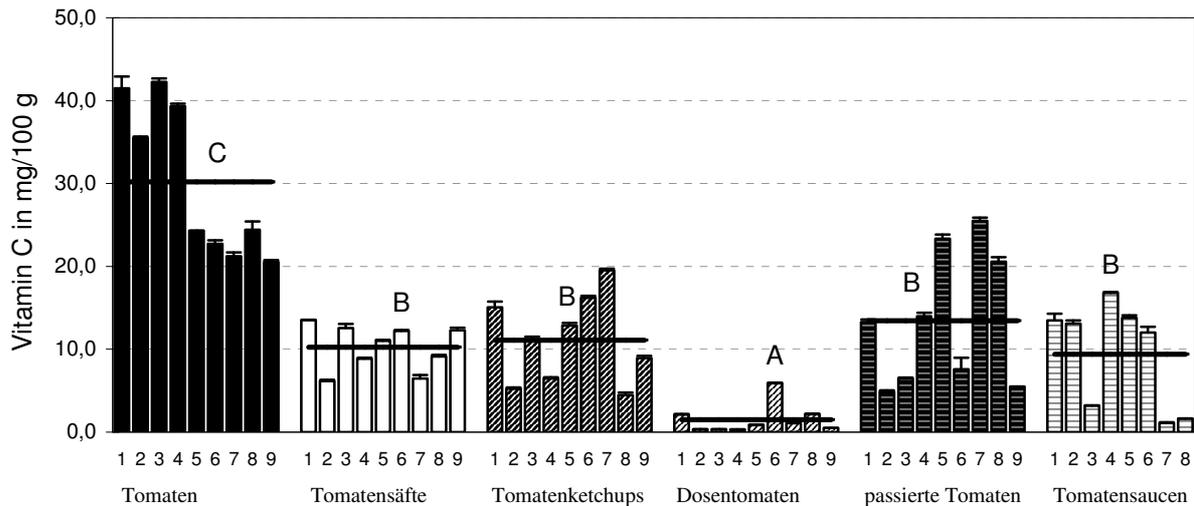
pulvern und einer Probe getrocknete Tomatenscheiben angegeben. In allen Proben war Lycopin als Hauptcarotinoidverbindung vertreten. Weiterhin konnten  $\beta$ -Carotin und z. T. Lutein detektiert werden (Daten nicht gezeigt). Die Tomatensorte mit dem niedrigsten (*Gesamt*)-Carotinoidgehalt ( $7,56 \pm 0,43 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$ ) bzw. (*Gesamt*)-Lycopingehalt ( $2,94 \pm 0,25 \text{ mg}/100 \text{ g}$ ) ist die Tomatensorte Black Cherry. Schon die Fruchtfarbe dieser Sorte war auffällig. Im Vergleich zu den anderen Tomatensorten, welche alle kräftig rot gefärbt waren, zeigten die Black-Cherry-Tomaten eher eine braun-rötliche Färbung (Abbildung 9). Die kleinen Tomaten der Sorte Celsior hatten dagegen die höchsten Carotinoid- bzw. Lycopingehalte. In den trockenen Tomatenerzeugnissen (Tomatenpulver, getrocknete Tomatenscheiben) waren mit über  $45 \text{ mg}/100 \text{ g}$  deutlich höhere Lycopingehalte zu beobachten.

Lycopin lag in den Tomatensorten Bloody Butcher und Sieger, sowie in allen drei Tomatenpulvern und in den getrockneten Tomatenscheiben über 90 % als (*all-E*)-Lycopin vor. In den Sorten Celsior und Black Cherry war mit 88,7 % bzw. 85,0 % (*all-E*)-Lycopin und 11,3 % bzw. 15,0 % (*Z*)-Lycopin der prozentuale Anteil an (*Z*)-Lycopinisomeren etwas höher.

**Tabelle 18:** (*Gesamt*)-Carotinoidgehalte [ $\mu\text{mol}/100 \text{ g}$ ], (*Gesamt*)-Lycopingehalte [ $\text{mg}/100 \text{ g}$ ] ( $\bar{x} \pm s$ ) sowie relative Anteile [%] des (*all-E*)-Lycopins und der Summe der (*Z*)-Lycopinisomere am (*Gesamt*)-Lycopin in verschiedenen Tomaten und Tomatenerzeugnissen

	( <i>Gesamt</i> )- Carotinoide	Lycopin	
	[ $\mu\text{mol}/100 \text{ g}$ ]	( <i>Gesamt</i> )-Lyc. [ $\text{mg}/100 \text{ g}$ ]	( <i>all-E</i> ) : $\Sigma$ ( <i>Z</i> ) [%]
<b>Tomaten</b>			
Celsior	$20,29 \pm 0,12$	$10,13 \pm 0,22$	88,7 : 11,3
Black Cherry	$7,56 \pm 0,43$	$2,94 \pm 0,25$	85,0 : 15,0
Bloody Butcher	$11,87 \pm 0,99$	$5,83 \pm 0,34$	93,8 : 6,2
Sieger	$12,03 \pm 0,89$	$5,56 \pm 0,56$	91,5 : 8,5
<b>Tomatenpulver</b>			
Probe 1	$138,6 \pm 9,69$	$71,08 \pm 5,45$	92,0 : 8,0
Probe 2	$93,66 \pm 7,22$	$45,20 \pm 1,99$	91,3 : 8,7
Probe 3	$102,52 \pm 9,57$	$50,11 \pm 2,98$	90,9 : 9,1
<b>Getrocknete Tomatenscheiben</b>	$107,41 \pm 8,56$	$50,07 \pm 3,97$	96,7 : 3,3

Neben der Carotinoidzusammensetzung wurden in den Proben des Hessischen Rundfunks auch die Gehalte an Vitamin C bestimmt. Diese schwankten in den untersuchten Tomaten und Tomatenprodukten zwischen  $0,3 \text{ mg}/100 \text{ g}$  und  $42,3 \text{ mg}/100 \text{ g}$  (Abbildung 29, Tabelle A 20). Die verarbeiteten Produkte zeigten mit  $1,5 \pm 1,8 \text{ mg}/100 \text{ g}$  für Dosentomaten,  $9,4 \pm 6,3 \text{ mg}/100 \text{ g}$  für Tomatensaucen,  $10,3 \pm 2,7 \text{ mg}/100 \text{ g}$  für Tomatensäfte,  $11,1 \pm 5,2 \text{ mg}/100 \text{ g}$  für Tomatenketchups und  $13,5 \pm 8,0 \text{ mg}/100 \text{ g}$  für passierte Tomaten verglichen mit rohen Tomaten ( $31,2 \pm 9,2 \text{ mg}/100 \text{ g}$ ) signifikant ( $p < 0,05$ ) niedrigere Vitamin-C-Durchschnittsgehalte.



**Abbildung 29:** Gehalte an Vitamin C [mg/100 g] der einzelnen Tomaten- und Tomatenproduktproben ( $\bar{x} + s$ ) sowie die Mittelwerte der Produktgruppen, Gruppen mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ , einfaktorielle ANOVA, Tukey-HSD)

#### 4.2.2 Hagebutten und Hagebuttenprodukte

Fünfzehn verschiedene Hagebuttenarten, drei verschiedene Reifestadien der Hagebutte *Rosa rugosa* sowie acht Hagebuttenprodukte aus dem deutschen Lebensmittelhandel wurden u. a. auf ihre Gehalte an Vitamin C und Carotinoiden untersucht.

##### Vitamin C

Die Vitamin-C-Gehalte der Einzelproben sind in den Diplomarbeiten von Grit Laske und Juliane Hohbein (Laske, 2005; Hohbein, 2007) sowie in Tabelle 19 und im Anhang (Tabelle A 22) angegeben. Die unverarbeiteten Früchte der verschiedenen Hagebuttenarten besaßen Vitamin-C-Gehalte zwischen  $1,9 \pm 0,1$  g/100 g TM (*Rosa-canina-Hybride*) und  $7,2 \pm 0,2$  g/100 g TM (*Rosa glauca*). Während der Fruchtreifung konnte bei den Hagebutten der Art *Rosa rugosa* eine leichte, jedoch nicht signifikante Abnahme der Gehalte an Vitamin C (bezogen auf Frischmasse) beobachtet werden. Bei den grünen Früchten lag der Vitamin-C-Gehalt in der Frischmasse bei  $558 \pm 24$  mg/100 g und bei den roten Hagebutten bei  $535 \pm 13$  mg/100 g. Bezieht man die Gehalte jedoch auf die Trockenmasse, ist dieser Abfall signifikant (Laske, 2005).

In den Hagebuttenprodukten lagen die Gehalte an Vitamin C mit  $31,8 \pm 1,1$  mg/100 g FM (Hagebuttenmus) bis  $172,8 \pm 3,2$  mg/100 g FM (Hagebutten-Marmelade) deutlich unter den Gehalten der unverarbeiteten Hagebutten.

**Tabelle 19:** Gehalte an Vitamin C [mg/100 g FM] in Hagebuttenprodukten ( $\bar{x} \pm s$ ), Werte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ , einfaktorielle ANOVA, Tukey-HSD)

Hagebuttenprodukte	Vitamin C [mg/100 g FM]	Hagebuttenprodukte	Vitamin C [mg/100 g FM]
Hagebutten-Wildfrucht-Aufstrich	$50 \pm 5^{a,b}$	Hagebutten-Marmelade	$173 \pm 3^c$
Hagebutte Frucht & Honig	$75 \pm 4^{a,b}$	Hagebutten-Konfitüre	$113 \pm 7^{b,c}$
Hagebuttenmus	$32 \pm 1^a$	Fränkisches Hiffenmark	$140 \pm 4^{b,c}$
Wildfrucht Hagebuttenmark	$150 \pm 3^{b,c}$	Hiffenmark Hagebutten-Konfitüre extra	$146 \pm 6^{b,c}$

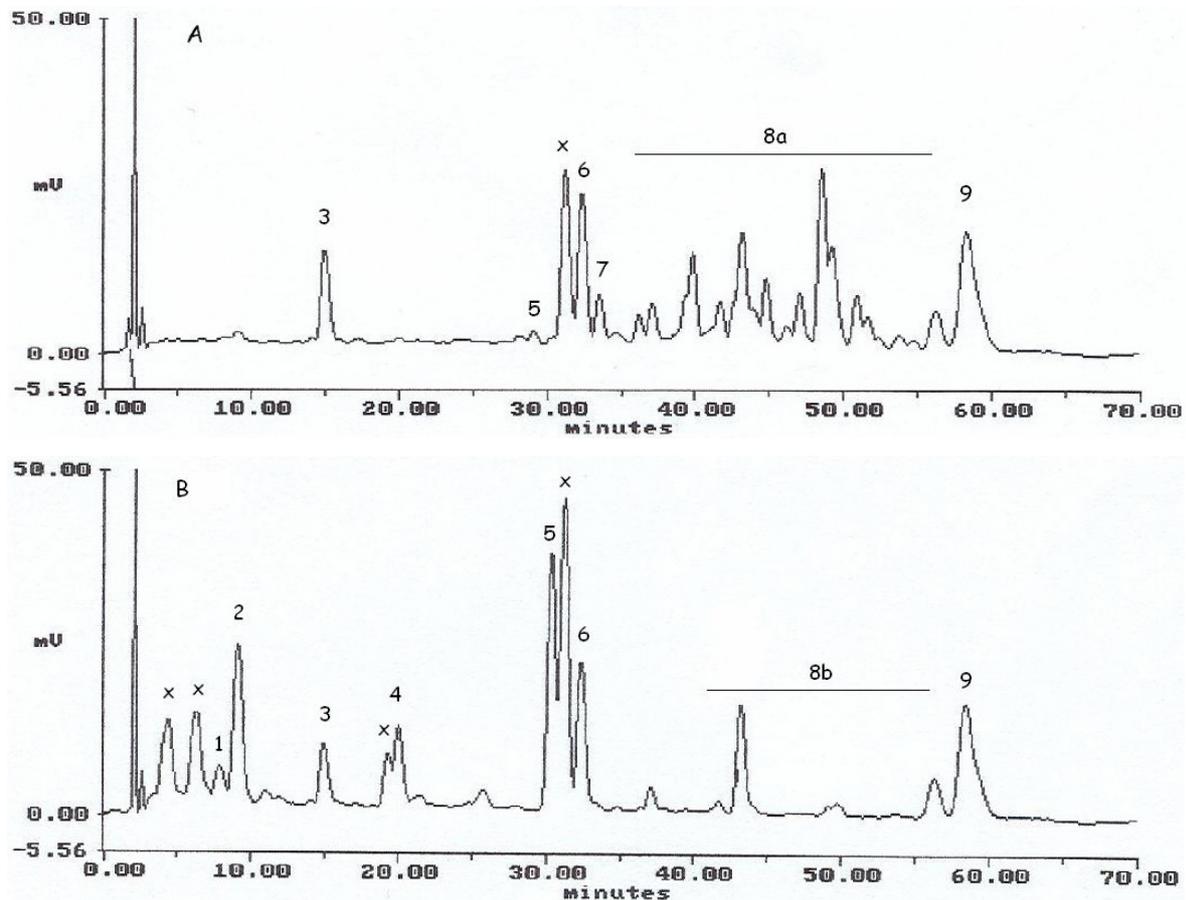
### Carotinoide

In den Früchten von Wildrosen konnte mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie unter Verwendung einer  $C_{30}$ -Säule eine Vielzahl von Carotinoiden inklusive ihrer stereoisomeren Formen getrennt werden (Abbildung 30). Im unverseiften Hagebuttenextrakt waren besonders im hinteren Chromatogrammteil ( $> 30$  min) eine Vielzahl von Peaks zu beobachten. Durch die Überlagerung von verschiedenen Xanthophyllestern und Lycopinisomeren in diesem Chromatogrammbereich erwies sich die Auswertung einzelner Carotinoidverbindungen, speziell der Lycopinisomere, als schwierig. Durch Verseifung der Hagebuttenextrakte konnten die störenden Xanthophyllester gespalten werden. Die Erhöhung der Peakflächen von Lutein, Zeaxanthin,  $\beta$ -Cryptoxanthin und Rubixanthin nach der Verseifung bewies, dass in Hagebutten u. a. Ester dieser Carotinoide vorkamen. Im verseiften Probenextrakt fand sich eine Erhöhung weiterer, bisher nicht genauer charakterisierter Peaks, was zeigte, dass zusätzlich zu den erwähnten Xanthophyllestern weitere Ester in Hagebutten vorhanden waren.

Obwohl die verwendete Verseifungsmethode optimiert wurde, kam es nicht nur zur Spaltung der Xanthophyllester sondern auch teilweise zum Abbau von Carotinoiden. Aus diesem Grund wurde das (*all-E*)-Lycopin im unverseiften Probenextrakt ausgewertet, während die Auswertung der (*Z*)-Lycopinisomere im verseiften Extrakt erfolgte. Die genaue Vorgehensweise und möglicherweise auftretende Probleme bei der Verseifung, sowie Analysenwerte aller detektierten Carotinoide von zwölf Hagebuttensorten sind in der Diplomarbeit von Juliane Hohbein ausführlich angegeben (Hohbein, 2007).

Von den fünfzehn untersuchten Hagebuttensorten waren bei den Früchten der Sorte *Rosa villosa* „duplex“ mit  $29,7 \pm 2,4$  mg/100 g TM die niedrigsten und bei der *Rosa tomentosa* mit  $85,7 \pm 2,4$  mg/100 g TM die höchsten (*Gesamt*)-Carotinoidgehalte zu beobachten. Zusätzlich zum Lycopin kamen in den Hagebuttenfrüchten u. a. Lutein, Zeaxanthin,  $\beta$ -Cryptoxanthin,  $\alpha$ -

Carotin,  $\beta$ -Carotin und Rubixanthin in teilweise verschiedenen isomeren Formen vor. Rubixanthin ist ein Carotinoid, welches nahezu ausschließlich in Hagebutten zu finden ist. Die höchsten Rubixanthingehalte wurden in der Sorte *Rosa glauca* ( $40,5 \pm 1,3$  mg/100 g TM) und die niedrigsten Gehalte in *Rosa corymbifera* ( $11,3 \pm 0,3$  mg/100 g TM) ermittelt.

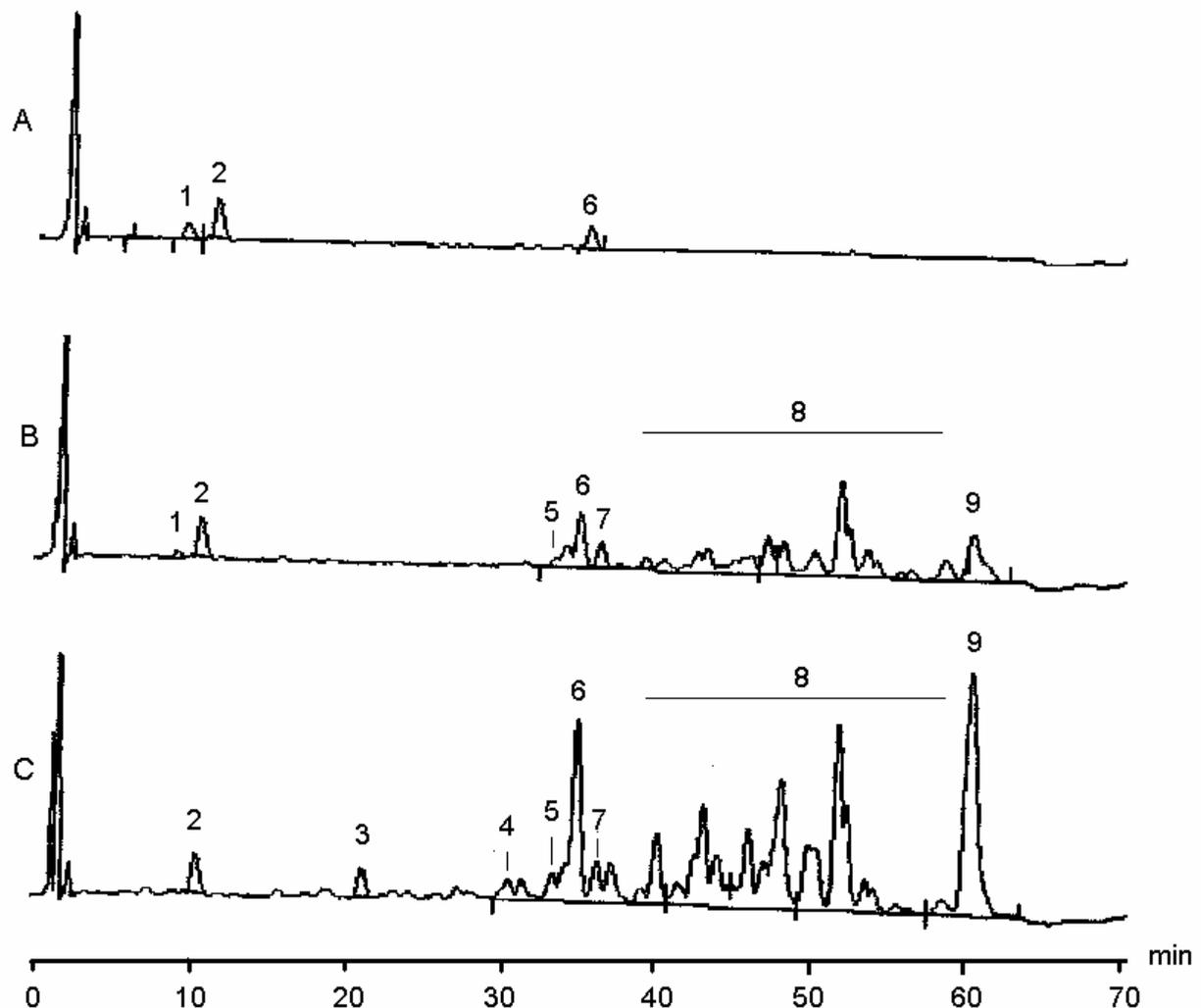


**Abbildung 30:** HPLC-Chromatogramme einer Carotinoidtrennung eines unverseiften Hagebuttenextraktes [A] und eines verseiften Hagebuttenextraktes [B]

1 = (*all-E*)-Lutein, 2 = (*all-E*)-Zeaxanthin, 3 =  $\beta$ -Apo-8'-Carotinal (IS), 4 = (*all-E*)- $\beta$ -Cryptoxanthin, 5 = (*all-E*)-Rubixanthin, 6 = (*all-E*)- $\beta$ -Carotin, 7 = (*9Z*)- $\beta$ -Carotin, 8a = Xanthophyllester, unidentifizierte Peaks und (*Z*)-Lycopinisomere, 8b = (*Z*)-Lycopinisomere, 9 = (*all-E*)-Lycopin, X = unidentifizierte Verbindungen

Um zu untersuchen, wie sich die Carotinoidzusammensetzung während der Fruchtreifung ändert, wurden grüne, orange und rote Früchte der Hagebuttenart *Rosa rugosa* auf ihre Carotinoidgehalte untersucht (Abbildung 31; Tabelle A 22). Dabei zeigten die einzelnen Carotinoide ein z. T. gegensätzliches Verhalten [siehe auch (Laske, 2005)]. Während Zeaxanthin bzw.  $\beta$ -Cryptoxanthin gering und  $\beta$ -Carotin, Lycopin und die Xanthophyllester bei der Verfärbung der Hagebutten von grün nach rot stark zunahmten, sank unverestertes Lutein während der Reifung signifikant ( $p < 0,05$ ) ab. Wie in Abbildung 31 ersichtlich, bildeten sich die Xanthophyllester schon zu Beginn der Reifungsperiode (von grün nach rot) und stiegen im Laufe der Reifung

(nach rot) weiter an. Der Gehalt an (*all-E*)-Lycopin schien sich dagegen hauptsächlich im späteren Teil der Reifeperiode zu erhöhen.



**Abbildung 31:** HPLC-Chromatogramme von Carotinoidtrennungen von unverseiften Extrakten A) grüner, B) oranger, C) roter Hagebutten (*Rosa rugosa*); gleiche Extraktkonzentration (2 g Probe auf 10 mL) eingesetzt

HPLC-Bedingungen: Trentec C30 (250 x 4,6 mm, 5 µm), 1,3 mL/min, Gradient aus Methanol und MTBE (siehe Tabelle A 6), 17 ± 1°C, 470 nm

1 = (*all-E*)-Zeaxanthin, 2 = β-Apo-8'-Carotinal (IS), 3 = (*all-E*)-β-Cryptoxanthin, 4 = (13Z)-β-Carotin, 5 = (*all-E*)-Rubixanthin, 6 = (*all-E*)-β-Carotin, 7 = (9Z)-β-Carotin, 8 = Xanthophyllester + (Z)-Lycopinisomere, 9 = (*all-E*)-Lycopin

Zusätzlich zu den unverarbeiteten Hagebutten wurden verschiedene im Handel erhältliche Hagebuttenprodukte untersucht. Relativ hohe Gehalte an Lycopin und β-Carotin sowie geringe Gehalte an Lutein, Zeaxanthin, β-Cryptoxanthin und α-Carotin konnten in Hagebuttenerzeugnissen quantifiziert werden. Xanthophyllester waren (mit Ausnahme der „Hagebutten-Marmelade“) nicht detektierbar. Lycopin war mit (*Gesamt*)-Lycopingehalten von 2,3 –

5,2 mg/100 g FM das mengenmäßig bedeutendste Carotinoid in den untersuchten Proben (Tabelle 20).

**Tabelle 20:** (*Gesamt*)-Carotinoidgehalte [ $\mu\text{mol}/100\text{ g FM}$ ], Gehalte an (*Gesamt*)-Lycopin und (*Gesamt*)- $\beta$ -Carotin [ $\text{mg}/100\text{ g FM}$ ] ( $\bar{x} \pm s$ ) sowie relative Anteile [%] der (*all-E*)-Isomere und der Summe der (*Z*)-Isomere am (*Gesamt*)-Lycopin- bzw. (*Gesamt*)- $\beta$ -Carotiningehalt in unterschiedlichen Hagebuttenprodukten

	<i>(Gesamt)</i> - Carotinoide [ $\mu\text{mol}/100\text{ g FM}$ ]	Lycopin		$\beta$ -Carotin	
		<i>(Gesamt)</i> -Lyc. [ $\text{mg}/100\text{ g FM}$ ]	<i>(all-E)</i> : $\Sigma$ ( <i>Z</i> ) [%]	<i>(Gesamt)</i> - $\beta$ -Car. [ $\text{mg}/100\text{ g FM}$ ]	<i>(all-E)</i> : $\Sigma$ ( <i>Z</i> ) [%]
Hagebutten- Wildfrucht-Aufstrich	6,52 $\pm$ 0,06	2,46 $\pm$ 0,23	60,2 : 39,8	0,75 $\pm$ 0,03	60,0 : 40,0
Hagebutte Frucht&Honig	10,96 $\pm$ 0,56	4,50 $\pm$ 0,06	67,3 : 32,7	0,95 $\pm$ 0,09	61,1 : 38,9
Hagebuttenmus	6,58 $\pm$ 0,12	2,32 $\pm$ 0,07	64,7 : 35,3	0,65 $\pm$ 0,07	63,1 : 36,9
Wildfrucht Hagebuttenmark	11,54 $\pm$ 0,36	5,18 $\pm$ 0,50	73,9 : 26,1	0,80 $\pm$ 0,08	70,0 : 30,0
Hagebutten- Marmelade	7,61 $\pm$ 0,09	2,47 $\pm$ 0,24	60,4 : 39,6	1,01 $\pm$ 0,10	49,6 : 50,4
Hagebutten- Konfitüre	6,41 $\pm$ 0,12	2,78 $\pm$ 0,22	57,1 : 42,8	0,62 $\pm$ 0,02	83,0 : 17,0
Fränkisches Hiffenmark	7,91 $\pm$ 0,05	3,75 $\pm$ 0,05	66,4 : 33,6	0,43 $\pm$ 0,02	92,1 : 7,9
Hiffenmark Hagebutten- Konfitüre extra	6,78 $\pm$ 0,23	3,20 $\pm$ 0,11	65,0 : 35,0	0,40 $\pm$ 0,01	89,7 : 10,3

#### 4.2.3 Weitere lycopinhaltige Lebensmittel

Wie aus Tabelle 21 ersichtlich, war Lycopin zusätzlich zu Tomaten- und Hagebuttenerzeugnissen auch in anderen Lebensmitteln wie z. B. in Sanddorn, Wassermelonen und Pink Grapefruits zu finden.

Die zwei untersuchten Sanddornöle zeigten mit  $94,03 \pm 6,21\text{ mg}/100\text{ g FM}$  bzw.  $31,14 \pm 0,69\text{ mg}/100\text{ g FM}$  beträchtlich hohe (*Gesamt*)-Lycopingehalte. Auffällig war die Lycopinisomerenverteilung dieser beiden Produkte. Das Sanddornöl 1 enthielt hauptsächlich (*Z*)-Lycopinisomere, wogegen im Sanddornöl 2 das (*all-E*)-Lycopin überwog (Tabelle 21). In Sanddorn-Fruchtaufstrich bzw. -säften lagen mit 0,96 - 1,65 mg/100 g FM signifikant niedrigere (*Gesamt*)-Lycopingehalte als im Sanddornöl vor. In den untersuchten Sanddornenerzeugnissen war mit Ausnahme der Probe „Sanddorn mit 25 % Tompinambur“ kein (*all-E*)-Lycopin detektierbar. Das Lycopin kam also in diesen Erzeugnissen ausschließlich in Form von bisher noch nicht genauer identifizierten (*Z*)-Isomeren vor. Zusätzlich war in allen untersuchten Sanddornenerzeugnissen  $\beta$ -Carotin enthalten (Daten nicht gezeigt).

In Proben von Wassermelonen und Pink Grapefruits waren Lycopingehalte zwischen 1,3 und 3,4 mg/100 g FM zu finden, wobei das Lycopin zu über 95 % als (*all-E*)-Lycopin vorlag (Tabelle 21). In den Wassermelonen und Pink Grapefruits konnten weiterhin  $\beta$ -Cryptoxanthin und  $\beta$ -Carotin detektiert werden (Daten nicht gezeigt).

**Tabelle 21:** (*Gesamt*)-Carotinoidgehalte [ $\mu\text{mol}/100\text{ g FM}$ ] und Gehalte an (*Gesamt*)-Lycopin [ $\text{mg}/100\text{ g FM}$ ] ( $\bar{x} \pm s$ ) sowie relative Anteile [%] des (*all-E*)-Lycopins und der Summe der (*Z*)-Lycopinisomere am (*Gesamt*)-Lycopin in verschiedenen Lebensmitteln

Probenart	( <i>Gesamt</i> )-Carotinoide [ $\mu\text{mol}/100\text{ g FM}$ ]	Lycopin	
		( <i>Gesamt</i> )-Lyc. [ $\text{mg}/100\text{ g FM}$ ]	( <i>all-E</i> ) : $\Sigma$ ( <i>Z</i> ) [%]
Sanddornöl 1	196,39 $\pm$ 9,98	94,03 $\pm$ 6,21	68,2 : 31,8
Sanddornöl 2	112,38 $\pm$ 2,16	31,14 $\pm$ 0,69	87,7 : 12,3
Sanddorn Wildfrucht-Aufstrich	3,22 $\pm$ 0,30	1,36 $\pm$ 0,13	75,4 : 24,6
Sanddorn mit 10 % Acerola	7,10 $\pm$ 0,43	2,07 $\pm$ 0,20	83,6 : 16,4
Sanddorn mit 35 % Honig	3,50 $\pm$ 0,28	0,96 $\pm$ 0,07	71,9 : 28,1
Sanddorn mit 25 % Topinambur	4,99 $\pm$ 0,21	1,65 $\pm$ 0,06	73,9 : 26,1
Wassermelone 1	3,61 $\pm$ 0,31	1,67 $\pm$ 0,15	95,2 : 4,8
Wassermelone 2	7,39 $\pm$ 0,38	3,45 $\pm$ 0,22	97,0 : 3,0
Pink Grapefruit 1	3,72 $\pm$ 0,21	1,34 $\pm$ 0,09	98,2 : 1,8
Pink Grapefruit 2	7,01 $\pm$ 0,45	3,11 $\pm$ 0,14	96,5 : 3,5

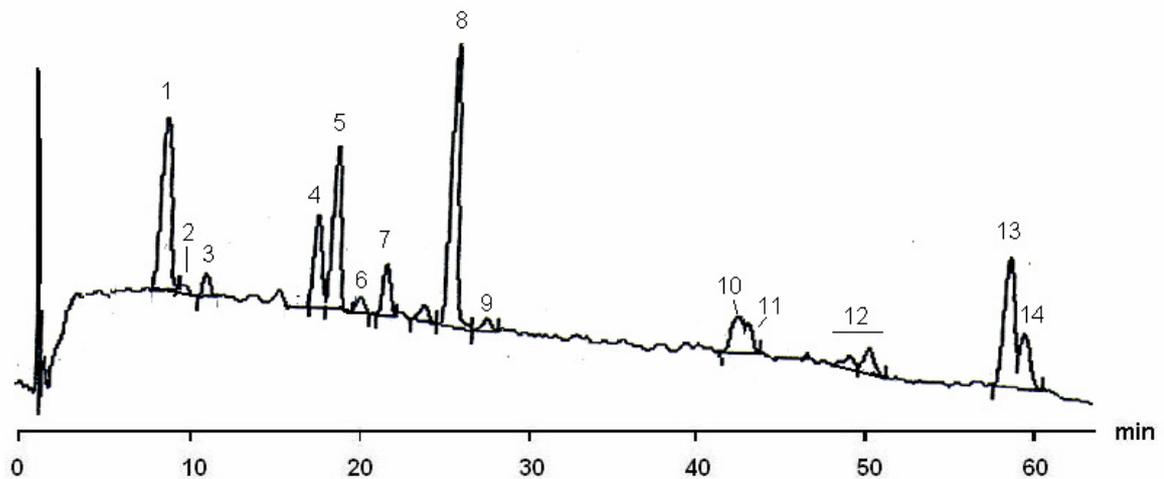
## 4.3 Humanstudien

### 4.3.1 Tomaten-Interventionsstudie

#### 4.3.1.1 Zusammensetzung des Interventionsmaterials

Die (*Gesamt*)- und (*all-E*)-Lycopingehalte, sowie die (*Gesamt*)-Tocopherol- und Ascorbinsäuregehalte der von den Probanden verzehrten Tomatenprodukte sind in Tabelle A 23 angegeben. Die frischen Tomaten wurden einmal wöchentlich gekauft. Zwischen den einzelnen Wochen schwankten die (*Gesamt*)-Lycopingehalte relativ stark (3,9 – 8,7 mg/100 g). Demzufolge mussten je nach (*Gesamt*)-Lycopingehalt der Tomaten unterschiedliche Mengen (145 – 320 g pro Tag) verzehrt werden. Die verschiedenen Chargen vom Tomatensaft bzw. -mark zeigten nicht so starke Unterschiede im Lycopingehalt. Zusätzlich zum Lycopin waren in den Tomaten und Tomatenprodukten (*all-E*)- $\beta$ -Carotin (0,2 – 0,8 mg/100 g) sowie geringe Mengen Lutein (< 0,08 mg/100 g) enthalten (Kaufmann, 2003).

### 4.3.1.2 Änderungen der Carotinoidgehalte im Plasma



**Abbildung 32:** HPLC-Chromatogramm eines Plasmaextraktes aus der Tomaten-Interventionsstudie nach vierwöchiger Intervention (T4) mit Tomaten

HPLC-Bedingungen: YMC C<sub>30</sub> (250 x 4,6 mm, 5 µm), 1,3 mL/min, Gradient aus Methanol und MTBE (siehe Tabelle A 8), 23 ± 1°C, 450 nm

1 = (*all-E*)-Lutein, 2 = (*all-E*)-Zeaxanthin, 3 = (*all-E*)-Canthaxanthin, 4 = (*all-E*)-β-Cryptoxanthin, 5 = Echinonen (IS), 6 = (*13Z*)-β-Carotin, 7 = (*all-E*)-α-Carotin, 8 = (*all-E*)-β-Carotin, 9 = (*9Z*)-β-Carotin, 10 = (*13Z*)-Lycopin, 11 = unidentif. (*Z*)-Lycopin, 12 = (*5Z,9'Z*)-+(*9Z*)-+(*5Z,9Z*)-Lycopin, 13 = (*all-E*)-Lycopin, 14 = (*5Z*)-Lycopin

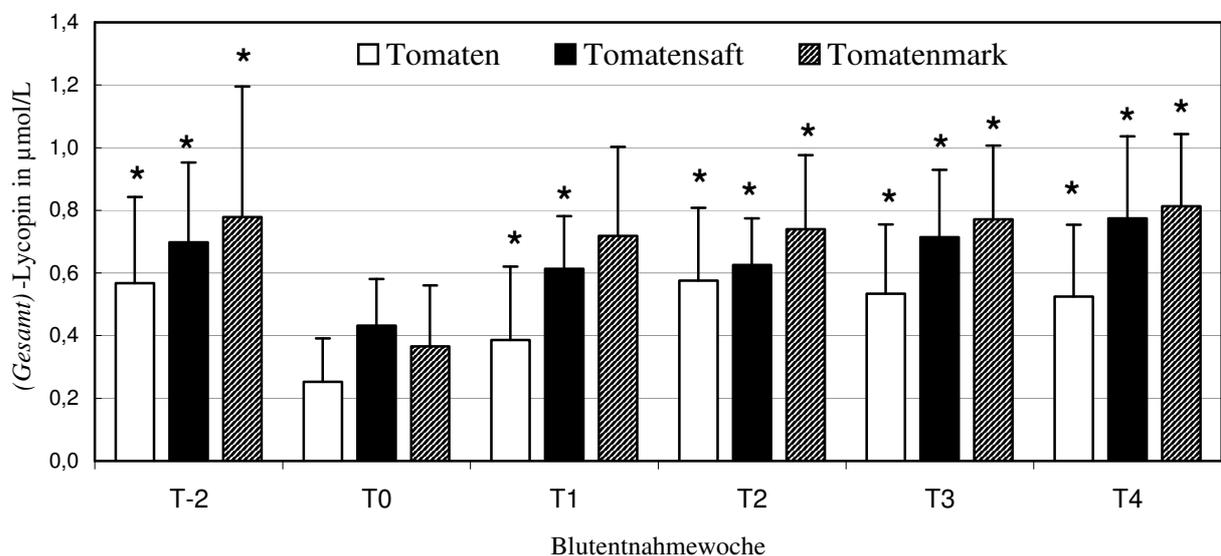
Ein repräsentatives HPLC-Chromatogramm einer Carotinoiddtrennung im Humanplasma ist in Abbildung 32 zu sehen. Folgende Carotinoide konnten detektiert und quantifiziert (Tabelle A 24, Tabelle A 26) werden: (*all-E*)-Lutein, (*all-E*)-Zeaxanthin, (*all-E*)-Canthaxanthin, (*all-E*)-β-Cryptoxanthin, (*all-E*)-/(*13Z*)-/(*9Z*)-β-Carotin, (*all-E*)-α-Carotin und (*all-E*)-Lycopin sowie unterschiedliche (*Z*)-Isomere des Lycopins. Die Lycopingehalte wurden zum einen als (*Gesamt*)-Lycopin angegeben, worunter die Summe aus (*all-E*)-, (*13Z*)-, (*5Z,9'Z*)-, (*9Z*)-, (*5Z,9Z*)-, (*5Z*)-Lycopin und noch nicht eindeutig identifizierten (*Z*)-Lycopinisomeren (siehe Kapitel 4.1.2) zu verstehen ist. Weiterhin wurden die Einzelgehälter der bisher eindeutig charakterisierten Isomere (*all-E*)-, (*13Z*)- und (*5Z*)-Lycopin angegeben, sowie aufgrund unzureichender Trennung und geringer Einzelkonzentrationen die Summe aus (*5Z,9'Z*)-, (*9Z*)- und (*5Z,9Z*)-Lycopin. Die z. Z. noch nicht eindeutig identifizierten Isomere wurden addiert und als „(*Z*), unidentif.“ bezeichnet (Tabelle A 24, 0).

#### (*Gesamt*)-Lycopin

Die Änderungen der (*Gesamt*)-Lycopingehälter im Plasma der Probanden sind in Abbildung 33 dargestellt. Die durchschnittlichen Ausgangsgehälter (T-2) lagen zwischen 0,57 µmol/L und 0,78 µmol/L und waren nicht signifikant verschiedenen ( $p > 0,05$ ) zwischen den drei Interventionsgruppen. Nach der zweiwöchigen Auswaschphase (T0), in welcher die Probanden auf lycopinhaltige Lebensmittel verzichteten, sanken die (*Gesamt*)-Lycopinkonzentrationen signi-

fikant ( $p < 0,05$ ) um 45 - 62 % ab. Zwischen den drei Interventionsgruppen gab es keine signifikanten Unterschiede in der Lycopin-Auswaschrates.

Während der Interventionsphase stiegen die Plasmagehalte in der Tomatengruppe von  $0,25 \pm 0,14 \mu\text{mol/L}$  auf  $0,39 \pm 0,23 \mu\text{mol/L}$  nach einer Woche (T1) des täglichen Verzehr von Tomaten signifikant ( $p < 0,05$ ) an. In der Tomatensaftgruppe war ebenfalls ein signifikanter Anstieg ( $p < 0,05$ ) nach einer Interventionswoche (T1) zu verzeichnen (von  $0,43 \pm 0,14 \mu\text{mol/L}$  auf  $0,61 \pm 0,17 \mu\text{mol/L}$ ). Während der nächsten drei Supplementationswochen blieben die Plasmagehalte in der Tomaten- und Tomatensaftgruppe annähernd gleich ( $p > 0,05$ ). Im Gegensatz dazu war während des Verzehr von Tomatenmark erst nach zwei Interventionswochen (T2) ein signifikanter Anstieg ( $p < 0,05$ ) des (*Gesamt*)-Lycopins von  $0,40 \pm 0,17 \mu\text{mol/L}$  auf  $0,72 \pm 0,28 \mu\text{mol/L}$  zu verzeichnen. Nach vier Wochen (T4) war für alle drei Interventionsgruppen ein vergleichbarer Anstieg ( $p < 0,05$ ) der (*Gesamt*)-Lycopingehalte im Plasma zu beobachten. Die Plasmagehalte lagen nach der vierwöchigen Interventionsphase (T4) bei  $0,53 - 0,81 \mu\text{mol/L}$  und zeigten in allen drei Gruppen keine signifikanten ( $p > 0,05$ ) Unterschiede zu den Plasmagehalten beim Studienbeginn (T-2).

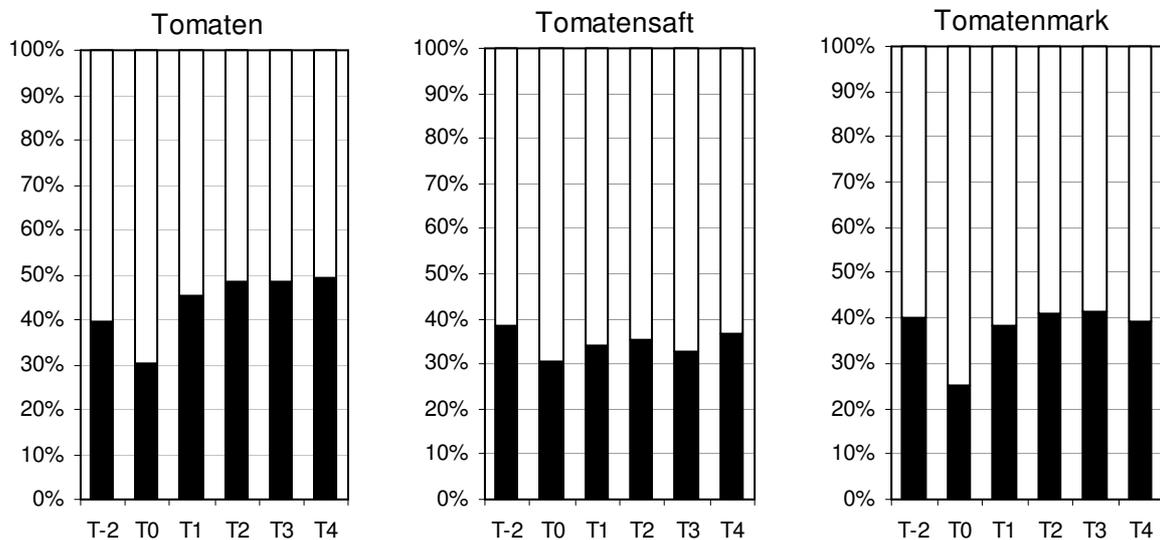


**Abbildung 33:** Änderungen der (*Gesamt*)-Lycopingehalte [ $\mu\text{mol/L}$ ] im Plasma der Probanden während der Tomaten-Interventionsstudie ( $\bar{x} + s$ ), mit \* bezeichnete Balken unterscheiden sich signifikant von T0 innerhalb einer Interventionsgruppe ( $p < 0,05$ , t-Test)

### Lycopinisomere

Lycopin wurde im Plasma der Probanden in verschiedenen isomeren Formen detektiert. Die Plasmagehalte der einzelnen Lycopinisomere sind im Anhang (Tabelle A 24) angegeben. Die

zwei Hauptlycopinisomere im Plasma der Probanden waren (*all-E*)- und (*5Z*)-Lycopin. Ab- und Zunahmen der Gehalte dieser beiden Isomere bedingten die Änderungen der (*Gesamt*)-Lycopingehalte während der gesamten Studie.



**Abbildung 34:** Änderungen der relativen Anteile [%] von (*all-E*)-Lycopin (■) und der Summe der (*Z*)-Lycopinisomere (□) am (*Gesamt*)-Lycopin im Plasma der Probanden während der Tomaten-Interventionsstudie

Während der Studie konnten Änderungen in den relativen prozentualen Anteilen der einzelnen Isomere am (*Gesamt*)-Lycopin beobachtet werden (Tabelle A 25). Das Verhältnis von (*all-E*)-Lycopin zu der Summe aller detektierbaren (*Z*)-Lycopinisomere wurde dafür genauer betrachtet (Abbildung 34). Das Isomerenverhältnis von (*Z*)-Lycopin zu (*all-E*)-Lycopin kehrte sich während der Studie bei allen drei Interventionsgruppen um. Zu Beginn der Studie (T-2) war das Verhältnis von (*Z*):(*all-E*) etwa 60:40. Während der zweiwöchigen Auswaschphase, in welcher die Probanden sich lycopinarm ernährten, änderte sich das Isomerenverhältnis zu Gunsten der (*Z*)-Isomere. Der prozentuale Anteil an (*all-E*)-Lycopin sank nach der Auswaschphase (T0) auf 25 - 30 % des (*Gesamt*)-Lycopins und demzufolge stieg der Anteil an (*Z*)-Lycopinisomeren auf 70 – 75 %. Nach der vierwöchigen Interventionsphase (T4) kehrte das Isomerenverhältnis bei der Tomatensaftgruppe (63 % (*Z*), 37 % (*all-E*)) und bei der Tomatenmarkgruppe (61 % (*Z*), 39 % (*all-E*)) ungefähr wieder zu den Isomerenverhältnis bei Studienbeginn (T-2) zurück. Nach der vierwöchigen täglichen Aufnahme von rohen Tomaten lag das Plasmalycopin zu 50 % als (*Z*)-Lycopin und zu 50 % als (*all-E*)-Lycopin vor.

### Weitere Carotinoide

Der Plasmagehalt an (*Gesamt*)-Carotinoiden lag durchschnittlich bei  $2,48 \pm 0,38 \mu\text{mol/L}$  ( $1,98 - 3,06 \mu\text{mol/L}$ ).  $\beta$ -Carotin war, gefolgt von Lycopin ( $24,5 \pm 6,2 \%$ ), mit  $36,6 \pm 3,1 \%$  des (*Gesamt*)-Carotinoidgehaltes das mengenmäßig am häufigsten vorkommende Carotinoid im Plasma der Probanden (Tabelle 22).

**Tabelle 22:** Relative Anteile [%] der einzelnen Carotinoide am (*Gesamt*)-Carotinoidgehalt im Plasma der Probanden der Tomaten-Interventionsstudie

Carotinoid	Anteile am ( <i>Gesamt</i> )-Carotinoidgehalt <sup>1</sup>		
	$\bar{x} \pm s$	Min	Max
( <i>Gesamt</i> )- $\beta$ -Carotin <sup>2</sup>	$36,6 \pm 3,1$	32,2	43,8
( <i>Gesamt</i> )-Lycopin	$24,5 \pm 6,2$	12,3	35,0
( <i>all-E</i> )- $\alpha$ -Carotin	$11,5 \pm 3,1$	6,6	15,7
( <i>all-E</i> )-Lutein	$10,7 \pm 1,3$	8,8	12,7
( <i>all-E</i> )- $\beta$ -Cryptoxanthin	$9,8 \pm 2,2$	7,1	13,6
( <i>all-E</i> )-Zeaxanthin	$3,8 \pm 1,8$	2,0	6,5
( <i>all-E</i> )-Canthaxanthin	$3,1 \pm 0,4$	2,4	3,7

<sup>1</sup> (*Gesamt*)-Carotinoidgehalt: Summe aus Gehalten an (*all-E*)-Lutein, (*all-E*)-Zeaxanthin, (*all-E*)-Canthaxanthin, (*all-E*)- $\beta$ -Cryptoxanthin, (*all-E*)- $\alpha$ -Carotin, (*all-E*)- $\beta$ -Carotin, (*13Z*)- $\beta$ -Carotin, (*9Z*)- $\beta$ -Carotin, (*Gesamt*)-Lycopin

<sup>2</sup> (*Gesamt*)- $\beta$ -Carotin: Summe aus Gehalten an (*all-E*)- $\beta$ -Carotin, (*13Z*)- $\beta$ -Carotin, (*9Z*)- $\beta$ -Carotin

Die durchschnittlichen Gehalte an (*all-E*)-Lutein, (*all-E*)-Zeaxanthin, (*all-E*)-Canthaxanthin, (*all-E*)- $\beta$ -Cryptoxanthin, (*all-E*)- $\alpha$ -Carotin, (*all-E*)- $\beta$ -Carotin, (*13Z*)- $\beta$ -Carotin und (*9Z*)- $\beta$ -Carotin im Plasma der Probanden der Tomaten-Interventionsstudie sind in Tabelle A 26 angegeben. Keines dieser Carotinoide zeigte eine signifikante Änderung ( $p > 0,05$ ) als Folge des täglichen Verzehrs von Tomaten, Tomatensaft bzw. Tomatenmark.

#### 4.3.1.3 Änderungen der Vitamin-E-Gehalte im Plasma

Die (*Gesamt*)-Tocopherolgehalte (Tabelle A 27) lagen in der Tomatengruppe durchschnittlich bei  $22,5 \pm 4,8 \mu\text{mol/L}$ , in der Tomatensaftgruppe bei  $29,8 \pm 5,3 \mu\text{mol/L}$  und in der Tomatenmarkgruppe bei  $21,2 \pm 5,1 \mu\text{mol/L}$ .  $\alpha$ -Tocopherol ( $14,0 - 36,8 \mu\text{mol/L}$ ) war mit einem Anteil am (*Gesamt*)-Tocopherolgehalt von etwa 95 % das Hauptvitamer im Plasma aller Probanden. Weiterhin konnten  $\beta$ -Tocopherol ( $0,05 - 0,5 \mu\text{mol/L}$ ) und  $\gamma$ -Tocopherol ( $0,2 - 1,9 \mu\text{mol/L}$ ) detektiert werden (Daten nicht gezeigt). Während der gesamten Studiendauer waren die Tocopherolgehalte (speziell  $\alpha$ - und  $\beta$ -Tocopherol) im Plasma der Tomatensaftgruppe signifikant höher als die Gehalte in der Tomaten- bzw. Tomatenmarkgruppe. Jedoch konnten in keiner der drei Interventionsgruppen signifikante Änderungen der Tocopherol-Plasmagehalte während des gesamten Studienverlaufes beobachtet werden.

#### 4.3.1.4 Änderungen der Vitamin-C-Gehalte im Plasma

Die Gehalte an Vitamin C im Plasma der Probanden der Tomaten-Interventionsstudie sind in Tabelle A 27 angegeben. Die Durchschnittsgehalte lagen in der Tomatengruppe bei  $91,0 \pm 5,4 \mu\text{mol/L}$  ( $58,9 - 139,0 \mu\text{mol/L}$ ), in der Tomatensaftgruppe bei  $92,1 \pm 5,1 \mu\text{mol/L}$  ( $57,7 - 117,5 \mu\text{mol/L}$ ) und in der Tomatenmarkgruppe bei  $87,1 \pm 8,6 \mu\text{mol/L}$  ( $36,1 - 127,4 \mu\text{mol/L}$ ). Weder der Verzicht auf lycopinhaltige Lebensmittel (Auswaschphase) noch der tägliche Verzehr von Tomaten, Tomatensaft bzw. Tomatenmark (Interventionsphase) führten zu signifikanten Änderungen der Vitamin-C-Plasmagehalte.

#### 4.3.1.5 Änderungen der Triglyceridgehalte im Plasma

Obwohl die Blutabnahmen im nüchternen Zustand der Probanden erfolgten, schwankten die Triglyceridgehalte zwischen den einzelnen Probanden und Blutabnahmezeitpunkten sehr stark ( $25 - 220 \text{ mg/dL}$ ). In keiner Interventionsgruppe konnten signifikante Änderungen im Triglyceridstatus der Probanden beobachtet werden, welche durch den Verzicht auf lycopinhaltige Lebensmittel bzw. den Verzehr der Tomaten bzw. Tomatenprodukte bedingt waren (Tabelle A 27).

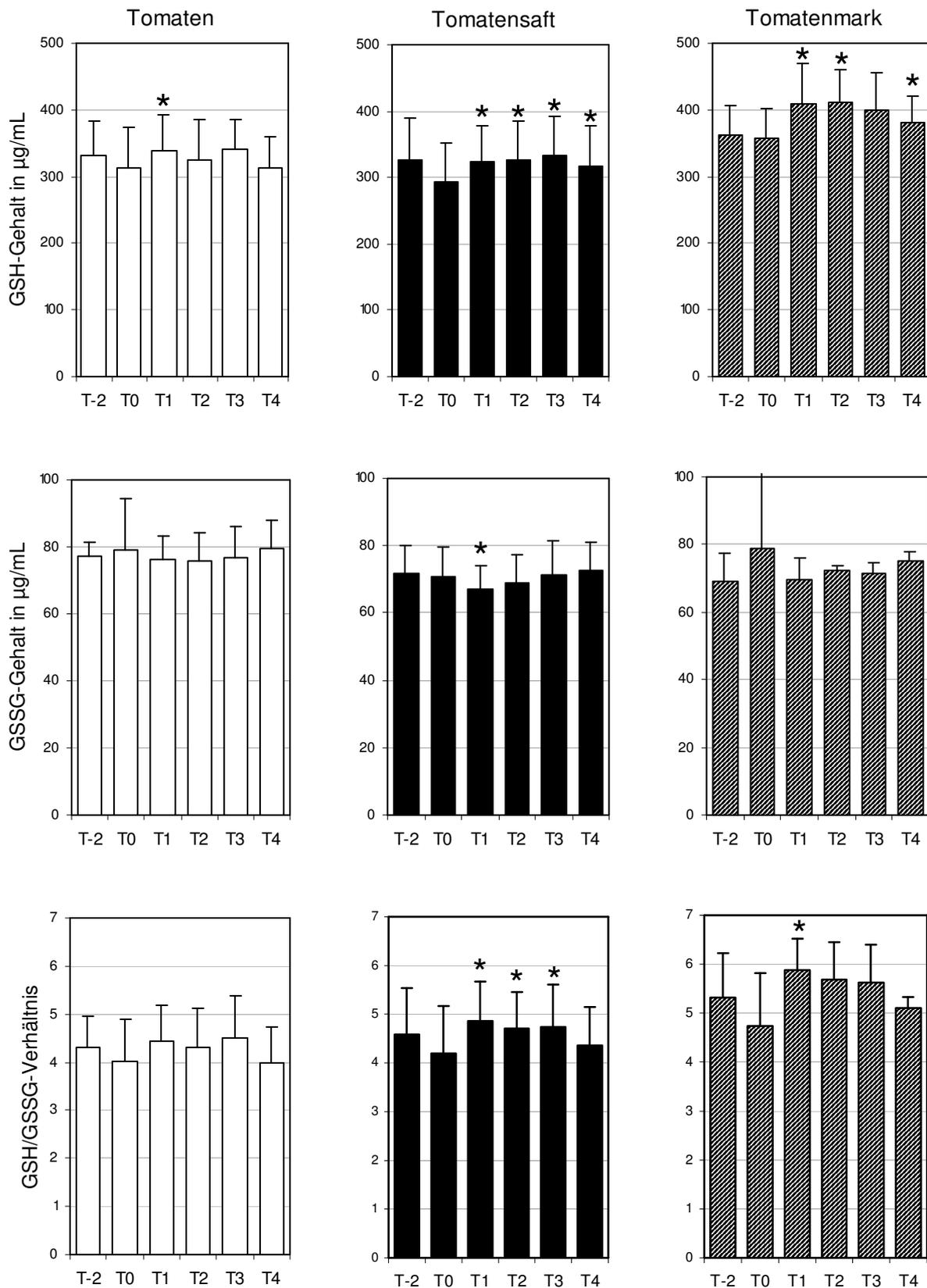
#### 4.3.1.6 Änderungen des antioxidativen Status im Vollblut

Die Einflüsse des vierwöchigen täglichen Verzehrs von Tomaten, Tomatensaft bzw. Tomatenmark auf die antioxidative Aktivität wurden anhand der Gehalte an reduziertem und oxidiertem Glutathion (GSH, GSSG) sowie an Lipidperoxidationsprodukten (TBARS) im Vollblut geprüft (Tabelle A 27).

#### **Glutathionstatus**

Die verminderte Lycopinzufuhr während der zweiwöchigen Auswaschphase zeigte in keiner Interventionsgruppe einen Einfluss auf den Blutglutathionstatus (GSH, GSSG, GSH/GSSG-Verhältnis) der Probanden (Abbildung 35). Während der gesamten Studiendauer waren die durchschnittlichen GSH-Spiegel in der Tomatenmarkgruppe signifikant höher ( $p < 0,05$ ) als die GSH-Spiegel in der Tomaten- bzw. Tomatensaftgruppe. Während der vierwöchigen Supplementationsphase (T4) stiegen die GSH-Gehalte im Blut in der Tomatensaftgruppe von  $295 \pm 58 \mu\text{g/mL}$  auf  $317 \pm 61 \mu\text{g/mL}$  und in der Tomatenmarkgruppe von  $356 \pm 45 \mu\text{g/mL}$  auf  $382 \pm 40 \mu\text{g/mL}$  signifikant ( $p < 0,05$ ) an. Dagegen war in der Tomatengruppe kein signifikanter Anstieg feststellbar (T0:  $313 \pm 60 \mu\text{g/mL}$ , T4:  $314 \pm 47 \mu\text{g/mL}$ ). Im Gegensatz zum

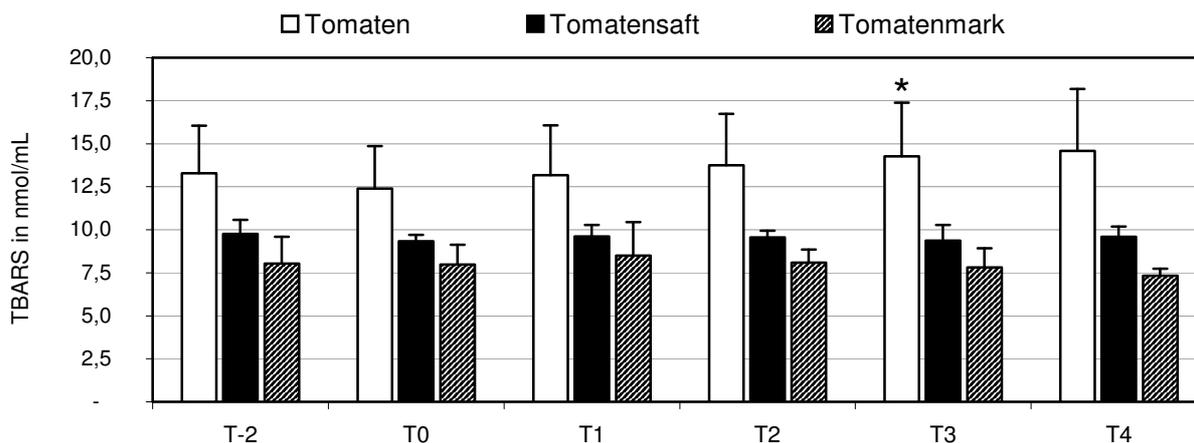
reduzierten Glutathion (GSH) konnten bei der oxidierten Form des Glutathions (GSSG) in keiner der drei Interventionsgruppen signifikante Änderungen ( $p > 0,05$ ) der Gehalte im Blut infolge des Verzehrs von Tomatenerzeugnissen beobachtet werden. Die GSSG-Gehalte im Blut der einzelnen Probanden schwankten zwischen  $55 \mu\text{g/mL}$  und  $120 \mu\text{g/mL}$ . Im Hinblick auf die GSH/GSSG-Verhältnisse waren die signifikanten Änderungen nicht so deutlich ausgeprägt wie bei den GSH-Gehalten. Das GSH/GSSG-Verhältnis änderte sich in der Tomatengruppe während der gesamten Studiendauer nicht signifikant. Dagegen war sowohl in der Tomatensaft- als auch in der Tomatenmarkgruppe ein signifikant höherer Wert ( $p < 0,05$ ) des Verhältnisses nach der ersten Supplementationswoche (T1) zu verzeichnen. Mit längerer Supplementationszeit sank jedoch der GSH/GSSG-Wert wieder ab und war in beiden Gruppen nach der vierten Supplementationswoche (T4) nicht mehr signifikant unterschiedlich ( $p > 0,05$ ) zu den Werten vor Beginn der Supplementationszeit (T0).



**Abbildung 35:** Änderungen der Gehalte [ $\mu\text{g/mL}$ ] an GSH, GSSG sowie der GSH/GSSG-Verhältnisse im Vollblut der Probanden während der Tomaten-Interventionsstudie ( $\bar{x} + s$ ), mit \* bezeichnete Balken unterscheiden sich signifikant von T0 innerhalb einer Interventionsgruppe ( $p < 0,05$ , t-Test)

### Lipidperoxidationsprodukte (TBARS)

Die TBARS-Werte der Tomatengruppe lagen während des gesamten Studienzeitraums mit durchschnittlich  $13,6 \pm 0,4$  mmol/L über den Werten der Tomatensaftgruppe ( $9,5 \pm 0,2$  mmol/L) bzw. der Tomatenmarkgruppe ( $8,0 \pm 0,6$  mmol/L). Weder in der Auswaschphase noch in der Interventionsphase zeigten die Gehalte an Lipidperoxidationsprodukten (TBARS) im Vollblut der Probanden aller drei Gruppen signifikante Veränderungen (Abbildung 36).



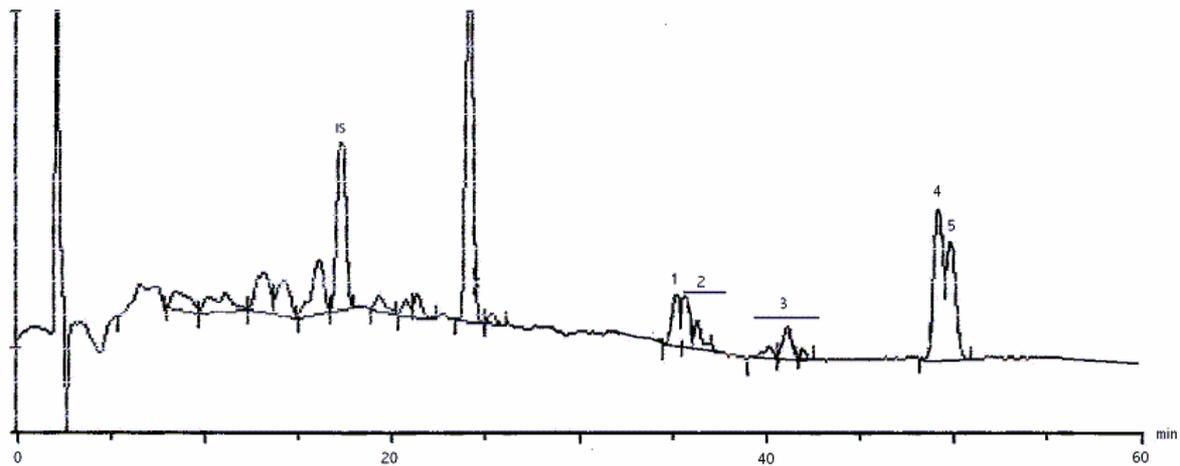
**Abbildung 36:** Änderungen der Gehalte an Lipidperoxidationsprodukten (TBARS) [nmol/mL] ( $\bar{x} + s$ ), mit \* bezeichnete Balken unterscheiden sich signifikant von T0 innerhalb einer Interventionsgruppe ( $p < 0,05$ , t-Test)

### 4.3.2 Raucher-Interventionsstudie

Die mittleren Gehalte an Lycopin, (*Gesamt*)-Tocopherolen, Vitamin C und Triglyceriden im Plasma sowie die Gehalte an GSH, GSSG und TBARS im Vollblut sind vom Raucher-Kollektiv im Anhang Tabelle A 28 und vom Nichtraucher-Kontroll-Kollektiv (Tomatenmarkgruppe der Tomaten-Interventionsstudie) im Anhang Tabelle A 24 und Tabelle A 27 zu finden.

#### 4.3.2.1 Änderungen der Lycopingehalte im Plasma

Ein repräsentatives HPLC-Chromatogramm einer Carotinoidtrennung im Humanplasma eines Rauchers ist in Abbildung 37 zu sehen. Die Lycopingehalte wurden als (*Gesamt*)-Lycopin angegeben, worunter die Summe aller detektierten Lycopinisomere zu verstehen ist.



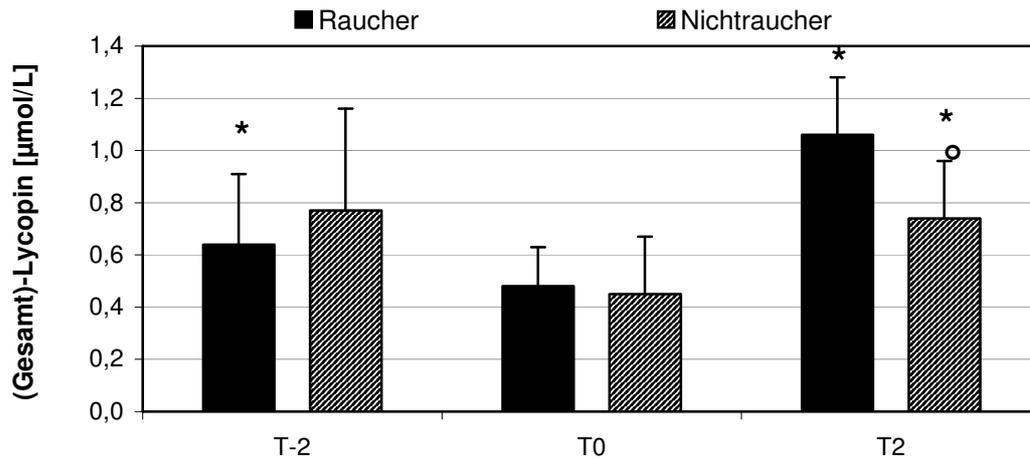
**Abbildung 37:** HPLC-Chromatogramm eines Plasmaextraktes aus der Raucher-Interventionsstudie nach zweiwöchiger Intervention (T2) mit Tomatenmark

HPLC-Bedingungen: YMC C30 (250 x 4,6 mm, 5 µm), 0,9 mL/min, Gradient aus Methanol und MTBE (siehe Tabelle A 9), 23 ± 1°C, 470 nm

IS = Echinenon (interner Standard), 1 = (13Z)-Lycopin, 2 = unidentif. (Z)-Lycopinisomere, 3 = (5Z,9Z)-+(9Z)-+(5Z,9Z)-Lycopin, 4 = (*all-E*)-Lycopin, 5 = (5Z)-Lycopin

### **(Gesamt)-Lycopin**

Die Ausgangsgehalte (T-2) an (*Gesamt*)-Lycopin (Abbildung 38) im Plasma der Rauchergruppe ( $0,64 \pm 0,27 \mu\text{mol/L}$ ) unterschieden sich nicht signifikant von den Plasmagehalten der Nichtrauchergruppe ( $0,78 \pm 0,39 \mu\text{mol/L}$ ). Während der zweiwöchigen Auswaschphase sanken die Plasmalycopingehalte bei den Rauchern um 75 % und bei den Nichtrauchern um 58 %. Obwohl alle Probanden täglich eine vergleichbare Menge Lycopin zu sich nahmen, waren nach der zweiwöchigen Supplementationsphase (T2) in der Rauchergruppe signifikant ( $p < 0,05$ ) höhere (*Gesamt*)-Lycopingehalte ( $1,06 \pm 0,22 \mu\text{mol/L}$ ) im Vergleich zu den Ausgangswerten (T-2) zu beobachten. Im Gegensatz dazu waren bei den Nichtrauchern die Plasmalevel nach der zweiwöchigen Aufnahme von Tomatenmark ( $0,74 \pm 0,22 \mu\text{mol/L}$ ) vergleichbar mit den Plasmagehalten zum Studienbeginn ( $0,77 \pm 0,39 \mu\text{mol/L}$ ).

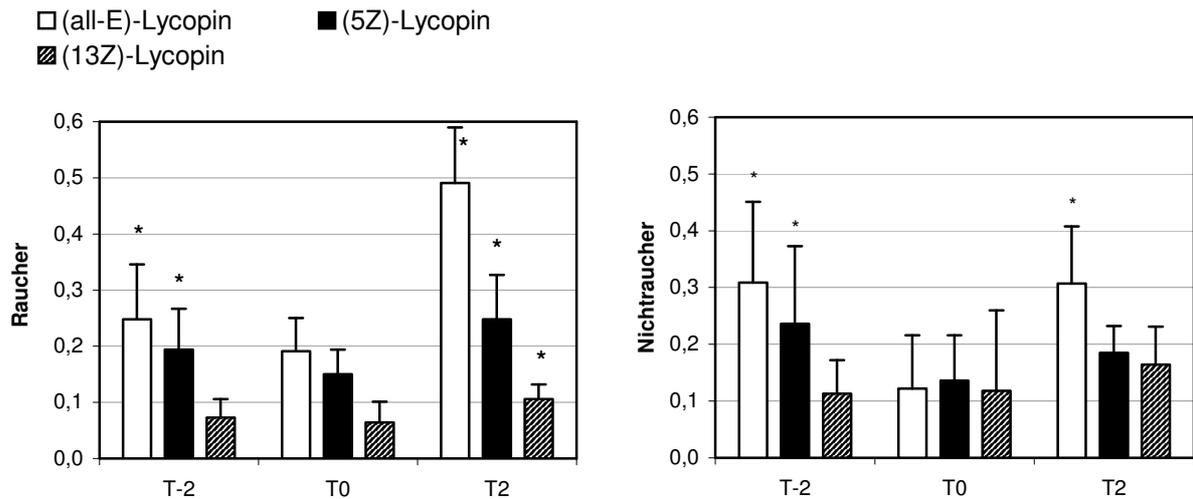


**Abbildung 38:** Unterschiede in den (Gesamt)-Lycopingehalten [ $\mu\text{mol/L}$ ], ( $\bar{x} + s$ ) zwischen Rauchern und Nichtrauchern während der Raucher-Interventionsstudie,

mit \* bezeichnete Balken unterscheiden sich signifikant von T0 innerhalb einer Studiengruppe ( $p < 0,05$ , t-Test), mit ° bezeichnete Balken unterschieden sich signifikant zwischen Rauchern und Nichtrauchern ( $p < 0,05$ , t-Test)

### Lycopinisomere

Die Lycopinisomerenverhältnisse (Abbildung 39) waren zu Beginn der Studie (T-2) zwischen Rauchern und Nichtrauchern nicht signifikant unterschiedlich. Bei den Nichtrauchern kehrte sich das Isomerenverhältnis von (*all-E*)- und (*5Z*)-Lycopin während der Studienperiode um (siehe auch Kapitel 4.3.1.2). Dieses Phänomen konnte jedoch im Plasma der Raucher nicht beobachtet werden. Die Rauchergruppe zeigte nach der Supplementation (T2) signifikant ( $p < 0,05$ ) höhere Plasmagehalte an (*all-E*)-Lycopin ( $0,49 \pm 0,10 \mu\text{mol/L}$ ) und (*5Z*)-Lycopin ( $0,25 \pm 0,08 \mu\text{mol/L}$ ) im Vergleich zu den Ausgangswerten (T-2), aber auch im Vergleich zu den Gehalten nach der Supplementation (T2) in der Nichtrauchergruppe ( $0,31 \pm 0,10 \mu\text{mol/L}$  bzw.  $0,19 \pm 0,05 \mu\text{mol/L}$ ). Im Gegensatz dazu waren die (*13Z*)-Lycopingehalte am Studienende bei den Rauchern signifikant niedriger ( $p < 0,05$ ) als die Gehalte bei den Nichtrauchern.



**Abbildung 39:** Unterschiede in den Gehalten an ausgewählten Lycopinisomeren [ $\mu\text{mol/L}$ ], ( $\bar{x} + s$ ) bei Rauchern und Nichtrauchern während der Raucher-Interventionsstudie, mit \* bezeichnete Balken unterscheiden sich signifikant von T0 innerhalb eines Isomers ( $p < 0,05$ , t-Test)

### Lycopinoxidationsprodukte

Nur ein Oxidationsprodukt des Lycopins, das 2,6-Cyclolycopin-1,5-diol, konnte im Plasma der Raucher detektiert, jedoch nicht quantifiziert werden. Diese Verbindung war auch schon im verzehrten Tomatenmark zu finden. Andere Oxidationsmetabolite des Lycopins konnten im Plasma der Raucher nicht detektiert werden.

#### 4.3.2.2 Änderungen der Vitamin-E- und Vitamin-C-Gehalte im Plasma

##### Vitamin E

Zwischen der Raucher- und der Nichtrauchergruppe wurden keine signifikanten ( $p < 0,05$ ) Unterschiede in den (*Gesamt*)-Tocopherolgehalten im Plasma festgestellt. Die Ausgangslevel (T-2) im Plasma der Raucher ( $26,5 \pm 4,0 \mu\text{mol/L}$ ) waren tendentiell ( $p > 0,05$ ) höher als die Gehalte im Plasma der Nichtraucher ( $22,3 \pm 4,6 \mu\text{mol/L}$ ). Sie sanken in der Auswaschphase in der Rauchergruppe signifikant ( $p < 0,05$ ), während sie sich in der Nichtrauchergruppe nicht veränderten. Nach der zweiwöchigen Supplementationsphase (T2) waren die (*Gesamt*)-Tocopherolkonzentrationen im Plasma der Raucher vergleichbar mit den zu Studienbeginn (T-2) vorliegenden Werten.

##### Vitamin C

In Hinblick auf die Vitamin-C-Gehalte im Plasma wurden ebenfalls keine signifikanten ( $p < 0,05$ ) Unterschiede zwischen Raucher- und Nichtrauchergruppe festgestellt. Zu Beginn der

Studie (T-2) lagen die mittleren Ascorbinsäuregehalte der Raucher ( $82 \pm 14 \mu\text{mol/L}$ ) tendenziell ( $p > 0,05$ ) niedriger als die Gehalte der Nichtraucher ( $87 \pm 26 \mu\text{mol/L}$ ). In beiden Studiengruppen wurden weder während der Auswasch- noch während der Supplementationsphase signifikante Veränderungen der mittleren Vitamin-C-Konzentrationen im Plasma beobachtet.

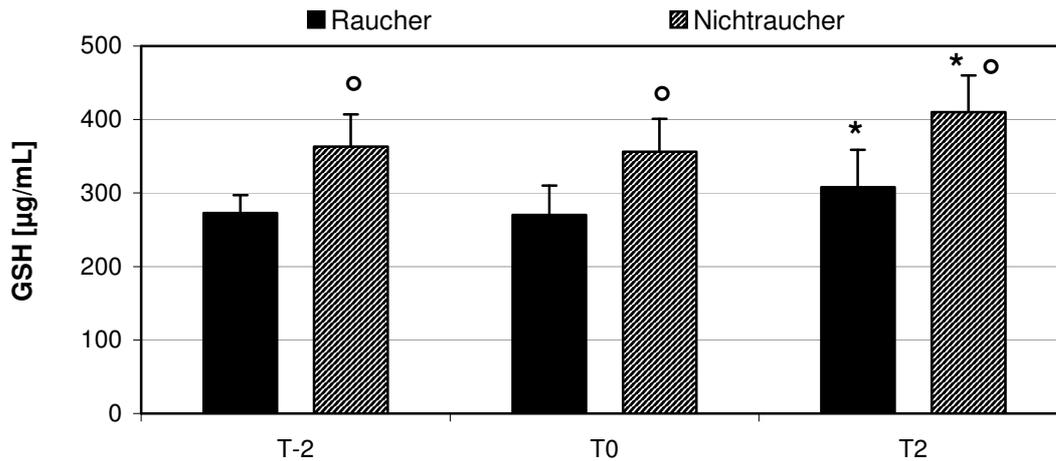
#### 4.3.2.3 Änderungen der Triglyceridgehalte im Plasma

Die Konzentrationen der Triglyceride im Plasma der Raucher und Nichtraucher veränderten sich nicht signifikant ( $p > 0,05$ ) während der gesamten Studiendauer. Zwischen den beiden Studiengruppen wurden ebenfalls keine signifikanten Unterschiede beobachtet.

#### 4.3.2.4 Änderungen des antioxidativen Status´ im Vollblut

##### **Glutathionstatus**

Die Ausgangsgehalte (T-2) an reduzierten Glutathion (GSH) im Blut waren in der Nichtrauchergruppe ( $363 \pm 44 \mu\text{g/mL}$ ) signifikant ( $p < 0,05$ ) höher als in der Rauchergruppe ( $273 \pm 24 \mu\text{g/mL}$ ). Während der Auswaschphase veränderten sich die GSH-Konzentrationen nicht signifikant. Jedoch war in beiden Studiengruppen während der zweiwöchigen Supplementation mit Tomatenmark ein vergleichbarer signifikanter ( $p < 0,05$ ) Anstieg (um etwa 15 %) zu beobachten (Abbildung 40). Im Gegensatz zu den GSH-Gehalten waren die Blutkonzentrationen an oxidiertem Glutathion (GSSG) in der Nichtrauchergruppe ( $69 \pm 8 \mu\text{g/mL}$ ) signifikant ( $p < 0,05$ ) niedriger im Vergleich zur Rauchergruppe ( $84 \pm 6 \mu\text{g/mL}$ ). Daraus resultierte mit  $5,3 \pm 0,9$  ein höheres GSH/GSSG-Verhältnis bei den Nichtrauchern im Vergleich zu den Rauchern ( $3,3 \pm 0,1$ ) beim Beginn der Studie (T-2). In beiden Studiengruppen hatte weder die lycopinarne Ernährung während der Auswaschphase noch der tägliche Konsum von Tomatenmark einen Einfluss auf die Blutgehalte an GSSG. Das GSH/GSSG-Verhältnis zeigte ebenfalls keine signifikanten Veränderungen während der Auswaschphase, jedoch einen Anstieg während der Supplementationsphase. Diese Änderung war jedoch nur bei der Rauchergruppe signifikant ( $p < 0,05$ ).



**Abbildung 40:** Unterschiede in den GSH-Gehalten [ $\mu\text{g/mL}$ ], ( $\bar{x} + s$ ) zwischen Rauchern und Nichtrauchern während der Raucher-Interventionsstudie, mit \* bezeichnete Balken unterscheiden sich signifikant von T0 innerhalb einer Interventionsgruppe ( $p < 0,05$ , t-Test), mit ° bezeichnete Balken zeigen unterscheiden sich signifikant zwischen Rauchern und Nichtrauchern ( $p < 0,05$ , t-Test)

### Lipidperoxidationsprodukte (TBARS)

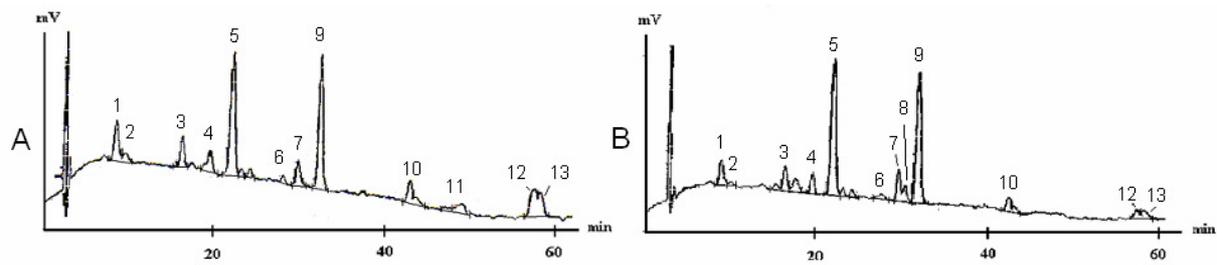
Die Blutgehalte an Lipidperoxidationsprodukten, gemessen als Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen (TBARS) veränderten sich sowohl in der Nichtrauchergruppe als auch in der Rauchergruppe während des gesamten Studienverlaufes nicht signifikant ( $p < 0,05$ ). Zwischen den beiden Studiengruppen wurden ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in den Gehalten an Lipidperoxidationsprodukten beobachtet.

### 4.3.3 Hagebutten-Interventionsstudien

Die einzelnen Analysendaten (Carotinoide, Vitamin C, Vitamin E im Hagebuttenmark bzw. Plasma) der beiden nachfolgenden Studien sind in den Diplomarbeiten von Grit Laske (Hagebutten-Interventionsstudie I) und Juliane Hohbein (Hagebutten-Interventionsstudie II) zu finden (Laske, 2005; Hohbein, 2007).

#### 4.3.3.1 Hagebutten-Interventionsstudie I

Repräsentative HPLC-Chromatogramme von Carotinoidtrennungen im Humanplasma vor (T0) und nach (T4) der Supplementation mit Hagebuttenmark (HM 0) sind in Abbildung 41 zu sehen. Die Lycopingehalte wurden als (*Gesamt*)-Lycopin angegeben, worunter die Summe aller detektierten Lycopinisomere zu verstehen ist.



**Abbildung 41:** HPLC-Chromatogramme von Plasmaextrakten aus der Hagebutten-Interventionsstudie I [A] vor Supplementationsbeginn (T0) und [B] nach der vierwöchigen Intervention (T4) mit Hagebuttenmark (HM 0)

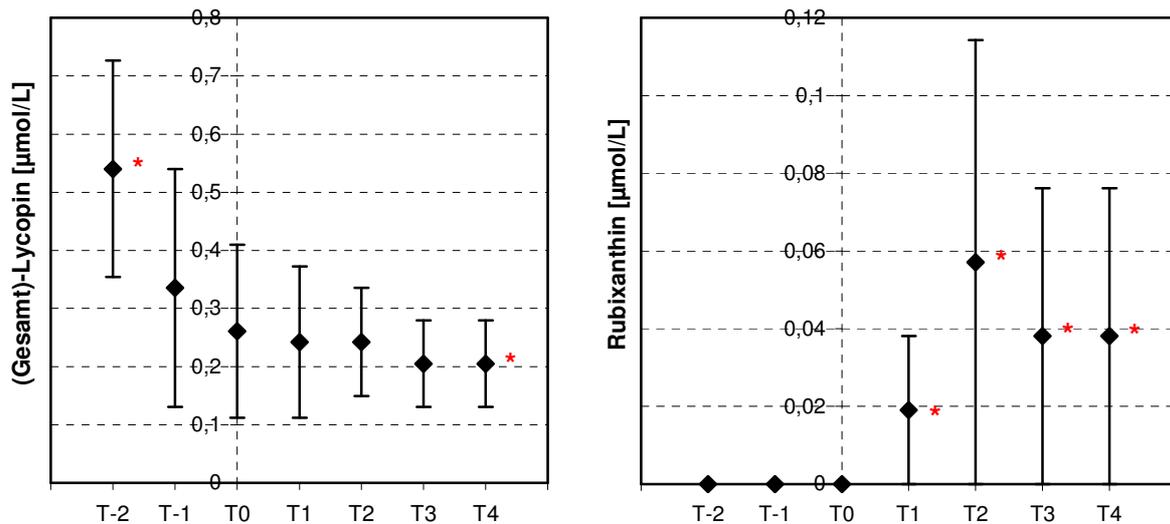
HPLC-Bedingungen: Trentec C30 (250 x 4,6 mm, 5 µm), 1,3 mL/min, Gradient aus Methanol und MTBE (siehe Tabelle A 10),  $17 \pm 1^\circ\text{C}$ , 470 nm

1 = (*all-E*)-Lutein, 2 = (*all-E*)-Zeaxanthin, 3 = (*all-E*)-Canthaxanthin, 4 = (*all-E*)-β-Cryptoxanthin, 5 = Echinenon (IS), 6 = (*13Z*)-β-Carotin, 7 = (*all-E*)-α-Carotin, 8 = (*all-E*)-Rubixanthin, 9 = (*all-E*)-β-Carotin, 10/11/13 = (*Z*)-Lycopinisomere, 12 = (*all-E*)-Lycopin

Abbildung 42 zeigt die Änderungen der mittleren Plasmagehalte an (*Gesamt*)-Lycopin und Rubixanthin in der Hagebutten-Interventionsstudie I (Hagebuttenmark HM 0). Nach zwei Wochen lycopinarmer Ernährung sanken die mittlere (***Gesamt***)-Lycopingehalte signifikant ( $p < 0,05$ ) von  $0,54 \pm 0,19 \mu\text{mol/L}$  (T-2) auf  $0,26 \pm 0,15 \mu\text{mol/L}$  (T0). Während der täglichen Aufnahme des Hagebuttenmarks HM 0 konnte überraschenderweise kein Anstieg des Plasma-lycopinspiegels festgestellt werden. Die (*Gesamt*)-Lycopingehalte sanken nach der vierwöchigen Interventionsphase signifikant ( $p < 0,05$ ) auf  $0,20 \pm 0,07 \mu\text{mol/L}$  (T4).

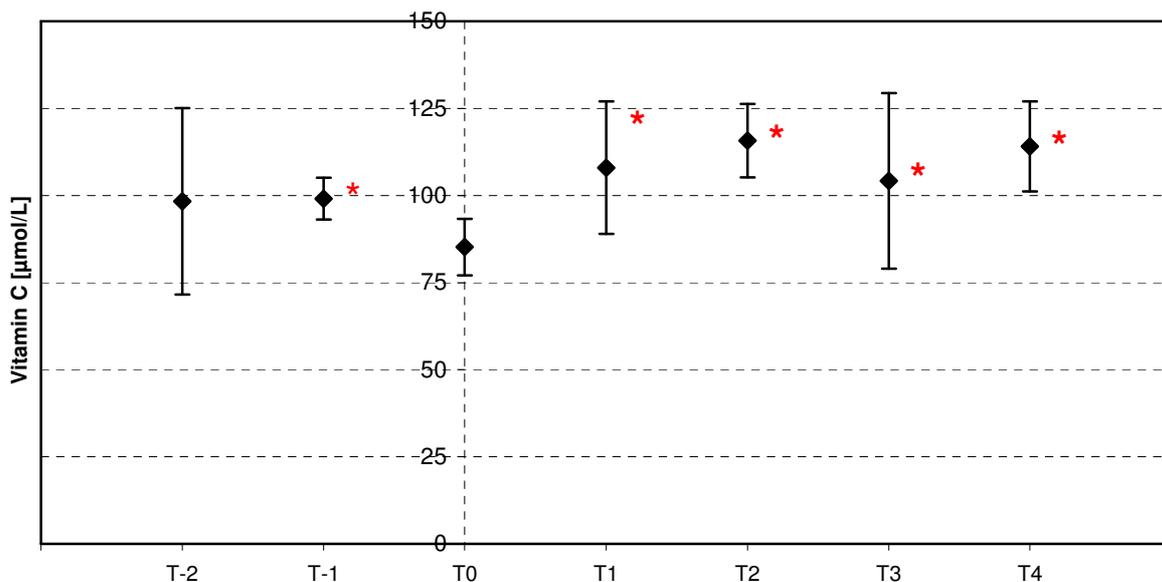
Im Gegensatz zum Lycopin stiegen die Plasmagehalte an **Rubixanthin**, einem speziellen Hagebuttencarotinoid, durch den Verzehr des Hagebuttenmarks HM 0 signifikant ( $p < 0,05$ ) an. Vor Beginn der Supplementationswoche wurde kein Rubixanthin im Plasma der Probanden detektiert. Nach einer Supplementationswoche stieg der Rubixanthingehalt signifikant auf  $0,02 \pm 0,02 \mu\text{mol/L}$  und nach der vierten Supplementationswoche auf  $0,08 \pm 0,04 \mu\text{mol/L}$ .

Die **anderen Carotinoide** (Lutein, Zeaxanthin, Canthaxanthin, β-Cryptoxanthin, α- und β-Carotin) sowie **Vitamin E** (Tocopherole und Tocotrienole) zeigten während der gesamten Studiendauer keine signifikanten ( $p < 0,05$ ) Änderungen in ihren Plasmagehalten (Daten nicht gezeigt).



**Abbildung 42:** Änderungen der Gehalte [ $\mu\text{mol/L}$ ] an (Gesamt)-Lycopin und Rubixanthin im Plasma der Probanden der Hagebutten-Interventionsstudie I ( $\bar{x} + s$ ), mit \* bezeichnete Werte unterscheiden sich signifikant von T0 ( $p < 0,05$ , t-Test)

Im Gegensatz dazu konnten während der Hagebutten-Interventionsstudie I signifikante Änderungen ( $p < 0,05$ ) der **Vitamin-C**-Gehalte im Plasma beobachtet werden (Abbildung 43). Während der Auswaschphase sank der Vitamin-C-Spiegel der Probanden auf  $85 \pm 8 \mu\text{mol/L}$  und stieg schon nach einer Supplementationsschwche signifikant auf  $108 \pm 19 \mu\text{mol/L}$  an. Die Plasmagehalte an Vitamin C blieben in den nächsten drei Supplementationsschwchen annähernd auf dem selben Level.

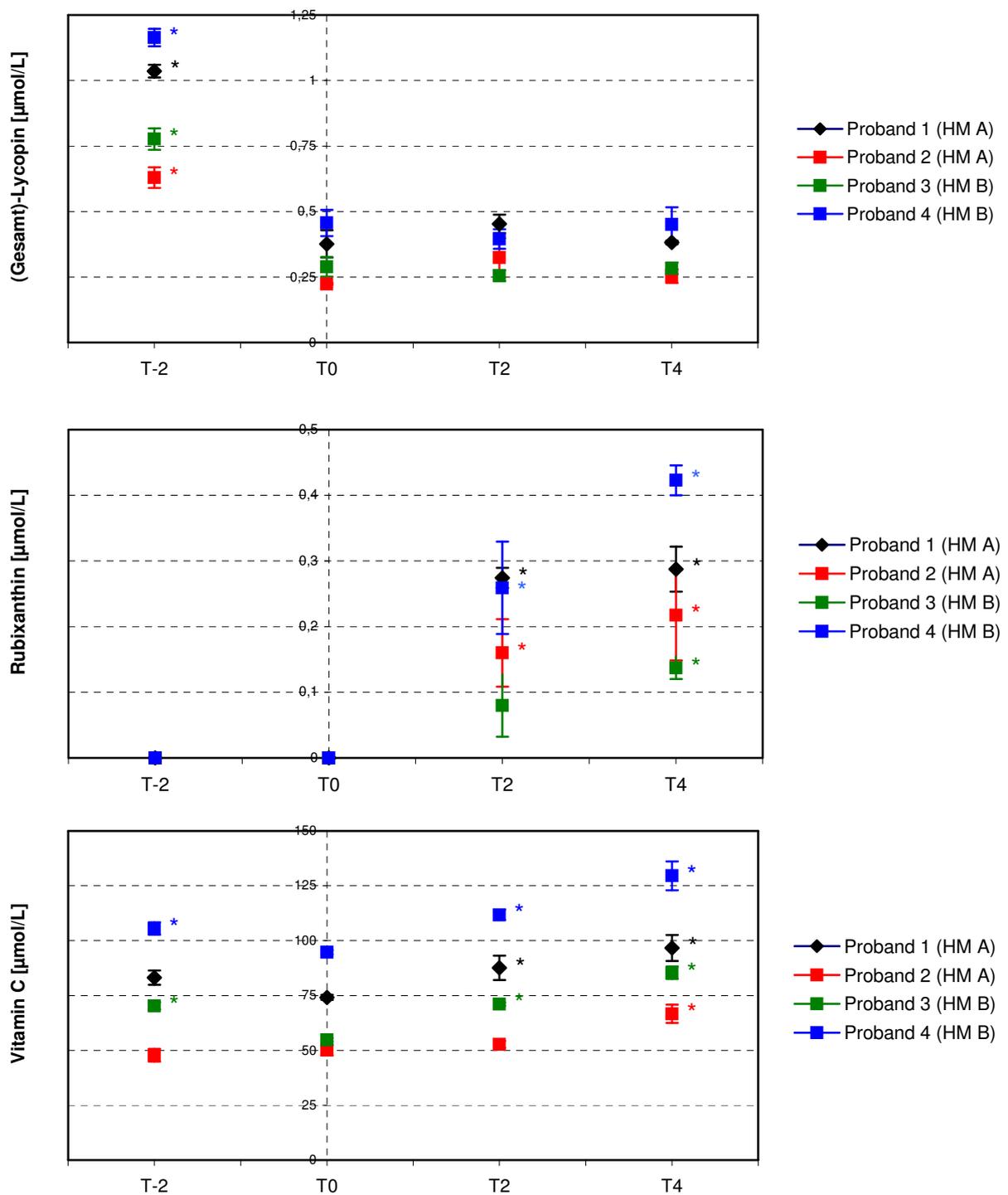


**Abbildung 43:** Änderungen der Gehalte [ $\mu\text{mol/L}$ ] an Vitamin C im Plasma der Probanden der Hagebutten-Interventionsstudie I ( $\bar{x} + s$ ), mit \* bezeichnete Werte unterschieden sich signifikant von T0 ( $p < 0,05$ , t-Test)

#### 4.3.3.2 Hagebutten-Interventionsstudie II

Da die Aufnahme von lycopinhaltigen Hagebuttenmark in der Hagebutten-Interventionsstudie I keinen Einfluss auf den Lycopinplasmaspiegel zeigte, wurde eine vergleichbare, zweite Humanstudie durchgeführt, in der die Probanden ebenfalls Hagebuttenmark verzehrten, welches jedoch anders hergestellt wurde (siehe Kapitel 3.3.3). Aufgrund der geringen Probandenzahl (2 Probanden pro Gruppe) wurde jeder Proband einzeln ausgewertet.

In der zweiten Studie waren zur Studie I vergleichbare Resultate zu beobachten. Die Veränderungen der Plasmagehalte an (*Gesamt*)-Lycopin, Rubixanthin und Vitamin C während der Hagebutten-Interventionsstudie II sind in Abbildung 44 dargestellt. Während beim **Lycopin** kein signifikanter Anstieg der Plasmakonzentrationen nach dem Verzehr von Hagebuttenmark HM A bzw. HM B zu beobachten war, stiegen die **Rubixanthin**gehalte bei allen vier Probanden in der Supplementationsphase signifikant ( $p < 0,05$ ) an. Auch beim **Vitamin C** war ein signifikanter Anstieg ( $p < 0,05$ ) der Plasmagehalte nach zweiwöchigem (Probanden 1, 3, 4) bzw. vierwöchigem Konsum von Hagebuttenmark zu verzeichnen.



**Abbildung 44:** Änderungen der Gehalte [ $\mu\text{mol/L}$ ] an (Gesamt)-Lycopin, Rubixanthin und Vitamin C im Plasma der Probanden der Hagebutten-Interventionsstudie II ( $\bar{x} + s$ ), mit \* bezeichnete Werte unterschieden sich signifikant von T0 ( $p < 0,05$ , t-Test)

#### 4.3.4 Kinetik-Pilotstudien

Die Lycopingehalte im Plasma der Probanden der Kinetik-Pilotstudien wurden in  $\mu\text{mol/g TG}$  angegeben. Die Verwendung der Plasma-Triglyceride (TG) als Bezugsgrösse ist eine gängige Praxis bei Untersuchungen des zeitlichen Verlaufes (Kinetik-Studien) von Änderungen der Plasmagehalte an fettlöslichen Verbindungen. Aufgrund der geringen Probandenzahlen (je zwei Probanden pro Interventionsgruppe) in den beiden Studien wurde jeder Proband einzeln ausgewertet.

##### 4.3.4.1 Kinetik-Pilotstudie I

Die Änderungen der (*Gesamt*)-Lycopingehalte aller vier Probanden der Kinetik-Pilotstudie I sind im Anhang (Abbildung A 1) zu finden. Nur bei zwei Probanden konnten signifikante ( $p < 0,05$ ) Änderungen der Plasmagehalte an (*Gesamt*)-Lycopin beobachtet werden. Der Proband A hatte Tomatenmark verzehrt und der Proband D dagegen Tomatensaft. Bei den Probanden B (Tomatenmark) und den Probanden C (Tomatensaft) veränderten sich die Plasmaspiegel während der gesamten Studiendauer nicht signifikant ( $p > 0,05$ ).

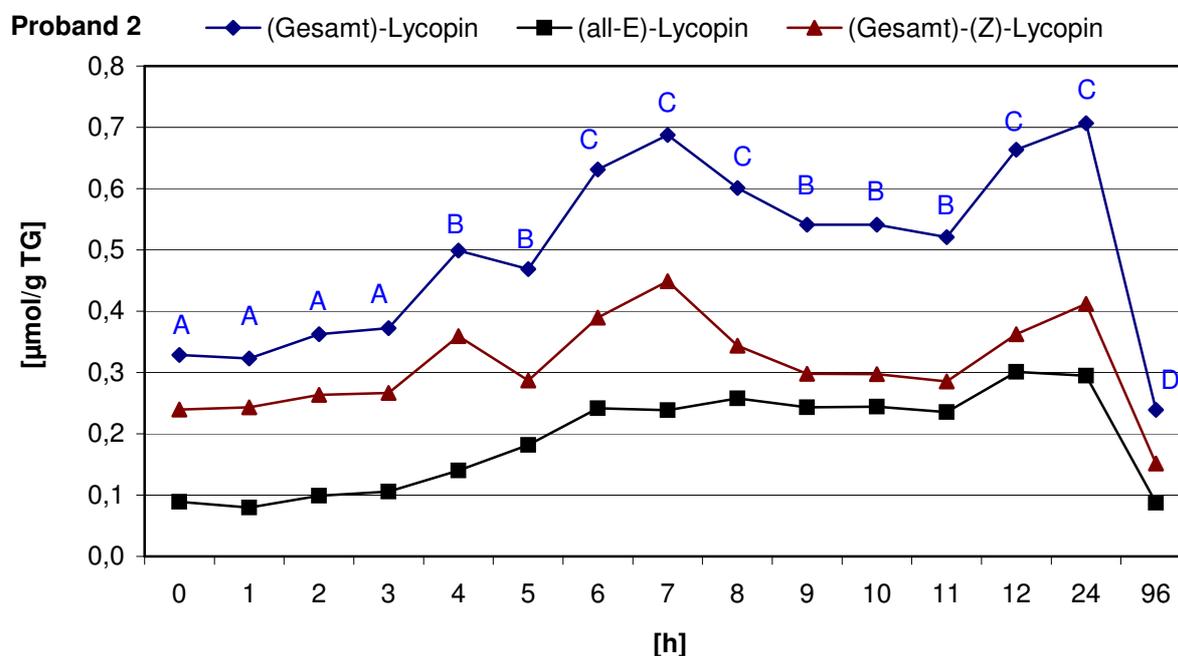
Im Plasma des Probanden A stieg der (*Gesamt*)-Lycopingehalte ab 10 Stunden nach der Aufnahme des Tomatenmarks signifikant an. Der Plasmagehalt war bei 10 Stunden etwa doppelt so hoch und der Gehalt bei 11 Stunden etwa dreifach so hoch wie der Lycopingehalt zum Studienbeginn (0 h). Danach fiel der Lycopinspiegel schnell wieder auf die Ausgangsgehalte ab. Bei Proband D waren trotz des hohen Ausgangslycopinspiegels signifikant höhere Plasmagehalte 4 – 5 Stunden sowie 12 Stunden nach der Aufnahme des Tomatensaftes im Vergleich zum Ausgangswert (0 h) zu beobachten. Die Lycopingehalte fielen nach dem Maximum ab, wobei nach 24 Stunden ein niedrigerer Gehalt im Vergleich zum Ausgangswert zu finden war. Die beschriebenen Änderungen waren sowohl bei den unkorrigierten Plasmawerten [ $\mu\text{mol/L}$ ] als auch bei den korrigierten Plasmawerten [ $\mu\text{mol/g TG}$ ] zu beobachten, wobei leichte Unterschiede in den Signifikanzen auftraten (Daten nicht gezeigt). Die Verhältnisse von (*all-E*)-Lycopin zur Summe aller (*Z*)-Lycopinisomere änderten sich bei keinem der vier Probanden während des Studienverlaufes signifikant ( $p > 0,05$ ).

##### 4.3.4.2 Kinetik-Pilotstudie II

Die Veränderungen der Gehalte (*Gesamt*)-Lycopingehalte (*all-E*)-Lycopin sowie (*Gesamt*)-(Z)-Lycopin aller vier Probanden der Kinetik-Pilotstudie II sind im Anhang (Abbildung A 2) zu

finden. Um die Ergebnisse genauer zu beschreiben wurde exemplarisch der Proband 2, welcher Tomatenmark verzehrt hat, ausgewählt, da bei diesen Probanden die Veränderungen der Lycopinisomere besonders ausgeprägt waren. Bei Proband 1 (Tomatenmark) und Proband 3 (Tomatensaft) waren dazu vergleichbare Tendenzen in den Lycopinveränderungen zu beobachten. Dagegen veränderten sich sowohl die (*Gesamt*)-Lycopingehalte als auch die Gehalte der einzelnen Lycopinisomere im Plasma des Probanden 4 (Tomatensaft) nicht signifikant ( $p > 0,05$ ).

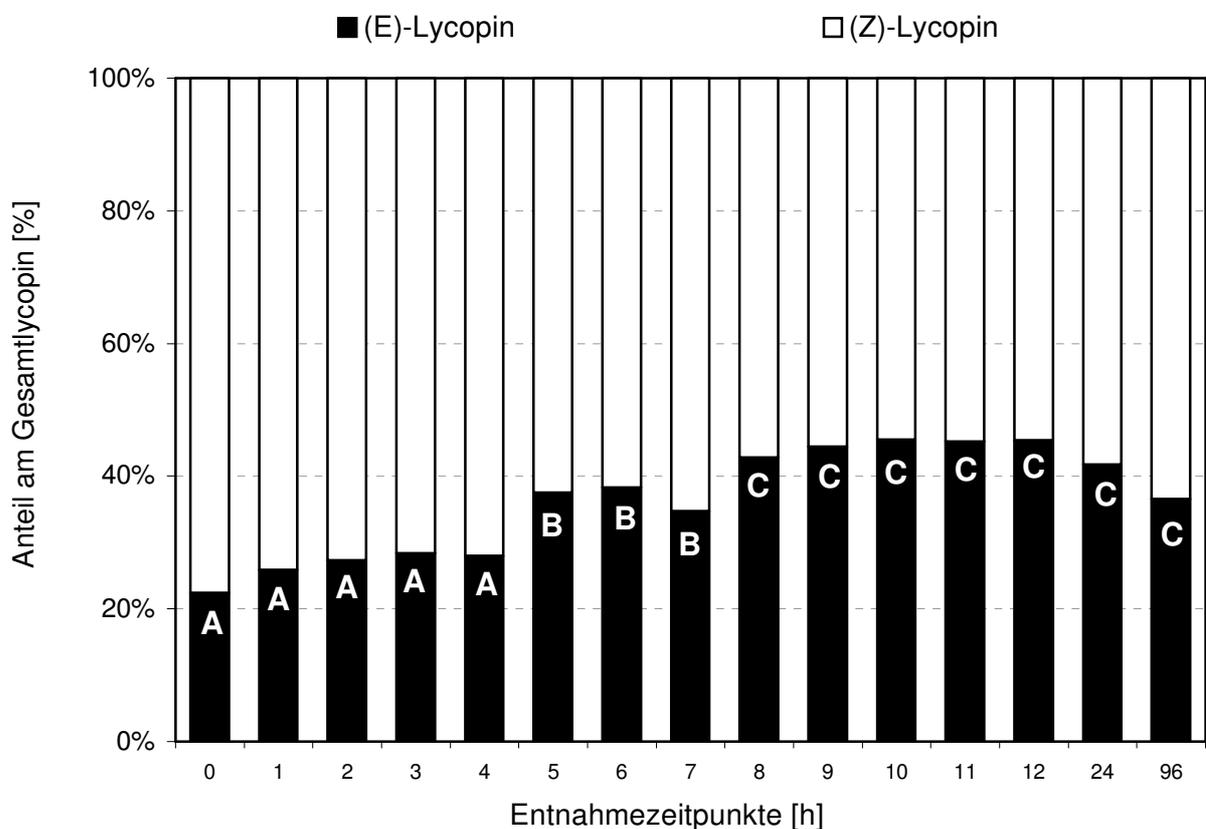
Der Gehalt an (*Gesamt*)-Lycopin im Plasma des Probanden 2 stieg nach der Lycopinaufnahme bis zum Zeitpunkt von 7 Stunden allmählich an. Vier Stunden nach der Supplementation war der Lycopingehalt signifikant ( $p < 0,05$ ) höher als der Gehalt vor der Supplementation. Beim Maximum nach 7 Stunden lag die Plasmakonzentration an (*Gesamt*)-Lycopin etwa doppelt so hoch wie der Gehalt bei Studienbeginn (0 h). Danach fiel der (*Gesamt*)-Lycopingehalt bis zum Zeitpunkt von 11 Stunden signifikant ab und stieg dann erneut wieder signifikant an. Nach 24 Stunden war der Plasmagehalt vergleichbar mit dem Gehalt beim ersten Maximum (8 h) und sank dann wieder ab. 96 Stunden nach der Lycopinaufnahme lag die Lycopinkonzentration im Plasma signifikant niedriger als bei Studienbeginn.



**Abbildung 45:** Änderungen der Gehalte [ $\mu\text{mol/g TG}$ ] an (*Gesamt*)-Lycopin, (*all-E*)-Lycopin, (*Gesamt*)-(Z)-Lycopin im Plasma des Probanden 2 der Kinetik-Pilotstudie II nach dem Verzehr von Tomatenmark, mit unterschiedlichen Buchstaben bezeichnete (*Gesamt*)-Lycopin-Werte unterschieden sich signifikant voneinander ( $p < 0,05$ , t-Test)

Der Anstieg des (*Gesamt*)-Lycopingehaltes resultierte sowohl aus dem steigenden (*all-E*)-Lycopingehalt als auch aus den steigenden Gehalten an (*Z*)-Lycopinisomeren. In der Abbildung 46 sind die Änderungen der Isomerenverhältnisse graphisch dargestellt. Das Verhältnis von (*all-E*)-Lycopin zur Summe der (*Z*)-Lycopinisomere blieb in den ersten 4 Stunden nach der Tomatenmarkaufnahme mit 22 – 28 % (*all-E*) und 72 – 78 % (*Z*) unverändert ( $p > 0,05$ ). Danach stieg der prozentuale Anteil an (*all-E*)-Lycopin signifikant ( $p < 0,05$ ) an. Nach 12 Stunden verschob sich das Isomerenverhältnis zu Gunsten der (*Z*)-Lycopinisomere. Dieser Abfall des (*all-E*)-Anteils und somit der Anstieg des (*Z*)-Isomerenanteils ist bis zum Zeitpunkt von 96 h jedoch nicht signifikant ( $p > 0,05$ ).

### Proband 2



**Abbildung 46:** Änderungen der relativen Anteile [%] von (*all-E*)-Lycopin (■) und der Summe der (*Z*)-Lycopinisomere (□) am (*Gesamt*)-Lycopin im Plasma des Probanden 2 der Kinetik-Pilotstudie II nach dem Verzehr von Tomatenmark; mit unterschiedlichen Buchstaben bezeichnete Isomerenverhältnisse unterschieden sich signifikant voneinander ( $p < 0,05$ , t-Test)

Obwohl während der Untersuchungsdauer die Triglyceridgehalte im Plasma geringfügig schwankten, waren die Tendenzen bei den nicht auf Triglyceride bezogenen Gehalten zu den hier beschriebenen Ergebnissen vergleichbar (Daten nicht gezeigt).

## 5 Diskussion

### 5.1 Lycopinisomere

#### 5.1.1 Untersuchungen zu Isomerisierung und Stabilität von Lycopin

##### 5.1.1.1 Isomerisierung von Lycopin

Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene Vorversuche zu Isomerisierung und Stabilität von Lycopin unter ausgewählten Bedingungen durchgeführt. Die **Herstellung des Lycopin-isomerengemisches**, welches **für die Isolierung** einzelner Isomere und die anschließende Struktur-Charakterisierung bzw. die Bestimmung der antioxidativen Aktivität dieser Verbindungen verwendet wurde, erfolgte in Anlehnung an eine Isomerisierungsmethode von Zechmeister (Zechmeister, 1944), wobei diese jedoch leicht modifiziert wurde. An insgesamt 15 verschiedenen Tagen wurde ein Lycopinmetabolitengemisch mit Hilfe von Iod (5 % des Carotinoidgewichts) und 15-minütiger Bestrahlung mit UV-Licht hergestellt. Obwohl die Isomerisierung jeden Tag unter identischen Bedingungen (Iodmenge, Bestrahlungsdauer) hergestellt wurde, schwankte die Zusammensetzung der isomerisierten Lycopinlösungen von Tag zu Tag relativ stark. Der Anteil der Struktur-bekanntes Isomere (*all-E*)-, (*13Z/15Z*)-, (*5Z,9Z*)-, (*9Z*)-, (*5Z,9Z*)- und (*5Z*)-Lycopin lag zwischen etwa 32 % und 90 % und somit der Anteil der anderen Isomerisierungsprodukte (unbekannte Isomere, Oxidationsprodukte) zwischen 10 % und 68 %. Diese Schwankungen kamen hauptsächlich durch die variierenden Anteile an Oxidationsprodukten zu Stande. Dagegen veränderte sich das Verhältnis der sechs bekannten Lycopinisomere untereinander mit (*all-E*) : (*13Z/15Z*) : (*5Z,9Z*)+(9Z)+(5Z,9Z) : (*5Z*) gleich  $1,0 : 1,0 \pm 0,3 : 1,5 \pm 0,4 : 1,5 \pm 0,3$  kaum. Der Grund dieser Schwankungen liegt vermutlich zum einen darin begründet, dass teilweise die Standzeiten bis zur Entfernung des Iods unterschiedlich waren. Da man nicht direkt erkennen konnte, wann alles Iod aus der Mischung entfernt war, ist auch denkbar, dass teilweise noch Spuren von Iod in den Lycopinmetabolitenlösungen waren und eine Nachisomerisierung bzw. -oxidation stattfand.

Um die Ausbeute an ausgewählten (*Z*)-Lycopinisomeren während der **Isomerisierung von (*all-E*)-Lycopin** zukünftig verbessern zu können, wurde die Bildung von Lycopinisomeren und -oxidationsprodukten aus (*all-E*)-Lycopin mit unterschiedlichen **Iodmengen**, sowie unterschiedlicher Art und Dauer der **UV-Bestrahlung** untersucht. Eigene Versuche zur Lycopinisomerisierung unter völligem Lichtausschluß zeigten, dass schon ein sehr geringer Lichtimpuls (z. B. kurzzeitiger Lichteinfall beim Pipettieren) ausreicht, um eine Isomerisie-

rung auszulösen. Ohne diesen Lichtimpuls fand keine bzw. nur eine geringfügige Isomerisierung durch Iod statt. (Daten nicht gezeigt)

Die vorgestellten Daten zeigten, dass für eine höhere Ausbeute an (13Z/15Z)-Lycopin eine Iodzugabe von 7 % theoretisch günstig zu sein scheint, wobei die Dauer der UV-Bestrahlung keine Rolle zu spielt. Ideale Bedingungen für (5Z,9'Z)/(9Z)/(5Z,9Z)-Lycopin wären 9 % Iod sowie etwa 5-minütige UV-Bestrahlung und beim (5Z)-Lycopin 6 % Iod ohne UV-Bestrahlung. Bei der Verwendung dieser Daten ist darauf zu achten, dass die angegebenen Bedingungen nur für die in den Versuchen verwendete UV-Lampe gilt. Praktisch gesehen erweist sich auch die Entfernung hoher Iodmengen (über 5 % des Carotinoidgewichtes) als recht schwierig. Zukünftig sollte demzufolge geprüft werden, ob Iod auch mittels anderer Methoden aus dem Iod-Lycopin-Gemisch entfernt werden kann. **Zusammenfassend** lässt sich feststellen, dass je nach Fragestellung (Art des benötigten Isomers) eine Optimierung der Isomerisierungsbedingungen (Iodzugabe, UV-Bestrahlung, Isomerisierungszeit etc.) sinnvoll ist.

#### 5.1.1.2 Stabilität von Lycopin

Da die Analysenzeiten der HPLC-Carotinoiddtrennungen (über 1 h pro Probe) sehr lang waren und die Proben demzufolge über mehrere Stunden bei Raumtemperatur im Autosampler standen, wurde weiterhin die Stabilität von Lycopin-Standardlösungen sowie von Humanplasmaextrakten im Autosampler getestet. Weder beim Lycopinstandard noch beim Plasmaextrakt waren über 24 Stunden signifikante Änderung der Gehalte der einzelnen Lycopinisomere festzustellen. Die Messung grösserer Probenserien ist somit auch ohne Kühlung der Proben im Autosampler kein Problem.

### **5.1.2 Charakterisierung von Lycopinisomeren**

Lycopin kann aufgrund seiner hohen Doppelbindungsanzahl in Form vieler unterschiedlicher Konfigurationsisomere vorliegen (Kapitel 2.2.1). Einige Lycopinisomere zeigten in Abhängigkeit von ihrer Struktur signifikante Unterschiede in ihrer antioxidativen Kapazität gemessen mittels TEAC- und PCL-Test (siehe Kapitel 4.1.3 und 5.1.3). Die Wichtigkeit der Strukturcharakterisierung einzelner Lycopinisomere wird klar, wenn man bedenkt, dass eine Vielzahl von Lycopinisomeren in Lebensmitteln und im menschlichen Körper zu finden sind und die Wirkung von Lycopin als Antioxidans als einer der Mechanismen der chemopräventiven Wirkung von Lycopin beim Menschen angesehen wird (Kapitel 2.4.2).

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war, die chemische Struktur ausgewählter Lycopin-isomere eindeutig zu charakterisieren und die identifizierten Lycopin-isomere den Signalen (Peaks) bei den im Rahmen dieser Arbeit verwendeten HPLC-Methoden sicher zuzuordnen. Fünf bis sechs Isomere (Zuordnung der Verbindungen siehe Abbildung 16) wurden durch Iod-katalysierte Photo-Isomerisierung hergestellt, mittels präparativer C<sub>30</sub>-HPLC isoliert und über verschiedene spektroskopische Methoden charakterisiert.

#### 5.1.2.1 UV-vis-Spektroskopie

Die Lichtabsorptionseigenschaften der isolierten Verbindungen in verschiedenen Lösungsmitteln lieferten die ersten Hinweise auf ihre Strukturidentität. Für die Aufnahme der UV-vis-Spektren wurden Lösungsmittel ausgewählt, welche laut Literatur am häufigsten bei der Carotinoidanalytik verwendet wurden. Die Lage der Absorptionsmaxima in den verschiedenen Lösungsmitteln unterschied sich dabei nur um wenige Nanometer. Diese spektralen Verschiebungen waren abhängig von der Polarität und dem refraktometrischen Index des verwendeten Lösungsmittels (Britton *et al.*, 1995). Bei der Strukturbestimmung von Carotinoiden nur über deren UV-Spektren ist jedoch Vorsicht geboten. Um sichere Ergebnisse zu erhalten, sollten die aus den UV-vis-Daten erhaltenen Strukturvorschläge immer mittels MS und NMR-Spektroskopie überprüft werden.

Das Isomer **6** zeigte in allen getesteten Lösungsmitteln die gleichen spektralen Eigenschaften wie das (*all-E*)-Lycopin. Daraus konnte man schlussfolgern, dass es sich um ein mono-(*Z*)-Isomer handelt, welches die (*Z*)-Doppelbindung weit entfernt vom Molekülzentrum hat. Die Vermutung lag demzufolge nahe, dass es sich bei diesem Isomer um das (*5Z*)-Lycopin handelt.

Im Unterschied dazu wiesen die Isomere **2 – 4** ((*5Z,9'Z*)-, (*9Z*)-, (*5Z,9Z*)-Lycopin) eine hypsochrome Verschiebung um 5 – 7 nm, d. h. eine Wellenlängenverschiebung zum kurzwelligeren, energiereicheren Wellenlängenbereich auf. Eine so geringfügige Verschiebung des Absorptionsmaximums ist normalerweise ein Hinweis auf eine mono-(*Z*)-Verbindung. Jedoch zeigten die späteren NMR-Untersuchungen, dass es sich bei den Isomeren **2** und **4** um di-(*Z*)-Isomere handelte. Die Übereinanderlagerung der drei Absorptionsspektren zeigte ebenfalls kaum Unterschiede zwischen den Verbindungen **2 – 4**. Nachdem die Struktur dieser drei Lycopin-isomere identifiziert war, konnten diese UV-vis-Ergebnisse auch gut erklärt

werden. Die *cis*-Bindung in der 9er-Position, welche bei allen drei Isomeren zu finden ist, führte zu der beobachteten hypsochromen Verschiebung um wenige Nanometer. Dagegen hatte die in den Isomeren **2** und **4** vorliegende *cis*-Bindung in der 5er-Position analog zum (5*Z*)-Lycopin (Isomer **6**) keinen Einfluss auf das Absorptionsspektrum.

Eine weitere Eigenschaft des UV-vis-Spektrums, welche Hinweise auf die Struktur der Lycopinisomere geben kann, ist das Q-Verhältnis. Dies drückt das Verhältnis zwischen der Absorptionsintensität des sogenannten „*cis*-Peaks“ bei etwa 360 nm zu der Absorptionsintensität des Hauptmaximums bei etwa 460 – 480 nm aus. Die Höhe des „*cis*-Peaks“ und demzufolge auch die Größe des Q-Verhältnisses ist von der Lage der Doppelbindung im Lycopinmolekül abhängig. Je näher die Doppelbindung im Zentrum des Lycopinmoleküls liegt, umso grösser ist das Q-Verhältnis. Das Q-Verhältnis von (*all-E*)-Lycopin war in allen Lösungsmitteln annähernd Null (0,09 – 0,17). Der geringe Q-Wert (0,08 – 0,12) vom Isomer **6** zeigte, dass die Doppelbindung bei dieser Verbindung weit vom Molekülzentrum entfernt liegt, was beim (5*Z*)-Lycopin auch der Fall ist. Für die Isomere **2** – **4** wurden in den verschiedenen Lösungsmitteln Q-Verhältnisse zwischen 0,14 und 0,25 ermittelt, was einen Hinweis darauf gibt, dass die vorhandenen Doppelbindungen ebenfalls relativ weit am Molekülende liegen. Die ermittelten Q-Verhältnisse für die Lycopinisomere **3** ((9*Z*)-Lycopin), **5** ((*all-E*)-Lycopin) und **6** ((5*Z*)-Lycopin) stimmten gut mit den Literaturdaten (siehe Tabelle 23) überein. Für die beiden di-(*Z*)-Isomere (**2** und **4**) waren keine Daten zu den Q-Verhältnissen in der Literatur zu finden.

**Tabelle 23:** Vergleich der ermittelten Q-Verhältnisse<sup>1</sup> von ausgewählten Lycopinisomeren mit Literaturdaten (<sup>a</sup> Stahl *et al.*, 1992; <sup>b</sup> Yeum *et al.*, 1996; <sup>c</sup> Schierle *et al.*, 1997; <sup>d</sup> Holloway *et al.*, 2000; <sup>e</sup> Breitenbach *et al.*, 2001; <sup>f</sup> Lee & Chen, 2001; <sup>g</sup> Lin & Chen, 2003)

Lycopinisomer	Q-Verhältnisse	
	Eigene Werte <sup>2</sup>	Literaturwerte <sup>3,4</sup>
( <i>all-E</i> )	0,08-0,17 <sup>3</sup>	0,09 <sup>a</sup> / 0,07 <sup>b</sup> / 0,06 <sup>c</sup>
(5 <i>Z</i> )	0,08-0,12 <sup>3</sup>	0,06 <sup>f</sup> / 0,05 <sup>g</sup>
(9 <i>Z</i> )	0,14-0,19 <sup>3</sup>	0,10 <sup>a</sup> / 0,13 <sup>b</sup> / 0,12 <sup>c</sup> / 0,24-0,28 <sup>f</sup> / 0,10 <sup>g</sup>
(13 <i>Z</i> )	0,51-0,66 <sup>3</sup> bzw. 0,41-0,69 <sup>4</sup>	0,43 <sup>a</sup> / 0,56 <sup>b</sup> / 0,55 – 0,56 <sup>c</sup> / 0,39 <sup>d</sup> / 0,56 <sup>e</sup> / 0,53-0,54 <sup>f</sup> / 0,55 <sup>g</sup>
(15 <i>Z</i> )		0,63 <sup>a</sup> / 0,75 <sup>b</sup> / 0,70-0,75 <sup>f</sup> / 0,61 <sup>g</sup>
(5 <i>Z</i> ,9' <i>Z</i> )	0,19-0,28 <sup>3</sup>	-
(5 <i>Z</i> ,9 <i>Z</i> )	0,14-0,21 <sup>3</sup>	-

<sup>1</sup> Minimal- und Maximalwerte der Q-Verhältnisse in den acht verschiedenen Lösungsmitteln (Tabelle A 17)

<sup>2</sup> aus dem Metabolitengemisch isolierte Lycopinisomere

<sup>3</sup> berechnet aus dem UV-vis-Spektrum

<sup>4</sup> berechnet aus dem DAD-Spektrum

Die spektralen Untersuchungen der isolierten Verbindung **1** ließen keine eindeutigen Aussagen zur Struktur dieses Isomers zu. Die aus UV-vis- bzw. DAD-Spektren ermittelten Q-Werte für diese Verbindung lagen zwischen 0,41 und 0,69. Die hohen Q-Verhältnisse wiesen darauf hin, dass es sich bei der Verbindung **1** um ein Isomer handelt, welches eine (*Z*)-Doppelbindung in der Nähe des Molekülzentrums hat. Durch den Vergleich der Lage der Peaks im HPLC-Chromatogramm und den ermittelten Gehalten in Lebensmitteln und Humanplasma mit Literaturdaten kann vermutet werden, dass es sich um das (*13Z*)- oder das (*15Z*)-Lycopin handelt. Die Streuung zwischen den Einzelmesswerten war jedoch sehr hoch, wodurch es sich als sehr schwierig erwies, mit Hilfe der ermittelten Werte zwischen diesen beiden Isomeren zu unterscheiden. Auch die von unterschiedlichen Arbeitsgruppen veröffentlichten Q-Werte für das (*13Z*)- und das (*15Z*)-Lycopin zeigten relativ große Abweichungen voneinander (siehe Tabelle 23). Da es somit nicht möglich war, eine dieser beiden Strukturen der isolierten Verbindung **1** eindeutig zuzuordnen, wurde das Lycopinisomer **1** im Rahmen dieser Arbeit als (*13Z/15Z*)-Lycopin bezeichnet. Weitere Untersuchungen (NMR-Spektroskopie etc.) zur eindeutigen Identifizierung dieser Verbindung sind in Planung.

Bei Plasmaproben war die Unterscheidung zwischen (*13Z*)- und (*15Z*)-Lycopin etwas einfacher, da im Gegensatz zum iod-photo-isomerisierten Lycopinmetabolitengemisch größtenteils diese beide Isomere in einer Probe detektiert wurden und die Verbindung mit den höheren Q-Verhältnis dann dem (*15Z*)-Lycopin und die mit den niedrigeren Q-Verhältnis dem (*13Z*)-Lycopin zugeordnet werden konnte (5.1.2.4).

#### 5.1.2.2 LC-MS-Analyse

Massenspektren (Totalionenspektren, Tochterionenspektren etc.) sind nicht direkt für die Strukturbestimmung von geometrischen Isomeren geeignet, da (*all-E*)- und (*Z*)-Isomere identische Spektren ergeben. Die Massenspektroskopie lieferte jedoch eindeutige Informationen darüber, ob es sich bei den untersuchten Verbindung wirklich um Konfigurationsisomere des Lycopins handelte (besitzen identische Massen) oder ob andere Metabolite wie beispielsweise Oxidationsprodukte (vom Lycopin abweichende Massen) vorlagen.

Alle isolierten Isomere zeigten in ihren MS-Spektren ein starkes Massensignal bei  $m/z$  537,4, welches dem Molekülion  $[M+H]^+$  vom Lycopin (Molmasse: 536,8 g/mol) entspricht. Dadurch konnte eindeutig sichergestellt werden, dass es sich bei den isolierten Verbindungen um Lycopinisomere und nicht um andere Lycopinmetabolite handelte.

### 5.1.2.3 NMR-Analyse

Die NMR-Spektroskopie ist das einzige Verfahren, mit dessen Hilfe eine eindeutige Strukturbestimmung von Konfigurationsisomeren (*trans-cis*-Isomeren) möglich ist. Da Carotinoide mit ihren Isomeren jedoch sehr ähnliche eindimensionale NMR-Spektren ( $^1\text{H-NMR}$ ) haben, sind für die eindeutige Charakterisierung der unterschiedlichen Isomere zweidimensionale NMR-Techniken (gCOSY, TROESY, TOCSY) notwendig, welche zusätzliche Informationen über die Kopplungen der einzelnen Protonen und die dazugehörigen Kopplungskonstanten ( $J$ ) geben.

#### (5Z)-Lycopin (6):

In den  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren des aliphatischen Bereiches konnte sehr gut der Unterschied zwischen einer symmetrischen und einer unsymmetrischen Struktur erkannt werden. Das Spektrum der Verbindung **6** zeigte eine Aufspaltung der Methylgruppensignale, was auf eine unsymmetrische Struktur schließen lässt. Bei dem  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des symmetrischen (*all-E*)-Lycopins fielen dagegen die Resonanzfrequenzen der äquivalenten Methylgruppen zusammen. Die Tieffeldverschiebungen der Protonen H-2 und H-4 und die Kern-Overhauser-Effekte zwischen der Methylgruppe M-18 und dem Proton H-6 sowie zwischen den Protonen H-4 und H-7 identifizierten das Isomer **6** eindeutig als (5Z)-Lycopin.

#### (9Z)-Lycopin (3):

Mit Hilfe charakteristischer chemischen Verschiebungen mehrerer Protonen sowie des im ROESY-Spektrum deutlich erkennbaren Kreuzsignals zwischen dem Proton H-10 und der Methylgruppe M-19 konnte das Isomer **3** eindeutig als (9Z)-Lycopin identifiziert werden.

#### (5Z,9Z)-Lycopin (2) und (5Z,9Z)-Lycopin (4):

Die Verbindungen **2** und **4** zeigten nur geringe Unterschiede in ihren  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren und waren durch die eindimensionale NMR-Spektroskopie demzufolge nicht eindeutig zu unterscheiden. Mittels der 2D-NMR-Spektren konnten jedoch in beiden Verbindungen sowohl die Peakmuster der (5Z)-Konfiguration als auch die der (9Z)-Konfiguration beobachtet werden. Die Unterschiede in den 2D-Experimenten identifizierten die Verbindung **2** eindeutig als (5Z,9Z)-Lycopin und die Verbindung **4** als (5Z,9Z)-Lycopin.

Der Vergleich der  $^1\text{H-NMR}$ -Daten mit den chemischen Verschiebungen ( $\delta$ ) und Kopplungskonstanten ( $J$ ) der untersuchten Lycopinisomere zeigte gute Übereinstimmungen mit Litera-

turdaten (Hengartner *et al.*, 1992; Strohschein, 1997; Glaser & Albert, 2002). Geringfügige Unterschiede der chemischen Verschiebungen können durch die Verwendung unterschiedlicher Lösungsmittel (bzw. auch unterschiedlicher Gradientenmethoden) zu Stande kommen, da die exakten Werte der Verschiebungen von der genauen Zusammensetzung des Lösungsmittels abhängig sind.

Hengartner *et al.* (Hengartner *et al.*, 1992) isolierten (5Z,9'Z)- und (9Z)-Lycopin mittels präparativer HPLC, während die (*all-E*)- und (5Z)-Isomere synthetisiert wurden. Die dort verwendeten HPLC-Bedingungen (C<sub>18</sub>-Säule, isokratisch mit Hexan und *N*-Ethyl-diisopropylamin) weichen sehr stark von unseren HPLC-Bedingungen ab. Strohschein identifizierte die Lycopinisomere (9Z), (*all-E*) und (5Z) mittels LC-NMR-Technik und das (5Z,9Z)-Lycopin mittels konventioneller NMR nach Isolierung der Verbindung. Für die HPLC-Trennung wurden in diesen Untersuchungen Silica-Gel-Säulen und Aceton als mobile Phase verwendet (Strohschein, 1997). Die Analyse von Lycopinisomeren in Tomatenextrakten und Humanserum wurde von Glaser und Albert beschrieben, welche jedoch nur das (9Z)- und das (5Z)-Lycopin mittels LC-NMR (C<sub>30</sub>-Säule, Gradient aus Aceton und Wasser bzw. aus Methanol, MTBE und Wasser) charakterisierten (Glaser & Albert, 2002). In einer weiteren Literaturquelle wurden die Isomere (9Z)-, (5Z,9Z)-, (*all-E*)- und (5Z)-Lycopin in einem C<sub>30</sub>-HPLC-Chromatogramm (Gradient aus Methanol, MTBE und Wasser) zugeordnet, ohne jedoch genauere Informationen über die Strukturcharakterisierung der Isomere zu geben (Breitenbach *et al.*, 2001). In einer neueren Untersuchung charakterisierten Tiziani *et al.* sowohl das (9Z)-Lycopin als auch das (5Z)-Lycopin in Tomatensaft mittels off-line-NMR-Technik unter Verwendung von C<sub>30</sub>-Säulen und einem Methanol-MTBE-Gradient als mobile Phase (Tiziani *et al.*, 2006).

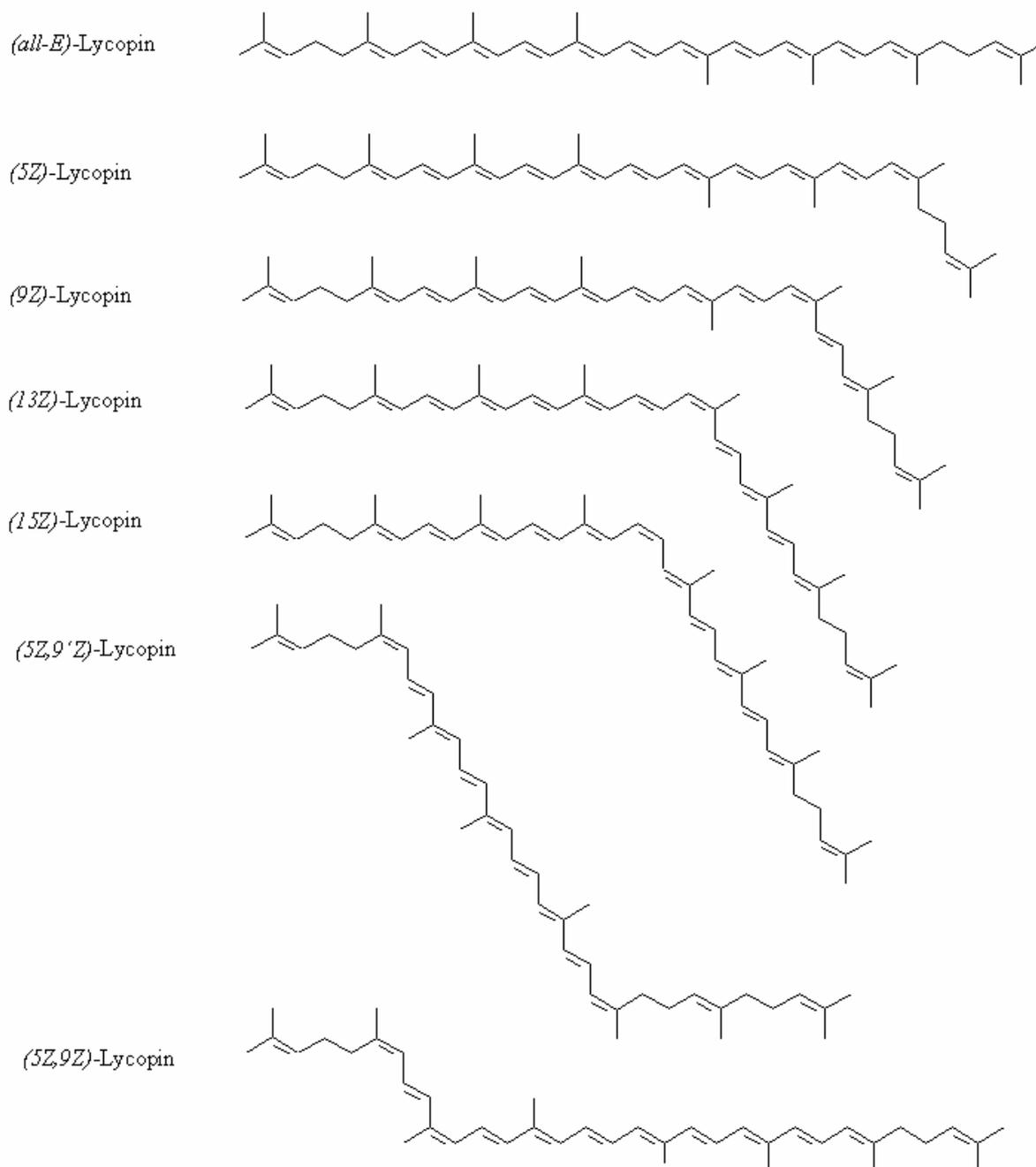
#### 5.1.2.4 Zuordnung der charakterisierten Lycopinisomere in HPLC-Chromatogrammen

Zusammenfassend kann man feststellen, dass in den Studien, die in der Literatur zu finden sind, größtenteils andere Identifizierungstechniken und vor allem unterschiedliche HPLC-Bedingungen verwendet wurden (siehe auch 2.2.2, Tabelle 3). Dies erschwert die Übertragbarkeit der Strukturzuordnungen auf die von uns verwendete HPLC-Methode, die weit verbreitet ist.

In unseren Untersuchungen konnten die Isomere (5Z,9'Z)-, (9Z)-, (5Z,9Z)-, (*all-E*)- und (5Z)-Lycopin eindeutig und (13Z)- sowie (15Z)-Lycopin tendentiell charakterisiert und den detek-

tierten Peaks in C<sub>30</sub>-HPLC-Chromatogrammen zugeordnet werden. Die Strukturformeln der im Rahmen dieser Arbeit charakterisierten Isomere sind in Abbildung 47 angegeben.

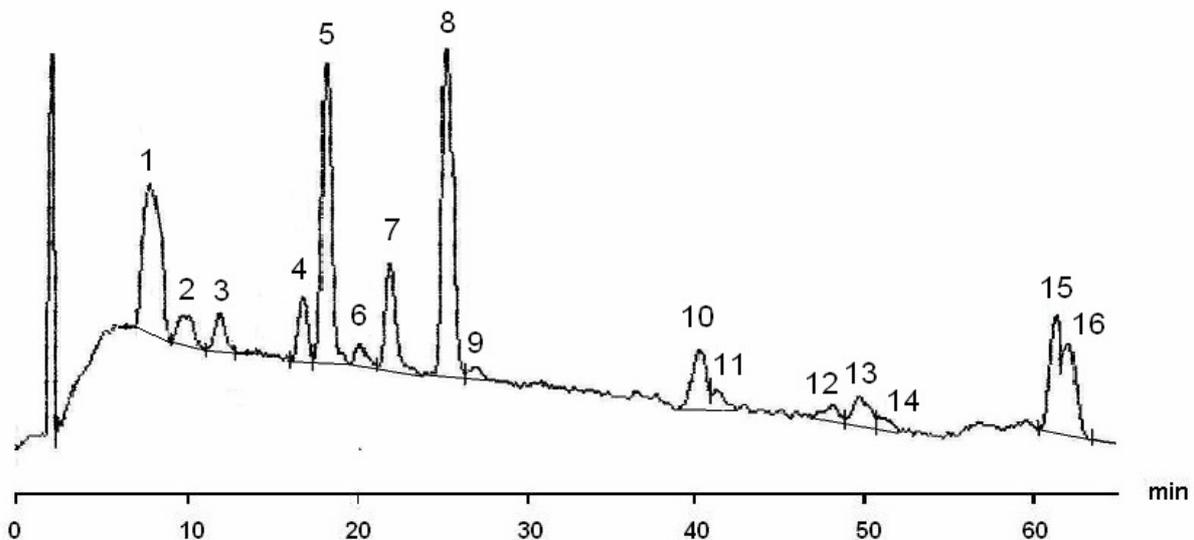
In Tomaten und Tomatenprodukten (siehe auch Kapitel 4.2.1, Abbildung 26) konnten bis zu fünf verschiedene Lycopinisomere detektiert werden. Die Isomere (*13Z*)- und (*15Z*)-Lycopin konnten bisher nur vorläufig identifiziert werden. Eine genaue Charakterisierung mittels NMR-Spektroskopie steht noch aus. (*9Z*)-Lycopin wurde in annähernd jedem Tomatenextrakt gefunden. Da die Trennkapazität der analytischen C<sub>30</sub>-Säulen oft für eine Trennung der 3er-Gruppe bestehend aus (*5Z,9Z*)-, (*9Z*)- und (*5Z,9Z*)-Lycopin nicht ausreichend war, wurden verschiedene Tomatenextrakte an der präparativen C<sub>30</sub>-Säule getrennt, welche eine gute Trennung dieser drei Isomere zuließ. Diese Untersuchungen (Daten nicht gezeigt) zeigten eindeutig, dass in Tomaten und Tomatenprodukten die beiden di-(*Z*)-Isomere nicht vorlagen. Das Hauptlycopinisomer war das (*all-E*)-Lycopin. In einigen Tomatenprodukten konnte teilweise auch das (*5Z*)-Lycopin in geringen Konzentrationen gefunden werden.



**Abbildung 47:** Strukturformeln der im Rahmen dieser Arbeit charakterisierten Lycopinisomere

In Humanplasma kommt eine Vielzahl von Lycopinisomeren vor. Laut Literatur konnten bis zu 30 verschiedene geometrische Isomere vom Lycopin in Humanblut und -gewebe detektiert werden (Clinton *et al.*, 1996; Clinton, 1998). Jedoch wurde die Struktur der einzelnen Isomere selten genauer charakterisiert. Abbildung 48 zeigt ein HPLC-Chromatogramm einer Carotinoidtrennung eines Plasmaextrakts. Unter den in dieser Arbeit verwendeten HPLC-Bedingungen ( $C_{30}$ -Säule, Gradient aus Methanol und MTBE) konnten folgende Konfigurations-

isomere des Lycopins detektiert und zugeordnet werden: (13Z)-, (15Z)-, (5Z,9'Z)-, (9Z)-, (5Z,9Z)-, (*all-E*)- und (5Z)-Lycopin. Nicht in jeder Humanplasmaprobe konnten alle aufgeführten Isomere detektiert werden. Ausserdem traten teilweise noch andere, bisher nicht charakterisierte Lycopinmetabolite auf. Die Zuordnung der Isomere (13Z)- und (15Z)-Lycopin muss noch mittels NMR-Daten bestätigt werden. Zum jetzigen Zeitpunkt wurden sie nur durch den Vergleich der Retentionszeiten, der Q-Verhältnisse und der Verhältnisse der einzelnen Isomere untereinander mit verschiedenen Literaturdaten zugeordnet.



**Abbildung 48:** HPLC-Chromatogramm eines Plasmaextraktes

1 = (*all-E*)-Lutein, 2 = (*all-E*)-Zeaxanthin, 3 = (*all-E*)-Canthaxanthin, 4 = (*all-E*)- $\beta$ -Cryptoxanthin, 5 = Echinonon (IS), 6 = (13Z)- $\beta$ -Carotin, 7 = (*all-E*)- $\alpha$ -Carotin, 8 = (*all-E*)- $\beta$ -Carotin, 9 = (9Z)- $\beta$ -Carotin, 10 = (13Z)-Lycopin, 11 = (15Z)-Lycopin, 12 = (5Z,9'Z)-Lycopin, 13 = (9Z)-Lycopin, 14 = (5Z,9Z)-Lycopin, 15 = (*all-E*)-Lycopin, 16 = (5Z)-Lycopin

Die unter den im Rahmen dieser Arbeit verwendeten HPLC-Bedingungen beobachtete Elutionsreihenfolge der Lycopinisomere stimmt im Grossen und Ganzen mit den in der Literatur beschriebenen HPLC-Trennungen auf C<sub>30</sub>-Säulen überein (siehe auch Kapitel 2.2.2). Carotinoidtrennungen auf C<sub>18</sub>-HPLC-Säulen zeigten dagegen teilweise völlig andere Elutionsreihenfolgen.

Untersuchungen von Breitenbach *et al.* führten zu von unseren Ergebnissen leicht abweichenden Beobachtungen. Bei der HPLC-Trennung eines Lycopinmetabolitengemisches, welches mit Hilfe von Carotinoid-Desaturasen aus *E. coli*-Zellen hergestellt wurde, trat bei 45 - 50 min ein Signal auf, welches vermutlich drei verschiedene Verbindungen enthält. Der erste Peak wurde nicht genauer charakterisiert, der zweite Peak als (9Z)-Lycopin und der dritte

Peak als (5Z,9'Z)-Lycopin bezeichnet (Breitenbach *et al.*, 2001). Wir konnten mittels der NMR-Untersuchungen abweichend davon folgende Elutionsreihenfolge in diesem Chromatogrammbereich feststellen: (5Z,9'Z)-Lycopin, (9Z)-Lycopin, (5Z,9Z)-Lycopin. Breitenbach *et al.* verwendeten ebenfalls eine C<sub>30</sub>-Säule für die HPLC-Trennung, jedoch eine etwas andere mobile Phase (Gradient aus MeOH/MTBE/H<sub>2</sub>O). Es ist jedoch fraglich, ob diese geringe Abweichung des Gradienten ausreichend ist, um die Elutionsreihenfolge umzukehren. Wenn man bedenkt, wie schwierig die Unterscheidung zwischen den beiden di-(Z)-Isomeren war (5.1.2.3), wäre auch möglich, dass die Zuordnung der di-(Z)-Isomere bei den dort beschriebenen Trennungen nicht korrekt ist. Wie die Charakterisierung der Isomerenstrukturen in den vorgestellten Untersuchungen durchgeführt wurde, war aus der Literatur nicht ersichtlich.

Die Arbeitsgruppe von Lee und Chen beschrieb ebenfalls abweichende Elutionsreihenfolgen, besonders in Hinsicht auf das (5Z)-Lycopin (Lee & Chen, 2001; Lee & Chen, 2002; Wang & Chen, 2006). Die HPLC-Trennung erfolgte mittels einer C<sub>30</sub>-Säule als stationäre und einem Gemisch aus 1-Butanol, Acetonitril und Dichlormethan als mobile Phase. Ein relativ kleiner Peak, welcher zwischen dem (9Z)- und (*all-E*)-Lycopin eluierte, wurde als (5Z)-Lycopin bezeichnet (Tabelle 3). Sehr unwahrscheinlich ist, dass sich die Reihenfolge der Peaks auf einer C<sub>30</sub>-Säule trotz abweichender mobiler Phase so stark ändert. Bei der Trennung eines Lycopinisomerengemisches bzw. einer Plasmaprobe mit den von Lee und Chen beschriebenen HPLC-Bedingungen eluierten die Lycopinisomere in der gleichen Reihenfolge wie in Abbildung 48 beschrieben, nur mit kürzeren Retentionszeiten (Daten nicht gezeigt). Die Zuordnung wurde im Falle dieser Verbindung von Lee und Chen nur mit Hilfe des ermittelten Q-Verhältnisses durchgeführt. Das Q-Verhältnis des als (5Z)-Lycopin bezeichneten Peaks betrug dabei 0,34, was für das (5Z)-Lycopinisomer viel zu hoch ist (siehe Tabelle 23). So lässt sich demzufolge schlussfolgern, dass die Zuordnung des (5Z)-Lycopins nicht korrekt ist.

### 5.1.3 Untersuchungen zur antioxidativen Aktivität von Lycopinisomeren

Die Untersuchungen an sechs ausgewählten Lycopinisomeren, welche aus einer Lycopinmetabolitenmischung isoliert wurden, zeigten eindeutig, dass analog zu verschiedenen Carotinoidverbindungen auch innerhalb eines Carotinoids Unterschiede bei der antioxidativen Aktivität zwischen den einzelnen Isomeren bestanden.

(*all-E*)-Lycopin und (*5Z*)-Lycopin zeigten sowohl im TEAC-Assay als auch im PCL-Assay eine vergleichbare ( $p > 0,05$ ) antioxidative Aktivität, was in der ähnlichen Struktur dieser beiden Isomere begründet ist. Dagegen lagen die Aktivitäten vom (*5Z,9Z*)-, (*5Z,9'Z*)-, (*9Z*)- und (*13Z/15Z*)-Lycopin signifikant bzw. tendentiell höher im Vergleich zum (*all-E*)-Lycopin. Böhm *et al.* erhielten bei ihren Untersuchungen vergleichbare Resultate (Böhm *et al.*, 2002). Im TEAC-Test war für die antioxidative Kapazität der untersuchten sechs Lycopinisomere folgende Reihenfolge zu beobachten: (*all-E*) = (*5Z*) < (*9Z*) = (*5Z,9Z*) < (*13Z/15Z*) = (*5Z,9'Z*).

Die unterschiedlichen Absolutwerte, aber auch teilweise dadurch entstehende voneinander abweichende Gesamtaussagen (speziell beim (*13Z/15Z*)-Lycopin) zwischen dem TEAC-Assay und dem PCL-Assay beruhen auf den unterschiedlichen Messprinzipien der beiden Methoden. Beide Tests bestimmen zwar die Scavenger-Eigenschaften der untersuchten Verbindungen, jedoch bestehen grundlegende Unterschiede in der Methodik (siehe auch Kapitel 3.4.4.1). Interessant wäre die Messung der verschiedenen Isomere auch in weiteren antioxidativen Assays, jedoch sind bisher für lipophile Antioxidantien kaum brauchbare Testsysteme vorhanden. In der Zukunft ist geplant, neue für Carotinoide anwendbare Tests zu etablieren und die Untersuchungen für die Lycopinisomere auszuweiten.

Bedenkt man, dass im menschlichen Körper Lycopin bis zu 75 % als (*Z*)-Lycopin vorliegt (Kapitel 2.2.2) und die biologische Wirkung von Lycopin u. a. auf seinem antioxidativen Potential beruht, könnten sich die hier beschriebenen Resultate als bedeutend für die Erklärung des Auftretens der vielen (*Z*)-Isomere im Körper erweisen. Da diese *in-vitro*-Befunde jedoch nicht direkt auf die *in-vivo*-Situation übertragbar sind, sind weitere Studien dazu unumgänglich.

## 5.2 Untersuchungen von Lebensmitteln

### 5.2.1 Tomaten und Tomatenprodukte

Die Untersuchungen von jeweils 8 bzw. 9 Handelsproben von Tomaten, Tomatensäften, Tomatenketchups, Dosentomaten (Pizzatomaten), passierten Tomaten und Tomatensaucen zeigten, dass sich die einzelnen Handelsproben innerhalb einer Produktgruppe, sowie die Produktgruppen untereinander zum Teil erheblich in den Carotinoid- und Vitamin-C-Gehalten unterscheiden.

In allen Tomaten und Tomatenprodukten wurden Lycopin in verschiedenen isomeren Formen als Hauptcarotinoid sowie  $\beta$ -Carotin detektiert. In den untersuchten Tomaten, jedoch nicht in den verarbeiteten Tomatenprodukten konnten zusätzlich geringe Mengen an Lutein quantifiziert werden. Die Zusammensetzungen stimmten gut mit publizierten Daten von roten Tomaten und Tomatenprodukten überein (Shi & Le Maguer, 2000; Sicilia, 2004). Andere Tomatensorten, wie z. B. gelbfarbige Tomaten können auch davon abweichende Carotinoidzusammensetzungen aufweisen (Shi & Le Maguer, 2000).

In Bezug auf die (*all-E*)-Luteingehalte unterschieden sich die Tomatenproben (0,04 – 0,10 mg/100 g FM) beträchtlich von den verarbeiteten Tomatenerzeugnissen (< 0,002 mg/100 g FM). Eine mögliche Erklärung für diese signifikanten Unterschiede könnten in einer geringeren Luteinstabilität im Vergleich zur Lycopin- oder  $\beta$ -Carotinstabilität während der Tomatenverarbeitung liegen. Weiterhin spielt eine Rolle, dass Lutein im Gegensatz zu den beiden anderen Carotinoiden nur in geringen Mengen in Tomaten vorkommt und sich somit ein Abbau während der Verarbeitung stark bemerkbar macht. Takeoka et al. (Takeoka *et al.*, 2001) beobachteten ebenfalls, dass der Luteingehalt, gefolgt von  $\beta$ -Carotin, während der Tomatenverarbeitung am stärksten abnimmt.

Die durchschnittlichen (*Gesamt*)-Lycopingehalte waren mit 14,0 – 19,8 mg/100 g FM bei den verarbeiteten Tomatenprodukten (Tomatensäfte, Tomatenketchups, Dosentomaten, passierte Tomaten) signifikant ( $p < 0,05$ ) höher als bei den unverarbeiteten Tomaten ( $9,4 \pm 2,9$  mg/100 g FM). Ein Grund für die höheren Gehalte ist im Wasserverlust (Konzentrierung der Tomatenmasse) während der Weiterverarbeitung von Tomaten zu Tomatenprodukten zu sehen. Für die Herstellung von Tomatenerzeugnissen werden außerdem z. T. spezielle lycopinreiche Tomatensorten als Rohmaterial verwendet (Abushita *et al.*, 2000). Die Lycopingehalte in Tomaten werden zusätzlich zur Sorte auch durch zahlreiche weitere Fakto-

ren, wie zum Beispiel Wachstumsbedingungen (Temperatur, Feuchtigkeit, Sonnenstunden, etc.), Reifegrad und Lagerung beeinflusst (Lurie *et al.*, 1996; Nguyen & Schwartz, 1998; Leonardi *et al.*, 2000; Gautier *et al.*, 2005; Lewinsohn *et al.*, 2005; Slimestad & Verheul, 2005; Krauss *et al.*, 2006). Die erhaltenen Daten lassen vermuten, dass es während der Herstellung von Tomatensäften, Tomatenketchups, Dosentomaten, passierten Tomaten und Tomatensaucen kaum zum Abbau von Lycopin kommt. Zur Veränderung von Lycopin während der Tomatenverarbeitung liegen z. T. widersprüchliche Daten vor. Untersuchungen von Dewanto *et al.* (Dewanto *et al.*, 2002) zeigten eine Erhöhung der (*all-E*)-Lycopingehalte bei der thermischen Behandlung von Tomaten. Diese Ergebnisse wurden mit einer erhöhten Freisetzung von Lycopin aus der Zellmatrix nach der Erhitzung begründet. Eine unvollständige Extraktion der Carotinoide aus den rohen Tomaten kann bei der in dieser Arbeit verwendeten Methode aufgrund der farblosen Extraktionsrückstände ausgeschlossen werden. Abnehmende Gehalte an Lycopin nach der Verarbeitung von Tomaten wurden von Graziani *et al.* (Graziani *et al.*, 2003) und Seybold *et al.* (Seybold *et al.*, 2004) beobachtet. Der Abbau von Lycopin wird durch verschiedene Faktoren wie z. B. Temperatur, Sauerstoffgehalt und Lichteinstrahlung beeinflusst (Shi & Le Maguer, 2000). In zahlreichen Untersuchungen (Khachik *et al.*, 1992; Nguyen & Schwartz, 1998; Abushita *et al.*, 2000; Agarwal *et al.*, 2001; Nguyen *et al.*, 2001; Takeoka *et al.*, 2001) wurde dagegen nachgewiesen, dass in die Tomatenmatrix eingebundenes Lycopin relativ resistent gegenüber Abbau- und Isomerisierungsreaktionen während der Lebensmittelverarbeitung ist. Im Gegensatz zur hohen Stabilität von Lycopin in Tomaten wurde in Modellsystemen (Lycopin in Distelöl) beobachtet, dass Lycopin eine hohe Anfälligkeit gegenüber Oxidation und thermischen Abbau aufweist. Im Vergleich zu anderen Carotinoiden (Lutein,  $\beta$ -Carotin) zeigte Lycopin in dem Modellsystem eine etwa doppelt so hohe Reaktionsrate (Henry *et al.*, 1998). Die Gründe für die hohe Stabilität von Lycopin in Tomaten und Tomatenprodukten ist noch nicht eindeutig geklärt. Denkbar ist, dass andere antioxidativ wirksame Tomateninhaltsstoffe wie z. B. Vitamin C, Vitamin E oder auch andere Carotinoide (z. B.  $\beta$ -Carotin) eine Rolle beim Schutz des Lycopins vor Abbauprozessen spielen. Ausserdem scheint die Einbindung in die Zellmatrix einen schützenden Effekt auf das Lycopin zu haben.

In Tomaten und Tomatenprodukten waren neben dem thermodynamisch stabilen (*all-E*)-Lycopin auch verschiedene (*Z*)-Lycopinisomere zu finden. Bisher wurden folgende (*Z*)-Isomere des Lycopins in Tomatenerzeugnissen charakterisiert: (*5Z*)-, (*9Z*)-, (*13Z*)- und (*15Z*)-Lycopin (Schierle *et al.*, 1997). In allen untersuchten Proben von Tomaten und Tomatenerzeugnissen

konnten (*all-E*)-, (*13Z*)-, (*15Z*)- und (*9Z*)-Lycopin detektiert und mittels Retentionszeitenvergleich und spektroskopischer Methoden eindeutig identifiziert werden (5.1.2). (*5Z*)-Lycopin wurde dagegen in keiner der untersuchten Proben detektiert.

Während der Tomatenverarbeitung und -lagerung kann es zu trans-cis-Isomerisierungen von Carotinoiden kommen. Hitze, Licht, Säuren und andere Faktoren können die Isomerisierung von Lycopin beeinflussen (Shi & Le Maguer, 2000). In den untersuchten Tomaten, Tomatensäften, Tomatenketchups, Dosentomaten und passierten Tomaten lag Lycopin zu über 90 % als (*all-E*)-Lycopin und zu unter 10 % als (*Z*)-Lycopinisomere vor. Die durchschnittlichen Isomerenverhältnisse dieser Produktgruppen unterschieden sich nicht signifikant ( $p > 0,05$ ) voneinander. Im Vergleich dazu war bei der Gruppe der Tomatensaucen der durchschnittliche Anteil an (*all-E*)-Lycopin mit  $81,7 \pm 10,1$  % signifikant niedriger bzw. der Anteil an (*Z*)-Lycopin mit  $18,3 \pm 10,1$  % signifikant höher ( $p < 0,05$ ). Schierle et al. (Schierle *et al.*, 1997) fanden in Tomatenpaste und Tomatenketchup Anteile an (*all-E*)-Lycopin am (*Gesamt*)-Lycopin von 77 % bis zu 96 % und in Tomatensauce von 35 % bis 93 %. Die Hitzebehandlung scheint bei der Herstellung von Tomatenerzeugnissen der aggressivste Prozessschritt zu sein. Die Literaturdaten zum Einfluss von Hitze auf die Lycopinisomerenverhältnisse von Tomatenerzeugnissen sind teilweise widersprüchlich. Nguyen *et al.* und Abushita *et al.* (Nguyen & Schwartz, 1998; Abushita *et al.*, 2000; Nguyen *et al.*, 2001) zeigten, dass eine Hitzebehandlung während üblicher Zubereitungs- und industrieller Produktionsverfahren zu keiner signifikanten Änderung der Isomerenverteilung führte. Der Anteil an (*Z*)-Lycopinisomeren am (*Gesamt*)-Lycopin stieg jedoch als Funktion der Erhitzungszeit an (Nguyen & Schwartz, 1998). Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den signifikant höheren Anteilen an (*Z*)-Isomeren bei den untersuchten Tomatensaucen. Saucen werden im Vergleich zu anderen Tomatenerzeugnissen bei der Herstellung über einen längeren Zeitraum erhitzt. Außerdem werden vor dem Erhitzen den Tomatensaucen Speiseöle zugesetzt, welche die Stabilität des Lycopins beeinflussen können. Untersuchungen zeigten, dass eine Erhitzung von Tomatenpaste, -saft oder Lycopin in Speiseöl (Olivenöl, Maiskeimöl bzw. Sonnenblumenöl) einen größeren Einfluss als die Erhitzung in Wasser hat (Schierle *et al.*, 1997; Agarwal *et al.*, 2001; Seybold *et al.*, 2004). Im Gegensatz dazu wurde in einer anderen Studie Tomatenpüree mit 5 % Olivenölzusatz über neun Stunden erhitzt und dabei ein verringerter Lycopinabbau beobachtet (Graziani *et al.*, 2003). Dieser Effekt wurde den antioxidativ wirksamen Polyphenol-Verbindungen des Olivenöls zugeschrieben, welche die Carotinoide vor Oxidationsprozessen schützen können. Die z. T. gegensätzlichen Ergebnisse zeigen deutlich die Notwendigkeit

von weiteren Untersuchungen, um den Einfluss von Speiseöl auf die Stabilität von Carotinoiden in Tomatenprodukten eindeutig zu klären. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass nicht nur Dauer und Temperatur der Erhitzung, sondern auch andere Zutaten der Tomatenerzeugnisse einen Einfluss auf die Lycopinstabilität haben.

Die in rohen Tomaten im Vergleich zu Tomatenprodukten signifikant ( $p < 0,05$ ) höheren Gehalte an  $\beta$ -Carotin lassen vermuten, dass  $\beta$ -Carotin anfällig gegenüber Lebensmittelverarbeitungsprozessen (beispielsweise Homogenisierung, Hitzebehandlung) ist. Dies kann auch durch die Untersuchungen von Abushita et al. (Abushita *et al.*, 2000) bestätigt werden, in denen festgestellt wurde, dass während der Verarbeitung von Tomaten der  $\beta$ -Carotingehalt im Vergleich zum Lycopingehalt im stärkeren Maße abnimmt. Tavares und Rodriguez-Amaya (Tavares & Rodriguez-Amaya, 1994) beobachteten ebenfalls eine Abnahme der  $\beta$ -Carotin-Gehalte bei der Herstellung von Tomatensaft aus frischen Tomaten.

Desweiteren wurden vier Tomatensorten (Celsior, Black Cherry, Bloody Butcher, Sieger), drei verschiedene Tomatenpulver und eine Probe getrocknete Tomatenscheiben auf ihre Carotinoidzusammensetzung untersucht. Die Carotinoidgehalte der vier Tomatensorten waren vergleichbar mit denen der Tomatenproben vom Hessischen Rundfunk und stimmten ebenfalls gut mit publizierten Daten überein (Shi & Le Maguer, 2000; Sicilia, 2004). Die Sorte Black Cherry zeigte einen (*Gesamt*)-Lycopingehalt von  $2,9 \pm 0,3$  mg/100 g. Dieser relativ geringe Lycopingehalt lässt sich gut mit der von den anderen untersuchten Tomaten abweichenden braun-rötlichen Färbung dieser Tomaten in Einklang bringen. Während das Perikarp eine rötliche Farbe besaß, war das Fruchtfleisch dieser Sorte jedoch vollständig braun gefärbt. Die Verhältnisse von (*all-E*)- zu (*Z*)-Lycopin zeigten in den untersuchten Proben keine Auffälligkeiten. Die Isomerenverhältnisse der Sorten Bloody Butcher und Sieger stimmten mit über 90 % (*all-E*)-Lycopin mit denen der neun untersuchten Tomatenproben des Hessischen Rundfunks (Sorten unbekannt) überein. Die etwas niedrigeren Anteile von (*all-E*)-Lycopin am (*Gesamt*)-Lycopin in den Tomatensorten Celsior (88,7 %) und Black Cherry (85,0 %) liegen immer noch im biologischen Schwankungsbereich für rote Tomaten. In den getrockneten Tomatenerzeugnissen (Tomatenpulver, getrocknete Tomatenscheiben) waren (*Gesamt*)-Lycopingehalte von über 45 mg/100 g FM zu beobachten. Diese hohen Werte sind in der Konzentrierung der Inhaltsstoffe durch den Wasserverlust während der Herstellung begründet. Der relativ geringe Anteil an (*Z*)-Lycopinisomeren (unter 10 %) bei diesen Produkten bestätigt die Hypothese, dass Lycopin in Tomaten durch die

Tomatenmatrix bzw. durch andere Tomateninhaltsstoffe geschützt wird und es somit bei der Verarbeitung kaum zu Isomerisierungsprozessen kommt.

Als Vertreter hydrophiler antioxidativ wirksamer Tomateninhaltsstoffe wurde Vitamin C in den Tomaten und Tomatenprodukten (Hessischer Rundfunk) analysiert. In den rohen Tomaten konnten Gehalte an Vitamin C zwischen  $20,5 \pm 0,3$  mg/100 g FM und  $42,3 \pm 0,4$  mg/100 g FM quantifiziert werden. Je nach Sorte und Anbaubedingungen von Tomaten kann der Vitamin-C-Gehalt stark variieren (Abushita *et al.*, 1997). Bei den verarbeiteten Tomatenerzeugnissen war im Vergleich zu rohen Tomaten ein deutlich erniedrigter Vitamin-C-Gehalt feststellbar. Untersuchungen zeigten (Gärtner *et al.*, 1997; Böhm & Bitsch, 1999; Giovanelli *et al.*, 2001; Dewanto *et al.*, 2002), dass insbesondere durch die thermische Behandlung von Tomaten der Gehalt an Vitamin C minimiert wird. Gahler *et al.* (Gahler *et al.*, 2003) stellten ebenfalls eine signifikante Abnahme des Gehaltes an Vitamin C während der Erhitzung von Tomaten und bei der Herstellung von Tomatensaft und Tomatensauce fest. Während des Erhitzungsprozesses kommt es zu einer beschleunigten Oxidation der Ascorbinsäure zur Dehydroascorbinsäure und anschließender Hydrolyse zu 2,3-Diketogulonsäure und anderen Metaboliten. Die Abbauprodukte besitzen keine Vitaminwirksamkeit mehr. Die Gehalte an Vitamin C in tomatenhaltigen Lebensmitteln sind im Vergleich zu anderen Lebensmitteln (Kohl, grünes Gemüse, Zitrusfrüchte u.a.) relativ niedrig, aber aufgrund der teilweise hohen Verzehrsmengen dieser Produkte können Tomaten und Tomatenprodukte eine beträchtliche Rolle in der Gesamt-Vitamin-C-Aufnahme spielen.

Für die diätetische Relevanz dieser Ergebnisse muss beachtet werden, dass Dosentomaten, passierte Tomaten, Tomatensoßen und z. T. auch rohe Tomaten vor dem Verzehr von den meisten Konsumenten erhitzt werden. Im Gegensatz dazu werden Tomatensäfte, Tomatenketchup und häufig auch frische Tomaten normalerweise ohne weitere Verarbeitung verzehrt. Die Gehalte der verschiedenen Tomateninhaltsstoffe können sich durch Weiterverarbeitung abermals ändern. Im Hinblick auf die gesteigerte Carotinoidbioverfügbarkeit (Gärtner *et al.*, 1997; Böhm & Bitsch, 1999), aber verminderten Vitamin-C-Gehalte von verarbeiteten Tomatenprodukten scheint eine Kombination von rohen Tomaten und verarbeiteten Tomatenprodukten für eine ausgewogene Ernährung sinnvoll zu sein.

### 5.2.2 Hagebutten und Hagebuttenprodukte

Die Hagebutte ist schon seit Jahrhunderten in der Medizin und Volksheilkunde bekannt und wurde bis jetzt insbesondere aufgrund ihres hohen Gehaltes an Vitamin C geschätzt (Schroeder & Braun, 1941). Dennoch ist sie in den letzten Jahrzehnten etwas in Vergessenheit geraten. Der Trend zum ökologischen Obstbau, der nach alternativen Obstsorten verlangt, führte zu Wiederentdeckung bereits ignoriert oder gar in Vergessenheit geratener Wildobstsorten, wie z. B. der Wildrose. Die aufgrund hoher Gehalte an Vitaminen und sekundären Pflanzeninhaltsstoffen große ernährungsphysiologische und pharmazeutische Wertigkeit der Früchte in Verbindung mit vielseitigen Verwendungsmöglichkeiten machte sie in den vergangenen Jahren als Rohstoff für Pharmazie, Kosmetik- und Lebensmittelindustrie interessant. Besonders Verbraucher, für die eine gesunde Ernährung eine besondere Rolle spielt, schätzen in den letzten Jahren verstärkt das Angebot an Hagebuttenprodukten in Form von Säften und Konfitüren.

Fünfzehn verschiedene Hagebuttensorten (*R. canina*, *R.-canina-Hybride*, *R. caesia*, *R. glauca*, *R. corymbifera*, *R. dumalis*, *R. dumalis x pendulina*, *R. duplex*, *R. pendulina*, *R. pimpinellifolia*, *R. rugosa*, *R. rubiginosa*, *R. sheradii*, *R. tomentosa*, *R. virginiana*) aus drei unterschiedlichen Anbaugebieten und drei verschiedenen Erntejahren (2003 – 2005), drei verschiedene Reifestadien (grün, orange, rot) der Sorte *Rosa rugosa* und acht Hagebuttenprodukte aus dem deutschen Lebensmittelhandel wurden u. a. auf die Gehalte an Vitamin C und Carotinoiden untersucht.

#### Hagebutten

Unverarbeitete Hagebutten wiesen mit  $1,9 \pm 0,1$  g/100 g TM (*Rosa-canina-Hybride*) und  $7,2 \pm 0,2$  g/100 g TM (*Rosa glauca*), was je nach Wassergehalt der einzelnen Sorten etwa 1 g/100 g Frischmasse entspricht, beträchtliche Gehalte an Vitamin C auf. Die in den unterschiedlichen Hagebuttensorten gemessenen Vitamin-C-Gehalte sind mit Literaturdaten vergleichbar (Schroeder & Braun, 1941; Stamberg, 1945; Gao *et al.*, 2000). Die Ergebnisse zeigten eindeutig, dass der Vitamin-C-Gehalt in Hagebutten sehr hohen biologischen Schwankungen unterliegt und von zahlreichen Faktoren wie z. B. Sorte, Standort, Reifegrad, Klimabedingungen abhängt. Bei der Untersuchung der drei Reifestadien der *Rosa rugosa* konnte festgestellt werden, dass während der Reifung der Gehalt an Vitamin C in den Früchten abnimmt. Daher ist anzunehmen, dass die Hagebutte das Vitamin C nutzt, um ihre Früchte während der Reifung vor oxidativem Stress zu schützen. Zusammenfassend kann man sagen, dass

die Hagebutten zu den reichsten, natürlichen Vitamin-C-Quellen unserer Pflanzenwelt gehören und dass man ihnen demzufolge gesundheitsfördernde Wirkungen zuschreiben kann. Sie enthalten etwa 25fach mehr Vitamin C als Zitronen, 10fach mehr als Paprika und dreifach mehr als Sanddornbeeren (Laske, 2005).

In den untersuchten Hagebuttensorten konnte eine Vielzahl unterschiedlicher Carotinoide detektiert werden. In den meisten Sorten war Lyopin das mengenmäßig am häufigsten vertretene Carotinoid in den Hagebuttenfrüchten. Weiterhin enthielten die Hagebutten Lutein, Zeaxanthin,  $\beta$ -Cryptoxanthin,  $\alpha$ -Carotin,  $\beta$ -Carotin, Rubixanthin, verschiedene Xanthophyllester und weitere noch nicht genauer charakterisierte Carotinoide bzw. Carotinoidester. Die qualitative Zusammensetzung der untersuchten Früchte stimmte mit den Literaturdaten (Schroeder & Braun, 1941; Razungles *et al.*, 1989; Hodisan *et al.*, 1997; Hornero-Mendez & Minguez-Mosquera, 2000) überein. Trotz der teilweise beträchtlichen Unterschiede in der Carotinoidzusammensetzung der verschiedenen Hagebuttensorten kann man zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht sagen, ob eine Identifizierung der Sorte aufgrund der unterschiedlichen Verteilung der Carotinoide möglich ist. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um eindeutig zu klären, ob die Hagebuttensorte oder aber andere Faktoren, wie beispielsweise Standort, Wachstumsbedingungen und Erntejahr die Carotinoidzusammensetzung der Früchte von Wildrosen beeinflusst.

Zusätzlich zu den Carotinoiden sind als weitere antioxidativ wirksame lipophile Verbindungen der Hagebutten die Tocopherole und Tocotrienole zu nennen. In den unterschiedlichen Hagebuttensorten konnten (*Gesamt*)-Vitamin-E-Gehalte von  $2,2 \pm 0,1 \mu\text{mol}/100 \text{ g FM}$  (*Rosa pimpinellifolia*) bis  $11,2 \pm 0,4 \mu\text{mol}/100 \text{ g FM}$  (*Rosa virginiana*) gemessen werden (Daten nicht gezeigt). Im Vergleich dazu hatten frische Tomaten (Tomaten-Interventionsstudie, Tabelle A 23) (*Gesamt*)-Vitamin-E-Gehalte von  $0,3 - 0,7 \mu\text{mol}/100 \text{ g FM}$ .  $\alpha$ -Tocopherol war mit Gehalten von  $0,8 \pm 0,0 \text{ mg}/100 \text{ g FM}$  (*Rosa pimpinellifolia*) bis  $3,2 \pm 0,1 \text{ mg}/100 \text{ g}$  (*Rosa virginiana*) das Hauptvitamer in unverarbeiteten Hagebutten. Zusätzlich zum  $\alpha$ -Tocopherol waren weitere Tocopherole und Tocotrienole in geringen Mengen vorhanden (Laske, 2005). Diese Daten zeigten, dass der Verzehr von Hagebuttenerzeugnissen auch einen Beitrag zur Vitamin-E-Versorgung des Menschen liefern kann.

Außerdem waren mit der Methode von Folin-Ciocalteu beträchtliche Gesamtphenolgehalte in den Hagebutten messbar. 24 – 58 % des Gesamtphenol-Gehaltes konnten dem Vitamin C

zugeschrieben werden, welches aufgrund seiner Struktur ebenfalls im Folin-Ciocalteu-Test reagiert. Diese Untersuchungen zeigten, dass zusätzlich zum Vitamin C auch Polyphenole zum hohen hydrophilen antioxidativen Potential der Hagebutten beitragen (Laske, 2005).

### **Hagebuttenprodukte**

Da Hagebutten nicht roh verzehrt werden, wurden zusätzlich zu unverarbeiteten Hagebutten verschiedene Hagebuttenprodukte (Konfitüren, Mark) untersucht. Das bekannteste Hagebuttenprodukt ist vermutlich der Hagebuttentee. Da dieser aufgrund seiner Zubereitung (Aufgiessen getrockneter Hagebutten mit heißem Wasser) aber nur wasserlösliche Verbindungen und demzufolge keine lipophilen Carotinoide enthält, wurde diese Produktgruppe in die Untersuchungen nicht mit einbezogen.

In den untersuchten Hagebuttenprodukten lagen die Vitamin-C-Gehalte mit etwa 32 - 173 mg/100 g FM deutlich unter den Gehalten in den unverarbeiteten Hagebuttenfrüchten. Ein Grund für die geringeren Gehalte ist darin zu sehen, dass die Produkte nicht zu 100 % aus Hagebutten bestanden, sondern der Fruchtgehalt nur bei 39 – 62 % lag (Tabelle 11). Weiterhin kann es bei der Verarbeitung von Hagebutten zu Hagebuttenmark bzw. -konfitüre wie bei den Tomatenprodukten (5.2.1) zum Abbau von Vitamin C, hauptsächlich bedingt durch Erhitzungsprozesse, kommen. Trotz der Vitamin-C-Verluste sind in Produkten, welche aus Hagebutten hergestellt werden, im Vergleich zu anderen verarbeiteten Lebensmitteln noch beträchtliche Mengen an Vitamin C enthalten.

Lycopin war mit (*Gesamt*)-Lycopingehalten von 2,3 – 5,2 mg/100 g FM das mengenmäßig bedeutendste Carotinoid in den untersuchten Hagebuttenerzeugnissen. Die „Hagebutten-Marmelade“ unterschied sich in ihrer Carotinoidzusammensetzung (Isomerenverhältnisse, Xanthophyllester) von den anderen Hagebuttenprodukten. Dieser Unterschied kam dadurch zustande, dass verschiedene Hagebuttensorten als Rohware für die Herstellung eingesetzt wurden. Industriell hergestellte Hagebuttenprodukte werden zum größten Teil aus der Sorte *Rosa canina* hergestellt, was vermutlich auch bei den untersuchten Produkten der Fall war. Als Ausgangsprodukt der „Hagebutten-Marmelade“ wurden jedoch Früchte der Sorte *Rosa rugosa* verwendet.

**Zusammenfassend** lässt sich sagen, dass Hagebutten und Hagebuttenprodukte einen hohen Gehalt an lipophilen und hydrophilen antioxidativen Inhaltsstoffen aufweisen. Sie können

somit als „altes Hausmittel“ neue Möglichkeiten in der Prävention verschiedenster Erkrankungen, wie beispielsweise kardiovaskuläre Erkrankungen und Krebs, bieten. Industriell werden hauptsächlich Früchte aus dem Formenkreis der Hundsrosen (*Rosa canina*) verwendet (Wildfruchttagung, 1997). Aufgrund der teilweise großen Unterschiede zwischen den einzelnen Hagebuttensorten ist der bevorzugte Einsatz bestimmter Hagebuttensorten mit hohem Gehalten an antioxidativen Verbindungen für die Produktion von Hagebuttenprodukten (Marmeladen, Püree) zu überdenken. Dafür müsste jedoch noch geklärt werden, inwieweit sich andere Hagebuttensorten für die großtechnische Verarbeitung eignen und ob sie in ausreichender Menge zur Verfügung stünden.

### 5.2.3 Weitere lycopinhaltige Lebensmittel

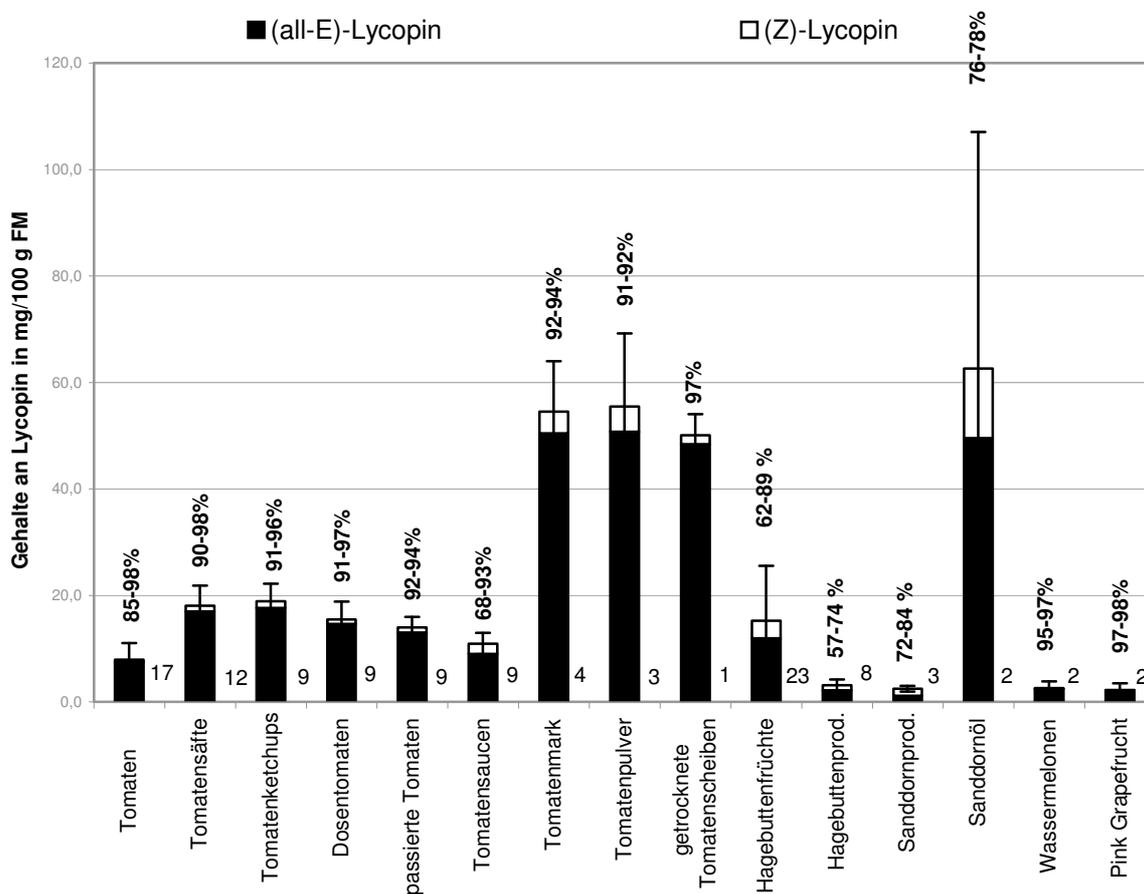
In aus Sanddornbeeren hergestellten Erzeugnissen konnte Lycopin in unterschiedlichen Gehalten quantifiziert werden. Die zwei untersuchten Sanddornöle wiesen mit  $94 \pm 6$  mg/100 g FM und  $31 \pm 1$  mg/100 g FM hohe (*Gesamt*)-Lycopingehalte auf. Die hohen Carotinoidgehalte lassen darauf schließen, dass es sich bei den beiden untersuchten Proben um Sanddornfruchtfleischöle und nicht um Sanddornkernöle handelte. Sanddornöle werden aufgrund ihrer hohen Gehalte an Vitamin C, Vitamin E und Carotinoiden in der Kosmetikindustrie (Cremes, Lotions, Seife) sowie in der Nahrungsmittelindustrie (Farbstoffe, Nahrungsergänzungsmittel) eingesetzt. Sie sollen entzündungshemmende und krebspräventive Eigenschaften besitzen und werden u. a. aufgrund ihrer Licht- und Sonnenschutzwirkung bzw. gegen Sodbrennen und bei Magenerkrankungen eingesetzt.

Der untersuchte Sanddornfruchtaufstrich bzw. die Sanddornsäfte wiesen deutlich niedrigere (*Gesamt*)-Lycopingehalte (0,96 – 1,65 mg/100 g FM) als die Sanddornöle auf. Dies ist dadurch erklärbar, dass zum einen im Sanddornöl die lipophilen Inhaltsstoffe sehr konzentriert vorlagen und zum anderen in dem Sanddornfruchtaufstrich und in den Sanddornsäften nur 10 – 55 % Sanddornmark (deklarierte Inhaltsstoffe nicht gezeigt) eingesetzt wurden.

Die analysierten (*Gesamt*)-Lycopingehalte der Wassermelonen (1,7 – 3,5 mg/100 g FM) und Pink Grapefruits (1,3 – 3,1 mg/100 g FM) stimmten mit Angaben aus der Literatur (Khachik *et al.*, 1989; Sandler *et al.*, 1990; Edwards *et al.*, 2003) überein. Die Lycopinisomerenverteilungen dieser beiden Lebensmittel (über 95 % (*all-E*)-Lycopin) waren mit denen von Tomatenerzeugnissen (5.2.1) vergleichbar.

### 5.2.4 Zusammenfassende Darstellung des Lycopinprofils ausgewählter Lebensmittel

In Abbildung 49 sind die auf Frischmasse bezogenen (*Gesamt*)-Lycopingehalte sowie die Verteilung der Lycopinisomere aller untersuchten Erzeugnisse graphisch dargestellt.



**Abbildung 49:** Gehalte an (*Gesamt*)-Lycopin [mg/100 g FM] der untersuchten Lebensmittel unterteilt in Anteile von (*all-E*)-Lycopin (■) und der Summe der (*Z*)-Lycopinisomere (□)

Zahlen neben den einzelnen Balken entsprechen der Probenzahl, Prozentzahlen über den einzelnen Balken entsprechen den prozentualen Anteilen der (*all-E*)-Lycopingehalte an den (*Gesamt*)-Lycopingehalten (Min-Max)

Diese Zusammenstellung zeigt deutlich, dass neben Tomaten- und Tomatenprodukten auch andere pflanzliche Produkte Lycopin enthalten. Obwohl die Gehalte in diesen Produkten in den meisten Fällen niedriger als die Lycopingehalte in Tomatenprodukten waren, sind sie aufgrund der protektiven Wirkungen des Lycopins und anderer Inhaltsstoffe eine interessante Alternative für eine gesunde, lycopinreiche Ernährung des Menschen.

Auffallend war weiterhin, dass bei Hagebutten und Sanddorn sowie Produkten aus diesen Wildfrüchten das Lycopin im Vergleich zu den anderen lycopinhaltigen Pflanzen tendentiell zu höheren Anteilen als (*Z*)-Lycopinisomere vorlag. In zukünftigen Untersuchungen wäre interessant zu testen, ob die Isomerenverhältnisse dieser Wildfrüchte signifikant unter-

schiedlich zu anderen lycopinhaltigen Pflanzen sind und wieso es zu diesen auffälligen Isomerenprofilen kommt.

### 5.3 Humanstudien

#### 5.3.1 Tomaten-Interventionsstudie

##### 5.3.1.1 Zusammensetzung des Interventionsmaterials

In der Tomaten-Interventionsstudie nahmen die Probanden vier Wochen lang täglich 12,5 mg Lycopin in Form von Tomaten, Tomatensaft oder Tomatenmark zu sich. Diese relativ hohe Lycopindosis wurden gewählt, um auch geringe Plasmagehalte einiger Verbindungen, beispielsweise der (*Z*)-Lycopinisomere, gut detektieren zu können. Die Dosis von 12,5 mg/d ist etwa zehnfach höher als die in der Nationalen Verzehrsstudie für Deutschland ermittelte tägliche Lycopinzufuhr von 1,28 mg (Pelz *et al.*, 1998). In einigen Ländern liegt die durchschnittliche tägliche Lycopinaufnahme um ein Mehrfaches höher als in Deutschland (siehe auch Kapitel 2.3.3). In Kanada wurde beispielsweise eine tägliche Aufnahme von über 25 mg/d ermittelt (Agarwal *et al.*, 2001). Bei Betrachtung dieser Daten sind 12,5 mg/d nicht als ungewöhnlich hoch einzuschätzen. Außerdem entsprechen 145 – 320 g Tomaten, 94 – 101 g Tomatensaft und 25 – 28 g Tomatenmark durchaus vertretbaren Verzehrsmengen.

Die Lycopingehalte und Isomerenverteilungen der verzehrten Lebensmittel lagen im normalen Schwankungsbereich für Tomaten- und Tomatenprodukte (siehe auch 5.2.1). Der relative Anteil von (*all-E*)-Lycopin am (*Gesamt*)-Lycopingehalt betrug bei den Tomaten 90 – 95 %, bei den Tomatensäften 95 – 98 % und beim Tomatenmark 92 – 94 % und war in diesem Fall nicht, wie teilweise angenommen, in den verarbeiteten Produkten niedriger als in den frischen Tomaten.

##### 5.3.1.2 Änderungen der Carotinoidgehalte im Plasma

###### **(Gesamt)-Lycopin**

Die (*Gesamt*)-Lycopingehalte im Plasma der Probanden lagen zu Studienbeginn (T-2) bei 0,57 – 0,78  $\mu\text{mol/L}$  und sanken während der zweiwöchigen Auswaschphase (T0), in welcher die Probanden sich lycopinarm ernährten, signifikant auf etwa die Hälfte des Ausgangswertes (T-2). In anderen Studien konnten vergleichbare Lycopin-Auswaschraten beobachtet werden (Böhm, 1999; Böhm & Bitsch, 1999; Allen *et al.*, 2003).

Der tägliche Verzehr von Tomaten, Tomatensaft bzw. Tomatenmark führte spätestens nach zwei Wochen zu einem signifikanten Anstieg der (*Gesamt*)-Lycopingehalte. Bis zum Ende der Interventionsphase blieben die hohen Lycopinplasmagehalte unverändert erhalten. Dieser „Plateau-Effekt“ konnte auch in anderen Studien (Böhm & Bitsch, 1999; Paetau *et al.*, 1999) beobachtet werden. Die nach vier Interventionswochen (T4) in allen drei Gruppen vergleichbaren Anstiege der (*Gesamt*)-Lycopingehalte stehen im Gegensatz zu früheren Untersuchungen, in welchen die Probanden täglich 5 mg Lycopin in Form von Tomaten, Tomatensaft bzw. Oleoresinkapseln verzehrten (Böhm & Bitsch, 1999). In dieser Studie konnte eine bessere intestinale Absorption von Lycopin aus Tomatensaft und Oleoresinkapseln im Vergleich zu rohen Tomaten beobachtet werden. Eine höhere Aufnahme von Lycopin aus verarbeiteten Tomatenprodukten im Vergleich zu unverarbeiteten Tomaten wurde auch in weiteren Untersuchungen beschrieben (Gärtner *et al.*, 1997; Porrini *et al.*, 1998; van het Hof *et al.*, 2000b).

Der erste Schritt bei der Carotinoidabsorption ist die Zerstörung der Lebensmittelmatrix sowie die Freisetzung der Carotinoide aus dieser Matrix sowie aus Protein-Carotinoid-Komplexen (Britton, 1995). Ein höherer Anstieg der Lycopinplasmagehalte konnte nach dem Verzehr von homogenisierten Tomaten im Vergleich zu ganzen Tomaten beobachtet werden (Shi & Le Maguer, 2000; van het Hof *et al.*, 2000b). Der Grund für die in der Tomaten-Interventionsstudie erstaunlich gute Aufnahme von Lycopin aus frischen Tomaten könnte möglicherweise sein, dass die Probanden die frischen Tomaten in relativ kleine Stücke zerschnitten haben und sich die Lycopinbioverfügbarkeit dadurch erhöht hat. Weiterhin ist bekannt, dass die intestinale Absorption stark vom Fettgehalt der Nahrung abhängig ist, da Fett essentiell für die Mizellenbildung und somit für die Carotinoidaufnahme ist (Borel *et al.*, 1996; Parker, 1997). Einige Probanden verzehrten ihre frischen Tomaten als Tomatensalat mit einem Öl-Dressing. Daher ist denkbar, dass die Tomatengruppe mehr Fett als die Tomatensaft- bzw. Tomatenmarkgruppe zu sich nahm, was ebenfalls eine erhöhte Bioverfügbarkeit zur Folge haben könnte. Weiterhin kann die Art der verzehrten Lipide die Carotinoidabsorption beeinflussen (Stahl & Sies, 1992; Borel *et al.*, 1996). Um den Einfluss der Lebensmittelmatrix und/oder der Lipidmenge bzw. -art genauer zu untersuchen, wäre es für zukünftige Untersuchungen sinnvoll, die Ernährung der Probanden während der Studie genauer zu reglementieren. Außerdem sollte die Probandenanzahl erhöht werden, da möglich ist, dass aufgrund der relativ großen Differenzen zwischen den einzelnen Probanden keine eindeutigen, d. h. signifikanten Unterschiede zu verzeichnen waren.

## Lycopinisomere

Lycopin kann in einer Vielzahl von geometrischen Stereoisomeren auftreten. In Tomaten und Tomatenprodukten kommt Lycopin zu über 90 % hauptsächlich als (*all-E*)-Lycopin vor, während im menschlichen Plasma über die Hälfte des (*Gesamt*)-Lycopins in Form von (*Z*)-Lycopinisomeren zu finden ist. (*all-E*)- und (*5Z*)-Lycopin waren die Hauptlycopinisomere in allen untersuchten Plasmaproben. Die prozentualen Anteile der Isomere sind mit 39 – 40 % (*all-E*)-Lycopin und 27 – 34 % (*5Z*)-Lycopin beim Studienbeginn (T-2) mit anderen Untersuchungen vergleichbar (Clinton *et al.*, 1996; Schierle *et al.*, 1997; Holloway *et al.*, 2000; Richelle *et al.*, 2002).

Während der Auswaschphase wurde eine signifikante Änderung der (*Z*)-(*all-E*)-Verhältnisse von 60:40 vor der lycopinarmen Kost (T-2) auf 70:30 nach der zweiwöchigen lycopinarmen Kost (T0) beobachtet. In bisher veröffentlichten Arbeiten, in der Stereoisomere des Lycopins im Plasma untersucht wurden, sind dazu kontroverse Daten zu finden. Hadley *et al.* (Hadley *et al.*, 2003) zeigten beispielsweise während einer einwöchigen Auswaschphase im Plasma eine Verringerung des Anteils an (*all-E*)-Lycopin am (*Gesamt*)-Lycopin von  $44,4 \pm 1,2$  % auf  $39,6 \pm 1,2$  %, während die Summe der (*Z*)-Lycopinisomere von  $55,6 \pm 1,2$  % auf  $60,4 \pm 1,2$  % anstieg. Eine Verschiebung im Lycopinisomerenverhältnis zu Gunsten der (*Z*)-Isomere wurde auch in einer Studie von Edwards *et al.* (Edwards *et al.*, 2003) während einer dreiwöchigen lycopinfreien Ernährung festgestellt. Im Gegensatz dazu konnten Müller *et al.* (Müller *et al.*, 1999) während einer zweiwöchigen Auswaschphase keine signifikanten Änderungen im Verhältnis von (*Z*):(*all-E*) beobachten. Der sinkende Anteil des (*all-E*)-Lycopins am (*Gesamt*)-Lycopin während einer lycopinarmen Kost kann in verschiedenen Prozessen begründet sein. Denkbar ist, dass (*all-E*)-Lycopin im Körper schneller abgebaut wird als die (*Z*)-Isomere und demzufolge die (*Z*)-Lycopinisomere höhere Halbwertszeiten im Plasma aufweisen als (*all-E*)-Lycopin. Theoretisch könnte die Verschiebung der Isomerenverhältnisse zu Gunsten der (*Z*)-Isomere auch durch eine bevorzugte Aufnahme von (*all-E*)-Lycopin ins Gewebe zu Stande kommen. Bedenkt man aber, dass in menschlichen Geweben der Anteil an (*Z*)-Lycopinisomeren höher ist als im Blut (Clinton *et al.*, 1996; Ferruzzi *et al.*, 2001), ist diese Hypothese als kritisch zu betrachten. Weiterhin ist eine systematische Umwandlung von (*all-E*)- zu (*Z*)-Lycopin im menschlichen Körper möglich. Auch eine Mobilisierung von Lycopin aus Gewebespeichern, wo Lycopin hauptsächlich in seiner (*Z*)-Form zu finden ist, wäre denkbar. Eine Freisetzung der (*Z*)-Lycopinisomere würde zu einer relativen Erhöhung der (*Z*)-Lycopinisomere im Plasmapool führen.

Nach vierwöchigem Verzehr (T4) von Tomatensaft bzw. Tomatenpüree kehrte das Verhältnis von (Z):(all-E)-Lycopin wieder auf das zu Studienbeginn (T-2) vorliegende Verhältnis von etwa 40 % (all-E)-Lycopin und 60 % (Z)-Lycopin zurück. In der Tomatengruppe lag Lycopin nach der vierwöchigen Interventionsphase dagegen zu 50 % als (all-E)-Lycopin und zu 50 % als (Z)-Isomere vor, d. h. der prozentuale Anteil an (all-E)-Lycopin war in der Tomatengruppe nach der Intervention (T4) höher als in der Tomatensaft- bzw. Tomatenmarkgruppe. Dieser Unterschied ist nicht in der unterschiedlichen Isomerenzusammensetzung der verzehrten Lebensmittel begründet, da die Tomaten mit Tomatensaft bzw. -mark vergleichbare Anteile an (all-E)- und (Z)-Lycopin enthielten. Der Grund für den Unterschied zwischen der Tomaten- und der Tomatensaft- bzw. -markgruppe ist noch nicht eindeutig geklärt. Zum einen müsste untersucht werden, ob diese Abweichungen in der Isomerenverschiebung bei den Probanden, welche Tomaten verzehrten, nur zufällig auftraten, was bei Betrachtung der relativ niedrigen Probandenanzahl (n = 6) denkbar wäre. Weitere Untersuchungen mit größerer Anzahl an Probanden sind zur Klärung notwendig. Möglich wäre jedoch auch, dass beim Verzehr von rohen Tomaten die *in-vivo*-Isomerisierung von (all-E)- zu (Z)-Lycopin ineffizienter bzw. langsamer erfolgt als bei verarbeiteten Tomaten und demzufolge der Anteil von (all-E)-Lycopin am (Gesamt)-Lycopin höher ist.

In der Literatur liegen uneinheitliche Daten zu den Veränderungen der Lycopinisomerenverhältnisse im Humanblut vor. Von der Tomaten-Interventionsstudie abweichende Ergebnisse zur Isomerenverschiebung stellten Richelle *et al.* (Richelle *et al.*, 2002) fest. Während einer 8wöchigen Intervention mit Lycopinsupplementen (92 % (all-E)-, 8 % (Z)-Lycopin) bzw. Tomatenpaste (95 % (all-E)-, 5 % (Z)-Lycopin) konnten keine signifikanten Änderungen der Lycopinisomerenverhältnisse im Plasma beobachtet werden. Andere Studien bestätigten dagegen die Ergebnisse der Tomaten-Interventionsstudie. Nach einer zweiwöchigen Intervention mit 21 mg Lycopin pro Tag in Form von Tomatenpaste konnte ein Anstieg des (all-E)-Lycopins auf 40 – 45 % des (Gesamt)-Lycopins beobachtet werden (Holloway *et al.*, 2000). In einer Studie von Hadley *et al.* (Hadley *et al.*, 2003) wurde vergleichbar zu der vorliegenden Studie ein Absinken des relativen Gehaltes an (5Z)-Lycopins nach einer 15tägigen Aufnahme von 23 – 55 mg Lycopin pro Tag in Form von Tomatenprodukten beschrieben. Auch beim dreiwöchigen Verzehr von lycopinhaltigem Wassermelonensaft (94 % (all-E)-, 6 % (Z)-Lycopin) konnte ein signifikanter Anstieg im relativen Anteil von (all-E)-Lycopin am (Gesamt)-Lycopin von 30 – 32 % auf 44 – 46 % beobachtet werden (Edwards *et al.*, 2003). All diese Daten lassen vermuten, dass bei einer kontinuierlichen Aufnahme von

(*all-E*)-Lycopin, welches hauptsächlich in Lebensmitteln vorkommt, ein definiertes Verhältnis zwischen (*all-E*)- und (*Z*)-Lycopin im Blut vorliegt. Es ist möglich, dass sich ein Gleichgewichtsverhältnis zwischen (*all-E*)-Lycopin und verschiedenen (*Z*)-Isomeren einstellt, welches sich im Plasma als thermodynamisch am stabilsten erweist.

In der Literatur sind verschiedene hypothetische Mechanismen beschrieben, welche das Auftreten der hohen (*Z*)-Isomerenanteile im menschlichen Körper erklären könnten. Daten aus Humanstudien (Stahl & Sies, 1992; Gärtner *et al.*, 1997; Boileau *et al.*, 2002) und Tiermodellen (Boileau *et al.*, 1999) unterstützen beispielsweise die Hypothese, dass (*Z*)-Lycopinisomere aus der Nahrung besser aufgenommen werden als (*all-E*)-Lycopin. Der Grund dafür soll in der leichteren Einbindung der (*Z*)-Isomere in die Mizellen bzw. der niedrigeren Tendenz zur Aggregatbildung liegen (Britton, 1995). In einer Studie von Re *et al.* (Re *et al.*, 2001) wurden die hohen Anteile an (*Z*)-Lycopin als Folge einer erhöhten Absorption dieser Isomere im Gastrointestinaltrakt beschrieben. Bei dieser These ist jedoch zu beachten, dass in den Hauptlycopinquellen des Menschen (Tomaten und Tomatenprodukte) nur geringe Gehalte an (*Z*)-Lycopinisomeren vorliegen und die relativ hohen (*Z*)-Lycopingehalte im menschlichen Körper demzufolge nicht allein durch die bevorzugte Absorption zu Stande kommen können. Ein möglicher Grund für die hohen Anteile an (*Z*)-Isomeren im menschlichen Körper ist auch in einer längeren Verweildauer der (*Z*)-Isomere im Plasma aufgrund der höheren Halbwertszeiten der (*Z*)-Lycopinisomere im Vergleich zum (*all-E*)-Lycopin (Cohen, 2002) zu sehen. Eine weitere Erklärung ist die *in-vivo*-Isomerisierung des aus der Nahrung absorbierten (*all-E*)-Lycopins. Eine mögliche Isomerisierung von (*all-E*)- zu (*Z*)-Lycopin während der Verdauung wird von Re *et al.* (Re *et al.*, 2001) beschrieben. Die Anwesenheit von Säure im Magen wird als ein möglicher Grund für die Bildung der (*Z*)-Isomere angesehen. Jedoch erklärt dies nicht die teilweise sehr unterschiedliche Isomerenverteilung in den verschiedenen Organen des Körpers. In einer neueren Humanstudie von Tyssandier *et al.* (Tyssandier *et al.*, 2003) konnte außerdem festgestellt werden, dass im menschlichen Magen keine signifikante (*all-E*)-(*Z*)-Isomerisierung stattfindet. Weiterhin wurde im Gegensatz zu anderen Studien bei (*Z*)-Lycopinisomeren ein im Vergleich zum (*all-E*)-Lycopin verringerter Transport über die Chylomikronen und demzufolge eine verringerte Absorption beobachtet. All diese Daten unterstützen die Hypothese, dass im menschlichen Körper eine effiziente Umwandlung von (*all-E*)-Lycopin zu verschiedenen (*Z*)-Lycopinisomeren erfolgt. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um eindeutig zu klären, welche Mechanismen für die hohen Gehalte an (*Z*)-Lycopinisomeren im menschlichen Blut und Gewebe verantwortlich sind.

### Weitere Carotinoide

Die (*Gesamt*)-Carotinidgehalte (1,98 – 3,06  $\mu\text{mol/L}$ ) sowie die relativen Anteile der einzelnen Carotinoide am (*Gesamt*)-Carotinidgehalt ( $\beta$ -Carotin: 32 – 43 %, Lycopin: 12 – 35 %,  $\alpha$ -Carotin: 7 – 16 %, Lutein: 9 – 13 %,  $\beta$ -Cryptoxanthin: 7 – 14 %, Zeaxanthin: 2 – 7 %, Canthaxanthin: 2 – 4 %) zeigten zwischen den einzelnen Probanden teilweise starke Unterschiede, stimmten jedoch mit publizierten Daten (Stahl & Sies, 1996b; El-Soheby *et al.*, 2002; Dietrich *et al.*, 2003; Lagiou *et al.*, 2003) überein. Während des gesamten Studienverlaufs wurden keine signifikanten Änderungen der Plasmagehalte dieser Carotinoide festgestellt. Dies ist nicht verwunderlich, da die Gehalte in den verzehrten Produkten teilweise sehr niedrig waren und die Probanden diese Carotinoide durch ihre Nahrung, welche nur für das Lycopin reglementiert war, in unterschiedlichen Mengen zu sich nahmen.

#### 5.3.1.3 Änderungen der Vitamin-E-Gehalte im Plasma

Im Plasma der Probanden konnten  $\alpha$ -Tocopherol als Hauptvitamer (etwa 95 %) sowie geringe Gehalte an  $\beta$ - und  $\gamma$ -Tocopherol quantifiziert werden. Die Plasmazusammensetzungen waren in Bezug auf die Vitamin-E-Verbindungen mit publizierten Daten vergleichbar (Sies *et al.*, 1992; Hesecker *et al.*, 1994; Sies & Stahl, 1995; Grolier *et al.*, 2000). Die Probanden der Tomaten-Interventionsstudie wiesen  $\alpha$ -Tocopherolgehalte von 14,0 – 36,8  $\mu\text{mol/L}$  auf, welche mit den Plasmagehalten aus der Nationalen Verzehrsstudie (Hesecker *et al.*, 1994) vergleichbar waren und auf eine gute Vitamin-E-Versorgung schliessen lassen. In der Nationalen Verzehrsstudie lagen die  $\alpha$ -Tocopherolgehalte in Deutschland (1 951 männliche und weibliche Probanden) durchschnittlich bei  $30,6 \pm 0,21 \mu\text{mol/L}$  (17,6 – 53,5  $\mu\text{mol/L}$ ). Plasmagehalte von  $\gamma$ -Tocopherol wurden in dieser Studie nicht angegeben. In einer aktuelleren Studie von Olmedilla *et al.* (Olmedilla *et al.*, 2001) wurden die Plasmagehalte von Probanden aus fünf europäischen Ländern untersucht und waren mit durchschnittlich 10,6  $\mu\text{g/mL}$  (24,6  $\mu\text{mol/L}$ )  $\alpha$ -Tocopherol und 0,55  $\mu\text{g/mL}$  (1,3  $\mu\text{mol/L}$ )  $\gamma$ -Tocopherol ebenfalls mit in der Tomaten-Interventionsstudie ermittelten Plasmagehalten vergleichbar.

In keiner der drei Interventionsgruppen konnten signifikante Änderungen des Vitamin-E-Status während des Studienverlaufes beobachtet werden. Auch Tyssandier *et al.* (Tyssandier *et al.*, 2004) stellten nach dem dreiwöchigen täglichen Verzehr von 96 g Tomatenpüree keine Unterschiede im Tocopherolplasmaspiegel fest. Die durch den Verzehr von Tomaten und Tomatenprodukten unbeeinflussten Plasmagehalte sind jedoch nicht verwunderlich, da die

Ernährung der Probanden während der Studie nicht für Vitamin E reglementiert war und andere, Vitamin-E-reiche Lebensmittel (z. B. Pflanzenöle) wahrscheinlich einen größeren Beitrag zur Vitamin-E-Versorgung lieferten.

#### 5.3.1.4 Änderungen der Vitamin-C-Gehalte im Plasma

Alle Probanden der Tomaten-Interventionsstudie lagen zu jeden Entnahmezeitpunkt mit Plasmaeinzelwerten zwischen 36,9  $\mu\text{mol/L}$  und 139,0  $\mu\text{mol/L}$  über den in der Nationalen Verzehrsstudie für eine gute Vitamin-C-Versorgung verwendeten Plasmareferenzwert von 36,8  $\mu\text{mol/L}$ . Die Durchschnittsgehalte der Probanden waren mit  $91,0 \pm 5,4 \mu\text{mol/L}$  (Tomatengruppe),  $92,1 \pm 5,1 \mu\text{mol/L}$  (Tomatensaftgruppe) und  $87,1 \pm 8,6 \mu\text{mol/L}$  (Tomatenmarkgruppe) sogar höher als der in der Nationalen Verzehrsstudie ermittelte Durchschnittswert von  $76,0 \pm 0,7 \mu\text{mol/L}$  (Heseker *et al.*, 1994).

Während der gesamten Dauer der Tomaten-Interventionsstudie konnten in keiner der drei Interventionsgruppen signifikante Änderungen der Vitamin-C-Gehalte im Plasma beobachtet werden. Während sich in einer Humanstudie von Tyssandier *et al.* (Tyssandier *et al.*, 2004) nach dem Verzehr von Tomatenpüree weder die Plasmagehalte an Vitamin E noch an Vitamin C änderten, stellten Riso *et al.* (Riso *et al.*, 2004) nach dem täglichen Verzehr von verschiedenen Tomatenprodukten einen Anstieg des durchschnittlichen Vitamin-C-Plasmaspiegels von  $39,2 \pm 12,5 \mu\text{mol/L}$  auf  $52,8 \pm 9,1 \mu\text{mol/L}$  fest. Die Unterschiede dieser Studie zur Tomaten-Interventionsstudie bzw. zur Studie von Tyssandier *et al.* waren zum einen die relativ niedrigen Vitamin-C-Ausgangsgehalte im Plasma und zum anderen die auch für die Vitamin-C-Aufnahme (60 mg Vitamin C pro Tag) reglementierte Ernährung der Probanden. In der Tomaten-Interventionsstudie war Vitamin C nicht reglementiert und demzufolge wurden die Plasmaspiegel der Probanden im stärkeren Maße durch den Verzehr anderer, Vitamin-C-reicher Lebensmittel beeinflusst, als durch täglichen Verzehr der Tomaten bzw. Tomatenprodukte.

#### 5.3.1.5 Änderungen der Triglyceridgehalte im Plasma

Obwohl die Blutabnahmen im nüchternen Zustand erfolgten, schwankten die Triglyceridplasmagehalte mit Einzelwerten von 25 mg/dL bis 220 mg/dL zwischen den einzelnen Probanden und Blutabnahmezeitpunkten sehr stark, lagen aber größtenteils im Normalbereich von 70 – 200 mg/dL (Kohlmeier *et al.*, 1993). In keiner Interventionsgruppe konnten signifikante Änderungen im Triglyceridstatus der Probanden beobachtet werden, welche durch den

Verzicht auf lycopinhaltige Lebensmittel bzw. den Verzehr der Tomaten bzw. Tomatenprodukte zu Stande kamen. Vergleichbare Ergebnisse zeigte auch eine Studie Böhm und Bitsch (Böhm & Bitsch, 1999), in der Probanden 5 mg Lycopin pro Tag in Form von Tomaten, Tomatensaft oder Lycopinkapseln aufnahmen. Auch andere Arbeitsgruppen beobachteten in verschiedenen Humanstudien nach dem Verzehr von lycopinhaltigen Produkten (Tomatensuppe, Tomaten- bzw. Gemüsesaft, Wassermelonen, Tomatenextrakt-Kapseln) ebenfalls keine Änderungen im Triglyceridstatus (Hadley *et al.*, 2003; Collins *et al.*, 2004; Engelhard *et al.*, 2006).

#### 5.3.1.6 Änderungen des antioxidativen Status im Vollblut

##### **Glutathionstatus**

Der Glutathionspiegel des Menschen wird von zahlreichen Faktoren beeinflusst. Beispielsweise sind die GSH- und GSSG-Gehalte im Blut abhängig von der Glutathionproduktion in Leber, Muskeln und anderen Geweben. Aber auch der Einfluss von oxidativem Stress auf den Glutathionspiegel wurde zahlreich beschrieben. Ein Zusammenhang bestand u. a. zu verschiedenen Enzymen (Katalase, Superoxiddismutase etc.) im Körper, welche in diesem vor freien Radikalen schützten und somit die Bildung von oxidiertem Glutathion (GSSG) verminderten. Weiterhin wurde der Glutathionspiegel stark von der Aktivität der Glutathionreduktase beeinflusst, welche das oxidierte Glutathion (GSSG) in seine reduzierte Form (GSH) überführt. (Kohlman und Röhm, 1998)

Der Verzicht auf lycopinhaltige Lebensmittel während der zweiwöchigen Auswaschphase führte in keiner der drei Interventionsgruppen zu einer signifikanten Änderung des Glutathionspiegels (GSH, GSSG, GSH/GSSG-Verhältnis) im Blut. Dies lässt vermuten, dass der Mehrbedarf an Glutathion durch die fehlende Zufuhr an Lycopin gering war. Möglich wäre aber auch, dass aufgrund des fehlenden Lycopins im Plasma, mehr Glutathion verbraucht wird und dies aber durch eine erhöhte GSH-Syntheserate in der Leber und anderen glutathionproduzierenden Geweben ausgeglichen wird. In diesem Fall wäre ein erhöhter Glutathion-Verbrauch nicht messbar.

Während der vierwöchigen Supplementationsphase stiegen die GSH-Gehalte im Blut der Probanden der Tomatensaftgruppe und der Tomatenmarkgruppe signifikant an. Dagegen war in der Tomatengruppe kein signifikanter Anstieg feststellbar. Die GSH-GSSG-Daten der Tomaten-Interventionsstudie zeigten deutlich, dass der Glutathionstatus im Blut nicht allein

durch die Lycopinspiegel im Plasma beeinflusst wird. Während zwischen den drei Interventionsgruppen keine signifikanten Unterschiede im Anstieg der Lycopingehalte während der Supplementationsphase zu verzeichnen waren, unterschieden sich jedoch die Änderungen der GSH-Gehalte bzw. GSH/GSSG-Verhältnisse zwischen den drei Gruppen. Tomaten und Tomatenprodukte enthalten neben dem Lycopin eine Vielzahl von weiteren Inhaltsstoffen (weitere Carotinoide, Vitamin E, Vitamin C, Polyphenole etc.), welche ebenfalls antioxidative Wirkungen aufweisen. Beim Konsum dieser Produkte verringert sich möglicherweise der Glutathion-Verbrauch im Körper, da die aufgenommenen Antioxidantien die protektiven Aufgaben des Glutathions teilweise übernehmen können. Bei gleichbleibender Syntheserate von GSH würden sich somit die GSH-Spiegel im Körper erhöhen.

Zu der Tomaten-Interventionsstudie vergleichbare Ergebnisse waren beispielsweise in einer von Böhm *et al.* durchgeführten Humanstudie zu beobachten. Während der Auswaschphase (lycopinarme Ernährung) traten ebenfalls keine Veränderungen im Glutathionstatus auf, wogegen während der Supplementationsphase bei vier von sechs verzehrten Lycopinkapseln neben dem Anstieg der Lycopingehalte im Plasma auch ein Anstieg der Blut-GSH-Konzentrationen zu verzeichnen war. Die GSSG-Gehalte veränderten sich dabei nicht, was mit den Ergebnissen der Tomaten-Interventionsstudie übereinstimmt. Im Rahmen dieser Studie wurde auch der Effekt einer Kapsel untersucht, die synthetisches Lycopin und somit keine anderen Tomateninhaltsstoffe enthielt. Nach der Aufnahme dieser Kapselart konnte neben dem Anstieg der Lycopinspiegel im Plasma auch ein Anstieg der GSH-Spiegel im Blut beobachtet werden. Dieses Ergebnis zeigte deutlich, dass für die beobachteten Änderungen des Glutathionspiegels in der Tomaten-Interventionsstudie neben weiteren Tomateninhaltsstoffen auch das Lycopin verantwortlich war. (Lupp *et al.*, 2004; Welz, 2004)

### **Lipidperoxidationsprodukte (TBARS)**

Im Hinblick auf die Lipidperoxidationsprodukte, gemessen als Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen (TBARS), wurden in allen drei Interventionsgruppen weder während der Auswaschphase noch während der Supplementationsphase signifikante Veränderungen in den Gehalten an Lipidperoxidationsprodukten (TBARS) im Vollblut der Probanden festgestellt. In der Lycopinkapsel-Studie von Böhm *et al.* waren nach der Lycopinaufnahme ebenfalls keine veränderten TBARS-Werte zu beobachten (Lupp *et al.*, 2004). Daraus lässt sich schließen, dass der menschliche Körper eine Erniedrigung der Gehalte des antioxidativ wirkenden Lycopins im Plasma gut durch körpereigene antioxidative Schutzsysteme ausgleichen kann.

Im Gegensatz zur Tomaten-Interventionsstudie und zur Lycopinkapsel-Studie führte die achtwöchige, tägliche Aufnahme von 15 mg Lycopin in Form von Tomatenextrakt-Kapseln in einer erst kürzlich veröffentlichten Humanstudie von Engelhard *et al.* zu einer Verringerung der Lipidperoxidationsprodukte (TBARS) im Blut der Probanden (Engelhard *et al.*, 2006). Auch Agarwal und Rao beobachteten abnehmende Lipidperoxidationsprodukte (LDL-TBARS) im Körper nach einer Woche der Aufnahme (39 - 75 mg Lycopin pro Tag) von Spaghettisauce, Tomatensaft bzw. Tomatenoleoresin (Agarwal & Rao, 1998).

### 5.3.2 Raucher-Interventionsstudie

Raucher sind aufgrund der hohen Konzentration an verschiedenen freien Radikalen im Zigarettenrauch hohem „oxidativen Stress“ ausgesetzt und haben demzufolge einen erhöhten Bedarf an Antioxidanzien im Vergleich zu Nichtrauchern. Zigarettenrauch ist ein Gemisch aus über 4700 chemischen Verbindungen, inklusive freie Radikale und Oxidanzien. Der Rauch eines Zuges an einer Zigarette enthält beispielsweise etwa  $10^{14}$  freie Radikale (Rahman & MacNee, 1999). Verbindungen wie Carotinoide, Tocopherole und Ascorbinsäure sind in der Lage, diese schädlichen freien Radikale abzufangen und zu inaktivieren.

#### 5.3.2.1 Änderungen der Carotinoidgehalte im Plasma

##### **(Gesamt)-Lycopin**

Die Ausgangswerte (T-2) der Lycopinkonzentrationen im Plasma unterschieden sich geringfügig, jedoch nicht signifikant ( $p > 0,05$ ) zwischen den Rauchern und Nichtrauchern in der Raucher-Interventionsstudie. Der Vergleich mit in anderen Humanstudien gemessenen Plasmagehalten (siehe Kapitel 2.3.5; Tabelle 8) zeigte, dass die Probanden der Raucherstudie mit (Gesamt)-Lycopingehalten von  $0,64 \pm 0,27 \mu\text{mol/L}$  (Raucher) bzw.  $0,77 \pm 0,39 \mu\text{mol/L}$  (Nichtraucher) eine gute Lycopinversorgung hatten. Die fehlenden Unterschiede im Lycopinplasmagehalt zwischen Rauchern und Nichtrauchern sind vergleichbar mit anderen Humanstudien (Thompson *et al.*, 1985; Stryker *et al.*, 1988; Morrow *et al.*, 1995; Ross *et al.*, 1995; Brady *et al.*, 1996; Albanes *et al.*, 1997; Mayne *et al.*, 1999; Rissanen *et al.*, 2003). Gegenätzlich dazu waren in wenigen Studien die Lycopinspiegel im Plasma von Rauchern niedriger als die von Nichtrauchern, wobei diese Unterschiede teilweise nicht signifikant waren (Sanders *et al.*, 1993; Pamuk *et al.*, 1994; Wei *et al.*, 2001; Lagiou *et al.*, 2003). Raucher hatten häufig andere Ernährungsgewohnheiten als Nichtraucher. Sie verzehrten häufiger Tiefkühlkost, mehr Zucker und gesättigte Fettsäuren, aber weniger Obst, Gemüse und Cerea-

lien und nahmen demzufolge weniger Ballaststoffe, PUFAs, antioxidative Vitamine und sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe auf (Morabia & Wynder, 1990; Brasche *et al.*, 1998; Alberg, 2002). Konsumierten Raucher und Nichtraucher jedoch vergleichbare Carotinoid Dosen und nur geringfügig unterschiedliche Mengen an Obst- und Gemüse, wurden signifikant niedrigere Carotinoidgehalte, inklusive Lycopingehalte, im Plasma von Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern beobachtet (Marangon *et al.*, 1998; Rust *et al.*, 2001).

Während der zweiwöchigen Aufnahme von Tomatenmark stiegen die (*Gesamt*)-Lycopingehalte bei den Rauchern stärker an als bei den Nichtrauchern. Demzufolge waren die Plasmaergehalte der Raucher zum Studienende (T2) signifikant höher als die der Nichtraucher. Vor der Durchführung dieser Raucher-Interventionsstudie lag die Vermutung nahe, dass die Raucher infolge eines erhöhten Bedarfes an Antioxidanzien vergleichbare bzw. niedrigere Lycopinkonzentrationen nach der Supplementationsphase aufweisen. Das überraschende Ergebnis des beobachteten, höheren Lycopinanstieges bei den Rauchern kann zum jetzigen Zeitpunkt der Untersuchungen noch nicht erklärt werden.

### **Lycopinisomere**

Die Verhältnisse der Lycopinisomere untereinander waren zu Beginn der Studie (T-2) mit etwa 40 % (*all-E*)-Lycopin und 60 % (*Z*)-Lycopinisomere vergleichbar mit anderen publizierten Daten (Stahl & Sies, 1992; Clinton *et al.*, 1996) und nicht signifikant unterschiedlich zwischen Rauchern und Nichtrauchern. Vor (T0) und nach (T2) der zweiwöchigen Aufnahme von Tomatenmark war der Anteil der Summe der (*Z*)-Lycopinisomere in der Rauchergruppe signifikant niedriger im Vergleich zur Nichtrauchergruppe. Demzufolge zeigte sich auch keine Verschiebung der Isomerenverhältnisse, wie sie bei den Nichtrauchern der Tomaten-Interventionsstudie beobachtet wurde (siehe Kapitel 5.3.1.2). In der Auswaschphase blieb bei den Rauchern der prozentuale Anteil von (*all-E*)-Lycopin gleich und verschob sich nicht zu Gunsten des (*5Z*)-Lycopins. Eine gesicherte Erklärung dieses Phänomens kann zum jetzigen Zeitpunkt ebenfalls noch nicht gegeben werden. Möglicherweise kommt es bei den Rauchern zu einer Inhibierung der Umwandlung von (*all-E*)-Lycopin in die isomeren (*Z*)-Formen oder die (*Z*)-Isomere werden vermehrt verbraucht.

Die Gehalte an (*13Z*)-Lycopin waren nach der Supplementation (T2) im Plasma der Raucher signifikant niedriger ( $p < 0,05$ ) als im Plasma der Nichtraucher. Untersuchungen zur antioxidativen Kapazität verschiedener Lycopinisomere (siehe Kapitel 5.1.3) zeigten, dass das als

(13Z)-Lycopin vermutete (Z)-Isomer eine höhere Aktivität als andere Lycopinisomere, speziell (*all-E*)- und (5Z)-Lycopin, aufwies. Möglicherweise wurde bei den Rauchern, die wie schon erwähnt einen erhöhtem oxidativen Stress ausgesetzt sind, dieses Isomer aufgrund seines hohen antioxidativen Potentials bevorzugt verbraucht. Weitere Untersuchungen sind zwingend notwendig, um die Mechanismen der Lycopinmetabolisierung im Körper bei Raucher aber auch bei Nichtrauchern genauer verstehen und vergleichen zu können.

### **Lycopinoxidationsprodukte**

Oxidationsprodukte, welche in früheren Untersuchungen mittels *in-vitro*-Methoden gebildet und genauer charakterisiert wurden (Caris-Veyrat *et al.*, 2003), konnten bis auf eine Ausnahme im Plasma der Raucher nicht detektiert werden. Da diese Abbauprodukte des Lycopins im menschlichen Körper nur in sehr geringen Konzentrationen vorliegen, waren ihre Konzentrationen im Plasma der Probanden der Raucher-Interventionsstudie möglicherweise kleiner als die Nachweisgrenze der verwendeten HPLC-DAD-MS-Methode (Reuter, 2004). Lycopinoxidationsprodukte sind analog zu den Lycopinisomeren sehr instabil. Denkbar wäre demzufolge auch, dass obwohl die Extrakte mit Trockeneis gekühlt transportiert wurden, während der relativ langen Zeit zwischen Extraktion (Jena, Deutschland) und Analyse (Avignon, Frankreich) ein Abbau der im Plasmaextrakt enthaltenen Metabolite stattfand und diese deshalb nicht mehr detektiert werden konnten. Ein Lycopinoxidationsprodukt, das 2,6-Cyclolycopin-1,5-diol, konnte in allen Plasmaextrakten detektiert, jedoch nicht quantifiziert werden. Die Charakterisierung dieses Metabolites ist in der Diplomarbeit von Doreen Reuter genauer beschrieben (Reuter, 2004). Das 2,6-Cyclolycopin-1,5-diol wurde auch im verzehrten Tomatenmark gefunden und somit wäre denkbar, dass dieser Metabolit schon durch die Nahrung aufgenommen wurde und sich nicht erst im Körper bildete. Khachik *et al.* vertreten jedoch die Hypothese, dass das 2,6-Cyclolycopin-1,5-diol durch die Metabolisierung von Lycopin erst im Körper entsteht (Khachik *et al.*, 1998; Khachik *et al.*, 2002b).

Zum jetzigen Zeitpunkt kann nicht sicher gesagt werden, ob zusätzlich zum 2,6-Cyclolycopin-1,5-diol auch anderen Metabolite im Plasma der Raucher vorlagen oder ob die Analytik der Oxidationsprodukte als limitierender Faktor angesehen werden muss. Weitere Untersuchungen zu diesem Thema sind in naher Zukunft geplant.

### 5.3.2.2 Änderungen der Vitamin-E- und Vitamin-C-Gehalte im Plasma

Signifikante Unterschiede in Hinsicht auf die Plasmagehalte an (*Gesamt*)-Tocopherolen und Vitamin C konnten während der gesamten Studiendauer weder in der Raucher- noch in der Nichtrauchergruppe beobachtet werden, obwohl das verzehrte Tomatenmark sowohl Vitamin E als auch Vitamin C enthielt. In der Raucher-Interventionsstudie war die Aufnahme von Vitamin E und Vitamin C nicht reglementiert und demzufolge wurden die Plasmaspiegel der Probanden im stärkerem Maße durch den Verzehr anderer, Vitamin-E-reicher (z. B. Pflanzenöle) bzw. Vitamin-C-reicher (Zitrusfrüchte etc.) Lebensmittel beeinflusst, als durch täglichen Verzehr des Tomatenmarks.

Auch zwischen den beiden Studiengruppen konnten keine signifikanten Unterschiede in den Vitamin-E- und Vitamin-C-Gehalten beobachtet werden. Abweichend davon, zeigten in verschiedenen Humanstudien Raucher häufig niedrigere Antioxidanzienpiegel (insbesondere Vitamin C) im Körper als Nichtraucher. Die Gehalte dieser Mikronährstoffe im Plasma und Serum korrelierten teilweise sehr stark mit ihrer Aufnahme durch die Nahrung. Die Raucher ernährten sich tendenziell weniger gesund und verzehrten geringere Mengen an Obst und Gemüse, welche die Hauptquellen für Vitamin C und andere Antioxidanzien sind (Ross *et al.*, 1995; Brasche *et al.*, 1998; Alberg, 2002). Die teilweise beobachteten Unterschiede der Vitamin-C-Plasmaspiegel zwischen Rauchern und Nichtrauchern sind vermutlich nicht einzig in den Ernährungsgewohnheiten begründet. Lykkesfeldt *et al.* diskutierten auch die Toxizität des Zigarettenrauches (freie Radikale etc.) und einen damit verbundenen erhöhten Verbrauch an Vitamin C als möglichen Faktor für die niedrigen Ascorbinsäure-Gehalte bei Rauchern (Lykkesfeldt *et al.*, 2000). Vergleichbar zu den Ergebnissen der Raucher-Interventionsstudie zeigten verschiedene Humanstudien in Hinblick auf Vitamin E keine signifikanten Unterschiede der Tocopherolgehalte im Plasma von Rauchern und Nichtrauchern (Morabia & Wynder, 1990; Lykkesfeldt *et al.*, 2000; Alberg, 2002).

### 5.3.2.3 Änderungen der Triglyceridgehalte im Plasma

In keiner der beiden Gruppen (Raucher, Nichtraucher) der Raucher-Interventionsstudie wurden signifikante Änderungen im Triglyceridstatus der Probanden beobachtet, welche durch den Verzicht auf lycopinhaltige Lebensmittel bzw. den Verzehr von Tomatenmark zu Stande kamen. Vergleichbare Ergebnisse zeigten die Tomaten-Interventionsstudie sowie auch andere Studien (siehe auch Kapitel 5.3.1.5).

#### 5.3.2.4 Änderungen des antioxidativen Status´ im Vollblut

##### **Glutathionstatus**

Nichtraucher hatten einen signifikant höheren GSH-Gehalt und signifikant niedrigeren GSSG-Gehalt im Blut zu Beginn (T-2) der Raucher-Interventionsstudie. Diese Ergebnisse waren übereinstimmend mit Literaturdaten (Sela *et al.*, 2002) und sind möglicherweise auf den Verbrauch von reduzierten Glutathion (GSH) infolge des oxidativen Stresses bei Rauchern zurückzuführen. Dieser beobachtete Effekt war unabhängig von den Konzentrationen an anderen antioxidativen Substanzen wie Ascorbinsäure, Tocopherole oder Carotinoide. Auch eine neuere Studie von Kasagi *et al.* mit Mäusen zeigte, dass durch Tabakrauch entstehender oxidativer Stress den GSH-Spiegel im Blut herabsetzte (Kasagi *et al.*, 2006). Die protektive Funktion von GSH im Körper ist bei vielen enzymatischen und nichtenzymatischen Mechanismen involviert. Die Verschiebung des GSH-GSSG-Gleichgewichtes im Körper aufgrund von oxidativem Stress oder anderen Faktoren hat einen Einfluss auf eine Vielzahl von schädlichen zellulären Prozessen und demzufolge auch auf die Entstehung verschiedener Krankheiten (Rahman & MacNee, 1999).

Wie auch schon in früheren Humanstudien von der Arbeitsgruppe Böhm *et al.* beobachtet wurde (Lupp *et al.*, 2004), stiegen nach der Lycopinaufnahme sowohl in der Nichtraucher- als auch in der Rauchergruppe die GSH-Level im Blut signifikant an. Dieser Blut-GSH-Anstieg könnte auf den verminderten GSH-Verbrauch infolge des antioxidativen Effektes von Lycopin und/oder anderen Tomateninhaltsstoffen begründet sein.

##### **Lipidperoxidationsprodukte (TBARS)**

Im Gegensatz zum Glutathionstatus konnte in der Raucher-Interventionsstudie kein Einfluss des Rauchens auf die Gehalte an Lipidperoxidationsprodukten beobachtet werden. Diese Ergebnisse sind gegensätzlich zu anderen publizierten Studien, in denen ein Anstieg der Lipidperoxidationsprodukte infolge der Exposition mit Zigarettenrauch zu beobachten war (Zhou *et al.*, 2000; Durak *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2003b). In zwei von diesen Studien (Zhou *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2003b) nahmen die Plasmagehalte an Vitamin C, Vitamin E und  $\beta$ -Carotin ab. Möglicherweise hatten die relativ hohen Gehalte dieser Antioxidanzien im Plasma bei den rauchenden Probanden der Raucher-Interventionsstudie protektive Effekte in Bezug auf die Lipidperoxidation. Die Supplementation mit Tomatenmark führte weder bei den Rauchern noch bei den Nichtrauchern zu einer Änderung der Gehalte an Lipidperoxidationsprodukten.

Diese Beobachtung ist vergleichbar mit der von Böhm *et al.* durchgeführten Humanstudie, in der die Probanden unterschiedliche Lycopin-Kapseln verzehrten (Lupp *et al.*, 2004).

### 5.3.3 Hagebutten-Interventionsstudien

In den letzten Jahren hat die Verwendung von Wildfrüchten als Rohmaterial für verschiedene Produkte stark zugenommen. Untersuchungen an Hagebutten zeigten, dass die Früchte der Wildrose und daraus hergestellte Lebensmittel hohe Mengen an Lycopin enthalten (Kapitel 4.2.2). In den letzten Jahren beschäftigen sich verschiedene Arbeitsgruppen mit den positiven Wirkungen von Hagebuttenprodukten. In verschiedenen *in-vivo*-Studien wurde u. a. eine Inhibierung der Lipidoxidation und eine Reduzierung der Chemotaxis und Chemolumineszenz von Leukozyten durch Hagebuttenextrakte beobachtet (Winther *et al.*, 1997; Kharazmi & Winther, 1999; Larsen *et al.*, 2003). Die entzündungshemmenden Eigenschaften der Hagebutten wurden für die Linderung der Symptome (Steifheit, Schmerzen) bei Osteoarthritis nach dem Verzehr von Hagebuttenpulvern verantwortlich gemacht (Winther *et al.*, 1999; Rein *et al.*, 2004). Van Rensburg *et al.* beobachteten in einer Humanstudie außerdem, dass die antioxidative Kapazität und das GSH-GSSG-Verhältnis im Blut nach dem Konsum von Hagebuttensaft anstieg. Bisher konnte nicht eindeutig geklärt werden, welche Inhaltsstoffe der Hagebutte für die beschriebenen Effekte verantwortlich sind. Voraussetzung für die Entfaltung von verschiedenen Wirkungen im Körper ist die Aufnahme der Inhaltsstoffe in die entsprechenden Zielorgane. In den erwähnten Studien wurden die Effekte des Hagebuttenprodukt-Konsums auf die Lycopingehalte im Körper nicht untersucht. Ziel der Hagebutten-Interventionsstudien war, zu untersuchen, welchen Einfluss die tägliche Aufnahme von Hagebuttenmark auf die Plasmagehalte an Lycopin und anderen Carotinoiden, Vitamin C und Vitamin E hat.

#### 5.3.3.1 Hagebutten-Interventionsstudie I

Nach zwei Wochen lycopinarmer Ernährung sanken die Plasmalycopinspiegel analog zur Tomaten-Interventionsstudie und zu anderen Humanstudien (Böhm, 1999; Böhm & Bitsch, 1999; Allen *et al.*, 2003) auf etwa die Hälfte des zu Studienbeginn vorliegenden Ausgangswertes. Überraschenderweise stieg während der vierwöchigen, täglichen Aufnahme des lycopinhaltigen Hagebuttenmarks die **Lycopingehalte** im Plasma der Probanden nicht an. Während der Supplementationsphase wurde in der Hagebutten-Interventionsstudie I sogar eine weitere signifikante Abnahme der Plasmagehalte an (*Gesamt*)-Lycopin beobachtet. Dieses

Resultat zeigte eindeutig, dass das Lycopin aus dem Hagebuttenmark (HM 0) für den menschlichen Körper nicht verfügbar war. Im Gegensatz dazu wurde in unterschiedlichen Humansstudien festgestellt, dass Lycopin aus Tomaten, Tomatenprodukten oder Lycopinkapseln (Böhm & Bitsch, 1999), aus Wassermelonen (Edwards *et al.*, 2003) oder aus Gac-Früchten (Vuong *et al.*, 2002) für den Menschen bioverfügbar war. Eine höhere intestinale Absorption von Lycopin aus verarbeiteten Tomatenprodukten im Vergleich zu rohen Tomaten wurde in einer Vielzahl von Studien beschrieben (Gärtner *et al.*, 1997; Porrini *et al.*, 1998; van het Hof *et al.*, 2000a). Insbesondere die Erhitzung während der Verarbeitung beeinflusst positiv die Bioverfügbarkeit von Lycopin (Stahl & Sies, 1992). Für das verwendete Hagebuttenmark HM 0 lagen keine detaillierten Informationen zu den Herstellungsprozessen (Erhitzung etc.) vor. Dadurch entstand die Überlegung, dass möglicherweise das Hagebuttenmark erhitzt werden muss, um die Verfügbarkeit des Lycopins durch Zellwandzerstörung und Carotinoid-Protein-Komplex-Spaltung zu ermöglichen. Dies wurde in einer nachfolgenden Humanstudie (Hagebutten-Interventionsstudie II) getestet.

Im Gegensatz zum Lycopin war das im Hagebuttenmark enthaltene **Rubixanthin** gut bioverfügbar, was im signifikanten Anstieg der Plasmagehalte an Rubixanthin während der Supplementationsphase eindeutig zu erkennen war. Rubixanthin ist ein spezielles Hagebutten-carotinoid und kommt in anderen Pflanzen nicht vor. Demzufolge wurde vor Beginn der Supplementation im Plasma der Probanden kein Rubixanthin detektiert. Die tägliche Aufnahme des Hagebuttenmarks, welches sehr geringe Mengen Rubixanthin enthielt (unter Bestimmungsgrenze), führte deshalb auch bei allen Probanden zu einer geringen, jedoch signifikanten Zunahme der Plasmagehalte an Rubixanthin.

Die Vitamin-C-Konzentrationen im Plasma änderten sich während der zweiwöchigen lycopinarmen Ernährung (Vitamin-C-Abnahme) sowie während der Aufnahme von Hagebuttenmark (Vitamin-C-Zunahme) im Plasma der Probanden der Hagebutten-Interventionsstudie I signifikant. Die Abnahme während der Auswaschphase kam dadurch zu Stande, dass die Probanden aufgrund des Verzichts der Aufnahme von lycopinhaltigen Lebensmitteln während der Studiendauer allgemein weniger Obst und Gemüse und somit auch weniger Vitamin C zu sich nahmen. Während des Konsums von Hagebuttenmark waren aufgrund seines hohen Vitamin-C-Gehaltes ( $172 \pm 12$  mg/100 g) schon nach einer Woche signifikante Anstiege der Vitamin-C-Level im Plasma der Probanden zu beobachten.

### 5.3.3.2 Hagebutten-Interventionsstudie II

Da die Aufnahme von lycopinhaltigem Hagebuttenmark in der Hagebutten-Interventionsstudie I keinen Einfluss auf den Lycopinplasmaspiegel zeigte, wurde eine vergleichbare, zweite Humanstudie durchgeführt, in der die Probanden ebenfalls Hagebuttenmark verzehrten, welches jedoch unterschiedlichen Erhitzungsprozessen unterzogen wurde (siehe Kapitel 3.3.3).

In der Hagebutten-Interventionsstudie II waren in Bezug auf die Plasmagehalte an **Rubixanthin** und **Vitamin C** bei allen Probanden die gleichen Effekte wie in der Hagebutten-Interventionsstudie I zu beobachten.

Während der Aufnahme der Hagebuttenmarkmuster HM A und HM B nahmen die Plasmaspiegel an (*Gesamt*)-**Lycopin** analog zur ersten Studie erstaunlicherweise ebenfalls nicht zu. Jedoch konnten im Gegensatz zur Hagebutten-Interventionsstudie I auch keine signifikanten Abnahmen der Lycopingehalte festgestellt werden. Diese Beobachtungen zeigten, dass die Erhitzung des Hagebuttenmarks eine geringfügige Erhöhung der Lycopinbioverfügbarkeit zur Folge hatte, denn würde kein Lycopin aus dem Hagebuttenmark aufgenommen, sanken die Lycopinlevel aufgrund des auch fehlenden Verzehrs anderen lycopinhaltiger Lebensmittel weiter ab. Jedoch wird Lycopin auch aus diesen zwei Arten von Hagebuttenmark im Vergleich zu anderen Lebensmitteln wie Tomaten, Tomatenprodukte, Wassermelonen etc. (siehe auch Tabelle 9) nur in sehr geringem Maße vom menschlichen Körper absorbiert. Ein Grund für die geringe Bioverfügbarkeit aus Hagebuttenmark könnten die hohen Ballaststoffgehalte (etwa 3,5 g/100 g) der Produkte sein. Vergleichbar dazu beobachtete Horvitz *et al.* in einer Humanstudie eine geringe Lycopin-Bioverfügbarkeit aus lycopinhaltigen Karotten begründet in Menge und Art der Ballaststoffe in diesen Pflanzen (Horvitz *et al.*, 2004). Eine verringerte Bioverfügbarkeit von Carotinoiden aufgrund von Ballaststoffwirkungen wurde auch in einer Vielzahl weiterer Studien (Rock & Swendseid, 1992; Hoffmann *et al.*, 1999; Riedl *et al.*, 1999) beobachtet. Ein anderer Grund der niedrigen Verfügbarkeit könnte sein, dass die Probanden das Hagebuttenmark in den meisten Fällen zusammen mit Milchprodukten (Milch, Joghurt etc.) verzehrten. Möglicherweise bildete Lycopin mit den Milchproteinen Carotinoid-Protein-Komplexe, die während der Verdauung schlecht gespalten werden konnten. Kontrovers zu dieser Hypothese waren jedoch Untersuchungen von Richelle *et al.*, die einen Anstieg der Lycopinspiegel nach dem Verzehr von Supplementen namens Lacto-Lycopin (Lycopin in Molkenprotein eingeschlossen) beobachteten (Richelle *et*

*al.*, 2002). Breithaupt *et al.* zeigten weiterhin in einer Humanstudie, dass  $\beta$ -Cryptoxanthin auch beim gleichzeitigen Verzehr von  $\beta$ -Cryptoxanthin-haltigen Papajas und Milchprodukten gut vom menschlichen Körper absorbiert wurde. Dabei ist jedoch zu bedenken, dass  $\beta$ -Cryptoxanthin im Vergleich zu Lycopin polarer ist und demzufolge etwas anderen Absorptionsvorgängen unterliegt. Die geringfügig unterschiedlichen Polaritäten von Carotinoiden können auch der Grund für die voneinander abweichenden Verfügbarkeiten von Lycopin und Rubixanthin (polarer als Lycopin) aus Hagebuttenmark sein.

Bei der Untersuchung des verwendeten Hagebuttenmarks in einem „*in-vitro*-Verdauungsmodell“, in dem die Absorption von lipophilen Mikronährstoffen aus Lebensmitteln simuliert und die anschließende Aufnahme dieser in Mizellen erfasst wird, wurde eine Absorptionsrate von  $0,30 \pm 0,11$  % ermittelt (Hohbein, 2007). Im Vergleich dazu beobachten Reboul *et al.* unter Verwendung des gleichen *in-vitro*-Modells bei rohen Tomaten eine Aufnahme von  $0,10 \pm 0,05$  % und bei verarbeiteten Tomaten  $1,60 \pm 0,22$  % (Reboul *et al.*, 2006). Diese Ergebnisse geben ebenfalls einen Hinweis darauf, dass Lycopin aus erhitztem Hagebuttenmark in geringen Mengen aufgenommen wird, jedoch sind solche *in-vitro*-Befunde nicht immer direkt auf die *in-vivo*-Situationen übertragbar.

### **5.3.4 Kinetik-Pilotstudien**

#### **5.3.4.1 Kinetik-Pilotstudien**

Bis heute wurden nur wenige absorptionskinetische Untersuchungen mit Lycopin, vor allem im Hinblick auf die verschiedene Lycopinisomere, durchgeführt. Zu anderen Carotinoiden, wie beispielsweise  $\beta$ -Carotin oder Lutein, liegen absorptionskinetische Daten vor, welche jedoch aufgrund der unterschiedlichen Eigenschaften der Carotinoide (speziell der Polarität) nicht direkt auf Lycopin übertragbar sind. Die Übertragbarkeit der Ergebnisse aus Tierstudien auf den Menschen ist auch nicht unbedingt gegeben. Eine Zusammenstellung bisher publizierter Studien zu diesem Thema ist in der Tabelle 24 zu finden.

**Tabelle 24:** Zusammenstellung publizierter absorptionskinetischer Untersuchungen zu Carotinoiden

Literatur	Untersuchte Carotinoide	Carotinoid-dosis	Untersuchungs-medium	Zeitpunkt der Maximalkonzentration im Untersuchungsmedium
(Kübler, 1989) <sup>1</sup>	Canthaxanthin	150 mg	LDL, HDL, CHYL+VLDL	Canthaxanthin: 3 h und 8 h
(Oshima <i>et al.</i> , 1997) <sup>1</sup>	Capsanthin Lycopin	16,2 mg 100 mg	Plasma	Capsanthin: 8 h Lycopin: 12 - 14 h
(Gärtner <i>et al.</i> , 1997) <sup>1</sup>	Lycopin	25 mg	TLR-Fraktion <sup>3</sup>	Lycopin: 5 - 6 h
(Johnson <i>et al.</i> , 1997) <sup>1</sup>	Lycopin	60 mg	Plasma	Lycopin: ~ 5 h
(O'Neill & Thurnham, 1998) <sup>1</sup>	β-Carotin Lutein Lycopin	30 - 40 mg	TLR-Fraktion <sup>3</sup>	β-Carotin: 3 - 5 h Lutein: 2 h Lycopin: 4 - 6 h
(van den Berg & van Vliet, 1998) <sup>1</sup>	β-Carotin Lutein Lycopin	15 mg 15 mg 15 mg	TLR-Fraktion <sup>3</sup>	β-Carotin: 4 - 7 h Lutein: 2 und 6 h Lycopin: 6 h
(Porrini <i>et al.</i> , 1998) <sup>1</sup>	Lycopin	16,5 mg	Plasma	Lycopin: 4 - 8 h und 12 h
(Kostic <i>et al.</i> , 1995) <sup>1</sup>	β-Carotin Lutein	0,5 μmol/kg KG 0,5 μmol/kg KG	Serum	β-Carotin: 8 h und 24 h Lutein: 12 h
(Kurilich <i>et al.</i> , 2003) <sup>1</sup>	Lutein <sup>4</sup> β-Carotin <sup>4</sup>	18 - 19 mg 18 - 19 mg	Plasma	Lutein: 12 h β-Carotin: 8 h und 24 h
(Mathews-Roth <i>et al.</i> , 1990) <sup>2</sup>	Lycopin <sup>5</sup> Canthaxanthin <sup>5</sup>	200 - 600 μg	Plasma	Lycopin, Canthaxanthin: - 4 - 8 h (Ratten) - 8 - 48 h (Affen)
(Bierer <i>et al.</i> , 1995) <sup>2</sup>	Lycopin u. a.	20 mg	Plasma	Lycopin: ~16 h (Kälber)
(Korytko <i>et al.</i> , 2003) <sup>2</sup>	Lycopin	10 - 50 mg/kg KG	Plasma	Lycopin: ~15 h (Hunde)
(Gustin <i>et al.</i> , 2004)	Lycopin	10 - 120 mg	Plasma	Lycopin: ~ 5 h und ~24 h

<sup>1</sup> Humanstudie, <sup>2</sup> Tierstudie, <sup>3</sup> Chylomikronen-reiche Lipoproteinfraktion, <sup>4</sup> <sup>13</sup>C-Isotopen-markiert, <sup>5</sup> <sup>14</sup>C-Isotopen-markiert

In der **Kinetik-Studie I** zeigten nur zwei von vier Probanden nach dem einmaligen Verzehr von 50 mg Lycopin in Form von Tomatenmark bzw. Tomatensaft signifikante Änderungen in den Lycopingehalten im Plasma. Aus Zeitgründen wurde bei dieser Studie auf eine Auswaschphase verzichtet. Demzufolge waren die Ausgangsgehalte relativ hoch, was möglicherweise eine schlechtere Lycopin-Absorptionsrate zur Folge hatte. Trotzdem gaben die erhaltenen Daten einen Hinweis darauf, dass etwa 10 - 12 Stunden nach der Aufnahme einer Einmaldosis an Lycopin die Lycopingehalte im Plasma anstiegen und danach wieder fielen. Die fehlende Auswaschphase war ebenfalls der Grund, dass keine Änderungen der Lycopin-isomerenverhältnisse zu beobachten waren. Da die Probanden vor Beginn der Studie lycopinhaltige Lebensmittel zu sich nahmen, lag mit 40 % (*all-E*)-Lycopin und 60 % (*Z*)-Lycopin im Plasma ein Gleichgewicht zwischen den verschiedenen Isomeren vor. Diese Isomerenzusammensetzung konnte beispielsweise auch in der Tomaten-Interventionsstudie (siehe Kapitel 5.3.1.2) beobachtet werden. Problematisch waren bei dieser Studie die aufgrund analyti-

scher Probleme aufgetretenen starken Abweichungen zwischen den Doppelbestimmungen (Daten nicht gezeigt), was die Auswertung besonders in Bezug auf die Signifikanzen der Änderungen negativ beeinflusste.

In der **Kinetik-Studie II** war bei drei von vier Probanden nach dem einmaligen Verzehr von 50 mg Lycopin in Form von Tomatenmark bzw. Tomatensaft eine eindeutige Plasmareaktion in Bezug auf die Lycopingehalte zu beobachten. Während der vierwöchigen Auswaschphase, in der sich die Probanden lycopinarm ernährten, waren vergleichbar zur Tomaten-Interventionsstudie eine Verringerung der Lycopinspiegel und eine Verschiebung der Lycopinisolomerenverhältnisse zu Gunsten der (*Z*)-Isomere zu beobachten. Bei drei Probanden zeigte sich im Plasma 6–7 Stunden bzw. bei 8–10 h nach der Lycopinaufnahme ein Maximum der (*Gesamt*)-Lycopinkonzentration. Nach dem Maximum fielen die Lycopingehalte und stiegen 2–3 Stunden später erneut signifikant an. Im Vergleich dazu zeigten eigene Untersuchungen, dass sich der Lycopinspiegel ohne die morgendliche Aufnahme von Lycopin im Laufe von 24 h nicht änderte (Daten nicht gezeigt). Die beobachteten Veränderungen nach der Lycopinaufnahme stimmten größtenteils mit den publizierten Daten überein (siehe Tabelle 24). Andere Untersuchungen zeigten abweichend davon, dass sich die Plasmalevel an Lycopin nach dem Verzehr einer einmaligen Dosis Tomatensaft bzw. anderer Tomatenprodukte nicht änderten (Brown *et al.*, 1989; Stahl & Sies, 1992). Jedoch war ein Anstieg der Lycopingehalte im Plasma nach dem einmaligen Verzehr von Tomatensaft, welcher für 1 h mit 1% Maiskeimöl erhitzt wurde, zu beobachten (Stahl & Sies, 1992). Da einige Probanden eine Plasmareaktion zeigten und andere jedoch nicht, liegt die Vermutung nah, dass analog zum  $\beta$ -Carotin auch beim Lycopin möglicherweise Responder/Lowresponder/Nonresponder zu beobachten sind (Diwadkar-Navsariwala *et al.*, 2003). Bei den meisten Probanden trat ein Doppelmaximum in den Lycopingehalten im Plasma auf. Das erste Maximum bei etwa 6 Stunden könnte durch den Transfer von Lycopin aus den Enterozyten der Darmschleimhaut in die Chylomikronen des Plasma zu Stande kommen. Lycopin, welches aus dem Leberspeicher wieder in die Lipoproteinkompartimente des Plasmas abgegeben wurde, könnte zu dem später auftretenden Maximum führen.

Die erhöhten (*Gesamt*)-Lycopingehalte resultierten sowohl aus steigenden Konzentrationen an (*all-E*)-Lycopin als auch an (*Z*)-Lycopinisolomeren. Vier Stunden nach dem Verzehr der Tomatenprodukte wurden signifikante Verschiebungen der Lycopinisolomerenverhältnisse zu Gunsten des (*all-E*)-Lycopins beobachtet. Nach 12 Stunden sank der prozentuale Anteil von

(*all-E*)-Lycopin am (*Gesamt*)-Lycopin wieder und näherte sich langsam den Ausgangsbedingungen.

Die Ergebnisse dieser Pilotstudie unterstützten die Hypothese, dass es im Körper zu einer Isomerisierung von (*Gesamt*)-Lycopin kommt. Die Untersuchungen zu den Isomerenverhältnissen legten die Vermutung nahe, dass diese Isomerisierung relativ schnell (nach mehreren Stunden) erfolgt und sich nach einer gewissen Zeit ein stabiles Isomerenverhältnis im Plasma einstellt.

Weitere Studien sind jedoch notwendig, um diese Hypothesen eindeutig zu bestätigen. Vorteilhaft bei weiteren Untersuchungen wäre die Messung der Lycopingehalte in der Chylomikronen-reichen Lipoproteinfraktion (TLR-Fraktion), da neu absorbierte Carotinoide hauptsächlich in den Chylomikronen transportiert werden. Außerdem ist dieses Medium sensitiver als Plasma gegenüber Lycopinveränderungen infolge des Verzehrs einer Einzeldosis. Die Plasmakonzentrationen werden dagegen nicht nur durch die neu absorbierten Carotinoide beeinflusst, sondern auch durch den Carotinoidmetabolismus, die Gewebeverteilung bzw. den Transfer der Carotinoide zwischen den einzelnen Lipoproteinfraktionen des Blutes. Van het Hof *et al.* beobachteten im Plasma und in der TLR-Fraktion vergleichbare Lycopinveränderungen, wobei die beobachteten Unterschiede in der TLR-Fraktion des Plasmas größer waren als im Gesamtplasma (van het Hof *et al.*, 2000a).

### **5.3.5 Zusammenfassende Diskussion der Lycopin-Isomerenverteilung in physiologischen Materialien**

Ein Hauptziel der verschiedenen, durchgeführten Humanstudien war, durch die Untersuchung der Lycopinisomergehalte und -verhältnisse weitere Erkenntnisse darüber zu erhalten, wieso im Gegensatz zu Lebensmitteln der Anteil der (*Z*)-Lycopinisomere im menschlichem Körper so hoch ist. In den meisten Lebensmitteln kommt Lycopin zu über 85 % als (*all-E*)-Lycopin und demzufolge zu weniger als 15 % in der (*Z*)-Form vor. Im menschlichen Blut liegt dagegen der Anteil an (*Z*)-Lycopinisomeren über 50 %, im menschlichem Gewebe sogar z. T. über 75 %. Hauptsächlich zwei Hypothesen sind in der Literatur als Erklärung für diese Beobachtung zu finden. Zum einen wird eine bevorzugte Absorption von (*Z*)-Isomeren dafür verantwortlich gemacht, zum anderen im Körper stattfindende Isomerisierungsreaktionen. Im nachfolgenden Kapitel werden diese und andere Hypothesen beschrieben und diskutiert.

### **Bevorzugte Aufnahme von (Z)-Lycopinisomeren**

**Pro:** Einige Autoren sahen die bevorzugte Aufnahme von (Z)-Lycopin als Grund für den höheren Anteil dieser Isomere im Vergleich zum (*all-E*)-Lycopin. Parker beschrieb beispielsweise eine bessere Absorption der (Z)-Lycopinisomere aufgrund ihrer höheren Polarität und der daraus resultierenden geringeren Neigung zur Kristallisation sowie der besseren Löslichkeit dieser Isomere in Lipiden im Vergleich zum (*all-E*)-Lycopin (Parker, 1997). Die Arbeitsgruppe von Boileau *et al.* schloss sich ebenfalls dieser Hypothese an (Boileau *et al.*, 2000; Boileau *et al.*, 2002). Ergebnisse aus Rattenstudien lieferten Hinweise auf eine bessere Aufnahme der (Z)-Isomere gegenüber (*all-E*)-Lycopin infolge ihrer höheren Löslichkeit in gemischten Mizellen, ihrer geringeren Kristallisationsneigung und/oder ihrer kürzeren Moleküllänge (da gewinkelte Struktur). Auch Re *et al.* vermuteten, dass neben anderen Mechanismen auch die bessere Absorption der (Z)-Isomere zu den beobachteten Isomerenverhältnissen im Körper führen (Re *et al.*, 2001).

**Contra:** Sicilia *et al.* konnten im Gegensatz dazu bei Studien mit Kälbern keine bessere Aufnahme der (Z)-Lycopinisomere feststellen (Sicilia, 2004; Sicilia *et al.*, 2005). Auch Gustin *et al.* stellten keine Unterschiede in den Absorptionsraten von (*all-E*)-Lycopin und (Z)-Lycopinisomeren im Gastrointestinal-Trakt fest (Gustin *et al.*, 2004). Die im Vergleich zum (*all-E*)-Lycopin hohen Konzentrationen an (Z)-Lycopinisomeren im Körper alleinig mit der beschriebenen Hypothese zu begründen scheint außerdem nicht sinnvoll, wenn man bedenkt, dass in den Hauptlycopinquellen des Menschen (Tomaten, Wassermelonen und Produkte daraus) Lycopin nur zu einem geringen Anteil in der (Z)-Form vorliegt.

### **Isomerisierung von (*all-E*)-Lycopin zu (Z)-Lycopinisomeren im Gastrointestinal-Trakt**

**Pro:** Die Umwandlung von absorbiertem (*all-E*)-Lycopin in unterschiedliche (Z)-Konfigurationen im Gastrointestinal-Trakt infolge der Einwirkung von Magensäure und verschiedenen Enzymen wurde als eine weitere Hypothese diskutiert. Aus eigenen Untersuchungen (Daten nicht gezeigt) und verschiedenen weiteren *in-vitro*-Untersuchungen ist bekannt, dass Lycopin mittels verschiedener Säuren isomerisiert und oxidiert werden kann (Zechmeister, 1944). Eine Isomerisierung von aufgenommenem (*all-E*)-Lycopin durch im Körper vorkommende Enzyme wäre ebenfalls denkbar, jedoch wurden dazu bis heute noch keine Untersuchungen publiziert. In Frettchen konnte nach einer oralen Aufnahme von Lycopin im Gastrointestinal-Trakt ein Anstieg des prozentualen Anteils an (Z)-Isomeren von 6 % im Magen auf 18 % im Dickdarm beobachtet werden. Jedoch konnte diese relativ geringe Isomerisierung nicht die in den Darmmukosazellen vorkommenden Isomerenverhältnisse mit etwa 60 % an (Z)-Isomeren

erklären. (Boileau *et al.*, 1999) Auch Re *et al.* konnten in Modellversuchen mit simuliertem und humanem Magensaft eine Isomerisierung feststellen (Re *et al.*, 2001).

**Contra:** Untersuchungen von Tyssandier *et al.* widerlegten jedoch die Hypothese, dass die hohen Konzentrationen an (Z)-Lycopinisomeren in Plasma und Gewebe durch eine Isomerisierung von (*all-E*)-Lycopin zu Stande kommen. Sie untersuchten in einer Humanstudie, in der Probanden Tomatenpüree verzehrten, das Isomerenprofil des Lycopins im Magensaft, in der Duodenum-Flüssigkeit und im Blut und beobachteten keine signifikante Änderung der Isomerenverhältnisse in Magen oder Dünndarm während der Verdauung. (Tyssandier *et al.*, 2003)

### **Isomerisierung von (*all-E*)-Lycopin zu (Z)-Lycopinisomeren beim Mukosaübergang bzw. bei der Chylomikronenbildung**

**Pro:** In mehreren Publikationen wurde beschrieben, dass Lycopin in Chylomikronen über 50 % in der (Z)-Konfiguration vorkam. Holloway *et al.* untersuchten beispielsweise in einer Humanstudie die Isomerenverteilung in verschiedenen Lipoprotein-Fractionen des Plasmas und fanden in den Chylomikronen ein Verhältnis von 57 % (Z)-Lycopin zu 43 % (*all-E*)-Lycopin (Holloway *et al.*, 2000). Da, wie schon erwähnt, in Magen und Dünndarm noch keine nennenswerte Isomerisierung stattfand und in den Chylomikronen dann aber schon über 50 % des Lycopins in der (Z)-Form vorlag, wäre eine Isomerisierung des aus der Nahrung stammenden (*all-E*)-Lycopins nach der Aufnahme in die Mukosazellen denkbar. Die Umwandlung könnte noch in den Mukosazellen stattfinden und/oder bei der Einbindung in die Chylomikronen.

**Contra:** Abweichend davon ermittelten Gärtner *et al.* in Chylomikronen eine Lycopinzusammensetzung von 65 % (*all-E*) und 35 % (Z) und vermuteten demzufolge, dass Lycopin hauptsächlich in der Form in die Chylomikronen absorbiert wurde, wie es auch im Lebensmittel vorlag. Eine spätere Isomerisierung im Körper führte dann zu dem im Serum ermittelten Isomerenverhältnis von 45 % (*all-E*)-Lycopin und 55 % (Z)-Lycopin. (Gärtner *et al.*, 1997) Aus den Daten dieser Untersuchungen (5 % (5Z) in den Lebensmitteln, 35 % (5Z) in den Chylomikronen) lässt sich aber auch schlussfolgern, dass möglicherweise schon eine Isomerisierung vor der Einbindung in die Chylomikronen stattfindet und/oder diese Isomerenverhältnisse in der bevorzugten (Z)-Lycopinaufnahme begründet sind.

Die Untersuchung der Chylomikronen wird häufig als eine gute Methode angesehen, um die Isomerenverteilung nach der Absorption aus dem Darm und vor möglichen Veränderungen in

der Leber zu betrachten. All diese Ergebnisse sind in Bezug auf mögliche Hypothesen zur Isomerisierung als kritisch zu betrachten, da nicht die Chylomikronen direkt, sondern die Chylomikronen-reiche Plasmafraktion (TLR-Fraktion) untersucht wurde, deren Zusammensetzung von der verwendeten Methode (Bedingungen der Ultrazentrifugation) abhängt. Chylomikronen haben nur eine Halbwertszeit von 5 – 30 Minuten und deshalb ist auch fraglich, in wie weit in den untersuchten TLR-Fractionen (siehe auch Tabelle 24) überhaupt noch Chylomikronen enthalten waren.

### **Tomaten-Interventionsstudie**

In der Tomaten-Interventionsstudie (siehe Kapitel 4.3.1.2) wurden im Plasma der Probanden signifikante Veränderungen der Verhältnisse von (*all-E*)-Lycopin zur Summe der (*Z*)-Lycopinisomere beobachtet. Dadurch konnten verschiedene Hypothesen zur Lycopinisomerisierung aufgestellt werden, welche im Kapitel 5.3.1.2 genauer erläutert sind. Die Verschiebung des Isomerenverhältnisses in der Auswaschphase (lycopinarme Ernährung) zu Gunsten der (*Z*)-Isomere könnte zum einen durch eine systematische Umwandlung von (*all-E*)-Lycopin zu (*Z*)-Lycopin im Körper zu Stande kommen. Weiterhin wäre denkbar, dass die (*Z*)-Isomere eine längere Halbwertszeit im Körper haben als das (*all-E*)-Lycopin. Theoretisch könnte der steigende prozentuale Anteil an (*Z*)-Isomeren durch eine bevorzugte Aufnahme von (*all-E*)-Lycopin ins Gewebe entstehen, wogegen jedoch die hohen (*Z*)-Konzentrationen im Gewebe sprechen. Auch ein Transfer von (*Z*)-Lycopinisomeren aus den Geweben ins Plasma könnte möglich sein.

### **Kinetik-Pilotstudien**

Bei der Untersuchung des zeitlichen Verlaufes der Lycopinaufnahme ins Blut und der Veränderungen der Isomerenverhältnisse nach dem Verzehr von Tomatenprodukten konnten ebenfalls interessante Verschiebungen zwischen den Isomerenanteilen beobachtet werden (siehe Kapitel 4.3.4.). Etwa 4 Stunden nach der Lycopinaufnahme wurde eine Verschiebung der Isomerenverhältnisse zu Gunsten des (*all-E*)-Lycopins festgestellt. Der Anteil der (*all-E*)-Konfiguration stieg die nächsten Stunden stetig an und sank nach etwa 12 Stunden wieder ab. Der Anstieg sowohl des Gehaltes als auch des prozentualen Anteils an (*all-E*)-Lycopin kam durch die Aufnahme dieses Isomers aus der Nahrung zu Stande. Die Verschiebung des Verhältnisses nach 12 Stunden zu Gunsten der (*Z*)-Isomere lässt vermuten, dass ein Teil des aufgenommenen (*all-E*)-Lycopins langsam in verschiedene (*Z*)-Lycopinisomere umgewandelt wird. Diese Isomerisierung kann einerseits in der Leber bzw. auch in anderen Geweben statt-

finden, wobei nachfolgend die gebildeten Isomere wieder ins Blut transferieren, bis sich dort ein Gleichgewichtszustand eingestellt hat. Denkbar wäre auch eine langsame Isomerisierung des Lycopins im Blut.

**Zusammenfassend** lässt sich feststellen, dass das Auftreten der hohen (*Z*)-Isomerenanteile im menschlichen Körper nicht, wie häufig beschrieben, ausschließlich durch die bevorzugte Absorption von (*Z*)-Isomeren aus der Nahrung erklärbar ist. Wahrscheinlicher ist, dass im menschlichen Körper eine effiziente Umwandlung von (*all-E*)-Lycopin zu verschiedenen (*Z*)-Lycopinisomeren erfolgt. Diese Isomerisierung könnte an unterschiedlichen Stellen im Körper (Mukosa, Chylomikronen, Leber, Blut, Gewebe) stattfinden, wobei bei der jetzigen Datenlage keine genaueren Angaben zum wirklichen Isomerisierungsort gemacht werden können. Zusätzlich dazu sind aber auch noch andere Mechanismen, wie der bevorzugte Abbau von (*all-E*)-Lycopin im Blut, die Mobilisierung von (*Z*)-Isomeren aus Körperspeichern etc. möglich. Vermutlich findet im Körper eine Kombination aus mehreren dieser Prozesse statt. Für eine genaue Klärung der im Körper stattfindenden Mechanismen der Lycopinaufnahme und Metabolisierung sind zwingend weitere Untersuchungen notwendig. Dabei sollten Humanstudien bevorzugt werden, da Ergebnisse aus Tier- bzw. *in-vitro*-Studien nicht immer direkt auf den Menschen übertragbar sind. Besonders Untersuchungen mit isotopen-markiertem Lycopin würden sich dabei als sinnvoll erweisen.

## 6 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Tomaten sind neben Kartoffeln das am häufigsten verzehrte Gemüse in Europa und machen in Deutschland etwa 22 % des Gesamtgemüseverzehrs aus. Sie enthalten neben verschiedenen Vitaminen und Mineralstoffen auch eine Vielzahl von sekundären Pflanzenstoffen, wie beispielsweise Carotinoide und Polyphenole. Verschiedene epidemiologische Studien deuten darauf hin, dass auch der Verzehr von Tomaten und Tomatenprodukten organspezifische, chemopräventive Effekte auf einige Krebsarten und auf kardiovaskuläre Erkrankungen hat. Obwohl die Mechanismen der protektiven Wirkungen bis heute nicht eindeutig geklärt sind, gibt es zahlreiche Hinweise darauf, dass ein Teil der Effekte dem Lycopin zuzuschreiben ist.

Ziel dieser Arbeit war, Untersuchungen zur Struktur und zur antioxidativen Aktivität ausgewählter Lycopinisomere durchzuführen, sowie Lycopingehalte und Isomerenverteilung in verschiedenen Lebensmitteln zu ermitteln. Weiterhin sollten verschiedene Humanstudien neue Erkenntnisse zu Bioverfügbarkeit und Metabolisierung von Lycopin bringen.

In Lebensmitteln und Humanplasma konnten mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) mit einer analytischen C<sub>30</sub>-Säule (250 x 4,6 mm, 5 µm) und einem Gradienten aus Methanol und tert.-Methylbutylether als mobile Phase zusätzlich zum (*all-E*)-Lycopin eine Vielzahl von geometrischen Lycopinisomeren detektiert werden. Bei den kommerziell erhältlichen C<sub>30</sub>-Säulen traten bei einigen Säulentypen Probleme auf, welche Auswirkungen auf Reproduzierbarkeit und Trennleistung hatten. Bei der Verwendung von Säulen verschiedener Hersteller, aber auch zwischen unterschiedlichen Chargen eines Herstellers wurden gravierende Unterschiede in der Trennung von Carotinoidmischungen beobachtet. Für jede Säule mussten die HPLC-Bedingungen wie Gradientenzusammensetzung, Säulentemperatur, Flussrate neu optimiert werden. Bei einigen Säulen war trotz entsprechender Änderungen der HPLC-Parameter keine zufriedenstellende Trennung möglich. Problematisch war teilweise auch das Material der verwendeten Säuleneingangsfritten bzw. Säulenmäntel. Bei einigen Säulen war eine Oxidation der Carotinoide in der Säule zu beobachten, was sich durch den Austausch dieser Teile durch inerte Kunststoffmaterialien beheben ließ.

In der Literatur liegen nur wenige, z. T. sehr widersprüchliche Daten zur genauen **Struktur einzelner Lycopinisomere** vor. Ziel war, vier (*Z*)-Lycopinisomere, welche auch in Lebensmitteln und Plasma zu finden sind, mit Hilfe von verschiedenen spektroskopischen Methoden zu **identifizieren**. Dafür wurde eine (*all-E*)-Lycopinlösung durch Iodzugabe und UV-

Bestrahlung isomerisiert, und die entstandene Mischung aus Lycopinisomeren und Lycopin-abbauprodukten an einer semipräparativen C<sub>30</sub>-Säule (300 x 10,0 mm, 5 µm) fraktioniert. Von den isolierten (*Z*)-Lycopinisomeren wurden Absorptionsspektren in verschiedenen Lösungsmitteln aufgenommen sowie Untersuchungen mittels HPLC-MS, NMR (<sup>1</sup>H NMR, 2D NMR) durchgeführt. Mit den erhaltenen Daten konnten die genauen Strukturen von zwei Mono-(*Z*)- und zwei Di-(*Z*)-Lycopinisomeren charakterisiert werden. Damit ist erstmalig gelungen, die (*Z*)-Isomere (*5Z,9'Z*)-, (*9Z*)-, (*5Z,9Z*)- und (*5Z*)-Lycopin eindeutig zu identifizieren und den mit einer heutzutage gängigen C<sub>30</sub>-HPLC-Methode detektierten Peaks sicher zuzuordnen.

Die **antioxidative Wirkung** des Lycopins scheint eine Schlüsselrolle bei der präventiven Wirkung des Lycopins auf den menschlichen Organismus zu spielen. Aus diesem Grund wurden von (*all-E*)-Lycopin und den vier isolierten (*Z*)-Lycopinisomeren mit zwei verschiedenen Methoden (TEAC, PCL) die antioxidativen Aktivitäten bestimmt. (*all-E*)- und (*5Z*)-Lycopin zeigten vergleichbare Aktivitäten, während die Isomere (*5Z,9'Z*)-, (*9Z*)- und (*5Z,9Z*)-Lycopin signifikant höhere antioxidative Aktivitäten im Vergleich zu (*all-E*)-Lycopin aufwiesen. Die höhere antioxidative Wirkung einiger (*Z*)-Lycopinisomere ist möglicherweise ein Grund für das im menschlichen Körper verstärkte Auftreten des Lycopins in der (*Z*)-Konfiguration.

Ein weiterer Schwerpunkt der Arbeit lag auf der Untersuchung des Carotinoid-, speziell des Lycopinprofils verschiedener Lebensmittel. Dazu wurden u. a. in verschiedenen **Tomaten und Tomatenprodukten** die Carotinoidgehalte ermittelt und miteinander verglichen. Lycopin in unterschiedlichen isomeren Formen und β-Carotin konnten in allen Proben detektiert und quantifiziert werden. In Tomaten, jedoch nicht in den verarbeiteten Produkten, waren zusätzlich geringe Gehalte an Lutein zu finden, was die Vermutung nahe legt, dass Lutein während der Verarbeitung leicht abgebaut wird. Die Ergebnisse zu β-Carotin zeigten, dass auch dieses Carotinoid relativ empfindlich auf Erhitzungs- und andere Prozessschritte reagiert. Beim Lycopin war dagegen ein etwas anderes Verhalten zu beobachten. Die durchschnittlichen (*Gesamt*)-Lycopingehalte lagen in frischen Tomaten bei 4,1 – 13,6 mg/100 g FM, in den verarbeiteten Tomatenprodukten bei 9,4 - 24,8 mg/100 g FM. Die durchschnittlich höheren Lycopinwerte bei den verarbeiteten Erzeugnissen kommen durch Wasserverluste und somit Konzentrierung während der Verarbeitung und möglicherweise durch Verwendung lycopinreicher Tomatensorten als Rohmaterial zu Stande. (*all-E*)-Lycopin war das Hauptlycopinisomer in allen untersuchten Tomaten und Tomatenerzeugnissen. Während der Lebensmittelverarbeitung können bekannterweise *cis-trans*-Isomerisierungsreaktionen statt-

finden und demzufolge auch Änderungen der biologischen Aktivität (antioxidativen Aktivität). Die relativen Verhältnisse von (*all-E*)-Lycopin zu der Summe der (*Z*)-Lycopinisomere zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Tomaten, Tomatensäften, Tomatenketchups, Dosentomaten und passierten Tomaten. Der Anteil von (*all-E*)-Lycopin am (*Gesamt*)-Lycopin betrug bei all diesen Proben über 90 %. Dieses Ergebnis zeigte, dass Lycopin eingebettet in die Tomatenmatrix relativ stabil gegenüber Isomerisierungen während der Verarbeitung ist. Bei den Tomatensaucen war dagegen mit durchschnittlich 82 % (*Z*)-Isomeren ein signifikant höherer Anteil an (*Z*)-Lycopin zu beobachten. Die Gründe dafür könnten die längeren Erhitzungszeiten, sowie die Anwesenheit von Speiseölen und -fetten sein.

Neben Tomaten, enthielten auch **Wassermelonen, Pink Grapefruits, Hagebutten und Sanddorn** sowie daraus hergestellte Produkte Lycopin. Obwohl die Gehalte in diesen Produkten in den meisten Fällen niedriger als die Lycopingehalte in Tomatenprodukten waren, sind sie aufgrund der protektiven Wirkung des Lycopins und anderer Inhaltsstoffe eine interessante Alternative für eine gesunde, lycopinreiche Ernährung des Menschen.

Weiterhin wurden **verschiedene Humanstudien**, in denen Probanden lycopinhaltige Lebensmittel (Tomaten, Tomatenmark, Tomatensaft, Hagebuttenmark) verzehrten, durchgeführt. Das Hauptinteresse der Untersuchungen lag dabei aufgrund der unterschiedlichen antioxidativen Aktivitäten der einzelnen Lycopinisomere auf den Änderungen der Lycopinisomerenverhältnisse. In der ersten Studie (Tomaten-Interventionsstudie) verzehrten 17 Probanden vier Wochen lang täglich 12,5 mg Lycopin in Form von Tomaten, Tomatensaft oder Tomatenmark. Im Vergleich dazu wurde eine Studie mit Rauchern durchgeführt (Raucher-Interventionsstudie), welche täglich eine vergleichbare Menge (14,1 mg) Lycopin als Tomatenmark verzehrten. In zwei weiteren Humanstudien (Hagebutten-Interventionsstudien I und II) wurden die Änderungen der Carotinoidgehalte im Blutplasma von fünf Probanden nach dem vierwöchigen täglichen Verzehr von verschiedenen Typen Hagebuttenmark (5 mg Lycopin pro Tag) untersucht. Vor Beginn der Interventionsphase fand jeweils eine zweiwöchige Auswaschphase statt, um den Lycopingehalt im Plasma der Probanden zu senken. Außerdem sollten sich die Probanden während der gesamten Studiendauer lycopinarm ernähren. Weiterhin wurden in zwei Pilotstudien mit jeweils vier Probanden absorptionskinetische Untersuchungen zum zeitlichen Verlauf der Lycopinaufnahme über 24 bzw. 96 Stunden nach dem einmaligen Verzehr von Tomatensaft- bzw. Tomatenmark (50 mg Lycopin) durchgeführt.

Während der Auswaschphasen resultierten in allen Studien signifikante Abnahmen der Lycopingehalte im Plasma. Während in der **Tomaten- und Raucher-Interventionsstudie** nach dem Verzehr der Tomatenerzeugnisse jeweils ein signifikanter Anstieg des Lycopin-gehalts im Plasma der Probanden zu beobachten war, stieg überraschenderweise in den **Hagebutten-Interventionsstudien** nach dem Verzehr von Hagebuttenmark der Plasmagehalt an Lycopin nicht an. Beim Rubixanthin, einem spezifischen Rosencarotinoid, konnte im Gegensatz zu Lycopin eine signifikante Erhöhung der Gehalte im Plasma verzeichnet werden. Die Unterschiede in der Bioverfügbarkeit von Lycopin und Rubixanthin aus Hagebuttenmark können durch die unterschiedliche Polarität dieser beiden Carotinoide zu Stande kommen. Der Grund für die geringe Aufnahme von Lycopin in den Körper könnte die hohen Ballaststoffgehalte der Hagebuttenprodukte oder auch die Bildung von Carotinoid-Protein-Komplexen infolge des gleichzeitigen Konsums von Milchprodukten sein.

Weiterhin trat in den Humanstudien eine **Verschiebungen der prozentualen Anteile von (*all-E*)-Lycopin und (*Z*)-Isomeren am (*Gesamt*)-Lycopin** auf. Während der Auswaschphase wurde eine signifikante Änderung der (*Z*)-(*all-E*)-Verhältnisse von 60:40 vor der lycopinarmen Kost auf 70:30 nach der zweiwöchigen lycopinarmen Kost beobachtet. Während der nachfolgenden Aufnahme von Tomaten und Tomatenprodukten näherte sich das Isomerenverhältnis langsam wieder den Ausgangsbedingungen von 60 % (*Z*)-Lycopinisomere und 40 % (*all-E*)-Lycopin. In der Kinetik-Pilotstudie II verschob sich etwa 4 Stunden nach der Aufnahme der Tomatenprodukte das Isomerenverhältnis zu Gunsten des (*all-E*)-Lycopins. Der Anteil der (*all-E*)-Konfiguration stieg die nächsten Stunden stetig an und sank nach etwa 12 Stunden wieder ab. Diese Daten lieferten wichtige Hinweise auf mögliche Vorgänge, die zu den hohen (*Z*)-Isomerenanteilen im Körper führen könnten.

**Zusammenfassend** lässt sich feststellen, dass das Auftreten der hohen (*Z*)-Isomerenanteile im menschlichen Körper nicht, wie häufig beschrieben, ausschließlich durch die bevorzugte Absorption von (*Z*)-Isomeren aus der Nahrung erklärbar ist. Wahrscheinlicher ist, dass im menschlichen Körper eine effiziente Umwandlung von (*all-E*)-Lycopin zu verschiedenen (*Z*)-Lycopinisomeren erfolgt. Diese Isomerisierung könnte an unterschiedlichen Stellen im Körper (Mukosa, Chylomikronen, Leber, Blut, Gewebe) stattfinden, wobei bei der jetzigen Datenlage keine genaueren Angaben zum wirklichen Isomerisierungsort gemacht werden können. Zusätzlich dazu sind aber auch noch andere Mechanismen, wie beispielsweise der bevorzugte Abbau von (*all-E*)-Lycopin im Blut, die Mobilisierung von (*Z*)-Isomeren aus Körper-

speichern möglich. Vermutlich findet im Körper eine Kombination aus mehreren dieser Prozesse statt. Für eine genaue Klärung der im Körper stattfindenden Mechanismen der Lycopin-aufnahme und Metabolisierung sind zwingend weitere Untersuchungen notwendig. Dabei sollten Humanstudien bevorzugt werden, da Ergebnisse aus Tier- bzw. *in-vitro*-Studien nicht immer direkt auf den Menschen übertragbar sind. Besonders Untersuchungen mit isotonenmarkiertem Lycopin würden sich dabei als sinnvoll erweisen.

## 7 Literatur

- Abushita AA, Daood HG & Biacs PA (2000) Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors. *J Agric Food Chem* **48**, 2075-2081.
- Abushita AA, Hebshi EA, Daood HG & Biacs PA (1997) Determination of antioxidant vitamins in tomatoes. *Food Chem* **60**, 207-212.
- Adom KK & Liu RH (2005) Rapid peroxy radical scavenging capacity (PSC) assay for assessing both hydrophilic and lipophilic antioxidants. *J Agric Food Chem* **53**, 6572-6580.
- Agarwal A, Shen H, Agarwal S & Rao AV (2001) Lycopene content of tomato products: its stability, bioavailability and in vivo antioxidant properties. *J Med Food* **4**, 9-15.
- Agarwal S & Rao AV (1998) Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: a human dietary intervention study. *Lipids* **33**, 981-984.
- Agarwal S & Rao AV (2000) Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *Can Med Assoc J* **163**, 739-744.
- Albanes D, Virtamo J, Taylor PR, Rautalahti M, Pietinen P & Heinonen OP (1997) Effects of supplemental  $\beta$ -carotene, cigarette smoking, and alcohol consumption on serum carotenoids in the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study. *Am J Clin Nutr* **66**, 366-372.
- Alberg A (2002) The influence of cigarette smoking on circulating concentrations of antioxidant micronutrients. *Toxicology* **180**, 121-137.
- Alberg AJ, Chen JC, Zhao H, Hoffman SC, Comstock GW & Helzlsouer KJ (2000) Household exposure to passive cigarette smoking and serum micronutrient concentrations. *Am J Clin Nutr* **72**, 1576-1582.
- Aldini G, Yeum KJ, Russell RM & Krinsky NI (2001) A method to measure the oxidizability of both the aqueous and lipid compartments of plasma. *Free Radic Biol Med* **31**, 1043-1050.
- Allen CM, Schwartz SJ, Craft NE, Giovannucci EL, De Groff VL & Clinton SK (2003) Changes in plasma and oral mucosal lycopene isomer concentrations in healthy adults consuming standard servings of processed tomato products. *Nutr Cancer* **47**, 48-56.
- Allen CM, Smith AM, Clinton SK & Schwartz SJ (2002) Tomato consumption increases lycopene isomer concentrations in breast milk and plasma of lactating women. *J Am Diet Assoc* **102**, 1257-1262.
- Amir H, Karas M, Giat J, Danilenko M, Levy R, Yermiahu T, Levy J & Sharoni Y (1999) Lycopene and 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> cooperate in the inhibition of cell cycle progression and induction of differentiation in HL-60 leukemic cells. *Nutr Cancer* **33**, 105-112.
- Ansari MS & Gupta NP (2004) Lycopene: a novel drug therapy in hormone refractory metastatic prostate cancer. *Urol Oncol* **22**, 415-420.
- Arab L, Steck-Scott A & Fleishauer AT (2002) Lycopene and the lung. *Exp Biol Med* **227**, 894-899.
- Arab L, Steck-Scott S & Bowen P (2001) Participation of lycopene and beta-carotene in carcinogenesis: defenders, aggressors, or passive bystanders? *Epidemiol Rev* **23**, 211-230.
- Arnao MB, Cano A & Acosta M (2000) The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chem* **73**, 239-244.

- Aust O, Ale-Agha N, Zhang L, Wollersen H, Sies H & Stahl W (2003) Lycopene oxidation product enhances gap junctional communication. *Food Chem Toxicol* **41**, 1399-1407.
- Balestrieri ML, De Prisco R, Nicolaus B, Pari P, Moriello VS, Strazzullo G, Iorio EL, Servillo L & Balestrieri C (2004) Lycopene in association with  $\alpha$ -tocopherol or tomato lipophilic extracts enhances acyl-platelet-activating factor biosynthesis in endothelial cells during oxidative stress. *Free Radic Biol Med* **36**, 1058-1067.
- Balz M, Schulte E & Thier HP (1992) Trennung von Tocopherolen und Tocotrienolen durch HPLC. *Fett Wissenschaft Technologie* **94**, 209-213.
- Bangalore DV, McGlynn W & Scott DD (2005) Effect of  $\beta$ -cyclodextrin in improving the correlation between lycopene concentration and ORAC values. *J Agric Food Chem* **53**, 1878-1883.
- Ben-Dor A, Nahum A, Danilenko M, Giat Y, Stahl W, Martin HD, Emmerich T, Noy N, Levy J & Sharoni Y (2001) Effects of acyclo-retinoic acid and lycopene on activation of the retinoic acid receptor and proliferation of mammary cancer cells. *Arch Biochem Biophys* **391**, 295-302.
- Bierer TL, Merchen NR & Erdman JW, Jr. (1995) Comparative absorption and transport of five common carotenoids in preruminant calves. *J Nutr* **125**, 1569-1577.
- Böhm F, Edge R, Foley S, Lange L & Truscott TG (2001) Antioxidant inhibition of porphyrin-induced cellular phototoxicity. *J Photochem Photobiol B* **65**, 177-183.
- Böhm V (1999) Effect of subambient temperature on RP-HPLC of  $\beta$ -carotene isomers. *Chromatographia* **50**, 282-286.
- Böhm V (2001) Use of column temperature to optimize carotenoid isomer separation by C<sub>30</sub> high performance liquid chromatography. *J Sep Sci* **24**, 955-959.
- Böhm V (2002) Intestinale absorption of lycopene from different types of oleoresin capsules. *J Food Sci* **67**, 1910-1913.
- Böhm V & Bitsch R (1999) Intestinal absorption of lycopene from different matrices and interactions to other carotenoids, the lipid status, and the antioxidant capacity of human plasma. *Eur J Nutr* **38**, 118-125.
- Böhm V, Puspitasari-Nienaber NL, Ferruzzi MG & Schwartz SJ (2002) Trolox equivalent antioxidant capacity of different geometrical isomers of  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene, lycopene, and zeaxanthin. *J Agric Food Chem* **50**, 221-226.
- Boileau AC, Merchen NR, Wasson K, Atkinson CA & Erdman JW, Jr. (1999) Cis-lycopene is more bioavailable than trans-lycopene in vitro and in vivo in lymph-cannulated ferrets. *J Nutr* **129**, 1176-1181.
- Boileau TW, Boileau AC & Erdman JW (2002) Bioavailability of all-trans and cis-isomers of lycopene. *Exp Biol Med* **227**, 914-919.
- Boileau TW, Clinton SK & Erdman JW, Jr. (2000) Tissue lycopene concentrations and isomer patterns are affected by androgen status and dietary lycopene concentration in male F344 rats. *J Nutr* **130**, 1613-1618.
- Borel P, Grolier P, Armand M, Partier A, Lafont H, Lairon D & Azais-Braesco V (1996) Carotenoids in biological emulsions: solubility, surface-to-core distribution, and release from lipid droplets. *J Lipid Res* **37**, 250-261.

- Borel P, Tyssandier V, Mekki N, Grolier P, Rochette Y, Alexandre-Gouabau MC, Lairon D & Azais-Braesco V (1998) Chylomicron  $\beta$ -carotene and retinyl palmitate responses are dramatically diminished when men ingest beta-carotene with medium-chain rather than long-chain triglycerides. *J Nutr* **128**, 1361-1367.
- Bowen P, Chen L, Stacewicz-Sapuntzakis M, Duncan C, Sharifi R, Ghosh L, Kim HS, Christov-Tzelkov K & van Breemen R (2002) Tomato sauce supplementation and prostate cancer: lycopene accumulation and modulation of biomarkers of carcinogenesis. *Exp Biol Med (Maywood)* **227**, 886-893.
- Bowen PE (2005) Selection of surrogate endpoint biomarkers to evaluate the efficacy of lycopene/tomatoes for the prevention/progression of prostate cancer. *J Nutr* **135**, 2068-2070.
- Brady WE, Mares-Perlman JA, Bowen P & Stacewicz-Sapuntzakis M (1996) Human serum carotenoid concentrations are related to physiologic and lifestyle factors. *J Nutr* **126**, 129-137.
- Bramley PM (2002) Regulation of carotenoid formation during tomato fruit ripening and development. *J Exp Bot* **53**, 2107-2113.
- Brasche S, Winkler G & Heinrich J (1998) Dietary intake and smoking - Results from a dietary survey in Erfurt in 1991/92. *Eur J Nutr* **37**, 211-214.
- Breinholt V, Lauridsen ST, Daneshvar B & Jakobsen J (2000) Dose-response effects of lycopene on selected drug-metabolizing and antioxidant enzymes in the rat. *Cancer Lett* **154**, 201-210.
- Breitenbach J, Braun G, Steiger S & Sandmann G (2001) Chromatographic performance on a C<sub>30</sub>-bonded stationary phase of monohydroxycarotenoids with variable chain length or degree of desaturation and of lycopene isomers synthesized by various carotene desaturases. *J Chromatogr A* **936**, 59-69.
- Breitenbach J, Kuntz M, Takaichi S & Sandmann G (1999) Catalytic properties of an expressed and purified higher plant type zeta-carotene desaturase from *Capsicum annuum*. *Eur J Biochem* **265**, 376-383.
- Breitenbach J & Sandmann G (2005) zeta-Carotene cis isomers as products and substrates in the plant poly-cis carotenoid biosynthetic pathway to lycopene. *Planta* **220**, 785-793.
- Breithaupt DE, Wirt U & Bamedi AJ (2002) Differentiation between lutein monoester regioisomers and detection of lutein diesters from marigold flowers (*Tagetes erecta* L.) and several fruits. *J Agric Food Chem* **2002**, 55-70.
- Britton G (1995) Structure and properties of carotenoids in relation to function. *Faseb J* **9**, 1551-1558.
- Britton G, Liaaen-Jensen S & Pfander H (1995) Carotenoids, Volume 1B: Spectroscopy. *Birkhäuser Verlag Basel-Boston-Berlin*.
- Britton G, Liaaen-Jensen S & Pfander H (2004) Carotenoids: Handbook. *Birkhäuser Verlag Basel-Boston-Berlin*.
- Briviba K, Schnabele K, Rechkemmer G & Bub A (2004) Supplementation of a diet low in carotenoids with tomato or carrot juice does not affect lipid peroxidation in plasma and feces of healthy men. *J Nutr* **134**, 1081-1083.
- Brown ED, Micozzi MS, Craft NE, Bieri JG, Beecher G, Edwards BK, Rose A, Taylor PR & Smith JC, Jr. (1989) Plasma carotenoids in normal men after a single ingestion of vegetables or purified  $\beta$ -carotene. *Am J Clin Nutr* **49**, 1258-1265.

- Brown MJ, Ferruzzi MG, Nguyen ML, Cooper DA, Eldridge AL, Schwartz SJ & White WS (2004) Carotenoid bioavailability is higher from salads ingested with full-fat than with fat-reduced salad dressings as measured with electrochemical detection. *Am J Clin Nutr* **80**, 396-403.
- Burney PG, Comstock GW & Morris JS (1989) Serologic precursors of cancer: serum micronutrients and the subsequent risk of pancreatic cancer. *Am J Clin Nutr* **49**, 895-900.
- Cao G & Prior RL (1998) Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clin Chem* **44**, 1309-1315.
- Caris-Veyrat C, Amiot MJ, Tyssandier V, Grasselly D, Buret M, Mikolajczak M, Guillard JC, Bouteloup-Demange C & Borel P (2004) Influence of organic versus conventional agricultural practice on the antioxidant microconstituent content of tomatoes and derived purees; consequences on antioxidant plasma status in humans. *J Agric Food Chem* **52**, 6503-6509.
- Caris-Veyrat C, Schmid A, Carail M & Böhm V (2003) Cleavage products of lycopene produced by in vitro oxidations: characterization and mechanisms of formation. *J Agric Food Chem* **51**, 7318-7325.
- Carroll YL, Corridan BM & Morrissey PA (2000) Lipoprotein carotenoid profiles and the susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification in healthy elderly volunteers. *Eur J Clin Nutr* **54**, 500-507.
- Carughi A & Hooper FG (1994) Plasma carotenoid concentrations before and after supplementation with a carotenoid mixture. *Am J Clin Nutr* **59**, 896-899.
- Castenmiller JJ & West CE (1998) Bioavailability and bioconversion of carotenoids. *Annu Rev Nutr* **18**, 19-38.
- Chen L, Stacewicz-Sapuntzakis M, Duncan C, Sharifi R, Ghosh L, van Breemen R, Ashton D & Bowen PE (2001) Oxidative DNA damage in prostate cancer patients consuming tomato sauce-based entrees as a whole-food intervention. *J Natl Cancer Inst* **93**, 1872-1879.
- Chopra M, O'Neill ME, Keogh N, Wortley G, Southon S & Thurnham DI (2000) Influence of increased fruit and vegetable intake on plasma and lipoprotein carotenoids and LDL oxidation in smokers and nonsmokers. *Clin Chem* **46**, 1818-1829.
- Clark RM, Yao L, She L & Furr HC (1998) A comparison of lycopene and canthaxanthin absorption: using the rat to study the absorption of non-provitamin A carotenoids. *Lipids* **33**, 159-163.
- Clark RM, Yao L, She L & Furr HC (2000) A comparison of lycopene and astaxanthin absorption from corn oil and olive oil emulsions. *Lipids* **35**, 803-806.
- Clevidence BA & Bieri JG (1993) Association of carotenoids with human plasma lipoproteins. *Methods Enzymol* **214**, 33-46.
- Clinton SK (1998) Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutr Rev* **56**, 35-51.
- Clinton SK, Emehiser C, Schwartz SJ, Bostwick DG, Williams AW, Moore BJ & Erdman JW, Jr. (1996) cis-trans lycopene isomers, carotenoids, and retinol in the human prostate. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **5**, 823-833.
- Cohen LA (2002) A review of animal model studies of tomato carotenoids, lycopene, and cancer chemoprevention. *Exp Biol Med (Maywood)* **227**, 864-868.
- Cohn W, Thurmann P, Tenter U, Aebischer C, Schierle J, Schalch W, Gustin DM, Rodvold KA, Sosman JA, Diwadkar-Navsariwala V, Stacewicz-Sapuntzakis M, Viana M, Crowell JA, Murray J,

- Tiller P, Bowen PE, Allen CM, Schwartz SJ, Craft NE, Giovannucci EL, De Groff VL, Clinton SK, Lin CH, Chen BH, Wu K, Platz EA, Erdman JW, Jr., Ferruzzi MG, Willett WC, Hadley CW, van Breemen RB, Xu X, Viana MA, Chen L, Duncan C & Sharifi R (2004) Comparative multiple dose plasma kinetics of lycopene administered in tomato juice, tomato soup or lycopene tablets. *Eur J Nutr* **13**, 1-9.
- Collins JK, Arjmandi BH, Claypool PL, Perkins-Veazie P, Baker RA & Clevidence BA (2004) Lycopene from two food sources does not affect antioxidant or cholesterol status of middle-aged adults. *Nutr J* **3**, 15.
- Corridan BM, O'Donoghue M, Hughes DA & Morrissey PA (2001) Low-dose supplementation with lycopene or  $\beta$ -carotene does not enhance cell-mediated immunity in healthy free-living elderly humans. *Eur J Clin Nutr* **55**, 627-635.
- Craft NE, Brown ED & Smith JC, Jr. (1988) Effects of storage and handling conditions on concentrations of individual carotenoids, retinol, and tocopherol in plasma. *Clin Chem* **34**, 44-48.
- Demmig-Adams B, Gilmore AM & Adams WW, 3rd (1996) Carotenoids 3: in vivo function of carotenoids in higher plants. *Faseb J* **10**, 403-412.
- Dewanto V, Wu X, Adom KK & Liu RH (2002) Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem* **50**, 3010-3014.
- Di Mascio P, Kaiser S & Sies H (1989) Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Biophys* **274**, 532-538.
- Di Mascio P, Sundquist AR, Devasagayam TPA & Sies H (1992) Assay of lycopene and other carotenoids as singlet oxygen quenchers. *Methods Enzymol* **213**.
- Dietrich M, Block G, Norkus EP, Hudes M, Traber MG, Cross CE & Packer L (2003) Smoking and exposure to environmental tobacco smoke decrease some plasma antioxidants and increase gamma-tocopherol in vivo after adjustment for dietary antioxidant intakes. *Am J Clin Nutr* **77**, 160-166.
- Diwadkar-Navsariwala V, Novotny JA, Gustin DM, Sosman JA, Rodvold KA, Crowell JA, Stacewicz-Sapuntzakis M & Bowen PE (2003) A physiological pharmacokinetic model describing the disposition of lycopene in healthy men. *J Lipid Res* **44**, 1927-1939.
- Dugas TR, Morel DW & Harrison EH (1998) Impact of LDL carotenoid and  $\alpha$ -tocopherol content on LDL oxidation by endothelial cells in culture. *J Lipid Res* **39**, 999-1007.
- Durak I, Elgun S, Kemal-Bingol N, Burak-Cimen MY, Kacmaz M, Buyukkocak S & H. S-Ö (2002) Effects of cigarette smoking with different tar content on erythrocyte oxidant/antioxidant status. *Addict Biol* **7**, 255-258.
- During A, Hussain MM, Morel DW & Harrison EH (2002) Carotenoid uptake and secretion by CaCo-2 cells:  $\beta$ -carotene isomer selectivity and carotenoid interactions. *J Lipid Res* **43**, 1086-1095.
- Edwards AJ, Vinyard BT, Wiley ER, Brown ED, Collins JK, Perkins-Veazie P, Baker RA & Clevidence BA (2003) Consumption of watermelon juice increases plasma concentrations of lycopene and  $\beta$ -carotene in humans. *J Nutr* **133**, 1043-1050.
- El-Agamey A, Cantrell A, Land EJ, McGarvey DJ & Truscott TG (2004) Are dietary carotenoids beneficial? Reactions of carotenoids with oxy-radicals and singlet oxygen. *Photochem Photobiol Sci* **3**, 802-811.

- Elinder LS, Hadell K, Johansson J, Molgaard J, Holme I, Olsson AG & Walldius G (1995) Probuocol treatment decreases serum concentrations of diet-derived antioxidants. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **15**, 1057-1063.
- Ellman GL (1959) Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* **82**, 70-77.
- Elmadfa I & Leitzmann C, eds. (1998) Ernährung des Menschen. *Verlag Eugen Ulmer Stuttgart*, 289-300.
- El-Soheemy A, Baylin A, Kabagambe E, Ascherio A, Spiegelman D & Campos H (2002) Individual carotenoid concentrations in adipose tissue and plasma as biomarkers of dietary intake. *Am J Clin Nutr* **76**, 172-179.
- Emenhiser C, Sander LC & Schwartz SJ (1995) Capability of polymeric C<sub>30</sub> stationary phase to resolve cis-trans carotenoid isomers in reversed-phase liquid chromatography. *J Chromatogr* **707**, 205-216.
- Engelhard YN, Gazer B & Paran E (2006) Natural antioxidants from tomato extract reduce blood pressure in patients with grade-1 hypertension: a double-blind, placebo-controlled pilot study. *Am Heart J* **151**, 100.
- Epler KS, Ziegler RG & E CN (1993) Liquid chromatographic method for the determination of carotenoids, retinoids and tocopherols in human serum and in food. *J Chromatogr* **619**, 37-48.
- Erdman JW, Jr., Bierer TL & Gugger ET (1993) Absorption and transport of carotenoids. *Ann N Y Acad Sci* **691**, 76-85.
- Etminan M, Takkouche B & Caamano-Isorna F (2004) The role of tomato products and lycopene in the prevention of prostate cancer: a meta-analysis of observational studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **13**, 340-345.
- Ferreira AL, Yeum KJ, Liu C, Smith D, Krinsky NI, Wang XD & Russell RM (2000) Tissue distribution of lycopene in ferrets and rats after lycopene supplementation. *J Nutr* **130**, 1256-1260.
- Ferruzzi MG, Nguyen ML, Sander LC, Rock CL & Schwartz SJ (2001) Analysis of lycopene geometrical isomers in biological microsamples by liquid chromatography with coulometric array detection. *J Chromatogr B* **760**, 289-299.
- Fordham IM, Clevidence BA, Wiley ER & Zimmerman RH (2001) Fruit of autumn olive: a rich source of lycopene. *HortScience* **36**, 1136-1137.
- Forman MR, Johnson EJ, Lanza E, Graubard BI, Beecher GR & Muesing R (1998) Effect of menstrual cycle phase on the concentration of individual carotenoids in lipoproteins of premenopausal women: a controlled dietary study. *Am J Clin Nutr* **67**, 81-87.
- Fröhlich K, Kaufmann K, Bitsch R & Böhm V (2006) Effects of ingestion of tomatoes, tomato juice and tomato puree on contents of lycopene isomers, tocopherols and ascorbic acid in human plasma as well as on lycopene isomer pattern. *Br J Nutr* **95**, 734-741.
- Furr HC & Clark RM (1997) Intestinal absorption and tissue distribution of carotenoids. *J Nutr Biochem* **8**, 364-377.
- Gahler S, Otto K & Böhm V (2003) Alterations of vitamin C, total phenolics, and antioxidant capacity as affected by processing tomatoes to different products. *J Agric Food Chem* **51**, 7962-7968.
- Gao X, Bjork L, Trajkovski V & Uggla M (2000) Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extract in different test systems. *J Sci Food Agric* **80**, 2021-2027.

- Gardner PT, McPhail DB & Duthie GG (1998) Electron spin resonance spectroscopic assessment of the antioxidant potential of teas in aqueous and organic media. *J Sci Food Agric* **76**, 257-262.
- Garrett DA, Failla ML & Sarama RJ (1999) Development of an in vitro digestion method to assess carotenoid bioavailability from meals. *J Agric Food Chem* **47**, 4301-4309.
- Gärtner C, Stahl W & Sies H (1997) Lycopene is more bioavailable from tomato paste than from fresh tomatoes. *Am J Clin Nutr* **66**, 116-122.
- Gautier H, Rocci A, Buret M, Grasselly D, Dumas Y & Caussee M (2005) Effect of photosensitive filters on the physical and chemical traits of vine-ripened tomato fruits. *Can J Plant Sci* **85**, 439-446.
- Gaziano JM, Johnson EJ, Russell RM, Manson JE, Stampfer MJ, Ridker PM, Frei B, Hennekens CH & Krinsky NI (1995) Discrimination in absorption or transport of  $\beta$ -carotene isomers after oral supplementation with either all-trans- or 9-cis- $\beta$ -carotene. *Am J Clin Nutr* **61**, 1248-1252.
- Gerster H (1997) The potential role of lycopene for human health. *J Am Coll Nutr* **16**, 109-126.
- Giovanelli G, Lavelli V, Peri C, Pagliarini E, Zanoni B & Spigno P (2001) The antioxidant activity of tomato III; Effects of processing technologies on oxidative and heat damage. *Acta Horticulturae* **542**, 216-229.
- Giovannucci E, Ascherio A, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA & Willett WC (1995) Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* **87**, 1767-1776.
- Giovannucci E, Rimm EB, Liu Y, Stampfer MJ & Willett WC (2002) A prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk. *J Natl Cancer Inst* **94**, 391-398.
- Giuliano G, Giliberto L & Rosati C (2002) Carotenoid isomerase: a tale of light and isomers. *Trends Plant Sci* **7**, 427-429.
- Glaser T & Albert K (2002) Hyphenation of modern extraction techniques to LC-NMR for the analysis of geometrical carotenoid isomers in functional food and biological tissues. in K. Albert: *On-Line LC-NMR and Related Techniques*, John Wiley & Son.
- Graziani G, Pernice R, Lanzuise S, Vitaglione P, Anese M & Fogliano V (2003) Effect of peeling and heating on carotenoid content and antioxidant activity of tomato and tomato-virgin olive oil system. *Eur Food Res Technol* **216**, 116-121.
- Grolier P, Boirie Y, Levadoux E, Brandolini M, Borel P, Azais-Braesco V, Beaufriere B & Ritz P (2000) Age-related changes in plasma lycopene concentrations, but not in vitamin E, are associated with fat mass. *Br J Nutr* **84**, 711-716.
- Grünwald J, Jänicke C & Freder J (2002) Lycopin: Eine neue Wunderwaffe gegen Zivilisationskrankheiten? *Deutsche Apothekerzeitung* **142**, 856-869.
- Gustin DM, Rodvold KA, Sosman JA, Diwadkar-Navsariwala V, Stacewicz-Sapuntzakis M, Viana M, Crowell JA, Murray J, Tiller P, Bowen PE, Allen CM, Schwartz SJ, Craft NE, Giovannucci EL, De Groff VL, Clinton SK, Lin CH, Chen BH, Wu K, Platz EA, Erdman JW, Jr., Ferruzzi MG, Willett WC, Hadley CW, van Breemen RB, Xu X, Viana MA, Chen L, Duncan C & Sharifi R (2004) Single-dose pharmacokinetic study of lycopene delivered in a well-defined food-based lycopene delivery system (tomato paste-oil mixture) in healthy adult male subjects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **13**, 850-860.
- Hadley CW, Clinton SK & Schwartz SJ (2003) The consumption of processed tomato products enhances plasma lycopene concentrations in association with a reduced lipoprotein sensitivity to oxidative damage. *J Nutr* **133**, 727-732.

- Haila KM, Lievonen SM & Heinonen MI (1996) Effects of lutein, lycopene, annatto, and  $\alpha$ -tocopherol on autoxidation of triglycerides. *J Agric Food Chem* **44**, 2096-2100.
- Halliwell B (1994) Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutr Rev* **52**, 253-265.
- Halliwell B (1996) Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr* **16**, 33-50.
- Hart DJ & Scott KJ (1995) Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. *Food Chem* **54**, 101-111.
- Heber D & Lu QY (2002) Overview of mechanisms of action of lycopene. *Exp Biol Med (Maywood)* **227**, 920-923.
- Helzlsouer KJ, Comstock GW & Morris JS (1989) Selenium, lycopene,  $\alpha$ -tocopherol,  $\beta$ -carotene, retinol, and subsequent bladder cancer. *Cancer Res* **49**, 6144-6148.
- Hengartner U, Bernhard K, Meyer K, Englert G & Glinz E (1992) Synthesis, isolation, and NMR-spectroscopic characterization of fourteen (Z)-isomers of lycopene and of some acetylenic dihydro- and tetrahydrolycopenes. *Helv Chim Acta* **75**, 1848-1865.
- Henry LK, Catignani GL & Schwartz SJ (1998) Oxidative degradation kinetics of lycopene, lutein, and 9-cis and all-trans  $\beta$ -carotene. *JAOCs* **75**, 823-829.
- Heseker H, Schneider R, Moch KJ, Kohlmeier M & Kübler W (1994) Band IV: Vitaminversorgung Erwachsener in der Bundesrepublik Deutschland. in W. Kübler, H. J. Anders, W. Heeschen, M. Kohlmeier (Hrsg.): *VERA-Schriftenreihe, Wissenschaftlicher Verlag Dr. Fleck, Niederkleen*.
- Hininger IA, Meyer-Wenger A, Moser U, Wright A, Southon S, Thurnham D, Chopra M, Van Den Berg H, Olmedilla B, Favier AE & Roussel AM (2001) No significant effects of lutein, lycopene or  $\beta$ -carotene supplementation on biological markers of oxidative stress and LDL oxidizability in healthy adult subjects. *J Am Coll Nutr* **20**, 232-238.
- Hissin GL & Hilf R (1976) A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal Biochem* **74**, 214-226.
- Hodisan T, Socaciu C, Ropan I & Neamtu G (1997) Carotenoid composition of Rosa canina fruits determined by thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal* **16**, 521-528.
- Hoffmann J, Linseisen J, Riedl J & Wolfram G (1999) Dietary fiber reduces the antioxidative effect of a carotenoid and alpha-tocopherol mixture on LDL oxidation ex vivo in humans. *Eur J Nutr* **38**, 278-285.
- Hohbein J (2007) Einfluss der Sorte auf Carotinoidgehalt und Isomerenmuster von Hagebutten. *Diplomarbeit: Friedrich-Schiller-Universität Jena*.
- Holloway DE, Yang M, Paganga G, Rice-Evans CA & Bramley PM (2000) Isomerization of dietary lycopene during assimilation and transport in plasma. *Free Radic Res* **32**, 93-102.
- Hoppe PP, Kramer K, van den Berg H, Steenge G & van Vliet T (2003) Synthetic and tomato-based lycopene have identical bioavailability in humans. *Eur J Nutr* **42**, 272-278.
- Hornero-Mendez D & Minguez-Mosquera MI (2000) Carotenoid pigments in rosa mosqueta hips, an alternative carotenoid source for foods. *J Agric Food Chem* **48**, 825-828.

- Horvitz MA, Simon PW & Tanumihardjo SA (2004) Lycopene and  $\beta$ -carotene are bioavailable from lycopene 'red' carrots in humans. *Eur J Clin Nutr* **58**, 803-811.
- Huang D, Ou B, Hampsch-Woodill M, Flanagan JA & Deemer EK (2002) Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated  $\beta$ -cyclodextrin as the solubility enhancer. *J Agric Food Chem* **50**, 1815-1821.
- Huang D, Ou B & Prior RL (2005) The chemistry behind antioxidant capacity assay. *J Agric Food Chem* **53**, 1841-1856.
- Isaacson T, Ronen G, Zamir D & Hirschberg J (2002) Cloning of tangerine from tomato reveals a carotenoid isomerase essential for the production of  $\beta$ -carotene and xanthophylls in plants. *Plant Cell* **14**, 333-342.
- Ishida BK, Turner C, Chapman MH & McKeon TA (2004) Fatty acid and carotenoid composition of gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng) fruit. *J Agric Food Chem* **52**, 274-279.
- Jansen MC, Van Kappel AL, Ocke MC, Van 't Veer P, Boshuizen HC, Riboli E & Bueno-de-Mesquita HB (2004) Plasma carotenoid levels in Dutch men and women, and the relation with vegetable and fruit consumption. *Eur J Clin Nutr* **58**, 1386-1395.
- Jenab M, Ferrari P, Mazuir M, Tjonneland A, Clavel-Chapelon F, Linseisen J, Trichopoulou A, Tumino R, Bueno-de-Mesquita HB, Lund E, Gonzalez CA, Johansson G, Key TJ & Riboli E (2005) Variations in lycopene blood levels and tomato consumption across European countries based on the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *J Nutr* **135**, 2032-2036.
- Johnson EJ, Qin J, Krinsky NI & Russell RM (1997) Ingestion by men of a combined dose of  $\beta$ -carotene and lycopene does not affect the absorption of  $\beta$ -carotene but improves that of lycopene. *J Nutr* **127**, 1833-1837.
- Kabagambe EK, Furtado J, Baylin A & Campos H (2005) Some dietary and adipose tissue carotenoids are associated with the risk of nonfatal acute myocardial infarction in Costa Rica. *J Nutr* **135**, 1763-1769.
- Kaplan LA, Lau JM & Stein EA (1990) Carotenoid composition, concentrations, and relationships in various human organs. *Clin Physiol Biochem* **8**, 1-10.
- Karahan I, Atessahin A, Yilmaz S, Ceribasi AO & Sakin F (2005) Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats. *Toxicology* **215**, 198-204.
- Karas M, Amir H, Fishman D, Danilenko M, Segal S, Nahum A, Koifmann A, Giat Y, Levy J & Sharoni Y (2000) Lycopene interferes with cell cycle progression and insulin-like growth factor I signaling in mammary cancer cells. *Nutr Cancer* **36**, 101-111.
- Kasagi S, Seyama K, Mori H, Souma S, Sato T, Akiyoshi T, Suganuma H & Fukuchi Y (2006) Tomato juice prevents senescence-accelerated mouse P1 strain from developing emphysema induced by chronic exposure to tobacco smoke. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* **290**, 396-404.
- Kaufmann K (2003) Untersuchungen zur Matrixabhängigkeit der humanen intestinalen Absorption von Lycopin-Isomeren sowie zu deren antioxidativer Aktivität. *Diplomarbeit: Friedrich-Schiller-Universität Jena*.
- Khachik F, Beecher GR & Lusby WR (1989) Separation, identification, and quantification of the major carotenoids in extracts of apricots, peaches, cantaloupe, and pink grapefruit by liquid chromatography. *J Agric Food Chem* **37**, 1465 - 1473.

- Khachik F, Beecher GR & Smith JC, Jr. (1995) Lutein, lycopene, and their oxidative metabolites in chemoprevention of cancer. *J Cell Biochem Suppl* **22**, 236-246.
- Khachik F, Carvalho L, Bernstein PS, Muir GJ, Zhao DY & Katz NB (2002a) Chemistry, distribution, and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. *Exp Biol Med (Maywood)* **227**, 845-851.
- Khachik F, Carvalho L, Bernstein PS, Muir GJ, Zhao DY & Katz NB (2002b) Chemistry, distribution, and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. *Exp Biol Med* **227**, 845-851.
- Khachik F, Goli MB, Beecher GR, Holden J, Lusby WR, Tenorio MD & Barrera MR (1992) Effect of food preparation on qualitative and quantitative distribution of major carotenoid constituents of tomatoes and several green vegetables. *J Agric Food Chem* **40**, 390 - 398.
- Khachik F, Pfander H & Traber B (1998) Proposed mechanisms for the formation of synthetic and naturally occurring metabolites of lycopene in tomato products and human serum. *J Agric Food Chem* **46**, 4885-4890.
- Khachik F, Spangler CJ, Smith JCJ, Canfield LM, Steck A & Pfander H (1997) Identification, quantification, and relative concentrations of carotenoids and their metabolites in human milk and serum. *Anal Chem* **69**, 1873-1881.
- Kharazmi A & Winther K (1999) Rose hip inhibits chemotaxis and chemiluminescence of human peripheral blood neutrophils in vitro and reduces certain inflammatory parameters in vivo. *Inflammopharmacology* **7**, 377-386.
- Kim HS, Bowen P, Chen L, Duncan C, Ghosh L, Sharifi R & Christov K (2003a) Effects of tomato sauce consumption on apoptotic cell death in prostate benign hyperplasia and carcinoma. *Nutr Cancer* **47**, 40-47.
- Kim SH, Kim JS, Shin HS & Keen CL (2003b) Influence of smoking on markers of oxidative stress and serum mineral concentrations in teenage girls in Korea. *Nutrition* **19**, 240-243.
- Kim SJ, Nara E, Kobayashi H, Terao J & Nagao A (2001) Formation of cleavage products by autoxidation of lycopene. *Lipids* **36**, 191-199.
- Kirsh VA, Mayne ST, Peters U, Chatterjee N, Leitzmann MF, Dixon LB, Urban DA, Crawford ED & Hayes RB (2006) A prospective study of lycopene and tomato product intake and risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **15**, 92-98.
- Klipstein-Grobusch K, Launer LJ, Geleijnse JM, Boeing H, Hofman A & Witteman JC (2000) Serum carotenoids and atherosclerosis. The Rotterdam Study. *Atherosclerosis* **148**, 49-56.
- Kohlmeier L, Kark JD, Gomez-Gracia E, Martin BC, Steck SE, Kardinaal AF, Ringstad J, Thamm M, Masaev V, Riemersma R, Martin-Moreno JM, Huttunen JK & Kok FJ (1997) Lycopene and myocardial infarction risk in the EURAMIC Study. *Am J Epidemiol* **146**, 618-626.
- Kohlmeier M, Berndt B, Thefeld W & Eberhardt W (1993) Band VII: Verbreitung von klinisch-chemischen Risikoindikatoren in der Bundesrepublik Deutschland. in W. Kübler, H. J. Anders, W. Heeschen (Hrsg.): *VERA-Schriftenreihe, Wissenschaftlicher Verlag Dr. Fleck, Niederkleen*.
- Koonsvitsky BP, Berry DA, Jones MB, Lin PY, Cooper DA, Jones DY & Jackson JE (1997) Olestra affects serum concentrations of  $\alpha$ -tocopherol and carotenoids but not vitamin D or vitamin K status in free-living subjects. *J Nutr* **127**, 1636-1645.

- Korytko PJ, Rodvold KA, Crowell JA, Stacewicz-Sapuntzakis M, Diwadkar-Navsariwala V, Bowen PE, Schalch W & Levine BS (2003) Pharmacokinetics and tissue distribution of orally administered lycopene in male dogs. *J Nutr* **133**, 2788-2792.
- Kostic D, White WS & Olson JA (1995) Intestinal absorption, serum clearance, and interactions between lutein and  $\beta$ -carotene when administered to human adults in separate or combined oral doses. *Am J Clin Nutr* **62**, 604-610.
- Krauss S, Schnitzler WH, Grassmann J & Woitke M (2006) The influence of different electrical conductivity values in a simplified recirculating soilless system on inner and outer fruit quality characteristics of tomato. *J Agric Food Chem* **54**, 441-448.
- Krinsky NI, Russett MD, Handelman GJ & Snodderly DM (1990) Structural and geometrical isomers of carotenoids in human plasma. *J Nutr* **120**, 1654-1662.
- Kritchevsky SB, Bush AJ, Pahor M & Gross MD (2000) Serum carotenoids and markers of inflammation in nonsmokers. *Am J Epidemiol* **152**, 1065-1071.
- Kromidas S, Klinker R & Mertens R (1995) Methodvalidierung im analytischen Labor. *Nachr Chem Tech Lab* **43**, 669-676.
- Kübler W (1989) Pharmacokinetic implications of single and repeated dosage. *Int J Vitam Nutr Res Suppl* **30**, 25-34.
- Kurilich AC, Britz SJ, Clevidence BA & Novotny JA (2003) Isotopic labeling and LC-APCI-MS quantification for investigating absorption of carotenoids and phyloquinone from kale (*Brassica oleracea*). *J Agric Food Chem* **51**, 4877-4883.
- Lagiou P, Benetou V, Tebelis N, Papas A, Naska A & Trichopoulou A (2003) Plasma carotenoid levels in relation to tobacco smoking and demographic factors. *Int J Vitam Nutr Res* **73**, 226-231.
- Larsen E, Kharazmi A, Christensen LP & Christensen SB (2003) An antiinflammatory galactolipid from rose hip (*Rosa canina*) that inhibits chemotaxis of human peripheral blood neutrophils in vitro. *J Nat Prod* **66**, 994-995.
- Laske G (2005) In-vitro und In-vivo-Untersuchungen zur protektiven Bedeutung von Hagebutteninhaltsstoffen - in Abhängigkeit von Sorte und Reifegrad. *Diplomarbeit: Friedrich-Schiller-Universität Jena*.
- Lee MT & Chen BH (2001) Separation of lycopene and its cis isomers by liquid chromatography. *Chromatographia* **54**, 613-617.
- Lee MT & Chen BH (2002) Stability of lycopene during heating and illumination in a model system. *Food Chem* **78**, 425-432.
- Leonardi C, Ambrosino P, Esposito F & Fogliano V (2000) Antioxidative activity and carotenoid and tomatine contents in different typologies of fresh consumption tomatoes. *J Agric Food Chem* **48**, 4723-4727.
- Levy J, Bosin E, Feldman B, Giat Y, Miinster A, Danilenko M & Sharoni Y (1995) Lycopene is a more potent inhibitor of human cancer cell proliferation than either  $\alpha$ -carotene or  $\beta$ -carotene. *Nutr Cancer* **24**, 257-266.
- Lewinsohn E, Sitrit Y, Bar E, Azulay Y, Meir A, Zamir D & Tadmor Y (2005) Carotenoid pigmentation affects the volatile composition of tomato and watermelon fruits, as revealed by comparative genetic analyses. *J Agric Food Chem* **53**, 3142-3148.

- Lin CH & Chen BH (2003) Determination of carotenoids in tomato juice by liquid chromatography. *J Chromatogr A* **1012**, 103-109.
- Lin CH & Chen BH (2005) Stability of carotenoids in tomato juice during processing. *Eur Food Res Technol* **221**, 274-280.
- Lowe GM, Vlismas K & Young AJ (2003) Carotenoids as prooxidants? *Mol Aspects Med* **24**, 363-369.
- Lu QY, Hung JC, Heber D, Go VL, Reuter VE, Cordon-Cardo C, Scher HI, Marshall JR & Zhang ZF (2001) Inverse associations between plasma lycopene and other carotenoids and prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **10**, 749-756.
- Lupp A, Welz A, Kuhn UD & Böhm V (2004) Supplementation with tomato oleoresin or synthetic lycopene: influence on the antioxidative capacity in blood of healthy volunteers. *Ernährung/Nutrition* **28**, 495-502.
- Lurie S, Handros A, Fallik E & Shapira R (1996) Reversible inhibition of tomato fruit gene expression at high temperature (effects on tomato fruit ripening). *Plant Physiol* **110**, 1207-1214.
- Lykkesfeldt J, Christen S, Wallock LM, Chang HH, Jacob RA & Ames BN (2000) Ascorbate is depleted by smoking and repleted by moderate supplementation: a study in male smokers and nonsmokers with matched dietary antioxidant intakes. *Am J Clin Nutr* **71**, 530-536.
- Marangon K, Herbeth B, Lecomte E, Paul-Dauphin A, Grolier P, Chancerelle Y, Artur Y & Siest G (1998) Diet, antioxidant status, and smoking habits in French men. *Am J Clin Nutr* **67**, 231-239.
- Mathews-Roth MM, Welankiwar S, Sehgal PK, Lausen NC, Russett M & Krinsky NI (1990) Distribution of [<sup>14</sup>C]canthaxanthin and [<sup>14</sup>C]lycopene in rats and monkeys. *J Nutr* **120**, 1205-1213.
- Matlaga BR, Hall MC, Stindt D & Torti FM (2001) Response of hormone refractory prostate cancer to lycopene. *J Urol* **166**, 613.
- Matos HR, Di Mascio P & Medeiros MH (2000) Protective effect of lycopene on lipid peroxidation and oxidative DNA damage in cell culture. *Arch Biochem Biophys* **383**, 56-59.
- Mayne ST, Cartmel B, Silva F, Kim CS, Fallon BG, Briskin K, Zheng T, Baum M, Shor-Posner G & Goodwin WJ, Jr. (1999) Plasma lycopene concentrations in humans are determined by lycopene intake, plasma cholesterol concentrations and selected demographic factors. *J Nutr* **129**, 849-854.
- McClain RM & Bausch J (2003) Summary of safety studies conducted with synthetic lycopene. *Regul Toxicol Pharmacol* **37**, 274-285.
- Michaud DS, Giovannucci EL, Ascherio A, Rimm EB, Forman MR, Sampson L & Willett WC (1998) Associations of plasma carotenoid concentrations and dietary intake of specific carotenoids in samples of two prospective cohort studies using a new carotenoid database. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **7**, 283-290.
- Micozzi MS, Brown ED, Edwards BK, Bieri JG, Taylor PR, Khachik F, Beecher GR & Smith JC, Jr. (1992) Plasma carotenoid response to chronic intake of selected foods and  $\beta$ -carotene supplements in men. *Am J Clin Nutr* **55**, 1120-1125.
- Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramley PM & Rice-Evans CA (1996) Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett* **384**, 240-242.
- Morabia A & Wynder EL (1990) Dietary habits of smokers, people who never smoked and ex-smokers. *Am J Clin Nutr* **52**, 933-937.

- Morrow JD, Frei B, Longmire AW, Gaziano JM, Lynch SM, Shyr Y, Strauss WE, Oates JA & Roberts LJ, 2nd (1995) Increase in circulating products of lipid peroxidation (F<sub>2</sub>-isoprostanes) in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage. *N Engl J Med* **332**, 1198-1203.
- Mortensen A, Skibsted LH, Sampson J, Rice-Evans C & Everett SA (1997) Comparative mechanisms and rates of free radical scavenging by carotenoid antioxidants. *FEBS Lett* **418**, 91-97.
- Mourvaki E, Stefania G, Rossi R & Rufini S (2005) Passionflower fruit - a "new" source of lycopene? *J Med Food* **8**, 104-106.
- Müller H, Bub A, Watzl B & Rechkemmer G (1999) Plasma concentrations of carotenoids in healthy volunteers after intervention with carotenoid-rich foods. *Eur J Nutr* **38**, 35-44.
- Müller RK, Bernhard K, Giger A, Moine G & Hengartner U (1997) (E/Z)-isomeric carotenes. *Pure & Appl Chem* **69**, 2039-2046.
- Nagao A (2004) Oxidative conversion of carotenoids to retinoids and other products. *J Nutr* **134**, 237S-240S.
- Naguib YM (1998) A fluorimetric method for measurement of peroxy radical scavenging activities of lipophilic antioxidants. *Analytical Biochemistry* **265**, 290-298.
- Nguyen ML, Francis D & Schwartz SJ (2001) Thermal isomerisation susceptibility of carotenoids in different tomato varieties. *J Sci Food Agric* **81**, 910-917.
- Nguyen ML & Schwartz SJ (1998) Lycopene stability during food processing. *Proc Soc Exp Biol Med* **218**, 101-105.
- Nguyen ML & Schwartz SJ (1999) Lycopene: chemical and biological properties. *Food Technol* **53**, 38-45.
- Nicoleit D (1997) Carotinoide natürlichen Ursprungs: wichtige physiologische Modulatoren, mehr als nur Provitamin A. *Vitaminspur* **12**, 5-19.
- Nierenberg DW, Dain BJ, Mott LA, Baron JA & Greenberg ER (1997) Effects of 4 y of oral supplementation with  $\beta$ -carotene on serum concentrations of retinol, tocopherol, and five carotenoids. *Am J Clin Nutr* **66**, 315-319.
- Nomura AM, Stemmermann GN, Lee J & Craft NE (1997) Serum micronutrients and prostate cancer in Japanese Americans in Hawaii. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **6**, 487-491.
- Olmedilla B, Granado F, Blanco I & Rojas-Hidalgo E (1994) Seasonal and sex-related variations in six serum carotenoids, retinol, and  $\alpha$ -tocopherol. *Am J Clin Nutr* **60**, 106-110.
- Olmedilla B, Granado F, Rojas-Hidalgo E & Blanco I (1990) A rapid separation of ten carotenoids, three retinoids,  $\alpha$ -tocopherol and d- $\alpha$ -tocopherol acetate by high performance liquid chromatography and its application to serum and vegetable samples. *J Liquid Chromatogr* **13**, 1455-1483.
- Olmedilla B, Granado F, Southon S, Wright AJ, Blanco I, Gil-Martinez E, van den Berg H, Corridan B, Roussel AM, Chopra M & Thurnham DI (2001) Serum concentrations of carotenoids and vitamins A, E, and C in control subjects from five European countries. *Br J Nutr* **85**, 227-238.
- Olmedilla B, Granado F, Southon S, Wright AJ, Blanco I, Gil-Martinez E, van den Berg H, Thurnham D, Corridan B, Chopra M & Hininger I (2002) A European multicentre, placebo-controlled supplementation study with  $\alpha$ -tocopherol, carotene-rich palm oil, lutein or lycopene: analysis of serum responses. *Clin Sci (Lond)* **102**, 447-456.

- Olson JA & Krinsky NI (1995) Introduction: the colorful, fascinating world of the carotenoids: important physiologic modulators. *Faseb J* **9**, 1547-1550.
- O'Neill ME & Thurnham DI (1998) Intestinal absorption of  $\beta$ -carotene, lycopene and lutein in men and women following a standard meal: response curves in the triacylglycerol-rich lipoprotein fraction. *Br J Nutr* **79**, 149-159.
- Oshima S, Sakamoto H, Ishiguro Y & Terao J (1997) Accumulation and clearance of capsanthin in blood plasma after the ingestion of paprika juice in men. *J Nutr* **127**, 1475-1479.
- Paetau I, Khachik F, Brown ED, Beecher GR, Kramer TR, Chittams J & Clevidence BA (1998) Chronic ingestion of lycopene-rich tomato juice or lycopene supplements significantly increases plasma concentrations of lycopene and related tomato carotenoids in humans. *Am J Clin Nutr* **68**, 1187-1195.
- Paetau I, Rao D, Wiley ER, Brown ED & Clevidence BA (1999) Carotenoids in human buccal mucosa cells after 4 wk of supplementation with tomato juice or lycopene supplements. *Am J Clin Nutr* **70**, 490-494.
- Pamuk ER, Byers T, Coates RJ, Vann JW, Sowell AL, Gunter EW & Glass D (1994) Effect of smoking on serum nutrient concentrations in African-American women. *Am J Clin Nutr* **59**, 891-895.
- Park H, Kreunen SS, Cuttriss AJ, DellaPenna D & Pogson BJ (2002) Identification of the carotenoid isomerase provides insight into carotenoid biosynthesis, prolamellar body formation, and photomorphogenesis. *Plant Cell* **14**, 321-332.
- Parker RS (1997) Bioavailability of carotenoids. *Eur J Clin Nutr* **51**, S86-90.
- Parker RS, Swanson JE, You CS, Edwards AJ & Huang T (1999) Bioavailability of carotenoids in human subjects. *Proc Nutr Soc* **58**, 155-162.
- Pastori M, Pfander H, Boscoboinik D & Azzi A (1998) Lycopene in association with alpha-tocopherol inhibits at physiological concentrations proliferation of prostate carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* **250**, 582-585.
- Pellegrini N, Riso P & Porrini M (2000) Tomato consumption does not affect the total antioxidant capacity of plasma. *Nutrition* **16**, 268-271.
- Pelz R, Schmidt-Faber B & Hesecker H (1998) Die Carotinoidzufuhr in der Nationalen Verzehrsstudie. *Z Ernährungswiss* **37**, 319-327.
- Perkins-Veazie P, Collins JK, Davis AR & Roberts W (2006) Carotenoid content of 50 watermelon cultivars. *J Agric Food Chem* **54**, 2593-2597.
- Popov I & Levin G (2000) Photosensibilisierte Chemolumineszenz bei der Quantifizierung von Antioxidantien. *BIOforum*, 46-48.
- Porrini M & Riso P (2000) Lymphocyte lycopene concentration and DNA protection from oxidative damage is increased in women after a short period of tomato consumption. *J Nutr* **130**, 189-192.
- Porrini M & Riso P (2005) What are typical lycopene intakes? *J Nutr* **135**, 2042-2045.
- Porrini M, Riso P, Brusamolino A, Berti C, Guarnieri S & Visioli F (2005) Daily intake of a formulated tomato drink affects carotenoid plasma and lymphocyte concentrations and improves cellular antioxidant protection. *Br J Nutr* **93**, 93-99.

- Porrini M, Riso P & Testolin G (1998) Absorption of lycopene from single or daily portions of raw and processed tomato. *Br J Nutr* **80**, 353-361.
- Rahman I & MacNee W (1999) Lung glutathione and oxidative stress: implications in cigarette smoke-induced airway disease. *Am J Physiol* **277**, L1067-1088.
- Rao AV & Agarwal S (1998) Bioavailability and in vivo antioxidant properties of lycopene from tomato products and their possible role in the prevention of cancer. *Nutr Cancer* **31**, 199-203.
- Rao AV & Agarwal S (1999) Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: A review. *Nutr Res* **19**, 305-323.
- Rao AV, Waseem Z & Agarwal S (1998) Lycopene content of tomatoes and tomato products and their contribution to dietary lycopene. *Food Res Intern* **31**, 737-741.
- Razungles A, Oszmianski J & Sapis J-C (1989) Determination of carotenoids in fruits of rosa sp. (rosa canina and rosa rugosa) and of chokeberry (aronia melanocarpa). *J Food Sci* **54**, 774-775.
- Re R, Fraser PD, Long M, Bramley PM & Rice-Evans C (2001) Isomerization of lycopene in the gastric milieu. *Biochem Biophys Res Commun* **281**, 576-581.
- Reboul E, Richelle M, Perrot E, Desmoulins-Malezet C, Pirisi V & Borel P (2006) Bioaccessibility of carotenoids and vitamin E from their main dietary sources. *J Agric Food Chem* **54**, 8749-8755.
- Reich P, Shwachman H & Craig JM (1960) Lycopopenia: a variant of carotenemia. *N Engl J Med* **262**, 263-269.
- Rein E, Kharazmi A & Winther K (2004) A herbal remedy, Hyben Vital (stand. powder of a subspecies of Rosa canina fruits), reduces pain and improves general wellbeing in patients with osteoarthritis - a double-blind, placebo-controlled, randomised trial. *Phytomedicine* **11**, 383-391.
- Reuter D (2004) Model of metabolism of lycopene, the main carotenoid of tomato. *Diplomarbeit: Friedrich-Schiller-Universität Jena und Institut National de la Recherche Agronomique Avignon, France*.
- Ribaya-Mercado JD, Garmyn M, Gilchrest BA & Russell RM (1995) Skin lycopene is destroyed preferentially over  $\beta$ -carotene during ultraviolet irradiation in humans. *J Nutr* **125**, 1854-1859.
- Richelle M, Bortlik K, Liardet S, Hager C, Lambelet P, Baur M, Applegate LA & Offord EA (2002) A food-based formulation provides lycopene with the same bioavailability to humans as that from tomato paste. *J Nutr* **132**, 404-408.
- Riedl J, Linseisen J, Hoffmann J & Wolfram G (1999) Some dietary fibers reduce the absorption of carotenoids in women. *J Nutr* **129**, 2170-2176.
- Riso P, Pinder A, Santangelo A & Porrini M (1999) Does tomato consumption effectively increase the resistance of lymphocyte DNA to oxidative damage? *Am J Clin Nutr* **69**, 712-718.
- Riso P, Visioli F, Erba D, Testolin G & Porrini M (2004) Lycopene and vitamin C concentrations increase in plasma and lymphocytes after tomato intake. Effects on cellular antioxidant protection. *Eur J Clin Nutr* **58**, 1350-1358.
- Rissanen T, Voutilainen S, Nyyssonen K & Salonen JT (2002) Lycopene, atherosclerosis, and coronary heart disease. *Exp Biol Med (Maywood)* **227**, 900-907.

- Rissanen TH, Voutilainen S, Nyyssonen K, Salonen R, Kaplan GA & Salonen JT (2003) Serum lycopene concentrations and carotid atherosclerosis: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Am J Clin Nutr* **77**, 133-138.
- Rock CL & Swendseid ME (1992) Plasma  $\beta$ -carotene response in humans after meals supplemented with dietary pectin. *Am J Clin Nutr* **55**, 96-99.
- Rock CL, Swendseid ME, Jacob RA & McKee RW (1992) Plasma carotenoid levels in human subjects fed a low carotenoid diet. *J Nutr* **122**, 96-100.
- Rohe M (2001) Antioxidantien - Erfassung der antioxidativen Kapazität komplexer Proben mit der Chemilumineszenzmethode. *LABO* **9**, 10-14.
- Romanchik JE, Morel DW & Harrison EH (1995) Distributions of carotenoids and  $\alpha$ -tocopherol among lipoproteins do not change when human plasma is incubated in vitro. *J Nutr* **125**, 2610-2617.
- Ross MA, Crosley LK, Brown KM, Duthie SJ, Collins AC, Arthur JR & Duthie GG (1995) Plasma concentrations of carotenoids and antioxidant vitamins in Scottish males: influences of smoking. *Eur J Clin Nutr* **49**, 861-865.
- Rust P, Lehner P & Elmadfa I (2001) Relationship between dietary intake, antioxidant status and smoking habits in female Austrian smokers. *Eur J Nutr* **40**, 78-83.
- Sander LC, Pursch M, Märker B & Wise SA (1999) Separation of carotenoid isomers by capillary electrochromatography with C<sub>30</sub> stationary phases. *Anal Chem* **71**, 3477-3483.
- Sanders TA, Haines AP, Wormald R, Wright LA & Obeid O (1993) Essential fatty acids, plasma cholesterol, and fat-soluble vitamins in subjects with age-related maculopathy and matched control subjects. *Am J Clin Nutr* **57**, 428-433.
- Sandler G, Davis J & Dezman D (1990) Rapid extraction of lycopene and  $\beta$ -carotene from reconstituted tomato paste and pink grapefruit homogenates. *J Food Sci* **55**, 1460-1461.
- Schierle J, Bretzel W, Buhler I, Faccin N, Hess D, Steiner K & Schüep W (1997) Content and isomeric ratio of lycopene in food and human blood plasma. *Food Chemistry* **59**, 459-465.
- Schierle J, Härdi W, Faccin N, Bühler I & Schüep W (1995) Geometrical isomers of  $\beta$ , $\beta$ -carotene. in: G. Britton; S. Liaaen-Jensen; H. Pfander (Hrsg.): *Carotenoids, Volume 1 A: Isolation and analysis*, Birkhäuser Verlag, Basel, 265-272.
- Schlesier K, Harwat M, Böhm V & Bitsch R (2002) Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. *Free Radic Res* **36**, 177-187.
- Schmitz HH, Poor CL, Wellman RB & Erdman JW, Jr. (1991) Concentrations of selected carotenoids and vitamin A in human liver, kidney and lung tissue. *J Nutr* **121**, 1613-1621.
- Schroeder H & Braun H (1941) Die Hagebutte: ihre Geschichte, Biologie und ihre Bedeutung als Vitamin C-Träger. *Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft m.b.H. Stuttgart*, 1-52.
- Schwartz SJ (2005) How can the metabolomic response to lycopene (exposures, durations, intracellular concentrations) in humans be adequately evaluated? *J Nutr* **135**, 2040S-2041S.
- Scott KJ, Thurnham DI, Hart DJ, Bingham SA & Day K (1996) The correlation between the intake of lutein, lycopene and  $\beta$ -carotene from vegetables and fruits, and blood plasma concentrations in a group of women aged 50-65 years in the UK. *Br J Nutr* **75**, 409-418.

- Sela S, Shurtz-Swirski R, Awad J, Shapiro G, Nasser L, Shasha SM & Kristal B (2002) The involvement of peripheral polymorphonuclear leukocytes in oxidative stress and inflammation among cigarette smokers. *Israel Med Assoc J* **4**, 1015-1019.
- Sesso HD, Buring JE, Norkus EP & Gaziano JM (2004) Plasma lycopene, other carotenoids, and retinol and the risk of cardiovascular disease in women. *Am J Clin Nutr* **79**, 47-53.
- Sesso HD, Buring JE, Norkus EP & Gaziano JM (2005a) Plasma lycopene, other carotenoids, and retinol and the risk of cardiovascular disease in men. *Am J Clin Nutr* **81**, 990-997.
- Sesso HD, Buring JE, Zhang SM, Norkus EP & Gaziano JM (2005b) Dietary and plasma lycopene and the risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **14**, 1074-1081.
- Sesso HD, Liu S, Gaziano JM & Buring JE (2003) Dietary lycopene, tomato-based food products and cardiovascular disease in women. *J Nutr* **133**, 2336-2341.
- Seybold C, Fröhlich K, Bitsch R, Otto K & Böhm V (2004) Changes in contents of carotenoids and vitamin E during tomato processing. *J Agric Food Chem* **52**, 7005-7010.
- Shi J & Le Maguer M (2000) Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. *Crit Rev Food Sci Nutr* **40**, 1-42.
- Sicilia T (2004) Vorkommen, Bioverfügbarkeit und Metabolismus von Lycopin und dessen Wirkung gegen oxidativen Stress. *Dissertation an der Universität Karlsruhe*.
- Sicilia T, Bub A, Rechkemmer G, Kraemer K, Hoppe PP & Kulling SE (2005) Novel lycopene metabolites are detectable in plasma of preruminant calves after lycopene supplementation. *J Nutr* **135**, 2616-2621.
- Sies H & Stahl W (1995) Vitamins E and C,  $\beta$ -carotene, and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin Nutr* **62**, 1315S-1321S.
- Sies H, Stahl W & Sundquist AR (1992) Antioxidant functions of vitamins. Vitamins E and C,  $\beta$ -carotene, and other carotenoids. *Ann N Y Acad Sci* **669**, 7-20.
- Siler U, Barella L, Spitzer V, Schnorr J, Lein M, Goralczyk R & Wertz K (2004) Lycopene and vitamin E interfere with autocrine/paracrine loops in the Dunning prostate cancer model. *Faseb J* **18**, 1019-1021.
- Slattery ML, Benson J, Curtin K, Ma KN, Schaeffer D & Potter JD (2000) Carotenoids and colon cancer. *Am J Clin Nutr* **71**, 575-582.
- Slimestad R & Verheul MJ (2005) Seasonal variations in the level of plant constituents in greenhouse production of cherry tomatoes. *J Agric Food Chem* **53**, 3114-3119.
- Smith TA (1998) Carotenoids and cancer: prevention and potential therapy. *Br J Biomed Sci* **55**, 268-275.
- Speitling A, Hüppe R, Kohlmeier M, Matiaske B, Stelte W, Thefeld W & Wetzel S (1992) Methodological handbook, nutrition survey and risk factors analysis. *in Vera publication series, Wissenschaftlicher Verlag Dr. Fleck, Niederkleen*.
- Stahl W, Schwarz W, Sundquist AR & Sies H (1992) cis-trans isomers of lycopene and  $\beta$ -carotene in human serum and tissues. *Arch Biochem Biophys* **294**, 173-177.
- Stahl W & Sies H (1992) Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. *J Nutr* **122**, 2161-2166.

- Stahl W & Sies H (1993) Physical quenching of singlet oxygen and cis-trans isomerization of carotenoids. *Ann N Y Acad Sci* **691**, 10-19.
- Stahl W & Sies H (1996a) Lycopene: A biologically important carotenoid for humans? *Arch Biochem Biophys* **336**, 1-9.
- Stahl W & Sies H (1996b) Perspectives in biochemistry and biophysics. *Arch Biochem Biophys* **336**, 1-9.
- Stahl W & Sies H (2002) Carotenoids and protection against solar UV radiation. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* **15**, 291-296.
- Stahl W, von Laar J, Martin HD, Emmerich T & H. S (2000) Stimulation of gap junctional communication: comparison of acyclo-retinoic acid and lycopene. *Arch Biochem Biophys* **373**, 271-274.
- Stamberg OE (1945) Vitamin C and carotene in rose hips and products. *Food Research* **10**, 392-396.
- Strohschein S (1997) Strukturbestimmung von Naturstoffen durch Anwendung der HPLC-NMR- und der HPLC-MS-Kopplung. *Dissertation Universität Tübingen*.
- Stryker WS, Kaplan LA, Stein EA, Stampfer MJ, Sober A & Willett WC (1988) The relation of diet, cigarette smoking, and alcohol consumption to plasma  $\beta$ -carotene and  $\alpha$ -tocopherol levels. *Am J Epidemiol* **127**, 283-296.
- Sugawara T, Kushi M, Zhang H, Nara E, Ono H & Nagao A (2001) Lysophosphatidylcholine enhances carotenoid uptake from mixed micelles by Caco-2 human intestinal cells. *J Nutr* **131**, 2921-2927.
- Takeoka GR, Dao L, Flessa S, Gillespie DM, Jewell WT, Huebner B, Bertow D & Ebeler SE (2001) Processing effects on lycopene content and antioxidant activity of tomatoes. *J Agric Food Chem* **49**, 3713-3717.
- Tang G, Ferreira ALA, Grusak MA, Qin J, Dolnikowski GG, Russel RM & Krinsky NI (2005a) Bioavailability of synthetic and biosynthetic deuterated lycopene in humans. *J Nutr Biochem* **16**, 229-235.
- Tang L, Jin T, Zeng X & Wang J-S (2005b) Lycopene inhibits the growth of human androgen-independent prostate cancer cells in vitro and in BALB/c nude mice. *J Nutr* **135**, 287-290.
- Tavares CA & Rodriguez-Amaya DB (1994) Carotenoid composition of brazilian tomatoes and tomato products. *Food Science & Technology* **52**, 3807-3813.
- Thompson JN, Duval S & Verdier P (1985) Investigation of carotenoids in human blood using high-performance liquid chromatography. *Journal of Micronutrient Analysis* **1**, 81-91.
- Tiziani S, Schwartz SJ & Vodovotz Y (2006) Profiling of Carotenoids in Tomato Juice by One- and Two-Dimensional NMR. *J Agric Food Chem* **54**, 6094-6100.
- Trumbo PR (2005) Are there adverse effects of lycopene exposure? *J Nutr* **135**, 2060S-2061S.
- Tulley RT, Vaidyanathan J, Wilson JB, Rood JC, Lovejoy JC, Most MM, Volaufova J, Peters JC & Bray GA (2005) Daily intake of multivitamins during long-term intake of olestra in men prevents declines in serum vitamins A and E but not carotenoids. *J Nutr* **135**, 1456-1461.
- Tyssandier V, Feillet-Coudray C, Caris-Veyrat C, Guillaud JC, Coudray C, Bureau S, Reich M, Amiot-Carlin MJ, Bouteloup-Demange C, Boirie Y & Borel P (2004) Effect of tomato product

consumption on the plasma status of antioxidant microconstituents and on the plasma total antioxidant capacity in healthy subjects. *J Am Coll Nutr* **23**, 148-156.

Tyssandier V, Lyan B & Borel P (2001) Main factors governing the transfer of carotenoids from emulsion lipid droplets to micelles. *Biochim Biophys Acta* **1533**, 285-292.

Tyssandier V, Reboul E, Dumas JF, Bouteloup-Demange C, Armand M, Marcand J, Sallas M & Borel P (2003) Processing of vegetable-borne carotenoids in the human stomach and duodenum. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **284**, 913-923.

Unlu NZ, Bohn T, Clinton SK & Schwartz SJ (2005) Carotenoid absorption from salad and salsa by humans is enhanced by the addition of avocado or avocado oil. *J Nutr* **135**, 431-436.

van Breemen RB, Xu X, Viana MA, Chen L, Stacewicz-Sapuntzakis M, Duncan C, Bowen PE & Sharifi R (2002) Liquid chromatography-mass spectrometry of cis- and all-trans-lycopene in human serum and prostate tissue after dietary supplementation with tomato sauce. *J Agric Food Chem* **50**, 2214-2219.

van den Berg H & van Vliet T (1998) Effect of simultaneous, single oral doses of beta-carotene with lutein or lycopene on the  $\beta$ -carotene and retinyl ester responses in the triacylglycerol-rich lipoprotein fraction of men. *Am J Clin Nutr* **68**, 82-89.

van het Hof KH, de Boer BC, Tijburg LB, Lucius BR, Zijp I, West CE, Hautvast JG & Weststrate JA (2000a) Carotenoid bioavailability in humans from tomatoes processed in different ways determined from the carotenoid response in the triglyceride-rich lipoprotein fraction of plasma after a single consumption and in plasma after four days of consumption. *J Nutr* **130**, 1189-1196.

van het Hof KH, Gärtner C, West CE & Tijburg LB (1998) Potential of vegetable processing to increase the delivery of carotenoids to man. *Int J Vitam Nutr Res* **68**, 366-370.

van het Hof KH, West CE, Weststrate JA & Hautvast JG (2000b) Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. *J Nutr* **130**, 503-506.

Visioli F, Riso P, Grande S, Galli C & Porrini M (2003) Protective activity of tomato products on in vivo markers of lipid oxidation. *Eur J Nutr* **42**, 201-206.

Vogel S, Contois JH, Tucker KL, Wilson PW, Schaefer EJ & Lammi-Keefe CJ (1997) Plasma retinol and plasma and lipoprotein tocopherol and carotenoid concentrations in healthy elderly participants of the Framingham Heart Study. *Am J Clin Nutr* **66**, 950-958.

Vogt TM, Mayne ST, Graubard BI, Swanson CA, Sowell AL, Schoenberg JB, Swanson GM, Greenberg RS, Hoover RN, Hayes RB & Ziegler RG (2002) Serum lycopene, other serum carotenoids, and risk of prostate cancer in US Blacks and Whites. *Am J Epidemiol* **155**, 1023-1032.

Vuong LT, Dueker SR & Murphy SP (2002) Plasma  $\beta$ -carotene and retinol concentrations of children increase after a 30-d supplementation with the fruit *Momordica cochinchinensis* (gac). *Am J Clin Nutr* **75**, 872-879.

Wang CY & Chen BH (2006) Tomato pulp as source for the production of lycopene powder containing high proportion of cis-isomers. *Eur Food Res Technol* **222**, 347-353.

Wang L, Liu S, Manson JE, Gaziano JM, Buring JE & Sesso HD (2006) The consumption of lycopene and tomato-based food products is not associated with the risk of type 2 diabetes in women. *J Nutr* **136**, 620-625.

Watzl B, Bub A, Briviba K & Rechkemmer G (2003) Supplementation of a low-carotenoid diet with tomato or carrot juice modulates immune functions in healthy men. *Ann Nutr Metab* **47**, 255-261.

- Wei W, Kim Y & Boudreau N (2001) Association of smoking with serum and dietary levels of antioxidants in adults: NHANES III, 1988-1994. *Am J Public Health* **91**, 258-264.
- Welz A (2004) Einfluss einer Intervention mit Tomatenextrakt auf die Gehalte antioxidativ wirksamer Vitamine und die antioxidative Kapazität im Humanplasma. *Diplomarbeit Friedrich-Schiller-Universität Jena*.
- Wertz K, Siler U & Goralczyk R (2004) Lycopene: modes of action to promote prostate health. *Arch Biochem Biophys* **430**, 127-134.
- Weststrate JA & Meijer GW (1998) Plant sterol-enriched margarines and reduction of plasma total- and LDL-cholesterol concentrations in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *Eur J Clin Nutr* **52**, 334-343.
- White WS, Peck KM, Bierer TL, Gugger ET & Erdman JW, Jr. (1993) Interactions of oral beta-carotene and canthaxanthin in ferrets. *J Nutr* **123**, 1405-1413.
- Wildfruchttagung Bgadi (1997) *Schriftenreihe des Fachgebietes Obstbau* **11**.
- Williams AW, Boileau TW & Erdman JW, Jr. (1998) Factors influencing the uptake and absorption of carotenoids. *Proc Soc Exp Biol Med* **218**, 106-108.
- Winther K, Kharazmi A & Rangaard B (1997) *1st Int Congress on Coronary Atery Diseases: From Prevention to Intervention*, 68.
- Winther K, Rein E & Kharazmi A (1999) The anti-inflammatory properties of rose-hip. *Inflammopharmacology* **7**, 63-68.
- Xu CJ, Fraser PD, Wang WJ & Bramley PM (2006) Differences in the carotenoid content of ordinary citrus and lycopene-accumulating mutants. *J Agric Food Chem* **54**, 5474-5481.
- Yagi K (1987) Lipid peroxides and human diseases. *Chem Phys Lipids* **45**, 337-351.
- Yaping Z, Suping Q, Wenli Y, Xue Z, Shen H, Side Y & Dapu. W (2002) Antioxidant activity of lycopene extracted from tomato paste towards trichloromethyl peroxy radical CCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>. *Food Chem* **77**, 209-212.
- Yeh S & Hu M (2000) Antioxidant and prooxidant effects of lycopene in comparison with beta-carotene on oxidant-induced damage in Hs68 cells. *J Nutr Biochem* **11**, 548-554.
- Yeum KJ, Booth SL, Sadowski JA, Liu C, Tang G, Krinsky NI & Russell RM (1996) Human plasma carotenoid response to the ingestion of controlled diets high in fruits and vegetables. *Am J Clin Nutr* **64**, 594-602.
- Yeum KJ, Russel RM, Krinsky NI & Aldini G (2004) Biomarkers of antioxidant capacity in the hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. *Arch Biochem Biophys* **430**, 97-103.
- Yilmaz S, Atessahin A, Sahna E, Karahan I & Ozer S (2006) Protective effect of lycopene on adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity. *Toxicology* **218**, 164-171.
- Yong LC, Forman MR, Beecher GR, Graubard BI, Campbell WS, Reichman ME, Taylor PR, Lanza E, Holden JM & Judd JT (1994) Relationship between dietary intake and plasma concentrations of carotenoids in premenopausal women: application of the USDA-NCI carotenoid food-composition database. *Am J Clin Nutr* **60**, 223-230.
- Zaripheh S & Erdman JW, Jr. (2005) The biodistribution of a single oral dose of [<sup>14</sup>C]-lycopene in rats prefed either a control or lycopene-enriched diet. *J Nutr* **135**, 2212-2218.

Zechmeister L (1944) Cis-trans isomerization and stereochemistry of carotenoids and diphenylpolyenes. *Chem Rev* **34**, 267-344.

Zechmeister L & Schroeder WA (1943) cis-trans Isomerization and spectral characteristics of gazaniaxanthin - further evidence of its structure. *J Am Chem Soc* **65**, 1535-1540.

Zhou JF, Yan XF, Guo FZ, Sun NY, Qian ZJ & Ding DY (2000) Effects of cigarette smoking and smoking cessation on plasma constituents and enzyme activities related to oxidative stress. *Biomed Environ Sci* **13**, 44-55.

## 8 Eigene Veröffentlichungen, Tagungsbeiträge, Ehrungen

### Referierte Zeitschriften

- 1 Böhm V, **Fröhlich K**, Bitsch R  
Rosehip – a „new“ source of lycopene?  
*Mol Asp Med* (2003) **24**, 385-389.
- 2 Seybold C, **Fröhlich K**, Bitsch R, Otto K, Böhm V  
Changes in contents of carotenoids and vitamin E during tomato processing  
*J Agric Food Chem* (2004) **52**, 7005-7010.
- 3 **Fröhlich K**, Kaufmann K, Bitsch R, Böhm V  
Effects of ingestion of tomatoes, tomato juice and tomato puree on contents of lycopene isomers, tocopherols and ascorbic acid in human plasma as well as on lycopene isomer pattern  
*Br J Nutr* (2006) **95**, 734-741.

### Konferenzbeiträge, Proceedings und sonstige Zeitschriften

- 1 **Fröhlich K**, Böhm V, Bitsch R  
Entwicklung einer HPLC-Methode zur Bestimmung von Bixin in Paprikaprobe  
*Lebensmittelchemie* (2002) **56**, 99. (Referat)
- 2 Böhm V, **Fröhlich K**, Bitsch R  
Sanddorn und Hagebutten – gesunde Alternativen zu Tomaten?  
Tagungshandbuch „15. Irseer Naturstofftage der DECHEMA e.V.“, 26.02.-28.02.2003, Irsee, 79. (Referat)
- 3 Böhm V, **Fröhlich K**, Bitsch R  
Rosehip – a „new“ source of lycopene?  
Abstract Book „12<sup>th</sup> European Meeting on Fat-Soluble Vitamins“, 13.03.-15.03.2003, Rieti, 14. (Referat)
- 4 **Fröhlich K**, Straß G, Netzel M, Könitz R, Christmann M, Bitsch I, Bitsch R  
Die Mikrooxidation und ihr Einfluss auf die Sensorik und den Polyphenolgehalt bei deutschen Rotweinen  
*Proc Germ Nutr Soc* (2003) **5**, 34. (Referat)
- 5 Netzel M, Strass G, Frank T, Böhm V, Kranl K, **Fröhlich K**, Bitsch R, Bitsch I  
In vivo bioactivity of a polyphenolic red grape juice concentrate  
Abstract Book „NFIF 2003 New Functional Ingredients and Foods“, 09.04.-11.04.2003, Copenhagen, 2-D01. (Referat)
- 6 Netzel M, Strass G, Frank T, Kranl K, **Fröhlich K**, Böhm V, Könitz R, Christmann M, Bitsch I, Bitsch R  
Untersuchungen zur in vivo Bioaktivität von Rotwein  
*Lebensmittelchemie* (2003) **57**, 99. (Referat)

- 7 **Fröhlich K**, Böhm V, Bitsch R  
Untersuchungen an Lycopin-reichen Wildfrüchten  
*Lebensmittelchemie* (2003) **57**, 108. (Referat)
- 8 Seybold C, **Fröhlich K**, Bitsch R, Otto K, Böhm V  
Changes in contents of carotenoids and vitamin E as well as in lipophilic antioxidants in tomato products depending on processing effects  
in: R. Schubert, G. Flachowsky, G. Jahreis, R. Bitsch (Hrsg.): *Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier*, Informations- und Datenzentrum der FAL, Braunschweig, (2003), 330-333.
- 9 **Fröhlich K**, Kaufmann K, Bitsch R, Böhm V  
Comparison of lipophilic antioxidant activity of isolated lycopene isomers  
in: R. Schubert, G. Flachowsky, G. Jahreis, R. Bitsch (Hrsg.): *Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier*, Informations- und Datenzentrum der FAL, Braunschweig, (2003), 335-338.
- 10 Kaufmann K, **Fröhlich K**, Bitsch R, Böhm V  
Intestinal absorption of lycopene and isomer pattern in human plasma as affected by the food matrix  
Abstract-Book „*Pigments in Food, more than colours*“, 14.06.-17.06.2004, Quimper, 265-267.
- 11 Burkhardt S, **Fröhlich K**, Bitsch R, Böhm V  
Sind Carotinoide aus allen Lebensmitteln in gleicher Weise extrahierbar?  
*Lebensmittelchemie* (2004) **58**, 75-76. (Referat)
- 12 **Fröhlich K**, Kaufmann K, Bitsch R, Böhm V  
Kinetische Untersuchungen zur Lycopinaufnahme nach einer einmaligen Gabe von Tomatensaft bzw. Tomatenmark  
*Lebensmittelchemie* (2004) **58**, 82. (Referat)
- 13 **Fröhlich K**, Conrad J, Schmidt A, Bitsch R, Breithaupt DE, Böhm V  
Isolation and structural elucidation of prominent geometrical lycopene isomers  
*Carotenoid Science* (2005) **9**, 89. (Referat)
- 14 Laske G, **Fröhlich K**, Bitsch R, Böhm V  
Carotenoids and tocopherols/tocotrienols in rosehips as affected by variety and ripening stage  
*Carotenoid Science* (2005) **9**, 90. (Referat)
- 15 Laske G, **Fröhlich K**, Böhm V  
Die Hagebutte – altes Hausmittel mit neuen Möglichkeiten?  
*Lebensmittelchemie* (2005) **59**, 126-127. (Referat)

- 16 **Fröhlich K**, Laske G, Böhm V  
Does dietary intake of rosehip puree affect levels of carotenoids, vitamin E and vitamin C in human plasma?  
in: R. Schubert, G. Flachowsky, G. Jahreis, R. Bitsch (Hrsg.): *Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier*, Informations- und Datenzentrum der FAL, Braunschweig, (2005), 90-95.
- 17 **Fröhlich K**, Burkhardt S, Böhm V  
Bioactive compounds in tomatoes and tomato products – investigations of different commercially available foodstuffs  
in: R. Schubert, G. Flachowsky, G. Jahreis, R. Bitsch (Hrsg.): *Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier*, Informations- und Datenzentrum der FAL, Braunschweig, (2005), 240-243.
- 18 Burkhardt S, **Fröhlich K**, Böhm V  
How does sample concentration affect measurement of antioxidant capacity?  
in: R. Schubert, G. Flachowsky, G. Jahreis, R. Bitsch (Hrsg.): *Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier*, Informations- und Datenzentrum der FAL, Braunschweig, (2005) 114-119.
- 19 Böhm V, **Fröhlich K**  
Lycopene – Update on isomerisation  
Abstract-Book „13<sup>th</sup> European Meeting on Fat-Soluble Vitamins“, 30.03.-01.04.2006, Jena, 22. (Referat)
- 20 Laske G, **Fröhlich K**, Böhm V  
Rosehips – Renaissance of a long-known wild fruit with new impact  
*Wellness Foods Europe* (2006) **1**, 38-42.
- 21 Böhm V, **Fröhlich K**, Laske G, Hohbein J  
Intestinal absorption of lycopene from different foods  
Abstracts “13<sup>th</sup> World Congress on Food Science and Technology (IUFoST)“, 17.09.-21.09.2006, Nantes, 605-613.
- 22 Hohbein J, Laske G, **Fröhlich K**, Böhm V  
Carotenoids in different species of rosehips – influence of crop year  
Abstracts “4<sup>th</sup> International Congress on Pigments in Food“, 09.10.-12.10.2006, Hohenheim. (Referat)
- 23 **Fröhlich K**, Böhm V  
Unterscheiden sich kommerziell erhältliche Tomaten und Tomatenprodukte in ihren Gehalten an Carotinoiden und Vitamin C?  
*Lebensmittelchemie* (2006) **60**, 163. (Referat)

## Vorträge und Poster

- 1 „Entwicklung einer HPLC-Methode zur Bestimmung von Bixin in Paprikaprobe“  
**Vortrag** bei der 12. Arbeitstagung des RV Südost der Lebensmittelchemischen Gesellschaft, 21.03.-22.03.2002, Jena.

- 2 „Die Mikrooxidation und ihr Einfluss auf die Sensorik und den Polyphenolgehalt bei deutschen Rotweinen“  
**Poster** beim 40. Wissenschaftlichen Kongress der Deutschen Gesellschaft für Ernährung, 13.03.-14.03.2003, Potsdam.
- 3 „Untersuchungen an Lycopin-reichen Wildfrüchten“  
**Vortrag** bei der 13. Arbeitstagung des RV Südost der Lebensmittelchemischen Gesellschaft, 27.03.-28.03.2003, Dresden.
- 4 „Comparison of lipophilic antioxidant activity of isolated lycopene isomers“  
**Poster** beim 9. Symposium „Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier“, 24.09.-25.09.2003, Jena.
- 5 „Kinetische Untersuchungen zur Lycopinaufnahme nach einer einmaligen Gabe von Tomatensaft bzw. Tomatenmark“  
**Vortrag** bei der 14. Arbeitstagung des RV Südost der Lebensmittelchemischen Gesellschaft, 01.04.-02.04.2004, Halle/Saale.
- 6 „Isolation and structural elucidation of prominent geometrical lycopene isomers“  
**Poster** beim 14<sup>th</sup> International Carotenoid Symposium 2005, 17.07.-22.07.2005, Edinburgh, UK.
- 7 Carotenoids and tocopherols/tocotrienols in rosehips as affected by variety and ripening stage”  
**Poster** beim “14<sup>th</sup> International Carotenoid Symposium 2005”, 17.07.-22.07.2005, Edinburgh, UK.
- 8 “Does dietary intake of rosehip puree affect levels of carotenoids, vitamin E and vitamin C in human plasma?”  
**Vortrag** beim 10. Symposium „Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier“, 28.09.-29.09.2005, Jena.
- 9 “Bioactive compounds in tomatoes and tomato products – investigations of different commercially available foodstuffs”  
**Poster** beim 10. Symposium „Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier“, 28.09.-29.09.2005, Jena.
- 10 „Lycopin einschließlich seiner Isomere in pflanzlichen Lebensmitteln und deren Bedeutung im menschlichen Körper“  
**Vortrag** bei der 41. DGQ-Vortragstagung, 20.03.-21.03.2006, Wädenswil, Schweiz.
- 11 „Unterscheiden sich kommerziell erhältliche Tomaten und Tomatenprodukte in ihren Gehalten an Carotinoiden und Vitamin C?“  
**Vortrag** bei der Arbeitstagung des RV Südost und RV Nordost der Lebensmittelchemischen Gesellschaft, 23.03.-24.03.2006, Berlin.
- 12 „Lycopene – Update on isomerisation“  
**Vortrag** bei “13<sup>th</sup> European Meeting on Fat-Soluble Vitamins”, 30.03.-01.04.2006, Jena.

## **Ehrungen**

**Förderpreis** für Nachwuchswissenschaftler **2006**  
der Gesellschaft für Qualitätsforschung (pflanzliche Nahrungsmittel) DGQ e. V.

## Anhang

### I ANALYSENVORSCHRIFTEN

#### I.I Carotinoidstammlösungen

##### I.I.I Herstellung der Carotinoidstammlösungen und -standardlösungen

###### Geräte:

- Ultraschallbad Modell Branson Ultrasonics 8210 (Branson, Soest, Niederlande)
- Membranfilter 0,2 µm, Ø 25 mm (Ref. Nr. 401306, Schleicher & Schuell, Dassel)

###### Reagenzien:

- Carotinoidstandards:  
BASF (Ludwigshafen), DSM Nutritional Products (Basel, Schweiz)

###### Arbeitsweise:

Alle Arbeitsschritte werden unter reduziertem Licht durchgeführt.

Das jeweilige Carotinoid (etwa 3 – 6 mg) wird in einer Mischung aus Cyclohexan/Toluol (4+1, v/v) im Ultraschall gelöst und durch einen Membranfilter filtriert. Die so hergestellten Stammlösungen der Carotinoide werden bei –20 °C gelagert.

Die Standardlösungen werden täglich frisch hergestellt, indem man die Stammlösungen 1:10 bis 1:100 mit Methanol/MTBE (1+1, v/v) verdünnt.

##### I.I.II Photometrische Ermittlung der Konzentration der Carotinoidstammlösungen

###### Geräte:

- Spektralphotometer: V-530 (Jasco, Groß-Umstadt)
- Quarzküvetten, 1 cm Schichtdicke

###### Arbeitsweise:

Alle Arbeitsschritte werden unter reduziertem Licht durchgeführt.

Die Konzentrationen der Carotinoidstammlösungen werden regelmäßig photometrisch ermittelt. Dazu werden die Stammlösungen 1:10 mit Ethanol, Hexan oder Petrolether verdünnt und die Extinktionen (Epler *et al.*) bei der jeweiligen spezifischen Wellenlänge des Absorptionsmaximums gemessen. Die verwendeten Lösungsmittel, spezifischen Wellenlängen und  $E_{1\%, 1\text{cm}}$ -Werte sind in Tabelle A 1 angegeben. Die Konzentrationen der Stammlösungen werden nach folgender Formel berechnet:

$$c_{\text{ Stammlösung}} [\text{g}/100 \text{ mL}] = (E * 1 \text{ g}/100 \text{ mL}) / E_{1\%, 1\text{cm}} * \text{Verdünnungsfaktor (hier: 10)}$$

$$c_{\text{ Stammlösung}} [\mu\text{g}/\text{mL}] = (E * 100\,000) / E_{1\%, 1\text{cm}}$$

**Tabelle A 1:** Zur photometrischen Konzentrationsbestimmung der Carotinoidlösungen verwendete Lösungsmittel, Wellenlängen und  $E_{1\%, 1\text{cm}}$ -Werte der Carotinoide (Craft *et al.*, 1988; Olmedilla *et al.*, 1990; Hart & Scott, 1995; Schierle *et al.*, 1995; Britton *et al.*, 2004)

Carotinoid	Lösungsmittel	$\lambda_{\text{max}}$ [nm]	$E_{1\%, 1\text{cm}}$
$\beta$ -apo-8'-Carotinal	Ethanol	457	2640
( <i>all-E</i> )-Echinenon	Ethanol	458	2158
( <i>all-E</i> )-Lutein	Ethanol	445	2550
( <i>all-E</i> )-Zeaxanthin	Ethanol	450	2540
( <i>all-E</i> )-Canthaxanthin	Ethanol	460	2220
( <i>all-E</i> )- $\beta$ -Cryptoxanthin	Ethanol	452	2386
( <i>all-E</i> )-Rubixanthin	Petrolether	460	2750
( <i>all-E</i> )- $\beta$ -Carotin	n-Hexan	453	2592
(15Z)- $\beta$ -Carotin	n-Hexan	447	1820
(13Z)- $\beta$ -Carotin	n-Hexan	443	2090
(9Z)- $\beta$ -Carotin	n-Hexan	445	2550
( <i>all-E</i> )- $\alpha$ -Carotin	n-Hexan	444	2800
( <i>all-E</i> )-Lycopin	n-Hexan	472	3450

## I.II Versuche zu Isomerisierung und Stabilität von Lycopin

Alle Arbeitsschritte werden im völlig abgedunkelten Labor durchgeführt. Als einzige Lichtquelle dient eine handelsübliche Rotlichtlampe.

### I.II.I Herstellung der (*all-E*)-Lycopinlösung

#### Geräte:

- Ultraschallbad Modell Sonorex RK 100 (Bandelin, Berlin)
- Zentrifuge Modell Universal 30 RF (Hettich, Tuttlingen)

#### Reagenzien:

- (*all-E*)-Lycopin

#### Arbeitsweise:

Für die Herstellung der Lycopinlösung wird (*all-E*)-Lycopin in Cyclohexan/Toluol (4+1, v/v) mittels Ultraschall gelöst und die Lösung 5 Minuten bei 5 000 U/min zentrifugiert. Der Vorgang wird bis zum vollständigen Auflösen des (*all-E*)-Lycopins wiederholt. Die Zentrifugate werden vereinigt und die Konzentration der Lycopinlösung photometrisch bestimmt (I.II.II).

### I.II.II Iod-Photo-Isomerisierung

siehe I.III.I

### I.II.III Isomerisierung mit unterschiedlichen Iodmengen ohne UV-Bestrahlung

#### Geräte:

- Verschraubbare Zentrifugengläser SVL 16 (16 x 100 mm), mit Schraubdeckel und PTFE-beschichteter Gummidichtung (QVS Labortechnik, Ilmenau)
- Reagenzglasschüttler
- Braunglas-V-Vials

#### Reagenzien:

- Iod, kristallin (Merck, Darmstadt)

- Iodlösung (0,25 mg/mL): 25 mg Iod werden mittels Ultraschall in 100 mL n-Hexan gelöst.
- Stickstoff 4.6 (> 99,996 %)

Arbeitsweise:

5 mL der (*all-E*)-Lycopinlösung werden in einem verschraubbaren Zentrifugenglas mit der entsprechenden Menge Iodlösung (0 – 20 % des Carotinoidgewichtes) versetzt, geschüttelt und 15 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln stehengelassen. Dann wird ein Aliquot der isomerisierten Lösung unter starkem Stickstoffstrom bis zur Trockene eingedampft und der Rückstand in Methanol/MTBE (1+1, v/v) gelöst. Diese Lösung wird entsprechend verdünnt und in Braunglas-V-Vials zur HPLC eingesetzt.

Die Versuche wurden als Doppelbestimmung an zwei verschiedenen Tagen durchgeführt.

### **I.II.IV Isomerisierung mit 5 % Iod und unterschiedlichen UV-Bestrahlungen**

Geräte:

- Quarzküvetten, 1 cm Schichtdicke
- UV-Lampe (Derma Spac Skin Imager, Avon)
- Braunglas-V-Vials

Reagenzien:

- Iod, kristallin (Merck, Darmstadt)  
Iodlösung (0,25 mg/mL): 25 mg Iod werden mittels Ultraschall in 100 mL n-Hexan gelöst.
- Stickstoff 4.6 (> 99,996 %)

Arbeitsweise:

Je 2 mL der (*all-E*)-Lycopin-Lösung werden in Quarzküvetten mit der entsprechenden Menge Iodlösung (5 % des Carotinoidgewichts) versetzt, mittels Glasstab gemischt und die Küvetten durch Küvettendeckel und zusätzlich Tesafilm verschlossen. Die Küvetten werden unterschiedlich lange mit Hilfe einer UV-Lampe bestrahlt bzw. im hellen Laborlicht stehengelassen. Um den Einfluss der Isomerisierungszeit auszuschließen, werden die Küvetten nach der entsprechenden Bestrahlungsdauer im Dunkeln gelagert. Nach exakt 30 Minuten wird dann ein Aliquot der isomerisierten Lösung unter starkem Stickstoffstrom bis zur Trockene eingedampft und der Rückstand in Methanol/MTBE (1+1, v/v) gelöst. Diese Lösung wird entsprechend verdünnt und in Braunglas-V-Vials zur HPLC eingesetzt.

Die Versuche wurden als Doppelbestimmung an zwei verschiedenen Tagen durchgeführt.

### **I.II.V HPLC für I.II.I bis I.II.IV**

HPLC-Anlage

Siehe I.V.I

HPLC-Bedingungen (für Stabilitätsversuche, Hagebuttenproben)

- Injektionsvolumen: 50 µL

Siehe I.V.I, Tabelle A 6

- Detektionswellenlänge: 470 nm
- Säulentemperatur: 17 ± 1 °C

oder:

Siehe I.III.III, Tabelle A 2

- Detektionswellenlänge: 463 nm
- Säulentemperatur:  $23 \pm 1$  °C

### **I.II.VI Stabilität der Lycopin-Standardlösung im Autosampler**

Geräte:

- Siehe I.III.III

Reagenzien:

- (*all-E*)-Lycopinstammlösung (82,1 µg/mL)

Arbeitsweise:

Die Lycopinstammlösung wird 1:10 bzw. 1:100 mit Methanol/MTBE (1+1, v/v) verdünnt und auf mehrere Braunglas-V-Vials verteilt. Diese werden für 24 Stunden bei Raumtemperatur im Autosampler platziert. Stündlich werden Aliquote daraus mittels HPLC analysiert. Die Dreifachbestimmung wird an drei unterschiedlichen Tagen durchgeführt.

HPLC-Bedingungen: siehe I.III.III

## **I.III Isomerenidentifizierung**

### **I.III.I Iod-Photo-Isomerisierung**

Geräte:

- Ultraschallbad Modell Sonorex RK 100 (Bandelin, Berlin)
- Vakuum-Rotationsverdampfer Modell Rotavapor R-124 und Wasserbad B-480 (Büchi, Flawil, Schweiz) mit Vakuumpumpe (Vacuubrand, Wertheim)
- UV-Lampe (Derma Spac Skin Imager, Avon)

Reagenzien:

- Iod, kristallin (Merck, Darmstadt)  
Iodlösung (58 mg/20 mL): 58 mg Iod werden mittels Ultraschall in 20 mL n-Hexan gelöst.
- Stickstoff 4.6 (> 99,996 %)

Arbeitsweise:

Die zur Isomerisierung eingesetzten (*all-E*)-Lycopin-Lösungen mit Konzentrationen von 150 - 200 µg/mL werden durch Lösen von (*all-E*)-Lycopin in Cyclohexan/Toluol (4+1, v/v) mittels Ultraschall hergestellt. Zu der Lycopinlösung wird eine definierte Menge Iodlösung gegeben (etwa 5 % des Carotinoidgewichts) und 15 Minuten mit UV-Licht bestrahlt. Die Lycopinmetabolitenmischung wird im Rotationsverdampfer bei etwa 30 °C auf 1 - 2 mL eingengt und unter starkem Stickstoffstrom bis zur Trockene eingedampft, um das restliche Iod vollständig aus der Probe zu entfernen.

### I.III.II Fraktionierung der Isomere

#### Geräte:

- Zentrifuge Modell 5415 C (Eppendorf, Hamburg)
- HPLC-Pumpe Modell L-7100 (Merck, Darmstadt)
- Detektor Modell Lambda 1000 (Bischoff, Leonberg)
- Integrator Modell Chromatopac C-R6A (Shimadzu, Duisburg)
- Präparative C<sub>30</sub>-Säule 5 µm / 300 x 10,0 mm (YMC Europe, Schermbeck)
- Vorsäule: C<sub>18</sub> ProntoSil 120-5-C18 H 5 µm / 10 x 4,0 mm (Bischoff, Leonberg)

#### Reagenzien:

- Stickstoff 4.6 (> 99,996 %)

#### Arbeitsweise:

Aufgrund der geringen Stabilität der Lycopinisomere werden alle Schritte schnellstmöglich unter reduziertem Licht durchgeführt. Die Fraktionierung der Isomere erfolgt bei Raumtemperatur in einer präparativen C<sub>30</sub>-Säule mit einem Gemisch aus Methanol und MTBE als mobile Phase. Die Flussrate beträgt 4,0 mL/min, die Detektionswellenlänge 400 nm bzw. 450 nm und das Injektionsvolumen 1 mL.

Für die NMR-Messung von (5Z,9'Z)-, (9Z)- und (5Z,9Z)-Lycopin ist eine Vorfraktionierung notwendig, um eine ausreichende Menge des jeweiligen Isomers zu erhalten. Dafür wird die Metabolitenmischung in Cyclohexan/Toluol (4+1, v/v) gelöst, 5 Minuten mit 14 000 U/min zentrifugiert und in der präparativen C<sub>30</sub>-Säule mit Methanol/MTBE (1+1, v/v) als mobile Phase getrennt. Die vereinigten Fraktionen, welche die drei Lycopinisomere enthalten, werden unter Vakuum im Rotationsverdampfer bei Raumtemperatur eingeengt. Diese konzentrierte Lösung ist bei -30 °C mindestens zwei Wochen stabil. Vor der Fraktionierung der einzelnen Isomere wird die Isomerenmischung unter Stickstoffstrom bei Raumtemperatur bis zur Trockene eingedampft.

Für die Isolierung der einzelnen Isomere wird die Lycopinmetabolitenmischung bzw. die Isomerenmischung aus der Vorfraktionierung in mobiler Phase (Methanol/MTBE, 3+2, v/v) gelöst. Die Fraktionierung der einzelnen Isomere erfolgt mit Methanol/MTBE (3+2, v/v). Die Eluate der isolierten Lycopinisomere werden bei Raumtemperatur unter Vakuum im Rotationsverdampfer eingeengt und Lösungsmittelreste unter Stickstoffstrom bei Raumtemperatur entfernt.

### I.III.III Reinheitsprüfung der isolierten Isomere

#### Geräte:

- siehe I.V.I
- siehe I.III.II

#### Arbeitsweise:

Die Reinheit der isolierten Lycopinisomere wird für die Isomere (5Z,9'Z)-, (9Z)- und (5Z,9Z)-Lycopin mit der präparativen C<sub>30</sub>-Säule bei Raumtemperatur mit 4 mL/min Methanol/MTBE (3+2, v/v) und einer Detektionswellenlänge von 463 nm geprüft. Das Injektionsvolumen beträgt 1 mL. Die anderen Lycopinisomere werden mit einer analytischen C<sub>30</sub>-Säule 5 µm / 250 x 4,6 mm (YMC Europe, Schermbeck) mit Methanol und MTBE (Gradient siehe nachfolgende Tabelle) und einer Detektionswellenlänge von 470 nm bei 23 ± 1°C untersucht. Das Injektionsvolumen beträgt 50 bzw. 100 µL.

**Tabelle A 2:** HPLC-Gradient für Reinheitsprüfung

Zeit [min]	Methanol [%]	MTBE [%]	Flussrate [mL*min <sup>-1</sup> ]
0	90	10	1,3
35	55	45	1,3
45	40	60	1,3
56	40	60	1,3
60	90	10	1,3

### I.III.IV UV-Vis Spektroskopie

#### Geräte:

- Photometer Jasco Modell V-530 (Jasco, Groß-Umstadt)
- Quarzküvetten, 1 cm Schichtdicke

#### Arbeitsweise:

Alle Arbeitsschritte werden unter reduziertem Licht durchgeführt.

Die einzelnen Isomere werden direkt nach der Fraktionierung und Trocknung in n-Hexan, Petrolether, MTBE, Ethanol, Dichlormethan oder Aceton gelöst und das Absorptionsspektrum mit folgenden Bedingungen aufgenommen:

- Spektrale Bandbreite: 2,0 nm
- Zeitkonstante: 0,4 sec
- $\lambda$ -Skalierung: 20 nm/cm
- Scan-Geschwindigkeit: 100 nm/min

### I.III.V HPLC-MS-Analyse

#### Geräte:

- HP1100 HPLC-System (Hewlett Packard, Waldbronn)
- Massenspektrometer: Micromass VG platform II quadrupole mit APCI-Interface (Manchester, UK)
- C<sub>30</sub>-Säule 5  $\mu$ m / 250 x 4,6 mm (YMC Europe, Schermbeck)
- Vorsäule mit C<sub>30</sub>-Material 5  $\mu$ m / 10 x 4,6 mm

#### Arbeitsweise:

Die getrockneten Isomere werden unter Argon-Atmosphäre gekühlt transportiert und bei -18 °C bis zur Analyse eingefroren. Für die Analyse werden die Lycopinisomere in Methanol/MTBE (1+1, v/v) gelöst. Die HPLC-Trennung erfolgt in einer analytischen C<sub>30</sub>-Säule bei 35  $\pm$  1°C. Als mobile Phase wird ein Gradient (siehe nachfolgende Tabelle) aus A) Methanol/MTBE/Wasser (81+15+4, v/v/v) und B) Methanol/MTBE/Wasser (6+90+4, v/v/v) eingesetzt. Das Injektionsvolumen beträgt 20  $\mu$ L.

**Tabelle A 3:** HPLC-Gradient für HPLC-MS-Analyse

Zeit [min]	A [%]	B [%]	Flussrate [mL*min <sup>-1</sup> ]
0	99	1	1,0
39	44	56	1,0
45	0	100	1,0
48	0	100	1,0
52	99	1	1,0

55

99

1

1,0

Bei der Massenspektroskopie wird im positiven Modus gearbeitet, um die Molekülonen  $[M+H]^+$  herzustellen. Die Aufnahme der Massenspektren erfolgt im Scanbereich von  $m/z = 200-1000$ . Die detaillierten Bedingungen für die MS-Detektion werden an anderer Stelle (Breithaupt *et al.*, 2002) angegeben. Die Datenauswertung wird mit Hilfe von der MassLynx 3.2 Software durchgeführt.

### I.III.VI NMR-Analyse

#### Geräte:

- NMR-Gerät: Unity Inova 500 MHz (Varian, Darmstadt)

#### Reagenzien:

- $CDCl_3$  (Euriso-top, Saarbrücken)

#### Arbeitsweise:

Die Rückstände der isolierten Lycopinisomere wurden zwei Stunden unter Vakuum bei Raumtemperatur im Exikkator getrocknet, um mögliche Restfeuchtigkeit vollständig zu entfernen. Die getrockneten Isomere wurden unter Argon-Atmosphäre gekühlt transportiert und bis zur Analyse bei  $-18\text{ °C}$  eingefroren. Für die NMR-Analyse wurden 160 - 290  $\mu\text{g}$  der isolierten Lycopinisomere in 175  $\mu\text{L}$  deuterierten Chloroform ( $CDCl_3$ ) gelöst. Zur vollständigen Sauerstoffentfernung wurden die NMR-Lösungsmittel und das Probentube mit Stickstoff begast.

Die Aufnahme der NMR-Spektren erfolgte mittels eindimensionaler ( $^1\text{H}$  NMR) und zweidimensionaler (gCOSY, TOCSY, TROESY) NMR-Technik. Die chemischen Verschiebungen ( $\delta$  in ppm) aus den  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren werden mit dem Lösungsmittelsignal als Referenzsignal ( $CDCl_3$ ,  $\delta = 7,27$  ppm) angegeben. Als Interner Standard wurde TMS (Tetramethylsilan) verwendet. Alle NMR-Messungen wurden mit Standard Varian Puls Sequenz durchgeführt.

## I.IV Antioxidative Aktivität der Lycopinisomere

### I.IV.I Iod-Photo-Isomerisierung und Fraktionierung der Isomere

#### Iod-Photo-Isomerisierung

Siehe I.III.I

#### Fraktionierung der Isomere

Siehe I.III.II

#### Abweichende Parameter:

- Mobile Phase: Methanol/MTBE (55+45, v/v)
- Die einzelnen Fraktionen werden in verschraubbaren Zentrifugenröhrchen aufgefangen, welche 2 mL Hexan enthalten.
- Die Hexanextrakte von mehreren Fraktionierungsläufen werden vereinigt und unter Vakuum bei Raumtemperatur im Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingedampft, der Rückstand in einem geringen Volumen (0,75 - 1,5 mL) Hexan gelöst und für die Reinheitsprüfung und Konzentrationsmessung sowie antioxidative Tests eingesetzt.

## I.IV.II Reinheitsprüfung und Konzentrationsbestimmung der isolierten Isomere

Siehe I.III.III

Die Quantifizierung der Lycopinisomere erfolgt mittels HPLC unter Verwendung der (*all-E*)-Lycopin-Kalibrierung.

## I.IV.III TEAC-Test lipophil

### Geräte:

- Membranfilter 0,2  $\mu\text{m}$ ,  $\varnothing$  25 mm (Ref. Nr. 401306, Schleicher & Schuell, Dassel)
- Ultraschallbad: Branson 8210 (Branson Ultrasonics B.V., Soest, Niederlande)
- Spektralphotometer: Modell S 750 (Secomam, Sarcelles, Frankreich)
- Kunststoffküvetten, halbmikro, 1 cm Schichtdicke
- Reagenzglasschüttler
- Zentrifuge Modell 5415 C (Eppendorf, Hamburg)

### Reagenzien:

- Phosphatpuffer pH 7,4: 218 mg  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  wasserfrei (oder 221 mg  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  Monohydrat), 1,494 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  und 8,766 g NaCl werden in einem Liter destilliertem Wasser gelöst.
- ABTS: 2,2'-Azinobis(3-ethylbenzthiazolin)-6-sulfonsäure (Nr. A 1888, Sigma-Aldrich, Taufkirchen)  
ABTS-Stammlösung: Eine Spatelspitze ABTS wird in einem Becherglas in einigen Millilitern Phosphatpuffer gelöst.
- Mangandioxid -  $\text{MnO}_2$  (Nr. 805958 S20766 704, Merck-Schuchardt, Hohenbrunn)
- $\text{ABTS}^{\bullet+}$ -Stammlösung: Ein Löffelspatel  $\text{MnO}_2$  wird in ein Filterpapier gegeben und mit einigen Millilitern Phosphatpuffer befeuchtet. Dieser Puffer wird verworfen. Dann wird die ABTS-Stammlösung in das Filterpapier mit dem  $\text{MnO}_2$  gegossen und mit einigen Millilitern Puffer nachgewaschen. Die entstandene  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ -Stammlösung wird durch einen Membranfilter filtriert und ist mehrere Wochen in einer dunklen Flasche im Kühlschrank haltbar.
- Trolox<sup>®</sup>: (S)-(-)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl-chroman-2-carboxylic acid (Nr. 39 192-1, Sigma-Aldrich, Taufkirchen)  
Trolox-Stammlösung, 2,5 mmol/L: 12,5 mg Trolox<sup>®</sup> werden in 20 mL destilliertem Wasser im Ultraschallbad gelöst.

### Arbeitsweise:

Die  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ -Arbeitslösung wird täglich hergestellt indem man die  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ -Stammlösung zwei Stunden vor Beginn der Messungen mit Phosphatpuffer auf eine Extinktion von ca. 0,72 einstellt ( $\lambda = 734 \text{ nm}$ ). Als Standard wird Trolox in Konzentrationen von 0,0125 bis 0,125 mmol/L und als Blindwert Hexan verwendet.

Zu 1 mL  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ -Arbeitslösung werden 100  $\mu\text{L}$  Hexan (Blindwert) bzw. Probenlösung gegeben, 30 Sekunden geschüttelt und 1 Minute mit 14 000 U/min zentrifugiert. Die untere blaugrün gefärbte Phase wird in eine Küvette überführt und nach exakt 2 Minuten die Extinktion bei 734 nm gemessen.

## I.IV.IV PCL

### Geräte:

- Photochem® (Analytik Jena AG, Jena)
- Reagenzglasschüttler

#### Reagenzien:

- ACL-Kit (Analytik Jena AG, Jena)  
Reagenz 1: ACL-Diluent (Methanol-haltig), gebrauchsfertig  
Reagenz 2: Puffer, gebrauchsfertig  
Reagenz 3: Photosensibilisator und Detektorsubstanz (Luminol-haltig), Herstellung der Arbeitslösung: Zugabe von 0,75 mL Reagenz 2, schütteln und dunkel stellen
- Trolox-Stammlösung (2,5 mmol/L) siehe I.IV.III

#### Arbeitsweise:

Als Standard wird Trolox in Konzentrationen von 50 µmol/L bis 2,5 µmol/L eingesetzt. Die Lycopinisomere werden in 25 µL Toluol gelöst, dann werden 100 µL Methanol/MTBE (1+1, v/v) zugesetzt und kräftig geschüttelt. Die Reagenzien werden in Reaktionsröhrchen pipettiert und nach kurzem Mischen der Reagenzien wird die Messung gestartet. Dabei ist wichtig, dass immer die gleiche Messdauer eingehalten wird (100 Sekunden). Die folgende Tabelle zeigt das Pipettierschema beim PCL-Test.

**Tabelle A 4:** Pipettierschema beim PCL-Test

Reagenz [µL]	1	2	3	Trolox	Probe
Blindwert	2300	200	25	-	-
Standard	2200	200	25	100	-
Probe	2200	200	25	-	100

## **I.V Untersuchungen von Lebensmitteln**

Alle Untersuchungen an Lebensmitteln wurden als Dreifachbestimmung durchgeführt.

### **I.V.I Carotinoide**

#### **Extraktion von Carotinoiden aus Lebensmitteln**

##### Geräte:

- Küchenmaschine, hier: Moulinex Modell Multi Moulinette
- Labormühle A 10 (IKA Labortechnik, Staufen)
- Homogenisierstab, hier: Ultra-Turrax Modell S25N-18G (IKA Labortechnik, Staufen)
- Saugflasche
- Büchnertrichter mit Satorius Nr. 1390-Filterpapier
- Erlenmeyerkolben 50 mL
- Braunglas-Rundkolben 250 mL
- Braunglas-Spitzkolben 50 mL
- Messkolben 10 mL
- 15 mL Zentrifugenröhrchen
- Vakuum-Rotationsverdampfer Modell Rotavapor R-124 und Wasserbad B-480 (Büchi, Flawil, Schweiz) mit Vakuumpumpe (Vacuubrand, Wertheim)
- Ultraschallbad Modell Sonorex RK 100 (Bandelin, Berlin)
- Zentrifuge Modell Universal 30 RF (Hettich, Tuttlingen)
- Braunglas-V-Vials

Reagenzien:

- Methanol/Tetrahydrofuran (1+1, v/v), mit 0,1 % Butylhydroxytoluol (BHT)
- Magnesiumhydroxidcarbonat
- Stickstoff 4.6 (> 99,996 %)
- Interner Standard:  $\beta$ -Apo-8'-carotinal bzw. Echinenon

Arbeitsweise:

Alle Arbeitsschritte erfolgen ohne längere Standzeiten unter reduziertem Licht.

Als Analysenprobe wird nur der essbare Anteil des Lebensmittels verwendet. Stiele, Blätter und das Fruchttinnere (Kerne u.ä.) bei den Hagebuttenproben werden vor der Zerkleinerung entfernt. Das vorbereitete Lebensmittel wird mittels Küchenmaschine oder Labormühle zerkleinert und bis zur Analyse bei  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  eingefroren.

Die Einwaage (1 - 2 g) wird in einem Erlenmeyerkolben mit 200 mg Magnesiumhydroxidcarbonat und einem Aliquot (250 - 500  $\mu\text{L}$ ) der Lösung des internen Standards (Echinenon oder  $\beta$ -Apo-8'-carotinal) versetzt. Nach Zugabe von 35 mL Methanol/THF (1+1, mit 0,1 % BHT) wird die Probe 5 Minuten unter Kühlung im Eisbad mit dem Ultra-Turrax homogenisiert. Der Überstand wird über den Büchnertrichter unter Vakuum filtriert. Die Extraktion mit je 35 mL Lösungsmittel und anschließender Filtration wird insgesamt dreimal durchgeführt. Die vereinigten Extrakte werden in braunen Rundkolben im Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck bei ca.  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  bis auf etwa 10 mL eingengt und anschließend in braune 50 mL-Spitzkolben überführt und bis zur Trockene eingedampft. Das Vakuum wird mit Stickstoff aufgehoben. Den verbleibenden Rückstand löst man in dem Gemisch aus Methanol und Tetrahydrofuran (Ultraschall) und füllt diese Lösung im Messkolben auf 10,0 mL auf. Diese Lösung wird gut gemischt, 5 Minuten bei 5 000 U/min (etwa 3 900 g) zentrifugiert, in Braunglas-V-Vials abgefüllt und zur HPCL-Analyse eingesetzt.

**HPCL**HPCL-Anlage

- Autosampler: AS-2000 (Merck, Darmstadt)
- Pumpe: HPLC-Pumpe L-6200 (Merck, Darmstadt)
- Säulenthermostat: CTO-10AC (Shimadzu, Duisburg)
- Detektor: Dioden Array L-4500 (Merck, Darmstadt)

HPCL-Bedingungen (für Tomaten und Tomatenprodukte)

- Säule: C<sub>30</sub> Analysensäule Vertex YMC Carotinoid S-5  $\mu\text{m}$  / 250 x 4,6 mm (YMC Europe, Schermbeck)
- Vorsäule: C<sub>18</sub> ProntoSil 120-5-C18 H 5  $\mu\text{m}$  / 10 x 4,0 mm (Bischoff, Leonberg)
- Injektionsvolumen: 100  $\mu\text{L}$
- Mobile Phase: Gradientenprogramm siehe folgende Tabelle

**Tabelle A 5:** HPCL-Gradient für Tomatenproben

Zeit [min]	Methanol [%]	MTBE [%]	Flussrate [ $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ]
0	90	10	1,3
55	45	55	1,3
60	45	55	1,3
70	90	10	1,3

- Säulentemperatur:  $23 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Detektionswellenlänge: 450 nm

HPLC-Bedingungen (für Stabilitätsversuche, Hagebuttenproben)

- Säule: C<sub>30</sub> Analysensäule Trentec 5 µm / 250 x 4,6 mm (Trentec, Gerlingen)
- Vorsäule: C<sub>18</sub> ProntoSil 120-5-C18 H 5 µm / 10 x 4,0 mm (Bischoff, Leonberg)
- Injektionsvolumen: 50 bzw. 100 µL
- Mobile Phase: Gradientenprogramm siehe folgende Tabelle

**Tabelle A 6:** HPLC-Gradient für Hagebuttenproben

Zeit [min]	Methanol [%]	MTBE [%]	Flussrate [mL*min <sup>-1</sup> ]
0	90	10	1,3
35	55	45	1,3
45	45	55	1,3
60	45	55	1,3
70	90	10	1,3

- Säulentemperatur: 17 ± 1 °C
- Detektionswellenlänge: 450 bzw. 470 nm

Carotinoidstandards:

Die Carotinoidstammlösungen werden für die Herstellung der Standardmischungen 1:10 bzw. 1:50 mit Methanol/MTBE (1+1, v/v) verdünnt. Die verwendeten Standardmischungen sind in der nachfolgenden Tabelle angegeben. Für die Untersuchung von Tomatenprodukten werden die Standards 1 bis 6 verwendet. Für die Untersuchung von Hagebuttenproben wird statt Standard 6 Standard 7 eingesetzt.

**Tabelle A 7:** Carotinoid-Standardmischungen

Standard	Carotinoide
1	( <i>all-E</i> )-Lutein, ( <i>all-E</i> )-Zeaxanthin, ( <i>all-E</i> )-Canthaxanthin, ( <i>all-E</i> )-β-Cryptoxanthin, β-apo-8'-Carotenal, (15Z)-β-Carotin, (13Z)-β-Carotin, ( <i>all-E</i> )-α-Carotin, ( <i>all-E</i> )-β-Carotin, (9Z)-β-Carotin, ( <i>all-E</i> )-Lycopin
2	( <i>all-E</i> )-Lutein, β-apo-8'-Carotinal, ( <i>all-E</i> )-β-Carotin
3	( <i>all-E</i> )-Zeaxanthin, (9Z)-β-Carotin, ( <i>all-E</i> )-α-Carotin
4	( <i>all-E</i> )-β-Cryptoxanthin, (15Z)-β-Carotin
5	( <i>all-E</i> )-Canthaxanthin, (13Z)-β-Carotin
6	( <i>all-E</i> )-Lycopin
7	( <i>all-E</i> )-Lycopin, ( <i>all-E</i> )-Rubixanthin

**I.V.II Tocopherole, Tocotrienole****Extraktion von Tocopherolen, Tocotrienolen aus Lebensmitteln**Geräte:

- Verschraubbare Zentrifugengläser SLV 16 (16 x 100 mm), mit Schraubdeckel und PTFE-beschichteter Gummidichtung (Pyrex, QVS Labortechnik, Ilmenau)
- Reagenzglasschüttler
- Zentrifuge Modell Universal 30 RF (Hettich, Tuttlingen)
- Zentrifuge Modell 5415 C (Eppendorf, Hamburg)
- Vakuum-Rotationsverdampfer Modell Rotavapor R-124 und Wasserbad B-480 (Büchi, Flawil, Schweiz) mit Vakuumpumpe (Vacuubrand, Wertheim)
- Ultraschallbad Modell Sonorex RK 100 (Bandelin, Berlin)
- Braunglas-V-Vials

Arbeitsweise:

Etwa 2 g Probenmaterial werden in verschraubbare Zentrifugengläser eingewogen, mit 1 mL Wasser versetzt und 30 Sekunden geschüttelt. Anschließend werden nacheinander 1 mL Ethanol, 1 mL MTBE und 1 mL Petrolether hinzugegeben. Nach jedem Zusatz wird 30 Sekunden lang geschüttelt. Zur Phasentrennung wird 5 Minuten bei 5 000 U/min zentrifugiert. Die organische Phase wird abgenommen und in einen Spitzkolben überführt. Die Extraktion mit 1 mL MTBE und 1 mL Petrolether wird zweimal wiederholt. Die vereinigten organischen Phasen werden unter Vakuum bei ca. 30 °C im Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wird mit 2 mL mobiler Phase (n-Hexan/MTBE, 96+4, v/v) versetzt und mittels Ultraschall gelöst. Die erhaltene Lösung wird 5 Minuten bei 14 000 U/min zentrifugiert und in Vials überführt.

**HPLC**Standards

- $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -Tocopherol: Calbiochem (Nr. 613424, Calbiochem, Darmstadt)
- $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -Tocotrienol: Calbiochem (Nr. 613432, Calbiochem, Darmstadt)

Standardlösungen werden täglich aus Tocopherol- und Tocotrienol-Stammlösungen (1 mg/mL in n-Hexan) durch Verdünnung (1:200 bis 1:5 000) mit n-Hexan hergestellt.

HPLC-Anlage

- Autosampler: AS-2000 (Merck, Darmstadt)
- Pumpe: HPLC-Pumpe L-6200 (Merck, Darmstadt)
- Säulenthermostat: L-5025 (Merck, Darmstadt)
- Detektor: Fluorescence-Detektor F1080 (Merck, Darmstadt)
- Integrator: C-R6A Chromatopac (Shimadzu, Duisburg)

HPLC-Bedingungen

- Säule: Eurospher 100 DIOL 7  $\mu$ m / 250 x 4,0 mm
- Injektionsvolumen: 100  $\mu$ L
- Mobile Phase: n-Hexan/MTBE (96+4, v/v)
- Flussrate: 1,5 mL/min
- Säulentemperatur: 50 °C
- Detektion: Fluoreszenz (Anregungswellenlänge: 292 nm, Emissionswellenlänge: 330 nm)
- Injektionsvolumen: 20  $\mu$ L

**I.V.III Vitamin C****Extraktion von Vitamin C aus Lebensmitteln**Geräte:

- Zentrifuge Modell Universal 30 RF (Hettich, Tuttlingen)
- Zentrifuge Modell 5415 C (Eppendorf, Hamburg)
- Reagenzglasschüttler

Reagenzien:

- meta-Phosphorsäure (4,5 %ig in Wasser)

Arbeitsweise:

Die Probe (200 mg bis 3 g) wird in verschraubbare Zentrifugenröhrchen eingewogen, mit 5 mL meta-Phosphorsäure versetzt, 30 Sekunden geschüttelt und zentrifugiert (5 min bei 5 000 U/min). Die Extraktion wird zweimal wiederholt. Die vereinigten Extrakte werden auf ein entsprechendes Volumen (5 - 20 mL) mit meta-Phosphorsäure aufgefüllt. Die Lösung wird in Reaktionsgefäße überführt und 5 Minuten bei 14 000 U/min zentrifugiert und photometrisch gemessen.

**Photometrische Messung**Geräte:

- Eisbad
- Thermoschüttler (Eppendorf, Hamburg)
- Spektralphotometer Modell S 750 (Secomam, Sarcelles, Frankreich)
- Kunststoffküvetten, halbmikro, 1 cm Schichtdicke

Reagenzien:

- 9 N Schwefelsäure: 3 Volumenteile dest. H<sub>2</sub>O + 1 Volumenteil konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> werden gemischt.
- 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Lösung: 220 mg 2,4-Dinitrophenylhydrazin werden in 10 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gelöst und filtriert.
- Trichloressigsäure (TCA): 5 g TCA werden in 100 mL dest. H<sub>2</sub>O gelöst (5 g/100 mL).
- Messschwefelsäure: Zu 100 mL Wasser werden 875 mL konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gegeben und auf 1 Liter mit destilliertem Wasser aufgefüllt.
- Thioharnstoff-Lösung (5 g/100 mL): 5 g Thioharnstoff werden in 20 mL dest. H<sub>2</sub>O gelöst und auf 100 mL aufgefüllt.
- Kupfersulfat-Lösung: 0,6 g CuSO<sub>4</sub> x 5 H<sub>2</sub>O werden in 100 mL destilliertem Wasser gelöst.
- DNP-Reagenz: 1 Volumenteil Thioharnstoff-Lösung (0,1 mL), 1 Volumenteil CuSO<sub>4</sub>-Lösung (0,1 mL) und 20 Volumenteile Dinitrophenylhydrazin-Lösung (2 mL) werden gemischt.
- Ascorbinsäure-Stammlösung (1 mg/mL): 50 mg Ascorbinsäure werden in 50 mL TCA gelöst.
- Ascorbinsäure-Standardlösungen: 2, 6, 12, 20 µg/mL (täglich frisch herstellen).

Arbeitsweise:

Zu 300 µL TCA werden 200 µL Standardlösung (für Kalibrierung), Probe oder destilliertes Wasser (Blindwert) gegeben. Nach kurzem Mischen wird der Ansatz für 5 Minuten bei 12 000 U/min zentrifugiert. 300 µL des Überstandes werden abgenommen, mit 100 µL DNP-Reagenz versetzt und kräftig gemischt. Der Ansatz wird eine Stunde auf dem Thermoschüttler bei 60 °C temperiert. Nach 5 min Abkühlung im Eisbad wird 400 µL Messschwefelsäure zugegeben. Der Ansatz wird kräftig gemischt, 20 Minuten im Dunkeln stehen gelassen und photometrisch bei 520 nm gemessen. Alle Messungen werden mindestens als Doppelbestimmung durchgeführt.

**I.VI Humanstudien****I.VI.I Aufarbeitung der Blutproben**Geräte:

- Zentrifuge Modell Universal 30 RF (Hettich, Tuttlingen)

- Reaktionsgefäße 1,5 mL
- Reagenzglasschüttler

#### Arbeitsweise:

Die Entnahme der Blutproben erfolgte in der Regel nüchtern morgens zwischen 7 und 9 Uhr. Das Blut wird in Kalium-EDTA-beschichtete bzw. Lithium-Heparin-beschichtete Röhrchen entnommen und sorgfältig gemischt. Die Monovetten werden bei 5 000 U/min für 10 Minuten bei 5 °C zentrifugiert. Aliquote des Blutplasmas werden anschließend in Reaktionsgefäße abgefüllt und bis zur Analyse bei -80 °C gelagert. Für die Ascorbinsäure-Analytik werden die Plasmaproben vor dem Einfrieren mit Trichloressigsäure stabilisiert (200 µL Plasma + 300 µL Trichloressigsäure).

### **I.VI.II Carotinoide**

#### **Extraktion aus dem Plasma**

##### Geräte:

- Reaktionsgefäße
- Reagenzglasschüttler
- Zentrifuge Modell 5415 C (Eppendorf, Hamburg)
- 

##### Reagenzien:

- Interner Standard Echinenon
- n-Hexan mit 0,1 % BHT
- Methanol/MTBE (1+1, v/v)
- Stickstoff 4.6 (> 99,996%)
- Carotinoidstandards: siehe I.I.I

##### Arbeitsweise:

Alle Arbeitsschritte erfolgen ohne längere Standzeiten unter reduziertem Licht. Alle Probenaufarbeitungen werden mindestens als Doppelbestimmungen durchgeführt.

Zu je 500 µL Plasma werden 500 µL ethanolische Echinenonlösung (50 µL Echinenon-Stammlösung in 10 mL Ethanol) zugegeben und für 30 Sekunden auf dem Reagenzglasschüttler gemischt. Dann werden 250 µL Hexan zugegeben, 60 Sekunden geschüttelt und 2 Minuten mit 14 000 U/min (etwa 20 000 G) zentrifugiert. Die organische Phase wird in ein zweites Reaktionsgefäß gegeben. Die Extraktion mit 250 µL Hexan wird noch zweimal durchgeführt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Stickstoff bei  $30 \pm 1$  °C abgeblasen. Der Rückstand wird in 250 µL Methanol/MTBE (1+1, v/v) gelöst, 4 Minuten bei 14 000 U/min (etwa 3 900 g) zentrifugiert, in Braunglas-V-Vials abgefüllt und zur HPCL-Analyse eingesetzt.

### **HPLC**

#### HPLC-Anlage

Siehe I.V.I

#### HPLC-Bedingungen (Tomaten-Interventionsstudie)

- Säule: C<sub>30</sub> Analysensäule Vertex YMC Carotinoid S-5 µm / 250 x 4,6 mm (YMC Europe, Schermbeck)
- Vorsäule: C<sub>18</sub> ProntoSil 120-5-C18 H 5 µm / 10 x 4,0 mm (Bischoff, Leonberg)

- Injektionsvolumen: 100  $\mu\text{L}$
- Mobile Phase: Gradientenprogramm siehe folgende Tabelle

**Tabelle A 8:** HPLC-Gradient für Tomaten-Interventionsstudie

Zeit [min]	Methanol [%]	MTBE [%]	Flussrate [ $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ]
0	90	10	1,3
55	45	55	1,3
60	45	55	1,3
70	10	90	1,3

- Säulentemperatur:  $23 \pm 1$  °C
- Detektionswellenlänge: 450 nm
- Siehe Tabelle A 7: Standards 1 - 6 (Stammlösungen 1:100 mit Methanol/MTBE, 1+1, v/v verdünnt)

HPLC-Bedingungen (Raucher-Interventionsstudie)

- Säule: C<sub>30</sub> Analysensäule Vertex YMC Carotinoid S-5  $\mu\text{m}$  / 250 x 4,6 mm (YMC Europe, Schermbeck)
- Vorsäule: C<sub>18</sub> ProntoSil 120-5-C18 H 5  $\mu\text{m}$  / 10 x 4,0 mm (Bischoff, Leonberg)
- Injektionsvolumen: 100  $\mu\text{L}$
- Mobile Phase: Gradientenprogramm siehe folgende Tabelle

**Tabelle A 9:** HPLC-Gradient für Raucher-Interventionsstudie

Zeit [min]	Methanol [%]	MTBE [%]	Flussrate [ $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ]
0	90	10	0,9
25	60	40	0,9
35	45	55	0,9
50	45	55	0,9
60	10	90	0,9

- Säulentemperatur:  $23 \pm 1$  °C
- Detektionswellenlänge: 470 nm
- Siehe Tabelle A 7: Standards 1 - 6 (Stammlösungen 1:100 mit Methanol/MTBE, 1+1, v/v verdünnt)

HPLC-Bedingungen (für Hagebutten-Interventionsstudie I)

- Säule: C<sub>30</sub> Analysensäule Trentec 5  $\mu\text{m}$  / 250 x 4,6 mm (Trentec, Gerlingen)
- Vorsäule: C<sub>18</sub> ProntoSil 120-5-C18 H 5  $\mu\text{m}$  / 10 x 4,0 mm (Bischoff, Leonberg)
- Injektionsvolumen: 100  $\mu\text{L}$
- Mobile Phase: Gradientenprogramm siehe folgende Tabelle

**Tabelle A 10:** HPLC-Gradient für Hagebutten-Interventionsstudie I

Zeit [min]	Methanol [%]	MTBE [%]	Flussrate [ $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ]
0	90	10	1,3
35	55	45	1,3
45	45	55	1,3
60	45	55	1,3
70	90	10	1,3

- Säulentemperatur:  $17 \pm 1$  °C
- Detektionswellenlänge: 470 nm
- Siehe Tabelle A 7: Standards 1 - 5, 7 (Stammlösungen 1:100 mit Methanol/MTBE, 1+1, v/v verdünnt)

HPLC-Bedingungen (für Kinetikstudie und Raucher-Interventionsstudie)

- Säule: Analysensäule Vertex YMC Carotinoid S-3  $\mu\text{m}$  / 150 x 4,6 mm (YMC Europe, Schermbeck)
- Vorsäule: C<sub>18</sub> ProntoSil 120-5-C18 H 5  $\mu\text{m}$  / 10 x 4,0 mm (Bischoff, Leonberg)
- Injektionsvolumen: 100  $\mu\text{L}$
- Mobile Phase: Gradientenprogramm siehe folgende Tabelle

**Tabelle A 11:** HPLC-Gradient für Kinetikstudien

Zeit [min]	Methanol [%]	MTBE [%]	Flussrate [ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ]
0	90	10	0,9
25	60	40	0,9
35	45	55	0,9
50	45	55	0,9
55	90	10	0,9
60	90	10	0,9

- Säulentemperatur:  $23 \pm 1$  °C
- Detektionswellenlänge: 470 nm
- Siehe Tabelle A 7: Standards 1-6 (Stammlösungen 1:100 mit Methanol/MTBE, 1+1, v/v verdünnt)

**I.VI.III Tocopherole, Tocotrienole****Extraktion aus dem Plasma**Geräte:

- Reagenzglasschüttler
- Zentrifuge Modell 5415 C (Eppendorf, Hamburg)

Reagenzien:

- Ethanol mit 0,1 % BHT
- Stickstoff 4.6 (> 99,996%)

Arbeitsweise:

500  $\mu\text{L}$  Plasma werden mit 400  $\mu\text{L}$  Ethanol (enthält 0,1% BHT) 30 Sekunden geschüttelt, mit 400  $\mu\text{L}$  n-Hexan versetzt, für eine Minute kräftig geschüttelt und 4 Minuten bei 14 000 U/min zentrifugiert. Die obere, organische Phase wird in ein zweites Reaktionsgefäß überführt. Die Extraktion mit 400  $\mu\text{L}$  n-Hexan wird noch zweimal wiederholt und die vereinigten Hexanphasen werden dann unter Stickstoff bei  $30 \pm 1$  °C getrocknet. Der Rückstand wird in 1 mL mobiler Phase (n-Hexan/MTBE, 96+4, v/v) gelöst, geschüttelt, zentrifugiert (14 000 U/min, 4 min) und der HPLC-Analyse zugeführt.

**HPLC**HPLC-Anlage

Siehe I.V.II

HPLC-Bedingungen

Siehe I.V.II

**I.VI.IV Vitamin C**Geräte:

- Siehe I.V.III

Reagenzien:

- Siehe I.V.III

Arbeitsweise:

- Siehe I.V.III

Das Plasma wird vor dem Einfrieren mit Trichloressigsäure stabilisiert (siehe I.VI.I).

### **I.VI.V Triglyceride**

Geräte:

- Reagenzglasschüttler
- Spektralphotometer Modell S 750 (Secomam, Sarcelles, Frankreich)
- Kunststoffküvetten, halbmikro, 1 cm Schichtdicke

Reagenzien:

- Reagenzienlösung zur Bestimmung der Triglyceride im Plasma (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim)

Arbeitsweise:

1 mL Reagenzienlösung wird mit 10  $\mu$ L Plasma (Probe) bzw. 10  $\mu$ L destilliertem Wasser (Blindwert) gemischt, 5 min bei 37 °C inkubiert und dann innerhalb von 30 Minuten photometrisch (Probe gegen Blindwert) bei 546 nm gemessen. Die Triglycerid-Konzentration wird nach folgender Formel ermittelt:

$$c \text{ [mg/dL]} = 1496 * E_{\text{Probe}} \quad (1496 = c_{\text{Standard}}/E_{\text{Standard}})$$

### **I.VI.VI Oxidiertes bzw. reduziertes Glutathion**

Geräte:

- Homogenisator (B. Braun Melsungen AG, Melsungen)
- Teflonkolben (B. Braun Melsungen AG, Melsungen)
- Kühlzentrifuge 5403 (Eppendorf, Hamburg)
- Einwegküvetten, Schichtdicke 1 cm
- Spektralphotometer Modell Spekol 1 100 (Carl Zeiss, Jena)

Reagenzien:

- GSH: reduziertes Glutathion (Serva Feinbiochemica, Heidelberg)
- GSSG: oxidiertes Glutathion (Sigma-Aldrich, Taufkirchen)
- Puffer A: 8,9 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 * 2 \text{H}_2\text{O}$  werden in 500 mL bidestilliertem Wasser gelöst. 0,93 g EDTA und 0,69 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  werden unter Rühren in 50 mL bidestilliertem Wasser gelöst. Beide Lösungen werden vereinigt und soviel EDTA zugegeben bis ein pH-Wert von 8,0 erreicht ist.
- Puffer B: 35,6 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  in 1000 mL bidestilliertem Wasser lösen. 1,86 g EDTA und 2,76 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  werden unter Rühren in 100 mL bidestilliertem Wasser gelöst. Beide Lösungen werden vereinigt und soviel EDTA zugegeben bis ein pH-Wert von 8,0 erreicht ist.
- Meta-Phosphorsäure (25 %, w/w)

- Ellmanreagenz (0,01 M): 5,5'-Dithio-bis(2-nitrobenzoesäure) (Fluka Chemical AG, Buchs, Schweiz) wird in Puffer A gelöst.
- Puffer-Säure-Gemisch: 0,9 % NaCl-Lösung, 25 %ige meta-Phosphorsäure und Puffer B werden gemischt (1+4+11, v/v/v).
- GSH-GSSG-Stammlösung: 26 mg GSH und 5 mg GSSG werden in 50 mL Puffer-Säure-Gemisch gelöst.
- 0,1 N NaOH-Lösung
- N-Ethylmaleinimid (Merck, Darmstadt)
- o-Phtaldialdehyd (Fluka Chemical AG, Buchs, Schweiz)

#### Arbeitsweise:

Für die Bestimmung wird Vollblut (Lithium-Heparin-beschichtete Monovetten) verwendet. 1 mL Blut wird mit 1 mL Puffer B mittels eines Homogenisators in Teflonkolben homogenisiert. Ab diesem Zeitpunkt werden die Proben stets im Eisbad gekühlt. 0,2 mL des Homogenisats werden zu 1 mL Puffer B und 0,4 mL meta-Phosphorsäure gegeben, gemischt und bei 0 °C für 30 Minuten mit 12 000 g zentrifugiert. Der Überstand wird für die Bestimmung des Glutathiongehaltes in oxidiert und reduzierter Form eingesetzt. Für beide Analysen wird dieselbe Stammlösung zur Kalibrierung verwendet, welche mit dem Puffer-Säure-Gemisch wie folgt verdünnt wird:

- für GSH-Bestimmung: 50, 100, 150, 200, 250 µg GSH/mL
- für GSSG-Bestimmung: 5, 10, 15, 20, 25 µg GSSG/mL

Bei beiden Analysen wird als Blindwert das Puffer-Säure-Gemisch verwendet.

Für die GSH-Bestimmung werden 0,2 mL Probenüberstand (auf Eis) mit 0,7 mL Puffer B und 0,1 mL Ellmanreagenz versetzt, geschüttelt und mit 6 100 g für 5 Minuten zentrifugiert. Von der Kalibrierlösung werden jeweils 0,1 mL mit 0,8 mL Puffer B und 0,1 mL Ellmanreagens versetzt und ebenso behandelt. Die Messung erfolgt nach Überführung der Überstände in Küvetten bei 412 nm gegen den Blindwert.

Für die GSSG-Bestimmung werden von den Probenüberständen und den Kalibrierlösungen jeweils 0,5 mL mit 0,2 mL N-Ethylmaleinimid versetzt und 30 Minuten im Eisbad inkubiert. Nach der Zugabe von 2,3 mL NaOH-Lösung werden zu 1 mL des Gemisches 1,8 mL NaOH-Lösung und 0,2 mL o-Phtaldialdehyd zugegeben und nach Mischung und 15 Minuten Inkubationszeit fluorimetrisch (Anregung 350 nm, Messung 430 nm) gemessen.

Die Berechnungen der GSH- bzw. GSSG-Gehalte erfolgen nach folgenden Gleichungen:

$$c_{\text{GSH}} [\mu\text{mol/L Vollblut}] = ((\Delta E - O_{\text{KK}}) / A_{\text{KK}}) * F_{\text{V}}$$

$$c_{\text{GSSG}} [\mu\text{mol/L Vollblut}] = ((\Delta I - O_{\text{KK}}) / A_{\text{KK}}) * F_{\text{V}}$$

mit:

$\Delta E$  = Extinktion Probe – Extinktion Leerwert

$\Delta I$  = Emission Probe – Emission Leerwert

$O_{\text{KK}}$  = Ordinatenschnittpunkt der Kalibriergeraden

$A_{\text{KK}}$  = Anstieg der Kalibrierkurve

$F_{\text{V}}$  = Verdünnungsfaktor

#### **I.VI.VII Lipidperoxidationsprodukte (TBARS)**

##### Geräte:

- Zentrifuge: Megafuge 10 (Heraeus Instruments, Hanau)

- Wasserbad
- Spektrofluorometer RF-1502 (Shimadzu, Kyoto, Japan)

#### Reagenzien:

- physiologische Kochsalzlösung (0,9%ige wässrige NaCl-Lösung)
- $\frac{1}{12}$  N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung
- 10%ige wässrige Phosphorwolframsäure
- Tetramethoxypropan-Stammlösung (0,25 mmol/L): 1,1,3,3-Tetramethoxypropan (Sigma-Aldrich, Taufkirchen) wird in bidestilliertem Wasser gelöst.
- Thiobarbitursäurereagenz:  
0,67 %ige (w/w) Thiobarbitursäurelösung: Thiobarbitursäure in einer Mischung aus bidestilliertem Wasser und Eisessig (1+1, v/v)
- n-Butanol

#### Arbeitsweise:

0,1 mL Vollblut und 1,0 mL physiologische Kochsalzlösung werden gemischt und bis zur weiteren Verwendung im Eisbad gekühlt. 0,5 mL dieser Lösung werden in einem Zentrifugenglas in eine Mischung aus 4,0 mL  $\frac{1}{12}$  N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung und 0,5 mL 10%ige Phosphorwolframsäure gegeben und kräftig geschüttelt. Die Mischung wird fünf Minuten im Eisbad stehen gelassen und dann zentrifugiert (5 min, 6 100 g). Der Überstand wird verworfen und ein weiterer Waschschritt durchgeführt. Hierzu wird der im Zentrifugenglas verbliebene Rückstand nach Zugabe von 2,0 mL  $\frac{1}{12}$  N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung und 0,3 mL 10%iger Phosphorwolframsäure mit Hilfe eines Glasstabes resuspendiert und erneut fünf Minuten mit 6 100 g zentrifugiert. Der Zentrifugierückstand wird in 4 mL bidestilliertem Wasser resuspendiert.

Parallel dazu wird eine Standardreihe angesetzt. Aus der Tetramethoxypropan-Stammlösung (0,25 mmol/L) wird täglich durch Verdünnung auf 5 µmol/L die Arbeitslösung hergestellt. Durch Verdünnung der Arbeitslösung werden jeweils 4 mL Standardlösung mit den Konzentrationen: 0,125/0,25/0,50/0,75/1,00 nmol/Ansatz hergestellt. Der Blindwert wird mit bidestilliertem Wasser angesetzt.

Zu den Proben, Standards und dem Blindwert werden jeweils 1,0 mL Thiobarbitursäurereagenz gegeben und im Wasserbad mit aufliegendem, aber nicht verschlossenem Deckel bei 95 °C eine Stunde erhitzt. Anschließend werden die Ansätze fünf Minuten im Eisbad gekühlt, mit 5,0 mL n-Butanol versetzt und kräftig geschüttelt. Nach erneuter Zentrifugation (15 min, 3 600 g) wird die obere Butanol-Phase entnommen und über einen Saugschlauch dem Spektrofluorometer zugeführt und bestimmt. Die Anregungswellenlänge beträgt 515 nm und die Emissionswellenlänge 553 nm.

Die Berechnung der Gehalte an Lipidperoxidationsprodukten (TBARS) erfolgt nach folgender Gleichung:

$$c_{\text{TBARS}} [\mu\text{mol/L Vollblut}] = ((\Delta I - O_{\text{KK}}) / A_{\text{KK}}) * F_{\text{V}}$$

mit:

$\Delta I$  = Emission Probe – Emission Leerwert

$O_{\text{KK}}$  = Ordinatenschnittpunkt der Kalibriergeraden

$A_{\text{KK}}$  = Anstieg der Kalibriergeraden

$F_{\text{V}}$  = Verdünnungsfaktor

## **I.VII Statistische Analyse**

Die Berechnungen der Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (s) wurden mit Excel für Windows XP durchgeführt. Die statistischen Berechnungen erfolgten mit SPSS für Windows 10.7, Juni 2000, SPSS Inc., Chicago, USA. Das Signifikanzniveau wurde auf  $p < 0,05$  festgelegt. Der jeweils angewandte Test zur statistischen Berechnung ist bei den Tabellen und Abbildungen angegeben.

## II ANALYSENDATEN

### zu Kapitel 4.1.1: Untersuchungen zu Isomerisierung und Stabilität von Lycopin

**Tabelle A 12:** Relative Anteile<sup>1</sup> [%] der bekannten Lycopinisomere sowie anderer Lycopinmetabolite in Iod-Photo-isomerisierten Lycopingemischen an unterschiedlichen Isomerisierungstagen

Tag	Lycopin-isomere <sup>2</sup>	Andere Lycopinmetabolite <sup>3</sup>	Tag	Lycopin-isomere <sup>2</sup>	Andere Lycopinmetabolite <sup>3</sup>
1	66,6	33,4	9	48,5	51,5
2	84,6	15,4	10	69,2	30,8
3	65,8	34,2	11	51,2	48,8
4	31,5	68,5	12	55,4	44,6
5	89,9	10,1	13	54,7	45,3
6	84,3	15,7	14	84,2	15,8
7	72,8	27,2	15	71,3	28,7
8	78,2	21,8			
<b>Min – Max</b>	31,5 – 89,9	10,1 – 68,5			
<b><math>\bar{x}</math></b>	69,3	30,7			
<b>s</b>	13,2	13,2			

<sup>1</sup> Summe aller detektierten Flächeneinheiten entsprechen 100 %

<sup>2</sup> Summe von (*all-E*), (*13Z/15Z*), (*5Z,9'Z*), (*9Z*), (*5Z,9Z*), (*5(Z)*)

<sup>3</sup> alle detektierbaren Flächen mit Ausnahme von (*all-E*), (*13Z/15Z*), (*5Z,9'Z*), (*9Z*), (*5Z,9Z*), (*5(Z)*)

**Tabelle A 13:** Relative Anteile<sup>1</sup> [%] der bekannten Lycopinisomere in Iod-Photo-isomerisierten Lycopingemischen an unterschiedlichen Isomerisierungstagen

Tag	<i>(all-E)</i> <sup>2</sup>		<i>(13Z/15Z)</i> <sup>2</sup>		<i>(5Z,9'Z)+(9Z)+ (5Z,9Z)</i> <sup>2</sup>		<i>(5Z)</i> <sup>2</sup>	
	%		%		%		%	
1	16,8	1,0	19,3	1,2	30,6	1,8	33,3	2,0
2	18,8	1,0	20,7	1,1	27,4	1,5	33,1	1,8
3	21,2	1,0	17,3	0,8	29,1	1,4	32,4	1,5
4	22,2	1,0	15,8	0,5	27,2	1,5	34,8	1,1
5	29,1	1,0	18,6	0,6	29,2	1,0	23,1	0,8
6	24,3	1,0	17,0	0,7	27,5	1,1	31,2	1,3
7	16,7	1,0	19,4	1,2	30,6	1,8	33,3	2,0
8	19,1	1,0	20,8	1,1	29,0	1,5	31,1	1,6
9	20,0	1,0	19,1	1,0	28,3	1,4	32,6	1,7
10	20,1	1,0	19,4	1,0	28,1	1,4	32,4	1,6
11	23,2	1,0	14,0	0,6	27,8	1,2	35,0	1,5
12	19,1	1,0	19,7	1,1	29,6	1,6	31,6	1,7
13	17,3	1,0	28,3	1,6	24,6	1,4	29,8	1,7
14	22,0	1,0	22,4	1,0	25,6	1,2	30,0	1,4
15	18,1	1,0	24,3	1,3	33,5	1,9	24,1	1,3
<b><math>\bar{x}</math></b>	20,5	1,0	19,7	1,0	28,5	1,5	31,3	1,5
<b>s</b>	3,3	0,0	3,5	0,3	2,1	0,4	3,4	0,3

<sup>1</sup> Summe der Flächeneinheiten von (*all-E*), (*13Z/15Z*), (*5Z,9'Z*), (*9Z*), (*5Z,9Z*), (*5(Z)*) entsprechen 100 %

<sup>2</sup> Zuordnung der Lycopinisomere bzw. der Verbindungsgruppen siehe Abbildung 13

**Tabelle A 14:** Flächeneinheiten der Isomerisierungsprodukte in Iod-isomerisierten Lycopingemischen in Abhängigkeit von der zugegebenen Iodmenge ( $\bar{x} \pm s$ )

Iodzugabe [%]	( <i>all-E</i> ) <sup>1</sup>	(13Z/15Z) <sup>1</sup>	(5Z,9'Z) + (9Z) + (5Z,9Z) <sup>1</sup>	(5Z) <sup>1</sup>	unbekannte Lycopinisomere <sup>1</sup>	Oxidations-Produkte <sup>1</sup>
0,0	31225270 ± 162635	2628230 ± 43374	nd	nd	339440 ± 1131	nd
0,05	16746998 ± 113137	2349057 ± 81	262757 ± 1902	nd	272496 ± 3533	149560 ± 5728
0,1	13299170 ± 21213	2500293 ± 2858	312854 ± 16744	nd	281187 ± 49	140701 ± 358
0,5	10980876 ± 8556	2467796 ± 5374	669124 ± 32	nd	323651 ± 276	163547 ± 66
1,0	10521104 ± 678811	2441306 ± 87	956600 ± 82	nd	382597 ± 4	220982 ± 283
2,0	9712738 ± 919239	2575106 ± 5869	1202439 ± 21	nd	449116 ± 5	273696 ± 19092
3,0	6611862 ± 254558	2947304 ± 206441	2302203 ± 129	5674660 ± 1344	839459 ± 27	618136 ± 23829
4,0	6467851 ± 104	3565498 ± 22627	2980796 ± 70711	6834705 ± 361	1389662 ± 28284	751560 ± 5728
5,0	6450836 ± 0	3780506 ± 129	3186735 ± 5	7191814 ± 2560	1410823 ± 2121	1341286 ± 240
6,0	6096952 ± 849	4066326 ± 91924	3278070 ± 72691	7325874 ± 36770	1459727 ± 55154	1872736 ± 141068
7,0	4995436 ± 70711	4124712 ± 283	3299198 ± 1131	7268280 ± 1838	1421565 ± 4617	3509713 ± 225
8,0	4544636 ± 16971	4029193 ± 247	3685381 ± 242	7257372 ± 2135	1348370 ± 7071	4457508 ± 282843
9,0	3667442 ± 0	3337586 ± 70711	3736824 ± 0	6213796 ± 4	1354726 ± 0	5730604 ± 0
10,0	2600786 ± 969	2598448 ± 42426	3403224 ± 7073	4285453 ± 3719	1443040 ± 54	6420260 ± 30406
15,0	1654154 ± 25495	1816000 ± 80681	2403538 ± 8132	2875606 ± 34486	1671032 ± 5711	8650038 ± 72408
20,0	1145632 ± 14001	1522366 ± 4950	2184878 ± 45184	2547222 ± 48790	1587422 ± 12587	8893474 ± 8485

<sup>1</sup> Zuordnung der Lycopinisomere bzw. der Verbindungsgruppen siehe Abbildung 14

**Tabelle A 15:** Flächeneinheiten der Isomerisierungsprodukte in Iod-Photo-isomerisierten Lycopingemischen in Abhängigkeit von der Bestrahlungsart und -dauer

Bestrahlungszeit	( <i>all-E</i> ) <sup>1</sup>	(13Z/15Z) <sup>1</sup>	(5Z,9'Z) + (9Z) + (5Z,9Z) <sup>1</sup>	(5Z) <sup>1</sup>	Unbekannte Isomere <sup>1</sup>	Oxidationsprodukte <sup>1</sup>
Ausgangslösung	19486950 ± 533866	1101225 ± 5657	nd	nd	1260 ± 11	nd
0 sec	2025801 ± 115342	1546818 ± 35495	1363738 ± 93978	3976326 ± 683868	390466 ± 14496	200534 ± 0125
5 sec UV <sup>2</sup>	2055142 ± 200	1637820 ± 16971	1583734 ± 23284	4060965 ± 53033	516766 ± 22622	253753 ± 5515
30 sec UV <sup>2</sup>	2011582 ± 141421	1668423 ± 82821	1611561 ± 77743	4056497 ± 203244	541468 ± 24613	250521 ± 3323
1 min UV <sup>2</sup>	2021880 ± 70721	1900516 ± 14146	2009523 ± 21213	4177250 ± 89803	777584 ± 10605	283750 ± 18031
5 min UV <sup>2</sup>	1557348 ± 2475	1725220 ± 210	2316931 ± 670	3451124 ± 133649	994272 ± 91924	354505 ± 14213
10 min UV <sup>2</sup>	1297822 ± 3076	1539885 ± 22627	2079680 ± 98995	2924759 ± 45252	993416 ± 8490	434402 ± 3224
15 min UV <sup>2</sup>	1085464 ± 21920	1393252 ± 70778	1755478 ± 148491	2301169 ± 94045	985339 ± 17041	479899 ± 3002
5 sec Labor <sup>3</sup>	1939980 ± 1131	1876929 ± 15556	2406548 ± 12021	3796798 ± 6614	1464691 ± 436	586748 ± 17324
5 min Labor <sup>3</sup>	1723009 ± 9829	2224402 ± 29698	2935009 ± 162635	4085117 ± 141421	1535302 ± 126572	686934 ± 28284
15 min Labor <sup>3</sup>	1629925 ± 21198	2171648 ± 2330	2719252 ± 70690	3708246 ± 87731	1559121 ± 73539	681306 ± 95463

<sup>1</sup> Zuordnung der Lycopinisomere bzw. der Verbindungsgruppen, siehe Abbildung 13; <sup>2</sup> Bestrahlung durch UV-Lampe, siehe I.II.IV <sup>3</sup> Bestrahlung durch Laborbeleuchtung

**Tabelle A 16:** Flächeneinheiten (FE) und relative Anteile<sup>1</sup> [%] von (*all-E*)-Lycopin und (*Z*)-Lycopin-isomeren im Lycopinstandard in Abhängigkeit von der Standzeit [h] im Autosampler ( $\bar{x} \pm s$ )

Standzeit im Autosampler	( <i>Gesamt</i> )-Lycopin FE	( <i>all-E</i> )-Lycopin FE (%)	( <i>Z</i> )-Lycopin FE (%)
1 h	85214 ± 1539	75926 ± 1238 (89,1)	9288 ± 301 (10,7)
2 h	88230 ± 1912	78348 ± 1654 (88,8)	9882 ± 258 (11,2)
3 h	85762 ± 5820	76414 ± 5321 (89,1)	9348 ± 499 (10,9)
4 h	86595 ± 3714	79408 ± 3564 (91,7)	7187 ± 550 (9,3)
5 h	90758 ± 2579	80321 ± 2123 (88,5)	10437 ± 465 (11,5)
6 h	90348 ± 3219	80590 ± 2956 (89,2)	9758 ± 263 (10,8)
7 h	94014 ± 3431	80852 ± 3261 (86,0)	13162 ± 770 (14,0)
8 h	93062 ± 1913	81429 ± 1369 (87,5)	11633 ± 544 (12,5)
9 h	93825 ± 2981	80877 ± 2564 (86,2)	12948 ± 417 (13,8)
10 h	92708 ± 4441	81398 ± 4265 (87,8)	11310 ± 176 (12,2)
11 h	87760 ± 3871	79686 ± 3265 (90,8)	8074 ± 606 (9,2)
12 h	90992 ± 4412	81074 ± 3986 (89,1)	9918 ± 426 (10,9)
13 h	90008 ± 8001	78307 ± 7786 (87,0)	11701 ± 215 (13,0)
14 h	87311 ± 1298	77270 ± 1063 (88,5)	10041 ± 335 (11,5)
15 h	91719 ± 1668	80804 ± 1498 (88,1)	10915 ± 170 (11,9)
16 h	90726 ± 2221	81018 ± 1789 (89,3)	9708 ± 432 (10,7)
17 h	95728 ± 2632	83188 ± 2100 (86,9)	12540 ± 532 (13,1)
18 h	89599 ± 1992	78041 ± 1698 (87,1)	11558 ± 294 (12,9)
19 h	90579 ± 3001	81521 ± 2654 (90,0)	9058 ± 347 (10,0)
20 h	91108 ± 1668	82453 ± 1235 (90,5)	8565 ± 433 (9,5)
21 h	89803 ± 2871	80284 ± 2487 (89,4)	9519 ± 384 (10,6)
22 h	90030 ± 2998	81838 ± 2678 (90,9)	8192 ± 620 (9,1)
23 h	94246 ± 3400	82465 ± 3121 (87,5)	11781 ± 279 (12,5)
24 h	88243 ± 1999	76595 ± 1691 (86,8)	11648 ± 308 (13,2)

<sup>1</sup> Summe aller detektierten Flächeneinheiten entsprechen 100 %

## zu Kapitel 4.1.2: Charakterisierung von Lycopinisomeren

**Tabelle A 17:** Absorptionsmaxima [nm] und Q-Verhältnisse der isolierten Lycopinisomere in verschiedenen organischen Lösungsmitteln

Lycopinisomer	Absorptionmaxima <sup>1</sup> [Q] <sup>2</sup>	
	Hexan	MTBE
( <i>all-E</i> )	295; 363; 444; (470); 502 [0,09]	292; 360; 444; (470); 501 [0,16]
( <i>13Z/15Z</i> )	294; 344; 358; 437; (463); 495 [0,51]	297; 344; 359; 438; (465); 495 [0,53]
( <i>5Z,9'Z</i> )	294; 360; 438; (463); 495 [0,20]	296; 360; 440; (464); 495 [0,21]
( <i>9Z</i> )	295; 361; 438; (464); 494 [0,18]	296; 360; 440; (465); 496 [0,19]
( <i>5Z,9Z</i> )	296; 361; 438; (463); 496 [0,17]	296; 361; 440; (464); 497 [0,17]
( <i>5Z</i> )	295; 360; 443; (470); 502 [0,09]	295; 360; 443; (470); 500 [0,10]
	THF	Methanol
( <i>all-E</i> )	295; 363; 443; (469); 502 [0,15]	295; 363; 441; (468); 501 [0,17]
( <i>13Z/15Z</i> )	293; 343; 358; 435; (463); 494 [0,56]	293; 343; 358; 435; (462); 493 [0,51]
( <i>5Z,9'Z</i> )	295; 360; 439; (465); 495 [0,22]	295; 360; 436; (464); 495 [0,20]
( <i>9Z</i> )	294; 361; 463; (466); 494 [0,16]	295; 360; 463; (463); 494 [0,18]
( <i>5Z,9Z</i> )	294; 360; 438; (464); 497 [0,19]	294; 361; 438; (464); 494 [0,19]
( <i>5Z</i> )	294; 360; 442; (470); 501 [0,10]	293; 360; 442; (468); 499 [0,10]

	<b>Ethanol</b>	<b>Aceton</b>
<i>(all-E)</i>	295; 363; 445; (470); 503 [0,17]	nd; 361; 445; (471); 505 [0,13]
<i>(13Z/15Z)</i>	293; 343; 358; 437; (464); 495 [0,52]	nd; 345; 359; 438; (465); 497 [0,54]
<i>(5Z,9'Z)</i>	294; 360; 441; (466); 497 [0,21]	nd; 360; 440; (466); 499 [0,25]
<i>(9Z)</i>	293; 360; 441; (466); 497 [0,19]	nd; 361; 440; (465); 499 [0,14]
<i>(5Z,9Z)</i>	295; 360; 441; (467); 498 [0,21]	nd; 360; 440; (465); 499 [0,15]
<i>(5Z)</i>	295; 362; 445; (470); 503 [0,12]	nd; 362; 445; (471); 505 [0,08]

	<b>Petrolether</b>	<b>Dichlormethan</b>
<i>(all-E)</i>	295; 361; 442; (469); 500 [0,11]	nd; 369; 454; (481); 514 [0,10]
<i>(13Z/15Z)</i>	291; 342; 356; 436; (461); 495 [0,54]	293; 343; 358; 437; (464); 495 [0,52]
<i>(5Z,9'Z)</i>	294; 360; 437; (463); 495 [0,19]	nd; 367; 450; (476); 508 [0,28]
<i>(9Z)</i>	294; 360; 437; (462); 495 [0,19]	nd; 368; 451; (475); 509 [0,29]
<i>(5Z,9Z)</i>	294; 361; 438; (463); 495 [0,17]	nd; 367; 450; (475); 508 [0,14]
<i>(5Z)</i>	295; 361; 441; (469); 500 [0,10]	nd; 367; 454; (481); 514 [0,10]

<sup>1</sup> Werte in Klammern zeigen das Hauptabsorptionsmaximum

<sup>2</sup> Verhältnisse der Absorptionsintensität des "cis-Peak" (360 - 369 nm) zu der Absorptionsintensität des Hauptabsorptionsmaximums (462 - 481 nm)

**Tabelle A 18:** <sup>1</sup>H-NMR-Daten der isolierten Lycopinisomere (CDCl<sub>3</sub>, ref = 7.27 ppm; T = 25°C; 500 MHz)

	<sup>1</sup> H NMR δ [ppm], <i>mult</i> , <i>J</i> [Hz] <sup>a</sup> ; ov = Überlappung, <i>s</i> = Singulett, <i>d</i> = Dublett, <i>t</i> = Triplet				
	<i>(5Z,9'Z)</i>	<i>(9Z)</i>	<i>(5Z,9Z)</i>	<i>(all-E)</i>	<i>(5Z)</i>
2	5,16; <i>bt</i> ; 7,2	5,13; ov	5,16; <i>bt</i> ; 7,2	5,12; <i>bt</i> ; 6,8	5,16; <i>bt</i> ; 7,2
2'	5,13; <i>bt</i> ; 6,8	5,12; ov	5,12; <i>bt</i> ; 6,8		5,12; <i>bt</i> ; 7,0
3 (2H)	2,12; ov	2,14; ov	2,14; ov	2,13; ov	2,14; ov
3' (2H)	2,14; ov	2,13; ov	2,13; ov		2,13; ov
4 (2H)	2,23; <i>t</i> ; 7,2	2,13; ov	2,24; <i>bt</i> ; 7,4	2,13; ov	2,24; <i>bt</i> ; 7,4
4' (2H)	2,14; ov	2,13; ov	2,13; ov		2,13; ov
6	5,95; <i>d</i> ; 11,4	6,04; <i>d</i> ; 10,9	6,03; <i>d</i> ; 10,7	5,96; <i>d</i> ; 10,9	5,95; <i>d</i> ; 10,9
6'	6,04; <i>d</i> ; 11,1	5,96; <i>d</i> ; 10,9	5,96; <i>d</i> ; 10,8		5,96; <i>d</i> ; 10,9
7	6,50; <i>dd</i> ; 11,2; 15,1	6,52; <i>dd</i> ; 10,9; 15,0	6,52; <i>dd</i> ; 11,1; 14,9	6,50; <i>dd</i> ; 10,9; 15,1	6,50; <i>dd</i> ; 11,0; 15,1
7'	6,52; <i>dd</i> ; 10,9; 14,9	6,50; <i>dd</i> ; 10,9; 15,1	6,50; <i>dd</i> ; 10,8; 15,1		6,50; <i>dd</i> ; 11,0; 15,1
8	6,23; <i>d</i> ; 15,1	6,80; <i>d</i> ; 15,1	6,77; <i>d</i> ; 14,9	6,26; <i>d</i> ; 15,0	6,26; <i>d</i> ; 15,0
8'	6,80; <i>d</i> ; 15,0	6,26; <i>d</i> ; 15,1	6,26; <i>d</i> ; 15,0		6,26; <i>d</i> ; 15,0
10	6,19; <i>d</i> ; 11,5	6,05; <i>d</i> ; 11,6	6,05; <i>d</i> ; 11,6	6,19; <i>d</i> ; 11,4	6,19; <i>d</i> ; 11,3
10'	6,05; <i>d</i> ; 11,5	6,19; <i>d</i> ; 11,5	6,19; <i>d</i> ; 11,5		6,19; <i>d</i> ; 11,3
11	6,64; ov	6,81; <i>dd</i> ; 11,6; 14,9	6,80; <i>dd</i> ; 11,5; 14,9	6,64; ov	6,64; ov
11'	6,81; <i>dd</i> ; 11,4; 14,9	6,64; ov	6,64; ov		6,64; ov
12	6,36; <i>d</i> ; 14,9	6,29; <i>d</i> ; 15,0	6,29; <i>d</i> ; 15,1	6,36; <i>d</i> ; 14,9	6,36; <i>d</i> ; 14,9
12'	6,29; <i>d</i> ; 14,9	6,36; <i>d</i> ; 14,9	6,36; <i>d</i> ; 15,0		6,36; <i>d</i> ; 14,9
14	6,26; ov	6,26; ov	6,26; ov	6,26; ov	6,26; ov
14'	6,26; ov	6,26; ov	6,26; ov		6,26; ov

15	6,63; ov	6,64; ov	6,64; ov		6,64; ov
				6,64; ov	
15'	6,63; ov	6,64; ov	6,64; ov		6,64; ov
16 (3H)	1,696; s	1,702; s	1,696; ov		1,697; ov
				1,698; s	
16' (3H)	1,703; s	1,696; s	1,696; ov		1,697; ov
17 (3H)	1,632; s	1,632; s	1,633; s		1,635; s
				1,624; s	
17' (3H)	1,632; s	1,623; s	1,624; s		1,624; s
18 (3H)	1,836; s	1,836; s	1,853; s		1,836; s
				1,829; s	
18' (3H)	1,836; s	1,828; s	1,829; s		1,829; s
19 (3H)	1,962; s	1,977; ov	1,965; s		1,963 <sup>b</sup>
				1,979; ov	
19' (3H)	1,977; s	1,977; ov	1,977; ov		1,979 <sup>b</sup> ;ov
20 (3H)	1,977; s	1,989; s	1,984; s		1,979; ov
				1,979; ov	
20' (3H)	1,989; s	1,977; ov	1,977; ov		1,979; ov

<sup>a</sup> Beobachtete Kopplungskontanten ( $J$ ) wurden nicht gemittelt. Die Zuordnungen wurden mit Hilfe der 2D-Spektren (gCOSY-, TOCSY- und TROESY) vorgenommen.

<sup>b</sup> Zuordnungen wurden eventuell vertauscht.

### zu Kapitel 4.1.3: Untersuchungen zur antioxidativen Aktivität von Lycopinisomeren

**Tabelle A 19:** Antioxidative Aktivitäten ( $\bar{x} \pm s$ ) sowie relative antioxidative Potentiale ausgewählter Lycopinisomere in TEAC- und PCL-Test, Werte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ , einfaktorielle ANOVA, Tukey-HSD)

	TEAC		PCL	
	Antioxidative Aktivität	Relative antioxidative Aktivität	Antioxidative Aktivität	Relative antioxidative Aktivität
( <i>all-E</i> )	3,84 ± 0,92	1,0	0,21 ± 0,08	1,0
(5 <i>Z</i> )	4,17 ± 0,22	1,1	0,80 ± 0,57	3,7
(5 <i>Z</i> ,9 <i>Z</i> )	5,00 ± 0,27	1,3	1,56 ± 0,92	7,3
(5 <i>Z</i> ,9' <i>Z</i> )	5,70 ± 1,00	1,5	2,96 ± 1,30	13,8
(9 <i>Z</i> )	4,91 ± 0,51	1,3	2,15 ± 1,08	10,0
(13 <i>Z</i> /15 <i>Z</i> )	5,88 ± 1,29	1,5	0,57 ± 0,15	2,7

### zu Kapitel 4.2.4: Tomaten und Tomatenprodukte

**Tabelle A 20:** Gehalte [mg/100 g FM] an Vitamin C und Carotinoiden in Tomaten- und Tomatenprodukten ( $\bar{x} \pm s$ ), Werte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant innerhalb eines Parameters und einer Produktgruppe ( $p < 0,05$ , einfaktorielle ANOVA, Tukey-HSD)

	Vitamin C [mg/100 g]	( <i>Gesamt</i> )-Lyc. <sup>1</sup> [mg/100 g]	( <i>all-E</i> )-Lyc. [mg/100 g]	$\Sigma$ ( <i>Z</i> )-Lyc. <sup>2</sup> [mg/100 g]	( <i>Gesamt</i> )- $\beta$ -Car. [mg/100 g]
<b>Tomaten</b>					
1	41,5 ± 1,4 <sup>f</sup>	6,66 ± 0,21 <sup>b</sup>	6,20 ± 0,31	0,45 ± 0,10	1,84 ± 0,02 <sup>e</sup>
2	35,5 ± 0,1 <sup>c</sup>	8,74 ± 0,18 <sup>c</sup>	8,38 ± 0,19	0,37 ± 0,01	1,33 ± 0,04 <sup>d</sup>
3	42,3 ± 0,4 <sup>f</sup>	9,83 ± 0,46 <sup>c,d</sup>	9,27 ± 0,40	0,56 ± 0,07	1,79 ± 0,02 <sup>e</sup>
4	39,3 ± 0,3 <sup>e</sup>	13,55 ± 1,06 <sup>e</sup>	12,91 ± 0,99	0,65 ± 0,08	1,34 ± 0,08 <sup>d</sup>
5	24,3 ± 0,0 <sup>b</sup>	10,60 ± 0,59 <sup>d</sup>	9,87 ± 0,58	0,73 ± 0,01	0,56 ± 0,02 <sup>a</sup>
6	22,7 ± 0,4 <sup>b</sup>	8,41 ± 0,56 <sup>c</sup>	8,19 ± 0,55	0,22 ± 0,02	0,79 ± 0,04 <sup>c</sup>
7	21,2 ± 0,5 <sup>a</sup>	9,77 ± 0,38 <sup>c,d</sup>	9,40 ± 0,34	0,37 ± 0,04	0,64 ± 0,00 <sup>a,b</sup>
8	24,4 ± 1,0 <sup>b</sup>	12,81 ± 1,63 <sup>c</sup>	12,42 ± 1,62	0,39 ± 0,04	0,70 ± 0,06 <sup>b</sup>
9	20,5 ± 0,3 <sup>a</sup>	4,08 ± 0,68 <sup>a</sup>	3,88 ± 0,67	0,20 ± 0,02	0,57 ± 0,09 <sup>a</sup>
<b>MW</b>	<b>30,2 ± 9,2</b>	<b>9,38 ± 2,91</b>	<b>8,95 ± 2,01</b>	<b>0,44 ± 0,18</b>	<b>1,06 ± 0,51</b>
<b>Tomatensäfte</b>					
1	13,5 ± 0,0 <sup>e</sup>	20,05 ± 0,45 <sup>b</sup>	19,13 ± 0,43	0,92 ± 0,07	0,24 ± 0,01 <sup>b</sup>
2	6,2 ± 0,2 <sup>a</sup>	20,84 ± 0,56 <sup>b</sup>	19,75 ± 0,52	1,08 ± 0,04	0,27 ± 0,01 <sup>b</sup>
3	12,6 ± 0,5 <sup>d,e</sup>	15,55 ± 0,65 <sup>a</sup>	14,57 ± 0,67	0,99 ± 0,03	0,19 ± 0,03 <sup>a</sup>
4	8,9 ± 0,1 <sup>b</sup>	19,37 ± 0,62 <sup>b</sup>	17,81 ± 0,60	1,56 ± 0,06	0,17 ± 0,01 <sup>a</sup>
5	11,0 ± 0,1 <sup>c</sup>	20,60 ± 1,44 <sup>b</sup>	19,41 ± 1,40	1,19 ± 0,04	0,26 ± 0,01 <sup>b</sup>
6	12,2 ± 0,1 <sup>d</sup>	19,03 ± 0,50 <sup>b</sup>	17,78 ± 0,52	1,26 ± 0,12	0,25 ± 0,01 <sup>b</sup>
7	6,5 ± 0,4 <sup>a</sup>	20,16 ± 1,24 <sup>b</sup>	19,04 ± 1,16	1,11 ± 0,08	0,18 ± 0,01 <sup>a</sup>
8	9,1 ± 0,2 <sup>b</sup>	24,02 ± 3,10 <sup>c</sup>	22,46 ± 2,92	1,56 ± 0,18	0,31 ± 0,02 <sup>c</sup>
9	12,3 ± 0,3 <sup>d</sup>	18,55 ± 0,61 <sup>b</sup>	17,51 ± 0,58	1,04 ± 0,09	0,21 ± 0,02 <sup>a</sup>
<b>MW</b>	<b>10,3 ± 2,7</b>	<b>19,80 ± 2,24</b>	<b>18,61 ± 2,12</b>	<b>1,19 ± 0,23</b>	<b>0,23 ± 0,05</b>
<b>Tomatenketchups</b>					
1	15,1 ± 0,7 <sup>f</sup>	19,66 ± 1,32 <sup>c</sup>	18,84 ± 1,30	0,82 ± 0,02	0,40 ± 0,03 <sup>b</sup>
2	5,2 ± 0,2 <sup>a,b</sup>	14,36 ± 0,30 <sup>a</sup>	13,60 ± 0,26	0,75 ± 0,04	0,28 ± 0,01 <sup>a</sup>
3	11,0 ± 0,5 <sup>d</sup>	14,34 ± 0,14 <sup>a</sup>	13,63 ± 0,09	0,72 ± 0,04	0,40 ± 0,04 <sup>b</sup>
4	6,5 ± 0,1 <sup>b</sup>	21,12 ± 0,67 <sup>c,d</sup>	19,83 ± 0,59	1,30 ± 0,08	0,40 ± 0,06 <sup>b</sup>
5	12,9 ± 0,3 <sup>e</sup>	20,05 ± 1,20 <sup>c</sup>	18,62 ± 0,93	1,43 ± 0,27	0,42 ± 0,03 <sup>b</sup>
6	16,2 ± 0,2 <sup>f</sup>	19,28 ± 0,81 <sup>b,c</sup>	17,79 ± 0,83	1,48 ± 0,02	0,32 ± 0,03 <sup>b</sup>

7	19,5 ± 0,2 <sup>s</sup>	16,10 ± 0,97 <sup>a,b</sup>	14,69 ± 0,92	1,41 ± 0,05	0,42 ± 0,04 <sup>b</sup>
8	4,5 ± 0,3 <sup>a</sup>	24,25 ± 0,91 <sup>d</sup>	21,95 ± 0,64	2,30 ± 0,26	0,36 ± 0,02 <sup>b</sup>
9	9,0 ± 0,2 <sup>c</sup>	20,79 ± 0,59 <sup>c</sup>	20,04 ± 0,54	0,75 ± 0,05	0,51 ± 0,03 <sup>c</sup>
<b>MW</b>	<b>11,1 ± 5,2</b>	<b>18,88 ± 3,33</b>	<b>17,66 ± 3,01</b>	<b>1,22 ± 0,52</b>	<b>0,40 ± 0,07</b>
<b>Dosentomaten</b>					
1	2,11 ± 0,07 <sup>d</sup>	18,69 ± 1,58 <sup>d</sup>	18,00 ± 1,36	0,69 ± 0,21	0,29 ± 0,02 <sup>c</sup>
2	0,35 ± 0,02 <sup>a</sup>	13,57 ± 0,67 <sup>b</sup>	13,14 ± 0,71	0,44 ± 0,04	0,28 ± 0,06 <sup>c</sup>
3	0,34 ± 0,01 <sup>a</sup>	15,06 ± 0,69 <sup>b,c</sup>	14,36 ± 0,67	0,70 ± 0,02	0,27 ± 0,01 <sup>b,c</sup>
4	0,32 ± 0,04 <sup>a</sup>	18,35 ± 1,43 <sup>c,d</sup>	17,21 ± 1,25	1,14 ± 0,18	0,23 ± 0,02 <sup>a,b</sup>
5	0,86 ± 0,06 <sup>b</sup>	16,78 ± 1,42 <sup>c</sup>	15,94 ± 1,22	0,85 ± 0,20	0,23 ± 0,02 <sup>a,b</sup>
6	5,88 ± 0,09 <sup>c</sup>	9,43 ± 0,18 <sup>a</sup>	8,96 ± 0,23	0,47 ± 0,06	0,18 ± 0,00 <sup>a</sup>
7	1,09 ± 0,04 <sup>c</sup>	11,46 ± 0,15 <sup>a</sup>	10,91 ± 0,11	0,54 ± 0,05	0,25 ± 0,02 <sup>b,c</sup>
8	2,18 ± 0,04 <sup>d</sup>	18,58 ± 0,19 <sup>c,d</sup>	17,30 ± 0,17	1,28 ± 0,02	0,26 ± 0,00 <sup>b,c</sup>
9	0,51 ± 0,01 <sup>a</sup>	17,35 ± 0,20 <sup>c</sup>	15,70 ± 0,28	1,65 ± 0,08	0,20 ± 0,00 <sup>a</sup>
<b>MW</b>	<b>1,51 ± 1,79</b>	<b>15,47 ± 3,35</b>	<b>14,61 ± 3,09</b>	<b>0,86 ± 0,41</b>	<b>0,24 ± 0,04</b>
<b>Passierte Tomaten</b>					
1	13,3 ± 0,3 <sup>c</sup>	12,54 ± 0,21 <sup>a</sup>	11,80 ± 0,19	0,74 ± 0,03	0,27 ± 0,01 <sup>c,d</sup>
2	4,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	12,53 ± 0,56 <sup>a</sup>	11,77 ± 0,51	0,76 ± 0,05	0,40 ± 0,00 <sup>e</sup>
3	6,5 ± 0,1 <sup>a,b</sup>	12,64 ± 0,90 <sup>a</sup>	11,80 ± 0,70	0,84 ± 0,19	0,24 ± 0,00 <sup>c</sup>
4	14,0 ± 0,4 <sup>c</sup>	11,74 ± 0,26 <sup>a</sup>	10,97 ± 0,25	0,77 ± 0,00	0,25 ± 0,00 <sup>c</sup>
5	23,4 ± 0,5 <sup>e</sup>	15,31 ± 0,17 <sup>b</sup>	14,21 ± 0,19	1,10 ± 0,02	0,30 ± 0,01 <sup>d</sup>
6	7,6 ± 1,4 <sup>b</sup>	14,06 ± 0,53 <sup>a,b</sup>	12,93 ± 0,47	1,13 ± 0,06	0,37 ± 0,02 <sup>e</sup>
7	25,5 ± 0,4 <sup>e</sup>	18,07 ± 0,89 <sup>c</sup>	16,85 ± 0,77	1,22 ± 0,12	0,06 ± 0,06 <sup>a</sup>
8	20,6 ± 0,5 <sup>d</sup>	13,36 ± 0,39 <sup>a,b</sup>	12,33 ± 0,39	1,04 ± 0,00	0,27 ± 0,01 <sup>c,d</sup>
9	5,5 ± 0,1 <sup>a,b</sup>	15,45 ± 1,33 <sup>b</sup>	14,33 ± 1,24	1,12 ± 0,09	0,12 ± 0,01 <sup>b</sup>
<b>MW</b>	<b>13,5 ± 8,0</b>	<b>13,97 ± 2,00</b>	<b>13,00 ± 1,84</b>	<b>0,97 ± 0,19</b>	<b>0,25 ± 0,11</b>
<b>Tomatensaucen</b>					
1	13,5 ± 0,8 <sup>d</sup>	9,51 ± 0,60 <sup>a</sup>	6,92 ± 0,71	2,59 ± 0,15	0,33 ± 0,07 <sup>b</sup>
2	13,1 ± 0,4 <sup>d</sup>	12,43 ± 0,92 <sup>a</sup>	11,04 ± 0,55	1,33 ± 0,32	0,26 ± 0,08 <sup>a</sup>
3	3,2 ± 0,0 <sup>b</sup>	9,42 ± 0,44 <sup>a</sup>	8,32 ± 0,47	1,06 ± 0,10	0,29 ± 0,03 <sup>a</sup>
4	16,8 ± 0,1 <sup>c</sup>	11,01 ± 0,81 <sup>a</sup>	10,25 ± 0,56	0,75 ± 0,22	0,41 ± 0,01 <sup>a</sup>
5	13,9 ± 0,4 <sup>d</sup>	15,29 ± 2,54 <sup>b</sup>	13,17 ± 2,07	2,03 ± 0,41	0,31 ± 0,07 <sup>a</sup>
6	12,0 ± 0,7 <sup>c</sup>	9,43 ± 0,12 <sup>a</sup>	6,42 ± 0,18	2,93 ± 0,10	0,35 ± 0,02 <sup>a</sup>
7	1,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	10,01 ± 0,57 <sup>a</sup>	8,56 ± 0,28	1,44 ± 0,18	0,23 ± 0,06 <sup>a</sup>
8	1,7 ± 0,0 <sup>a</sup>	10,73 ± 0,01 <sup>a</sup>	7,32 ± 0,50	3,38 ± 0,51	0,35 ± 0,02 <sup>a</sup>
<b>MW</b>	<b>9,4 ± 6,3</b>	<b>10,94 ± 2,00</b>	<b>9,00 ± 2,32</b>	<b>1,94 ± 0,95</b>	<b>0,32 ± 0,06</b>

<sup>1</sup> Summe aus (*all-E*)-Lycopin und allen detektierten (*Z*)-Lycopinisomeren

<sup>2</sup> Summe aus allen detektierten (*Z*)-Lycopinisomeren

**Tabelle A 21:** Anteile vom (*all-E*)-Lycopin und der Summe der (*Z*)-Lycopinisomere [%] an den (*Gesamt*)-Lycopingehalten in Tomaten und Tomatenprodukten ( $\bar{x} \pm s$ ), Werte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant innerhalb einer Produktgruppe ( $p < 0,05$ , einfaktorielles ANOVA, Tukey-HSD)

	( <i>all-E</i> )-Lycopin [%]	$\Sigma$ ( <i>Z</i> )-Lycopin [%]		( <i>all-E</i> )-Lycopin [%]	$\Sigma$ ( <i>Z</i> )-Lycopin [%]
<b>Tomaten</b>			<b>Tomatensäfte</b>		
1	93,2 ± 1,7 <sup>a</sup>	6,8 ± 1,7	1	95,4 ± 0,3 <sup>c</sup>	4,6 ± 0,3
2	95,8 ± 0,2 <sup>b,c</sup>	4,2 ± 0,2	2	94,8 ± 0,1 <sup>d</sup>	5,2 ± 0,1
3	94,3 ± 0,5 <sup>a,b</sup>	5,7 ± 0,5	3	93,7 ± 0,4 <sup>b,c</sup>	6,3 ± 0,4
4	95,2 ± 0,2 <sup>b,c</sup>	4,8 ± 0,2	4	91,9 ± 0,3 <sup>a</sup>	8,1 ± 0,3
5	93,1 ± 0,3 <sup>a</sup>	6,9 ± 0,3	5	94,2 ± 0,2 <sup>c,d</sup>	5,8 ± 0,2
6	97,3 ± 0,2 <sup>d</sup>	2,7 ± 0,2	6	93,4 ± 0,6 <sup>b</sup>	6,6 ± 0,6
7	96,2 ± 0,3 <sup>c,d</sup>	3,8 ± 0,3	7	94,5 ± 0,1 <sup>d</sup>	5,5 ± 0,1
8	96,9 ± 0,4 <sup>d</sup>	3,1 ± 0,4	8	93,5 ± 0,2 <sup>b</sup>	6,5 ± 0,2
9	95,4 ± 0,6 <sup>b,c</sup>	5,9 ± 0,6	9	94,4 ± 0,5 <sup>c,d</sup>	5,6 ± 0,5
<b>MW</b>	<b>95,2 ± 1,5</b>	<b>4,8 ± 1,5</b>	<b>MW</b>	<b>94,0 ± 1,0</b>	<b>6,0 ± 1,0</b>

Tomatenketchups			Dosentomaten		
1	95,8 ± 0,2 <sup>f</sup>	4,2 ± 0,2	1	96,3 ± 0,8 <sup>d</sup>	3,7 ± 0,8
2	94,8 ± 0,2 <sup>e,f</sup>	5,2 ± 0,2	2	96,8 ± 0,5 <sup>d</sup>	3,2 ± 0,5
3	95,0 ± 0,3 <sup>e,f</sup>	5,0 ± 0,3	3	95,4 ± 0,1 <sup>c,d</sup>	4,6 ± 0,1
4	93,9 ± 0,2 <sup>c,d</sup>	6,1 ± 0,2	4	93,8 ± 0,5 <sup>c</sup>	6,2 ± 0,5
5	92,9 ± 0,9 <sup>a,b</sup>	7,1 ± 0,9	5	95,0 ± 0,8 <sup>c,d</sup>	5,0 ± 0,8
6	92,3 ± 0,4 <sup>a</sup>	7,7 ± 0,4	6	95,0 ± 0,7 <sup>c,d</sup>	5,0 ± 0,7
7	91,3 ± 0,2 <sup>a</sup>	8,7 ± 0,2	7	95,3 ± 0,4 <sup>c,d</sup>	4,7 ± 0,4
8	90,5 ± 0,7 <sup>a</sup>	9,5 ± 0,7	8	93,1 ± 0,0 <sup>b</sup>	6,9 ± 0,0
9	96,4 ± 0,1 <sup>f</sup>	3,6 ± 0,1	9	90,5 ± 0,6 <sup>a</sup>	9,5 ± 0,6
<b>MW</b>	93,6 ± 2,0	6,4 ± 2,0	<b>MW</b>	94,6 ± 1,9	5,4 ± 1,9
Passierte Tomaten			Tomatensaucen		
1	94,2 ± 0,1 <sup>b</sup>	5,8 ± 0,1	1	72,7 ± 3,2 <sup>a</sup>	27,3 ± 3,2
2	94,0 ± 0,1 <sup>b</sup>	6,0 ± 0,1	2	89,2 ± 1,8 <sup>b</sup>	10,8 ± 1,8
3	93,4 ± 1,0 <sup>a,b</sup>	6,6 ± 1,0	3	88,7 ± 1,5 <sup>b</sup>	11,3 ± 1,5
4	93,5 ± 0,1 <sup>a,b</sup>	6,5 ± 0,1	4	93,3 ± 1,5 <sup>b</sup>	6,7 ± 1,5
5	92,8 ± 0,2 <sup>a,b</sup>	7,2 ± 0,2	5	86,7 ± 0,5 <sup>b</sup>	13,3 ± 0,5
6	92,0 ± 0,1 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,1	6	68,7 ± 1,4 <sup>a</sup>	31,3 ± 1,4
7	93,3 ± 0,3 <sup>a,b</sup>	6,7 ± 0,3	7	85,6 ± 1,1 <sup>b</sup>	14,4 ± 1,1
8	92,3 ± 0,2 <sup>a</sup>	7,7 ± 0,2	8	68,4 ± 4,7 <sup>a</sup>	31,6 ± 4,7
9	92,7 ± 0,0 <sup>a,b</sup>	7,3 ± 0,0	<b>MW</b>	81,7 ± 10,1	18,3 ± 10,1
<b>MW</b>	93,1 ± 0,7	6,9 ± 0,7			

## zu Kapitel 4.2.2: Hagebutten und Hagebuttenprodukte

**Tabelle A 22:** Gehalte [mg/100 g] an Carotinoiden (unverseifter Extrakt) und Vitamin C in verschiedenen Reifestadien (grün, orange, rot) der Hagebuttensorte *Rosa rugosa* ( $\bar{x} \pm s$ ), Werte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant innerhalb eines Parameters ( $p < 0,05$ , einfaktorielle ANOVA, Tukey-HSD)

	grün	orange	rot
<b>Carotinoide</b>			
[mg/100 g FM]			
<i>(all-E)</i> -Lycopin	< 0,02 <sup>a</sup>	1,92 ± 0,22 <sup>b</sup>	2,99 ± 0,16 <sup>c</sup>
<i>(all-E)</i> -Lutein	0,26 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,14 ± 0,01 <sup>b</sup>	< 0,02 <sup>c</sup>
<i>(all-E)</i> -Zeaxanthin	0,11 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,11 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,13 ± 0,00 <sup>b</sup>
<i>(all-E)</i> -β-Cryptoxanthin	< 0,02 <sup>a</sup>	< 0,02 <sup>a</sup>	0,16 ± 0,01 <sup>b</sup>
<i>(all-E)</i> -β-Carotin	0,34 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,26 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,56 ± 0,04 <sup>c</sup>
<i>(9Z)</i> -β-Carotin	< 0,02 <sup>a</sup>	0,11 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,14 ± 0,02 <sup>b</sup>
<b>Vitamin C</b>			
Vitamin C [mg/100 g FM]	558 ± 24 <sup>a</sup>	541 ± 22 <sup>a</sup>	535 ± 13 <sup>a</sup>
Vitamin C [mg/100 g TM]	2963 ± 130 <sup>a</sup>	2748 ± 112 <sup>b</sup>	2267 ± 54 <sup>c</sup>

## zu Kapitel 4.3.1: Tomaten-Interventionsstudie

**Tabelle A 23:** Gehalte an Lycopin [mg/100 g], (*Gesamt*)-Tocopherolen [ $\mu$ mol/100 g] und Ascorbinsäure [mg/100 g] im Interventionsmaterial der verschiedenen Studien ( $\bar{x} \pm s$ )

	<i>(all-E)</i> -Lycopin		<i>(Gesamt)</i> -Lycopin	<i>(Ges.)</i> -Tocopherole	Ascorbinsäure
	[mg/100 g]	[%]	[mg/100 g]	[ $\mu$ mol/100 g]	[mg/100 g]
<b>Tomaten-Interventionsstudie</b>					
Tomaten, 1. Woche	8,27 $\pm$ 0,43	94,7	8,73 $\pm$ 0,39	0,32 $\pm$ 0,01	7,2 $\pm$ 0,1
Tomaten, 2. Woche	5,08 $\pm$ 0,13	93,8	5,42 $\pm$ 0,10	0,34 $\pm$ 0,01	4,0 $\pm$ 0,1
Tomaten, 3. Woche	6,16 $\pm$ 0,11	90,7	6,80 $\pm$ 0,12	0,36 $\pm$ 0,01	9,2 $\pm$ 0,2
Tomaten, 4. Woche	3,50 $\pm$ 0,03	89,7	3,90 $\pm$ 0,34	0,66 $\pm$ 0,01	5,0 $\pm$ 0,1
Tomatenmark, T 310	47,28 $\pm$ 3,23	93,6	50,50 $\pm$ 3,40	11,82 $\pm$ 0,90	34,5 $\pm$ 0,7
Tomatenmark, T 311	40,87 $\pm$ 1,86	92,1	44,39 $\pm$ 1,89	15,23 $\pm$ 0,35	35,5 $\pm$ 0,6
Tomatensaft, L 004	11,24 $\pm$ 0,58	97,7	11,50 $\pm$ 0,62	2,75 $\pm$ 0,06	5,8 $\pm$ 0,2
Tomatensaft, L 065	11,76 $\pm$ 0,70	94,6	12,41 $\pm$ 0,74	2,87 $\pm$ 0,01	6,7 $\pm$ 0,3
<b>Raucher-Interventionsstudie</b>					
Tomatenmark	52,14 $\pm$ 3,22	92,5	56,40 $\pm$ 5,01	15,29 $\pm$ 0,40	53,5 $\pm$ 0,7
<b>Hagebutten-Interventionsstudien</b>					
Hagebuttenmark HM 0	4,95 $\pm$ 0,33	75,5	6,56 $\pm$ 1,56	2,95 $\pm$ 0,03-	172,2 $\pm$ 11,6
Hagebuttenmark HM A	3,86 $\pm$ 0,28	84,1	4,59 $\pm$ 0,18	-	201,8 $\pm$ 13,2
Hagebuttenmark HM B	3,98 $\pm$ 0,39	83,1	4,79 $\pm$ 0,46	-	166,8 $\pm$ 9,3
<b>Kinetikstudie I</b>					
.... Tomatenmark	53,73 $\pm$ 3,84	94,4	56,92 $\pm$ 1,99	-	-
.... Tomatensaft	12,14 $\pm$ 0,09	88,0	13,79 $\pm$ 0,15	-	-
<b>Kinetikstudie II</b>					
Tomatenmark	61,36 $\pm$ 4,33	92,1	66,66 $\pm$ 3,92	-	-
Tomatensaft	13,03 $\pm$ 0,74	90,2	14,44 $\pm$ 0,81	-	-

**Tabelle A 24:** Gehalte [ $\mu$ mol/L] an Lycopinisomeren im Plasma der Probanden der Tomaten-Interventionsstudie ( $\bar{x} \pm s$ )

Lycopin-isomere	T-2	T0	T1	T2	T3	T4
Studiengruppe	[ $\mu$ mol/L]					
<b>(all-E)</b>						
Tomaten	0,217 $\pm$ 0,081	0,075 $\pm$ 0,035	0,177 $\pm$ 0,107	0,280 $\pm$ 0,123	0,259 $\pm$ 0,110	0,259 $\pm$ 0,110
Tomatensaft	0,273 $\pm$ 0,105	0,137 $\pm$ 0,057	0,218 $\pm$ 0,080	0,225 $\pm$ 0,069	0,244 $\pm$ 0,102	0,304 $\pm$ 0,157
Tomatenmark	0,309 $\pm$ 0,151	0,089 $\pm$ 0,037	0,284 $\pm$ 0,189	0,307 $\pm$ 0,106	0,322 $\pm$ 0,113	0,322 $\pm$ 0,113
<b>(13Z)</b>						
Tomaten	0,048 $\pm$ 0,056	0,034 $\pm$ 0,038	0,042 $\pm$ 0,048	0,092 $\pm$ 0,092	0,056 $\pm$ 0,044	0,056 $\pm$ 0,044
Tomatensaft	0,149 $\pm$ 0,064	0,097 $\pm$ 0,039	0,145 $\pm$ 0,046	0,158 $\pm$ 0,060	0,182 $\pm$ 0,069	0,182 $\pm$ 0,069
Tomatenmark	0,113 $\pm$ 0,062	0,071 $\pm$ 0,028	0,149 $\pm$ 0,067	0,164 $\pm$ 0,071	0,186 $\pm$ 0,066	0,186 $\pm$ 0,066
<b>(Z), unidentif.</b>						
Tomaten	0,051 $\pm$ 0,028	0,032 $\pm$ 0,006	0,046 $\pm$ 0,017	0,069 $\pm$ 0,018	0,077 $\pm$ 0,018	0,081 $\pm$ 0,027
Tomatensaft	0,046 $\pm$ 0,022	0,033 $\pm$ 0,016	0,052 $\pm$ 0,021	0,063 $\pm$ 0,025	0,071 $\pm$ 0,039	0,067 $\pm$ 0,026
Tomatenmark	0,054 $\pm$ 0,024	0,030 $\pm$ 0,019	0,038 $\pm$ 0,011	0,047 $\pm$ 0,011	0,060 $\pm$ 0,015	0,081 $\pm$ 0,034
<b>(5Z,9'Z)+(9Z) +(5Z,9Z)</b>						
Tomaten	0,062 $\pm$ 0,049	0,027 $\pm$ 0,010	0,032 $\pm$ 0,013	0,033 $\pm$ 0,010	0,037 $\pm$ 0,009	0,035 $\pm$ 0,011
Tomatensaft	0,036 $\pm$ 0,006	0,026 $\pm$ 0,004	0,038 $\pm$ 0,006	0,032 $\pm$ 0,007	0,038 $\pm$ 0,003	0,038 $\pm$ 0,004
Tomatenmark	0,067 $\pm$ 0,080	0,040 $\pm$ 0,046	0,029 $\pm$ 0,032	0,036 $\pm$ 0,038	0,039 $\pm$ 0,044	0,051 $\pm$ 0,053

<b>(5Z)</b>						
Tomaten	0,190 ± 0,075	0,093 ± 0,055	0,089 ± 0,052	0,103 ± 0,048	0,105 ± 0,052	0,095 ± 0,045
Tomatensaft	0,194 ± 0,083	0,138 ± 0,052	0,161 ± 0,045	0,149 ± 0,028	0,179 ± 0,046	0,183 ± 0,067
Tomatenmark	0,236 ± 0,145	0,136 ± 0,084	0,218 ± 0,091	0,185 ± 0,049	0,163 ± 0,054	0,173 ± 0,047

**Tabelle A 25:** Relative Anteile [%] der Lycopinisomere an den (*Gesamt*)-Lycopingehalten im Plasma der Probanden der Tomaten-Interventionsstudie ( $\bar{x} \pm s$ )

	<b>T-2</b>	<b>T0</b>	<b>T+1</b>	<b>T+2</b>	<b>T+3</b>	<b>T+4</b>
	[%]					
<b>Tomaten</b>						
( <i>all-E</i> )	39,5 ± 4,1	30,3 ± 4,5	45,4 ± 4,7	48,6 ± 8,1	48,4 ± 3,2	49,5 ± 1,5
(13Z)	7,3 ± 4,0	11,9 ± 5,5	9,1 ± 3,9	14,7 ± 4,9	9,7 ± 3,3	9,9 ± 3,3
(Z), unidentif.	9,0 ± 2,7	10,1 ± 2,2	13,1 ± 2,0	13,0 ± 4,3	15,2 ± 2,8	16,0 ± 2,7
(5Z,9'Z)+(9Z)+(5Z,9Z)	10,0 ± 2,4	11,7 ± 3,2	8,7 ± 1,4	5,9 ± 1,3	7,3 ± 1,8	6,9 ± 1,0
(5Z)	34,2 ± 4,5	36,0 ± 6,5	23,7 ± 3,6	17,8 ± 2,8	19,4 ± 2,5	17,7 ± 1,2
<b>Tomatensaft</b>						
( <i>all-E</i> )	39,2 ± 4,6	30,5 ± 5,6	34,1 ± 5,1	35,3 ± 6,6	32,9 ± 6,0	36,5 ± 7,8
(13Z)	20,7 ± 3,4	22,3 ± 5,3	23,5 ± 3,5	24,6 ± 4,5	25,1 ± 4,8	24,1 ± 3,9
(Z), unidentif.	6,5 ± 2,4	7,6 ± 3,5	8,9 ± 3,0	9,9 ± 3,3	10,2 ± 4,2	9,2 ± 2,7
(5Z,9'Z)+(9Z)+(5Z,9Z)	6,2 ± 2,9	7,5 ± 2,8	7,2 ± 2,7	5,8 ± 1,8	6,3 ± 1,2	5,8 ± 1,4
(5Z)	27,5 ± 3,8	32,1 ± 3,2	26,3 ± 2,3	24,4 ± 6,3	25,5 ± 3,1	24,4 ± 3,9
<b>Tomatenmark</b>						
( <i>all-E</i> )	40,1 ± 6,0	24,9 ± 3,9	38,2 ± 9,5	41,1 ± 3,4	41,5 ± 4,6	39,2 ± 3,8
(13Z)	15,3 ± 6,1	21,1 ± 6,0	20,5 ± 2,6	21,8 ± 4,7	24,2 ± 4,5	23,1 ± 5,5
(Z), unidentif.	7,7 ± 3,9	9,0 ± 5,6	5,7 ± 1,4	6,8 ± 1,9	8,0 ± 0,9	10,5 ± 5,4
(5Z,9'Z)+(9Z)+(5Z,9Z)	7,0 ± 6,9	8,4 ± 8,1	4,4 ± 4,3	4,6 ± 4,5	5,0 ± 5,1	5,9 ± 5,8
(5Z)	29,9 ± 3,4	36,6 ± 4,9	31,2 ± 9,9	25,7 ± 3,8	21,3 ± 3,9	21,3 ± 1,1

**Tabelle A 26:** Gehalte [ $\mu\text{mol/L}$ ] an Lutein, Zeaxanthin, Canthaxanthin,  $\beta$ -Cryptoxanthin,  $\alpha$ -Carotin,  $\beta$ -Carotin im Plasma der Probanden der Tomaten-Interventionsstudie ( $\bar{x} \pm s$ )

<b>Carotinoid-isomer</b>	<b>T-2</b>	<b>T0</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
Studiengruppe	[ $\mu\text{mol/L}$ ]					
<b>(<i>all-E</i>)-Lutein</b>						
Tomaten	0,208 ± 0,073	0,215 ± 0,075	0,203 ± 0,072	0,230 ± 0,076	0,257 ± 0,074	0,237 ± 0,085
Tomatensaft	0,284 ± 0,101	0,317 ± 0,090	0,277 ± 0,120	0,296 ± 0,127	0,298 ± 0,129	0,273 ± 0,108
Tomatenmark	0,236 ± 0,145	0,136 ± 0,084	0,218 ± 0,091	0,185 ± 0,049	0,163 ± 0,054	0,173 ± 0,047
<b>(<i>all-E</i>)-Zeaxanthin</b>						
Tomaten	0,051 ± 0,013	0,050 ± 0,010	0,045 ± 0,010	0,046 ± 0,022	0,052 ± 0,025	0,043 ± 0,019
Tomatensaft	0,182 ± 0,129	0,178 ± 0,111	0,173 ± 0,111	0,195 ± 0,118	0,185 ± 0,112	0,173 ± 0,117
Tomatenmark	0,067 ± 0,040	0,055 ± 0,026	0,085 ± 0,054	0,076 ± 0,046	0,070 ± 0,037	0,067 ± 0,037
<b>(<i>all-E</i>)-Canthax.</b>						
Tomaten	0,088 ± 0,022	0,072 ± 0,019	0,060 ± 0,014	0,054 ± 0,007	0,074 ± 0,021	0,053 ± 0,019
Tomatensaft	0,091 ± 0,038	0,098 ± 0,036	0,092 ± 0,031	0,090 ± 0,036	0,087 ± 0,034	0,077 ± 0,038
Tomatenmark	0,082 ± 0,077	0,056 ± 0,030	0,088 ± 0,039	0,072 ± 0,034	0,075 ± 0,047	0,073 ± 0,056
<b>(<i>all-E</i>)-<math>\beta</math>-Cryptox.</b>						
Tomaten	0,302 ± 0,112	0,243 ± 0,108	0,248 ± 0,086	0,179 ± 0,089	0,197 ± 0,089	0,220 ± 0,123
Tomatensaft	0,408 ± 0,220	0,348 ± 0,185	0,353 ± 0,148	0,293 ± 0,138	0,290 ± 0,136	0,257 ± 0,145
Tomatenmark	0,204 ± 0,118	0,163 ± 0,082	0,176 ± 0,101	0,171 ± 0,107	0,185 ± 0,139	0,165 ± 0,113

<b>(13Z)-<math>\beta</math>-Carotin</b>						
Tomaten	0,029 $\pm$ 0,022	0,019 $\pm$ 0,020	0,014 $\pm$ 0,021	0,030 $\pm$ 0,019	0,022 $\pm$ 0,016	0,030 $\pm$ 0,019
Tomatensaft	0,054 $\pm$ 0,029	0,053 $\pm$ 0,024	0,060 $\pm$ 0,026	0,072 $\pm$ 0,048	0,059 $\pm$ 0,047	0,055 $\pm$ 0,054
Tomatenmark	0,067 $\pm$ 0,083	0,036 $\pm$ 0,011	0,040 $\pm$ 0,014	0,036 $\pm$ 0,015	0,038 $\pm$ 0,010	0,042 $\pm$ 0,012
<b>(all-E)-<math>\alpha</math>-Carotin</b>						
Tomaten	0,277 $\pm$ 0,094	0,322 $\pm$ 0,181	0,309 $\pm$ 0,166	0,347 $\pm$ 0,238	0,334 $\pm$ 0,238	0,325 $\pm$ 0,227
Tomatensaft	0,361 $\pm$ 0,320	0,287 $\pm$ 0,256	0,341 $\pm$ 0,276	0,336 $\pm$ 0,376	0,367 $\pm$ 0,376	0,387 $\pm$ 0,347
Tomatenmark	0,169 $\pm$ 0,098	0,233 $\pm$ 0,216	0,190 $\pm$ 0,122	0,179 $\pm$ 0,138	0,158 $\pm$ 0,115	0,169 $\pm$ 0,098
<b>(all-E)-<math>\beta</math>-Carotin</b>						
Tomaten	0,823 $\pm$ 0,277	0,868 $\pm$ 0,529	0,751 $\pm$ 0,384	0,798 $\pm$ 0,369	0,771 $\pm$ 0,359	0,722 $\pm$ 0,372
Tomatensaft	0,908 $\pm$ 0,463	0,983 $\pm$ 0,580	0,987 $\pm$ 0,611	1,113 $\pm$ 0,817	1,007 $\pm$ 0,730	1,022 $\pm$ 0,738
Tomatenmark	0,698 $\pm$ 0,316	0,776 $\pm$ 0,482	0,775 $\pm$ 0,411	0,666 $\pm$ 0,316	0,730 $\pm$ 0,392	0,642 $\pm$ 0,270
<b>(9Z)-<math>\beta</math>-Carotin</b>						
Tomaten	0,022 $\pm$ 0,013	0,013 $\pm$ 0,015	0,010 $\pm$ 0,011	0,012 $\pm$ 0,013	0,008 $\pm$ 0,013	0,011 $\pm$ 0,012
Tomatensaft	0,024 $\pm$ 0,026	0,026 $\pm$ 0,028	0,021 $\pm$ 0,024	0,035 $\pm$ 0,030	0,026 $\pm$ 0,029	0,022 $\pm$ 0,032
Tomatenmark	0,025 $\pm$ 0,014	0,007 $\pm$ 0,011	0,022 $\pm$ 0,013	0,016 $\pm$ 0,014	0,088 $\pm$ 0,140	0,070 $\pm$ 0,122

**Tabelle A 27:** Gehalte an (*Gesamt*)-Tocopherol [ $\mu\text{mol/L}$ ], Vitamin C [ $\mu\text{mol/L}$ ], Triglyceriden [ $\text{mg/dL}$ ] im Plasma sowie Gehalte an GSH [ $\mu\text{g/mL}$ ], GSSG [ $\mu\text{g/mL}$ ], GSH/GSSG, TBARS [ $\text{nmol/mL}$ ] im Vollblut der Probanden der Tomaten-Interventionsstudie ( $\bar{x} \pm s$ )

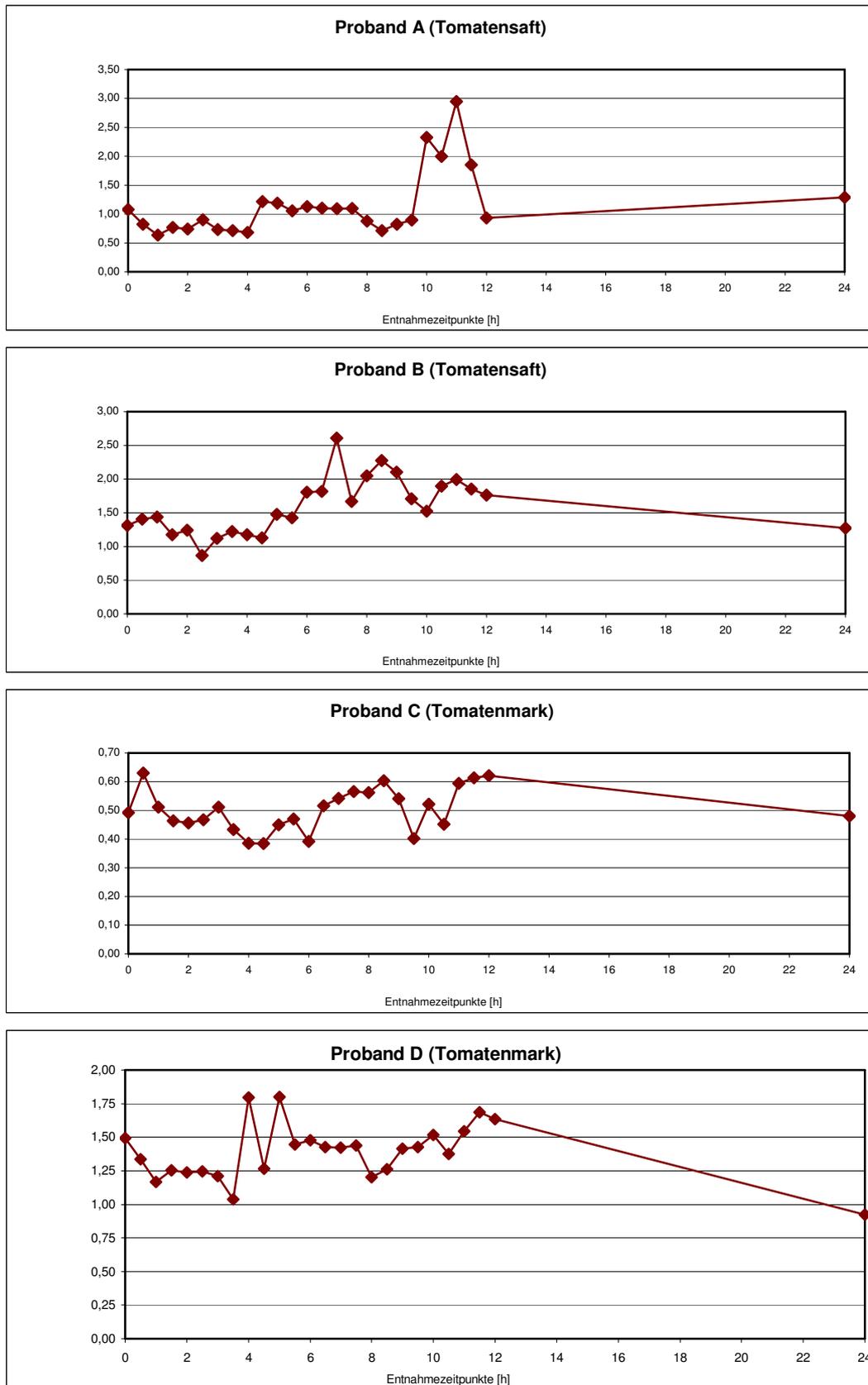
Parameter	T-2	T0	T1	T2	T3	T4
<b>Studiengruppe</b>						
<b>(Gesamt)-Tocopherol</b>						
Tomaten	22,57 $\pm$ 5,38	23,09 $\pm$ 5,83	22,68 $\pm$ 4,90	21,90 $\pm$ 3,36	22,86 $\pm$ 6,58	22,02 $\pm$ 4,58
Tomatensaft	28,96 $\pm$ 3,83	30,65 $\pm$ 5,25	30,30 $\pm$ 5,85	28,96 $\pm$ 6,09	29,41 $\pm$ 6,01	30,66 $\pm$ 6,64
Tomatenmark	22,34 $\pm$ 5,60	21,36 $\pm$ 5,42	22,15 $\pm$ 5,66	20,47 $\pm$ 6,32	20,75 $\pm$ 4,70	20,39 $\pm$ 5,35
<b>Vitamin C</b>						
Tomaten	81,74 $\pm$ 14,40	89,78 $\pm$ 9,52	97,63 $\pm$ 23,44	91,65 $\pm$ 13,48	89,14 $\pm$ 18,05	94,13 $\pm$ 12,14
Tomatensaft	83,33 $\pm$ 21,56	95,87 $\pm$ 11,83	93,68 $\pm$ 18,34	89,05 $\pm$ 20,35	93,36 $\pm$ 17,99	97,10 $\pm$ 9,19
Tomatenmark	87,37 $\pm$ 27,37	85,47 $\pm$ 22,94	85,13 $\pm$ 28,21	82,12 $\pm$ 27,74	78,74 $\pm$ 25,96	103,5 $\pm$ 10,41
<b>Triglyceride</b>						
Tomaten	132,1 $\pm$ 49,8	94,6 $\pm$ 30,3	106,7 $\pm$ 18,8	71,8 $\pm$ 31,4	96,3 $\pm$ 30,5	116,9 $\pm$ 36,7
Tomatensaft	80,6 $\pm$ 33,0	81,3 $\pm$ 20,2	87,9 $\pm$ 31,8	70,9 $\pm$ 30,4	103,4 $\pm$ 64,8	90,6 $\pm$ 63,0
Tomatenmark	91,2 $\pm$ 41,9	75,7 $\pm$ 30,6	95,3 $\pm$ 37,0	62,3 $\pm$ 35,2	87,2 $\pm$ 14,2	62,4 $\pm$ 24,3
<b>GSH</b>						
Tomaten	331,5 $\pm$ 51,9	312,5 $\pm$ 60,3	338,0 $\pm$ 53,7	324,1 $\pm$ 62,2	340,0 $\pm$ 44,9	313,8 $\pm$ 46,6
Tomatensaft	326,6 $\pm$ 61,9	294,6 $\pm$ 57,8	324,5 $\pm$ 52,3	325,3 $\pm$ 58,7	334,4 $\pm$ 58,6	317,0 $\pm$ 60,7
Tomatenmark	362,7 $\pm$ 44,1	356,4 $\pm$ 45,2	409,8 $\pm$ 59,7	410,2 $\pm$ 49,7	399,4 $\pm$ 56,6	381,8 $\pm$ 39,9
<b>GSSG</b>						
Tomaten	77,0 $\pm$ 4,5	79,3 $\pm$ 15,3	76,5 $\pm$ 6,6	75,9 $\pm$ 8,1	76,9 $\pm$ 9,0	79,6 $\pm$ 8,1
Tomatensaft	71,8 $\pm$ 8,4	70,9 $\pm$ 8,9	67,1 $\pm$ 7,1	69,2 $\pm$ 7,9	71,1 $\pm$ 10,2	72,9 $\pm$ 8,1
Tomatenmark	69,0 $\pm$ 8,3	78,9 $\pm$ 23,8	69,8 $\pm$ 6,1	72,2 $\pm$ 1,4	71,2 $\pm$ 3,6	74,9 $\pm$ 3,2
<b>GSH/GSSG</b>						
Tomaten	4,31 $\pm$ 0,65	4,03 $\pm$ 0,86	4,44 $\pm$ 0,76	4,30 $\pm$ 0,83	4,49 $\pm$ 0,89	3,98 $\pm$ 0,74
Tomatensaft	4,58 $\pm$ 0,96	4,20 $\pm$ 0,97	4,86 $\pm$ 0,81	4,71 $\pm$ 0,74	4,74 $\pm$ 0,87	4,36 $\pm$ 0,79
Tomatenmark	5,32 $\pm$ 0,91	4,74 $\pm$ 1,08	5,88 $\pm$ 0,74	5,69 $\pm$ 0,76	5,62 $\pm$ 0,78	5,10 $\pm$ 0,23
<b>TBARS</b>						
Tomaten	13,29 $\pm$ 2,76	12,39 $\pm$ 2,48	13,18 $\pm$ 2,89	13,75 $\pm$ 2,99	14,26 $\pm$ 3,12	14,59 $\pm$ 3,60
Tomatensaft	9,75 $\pm$ 0,83	9,34 $\pm$ 0,37	9,61 $\pm$ 0,67	9,56 $\pm$ 0,39	9,36 $\pm$ 0,92	9,59 $\pm$ 0,60
Tomatenmark	8,04 $\pm$ 1,56	7,97 $\pm$ 1,16	8,50 $\pm$ 1,94	8,08 $\pm$ 0,77	7,81 $\pm$ 1,12	7,33 $\pm$ 0,40

### zu Kapitel 4.3.2: Raucher-Interventionsstudie

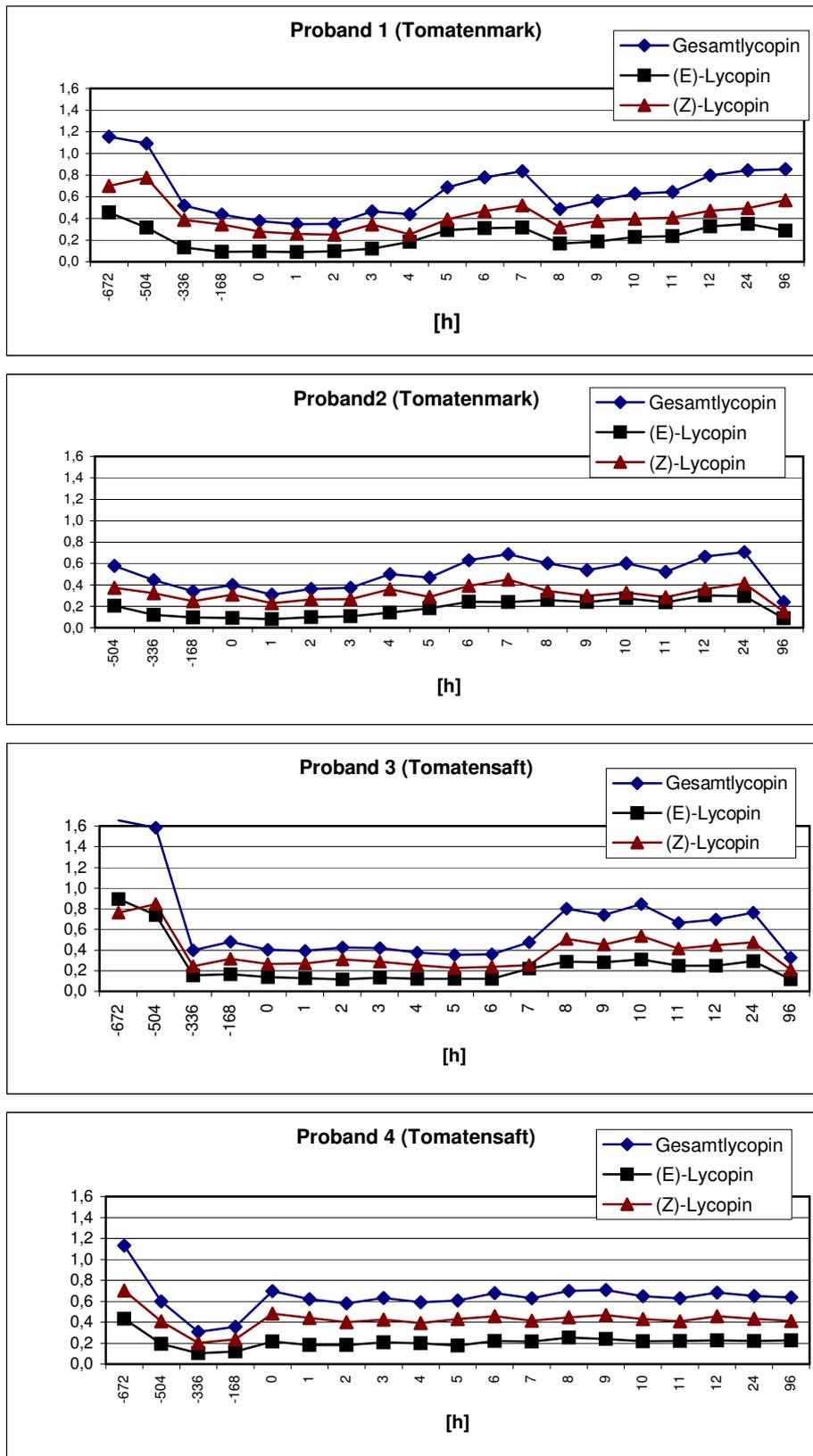
**Tabelle A 28:** Gehalte an (*Gesamt*)-Lycopin [ $\mu\text{mol/L}$ ], (*Gesamt*)-Tocopherol [ $\mu\text{mol/L}$ ], Vitamin C [ $\mu\text{mol/L}$ ], Triglyceriden [ $\text{mg/dL}$ ] im Plasma sowie Gehalte an GSH [ $\mu\text{g/mL}$ ], GSSG [ $\mu\text{g/mL}$ ], GSH/GSSG, TBARS [ $\text{nmol/mL}$ ] im Vollblut der Probanden der Raucher-Interventionsstudie ( $\bar{x} \pm s$ )

Parameter	T-2	T0	T2
( <i>Gesamt</i> )-Lycopin [ $\mu\text{mol/L}$ ]	$0,64 \pm 0,27$	$0,48 \pm 0,15$	$1,06 \pm 0,22$
( <i>Gesamt</i> )-Tocopherol [ $\mu\text{mol/L}$ ]	$26,5 \pm 4,0$	$24,7 \pm 4,4$	$27,6 \pm 4,2$
Vitamin C [ $\mu\text{mol/L}$ ]	$2 \pm 14$	$65 \pm 30$	$74 \pm 14$
Triglyceride [ $\text{mg/dL}$ ]	$88 \pm 26$	$73 \pm 24$	$84 \pm 24$
GSH [ $\mu\text{g/mL}$ ]	$273 \pm 24$	$270 \pm 40$	$308 \pm 51$
GSSG [ $\mu\text{g/mL}$ ]	$84 \pm 6$	$84 \pm 6$	$86 \pm 6$
GSH/GSSG	$3,3 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,4$	$3,6 \pm 3,8$
TBARS [ $\text{nmol/mL}$ ]	$7,2 \pm 1,5$	$7,1 \pm 0,8$	$7,1 \pm 1,1$

## zu Kapitel 4.3.4: Kinetik-Pilotstudien



**Abbildung A 1:** Änderungen der Gehalte [ $\mu\text{mol/g TG}$ ] an (*Gesamt*)-Lycopin im Plasma der Probanden der Kinetik-Pilotstudie I



**Abbildung A 2 :** Änderungen der Gehalte [ $\mu\text{mol/g TG}$ ] an (*Gesamt*)-Lycopin, (*all-E*)-Lycopin und (*Gesamt*)-(Z)-Lycopin im Plasma der Probanden der Kinetik-Pilotstudie II

---

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich Prof. Dr. Roland Bitsch und Dr. Volker Böhm für die Überlassung des interessanten und vielseitigen Themas danken. Mein besonderer Dank gilt Dr. Volker Böhm für die konstruktive und kreative Zusammenarbeit und für das stete Interesse an den Ergebnissen meiner Arbeit.

Für die ständige Hilfsbereitschaft und das gute Arbeitsklima sei außerdem allen ehemaligen und derzeitigen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe gedankt, insbesondere Karin Schlesier, Katja Kranl, Heike Schmidt, Irmtraud Schmuck, Susanne Burkhardt, Juliane Hohbein, Lars Müller und Angelika Böhm. Die Zusammenarbeit mit ihnen hat mir großen Spass gemacht und den Fortgang der Arbeiten stark vorangebracht.

Karin Jacob, Doreen Reuter, Grit Laske und Juliane Hohbein danke ich für die gute Zusammenarbeit während der Anfertigung ihrer Diplomarbeiten und für die Lieferung zahlreicher Messdaten.

Frau Dr. A. Lupp danke ich für die Durchführung der Glutathion- und TBARS-Messungen. Mein Dank gilt weiterhin Dr. D. E. Breithaupt und Dr. J. Conrad (Universität Hohenheim) für die MS- und NMR-Messungen und für die Bereitschaft, zu jedem Zeitpunkt die erhaltenen Daten mit mir zu diskutieren.

Der Arztpraxis von T. Franke, Dr. U. Kuhn, Prof. Dr. M. Ristow sowie verschiedenen Ärzten des Universitätsklinikums danke ich für die Durchführung der zahlreichen Blutabnahmen.

Mein besonderer Dank gilt allen Probanden und Probandinnen für die Teilnahme an den Humanstudien und dafür, dass sie die Blutabnahmen und die langen Wochen ohne Pizza und Tomatensauce auf sich genommen haben.

Mein Dank gilt weiterhin R. Richter (Varel) und V. Wissemann (Jena) für das fleißige Sammeln von Hagebutten. Auch das Rosarium Sangerhausen will ich nicht unerwähnt lassen. Sie gaben uns die Möglichkeit, uns vor Ort intensiv über Wildrosen zu informieren und verschiedene Hagebuttensorten mit genauer botanischer Bezeichnung zu erhalten. Für die kostenlose Bereitstellung des Hagebuttenmarks danke ich den Firmen „Voelkel GmbH“ und „Maintal Konfitüren GmbH“. Weiterhin möchte ich mich auch beim Hessischen Rundfunk für die Lieferung der vielen Tomaten und Tomatenprodukte bedanken. Der BASF AG (Ludwigshafen, Deutschland) danke ich für die kostenlose Bereitstellung grösserer Mengen an (*all-E*)-Lycopin.

Mein größter Dank gilt Anke Mader, Claudia Lorenz und Peter Netzel, die mir die Kraft und Zuversicht gegeben haben, diese Aufgabe zu Ende zu führen.

Von ganzem Herzen bedanke ich mich bei Charlotte Flügel für die moralische und liebevolle Unterstützung. Ihre aufmunternden Worte und Gesten halfen mir über zahlreiche, schwierige Situationen hinweg.

Ich bedanke mich weiterhin bei meiner Familie für die tatkräftige und finanzielle Unterstützung während meines Studiums und meiner Promotion.

---

## **Eidesstattliche Erklärung**

Ich erkläre hiermit, dass mir die Promotionsordnung der Friedrich-Schiller-Universität Jena bekannt ist.

Ferner erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angaben der Quellen gekennzeichnet.

Weitere Personen waren an der inhaltlich-materiellen Erstellung der Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich hierfür nicht entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Arbeit stehen.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Ich versichere, dass ich nach bestem Wissen die reine Wahrheit gesagt und nichts verschwiegen habe.

Jena, den 11.01.2007

---

## **Lebenslauf**

Name: Kati Fröhlich  
Geburtsdatum/-ort: 16.11.1975 in Querfurt/Sachsen-Anhalt  
Staatsangehörigkeit: deutsch  
Familienstand: ledig  
Anschrift: Charlottenstrasse 14 B,  
07743 Jena

### Schulausbildung

09/1982 – 08/1991 Besuch der Polytechnischen Oberschule in Vitzenburg  
(Sachsen-Anhalt)  
09/1991 – 07/1994 Besuch des Gymnasiums in Querfurt (Sachsen-Anhalt)  
Erlangung der Allgemeinen Hochschulreife

### Studium

10/1994 – 07/2000 Studium der Lebensmittelchemie an der TU Dresden (Sachsen)  
Abschluss als Diplom-Lebensmittelchemikerin

### Staatsexamen

09/2000 – 08/2001 Praktikum zum Staatsexamen der Lebensmittelchemie im  
Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt Sachsen-Anhalt  
Abschluss als staatlich geprüfte Lebensmittelchemikerin

### Beruflicher Werdegang

ab 10/2001 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für  
Ernährungswissenschaften der Friedrich-Schiller-Universität Jena

Jena, 11.01.2007