

Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg

Fakultät Life Sciences
Studiengang Ökotoxikologie

Gesundheitsfördernde Inhaltsstoffe der
Aronia melanocarpa

- Diplomarbeit -

vorgelegt am 24. April 2007

von:

Christine Misfeldt

Betreuender Professor.:

Prof. Dr. Michael Hamm

Korreferentin:

Prof. Dr. Sabine Kulling

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	4
2	Aronia melanocarpa	5
2.1	Herkunft.....	6
2.2	Standort und Anbau	7
2.3	Aussehen und Geschmack	8
2.4	Ernte und Sorten	10
2.5	Verwendung	14
2.5.1	Verwendung als Lebensmittel	14
2.5.2	Verwendung zur Färbung von Lebensmitteln.....	15
2.5.3	Pharmazeutische und medizinische Verwendung.....	16
3	Inhaltsstoffe der Aroniabeere	16
3.1	Hauptnährstoffe.....	17
3.2	Organische Säuren	18
3.3	Vitamine	19
3.4	Mineralstoffe.....	20
3.5	Sekundäre Pflanzenstoffe	21
3.5.1	Anthocyane	25
3.5.2	Proanthocyanidine	26
4	Gesundheitsliche Aspekte der Aronia	31
4.1	Schulmedizin und Volksheilkunde.....	31
4.2	Wissenschaftliche Studien über die Wirkung der Aronia	33
4.2.1	Antioxidative Wirkung.....	33
4.2.2	Protektive Wirkung auf kardio-vaskulären Erkrankungen.....	37
4.2.3	Antimutagene Wirkung	41
4.2.4	Antikancerogene Wirkung	43
4.2.5	Leberprotektive Wirkung	48
4.2.6	Schutz der Magenschleimhaut	48
4.2.7	Entzündungshemmende Wirkung	50

5	Metabolismus und Bioverfügbarkeit der bioaktiven Inhaltsstoffe.....	52
5.1	Metabolismus und Bioverfügbarkeit von Anthocyanen.....	52
5.2	Metabolismus und Bioverfügbarkeit von Proanthocyanidinen.....	55
6	Abschlussbetrachtung.....	57
7	Zusammenfassung.....	59
8	Abstract	60
9	Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen.....	61
10	Literaturverzeichnis.....	64
11	Abkürzungsverzeichnis	70
12	Anhänge	71
12.1	Tabellen 1-3	71
12.2	Ethikantrag	73
12.2.1	Antragsformular	73
12.2.2	Probandeninformation.....	78
12.2.3	Rote Liste.....	82
12.2.4	Untersuchungsplan	83

1 Einleitung

Die positive Wirkung der *Aronia melanocarpa* auf den Menschen ist in der Naturheilkunde bereits seit Jahrhunderten bekannt (Slimestad, Torskangerpoll et al. 2005). Trotz dieser Tatsache ist die aus Nordamerika stammende Wildbeere erst seit Anfang der 1990er Jahre in den Mittelpunkt der Forschung gerückt. Die blauschwarze Beere, die ca. die Größe einer Heidelbeere hat, zeichnet sich insbesondere durch einen hohen Gehalt an sekundären Pflanzenstoffen aus.

Die Hauptgruppe der sekundären Pflanzenstoffe in der *Aronia* bilden die Flavonoide. Eine bislang relativ unerforschte Verbindungsgruppe der Flavonoide sind die Proanthocyanidine, die insbesondere in Beerenfrüchten, aber auch in anderen pflanzlichen Lebensmitteln, enthalten sind. Proanthocyanidine, die ausschließlich aus monomeren Einheiten bestehen, werden als Procyanidine bezeichnet und kommen als größte Gruppe der Proanthocyanidine in der pflanzlichen Nahrung vor.

Da in der *Aronia* 66 % aller Polyphenole polymere Procyanidine sind, ist diese Beere eine besonders gute Quelle für die Gewinnung dieser Verbindungen. Der Gehalt an phenolischen Verbindungen ist im Vergleich mit anderem Beerenobst, z. B. der Blaubeere, der Cranberry und der Preiselbeere, um das Fünffache höher (Zheng und Wang 2003).

Über die Verbindungsklasse der Procyanidine ist trotz ihrer großen Verbreitung sehr wenig bekannt, da die Analyse dieser Verbindungen aufgrund ihrer komplexen Struktur sehr aufwendig ist und es an einer Standardsubstanz zur Quantifizierung von dimeren und oligomeren Procyanidinen mangelt. Bislang wurden zur Identifizierung der Procyanidine Lebensmittelextrakte eingesetzt, da eine Reinsubstanz nicht zur Verfügung stand. Diese Extrakte enthalten neben den Procyanidinen allerdings auch eine Vielzahl anderer Verbindungen, die einen Einfluss auf das Analyseergebnis haben, sodass die Analyse dadurch erschwert wird.

Im Rahmen eines Verbundprojektes deutscher Forschungseinrichtungen wird derzeit die gesundheitsfördernde Wirkung von Procyanidinen auf den Menschen erforscht. An diesem Projekt sind die Universität Potsdam, die Universität Braunschweig, das Deutsche Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke, die Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel in Karlsruhe, sowie als Industriepartner die Kelterei Walther in Arnsdorf und die Breko GmbH in Bremen beteiligt. Das Bundesministerium für Bildung und Forschung fördert im Rahmen der „funktionellen Ernährungsforschung“ das Verbundprojekt „Procyanidine - Vom besseren Verständnis der Wirkung zur Entwicklung funktioneller Lebensmittel“.

Im Rahmen dieses Projektes soll zum einen die Wirkung der Procyanidine hinsichtlich ihrer Struktur (monomer, dimer und oligomer) auf die Bioverfügbarkeit und Biotransformation bei Menschen untersucht und zum anderen die verfahrenstechnische Entwicklung Procyanidin-haltiger Lebensmittel erarbeitet werden. Die Untersuchung wird mit monomeren, dimeren und oligomeren Procyanidin-Reinsubstanzen durchgeführt, die aus der Weintrauben und der *Aronia melanocarpa* gewonnen werden.

In verfahrenstechnischen Prozessen werden die Pressrückstände der Aroniabeere weiterverarbeitet. Aus den Rückständen können verschiedene Procyanidin-haltige Produkte wie Trockenextrakte hergestellt werden, die wiederum in anderen Lebensmitteln zur Förderung der Gesundheit zugesetzt werden können.

In Deutschland wird die Aroniabeere bislang hauptsächlich zur Färbung von Lebensmitteln oder zur Fruchtsaftgewinnung eingesetzt. In Russland und den osteuropäischen Ländern wird die Frucht hingegen sowohl in der Volksheilkunde als auch in der Schulmedizin verwendet, und gilt dort sogar als Heilpflanze.

Ziel dieser Diplomarbeit ist es, die Aronia und ihre gesundheitsfördernden Inhaltsstoffe zusammenfassend darzustellen, wobei der Schwerpunkt auf den Proanthocyanidinen und den Anthocyanen liegt.

Im ersten Teil der Arbeit werden die Verbreitung und die Pflanzenmerkmale der Beere dargestellt. Der Teil über die Inhaltsstoffe der Aronia beschäftigt sich neben den Mikro- und Makronährstoffen ausführlich mit den in der Aronia vorkommenden sekundären Pflanzenstoffen. Die gesundheitsfördernden Wirkungen der Aronia werden in einem Überblick über alle bisher in englischer Sprache mit der Aronia durchgeführten Studien dargestellt. Des Weiteren werden die Bioverfügbarkeit und der Metabolismus der bioaktiven Inhaltsstoffe der Aronia beschrieben, um die Relevanz der Verbundstudie „Procyanidine - Vom besseren Verständnis der Wirkung zur Entwicklung funktioneller Lebensmittel“ zu verdeutlichen, in dessen Rahmen diese Arbeit geschrieben wird.

2 Aronia melanocarpa

Die Aronia gehört zur Familie der Rosengewächse (Rosaceae) und zählt zum Kernobst (Pirc 2002). Der Gattungsname Aronia wurde abgeleitet von dem Mehlbeerebaum (griechisch: „aria“), der ebenfalls zur den Rosengewächsen gehört. Es werden drei Arten der Aronia unterschieden: 1. *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott, auch schwarze Apfelbeere

oder schwarze/schwarzfrüchtige Eberesche genannt, 2. *Aronia arbutifolia* (L.) Pers., die rote Apfelbeere oder Zwergvogelbeere und 3. *Aronia prunifolia* (Marsh.) Rehd., die pflaumenblättrige Apfelbeere (Strigl, Leitner et al. 1995). Die schwarze Apfelbeere wurde von dem französischen Botaniker André Mischaux (Michx.) im Jahr 1786 nach dem Ort ihrer Entdeckung (Elliott, South Carolina, USA) benannt.

2.1 Herkunft

Ursprünglich stammt die schwarze Apfelbeere aus dem östlichen Nordamerika (Neuschottland bis Florida) und dem Süden Kanadas, wo sie auf feuchtem, saurem Boden mit bis zu 1200 mm Niederschlag pro Jahr gut gedeiht. Im 18. Jahrhundert wurde die schwarze Apfelbeere aufgrund ihrer Frostresistenz als Ziergehölz über Russland (Sibirien) nach Skandinavien und Osteuropa gebracht. Nach einigen Kreuzungsversuchen mit der Eberesche und der Mispel wurde die äußerst hohe Frosthärte und der Ertragsreichtum der Apfelbeere erkannt, woraufhin sie für die Obstproduktion eingesetzt wurde. Nachdem die Aronia 1946 in der UdSSR als neue Obstart in das Sortiment der empfohlenen Obstarten aufgenommen wurde, breitete sich der Anbau auf Plantagen aus (Friedrich und Schuricht 1989). Nach 1945 gelangte die Pflanze über den Balkan bis nach Mitteleuropa (Bundessortenamt 1999). Heute befinden sich die Hauptanbaugebiete der Beere in Polen, Tschechien, Bulgarien und Slowenien (Ara 2002).

Seit 1976 wird die Apfelbeere im östlichen Teil Deutschlands in der Nähe von Bauzen und Schirgiswalde angebaut. Noch heute ist die ehemalige Gärtnerische Produktionsgenossenschaft „Berglandobst“ Schirgiswalde mit einer Größe von 17 Hektar die größte Anbaufläche für die Aroniabeere in Deutschland. Weitere Plantagen befinden sich rund um Dresden in Göda, Coswig, Burkhardswalde und Stolpen (Stolle 1993). Aber auch in Bayern baut eine Kelterei (Bayronia) die Apfelbeere an. Der Hauptlieferant für den deutschen Markt ist jedoch Polen (Ruwisch 1997).

2.2 Standort und Anbau

Die Standortansprüche der Apfelbeere sind sehr gering. Sie gedeiht auf Löß-, Sand- und Lehmböden. Die Pflanze kommt mit einem Niederschlag von 700 bis 800 mm pro Jahr aus, verträgt jedoch keine Staunässe (Stolle 1993). Aufgrund der hohen Frostresistenz verträgt das Gehölz der Aronia Temperaturen von bis zu $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, weshalb sie auch in Ländern wie Finnland und Schweden zu finden ist. Besonders gut gedeiht sie in kalkarmen Böden in sonniger Lage, kommt aber auch mit kälteren oder höheren Lagen gut zurecht (Pirc 2002).

Die Pflanze ist sehr resistent gegen Schädlinge und Pilze, sodass auf den Einsatz von Pestiziden weitestgehend verzichtet werden kann (Ara 2002). Gelegentlich sind als Schädlinge der Frostspanner und die Ebereschensmotte zu beobachten. Beide können mittels Insektiziden beseitigt werden (Friedrich und Schuricht 1989). In älteren Beständen wurden zum Teil Rindenkrankheiten festgestellt, welche jedoch nur an verletzten Ästen auftraten. Durch den Knospverbiss von Wild entstehen Baumschäden, wodurch insbesondere bei jungen Pflanzen Wuchsdepressionen hervorgerufen werden können. Auch Feld- und Wühlmäuse sollten bekämpft werden, da sie die Wurzeln beschädigen (Stolle 1993). Bei späten Ernten kann auch der Verlust durch Vogelfraß erheblich werden, was durch eine Abdeckung der Sträucher verhindert wird (Abb.1). Eine Überwachung des Bestandes ist daher sinnvoll (Friedrich und Schuricht 1989).



Abb.1: Ein abgedeckter Aroniastrauch (Keltherei Walther)

Der Aroniastrauch wird ähnlich wie andere Kernobststräucher gedüngt. Einer alle drei Jahre durchgeführten Bodenanalyse folgend, wird je nach Bedarf Phosphor, Kali und Kalk zugesetzt. Zu Vegetationsbeginn wird dem Boden jährlich Stickstoff zugefügt (Stolle 1993). Um festzustellen, welchen Einfluss die Stickstoffversorgung auf das vegetative und das generative Wachstum, sowie auf den Anthocyangehalt der Aroniabeere bei unterschiedlich ausgeprägtem Fruchtbehang hat, wurde in Berlin-Dahlem zwischen 1992 und 1994 ein Freilandversuch durchgeführt. Anthocyane (ACs) gehören zu den sekundären Pflanzenstoffen und sind für die Farbgebung der Beere verantwortlich. Die Stickstoffmengen lagen bei 3,6 und 9 mmol Stickstoff pro Strauch. Die Neutriebbildung sowie das Blatt- und Wurzelwachstum konnten durch eine hohe Stickstoffversorgung und einen verringerten Fruchtbehang gesteigert werden. Der höchste Fruchtertrag, gemessen an Größe und Gewicht, ist bei einer mittleren Stickstoffversorgung erzielt worden. Der AC-Gehalt der

Beeren wurde durch eine hohe Stickstoffdüngung deutlich verringert, ist aber unabhängig von der Menge des Fruchtbehanges und des Ernteertrages (Lüdders 1997).

Die Anzucht von Aroniasträuchern durch Samen ist möglich, jedoch ist eine Vermehrung durch Ableger, Abrisse und Stecklinge effektiver. Die Pflanzung der Stecklinge erfolgt im Herbst. Um eine Hecke anzupflanzen sollte der Abstand zwischen den Pflanzen ca. 1 bis 1,5 m betragen. Der Pflanzschnitt kann entsprechend anderer Strauchbeeren durchgeführt werden, ist aber ab dem vierten bis sechsten Jahr (ähnlich wie bei der Johannisbeere) notwendig, um die Regeneration des Gehölzes und den hohen Lichtbedarf für die Bildung von Blüten zu gewährleisten (Friedrich und Schuricht 1989).

2.3 Aussehen und Geschmack

Der Aroniabaum war ursprünglich bis zu 15 m hoch und wurde zum Halbstamm oder Strauch gezüchtet (Seidemann 1993). Der Aroniastrauch ist stark verzweigt und kann eine Höhe von bis zu 3 m erreichen (Ara 2002). Um die Ernte zu erleichtern, ist die Pflanze als Strauch oder Fußstämmchen in einer Höhe von 1 m kultiviert worden (Ruwisch 1997). Die Beeren bilden sich vorwiegend an Neutrieben. Wenn die Pflanze nicht ausgelichtet wird, bilden sich die Neutriebe an den Außenseiten des Gehölzes und die Krone wird kahl. Durch Bodentriebe und zahlreiche Ausläuferbildung regeneriert sich das Gehölz vom Boden her ständig neu (Friedrich und Schuricht 1989; Stolle 1993).

Die Blätter der Aronia sind tiefgrün, lederartig und glänzend. Sie sind elliptisch bis oval und an den Rändern fein gesägt (Stolle 1993). Das Blatt ist 3 bis 7 cm lang und 1 bis 4 cm breit. Die purpur-farbene Mittelrippe des Blattes macht das Laub sehr dekorativ (Ruwisch 1997). Im Herbst färbt es sich wein- bis dunkelrot ein (Abb. 2).



Abb.2: Ein Aroniablatt im Herbst (Keltherei Walther)

In der Zeit zwischen Mitte und Ende Mai bilden sich nach dem Laubaustrieb die ersten kleinen weißen Blüten (Abb. 3). Durch diese späte Blüte ist die Aronia kaum spätfrostgefährdet. Etwa 15-30 Einzelblüten stehen in einer Dolde zusammen (Friedrich und Schuricht 1989; Ruwisch 1997) und verbreiten einen unangenehmen Geruch, welcher dem der Eberesche ähnelt (Ara 2002). Die Aronia blüht ca. 10 Tage lang (Friedrich und Schuricht 1989). Nach bisherigem Wissen ist die Aronia selbstfertil und wird durch Windbestäubung befruchtet (Stolle 1993).



Abb. 3: Die Aroniablüte (Keltherei Walther)

Die Früchte der Aronia haben eine starke äußerliche Ähnlichkeit mit der Eberesche, eine relativ harte Schale und einen festen Biss. Die Beere ist rundlich, etwa erbsengroß und häufig mit einem wachsartigen Reif überzogen. Sie erreicht eine Größe von 6 bis 13 mm und ein Gewicht von 80-200 mg. Das Fruchtfleisch ist bordeauxrot und umschließt ein

dreifähriges Gehäuse, das vier bis acht hell-rötlich bis braune, längliche Samen enthält. Da das Kerngehäuse dem eines Apfels gleicht, wird die Aroniafrucht auch Apfelbeere genannt. Die Beere reift etwa 90 Tage. Bis zur Ernte Mitte August bis Ende September ist die Frucht erst rötlich, dann mit zunehmender Reife glänzend violettschwarz (Abb. 4). Das Gewicht und die Größe sind abhängig von der Jahreswitterung. Ausreichender Niederschlag während der Fruchtentwicklung fördert das Fruchtgewicht (Stolle 1993; Ara 2002).



Abb. 4: Die Aroniabeere am Strauch (Keltherei Walther)

Geschmacklich ist die Apfelbeere säuerlich herb und ähnelt unausgereiften Heidelbeeren (Stolle 1993). Trotz ihres hohen Zuckergehaltes wird die Frucht nicht als süß empfunden. Die Frucht, wie auch der gepresste Saft, haben durch den hohen Gerbstoffanteil einen adstringierenden Effekt, der den Mund zusammenziehen lässt. Das Aroma wird neben den Gerbstoffen durch blausäurehaltige Verbindungen geprägt. Aus diesem Grund ist die Frucht in rohem Zustand nicht zum Verzehr geeignet, aber als Saft oder Marmelade genießbar (Ara 2002). Der pH-Wert der Aronia liegt wie beim Apfel im sauren Bereich zwischen 3,3 und 3,7 (Strigl, Leitner et al. 1995).

2.4 Ernte und Sorten

Die Ernte der Aroniabeere erfolgt je nach Reifegrad der Frucht von Mitte August bis Ende September. Aufgrund der einheitlichen Reife der Früchte ist eine gleichzeitige, vollständige Ernte möglich (Stolle 1993). Beim Anbau von hohen Aroniabäumen lässt sich die Handernte der Beeren nicht vermeiden. Die Pflückleistung liegt pro Erntehelfer bei ca. 15 kg pro Stunde, wobei die ganze Dolde geerntet wird. Die Reife der Früchte ist an kleineren Viertelstämmen (0,8-1 m hoch) einheitlicher als an Büschen, dazu lassen sich die Beeren maschinell ernten (Friedrich und Schuricht 1989). Falls keine spezielle Erntemaschine zur Verfügung steht,

kann die Frucht mit Hilfe einer Johannisbeererntemaschine eingebracht werden, da die Pflanzen so kultiviert werden können, dass sie dieselbe Abmessung (durch Schnittmaßnahmen) wie die Johannisbeere hat (Abb. 5) Der optimale Erntezeitraum beträgt etwa drei Wochen, um einen möglichst geringen Verlust, z.B. durch Vogelfraß zu erzielen. Der durchschnittliche Ertrag liegt bei 10 bis 14 Tonnen pro Hektar Anbaufläche (Gätke 1993). Bereits im 2. Standjahr kann ein Ertrag erstmals eingebracht werden.

Da die Aronia hartschalig ist und einen hohen Anteil an Gerbstoffen enthält, lässt sie sich gut lagern. Die Kühlung der Beere bei der Lagerung ist allerdings notwendig, damit sich kein Schimmel bildet. Maximal kann die Aronia 2 Wochen gelagert werden (Stolle 1993). Druckstellen der Beere verringern deren Qualität erheblich, weshalb eine lange Lagerung maschinell geernteter Beeren nicht zu empfehlen ist. Die Nutzdauer der Aroniasträucher oder –Viertelstämme beträgt etwa 20 Jahre (Strigl, Leitner et al. 1995).



Abb. 5: Eine Aroniaplantage im Herbst (Keltherei Walther)

Es werden viele verschiedene Sorten der Aronia gezüchtet. Neben den im Folgenden beschriebenen Kulturformen gibt es auch unbekanntere Sorten. Hierzu gehören die reichtragende Sorte ‚Fertödl‘ aus Ungarn und die Sorte ‚Serina‘ aus Dänemark, die nur langsam Eingang in den Aroniaanbau finden. Bekannter ist die aus Dänemark stammende Sorte ‚Aron‘, die man an ihren vielen, etwas kleineren Früchten erkennen kann. Eine in Skandinavien sehr populäre Sorte ist die schwedische ‚Hugin‘. Diese ist reichtragend, sehr winterhart und hat vergleichsweise kleine Früchte. Aus Finnland stammen zwei neue Sorten, die sich ‚Hakkija‘ und ‚Ahonnen‘ nennen. In der Slowakei wird die Sorte ‚Moravska sladkoploda‘ gezüchtet. Entsprechend ihrer Eignung werden die Sorten unterschiedlich erfolgreich angebaut. Ausführliche Informationen sind nur über die bekanntesten Sorten zu finden. Die gängigsten Sorten sind:

„Nero“:

Die Sorte *„Nero“* kommt ursprünglich aus der ehemaligen Tschechoslowakei und wird seit 1976 in Deutschland (Bautzen) auf Plantagen angebaut. Die Pflanze hat einen aufrechteren Wuchs als die Wildform, größere Dolden und einen 30%igen Mehrertrag gegenüber der Wildfrucht. *„Nero“* zeichnet sich durch einen hohen Gehalt an Vitamin C aus, ist spät reif und hat ein Fruchtgewicht von 100 bis 150 mg.

„Viking“:

„Viking“ stammt aus Finnland und hat einen ähnlich hohen Ertrag wie *„Nero“*. Die Früchte werden zum Teil an den Endtrieben ausgebildet und hängen daher zur Ernte über. Das Fruchtgewicht liegt bei ca. 150 mg.

„Rubina“:

Die Sorte *„Rubina“* ist eine Kreuzung aus *„Viking“* und einer nicht näher bekannten russischen Sorte. Sie wird in Ungarn gezüchtet und ist ein 1,5 bis 1,8 m hoch wachsender Strauch. *„Rubina“* eignet sich gut für den Anbau in niederschlagsreichen Regionen und ist im Vergleich sehr frosthart. Ein regelmäßiger Schnitt ist erforderlich. Die Blätter sind stark anthocyanhaltig. *„Rubina“* reift früh und ihr Fruchtgewicht liegt zwischen 120 und 180 mg (Bundessortenamt 1999; Pirc 2002).

Für die Nutzung der Beeren ist v.a. die Qualität der Frucht entscheidend. Diese kann mit Hilfe von Parametern wie dem mittleren Beerengewicht, dem AC-Gehalt, der AC-Zusammensetzung sowie dem Gehalt an braunen Verbindungen (Bräunungsindex) bestimmt werden. Bei einem niedrigen Gehalt an ACs erhöht sich das Risiko, dass die Früchte aufplatzen.

Der schwedische Wissenschaftler N. Jeppsson hat im Jahr 2000 die Fruchtqualität von acht Genotypen der echten *Aronia melanocarpa* mit vier Hybriden der *Aronia-Eberesche* verglichen. Als positiv wurden dabei ein hohes Fruchtgewicht, ein hoher Gehalt an ACs und ein niedriger Bräunungsindex beurteilt.

Bei den eingesetzten Genotypen handelte es sich um die Sorten *„Aron“*, *„Nero“*, *„Viking“*, *var. elata Rehd.*, *BAr 2 12 30*, *BAr 2 13 09*, *BAr 2 13 19* und *BAr C 11 28 (var. elata o.p.)*. Als Hybridarten wurden *„Stewart“* (*Sorbus americana* × *Aronia melanocarpa*), *„Appleberry“* (*„Stewart“* × *Aronia melanocarpa*), *„Burka“* (*Sorbus aucuparia* × [*Sorbus aria* × *Aronia arbutifolia*]) und *„Titan“* (*Sorbus aucuparia* × *Aronia melanocarpa*) ausgewählt. Bis auf die

Sorte ‚*var. elata*‘, die einen sehr viel höheren Gehalt an ACs aufzeigte, waren sich alle Genotypen sehr ähnlich. Die Hybridsorten unterschieden sich sowohl sehr stark untereinander als auch von den Genotypen. Außer bei der Sorte ‚*Titan*‘, die ein ähnliches Gewicht wie die Genotypen (99,2 mg) hatte, konnte bei allen Hybridsorten nur ein geringes bis mittleres Beerengewicht festgestellt werden. Bis auf die Sorte ‚*Appleberry*‘ wiesen alle Hybridsorten einen geringeren AC-Gehalt als die Genotypen auf (Tab.1). ‚*Appleberry*‘ hatte ebenfalls einen sehr viel höheren Gehalt an braunen Verbindungen, die die Fruchtqualität negativ beeinflussen (Jeppsson 2000).

Tab. 1: Mittelwerte des Gewichts, des Anthocyangehaltes und des Bräunungsindex der Geno- und Hybrid- (Hyb.) Typen (nach Jeppsson 2000)

TYP	Sorte	Beerengewicht mg	Anthocyangehalt mg/l	Bräunungsindex
	<i>Aron</i>	93,8	1530	0,80
	<i>Nero</i>	91,0	1590	0,74
G	<i>Viking</i>	95,5	1490	0,65
E	<i>var.elata</i>	98,1	1970	0,81
N	<i>BAr 2 12 30</i>	95,9	1450	0,60
O	<i>BAr 2 13 09</i>	98,0	1290	0,61
	<i>BAr 2 13 19</i>	95,7	1500	0,76
	<i>BAr C 11 28</i>	91,1	1460	0,58
H	<i>Stewart</i>	40,2	720	0,50
Y	<i>Appleberry</i>	47,5	1440	1,45
B.	<i>Burka</i>	59,6	170	0,70
	<i>Titan</i>	99,2	120	0,57

2.5 Verwendung

2.5.1 Verwendung als Lebensmittel

Die Aroniabeere wird in der Lebensmittel-, Farbstoff- und Pharmaindustrie eingesetzt (Salas Kastilio 1993). In der Lebensmittelindustrie werden folgende Zwischen- und Endprodukte aus der Aroniabeere gewonnen, die bei der Herstellung von Lebensmitteln in vielfacher Art und Weise verwendet werden können:

- Fruchtsaft
- Fruchtpüree
- Fruchtfaser
- Fruchtpulver
- Kerne
- Aroma- und Farbextrakte

Bei der Saftgewinnung liegt die Ausbeute zwischen 75 und 80 %. Durch das Einfrieren der Beeren bei einer Temperatur von -5 C° kann dieses Ergebnis um ca. 6 % gesteigert werden (Friedrich und Schuricht 1989). Der Aroniasaft (Abb. 6) ist dunkelrot bis schwarz, riecht nach Bittermandel und hat einen sehr herben Geschmack. Die in den Kernen enthaltenen blausäurehaltigen Verbindungen bleiben bei der Saftgewinnung im Pressrückstand zurück (Salas Kastilio 1993).



Abb. 6: Aroniasaft der Kelterei Walther

Der Direktsaft lässt sich gut filtrieren und benötigt auf Grund seines geringen Pektingehaltes keine Hilfsmittel zur Klärung. Der Säuregehalt des Saftes liegt zwischen 7 und 12 g/l. Der Saft ist in der Getränkeindustrie auf verschiedene Weise nutzbar. Zum einen kann er in Mischung mit anderen Säften als Mischfruchtsaft vertrieben werden, zum anderen werden aus dem Direktsaft alkoholische Getränke wie Likör, Schaum- und Dessertweine hergestellt. Er harmonisiert gut mit anderen Fruchtsäften, insbesondere mit Apfel- oder Johannisbeersaft.

In der Lebensmittelherstellung finden auch die Zwischen- und Endprodukte der Frucht in verschiedenen Produktionsbereichen Einsatz. Bei den Back- und Süßwaren (Füllung von Pralinen, Torten usw., Speiseeis, Kandierte Früchte) werden meist Fruchtpürees, Fruchtpulver, Fruchtsaft und Fruchtfasern der Aronia verwendet. Für Molkereiprodukte (Milch-shake, Joghurt usw.) wird die Aronia sowohl als Färbemittel als auch als Geschmacksgeber genutzt. In der Konservenindustrie wird die Apfelbeere für Kompotte, Grützen sowie zur Gelee- und Marmeladenherstellung eingesetzt. Sogar eine Würzsoße für Wildbret lässt sich unter Verwendung der Aroniabeeren herstellen (Seidemann 1993). Als Tiefkühl-beerenmischung oder als Sirup ist die Beere bereits in den osteuropäischen Ländern auf dem Markt (Salas Kastilio 1993). Die luft- oder gefriergetrocknete Beere eignet sich gut als Erfrischungsteekomponente oder als Zerealie in Fruchtriegeln (Ruwisch 1997; Ara 2002; Pirc 2002).

2.5.2 Verwendung zur Färbung von Lebensmitteln

Durch den hohen Gehalt an ACs kann die Aronia als natürliches Färbemittel verwendet werden. Selbst bei einer Verdünnung des Direktsaftes von 1:100 tritt noch keine Entfärbung ein (Liebster und Levin 1999). Da synthetische Lebensmittelfarbstoffe in vielen Ländern verboten sind, stellt der Einsatz von natürlichen Farbstoffen, die gut wasserlöslich sowie unkompliziert zu gewinnen sind, eine gute Alternative dar (Strigl, Leitner et al. 1995). Denkbar ist z.B. auch ein Ersatz der Sudan-Malve durch die Aronia. Die kostspieligen Blüten der Sudan-Malve werden für die Herstellung von natürlichen Farbstoffen genutzt (Salas Kastilio 1993).

Häufig wird der Saft zur Färbung anderer Obstsäfte (z.B. 5 bis 7% zu hellen Säften wie Rhabarbersaft) sowie Schaumweinen, Aperitifs, Cocktails, Likören und anderen Getränken verwendet. Ebenso wird der Saft der Aronia eingesetzt, um die Färbung von Marmeladen, v.a. Erdbeermarmeladen, und anderen Obstprodukten zu intensivieren. Auch aus dem Trester (Pressrückstand) lassen sich nach der Saftpressung noch Farbstoffe gewinnen. Etwa 5,8 % Anthocyane, 6,8 % organische Säuren (pH-Wert 3,5) und 0,3 % (+)-Catechine und

Leucanthocyane (sekundäre Pflanzenstoffe) lassen sich nach der Saftpressung im Trester nachweisen (Friedrich und Schuricht 1989). Um den AC-Gehalt zu steigern, wurde im Jahr 1996 von Wilska-Jeszka und Korzuchowska ein Versuch mit Chlorogensäure durchgeführt. Hierbei konnte nachgewiesen werden, dass die Zugabe von Chlorogensäure die Farbintensität von natürlichem Aroniasaft verstärkt (Wilska-Jeszka und Korzuchowska 1996).

2.5.3 Pharmazeutische und medizinische Verwendung

Die Verwendung der Aroniabeere in der Pharmaindustrie beschränkt sich derzeit ausschließlich auf den Einsatz als Färbemittel. Im Bereich der sogen. „Functional Drinks“ (z.B. Grüner Tee mit Aronia) zeichnet sich aufgrund ihrer gesundheitsfördernden Inhaltsstoffe erst allmählich ein gesteigertes Interesse an der Frucht ab (Ruwisch 1997).

In der Medizin kann insbesondere die hohe antioxidative Kapazität der Aronia von Bedeutung sein. Als antioxidative Kapazität wird die Eigenschaft eines Stoffes bezeichnet, der als Antioxidanz (Schutzstoff) wirkt. Antioxidantien schützen die im Körper vorhandenen Moleküle vor einer Oxidation, indem sie Elektronen abgeben oder Wasserstoffionen aufnehmen, ohne selbst in reaktionsfähige Moleküle umgewandelt zu werden. Moleküle, die eine Oxidation leicht auslösen können, sind bspw. molekularer Sauerstoff oder sauerstoffreiche Verbindungen (Oxidantien), sowie eine Reihe Atome oder Moleküle, die als freie Radikale bezeichnet werden (Watzl und Leitzmann 1999). Es wurde beobachtet, dass Aroniabeeren-Extrakte, die in einem Aceton/Wasser- oder Methanol/Wasser-Gemisch gelöst wurden, eine ähnlich hohe antioxidative Aktivität wie die Extrakte haben, die ausschließlich in heißem Wasser gelöst worden sind. Dieses Ergebnis schließt auf einen vereinfachten Einsatz von Aroniaextrakten als Antioxidanz in z.B. Nahrungsergänzungsmitteln, da auf den Einsatz von Lösungsmitteln komplett verzichtet werden kann (Kahkonen, Hopia et al. 2001).

3 Inhaltsstoffe der Aroniabeere

Die Aronia zeichnet sich insbesondere durch ihren hohen Gehalt an bioaktiven Inhaltsstoffen aus. Für die gesundheitsfördernde Wirkung auf den Menschen sind neben den ebenfalls in der Pflanze enthaltenen Vitaminen und Mineralstoffen v.a. diese bioaktiven Inhaltsstoffe verantwortlich.

3.1 Hauptnährstoffe

Hauptnährstoffe der Aronia, die zu ca. 85 % aus Wasser besteht, bilden die Kohlenhydrate. Ihr Anteil beläuft sich auf ungefähr 15 % in der Beere. Im Direktsaft sind bis zu 12 % reduzierende Zucker (41 g Glucose/l und 48 g Fructose/l) enthalten. Außerdem weist der Saft eine hohe Menge an Sorbit (65-100 g/l) auf, der fast der Menge des Gesamtzuckergehaltes der Beere entspricht. Der Zuckeralkohol Sorbit wird vom Körper zu Fructose umgewandelt und nur langsam aufgenommen. Gleichzeitig hat Sorbit eine leicht abführende Wirkung (Tanaka und Tanaka 2001; Ara 2002).

Die Aronia enthält insgesamt 5,6 g Ballaststoffe/100 g Frischgewicht (FG)(Tanaka und Tanaka 2001). Die zu den Kohlenhydraten gehörenden Ballaststoffe sind weitgehend unverdauliche, pflanzliche Nahrungsbestandteile, die einen positiven Einfluss auf die Gesundheit des Menschen haben. Der Gehalt des Ballaststoffes Pektin, der als Bestandteile der Zellwand der Aroniabeere vorkommt, schwankt in der Frucht zwischen 0,3 und 0,6 %. Der Direktsaft ist dagegen so gut wie pektinfrei (Strigl, Leitner et al. 1995).

In einer Studie von Stroev und Martynov aus dem Jahr 1979 ist untersucht worden, ob der Zuckergehalt der Beere erhöht werden kann. Dabei wurde der Einfluss des Wachstumsregulators Phytohormon Chlorcholinchlorid (wasserlösliche Ammoniumverbindung) auf die Blätter und Früchte der Aronia beschrieben. Die Ammoniumverbindung fördert die Zellteilung und stärkt damit das Fruchtholz junger Obstbäume. Der Wachstumsregulator ist seit 1967 in Früchten nachweisbar und beeinträchtigt möglicherweise die Fruchtbarkeit von Wiederkäuern sowie Pferden oder Kaninchen. Im deutschen Obst- und Gemüseanbau ist er daher nicht mehr zugelassen. Die von der WHO erlaubte Tagesdosis für einen Erwachsenen liegt bei 0,05 mg/kg Körpergewicht (KG).

In dieser Studie sind die Aroniapflanzen während der Dauer eines Jahres regelmäßig mit verschiedenen Mengen Chlorcholinchlorid behandelt worden. Zu Analyse Zwecken wurden die wasserlöslichen Polysaccharide (Vielfachzucker) anschließend aus den Früchten und den Blättern isoliert. Das Ergebnis der Behandlung war eine Anhäufung von Polysacchariden in den Früchten: Im Vergleich zu der Ausgangsmenge war die Menge an Polysacchariden je nach Frucht um die Hälfte bis um das Doppelte erhöht (Stroev und Martynov 1979).

Fette sind nur in ganz geringen Mengen (<1%) in der Frucht enthalten. Der Gehalt an Glycerinen in den Samen der Aronia beträgt $19,3 \text{ g/kg}^{-1}$ Trockensubstanz (TS), wobei die hauptsächlich vertretenen Fette Phospholipide ($2,8 \text{ g/kg}^{-1}$ TS) und Stereole ($1,2 \text{ g/kg}^{-1}$ TS) darstellen (Zlatanov 1999).

Der Gehalt an Proteinen in der Beere beträgt ca. 0,7 g/100 g FG. Die nachfolgend dargestellten Angaben der in der Aronia enthaltenen Aminosäuren sind Mittelwerte der untersuchten Beeren (Tab. 2):

Tab. 2: Zusammensetzung der Aminosäuren in der Aronia (nach Ara 2002)

Aminosäure	Menge in mmol/l
Asparagin	7,0
g-Aminobuttersäure	0,8
Glutamin	0,7
Asparaginsäure	0,5
Gutaminsäure	0,5
Serin	0,5
Threonin	0,5
Ammoniak	0,4
Prolin	0,4
Alanin	0,3
Arginin	0,15
Glycin	0,1
Lysin	0,1
Valin	0,1
Histidin	0,09
Phenylalanin	0,05
Isoleucin	0,04
Leucin	0,03
Tyrosin	0,02
Methionin	in Spuren
Ornithin	in Spuren

3.2 Organische Säuren

Weitere Inhaltsstoffe der Aronia sind eine Reihe organischer Säuren. Die am häufigsten vertretene Säure ist die L-Äpfelsäure (2-Hydroxybernsteinsäure) mit einer Menge von 9,0 g/l Direktsaft. Eine weitere organische Säure ist die Chlorogensäure (5'-caffeyl China-säure), die mit einem Gehalt von 4,0 g/l Direktsaft in der Beere vorkommt (Abb. 7). Außerdem enthält die Aroniafrucht größere Mengen an Bernsteinsäure (1,5 g/l Direktsaft) sowie Citronen-, Shikimi,- und Iso-Citronensäure, die aber nur in geringen Konzentrationen vorliegen (Ara 2002).

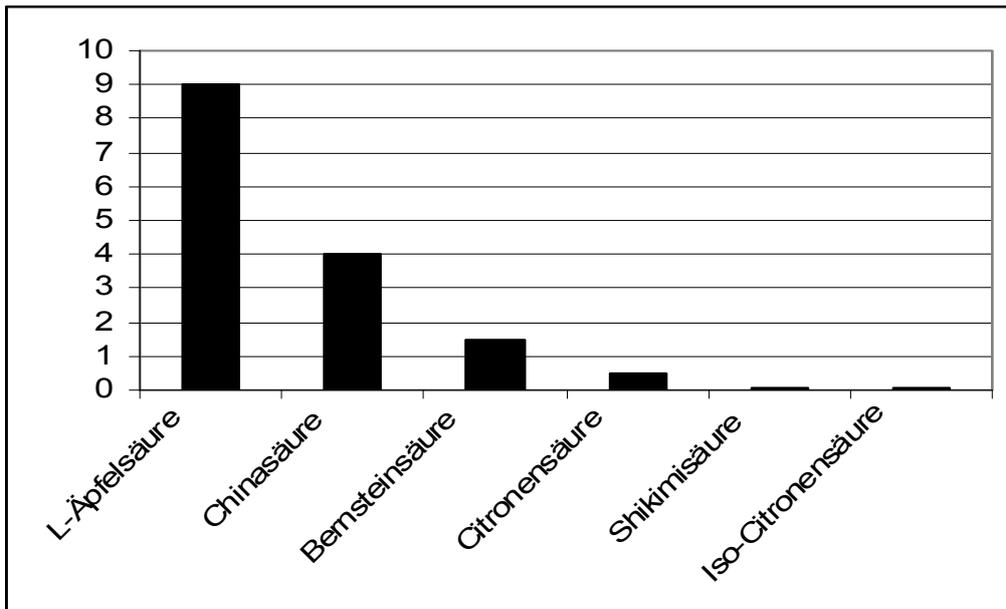


Abb. 7: Gehalt an organischen Säuren in der Aronia (nach Ara 2002)

3.3 Vitamine

Das Spektrum der Vitamine in der Aronia ist umfangreich. Bis auf die Vitamine B₁₂ und D sind alle für den Menschen notwendigen Vitamine in der Aronia enthalten. Insbesondere der Gehalt an Carotinoiden ist im Vergleich zu anderen Beeren in der Apfelbeere sehr hoch. Carotinoide sind eine Gruppe natürlicher Farbstoffe, deren häufigster Vertreter das β -Carotin (Provitamin A) ist. Der Gehalt an β -Carotin in der Apfelbeere liegt im Durchschnitt bei 0,77 mg/100 g FG und deckt bei einem Verzehr von 120 g die empfohlene tägliche Nährstoffzufuhr an Provitamin A von 1,0 mg/Tag. Der Gehalt an β -Cryptoxanthin (ebenfalls ein Carotinoid) beträgt 0,46 mg/100 g FG. Auch die meisten anderen Vitamine sind in der Aroniabeere enthalten (Tab. 3).

Abhängig vom Anbaugebiet wurden Abweichungen im Vitamingehalt der Aroniabeeren festgestellt. So haben bspw. in Russland geerntete Beeren einen höheren Gehalt an Vitamin C, β -Carotin, β -Cryptoxanthin und organischen Säuren als Beeren, die in Amerika geerntet wurden (Tanaka und Tanaka 2001).

Tab. 3: Vitamingehalt der Aronia im Direktsaft, Trockensubstanz (TS) und Frischgewicht (FG)

Vitamin	mg/100 ml Direktsaft (Ara 2002)	mg/100 g TS (Salas Kastilio 1993)	mg/100 g FG (Tanaka und Tanaka 2001)
A	k.A.	1,1 - 2,4	0,77
E	k.A.	0,8 - 3,1	1,42
K	k.A.	0,8 - 1,0	0,024
B₁	0,05	k.A.	0,018
B₂	0,06	0,13	0,020
B₆	0,055	k.A.	0,028
Folsäure	k.A.	0,1 - 0,21	0,003
C	0,02	10 - 50	13,7
Niacin	0,34	0,5 - 0,8	0,30
Pantothensäure	0,22	k.A.	0,28

3.4 Mineralstoffe

Wie bei allen Früchten ist der Gehalt an Mineralstoffen in der Aronia hoch, wobei der Gehalt an Kalium mit Abstand am höchsten ist (Ara 2002). Für die tägliche Mineralstoffversorgung kann die Aronia auch durch ihren Gehalt an Zink und Eisen einen Beitrag leisten. Andere Mineralstoffe sind ebenso in beachtlichen Mengen in der Beere enthalten (Tab. 4).

Tab. 4: Mineralstoffgehalt der Aronia im Direktsaft, Trockensubstanz (TS) und Frischgewicht (FG)

Mineralstoff	mg/l Direktsaft (Ara 2002)	mg/100g TS (Salas Kastilio 1993)	mg/100 g FG (Tanaka und Tanaka 2001)
Natrium	5,0	k.A.	2,6
Kalium	2850	k.A.	218
Calcium	150	k.A.	32,2
Magnesium	140	k.A.	16,2
Schwefel	54	k.A.	k.A.
Jod	k.A.	0,0064	k.A.
Kupfer	0,5	k.A.	0,044
Mangan	7	k.A.	0,175
Zink	1,3	k.A.	0,147
Eisen	4	k.A.	0,93

3.5 Sekundäre Pflanzenstoffe

Für die gesundheitsfördernde Wirkung der Beere sind hauptsächlich die bioaktiven Pflanzeninhaltsstoffe in der Aronia verantwortlich. Die sog. sekundären Pflanzenstoffe (auch Sekundärmetaboliten oder bioaktive (Inhalts-)Stoffe genannt) werden im Sekundärstoffwechsel einer Pflanze gebildet und kommen nur in geringen Mengen vor. Im primären Stoffwechsel werden die für die Pflanze überlebensnotwendigen Nährstoffe (Kohlenhydrate, Proteine und Fette) gebildet, während der Sekundärstoffwechsel nur in ganz bestimmte Zellen stattfindet und für das Überleben der Zelle entbehrlich ist.

Sekundäre Pflanzenstoffe bestehen aus einer Fülle unterschiedlicher chemischer Verbindungen und übernehmen wichtige Funktionen in der Pflanze. Zum einen nutzt die Pflanze die sekundären Pflanzenstoffe zur Abwehr von Schädlingen, Krankheiten und zum Schutz vor freien Radikalen. Zum anderen locken ihre Farb-, Geschmacks- und Geruchsstoffe Insekten und andere Tiere an, die ihre Vermehrung über die Bestäubung oder die Samenverbreitung garantieren. Außerdem dienen sie der Pflanze als Wachstumsregulator.

Auf den menschlichen Körper haben die meisten sekundären Pflanzenstoffe eine gesundheitsfördernde Wirkung. Sie wirken präventiv auf Herz-Kreislaufkrankungen, entzündungshemmend, antimikrobiell, antioxidativ und haben sogar einen positiven Einfluss auf Krebserkrankungen. Gegen gesundheitsschädliche sekundäre Pflanzenstoffe wie Solanin, das z. B. in den grünen Stellen von Kartoffeln gebildet wird, wurden vom Menschen im Laufe der Zeit Verhaltensmuster entwickelt (Kartoffeln kochen), die den Stoff ungefährlich für den menschlichen Organismus machen. Bei einer normalen Mischkost liegt die tägliche Aufnahme an sekundären Pflanzenstoffen bei etwa 1,5 g (Watzl und Leitzmann 1999).

In der Aronia ist insbesondere der Anteil an phenolischen Verbindungen sehr hoch. Unter den Polyphenolen zählen die Flavonoide zu den am häufigsten in der pflanzlichen Nahrung vorkommenden Verbindungen. Innerhalb dieser Verbindungsklasse sind vor allem Anthocyane (ACs) und Proanthocyanidine (PAs) vermehrt in der Aroniabeere vertreten.

Polyphenole

Polyphenole stellen keine einheitliche Stoffgruppe dar. Phenolische Verbindungen sind Substanzen, die mindestens einen aromatischen Ring enthalten (Abb. 8). An diese Ringe sind meist mehrere Hydroxylgruppen oder daraus entstandene Derivate gebunden (Richter 1988).

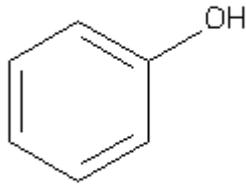


Abb. 8: Strukturformel eines Phenols (nach Watzl und Leitzmann 1999)

Polyphenole werden nach ihrem Kohlenstoffgerüst in folgende Hauptgruppen unterteilt (Watzl und Leitzmann 1999):

- Phenole
- Phenolsäuren
- Hydroxycimtsäuren
- Cumarine
- Flavonoide
- Lignane
- Lignine

Der Mensch nimmt am Tag durchschnittlich 1 g Polyphenole zu sich (Scalbert und Williamson 2000), die er überwiegend über Früchte, Gemüse, Nüsse und Getränke (v.a. Saft, Wein, Tee und Kakao) aufnimmt. Es sind jedoch nicht alle Polyphenole, die sonst typischer Weise in Beerenobst vorkommen und für den Menschen nützlich sind, auch in der Aroniafrucht enthalten. Auffällig ist, dass das Polyphenol Ellagitannin, das in den meisten Beerensorten (z.B. Erdbeeren, Himbeeren) vorkommt und eine starke antimikrobielle Wirkung hat (Puupponen-Pimia, Nohynek et al. 2005), bisher nicht in der Aronia nachgewiesen werden konnte (Kahkonen, Hopia et al. 2001).

Polyphenole sind v.a. im Schalen- und Randbereich der Beeren enthalten, was u.a. daran liegt, dass sie in ihrer Funktion als Antioxidanz das darunter liegende Gewebe schützen sollen (Watzl und Leitzmann 1999).

Tanaka und Tanaka haben in einer Studie einen durchschnittlichen Polyphenolgehalt i.H.v. ca. 740 mg/100 g FG festgestellt (Tanaka und Tanaka 2001). Zwischen den einzelnen Sorten gibt es geringfügige Abweichungen. So liegt der Polyphenolgehalt der Sorte 'Nero' mit 690 mg/100 g FG z. B. leicht darunter (Benvenuti, Pellati et al. 2004). Da die Gallussäure die Ursprungsverbindung für alle aromatischen Verbindungen darstellt, wird der Poly-

phenolgehalt bei chemischen Untersuchungen meistens in Gallussäure oder Gallussäure-äquivalent angegeben.

Flavonoide

Flavonoide sind allgemein die umfangreichste Gruppe der Polyphenole und leiten sich strukturell vom Flavan ab, dessen Struktur aus zwei aromatischen Ringen (A und B) und einem O-heterocyclischen C-Ring besteht. Die einzelnen Kohlenstoffatome und auch das Heteroatom im C-Ring sind dabei fortlaufend nummeriert (Abb. 9). Bei der Bildung verschiedener Flavonoide werden funktionelle Gruppen (R) in unterschiedlichen Positionen an die aromatischen Ringe angehängt (Beecher 2003).

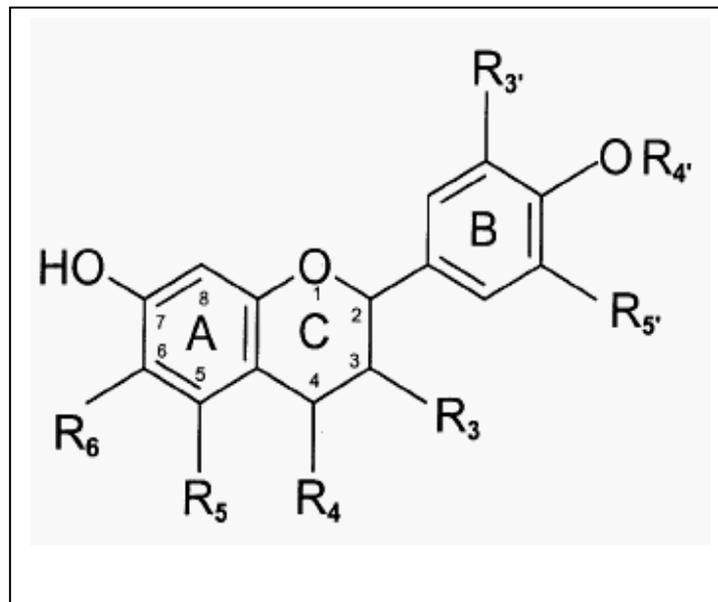


Abb. 9: Grundstruktur eines Flavonids mit verschieden Resten R (nach Beecher 2003)

Entsprechend der Position der Bindungen zwischen B und C-Ring, der Position der C-Ring Doppelbindung und der funktionellen Gruppen am C-Ring werden die Flavan-Derivate in sechs Unterklassen eingeteilt, aus der sich die folgende tabellarische Einteilung der Flavonoide ergibt (Tab. 5):

Tab. 5: Unterklassen der Flavonoide entsprechend ihrer chemischen Struktur (nach Beecher 2003)

Flavonoid:	Position der B- C- Ring Verbindung	Stelle der C-Ring Doppelbindung	Funktionelle Gruppen am C-Ring
Flavonole	2	keine	3-Hydroxy oder 3-O-gallate
Flavone	2	2-3 Doppelbindung	4-Oxo
Flavanone	2	keine	4-Oxo
Flavan-3-ole	2	2-3 Doppelbindung	3-Hydroxy, 4-Oxo
Anthocyane	2	1-2, 3-4 Doppelbindung	3-Hydroxy
Isoflavone	3	2-3 Doppelbindung	4-Oxo

Zu den Flavonolen, die in fast allen pflanzlichen Lebensmitteln vorkommen, gehören Quercetin, Rutin, Kaempferol, Myricetin und Isorhamnetin. Die häufigsten Flavone sind Luteolin, Apigenin, die in grünblättrigen Gewürzen (z.B. Petersilie) vermehrt vorhanden sind. Zitrusfrüchte enthalten die Flavanone Hesperetin, Naringenin und Eriodictyol. Zu den Flavan-3-olen gehören (+)-Catechin, Gallocatechin, (-)-Epicatechin, Epigallocatechin, Epicatechin-3-Gallate und Epigallocatechin-3-Gallate. Flavan-3-ole sind v. a. in schwarzem und grünem Tee sowie in Rotwein enthalten. ACs wie z. B. Cyanidin, Delphinidin, Malvidin, Pelargonidin, Peonidin und Petunidin sind für die Färbung von rotem oder blauem Beerenobst verantwortlich. Die in der Sojabohne und anderen Gemüsen enthaltenen Isoflavone sind vorwiegend Daidzein, Genistein, Glycitein, Biochanin A und Formononetin (Beecher 2003).

Innerhalb der jeweiligen Unterklassen können funktionelle Gruppen an verschiedenen Positionen des Grundgerüsts (vor allem am A- und B-Ring) des Flavonoids substituiert werden. Außerdem wird das Spektrum möglicher Derivate durch die Bindung mit Zuckern, Sulfat- oder Acetylresten vergrößert, so dass bislang über 5000 verschiedene natürliche Flavonoide bekannt sind (Harborne und Williams 2000).

Generell haben Flavonoide eine gesundheitsfördernde Wirkung auf den Menschen. Einige Flavonoide haben eine gefäßverstärkende Wirkung, andere wirken entzündungshemmend oder haben eine antivirale und krampflösende Wirkung. Das Flavonol Quercetin ist ein starkes Antioxidanz. Es schützt die Körperzellen vor freien Radikalen und verlangsamt dadurch die Zelloxidation. Quercetin und Kaempferol haben aufgrund ihrer Struktur eine effektivere antioxidative Kapazität als Anthocyane (Zheng und Wang 2003).

Flavonoide dienen der Pflanze auch zum Schutz vor Schädigung durch intensive UV-Strahlung. Die Schutzfunktion besteht zum einen in der Absorption der UV-Strahlung

(Harborne und Williams 2000), zum anderen in ihrer antioxidativen Wirkung gegen freie Radikale.

Die bisherigen Untersuchungen über die Flavonoid-Zusammensetzung der Aronia beschränken sich auf eine Studie von Slimestad et al. aus dem Jahr 2005. Bei dieser Studie sind neben den schon bekannten ACs sechs verschiedene Flavanone aus den Blüten und Beeren der Aronia isoliert worden: das Eriodictyol 7-O- β -Glucuronid und die Quercetin Derivate 3-O-(6''-O- β -arabinosyl- β -Glucosid), 3-O-(6''- α -rhamnosyl- β -Galactosid), 3-O-(6''- α -rhamnosyl- β -Glucosid), 3-O- β -Galactosid und 3-O- β -Glucosid. Der Gesamtgehalt an Flavonolen wurde mit 71 mg/100 g FG in der Aronia angegeben (Slimestad, Torskangerpoll et al. 2005).

3.5.1 Anthocyane

Anthocyane (ACs) gehören zur Gruppe der Flavonoide und sind neben den Carotinoiden die bekanntesten natürlichen Farbstoffe. Anthocyane (griechisch: anthos = Blüte, Blume; kyáneos = dunkelblau) sind wasserlöslich und kommen nahezu in allen Blüten und Früchten vor, die eine rote, blaue oder blauschwarze Färbung haben. Die Stoffgruppe der ACs selbst lässt sich in die zuckerfreien Anthocyanidine (Aglykone) und die Anthocyanine (Glykoside) unterteilen.

Die Farbe der ACs wird z. B. durch die Anzahl der Hydroxyl- und Methoxylsubstituenten des B-Rings und durch aromatischen Säuren beeinflusst (Taiz und Zeiger 2000). Eine zunehmende Hydroxylierung der Aglykone erzeugt eine intensive Blaufärbung (Delphinidin), während eine Methylierung von Hydroxygruppen zu einer Rotfärbung (Malvidin) führt. Aber auch Faktoren wie die Chelatbildung mit Eisen (III), Aluminium (III) und Chrom (III) bei gleichzeitiger Komplexbildung mit den Metallen führen zu einem veränderten Farbspektrum (Richter 1988). ACs sind als Lebensmittelfarbstoff unter der E-Nummer 163 zugelassen. Es sind etwa 250 unterschiedliche ACs bekannt.

ACs gelten als starke Antioxidantien (Ara 2002). Aufgrund der antioxidativen Wirkung wurde mehrfach der AC-Gehalt der Aronia bestimmt. In einer qualitativen wie auch quantitativen Analyse mittels TLC (Thin Layer Chromatography), HPLC (High Performance Liquid Chromatography) und UV/VIS-Spektrometrie wurde der AC-Gehalt in der schwarzen Apfelbeere der Sorten ‚Nero‘, ‚Viking‘ und ‚Rubina‘ gemessen. Nach einer Ethanolextraktion und Reinigung wurden durchschnittlich 650-870 mg Gesamtanthocyane pro 100 g Trockensubstanz (TS) ermittelt. Schwankungen ergeben sich aus den verschiedenen Parametern wie Reifegrad, Herkunft und Sorte. Als einziges Anthocyan wurde Cyanidin entdeckt. Bei den

an das Cyanidin gebunden Monosacchariden handelt es sich um Galactose (68,9%), Arabinose (27,5%), Xylose (2,3%) und Glucose (1,3%) (Abb. 10). Damit hat die Aronia im Gegensatz zu anderen Beerenfrüchten ein hohes aber einfaches AC-Spektrum (Oszmianski und Sapis 1988; Strigl, Leitner et al. 1994). Die am häufigsten vorkommenden ACs sind die Cyanidin 3-Galactoside.

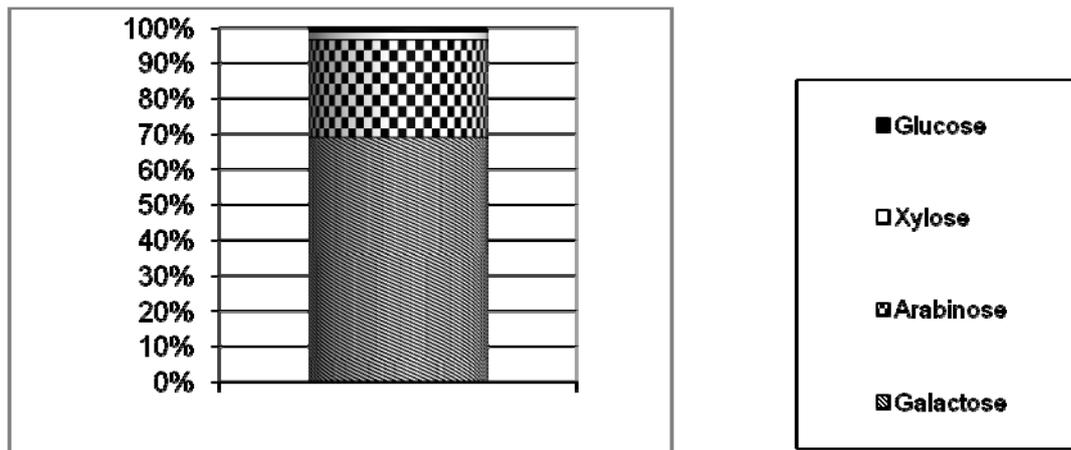


Abb. 10: Verteilung der Monosaccharide, an die das Cyanidin gebunden sind (nach Strigl, Leitner et al. 1994)

Es gibt Hinweise darauf, dass der AC-Gehalt in der Beere von der Dauer der Sonneneinstrahlung abhängt. Ausserdem scheinen niedrigere Temperaturen die Ansammlung von ACs in der Frucht zu fördern (Watzl and Leitzmann 1999; Kahkonen, Hopia et al. 2001).

3.5.2 Proanthocyanidine

Proanthocyanidine (PAs), auch kondensierte Tannine (englisch: *to tan* = gerben) genannt, gehören zu der Gruppe der Flavan-3-ole. Der Name Proanthocyanidine deutet darauf hin, dass es sich um farblose Vorstufen der Anthocyanidine handelt, da sich aus den PAs beim Erhitzen in saurer Lösung farbige Anthocyanidine bilden können (Taiz und Zeiger 2000). Die Verbindung wurde in den 1940er Jahren von dem aus Frankreich stammenden Pro-fessor Dr. Jack Masquelier zufällig entdeckt und isoliert.

Aufbau der Proanthocyanidine

PAs unterscheiden sich in der Natur durch ihren Aufbau und ihre Bindungen und basieren auf den Flavan-3-ol Untereinheiten (+)-Catechin und (-)-Epicatechin (Abb. 11). Die stereochemischen Unterschiede (räumliche Struktur der Moleküle) zwischen (+)-Catechin und (-)-Epicatechin sind von großer Bedeutung in der PA-Biosynthese. Reine (+)-Catechin-

/(-)-Epicatechin-Kondensate werden als Procyanidine bezeichnet und machen die größte Gruppe der PAs aus.

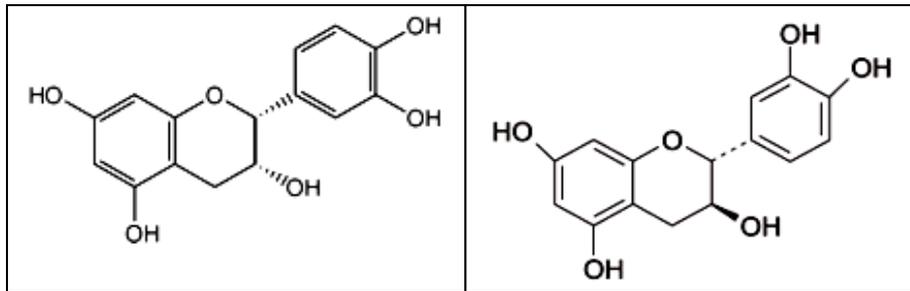


Abb. 11: Struktur von (-)-Epicatechin und (+)-Catechin

Die meisten PAs sind Oligomere und Polymere und haben eine C4 -> C8 Bindung. Allerdings ist auch eine C4 -> C6 Bindung möglich. Beide PAs werden als sog. B-Typen bezeichnet. Die Flavan-3-ol-Einheiten können auch doppelt, mit einer zusätzlichen Ether-Bindung zwischen C2 -> O7 (A-Typ), gebunden sein. B-Typ-PAs sind quantitativ häufiger in der Nahrung vertreten als A-Typ-PAs. So kommen sie z.B. in Himbeeren, Heidelbeeren, Erdbeeren, aber auch in Walnüssen und Pecannüssen vor. Dagegen kommen A-Typ-PAs hauptsächlich in Pflaumen, großfrüchtigen Moosbeeren (Cranberrys), Avocados, Erdnüssen, Curry und Zimt vor (Gu, Kelm et al. 2003).

Die Struktur der PAs ist von dem Flavan-3-ol Anfangs- und Aufbauelement, der Position und Stereochemie der Bindungen zu den Untergruppen, dem Grad der Polymerisierung (Anzahl der Moleküle) und dem Vorhandensein von funktionellen Gruppen abhängig.

Proanthocyanidin B1 bis B4 unterscheiden sich nur in der Anordnung des (+)-Catechins und des (-)-Epicatechins (Dixon, Xie et al. 2005). Bei der Isolierung der PAs gibt ihr Aufbau Aufschluss über die Herkunftsquelle, da das Proanthocyanidin B1 (Abb. 12) vermehrt in Trauben, Hirse und Cranberries, das Proanthocyanidin B2 in Äpfeln, Kakaobohnen und Kirschen und das Proanthocyanidin B3 in Erdbeeren, Hopfen und Weidenkätzchen vorkommt (Haslam 1977).

Aufnahmemenge

Die durchschnittliche tägliche Aufnahme an PAs lag Mitte der 90er Jahre in Amerika bei 57,7 mg pro Person. Hauptsächlich wurden polymere PAs aufgenommen (74%). Die häufigste Aufnahme von PAs beruht auf dem Verzehr von Äpfeln (32%). Daneben waren Schokolade (18%) und Trauben (18%) die vornehmlichen Quellen für die PA-Aufnahme. Auch die hauptsächlich vertretenen PAs der Apfelbeere haben eine polymere Struktur. Die

Gesamtmenge der in der Aronia enthaltenen PAs (664 mg/100 g FG) verteilt sich wie folgt (Abb.13):

- $5,2 \pm 0,2$ mg monomere PAs
- $12,5 \pm 0,4$ mg dimere PAs
- $10,3 \pm 0,3$ mg trimere PAs
- $40,3 \pm 0,8$ mg 4-6-mere PAs
- $52,9 \pm 3,1$ mg 7-9 mere PAs und
- $542,6 \pm 42,9$ mg polymere PAs (Gu, Kelm et al. 2004).

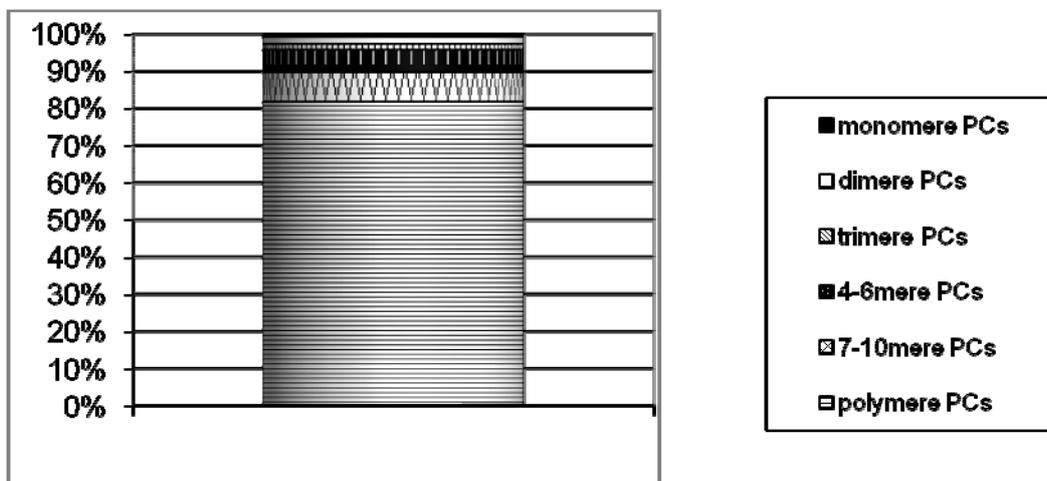


Abb. 12: Proanthocyanidin-Verteilung in der Aronia (nach Gu, Kelm et al. 2004)

Wechselwirkung mit Proteinen

PAs zeigen starke Wechselwirkungen mit Proteinen. Die Wechselwirkung von Tanninen und Proteinen im Speichel oder den Schleimhäuten wird für den adstringierenden Geschmack tanninhaltiger Lebensmittel und das damit verbundene Zusammenziehen des Mundes verantwortlich gemacht. Die Wechselwirkung wird durch die Anordnung von Wasserstoffbrücken zwischen den phenolischen Reststoffen und den polaren Gruppen im Protein erklärt. Beim Gerben sind die Tannine dafür verantwortlich, dass aus Tierhäuten Leder entsteht.

Tannine hemmen ebenfalls die Sekretion von Verdauungsenzymen *in vitro*, da Enzyme ebenfalls Proteine sind. Als *in vitro* bezeichnet man Vorgänge, die außerhalb des lebenden Organismus stattfinden, wogegen Versuche *in vivo* im lebenden Organismus durchgeführt werden. *In vivo* haben Tannine dagegen nur einen eingeschränkten Effekt auf die Gallensäureabsorption im Darm und können unverdauliche Komplexe mit den Proteinen eingehen (Horigome, Kumar et al. 1988; Ahmed, Smithard et al. 1991). Es ist jedoch

unwahrscheinlich, dass unspezifische Bindungen zwischen PAs und Proteinen deren biologische Eigenschaften beeinflussen können (Scalbert, Deprez et al. 2000).

Auch auf die Hormonproduktion im Verdauungstrakt haben die PAs einen reduzierenden Effekt. Demzufolge haben PAs eine protektive (schützende) Wirkung auf die Magenschleimhaut, indem sie die Sekretion der gastrointestinalen Hormone Gastrin und Histamin verringern. Auch die Prostaglandinsekretion wird durch PAs verringert, während die Superoxiddismutase-Aktivität gesteigert wird. Prostaglandin ist ein Gewebshormon, das u.a. eine entscheidende Rolle bei der Krebsentstehung spielt. Superoxid-Dismutase ist ein Enzym, das Zellen vor reaktiven Sauerstoffverbindungen z.B. vor Superoxid schützt (Iwasaki, Matsui et al. 2004).

Antikarzinogene Wirkung der Proanthocyanidine

Der positive Einfluss von PAs gegen Brustkrebs ist im Jahr 2003 von dem Forschungsteam um Eng und Ye bestätigt worden. Nach dieser Studie haben Procyanidin-Dimere aus Rotwein und Traubenkernen eine chemopräventive Wirkung gegen Brustkrebs, weil sie die Estrogenbiosynthese unterdrücken. Estrogen ist ein Hormon, das eine wichtige Rolle in der Tumorentwicklung spielt (Eng, Ye et al. 2003).

Antioxidative Wirkung der Proanthocyanidine

Wie alle phenolischen Verbindungen haben auch die PAs eine starke antioxidative Wirkung. Sie sind Elektronenspender und können Radikale, wie das Superoxidanion, binden (Ricardo-Da-Silva J. M. 1991; Saint-Cricq De Gaulejac, Provost et al. 1999). Das sog. „French paradox“, die gesundheitsfördernde Wirkung von Wein, wird u.a. dem hohen Gehalt an PAs im Wein zugeschrieben. Die PAs sind die am häufigsten vorkommenden Phenole im Rotwein und schützen das Blutplasma vor oxidativem Stress (den freien Radikalen). In einem Tierversuch von Koga, Moro et al. ist 1999 herausgefunden worden, dass die Aufnahme von PAs die Resistenz des Blutplasmas gegen oxidativen Stress steigern kann. Es ist anzunehmen, dass ganze PAs und deren Metaboliten (Zwischenprodukte des Stoffwechsels) zumindest zum Teil über den Darm absorbiert werden und auf diese Weise im Blut als Antioxidanz wirken können (Koga, Moro et al. 1999). Dieses Ergebnis ist 2002 in einem Versuch von Natella, Belevi et al. bestätigt worden. Nach der Anreicherung einer Mahlzeit mit PA-reichen Extrakten aus der Traube ist der oxidative Stress im Körper nach der Mahlzeit minimiert worden. Dieser Effekt wird durch eine Verringerung der Anzahl der Oxidantien und einer Steigerung des antioxidativen Levels im Blutplasma erzielt, was zu einer Resistenz des LDL-Spiegels (Low-Density-Lipoprotein-Spiegel) gegen oxidative Veränderungen führt (Natella, Belevi et al. 2002).

Die antioxidative Eigenschaft kann auch in der Dermatologie von Nutzen sein. Bei einer Hyperpigmentation (Chloasma) der Haut kann laut eines Versuchs von Yamakoshi, Sano et al. aus dem Jahr 2004 die Einnahme von PA-reichen Extrakten zu einer Verringerung der Pigmentation führen. Durch die Einnahme von PA-reichen Extrakten aus Traubenkernen kann eine Hyperpigmentation um bis zu 83% verbessert werden (Yamakoshi, Sano et al. 2004).

Weitere Wirkungsspektren

PAs werden zusätzlich eine antibakterielle, antivirale, entzündungshemmende und anti-allergene Wirkung zugesprochen. Die Studie von Foo et al. bestätigte im Jahr 2000 die antibakterielle Wirkung der PAs gegen die pathologischen Bakterien der Harnwegsinfektion *in vitro* (Foo, Lu et al. 2000). Außerdem wurde herausgefunden, dass PAs die Lipidperoxidation, die Thrombozytenaggregation (Zusammenballung der Blutplättchen) und die Gefäß-erweiterung positiv beeinflussen (Fine 2000). Bei der Lipidperoxidation reagiert eine Fettsäure mit einem freien Radikal. Bei diesem Prozess werden Elektronen aus der Zell-membran des Lipids entnommen und verursachen auf diese Weise eine Kettenreaktion, die zu Zellschädigungen führt (Watzl und Leitzmann 1999). Eine Studie aus von Murphy et al. (2003) hat bestätigt, dass die tägliche Aufnahme von Kakao-Flavanolen und Procyanidinen die Plasma (+)-Catechin- und (-)-Epicatechinkonzentration steigert und gleichzeitig die Thrombozytenaggregation senkt (Murphy, Chronopoulos et al. 2003).

Eine weitere Eigenschaft der PAs ist ihre Komplexbildung mit Metallen. Sie können über ihre Sauerstoff-Diphenolgruppen Komplexe mit Kupfer II (Mc Donald 1996) oder Eisen (Hurrell, Reddy et al. 1999) eingehen. Diese Wirkung kann aus ernährungsphysiologischen Gründen zu Problemen führen, da die Eisenabsorption im Körper gehemmt wird. Insbesondere in Ländern, in denen PA-haltige Lebensmittel zu den Hauptnahrungsquellen zählen, kann es bei einer einseitigen Ernährung zu einem Eisenmangel kommen. Zu diesen Ländern zählen v.a. die Länder der Dritten Welt, in denen sich die Bevölkerung in erster Linie von Bohnen und Hirse ernährt. Daher gehört eine Eisenmangelanämie zu den häufigsten Mangelkrankungen weltweit. Die Bindung von Eisen scheint aber auch einer der Gründe für die antimikrobielle Wirkung von PAs zu sein (Scalbert 1991).

4. Gesundheitliche Aspekte der Aronia

4.1 Schulmedizin und Volksheilkunde

Über den Einsatz der Aronia in der Schulmedizin sind vor allem Informationen aus der ehemaligen UdSSR vorhanden. Aufgrund der großen Menge bioaktiver Inhaltsstoffe zählt die Aronia in Russland zu den Heilpflanzen. In der ehemaligen Sowjetunion wurden Aronia-Präparate zur Behandlung von zahlreichen Krankheiten eingesetzt. Schon 1953 wurde eine blutdrucksenkende Wirkung der Aroniabeeren vermutet. Über 30 Jahre lang stellte eine Vitaminfabrik in Bijsk (Sibirien) unter Zusatz von synthetischem Vitamin C aus der Aroniabeere Vitamintabletten her. Diese so genannten „Vitamin P“-Tabletten wurden zur Behandlung von Bluthochdruckerkrankungen und bei Vitaminmangelkrankungen eingesetzt. Das „P“ bezeichnet den Einfluss der Flavonoide auf die Gefäßpermeabilität, die das Ausmaß der Durchlässigkeit der Blutgefäße für flüssige und feste Bestandteile des Blutes bestimmt.

Vielen Erkrankungen wurden in der ehemaligen UdSSR mit Produkten wie Aronia-Pulver und -Saft behandelt. Im Bereich der Inneren Medizin gibt es Aufzeichnungen über die Behandlung von Magen-, Darm-, Drüsen- sowie Leber- und Gallenblasenerkrankungen. Magenentzündungen, die aufgrund einer niedrigen Sekretionsfunktion entstehen, können durch die Einnahme von Aroniapräparaten deutlich gelindert werden. Aufgrund der Wirkung als Choleretika (galletreibend) wurde die Beere zur Behandlung von Leber- und Gallenblasenerkrankungen eingesetzt.

In der Kinderheilkunde der ehemaligen UdSSR wurde die Apfelbeere ebenfalls verwendet. Bei typischen Kinderkrankheiten wie Masern und Scharlach wurden die Beeren zur Heilung eingesetzt, was für deren antivirale und antibakterielle Wirkung spricht. Aufgrund des Vitamin- und Flavonidgehaltes wurde die Einnahme von Aroniaprodukten zur Stärkung des Immunsystems und bei Vitaminmangelkrankungen in der ehemaligen UdSSR lange Zeit empfohlen (Salas Kastilio 1993).

Eine besondere Bedeutung hat der Einsatz der Aroniabeere bei Vergiftungen (Toxikosen) durch Schwermetalle und bei somatischen Strahlenschäden. Nachdem entdeckt wurde, dass Aroniapräparate die Ausscheidung von radioaktivem Strontium steigert, wurde die Aroniabeere auch zur Behandlung von Strahlenkrankheiten eingesetzt (Salas Kastilio 1993).

4. Gesundheitliche Aspekte der Aronia

4.1 Schulmedizin und Volksheilkunde

Über den Einsatz der Aronia in der Schulmedizin sind vor allem Informationen aus der ehemaligen UdSSR vorhanden. Aufgrund der großen Menge bioaktiver Inhaltsstoffe zählt die Aronia in Russland zu den Heilpflanzen. In der ehemaligen Sowjetunion wurden Aronia-Präparate zur Behandlung von zahlreichen Krankheiten eingesetzt. Schon 1953 wurde eine blutdrucksenkende Wirkung der Aroniabeeren vermutet. Über 30 Jahre lang stellte eine Vitaminfabrik in Bijsk (Sibirien) unter Zusatz von synthetischem Vitamin C aus der Aroniabeere Vitamintabletten her. Diese so genannten „Vitamin P“-Tabletten wurden zur Behandlung von Bluthochdruckerkrankungen und bei Vitaminmangelerkrankungen eingesetzt. Das „P“ bezeichnet den Einfluss der Flavonoide auf die Gefäßpermeabilität, die das Ausmaß der Durchlässigkeit der Blutgefäße für flüssige und feste Bestandteile des Blutes bestimmt.

Vielen Erkrankungen wurden in der ehemaligen UdSSR mit Produkten wie Aronia-Pulver und -Saft behandelt. Im Bereich der Inneren Medizin gibt es Aufzeichnungen über die Behandlung von Magen-, Darm-, Drüsen- sowie Leber- und Gallenblasenerkrankungen. Magenentzündungen, die aufgrund einer niedrigen Sekretionsfunktion entstehen, können durch die Einnahme von Aroniapräparaten deutlich gelindert werden. Aufgrund der Wirkung als Choleretika (galletreibend) wurde die Beere zur Behandlung von Leber- und Gallenblasenerkrankungen eingesetzt.

In der Kinderheilkunde der ehemaligen UdSSR wurde die Apfelbeere ebenfalls verwendet. Bei typischen Kinderkrankheiten wie Masern und Scharlach wurden die Beeren zur Heilung eingesetzt, was für deren antivirale und antibakterielle Wirkung spricht. Aufgrund des Vitamin- und Flavonoidgehaltes wurde die Einnahme von Aroniaprodukten zur Stärkung des Immunsystems und bei Vitaminmangelerkrankungen in der ehemaligen UdSSR lange Zeit empfohlen (Salas Kastilio 1993).

Eine besondere Bedeutung hat der Einsatz der Aroniabeere bei Vergiftungen (Toxikosen) durch Schwermetalle und bei somatischen Strahlenschäden. Nachdem entdeckt wurde, dass Aroniapräparate die Ausscheidung von radioaktivem Strontium steigert, wurde die Aroniabeere auch zur Behandlung von Strahlenkrankheiten eingesetzt (Salas Kastilio 1993).

Die Eigenschaft, das Schwermetall Cadmium aus dem Körper auszuscheiden wurde in einer Studie von Kowalczyk et al. (2003) durch ein Experiment mit Ratten belegt. Demnach kann die Aufnahme von Anthocyanen (ACs), den Hauptflavonoiden der Aroniabeere, bei einer hohen Cadmiumbelastung bzw. Cadmiumexposition des Körpers sinnvoll sein.

Cadmium stimuliert in der Leber die Synthese von Metallthioneinen (niedrigmolekulare intrazelluläre Proteine), mit denen es einen Komplex bildet und über den Blutkreislauf zu den Nierenglomeruli transportiert wird. Dort wird das Cadmium in die Nierentubuli aufgenommen. Nach der Metabolisierung des Metallthion-Cadmium-Komplexes wird Cadmium freigesetzt und in den Nieren gebunden. Durch die Anlagerungen in den Nieren kommt es zu einer Schädigung des Organs.

Um die Symptome einer Cadmium-Toxikose zu reduzieren, wurden Ratten einer Cadmiumexposition ausgesetzt, gleichzeitig aber ACs aus der Aronia verabreicht. Nach der Aufnahme wurden die Veränderungen anhand von zwei Biomarkern (Asparaginsäure Aminotransferase und Alanin Aminotransferase) miteinander verglichen. Biomarker sind messbare Kenngrößen, die als Indikatoren für Änderungen genutzt werden. Nach der Aufnahme von Aronia-ACs waren die Biomarker, die vorher durch die Anlagerung des Cadmiums stark erhöht waren, herab reguliert. Außerdem wurden die Konzentration von Bilirubin und der Harnstoffgehalt im Blutserum gesenkt. Die Anlagerung von Cadmium in Leber und Niere war nach der Aufnahme von Aronia-ACs geringer als zuvor. Somit kann die Aufnahme von Aronia-ACs die Symptome einer Cadmium Vergiftung verringern (Kowalczyk, Kopff et al. 2003).

Der Einsatz der Aroniabeere in der Volksheilkunde ist nicht ausführlich dokumentiert. Lediglich der Einsatz der Apfelbeere zur Behandlung von Erkältungen der Ureinwohner Amerikas wurde aus dem Heimatland der Frucht überliefert (Slimestad, Torskangerpoll et al. 2005).

In der ehemaligen Sowjetunion und anderen osteuropäischen Ländern werden die Früchte sowie die Blätter der Aronia traditionell in der Volksmedizin eingesetzt. Blutdrucksenkende, galletreibende, gefäßverstärkende und entzündungshemmende Wirkungen werden genannt. Die Anwendungsgebiete sind vielfältig und gehen von der Frauenheilkunde (gegen Schwangerschaftserbrechen und zur Myombehandlung) über die Behandlung von Bluthochdruck, Vitaminmangelerkrankungen, Appetitlosigkeit und Gallenblasenerkrankungen bis zum Einsatz bei Arteriosklerose (Salas Kastilio 1993; Bundessortenamt 1999).

4.2 Wissenschaftliche Studien über die Wirkung der Aronia

Seit Anfang der 1990er Jahre werden vermehrt Studien über die Wirkung der Inhaltsstoffe der Aronia auf den menschlichen Organismus durchgeführt. Die meisten Studien stammen aus Ländern, in denen die Frucht in größerem Umfang angebaut wird, also aus Polen, Russland und Bulgarien. Da nicht alle Studien in englischer Sprache erhältlich sind, werden hier nur die Ergebnisse der in englischer Sprache verfügbaren Studien dargestellt.

Die überwiegende Anzahl der Studien untersuchen die gesundheitsfördernde Wirkung von ACs aus der Aronia.

4.2.1 Antioxidative Wirkung

Um die antioxidative Kapazität einer Substanz zu bestimmen, werden verschiedene Testmethoden eingesetzt. Eine Möglichkeit stellt die Ermittlung der Radikalfängerkapazität dar. Diese kann mit Hilfe eines H-Atom-Transfer-Tests gemessen werden. Auf diesem Gebiet ist die Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)-Testmethode die gängigste Methode. Dabei konkurrieren die Antioxidantien mit dem Substrat um die eingesetzten Peroxylradikale (freies Radikal).

Im Gegensatz dazu basieren Folin-Ciocalteu, Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC), Ferric reducing ability of plasma (FRAP) und 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazin (DPPH)-Testverfahren auf der Erfassung der antioxidativen Kapazität. Bei dieser Methode werden stabile Radikale gebildet. Hierbei wird gemessen, wie stark die untersuchte Substanz die Radikale im Vergleich zu bekannten Antioxidantien abfangen. Daneben werden auch enzymatische Verfahren wie das ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)-Testverfahren eingesetzt. Bei diesem Verfahren wird das aus ATBS gebildete Radikal erfassbar gemacht. Deswegen kann es beispielsweise als Substrat für Enzyme verwendet werden, die am Metabolismus freier Radikale beteiligt sind.

Antioxidative Wirkung im Vergleich mit anderen Beeren

Die Studie von Zheng und Wang aus dem Jahr 2003 befasst sich mit dem Vergleich der antioxidativen Aktivität von Blaubeeren, Cranberries, Preiselbeeren und Apfelbeeren. Dabei wurde festgestellt, dass die antioxidative Wirkung der Aronia sehr viel höher ist, als die der anderen Beeren. Dies kann damit erklärt werden, daß auch der Gesamtphenol- und AC-Gehalt höher ist als bei den anderen Beeren (Tab. 6).

Tab. 6: ORAC, Anthocyan- und Phenolgehalt der Beeren im Vergleich (nach Zheng und Wang 2003)

4	Beerensorte	5	ORAC ($\mu\text{mol Trolox Equivalent/g FG}$)	6	Anthocyane (mg Cyanidin-3 Glukoside/g FG)	7	Phenole (mg Gallussäure-equivalent/g FG)
10	Blaubeere	11	28,9	12	1,20	13	4,12
14	Cranberries	15	18,5	16	0,32	17	3,15
18	Preiselbeere	19	38,1	20	0,45	21	6,52
22	Apfelbeere	23	160,2	24	4,28	25	25,56

An phenolischen Säuren sind überwiegend Kaffeesäure und deren Derivate in der Apfelbeere vertreten, die beide eine sehr hohe antioxidative Aktivität (Kaffeesäure 20,6 %, Derivate 17,6 %) aufweisen. Daneben zeigen auch die enthaltenen Cyanidin-3-Arabinoside (18,4%) und Cyanidin-3-Galactoside (28,5 %) eine sehr hohe antioxidative Aktivität im Vergleich zu der gesamten antioxidativen Aktivität in der Aroniabeere (vergl. Anhang Tabelle 1). Die Phenole Quercetin und Cyanidin (mit 3',4'-dihydroxy-Substituenten im B-Ring und Konjugation zwischen A- und B-Ring) haben ebenfalls eine hohe Radikalbindung und kommen in allen vier Beeren vor (Zheng und Wang 2003).

Antioxidative Kapazität der einzelnen Fruchtbestandteile

Um die Abweichungen der antioxidativen Aktivität innerhalb der einzelnen Fruchtbestandteile zu analysieren, führten Oszmianski und Wojdylo 2005 eine weitere Studie durch, in welcher Unterschiede in der antioxidativen Kapazität zwischen dem Saft, dem Pressrückstand (Trester) und der ganzen Beere in Bezug auf die Trockensubstanz (TS) in der Beere festgestellt wurden. Hiernach hat der Trester einen sehr viel höheren Gehalt an Phenolen als der Saft und die Aroniabeere als Ganzes. Die Konzentration der phenolischen Säuren ist im Fruchtsaft höher als im Trester, was an der guten Wasserlöslichkeit liegt. Der Gehalt an phenolischen Verbindungen insgesamt sinkt mit einem steigenden Gehalt an Wasser. Dementsprechend liegt die höchste antioxidative Aktivität im Trester, gefolgt von der ganzen Beere und dem Fruchtsaft.

Die am häufigsten vertretene Gruppe der Polyphenole in der Apfelbeere bilden die polymere Proanthocyanidine (PAs), die überwiegend aus (-)-Epicatechin zusammengesetzt sind. Sie

machen 66% aller Polyphenole in der Aronia aus. Die durchschnittliche Menge an PCs steigert sich von 1578 mg/100 g Trockensubstanz (TS) im Saft über 5181 mg/100 g TS in der ganzen Beere bis zu 8191 mg/100 g TS im Trester. Etwa 25 % aller Polyphenole sind ACs, die in einer Mischung aus vier verschiedenen Cyanidin Glycosiden (3-Galactosiden, 3-Glucosiden, 3-Arabinosen und 3-Xylosiden) in der Aronia vertreten sind (vergl. Anhang Tabelle 2).

Die antioxidative Aktivität schwankt bei der DPPH-Testmethode zwischen 127 μM Trolox/100 g TS im Saft und 302 μM Trolox/100 g TS im Trester. Bei dem ABTS-Testverfahren liegt die antioxidative Kapazität bei 314 μM Trolox/100 g TS im Saft und 780 μM Trolox/100 g TS im Trester (Abb. 14).

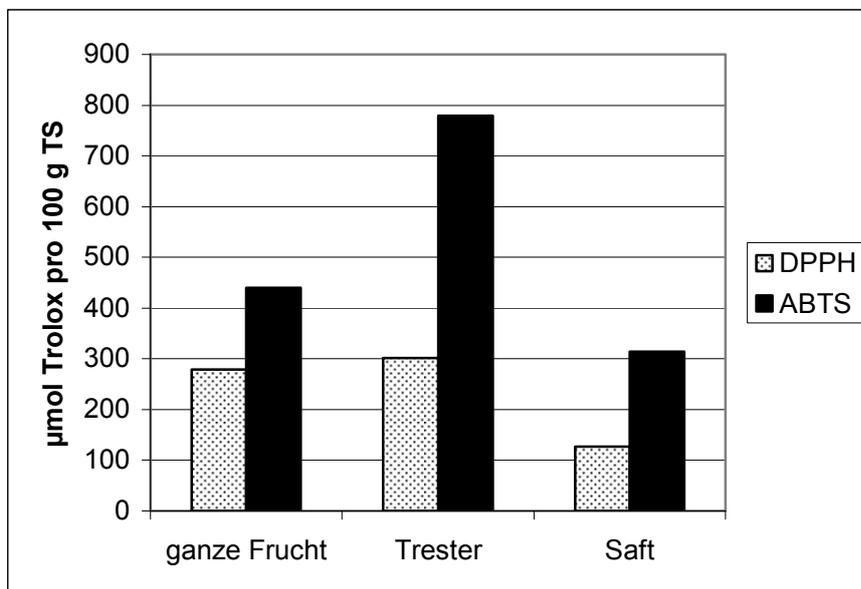


Abb. 13: Antioxidative Kapazität der ganzen Frucht, des Tresters und des Saftes der Aronia nach DPPH- und ABTS Testverfahren (nach Oszmianski und Wojdylo 2005)

Die antioxidative Wirkung der Aronia ist ähnlich hoch wie die traditioneller chinesischer Medizinpflanzen, die im Zusammenhang mit einer antikanzerogenen Wirkung stehen. Die hohe antioxidative Wirkung verdankt die Aronia ihrem Reichtum an O-Diphenol-Verbindungen wie Chinasäure, (-)-Epicatechin, Cyanidin und Quercetin Derivaten, die aufgrund ihrer O-Dihydroxy-Struktur im B-Ring eine höhere Stabilität gegenüber Radikalen haben. Außerdem ist das hohe molekulare Gewicht der PAs in der Aroniabeere maßgebend für die Bindungskapazität von freien Radikalen (Oszmianski und Wojdylo 2005).

Unterschiede in der antioxidative Aktivität der Aglykone und Glykoside

Zwischen den einzelnen Verbindungen der ACs in der Aronia gibt es kaum Unterschiede in der antioxidativen Kapazität. Entsprechend einer Studie von Pool-Zobel et al. aus dem Jahr 1999 wirken isolierte Aglykone (Anthocyanidine) und Glykoside (Anthocyanine) *in vitro* an menschlichen Dickdarmkrebszellen als sehr starke Antioxidantien und übersteigen sogar die antioxidative Kapazität von Vitamin C. Allerdings können Anthocyanine wie auch Anthocyanidine den intrazellulären Zustand einer oxidierten DNA -Base nicht ändern. Nur extrazellulär wirken sie antioxidativ und können Zellen gegen oxidativen Stress schützen. Glykoside sind mindestens genauso starke, wenn nicht stärkere Antioxidantien als Aglykone (Pool-Zobel, Bub et al. 1999).

Antioxidative Aktivität und oxidativer Stress

Oxidativer Stress steigert die Produktion von freien Radikalen im Körper. Um ihm entgegen zu wirken, können Antioxidantien z.B. durch die Nahrung aufgenommen werden. Als natürliche Antioxidantien haben die ACs in der Aronia einen protektiven Effekt auf die Entstehung von Herz-Kreislauferkrankungen. Anhand eines *in vivo* Versuches mit Ratten ist 2002 von Kowalczyk et al. der reduzierende Einfluss von ACs auf den oxidativen Stress, gemessen in TBARS, festgestellt worden (Kowalczyk, Kopff et al. 2002).

Um die Wirkung von Aroniasaft auf oxidativen Stress zu testen, wurde der menschliche Organismus in einem *in vivo* Versuch von Pilaczynska-Szczesniak et al. (2005) durch Training an einem Ruderergometer körperlich belastet. Dabei wurden die Veränderungen der Biomarker im Blut vor dem Training, direkt danach und 24 Stunden später gemessen. Als Biomarker wurden die Konzentration an Thiobarbitursäure-reaktiver Substanzen (TBARS), die Superoxid-Dismutase und die Glutathion-Peroxidase eingesetzt.

Hierbei zeigte sich, dass bei einer täglichen Aufnahme über einen Monat der Versuchspersonen von 150 ml Apfelbeerensaft (23 mg ACs/100 ml Saft) die Konzentration an TBARS im Blut verringert werden konnte (Abb. 15). TBARS ist ein Index für die Lipidperoxidation und den oxidativen Stress.

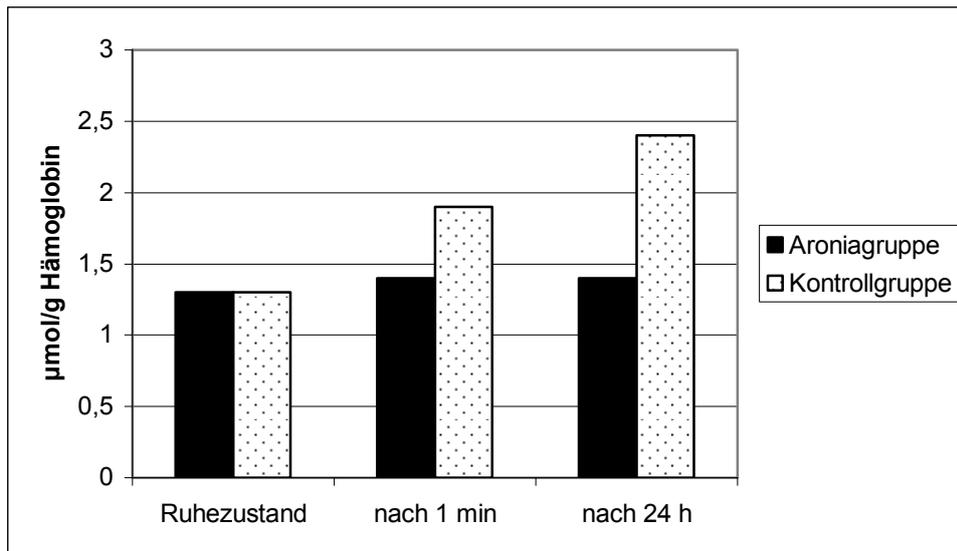


Abb. 14: Einfluss von Aronia Anthocyanen auf den oxidativen Stress (nach Pilaczynska-Szczesniak, Skarpanska-Steinborn et al.2005)

Die Aktivität der Glutathion-Peroxidase, die ein Bestandteil der zellulären Abwehr gegen die Folgen von oxidativem Stress ist, war 1 min nach dem Belastungstest gemindert. Dagegen nahm die Aktivität der Superoxid-Dismutase erst nach der 24 stündigen Erholungszeit wieder ab.

Außerdem wurde gezeigt, dass die gesteigerte Aufnahme von ACs aus der Aronia die durch eine körperliche Belastung induzierten oxidativen Schäden in den roten Blutkörperchen senken und somit vor oxidativem Stress schützen kann. Allerdings wurde diese Studie nur mit einer kleinen Versuchsgruppe durchgeführt, sodass weitere Studie nötig sind um dieses Ergebnis zu bestätigen (Pilaczynska-Szczesniak, Skarpanska-Steinborn et al. 2005).

4.2.2 Protektive Wirkung auf kardio-vaskulären Erkrankungen

Eine protektive Wirkung von Aroniapräparaten auf kardio-vaskulären Erkrankungen und deren Risikofaktoren (z. B. Bluthochdruck) wurde schon in der Volksheilkunde vermutet. Die im Folgenden dargestellten Studien befassen sich mit dem Einfluss der Aroniabeere auf diese Risikofaktoren. Zur Verdeutlichung sind im folgenden Schaubild die Schutzmechanismen bei einer Aufnahme von Aroniapräparaten dargestellt:

Schutzfunktionen vor kardio-vaskulären Erkrankungen durch:

*Schutz vor einer
Thrombozytenaggregation*

*Schutz vor freien Radikalen ROS
(Reactive oxygen species)*

*Schutz vor erhöhten Blutfettwerten
(Plasma Cholesterin, LDL-Cholesterin
und Triglycerinen)*

*Positiven Einfluss auf Diabetes
mellitus Typ 2*

Schutz vor einer Thrombozytenaggregation

Die Zusammenballung der Blutplättchen (Thrombozytenaggregation) hat einen großen Einfluss auf die Entstehung von Herz-Kreislauferkrankungen (HKE). Bei Menschen mit Bluthochdruck, Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus und Rauchern ist das Risiko einer Erkrankung erhöht. Ryszawa et al. (2006) beschreiben den positiven Einfluss von Aroniaextrakten auf die Thrombozyten-Aggregation bei Menschen mit kardio-vasculären Risikofaktoren. Die Aroniaextrakte verursachten eine konzentrationsabhängige Minderung der Superoxidproduktion bei Menschen mit den oben beschriebenen Risikofaktoren. Bei der Risiko-freien Kontrollgruppe wurden keine Änderungen festgestellt. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass Aroniaextrakte die Unterschiede in der Superoxidproduktion zwischen der Risiko- und Kontrollgruppe verringern und konzentrationsabhängig die Aggregation (Zusammenballung) der Blutplättchen verhindern. Die Wirkung tritt allerdings erst bei einer Phenolkonzentration von 1 µg/ml Blut ein. Bei einer geringeren Konzentration (0,001-1 µg Polyphenole pro ml Blut) wurde kein signifikanter Effekt auf die Thrombozytenaggregation festgestellt (Ryszawa, Kawczynska-Drozd et al. 2006).

Schutz vor freien Radikalen ROS

Um die Wirkung von Aronia-AC-Extrakten auf die koronaren Arterien zu untersuchen, wurden 2006 eine *in vitro*-Studie von Bell und Gochenaur an isolierten Arterien von Schweinen durchgeführt. Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) spielen bei der Entstehung von Herzkreislauferkrankungen eine große Rolle und sind an der Produktion von oxidativem Stress beteiligt. Da ACs gute Radikalfänger sind, wurden in diesem Versuch AC-reiche Extrakte der Aronia, Blaubeere und Holunderbeere auf ihre koronaren vasoaktiven und

vasoprotektiven Eigenschaften untersucht. Die Ergebnisse deuten auf eine endothelabhängige Entspannung in den koronaren Arterien bei der Aufnahme von Beerenextrakten hin. Besonders die Aronia-Extrakte haben eine starke Wirkung auf die koronaren Arterien. Schon bei einer geringen Konzentration können diese die koronaren Arterien vor ROS schützen (Bell und Gochenaur 2006).

Schutz vor erhöhten Blutfettwerten

Ein weiterer, weit verbreiteter Risikofaktor für die Entstehung atherosklerotischer Gefäßveränderungen sind erhöhte Blutfettwerte (Hyperlipidämie). Valcheva-Kuzmanova et al. (2006) zeigten, dass Aronia-Saft bei einer hochcholesterischen Ernährung eine blutfesttsenkende Wirkung hat. Vor und nach der Fütterung von Aroniasaft an Ratten wurden als Indikatoren das Lipoprotein-Profil, die Plasmalipide und die histopathologischen Veränderungen der Leber und der Aorta gemessen. Bei einer Einnahme von 5, 10 und 20 ml/kg KG Aroniasaft über 30 Tage änderte sich die Anzahl der Plasmalipide bei normal gefütterten Ratten nicht. Bei den mit einer 4%igen Cholesterin-haltigen Nahrung gefütterten Ratten wurde eine Erhöhung des Plasma-Cholsterins, des LDL-Cholsterins und der Triglyceride verhindert (Abb. 16-18).

In der Studie sind weder histopathologische Veränderungen in der Aorta oder der Leber, noch Veränderungen im HDL-Cholesterinspiegel festgestellt worden. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Einnahme von Aroniasaft die Blutfettwerte konstant halten und sogar verbessern kann (Valcheva-Kuzmanova, Kuzmanov et al. 2006).

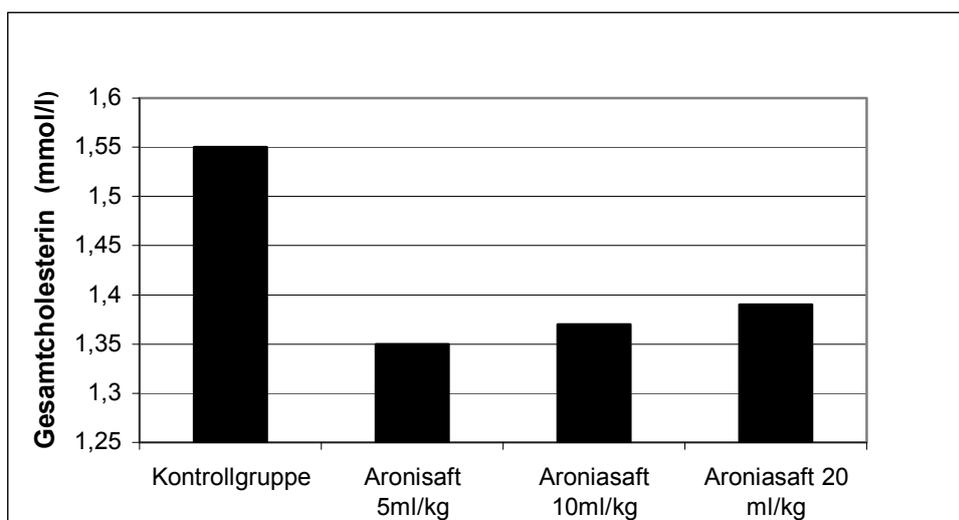


Abb. 15: Auswirkung einer Aroniasafts Supplementierung auf das Gesamtcholesterin (Valcheva-Kuzmanova, Kuzmanov et al. 2006)

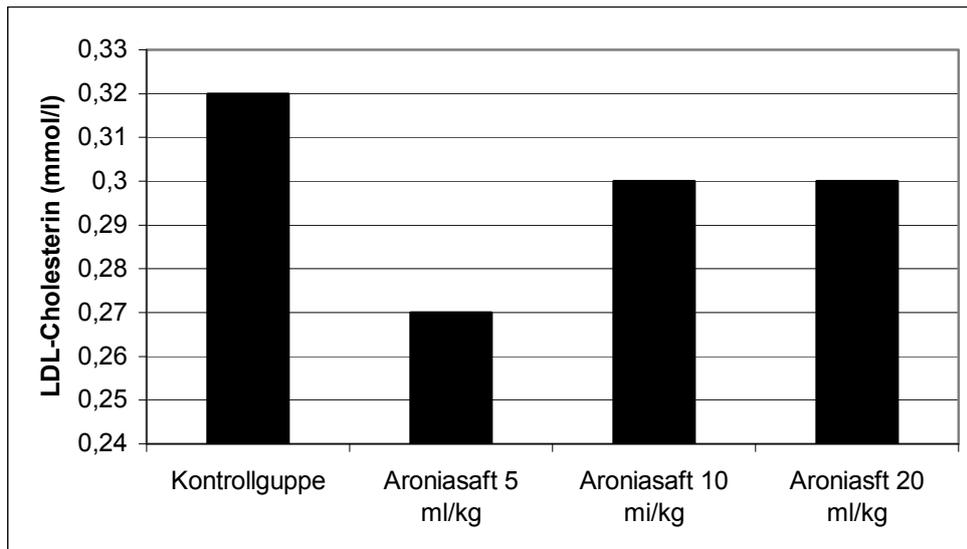


Abb. 16: Auswirkung einer Aroniasafts Supplementierung auf das LDL-Cholesterin (Valcheva-Kuzmanova, Kuzmanov et al. 2006)

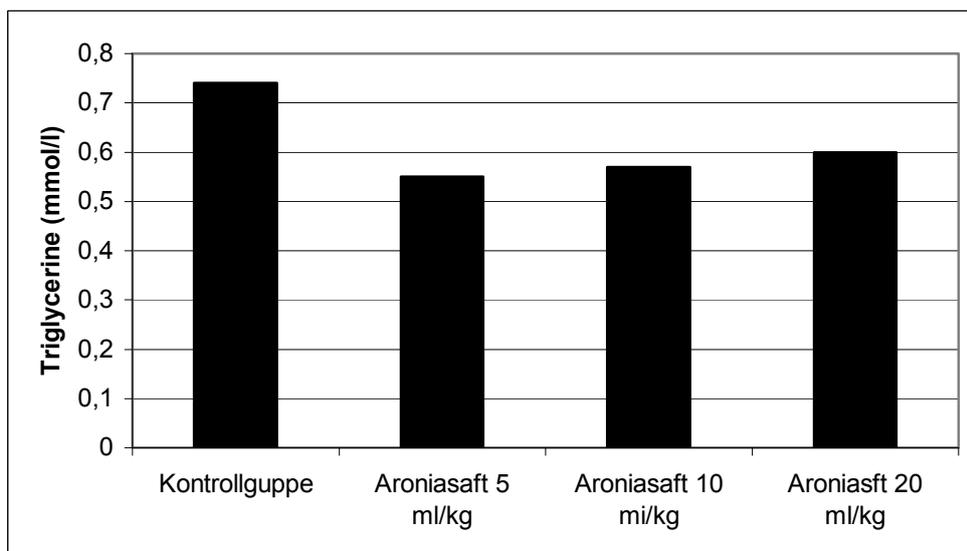


Abb. 17: Auswirkung einer Aroniasafts Supplementierung auf die Triglycerine (Valcheva-Kuzmanova, Kuzmanov et al. 2006)

Positiven Einfluss auf Diabetes mellitus Typ 2

Diabetes mellitus, eine Stoffwechselerkrankung, ist ebenfalls ein Risikofaktor für die Entstehung von HKE. Schon 2002 zeigten Simeonov et al., dass die Aufnahme von Aroniasaft einen positive Einfluss auf den Blutglucosespiegel von Diabetes mellitus Typ 2 Patienten hat. Bei dieser Studie wurden der Blutglucosegehalt, der HbA1c-Wert und der Plasmalipidspiegel von Diabetes mellitus Ty 2-Patienten 60 Minuten nach der letzten Saftaufnahme gemessen.

Bei einer täglichen Aufnahme von 400 ml Aroniasaft (2 mal 200 ml, mit oder ohne Mahlzeit) sank der Blutglucosespiegel beim Menschen nach 3-monatiger Einnahme von durchschnittlich 13,3 auf 9,1 mmol/l. Ebenfalls verringerten sich der HbA1c-Wert, der den Langzeitzuckerspiegel angibt, von 9,4 auf 7,5 %, der Cholesterinspiegel von 6,5 auf 5,1 mmol/l und der Plasmalipidspiegel des Blutes von 2,9 auf 1,7 mmol/l (Abb. 19). Bei einem erhöhten Blutdruck hatte der Aroniasaft außerdem eine blutdrucksenkende Wirkung (Simeonov, Botushanov et al. 2002).

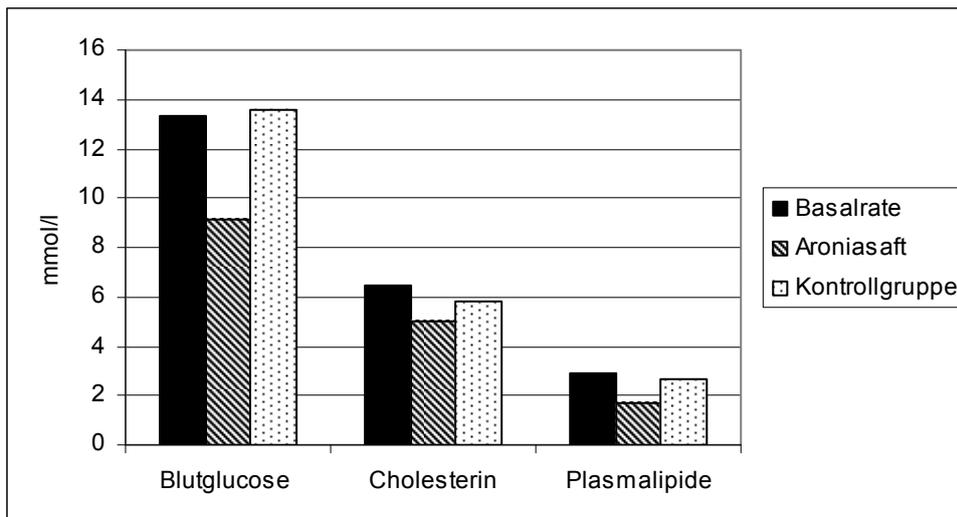


Abb. 18: Veränderungen der Blutglucose, des Cholesterins und der Plasmalipide im Vergleich zu der Basalrate und einer Kontrollgruppe (nach Simeonov, Botushanov et al. 2002)

4.2.3 Antimutagene Wirkung

Mutagene sind erbgutverändernde Stoffe. Sowohl chemische als auch natürliche Stoffe können mutagen sein, genauso wie Strahlung (z. B. UV-Strahlung, radioaktive Strahlung). Zu den chemischen Mutagenen zählen z. B. verschiedene Verbindungen des Zigarettenrauches. Auch bei der Zubereitung von Lebensmitteln können durch starkes Erhitzen oder durch Reaktion einzelner Inhaltsstoffe Mutagene wie beispielsweise Nitrosamine oder polyzyklische, aromatische Kohlenwasserstoffe (z.B. Benz(a)pyren) entstehen. Zur Prüfung auf Mutagenität einer Verbindung wird häufig der Ames-Test verwendet. Bei diesem Testverfahren werden Bakterien, die aufgrund einer bestimmten Mutation nicht mehr in der Lage sind, einzelne essentielle Aminosäuren zu synthetisieren, auf einem Nährboden kultiviert, dem genau diese Aminosäure fehlt. Ist die untersuchte Verbindung mutagen, findet mit einer statistischen Wahrscheinlichkeit auch eine Rückmutation zum Bakterien-Wildtyp statt, der die Aminosäure wieder synthetisieren und deshalb Kolonien bilden kann.

Ein weiteres Verfahren ist der Sister Chromatid Exchanges (SCEs)-Test, der zur Untersuchung der DNA zweier Schwester-Chromatiden eines sich verdoppelnden Chromosoms eingesetzt wird.

Antimutagen Wirkung auf aromatische Kohlenwasserstoffe

Drei Studien beschreiben die antimutagene Wirkung von Aroniapräparaten. Gasiorowski et al. (1997) zeigten, daß ACs, die aus Aronia isoliert wurden, die mutagene Aktivität der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe Benz(a)pyren und 2-Aminofluoren hemmen. Beim SCE-Test mit menschlichen Blutlymphozyten wurde *in vitro* eine signifikante Senkung der mutagenen Aktivität von Benz(a)pyren bei gleichzeitiger Inkubation mit Aronia ACs nachgewiesen. Bei der gleichzeitigen Behandlung mit dem Medikament Mitomycin C (Zytostatika) wurde nur noch ein eingeschränkter positiver Effekt festgestellt. Da ACs aus der Aronia die Entstehung und die Abgabe von Superoxid Radikalen in die Granulozyten (ein Teil der weißen Blutkörperchen) verhindern, wird vermutet, dass die antimutagene Wirkung von ACs auf ihre Eigenschaft als Radikalfänger zurückzuführen ist. Außerdem wird vermutet, dass ACs auch körpereigene Enzyme hemmen, die für die Aktivierung der promutagenen Verbindungen in den eigentlichen Mutagenen verantwortlich sind, die dann mit der DNA reagieren können (Gasiorowski, Szyba et al. 1997).

Im Vergleich mit synthetischen Verbindungen (dem Medikament Fluphenazin) haben die natürlichen ACs der Aronia *in vitro* allerdings eine sehr viel geringere, nämlich 6-9 mal schwächere, antimutagene Wirkung (Gasiorowski und Brokos 2001).

Antimutagene Wirkung auf Nitrosamine

Nitrosamine besitzen ein krebserzeugendes Potential und werden v. a. mit der Entstehung von Magenkrebs in Zusammenhang gebracht (Watzl und Leitzmann 1999). Eine Studie von Atanasova-Goranova et al. (1997) konnte zeigen, daß Aroniasaft die Nitrosaminbildung im Magen von Ratten unter experimentellen Bedingungen hemmt. In dieser Studie mit Aronia-Nektar und Tomatenpasten wurde analysiert, ob die Nitrosaminproduktion im Magen und damit das Risiko an Magenkrebs zu erkranken, durch die Einnahme von Aronia-Nektar gesenkt werden kann. Das Ergebnis zeigte, dass der Aronia-Nektar zum einen den pH-Wert im Verdauungstrakt ändern kann und zum anderen sein hoher Tanningehalt eine hemmende Wirkung auf die Nitrosaminbildung im Magen hat (Atanasova-Goranova, Dimova et al. 1997).

4.2.4 Antikancerogene Wirkung

Studien über die antikancerogene Wirkung der Aronia sind ausschließlich im Zusammenhang mit Darmkrebszellen bzw. Dickdarmkrebszellen publiziert worden. Darmkrebs ist in allen westlichen Industrieländern eine der häufigsten Krebsarten (Watzl und Leitzmann 1999). In Deutschland ist er die zweithäufigste Krebserkrankung bei Männern und Frauen. Daher ist die Relevanz dieser Studien groß, obgleich es sich nur um *in vitro*-Experimente handelt.

Die vier nachfolgend dargestellten Studien dokumentieren diese antikancerogene Wirkung auf Darmkrebszellen:

Vergleich der antikancerogenen Wirkung mit der von anderen Beeren

Zhao et al. (2004) haben den Einfluss von anthocyanreichen Extrakten (ARE) auf Dickdarmkrebszellen und gesunde Dickdarmzellen erforscht. Bei dieser Studie wurden ARE der Aronia, der Blaubeere und der Traube auf ihre chemopräventive Aktivität hinsichtlich Darmkrebs untersucht. Das Wachstum von Darmkrebszell-Derivaten HT-29 und unveränderten Dickdarmzellen wurde bei der Behandlung mit 10-75 µg monomeren ACs/ml Extrakt während einer Dauer von 72 h untersucht. Alle eingesetzten Extrakte hemmten das Zellwachstum der HT-29-Zellen. Die Extrakte aus der Apfelbeere wirkten am stärksten (Abb. 20). Bei einer Konzentration von 25 µg ACs pro ml Aronia-ARE wurde das Wachstum der HT-29-Zellen nach 48 h um etwa 50 % gehemmt. Das Wachstum der gesunden Zellen wurde im Gegensatz zu den Krebszellen bei niedrigen Extrakt-Dosierungen innerhalb von 72 h nur leicht beeinflusst. Die Aronia hatte unter den getesteten Beeren den höchsten Gehalt an Phenolen (737mg/g Extrakt) und zeigte die größte Hemmung auf die Proliferation der HT-29-Zellen (Zhao, Giusti et al. 2004).

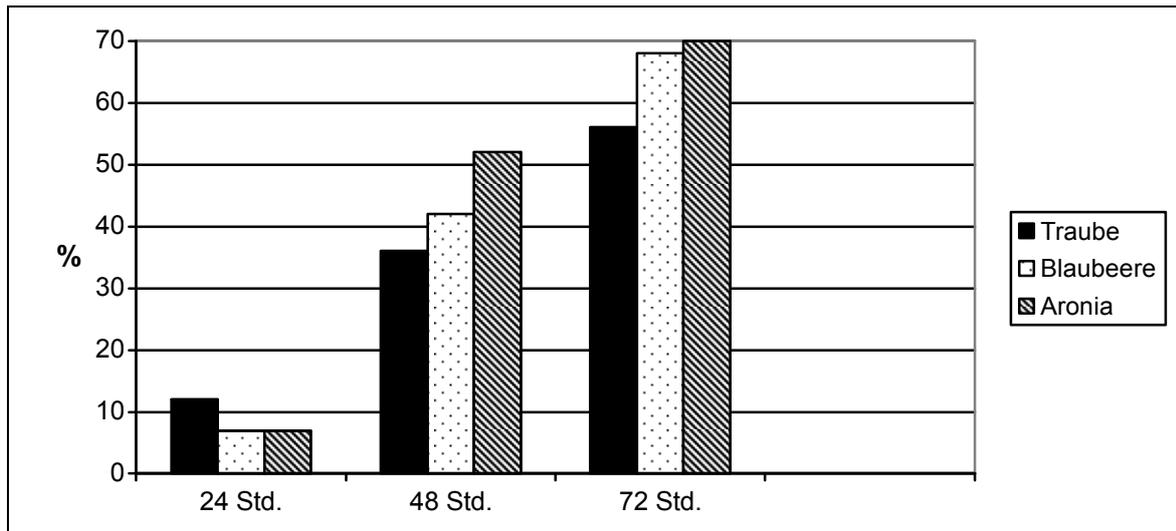


Abb. 19: Prozentuale Abnahme der Proliferation von HT-29-Krebszellen 24, 48 und 72 h nach dem Zusatz von 200 µg Phenole pro ml Trauben-, Blaubeere- und Aronia-ARE (nach Zhao, Giusti et al. 2004)

Folgendes Schaubild gibt einen Überblick aller Faktoren, auf die Aroniapräparate einen positiven Einfluss haben:

Einflussfaktoren für die Entstehung von Dickdarmkrebs und die positiven Effekte nach der Behandlung mit Aronia:

Induzierung einer Zellzyklusblockade in den Darmkrebszellen

COX -2, ein Enzym der Prostaglandinsynthese (verstärkt die Tumorbildung), wird

CEACAM1, das den Tumor unterdrückt, wird gesteigert

Änderungen in der Genexpression, welche das Zellwachstum und die Zellwucherung beeinflussen

Der Biomarker ACF für Krebs ändert sich positiv

Induzierung einer Zellzyklusblockade

Der Einfluss der Extrakte auf die Darmkrebszellen wurde von Malik im Jahr 2003 in einer Studie untersucht. Demnach hängt der hemmende Einfluss der Aronia-ARE auf das Wachstum der Dickdarmkrebszellen mit der Induzierung einer Zellzyklus-Blockade zusammen.

Gereinigte ARE der Aronia wurden an Zelllinien von Dickdarmkrebszellen und normalen Dickdarmzellen gemessen. Dabei hemmte eine Konzentration von 50 µg monomeren ACs/ml Aronia-Extrakt das Wachstum von menschlichen HT-29 Dickdarmkrebszellen innerhalb einer Behandlungszeit von 24 h um ca. 60%.

Eine anhaltende Behandlung mit dem Extrakt führt zu keinen weiteren Veränderungen in der Zelle. Gesunde Dickdarmzellen zeigen eine Wachstumshemmung von ca. 10% bei einem Behandlungszeitraum von 48 h mit der höchsten Konzentration (50 µg monomere ACs/ml Aronia-Extrakt). In der gleichen Zeit wird das Zellwachstum der HT-29-Krebszellen um 90% inhibiert (Abb. 21). Die behandelten Zellen zeigten eine Blockade im Übergang der G1/G0 und G2/M-Phase des Zellzyklus. Der Zellzyklus stoppt aufgrund der steigenden Menge an p21Waf1 und p27Kip1. Diese beiden Zellzyklus-Regulatoren sind Inhibitoren der Cyclin-abhängigen Kinasen (Cyclin Dependent Kinases, CDK), die wiederum eine Schlüsselrolle in der Steuerung des Zellzyklus spielen. Durch die geringere Menge an CDK werden auch Cyclin A, das die Zelle in die G2-Phase leitet und Cyclin B, welche essenziell für die Zellkernteilung ist, herunterreguliert (Daniel 2004).

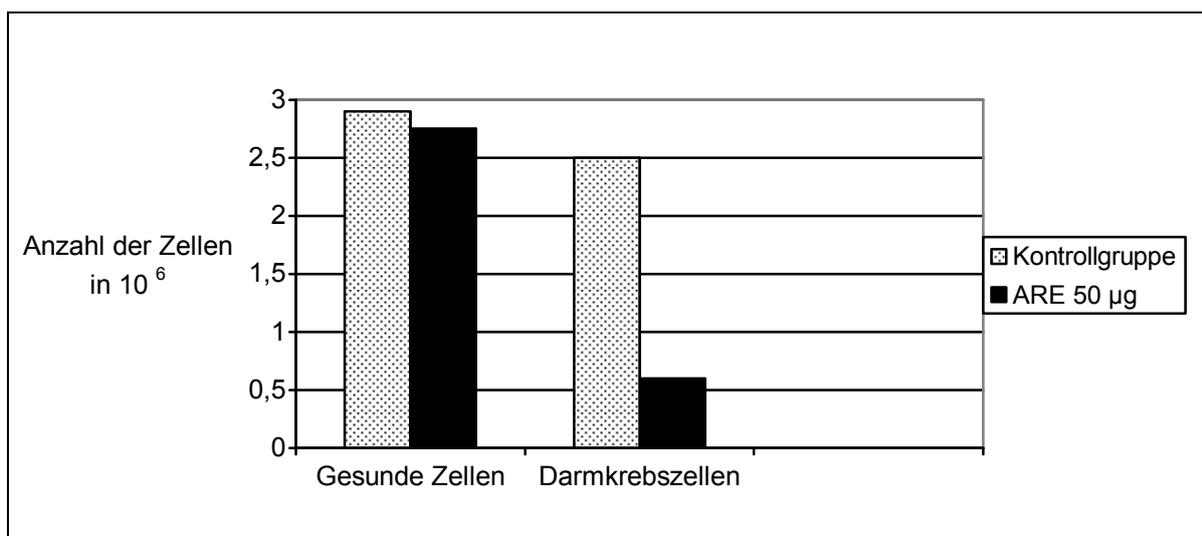


Abb. 20: Effekt von Aronia-ARE auf gesunde Darmzellen und HT-29 Krebszellen nach 24-stündiger Inkubation (nach Malik, Zhao et al. 2003)

Reduzierung der COX-2

Ein maßgeblicher Biomarker für Darmkrebs ist die Cyclooxygenase-2 (COX-2), die bei einer 24-stündigen Behandlung der HT-29 Zellen um 35% sank. COX 2 ist eine Unterform der Cyclooxygenase (COX), die ein intrazelluläres Enzym der Prostaglandinsynthese ist. Prostaglandin ist ein Gewebshormon, das u.a. eine entscheidende Rolle bei der Krebsentstehung spielt. 10 µg/ml Aronia-ARE ist die geringste Menge mit einer reduzierenden Wirkung auf COX 2 (Malik, Zhao et al. 2003).

Unterdrückung von CEACAM1

Dieser Mechanismus der Zellzyklusblockade ist in einer anderen *in vitro* Studie bestätigt worden. Bermudez-Soto et al. (2006) konnte zeigen, dass der Tumormarker CEACAM1 (carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1) bei wiederholter Behandlung von Darmkrebszellen des Types Caco-2 mit ernährungsüblichen Mengen eines phenolreichen Aronia-Saftes hochreguliert werden kann. CEACAM1 hat eine tumorunterdrückende Wirkung und ist durch die signifikante Regulierungsrolle in der Zellwucherung von großem Interesse im Frühstadium der Krebsentwicklung. Außerdem ist es vielleicht auch ein potentiellies Angriffsziel für chemopräventive Maßnahmen auf Basis von Nahrungsmitteln wie z.B. polyphenolreichen Früchten. Die tägliche Aufnahme von polyphenolreichen Lebensmitteln wie dem Aroniasaft hat *in vitro* einen stark antiproliferativen Effekt auf die Darmkrebszelllinie Caco-2 (Bermudez-Soto, Larrosa et al. 2006).

Änderung der Genexpression

Die Effekte auf die Lebensfähigkeit und Proliferation der Zellen sowie auf den Zellzyklus und die Änderungen in der Genexpression (genetische Informationen zur Zelle) wurden nach der Behandlung mit Aroniasaft mit Hilfe der Microarray-Analyse untersucht. Es wurden Änderungen in einer Gruppe von Genen, die das Zellwachstum, die Zellwucherung und die Zellzyklus-Regulation beeinflussen, gefunden (Bermudez-Soto, Larrosa et al. 2006).

Positive Veränderung des Biomarkers ACF

Um den positiven Einfluss von phenolreichen Früchten auf Dickdarmkrebszellen zu bestätigen, hat sich 2006 die Studiengruppe von Lala und Malik mit der Untersuchung verschiedener Biomarker von Dickdarmkrebs beschäftigt.

In dieser *in vivo* Studie wurden verschiedene Biomarker von Dickdarmkrebs bei Ratten nach der Verabreichung von ARE aus der Traube, der Blaubeere und der Aronia ausgewertet. Als Biomarker sind Aberrant Crypt Foci (ACF, mutmaßliche Vorläufer von Dickdarmkrebs), die Darmzellproliferation, der Harnspiegel als Level für die oxidative DNA Schädigung und die

COX-2 untersucht worden. Zur Bestimmung der Bioverfügbarkeit wurden ACs im Serum, Urin und Stuhl bestimmt.

ACF waren bei allen drei mit den Extrakten gefütterten Ratten geringer als in der Kontrollgruppe. Die Größe der ACFs hat einen größeren Einfluss auf die Tumorbildung als die Anzahl der ACFs. Je geringer die Menge an großen ACFs ist, desto geringer ist die Wahrscheinlichkeit einer Krebserkrankung. Die Menge an großen ACFs war bei den Ratten, die mit Blaubeer- und Aronia-AREs gefüttert worden sind, geringer als in der Kontrollgruppe. Dabei hatten die Blaubeer-ARE eine größere Wirkung (70 %) auf die Reduktion der großen ACFs als die Aronia ARE (59%). Die geringste Wirkung hatten die Trauben-ARE (Tab. 7). Eine Reduktion der Darmzellproliferation wurde bei Ratten festgestellt, die Blaubeer- und Aronia-ARE erhielten. Im Stuhl waren hohe Mengen an ACs zu finden, was gegen eine hohe Bioverfügbarkeit spricht. Außerdem hatte die Aufnahme von ARE einen reduzierenden Einfluss auf die fäkale Gallensäureproduktion. Ein Einfluss auf den Harnsäurespiegel wurde nicht festgestellt. Auch auf die COX-2 hatten Aronia-ARE in diesem Versuch keinen Einfluss. Die Struktur der ACs, besonders der Grad der Glycosylierung hatte einen Einfluss auf die Menge der absorbierten ACs. Diese Studie bestätigt, dass die tägliche Aufnahme von ARE zu einem positiven Effekt auf Darmkrebserkrankungen führt und ebenfalls eine krebopräventive Wirkung auf Darmkrebserkrankungen hat (Lala, Malik et al. 2006).

Tab. 7: Anzahl der ACF (Aberrant Crypt Foci) nach der Aufnahme von AREs (nach Lala, Malik et al. 2006)

	27 Total	28 Klein (2-3)	29 Mittel (4-5)	30 Groß(>5)
31 Kontrollgruppe	32 94 ± 12,2	33 46 ± 6,0	34 33 ± 4,9	35 15 ± 3,0
36 Blaubeer ARE	37 67 ± 9,1	38 43 ± 7,1	39 19 ± 2,8	40 4 ± 0,7
41 Aronia ARE	42 70 ± 3,5	43 39 ± 2,8	44 25 ± 1,8	45 6 ± 1,4
46 Trauben ARE	47 69 ± 6,2	48 35 ± 4,3	49 22 ± 2,3	50 11 ± 1,7

4.2.5 Leberprotektive Wirkung

Um eine protektive Wirkung von Aroniasaft auf die Leber zu überprüfen, wurde 2004 eine Studie an Ratten mit einem akuten Leberschaden durchgeführt. Die Schädigung der Leber wurde mit Tetrachlormethan (CCl₄) (0,2 ml/kg KG, 2 Tage lang) induziert. Tetrachlormethan

gehört zu den Chlorkohlenwasserstoffen und ist sowohl toxisch als auch krebserregend. Früher wurde CCl_4 als Entfettungs-, Reinigungs-, Lösungs- und Verdünnungsmittel eingesetzt. Heute ist der Gebrauch nur noch für Versuchszwecke zugelassen.

Das Ziel dieser Studie war die Beobachtung der Veränderungen der durch die Induzierung von CCl_4 geschädigten Leber nach der Aufnahme von Aroniasaft. Durch die Behandlung mit CCl_4 wurde eine Zellschädigung durch Lipidperoxidation ausgelöst. Als Biomarker der Lipidperoxidation wurde die Malondialdehyd (MDA)-Menge im Plasma und in der Leber der Ratte gemessen. Außerdem kam es zur Erschöpfung des Glutathions in der reduzierten Form in der Leber. Aroniasaft wurde in verschiedenen Dosierungen (5, 10, und 20 ml/kg KG) 4 Tage lang verabreicht. Dosierungsabhängig reduzierte der Saft die Nekrose (pathologischer Untergang von einzelnen Zellen) in der Leber und verhinderte den Anstieg der Plasma Aspartat Aminotransferase (AST) und der Alanin Aminotransferase (ALT), die für die Lipidperoxidation und damit für die Zellschädigung verantwortlich sind. Damit wurde bestätigt, dass Aroniasaft die Leber von Ratten vor Schädigung durch CCl_4 schützen kann und eine Erhöhung der MDA-Werte verhindert, während sich der Glutathion-Spiegel normalisiert (Valcheva-Kuzmanova, Borisova et al. 2004).

4.2.6 Schutz der Magenschleimhaut

Eine Entzündung der Magenschleimhaut kann unterschiedliche Ursachen haben. Schmerz- oder entzündungshemmende Medikamente und oxidativer Stress sind nach einer Erkrankung durch Bakterien entscheidende Faktoren für eine Schädigung der Magenschleimhaut.

Um die Wirkung von Aroniasaft auf eine Schädigung der Magenschleimhaut zu untersuchen, wurde 2005 eine Studie von Valcheva-Kuzmanova durchgeführt. Bei einer durch Indomethacin (Schmerzmittel) induzierten Schädigung der Magenschleimhaut von Ratten konnte die Verletzung durch eine vorherige Einnahme von Aroniasaft teilweise verhindert werden.

Eine Stunde vor der Aufnahme von Indomethacin (830 mg/kg KG) wurden den Ratten verschiedene Mengen Aroniasaft (5, 10 und 20 ml/kg KG) oral zugeführt. Etwa 4 h nach Einnahme des Schmerzmittels konnten erhöhte Werte der Risikofaktoren für eine Magengeschwürbildung festgestellt werden. Die MDA-Menge sowie reduzierte Glutathione (GSH) und oxidierte Glutathione in der Magenschleimhaut wurden als Biomarker für oxidativen Stress eingesetzt.

Die vorherige Verabreichung von Aroniasaft verminderte die Anzahl und Größe der durch das Schmerzmittel induzierten Verletzung (Abb. 22, 23). Der Aroniasaft steigerte die Produktion von gastrischem Schleim im Magen und verringerte dadurch die Tiefe und Stärke der Verletzung. Ausserdem war die Menge an gastischem und plasmatischem MDA weitestgehend gleichbleibend. Auf den Glutathion-Spiegel hatte die Aufnahme von Aroniasaft keinen Einfluss. Die Studie zeigte anhand des Biomarkers MDA, dass eine durch Indomethacin induzierte Schädigung der Magenschleimhaut von oxidativem Stress begleitet wird. Die vorherige Aufnahme von Aroniasaft verringert die Anzahl der Magenschleimhautverletzungen wahrscheinlich aufgrund der gesteigerten gastrischen Schleimproduktion (Valcheva-Kuzmanova, Marazova et al. 2005).

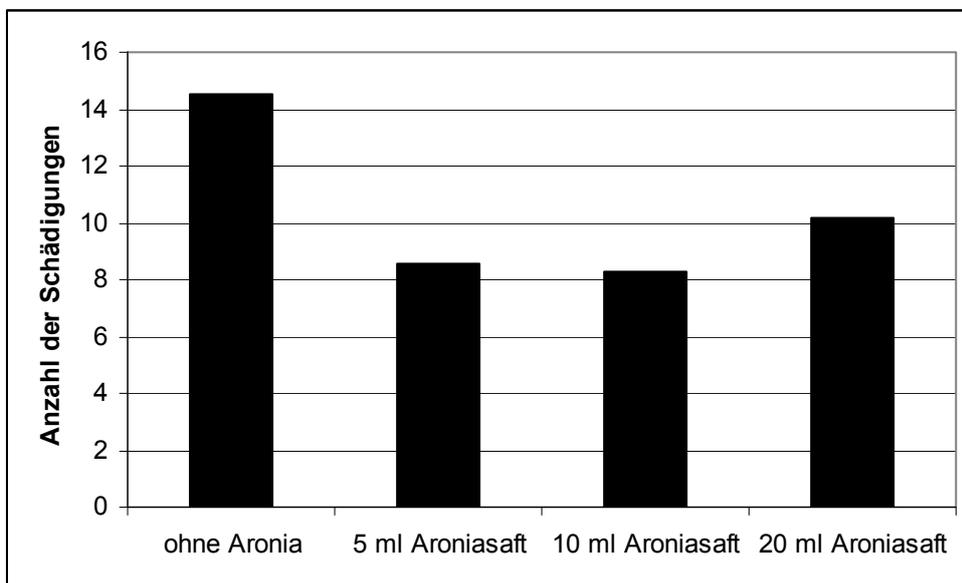


Abb. 21: Reduktion der Anzahl der Magenschleimhautschädigungen nach der Einnahme von 5, 10 und 20 ml Aroniasaft (nach Valcheva-Kuzmanova, Marazova et al. 2005)

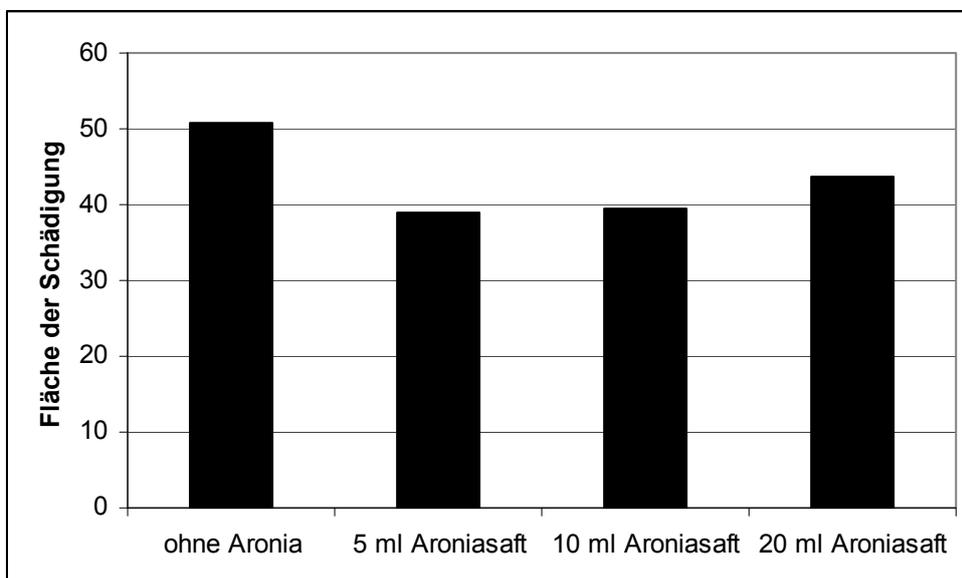


Abb. 22: Reduktion der Fläche der Magenschleimhautschädigungen nach der Einnahme von 5, 10 und 20 ml Aroniasaft (nach Valcheva-Kuzmanova, Marazova et al. 2005)

Eine Studie von Matsumoto et al. aus dem Jahr 2004 bestätigt den engen Zusammenhang zwischen oxidativem Stress und einer Schädigung Magenschleimhaut. Innerhalb dieser Studie wurde die antioxidative Aktivität von Aronia ACs und Aroniaextrakten *in vitro* und *in vivo* mit dem DPPH-Test bei Ratten mit einer Ethanol-induzierten gastrischen Verletzung gemessen.

Etwa 30 mg/kg KG ACs aus der Aronia konnten die Magenschleimhautschädigung um etwa 50 % reduzieren, was auf die antioxidative Kapazität der ACs zurückgeführt wurde. Ca. 2 g Aroniaextrakt pro kg Körpergewicht bieten nahezu den gleichen Schutz vor einer Magenschleimhautverletzung wie 100 mg Quercetin pro kg KG und haben eine ähnliche geschwürunterdrückende Wirkung wie 300 mg ACs aus der Frucht. Auf die Magensäureproduktion haben die ACs aus der Aronia keinen Einfluss (Matsumoto, Hara et al. 2004)

4.2.7 Entzündungshemmende Wirkung

Die entzündungshemmende Wirkung von ACs aus der Aronia wurde bereits 1994 in einer Studie von Borissova beschrieben. Bei diesem Versuch wurde die Wirkung von ACs aus der Aronia und ein Rutin-Magnesium-Komplex (wasserlösliche Derivate des Rutins) mit der Wirkung von Rutin (ein natürlich vorkommendes Flavonoid und Antioxidanz, chemisch ein Glykosid des Quercetins) verglichen. Es wurden zwei experimentelle Modelle an der Hinterpfote einer Ratte verwendet. Zum einen wurde eine Entzündung durch eine 0,5 %-ige Histaminlösung ausgelöst. Zum anderen wurde eine Entzündung durch eine 0,1 %-ige Serotonin-Lösung induziert. Die Schwellung der Rattenpfote wurde mit Hilfe eines Plethysmographen gemessen. ACs aus der Aronia zeigten eine deutliche Wirkung (Abschwellung nach 4 h bei 30 ml/kg ACs um ca. 90%) auf die beiden Entzündungen im Gegensatz zu Rutin, dessen Wirkung nur mäßig war (Abb. 24). Der Rutin-Magnesium-Komplex zeigte keine entzündungshemmende Wirkung bei einer Histamin-induzierten Entzündung, wogegen die Wirkung gegen Serotonin-induzierte Entzündungen vergleichbar mit der von Rutin war. Die Studie bestätigt, dass ACs aus der Aronia eine entzündungshemmende Wirkung auf Histamin- oder Serotonin-induzierte Entzündungen haben und dass ihre Wirkung sehr viel deutlicher ist als die von Rutin (Borissova, Valcheva et al. 1994).

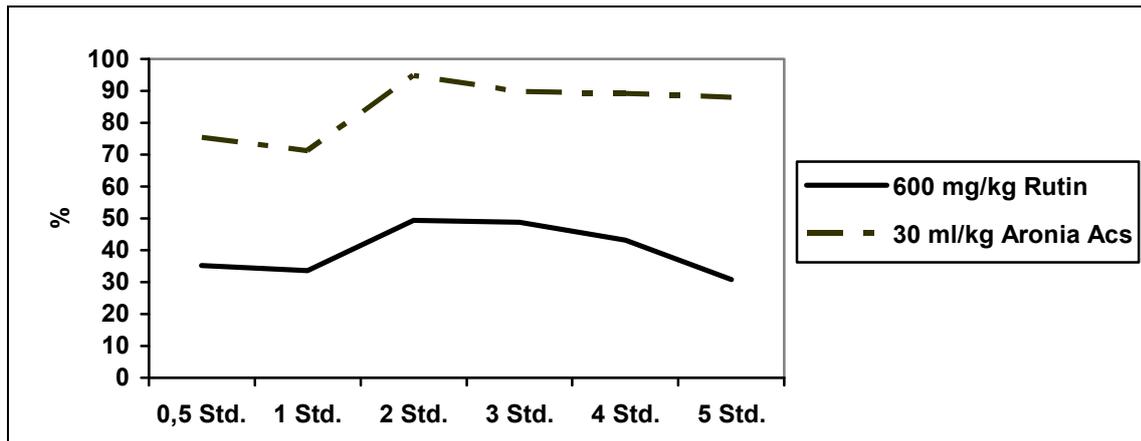


Abb. 23: Prozent der Abschwellung bei einer Histamin induzierten Entzündung nach der Gabe von 600 mg/kg Rutin und 30 ml/kg Aronia Anthocyanen (nach Borissova, Valcheva et al. 1994)

Auch bei Uveitis, einer sowohl viralen als auch bakteriellen Entzündung der mittleren Augenhaut, zeigte die Aronia eine entzündungshemmende Wirkung. In einer Studie von Ohgami wurden Ratten mit Uveitis infiziert. Den Tieren wurden verschieden hohe Mengen Aronia-Rohextrakte verabreicht. Im Vergleich dazu wurde ein Medikament zur Behandlung der Uveitis eingesetzt (Prednisolon). 100 mg Aronia-Rohextrakt waren ebenso wirkungsvoll wie 10 mg Prednisolon. Die entzündungshemmende Wirkung von Aronia-Rohextrakten ist höher als die von Quercetin oder Anthocyan. Der entzündungshemmende Effekt wird unter anderem mit der Blockierung der Enzyme COX-2 in Zusammenhang gebracht (Ohgami, Ilieva et al. 2005).

5 Metabolismus und Bioverfügbarkeit der bioaktiven Inhaltsstoffe

Studien über den Metabolismus und die Bioverfügbarkeit von bioaktiven Inhaltsstoffen der *Aronia melanocarpa* sind bislang nur in geringem Umfang durchgeführt worden. Bei allen in englischer Sprache bekannten Studien stand der Metabolismus von ACs im Mittelpunkt. Da Cyanidin das primär in der Aronia vertretene Anthocyan (AC) darstellt, lassen sich deren die Metaboliten leicht identifizieren.

Der Metabolismus und die Bioverfügbarkeit von Proanthocyanidinen (PAs) wurden bisher nur in wenigen Studien untersucht. Die Aussagefähigkeit der Studien ist begrenzt, da bei der Analyse keine Reinsubstanzen, sondern Lebensmittelbestandteile verwendet wurden, die auch andere sekundäre Inhaltsstoffe enthalten.

Zur quantitativen Bestimmung der ACs und PCs und deren Metaboliten im Blutplasma, Urin und Stuhl werden HPLC mit Diodenarray-Detektion und massenspektrometrischer Detektion (HPLC-DAD-MS) sowie GC mit massenspektrometrischer Detektion (GC/MS) eingesetzt.

5.1 Metabolismus und Bioverfügbarkeit von Anthocyanen

Um den Verbleib von Cyanidin 3-Glycosiden im Blutserum und im Urin zu klären, wurde von Kay et al. (2004) eine Humanstudie mit Aroniaextrakten, welche 1,3 g Cyanidin 3-Glycoside enthielten, durchgeführt. Die Studie hat bestätigt, dass der menschliche Körper Cyanidin 3-Glycoside metabolisieren kann, da mindestens zehn verschiedene Anthocyanmetaboliten im Urin und im Blutserum identifiziert worden sind. Die durchschnittliche Konzentration an Anthocyanen (ACs) und ihren Metaboliten lag 5 h nach der Aufnahme des Aroniaextraktes im Urin bei 18 µmol/l und blieb über 24 h mit einer Konzentration von 12 nmol/l im Urin enthalten. Der Durchschnittswert der ACs und ihrer Metaboliten im Blut lag 2 h nach der Aufnahme bei 592 nmol/l. Cyanidin 3-Galactoside sind zu 55 % im Urin und 66 % im Blut festgestellt worden. Die Metaboliten wurden als glucuronidierte Konjugate sowie als methylierte und oxidierte Derivate von Cyanidin 3-Galactosiden und Cyanidin Glucuroniden identifiziert. Die Konjugation beeinflusst wahrscheinlich die biologische Aktivität von ACs und deren Metaboliten und könnte teilweise für die gesundheitsfördernde Wirkung der ACs verantwortlich sein. Allerdings war die Menge der über die Extrakte aufgenommenen ACs in dieser Studie sehr viel höher, als dies über eine normale Mischkost möglich wäre, sodass die metabolische Umsetzung unter normalen Voraussetzungen anders sein könnte (Kay, Mazza et al. 2004).

Des Weiteren wurde 2005 von Wu et al. der Einfluss der Anzahl der Zuckerbausteinen am AC auf die Absorption und den Metabolismus in einer Studie mit Ferkeln untersucht. Die Ferkel wurden mit gefriergetrocknetem anthocyanreichem Apfelbeer-, Schwarze Johannisbeer- oder Holunderbeer-Pulver gefüttert. Hierbei wurde festgestellt, dass die Anzahl der Metaboliten von der Konzentration, der Menge und der Art der Glykosid-Bindung der ACs abhängig ist. ACs mit einem Di- oder Trisaccharid wurden als ganzes Molekül über den Urin ausgeschieden. ACs mit einer Bindung zu Monosacchariden wurden über den Methylierung oder Glucuronisierung metabolisiert.

Schwarze Johannisbeeren und Holunderbeeren enthalten wenige Monosaccharide, aber viele komplexe Di- und Trisaccharide. Die Aronia enthält hingegen viele an das AC gebundene Monosaccharide. Daher war die Anzahl der gebildeten Metaboliten bei den mit Aroniapulver gefütterten Ferkeln größer als bei den mit anderen Beeren gefütterten Ferkeln (Abb. 25).

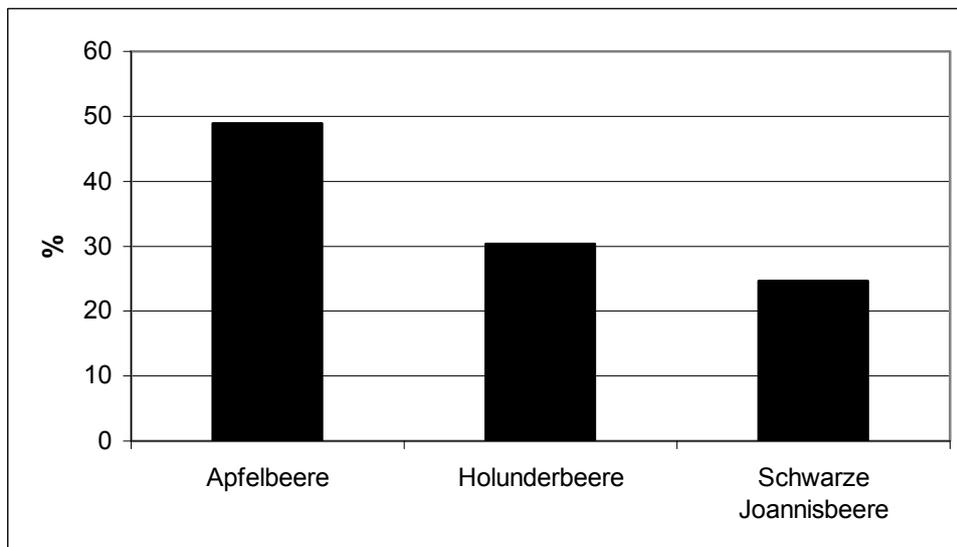


Abb. 24: Prozentuale Verteilung der Anthocyan-Metaboliten im Urin (nach Wu, Pittman et al. 2005)

Insgesamt sind bei denen mit Aronia-Pulver gefütterten Ferkeln 18 verschiedene auf AC basierende Verbindungen im Urin identifiziert worden. Von diesen Verbindungen waren 4 Verbindungen Ausgangsverbindungen von ACs und 14 Verbindungen AC-Metaboliten (vgl. Anhang Tabelle 3) (Wu, Pittman et al. 2005).

In einem Versuch mit Ratten haben He et al. (2006) die Untersuchungsergebnisse der Studie von Wu et al. (2005) bestätigt. Der Vergleich der intakten ACs und ihrer Metaboliten im Urin von Ratten, die mit einer Apfelbeeren-, Blaubeeren- oder Traubenextrakten angereicherten Kost gefütterten worden sind, bestätigte, dass die meisten Ausgangs-ACs und Metaboliten im Urin der mit Apfelbeer-Extrakten gefütterten Ratten zu finden waren (Abb. 26). Des Weiteren wurde festgestellt, dass weniger als 0,05 % der insgesamt aufgenommenen ACs innerhalb von 6 h über den Urin ausgeschieden worden sind. Dieses Ergebnis unterstützt die Vermutung, dass die ACs nur eine ganz geringe Absorptionsrate haben (He, Magnuson et al. 2006).

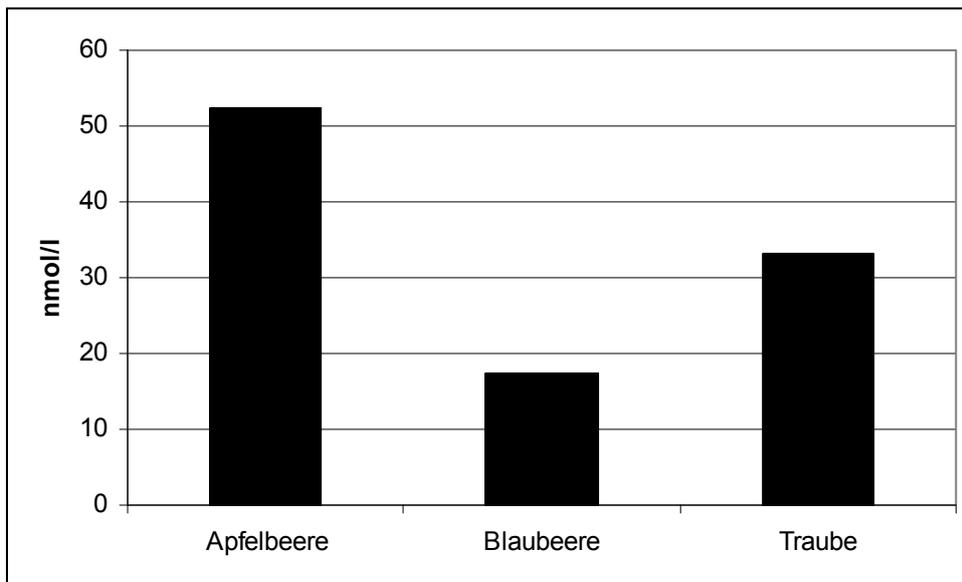


Abb. 25: Gesamtkonzentration an Anthocyanen und Metabolite im Urin von Ratten nach der Fütterung mit Apfelbeer-, Blaubeer- und Trauben-Extrakten (nach He, Magnuson et al. 2006)

In einer ähnlichen Studie wurde der AC-Gehalt im Kot von Ratten nach der Fütterung mit AC-reichen-Extrakten aus der Aronia, Blaubeere und Traube verglichen. Hierbei zeigte sich, dass die AC-Konzentration der mit Apfelbeere- und Blaubeer-Extrakten gefütterten Ratten weit über derjenigen der Traube lag (Abb. 27) (He, Magnuson et al. 2005).

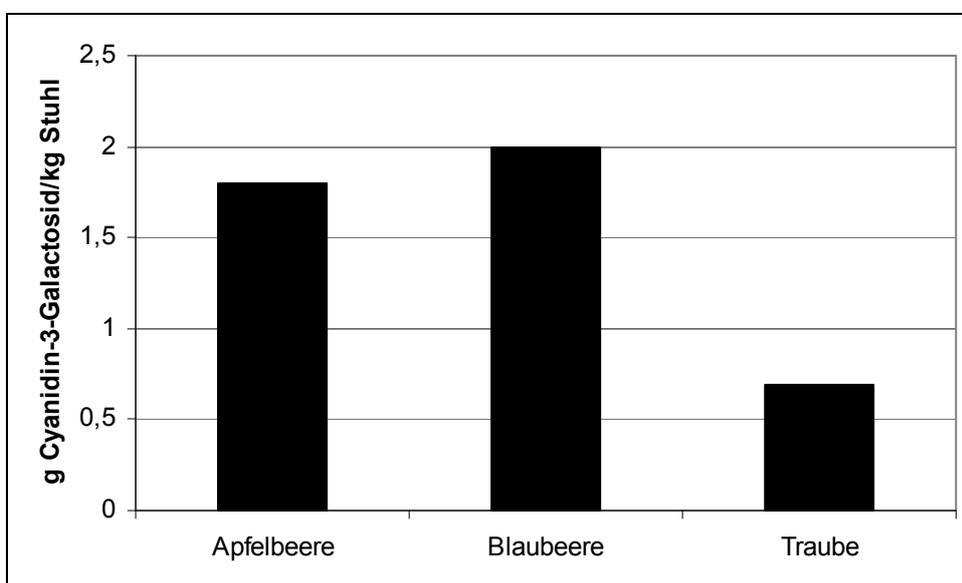


Abb. 26: Anthocyanengehalt im Kot von Ratten nach der Fütterung mit Apfelbeer-, Blaubeer- und Trauben-Extrakten (nach He, Magnuson et al. 2006)

5.2 Metabolismus und Bioverfügbarkeit von Proanthocyanidinen

Es wird vermutet, dass PAs eine positive Wirkung auf den menschlichen Organismus haben, auch wenn sie gar nicht oder nur teilweise vom Körper aufgenommen werden können. Das saure Milieu (pH 2) des Magens hat keinen Einfluss auf den Abbau der PAs. Sie verlassen als unverändertes Molekül den Magen und stehen erst im Dünndarm für die Absorption zur Verfügung (Rios, Bennett et al. 2002).

Monomere PAs können im Verdauungstrakt absorbiert und metabolisiert werden. Die Absorption von (-)-Epicatechin im Verdauungstrakt ist größer als die von (+)-Catechin. Bei einer Studie von Baba et al. (2001) wurde die Absorptionsrate von (+)-Catechin und (-)-Epicatechin und ihrer Metaboliten vor und nach der oralen Aufnahme verglichen. Bei einer gleichzeitigen Aufnahme beider Verbindungen konkurrieren diese um die Aufnahme im Gastrointestinaltrakt. Ungefähr 30 bis 60 Minuten nach der Aufnahme ist die Plasmakonzentration von (+)-Catechin, (-)-Epicatechin und ihren Metaboliten am höchsten, was für die zügige Absorption im Verdauungstrakt und eine schnelle Verteilung im Blut spricht. Im Vergleich ist die Menge an (-)-Epicatechin-Metaboliten nach 24 h höher als die Menge an (+)-Catechin-Metaboliten. Die häufigsten Metaboliten waren Konjugate in nichtmethylierter und 3'-O-methylierter Form, denen eine hohe antioxidative Wirkung zugesprochen wird (Baba, Osakabe et al. 2001).

Die Absorption und der Metabolismus von (+)-Catechin und (-)-Epicatechin im Leer- und Krummdarm sind bereits im Jahr 2000 umfassend untersucht worden. Bei der Studie von Kuhnle et al. wurde festgestellt, dass (+)-Catechin und (-)-Epicatechin den Leerdarm meist als O-methylierte (30 %) oder O-Methyl-glucuronidierte (20%) Metaboliten passieren. Das zeigt die Aktivität der Catechol-O-Methyl-Transferase im Metabolismus von Flavan-3-olen und spricht dafür, dass diese Metaboliten und ihre Konjugate die Pfortader passieren können. Im Krummdarm sind die aufgetretenen Flavan-3-ole dagegen meist nicht metabolisiert (Kuhnle, Spencer et al. 2000).

Oligomere PCs können vermutlich ebenfalls metabolisiert werden: In mehreren Studien wird bestätigt dass der Konsum von Kakao, Äpfeln und synthetischen Oligomeren zu einer Ansammlung von ganzen PC-Einheiten oder deren Metaboliten im Plasma von Ratten führt (Holt, Lazarus et al. 2002; Shoji, Masumoto et al. 2006; Garcia-Ramirez, Fernandez-Larrea et al. 2006). Auch beim Menschen kann man nach der Aufnahme von Traubenkernextrakten das PA B1 im Plasma nachweisen (Sano, Yamakoshi et al. 2003).

Einzig in einer Studie von Donovan et al. aus dem Jahr 2002 wurde festgestellt, dass PA B3 nicht metabolisiert wird und daher weder als ganzes, noch in konjugierter Form im Plasma und Urin von Ratten ermittelt werden konnte (Donovan, Manach et al. 2002).

PAs mit einem hohen Polymerisierungsgrad haben im Vergleich zu PAs mit einem niedrigen Polymerisierungsgrad eine geringere Darmabsorption (Sarni-Manchado, Cheynier et al. 1999). Die Absorption von PAs über die Darmschranke beschränkt sich daher auf die PAs mit einem geringen Polymerisierungsgrad und deren im Dickdarm gebildeten Metaboliten (Scalbert, Deprez et al. 2000). Polymere PAs können wegen ihres hohen molekularen Gewichtes nicht über den Intestinaltrakt aufgenommen werden und werden deshalb von der Mikroflora des Darms zu bioverfügbaren phenolischen Säuren abgebaut, die wahrscheinlich für die gesundheitsfördernde Wirkung verantwortlich sind (Deprez, Brezillon et al. 2000).

In einem Versuch von Ward et al. (2004) sind Urinproben von Testpersonen, die über 24 Std. eine regelmäßigen Supplementierung mit Traubenkernextrakten (1000 mg/Tag) erhalten haben, analysiert worden. Verschieden phenolische Säuren wurden als PA-Metabolite erkannt. Das Ergebnis zeigt eine deutliche Steigerung der Ausscheidung von 3-Hydroxyphenylpropionsäure und 4-O-Methylgallussäure und eine unregelmäßig steigende Ausscheidung von 3-Hydroxyphenylelessigsäure. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass die phenolische Säure 3-Hydroxyphenylpropionsäure das hauptsächlichen Abbauprodukte beim Metabolismus von polymeren PAs *in vivo* ist (Ward, Croft et al. 2004).

Zusammenfassend ist zu sagen, dass sowohl monomere als auch oligomere PAs aufgenommen werden können und ins Plasma transportiert werden, wo sie eine biologische Wirkung haben. (-)-Epicatechin wird im Verdauungstrakt stärker aufgenommen als (+)-Catechin. PAs mit einem hohen molekularen Gewicht werden nicht im Intestinaltrakt abgebaut, sondern zu Phenolsäuren umgeformt, die wiederum biologisch aktiv sind. Weitere Studien in diesem Bereich sind notwendig, um den Metabolismus und die Bioverfügbarkeit der verschiedenen PAs (monomer, dimer, oligomer und polymer) und deren Metaboliten im Menschen noch besser zu verstehen.

6 Abschlussbetrachtung

Die schwarzfüchtige Apfelbeere ist in Deutschland bisher eine weitgehend unbekanntes Frucht. Durch Ihre steigende Popularität als Beere mit einem besonders

gesundheitsfördernden Potential, tritt sie jedoch zunehmend in das Bewusstsein der Verbraucher.

Aufgrund der steigenden Umweltbelastung und des zunehmenden privaten und beruflichen Stresses haben immer mehr Menschen mit Zivilisationskrankheiten wie Herz-Kreislaufkrankungen, Diabetes mellitus Typ 2 oder Allergien zu kämpfen. Der Trend, diese Erkrankungen mit Naturheilmitteln zu behandeln, setzt sich weiterhin fort.

In den letzten Jahren erfreuten sich Naturheilmittel aus Früchten, Blättern und Wurzeln diverser Pflanzen steigender Beliebtheit. Produkte wie z. B. der Saft der Noni-Frucht, einer tropische Frucht aus Hawaii, der viele gesundheitsfördernde Eigenschaften zugesprochen werden, drängen auf den Markt der Naturheilprodukte. Keine wissenschaftliche Studie belegt jedoch eine positive Wirkung der Noni-Frucht. Obwohl es sogar Anzeichen dafür gibt, dass sie Leberschäden hervorrufen kann, wird der Saft weiterhin als kostspieliges „Allheilmittel“ angeboten.

Naheliegender ist die Rückbesinnung auf alte Heilpflanzen wie die *Aronia melanocarpa*. In Russland hat sich die Beere bereits bewährt und gehört zu den „empfohlenen“ Obstsorten. Frucht und Blätter der Aronia werden dort schon seit Jahrzehnten zur Behandlung zahlreicher Krankheiten erfolgreich eingesetzt.

Der Verzehr der vitaminreichen Frucht ist zur Stärkung des Immunsystems und zur Deckung des täglichen Vitamin- und Mineralstoffbedarfs sehr gut geeignet. Ein Großteil ihrer gesundheitsfördernden Eigenschaften wird dem hohen Anteil an Anthocyanen (ACs) und Proanthocyanidinen (PAs) zugeschrieben. Keine der bisherigen Studien über die Aronia dokumentiert die Wirkung von PAs im Körper des Menschen, obwohl PAs den Hauptanteil der Flavonoide in der Aronia darstellen. Trotz des geringen Kenntnisstandes über die PAs ist anzunehmen, dass die gesundheitsfördernde Wirkung der Aronia mit diesen Verbindungen im Zusammenhang steht. Ihre antioxidative Kapazität hebt sich stark von derjenigen anderer Beerenfrüchte ab. Aufgrund ihres außerordentlich hohen Gehaltes an antioxidativen Inhaltsstoffen findet die Aronia bei fast allen Krankheiten Einsatz, die auf einer zu hohen Anzahl freier Radikaler im Körper beruhen.

Ein weiterer Vorteil der Aronia liegt darin, dass zu ihrem Anbau kaum Pestizide eingesetzt werden müssen, da sie aufgrund ihres hohen Gerbstoffanteils gegenüber Krankheiten und Schädlingen sehr resistent ist. Neben dem Anbau auf Plantagen zur kommerziellen Vermarktung der Aronia bietet sich auch der Anbau im eigenen Garten an. Die Pflanze ist genügsam und gedeiht auch bei wenig Niederschlag. Der Pflegeaufwand der Pflanze ist

minimal und außerdem lässt sich auch gut als Hecke anpflanzen. Da die Aronia selbstfertil ist, genügt nur eine Pflanze im Garten zur Fruchtbildung. Belohnt wird ihr Besitzer mit einer schönen Blüte und farbenfrohem Herbstlaub. Aus den Beeren kann man neben Saft oder Marmelade auch Aronia-Eiscreme oder einen Milchshake herstellen.

7 Zusammenfassung

Die *Aronia melanocarpa* ist eine am Strauch wachsende Wildbeere, die zu der Familie der Rosengewächsen gehört. Ursprünglich stammt sie aus Nordamerika und wurde Anfang des 19. Jahrhunderts über Russland und Osteuropa nach Mitteleuropa gebracht. Seit 1976 wird die Beere rund um Dresden angebaut. Die Pflanze ist genügsam und zeichnet sich durch eine hohe Frostresistenz aus. Die *Aronia* ist auch sehr resistent gegenüber Krankheiten und Pilzen, sodass auf den Einsatz von Pflanzenschutzmitteln größtenteils verzichtet werden kann. Die blauschwarze Beere hat einen adstringierenden Geschmack und eignet sich daher eher für die Verarbeitung als für den Frischeverzehr. Aufgrund des hohen Anteils der farbgebenden Anthocyane wird die Frucht neben der Herstellung von Lebensmitteln auch als natürliches Färbemittel eingesetzt.

Neben der Tatsache, dass die *Aronia* einen hohen Gehalt an Sorbit aufweist, ist in erster Linie der Gehalt an sekundären Pflanzenstoffen bemerkenswert. Durch die sekundären Pflanzenstoffe Anthocyane und Proanthocyanidine verfügt die Beere über eine außerordentlich starke antioxidative Aktivität. Dadurch kann der oxidative Stress reduziert und hierdurch wiederum Krankheiten wie Atherosklerose positiv beeinflusst werden.

Des Weiteren werden durch die Aufnahme von Aroniaprodukten die Blutplättchenfunktion und die Blutfettwerte verbessert, was wiederum einen positiven Einfluss auf Diabetes mellitus Typ 2 hat.

Gegenüber Mutagenen (z.B. aromatische Kohlenwasserstoffe und Nitrosamine) zeigt die *Aronia* eine hemmende Wirkung und reduziert aufgrund des hohen Gerbstoffanteils die Nitrosaminproduktion im Magen. Die Aufnahme von Aroniaprodukten hemmt außerdem das Zellwachstum von Dickdarmkrebszellen. Zusätzlich schützt sie die Magenschleimhaut vor Verletzungen und wirkt entzündungshemmend.

Über die Bioverfügbarkeit und den Metabolismus der in der *Aronia* vorkommenden Anthocyane ist bekannt, dass sie nur zu Teil vom menschlichen Körper aufgenommen werden können. Der Metabolismus von Proanthocyanidinen ist abhängig von ihrem Polymerisierungsgrad. Die Monomere (+)-Catechin und (-)-Epicatechin können resorbiert werden, während über polymere Proanthocyanidine bekannt ist, dass sie in phenolische Säuren umgewandelt werden.

8 Abstract

The *Aronia melanocarpa*, also called black chokeberry, belongs to the Rosaceae family and is a on a shrub growing berry. The black chokeberry is native to North America and was carried to central Europe in the 19th century via Russia and Eastern Europe. Since 1976, the aronia was extensively cultivated around Dresden. The plant is modest in growing and very hardy. As the *Aronia* berry is resistant to illnesses and fungal infections the renounce of pesticides is possible. The blue-to-black coloured fruit is not edible because of its astringent taste but can be used for food processing. Because of its high fraction of anthocyanins, the berry is also a natural colourant.

Due to its high content of sorbitol the amount of secondary plant compounds in the *Aronia* fruit is notable. Because of the anthocyanins and proanthocyanidins, the berries have a high antioxidant activity, which has a positive effect on the health of human beings. Because of the reducing of the oxidative stress, many diseases like atherosclerosis are affected in a positive way.

Furthermore, the intake of chokeberry-products improves the platelet aggregation and enhanced hyperlipidemia that causes a positive effect on diabetes mellitus type 2.

The *aronia* berry has an inhibitory effect on the mutagenic activity of polycyclic aromatic hydrocarbons and blocks the production of nitrosamines in the stomach because of its high content of tanning agents. The cell growth of colon cancer can also be inhibited by *aronia*-products. Besides it protects the gastric mucosa against lesions and shows antiinflammatory effects.

For the bioavailability and the metabolism of the anthocyanins in black chokeberries is established, that they could be partially absorbed by human beings. The absorption of proanthocyanidin depends on its degree of polymerisation. Monomer (+)-catechin and (-)-epicatechin can be absorbed by the intestinal tract and polymeric proanthocyanidins were transformed to phenolic acids.

9 Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

Abbildungen

Nr.

1.	Ein abgedeckter Aroniastrauch.....	7
2.	Ein Aroniablatt im Herbst	9
3.	Die Aroniablüte	9
4.	Die Aroniabeere am Strauch.....	10
5.	Eine Aroniapflanze im Herbst	11
6.	Aroniasaft der Kelterei Walther	14
7.	Gehalt an organischen Säuren in der Aronia.....	19
8.	Strukturformel eines Phenols.....	22
9.	Grundstruktur eines Flavonids mit den verschiedenen Resten R.....	23
10.	Verteilung der Monosaccharide, an die das Cyanidin gebunden sind	26
11.	Struktur von (-)-Epicatechin und (+)-Catechin	27
12.	Proanthocyanidin-Verteilung in der Aronia.....	29
13.	Antioxidative Kapazität der ganzen Frucht, des Trester und des Saftes der Aronia nach DPPH- und ABTS Testverfahren	35
14.	Einfluss von Aronia-Anthocyanen auf den oxidativen Stress.....	37
15.	Auswirkung einer Aroniasafts Supplementierung auf das Gesamtcholesterin.....	39
16.	Auswirkung einer Aroniasafts Supplementierung auf das LDL-Cholesterin.....	40
17.	Auswirkung einer Aroniasafts Supplementierung auf die Triglycerine	40
18.	Veränderungen der Blutglucose, des HbA1c-Wertes, des Cholesterins und der Plasmalipide im Vergleich zu der Basalrate und einer Kontrollgruppe	41
19.	Prozentuale Abnahme der Proliferation von HT-29-Krebszellen 24, 48 und 72 Stunden nach der Einnahme von 200 µg Phenole pro ml Trauben-, Blaubeer- und Aronia-ARE	44

20. Effekt von Aronia-ARE auf gesunde Zellen und HT-29 Krebszellen nach einer 24 stündigen Inkubation	45
21. Reduktion der Anzahl der Magenschleimhautschädigungen nach der Einnahme von 5, 10 und 20 ml Aroniasaft	49
22. Reduktion der Fläche der Magenschleimhautschädigung nach der Einnahme von 5, 10 und 20 ml Aroniasaft	50
23. Prozent der Abschwellung bei einer Histamin induzierten Entzündung nach der Gabe von 600 mg/kg Rutin und 30 ml/kg Aronia Anthocyanen	51
24. Prozentuale Verteilung der Anthocyan-Metaboliten im Urin.....	53
25. Gesamtkonzentration an Anthocyanen und Metaboliten im Urin von Ratten nach der Fütterung mit Apfelbeer-, Blaubeer- und Trauben-Extrakten.....	54
26. Anthocyangehalt im Kot von Ratten nach einer Fütterung mit Apfelbeer-, Blaubeer- und Trauben-Extrakten.....	55

Tabellen

1. Mittelwerte des Gewichts, des Anthocyangehaltes und des Bräunungsindex der Geno- und Hybrid- (Hyb.) Typen	13
2. Zusammensetzung der Aminosäuren in der Aroniabeere	18
3. Vitamingehalt der Aronia im Direktsaft, Trockensubstanz (TS) und Frischegewicht (FG).....	20
4. Mineralstoffgehalt der Aronia im Direktsaft, Trockensubstanz (TS) und Frischegewicht (FG).....	20
5. Unterklassen der Flavonoide entsprechend ihrer chemischen Struktur	24
6. ORAC, Anthocyan- und Phenolgehalt der Beeren im Vergleich	34
7. Anzahl der ACF (Aberrant Crypt Foci) nach der Aufnahme von AREs	47

10 Literaturverzeichnis

- Ahmed, A. E., R. Smithard, et al. (1991): Activities of enzymes of the pancreas, and the lumen and mucosa of the small intestine in growing broiler cockerels fed on tannin-containing diets. *British Journal of Nutrition* 65(2): 189-97.
- Ara, D. V. (2002): Schwarzfruchtige Aronia: Gesund - und bald "in aller Munde"? Flüssiges Obst 10: 653-658.
- Atanasova-Goranova, V. K., P. I. Dimova, et al. (1997): Effect of food products on endogenous generation of N-nitrosamines in rats. *British Journal of Nutrition* 78(2): 335-45.
- Baba, S., N. Osakabe, et al. (2001): In vivo comparison of the bioavailability of (+)-catechin, (-)-epicatechin and their mixture in orally administered rats. *Journal of Nutrition* 131(11): 2885-91.
- Beecher, G. R. (2003): Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *Journal of Nutrition* 133(10): 3248S-3254S.
- Bell, D. R. and K. Gochenaur (2006): Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. *Journal of Applied Physiology* 100(4): 1164-70.
- Benvenuti, S., F. Pellati, et al. (2004): Polyphenols, Anthocyanins, Ascorbic Acid and Radical Scavenging Activity of Rubus, Ribes and Aronia. *Journal of Food Science* 69(3).
- Bermudez-Soto, M. J., M. Larrosa, et al. (2006): Up-regulation of tumor suppressor carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 in human colon cancer Caco-2 cells following repetitive exposure to dietary levels of a polyphenol-rich chokeberry juice. *Journal of Nutritional Biochemistry*.
- Borissova, P., S. Valcheva, et al. (1994): Antiinflammatory effect of flavonoids in the natural juice from Aronia melanocarpa, rutin and rutin-magnesium complex on an experimental model of inflammation induced by histamine and serotonin. *Acta Physiologica et Pharmacologica Bulgarica* 20(1): 25-30.
- Bundessortenamt (1999): Beschreibende Sortenliste 1999: Wildobstarten. Hannover, Landbuch Verlagsgesellschaft mbH.21-25
- Canada, C.-B. N. H. S. o. (2004): Jacques Cartier, Explorer and Navigator. http://www.pc.gc.ca/lhn-nhs/qc/cartierbrebeuf/natcul/natcul2c_E.asp. Quebec.
- Daniel, P. (2004): Deregulation von Zellzyklus und Apoptose als molekulare Grundlage der Therapieresistenz von Tumoren. <http://edoc.hu-berlin.de/habilitationen/daniel-peter-2002-11-05/HTML/chapter3.html>. Berlin.
- Deprez, S., C. Brezillon, et al. (2000): Polymeric proanthocyanidins are catabolized by human colonic microflora into low-molecular-weight phenolic acids. *Journal of Nutrition* 130(11): 2733-8.
- Dixon, R. A., D. Y. Xie, et al. (2005): Proanthocyanidins--a final frontier in flavonoid research? *New Phytologist* 165(1): 9-28.
- Donovan, J. L., C. Manach, et al. (2002): Procyanidins are not bioavailable in rats fed a single meal containing a grapeseed extract or the procyanidin dimer B3. *British Journal of Nutrition* 87(4): 299-306.

- Eng, E. T., J. Ye, et al. (2003): Suppression of estrogen biosynthesis by procyanidin dimers in red wine and grape seeds. *Cancer Research* 63(23): 8516-22.
- Fine, A. M. (2000): Oligomeric Proanthocyanidin Complexes: History, Structure and Phytopharmaceutical Applications. *Alternative Medicine Review* 5(2): 144-151.
- Foo, L. Y., Y. Lu, et al. (2000): The structure of cranberry proanthocyanidins which inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated *Escherichia coli* in vitro. *Phytochemistry* 54(2): 173-81.
- Friedrich, G., Schuricht, W. (1989): Seltenes Kern-, Stein- und Beerenobst. Melsungen, Neumann Verlag Leipzig. 14-25.
- Garcia-Ramirez, B., J. Fernandez-Larrea, et al. (2006): Tetramethylated dimeric procyanidins are detected in rat plasma and liver early after oral administration of synthetic oligomeric procyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(7): 2543-51.
- Gasiorowski, K. and B. Brokos (2001): DNA repair of hydrogen peroxide-induced damage in human lymphocytes in the presence of four antimutagens. A study with alkaline single cell gel electrophoresis (comet assay). *Cellular and Molecular Biology Letters* 6(4): 897-911.
- Gasiorowski, K., K. Szyba, et al. (1997): Antimutagenic activity of anthocyanins isolated from *Aronia melanocarpa* fruits. *Cancer Letters* 119(1): 37-46.
- Gätke, R. (1993): Maschinelle Ernte bei der Apfelbeere in: *Anbau und Verwertung von Wildobst*. H.-J. Albrecht. Braunschweig, Thalacker Verlag Braunschweig. Bd. 24: 86-90.
- Gu, L., M. A. Kelm, et al. (2004): Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *Journal of Nutrition* 134(3): 613-7.
- Gu, L., M. A. Kelm, et al. (2003): Screening of foods containing proanthocyanidins and their structural characterization using LC-MS/MS and thiolytic degradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(25): 7513-21.
- Harborne, J. B. and C. A. Williams (2000): Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55(6): 481-504.
- Haslam, E. (1977): Symmetry and Promiscuity in Procyanidin Biochemistry *Phytochemistry* 16: 1625-1640.
- Haslam, E. (1998): *Practical Polyphenolics*. Cambridge, Cambridge University Press.
- He, J., B. A. Magnuson, et al. (2005): Analysis of anthocyanins in rat intestinal contents--impact of anthocyanin chemical structure on fecal excretion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(8): 2859-66.
- He, J., B. A. Magnuson, et al. (2006): Intact anthocyanins and metabolites in rat urine and plasma after 3 months of anthocyanin supplementation. *Nutrition and Cancer* 54(1): 3-12.
- Holt, R. R., S. A. Lazarus, et al. (2002): Procyanidin dimer B2 [epicatechin-(4 β -8)-epicatechin] in human plasma after the consumption of a flavanol-rich cocoa. *American Journal of Clinical Nutrition* 76(4): 798-804.

- Horigome, T., R. Kumar, et al. (1988): Effects of condensed tannins prepared from leaves of fodder plants on digestive enzymes in vitro and in the intestine of rats. *British Journal of Nutrition* 60(2): 275-85.
- Hurrell, R. F., M. Reddy, et al. (1999): Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. *British Journal of Nutrition* 81(4): 289-95.
- Iwasaki, Y., T. Matsui, et al. (2004): The protective and hormonal effects of proanthocyanidin against gastric mucosal injury in Wistar rats. *Journal of Gastroenterology* 39(9): 831-7.
- Jeppsson, N. (2000): The Effect of Cultivar and cracking on Fruit quality in Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) and Hybrids between Chokeberry and Rowan (*Sorbus*). *Gartenbauwissenschaften* 65(2): 93-98.
- Kahkonen, M. P., A. I. Hopia, et al. (2001): Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(8): 4076-82.
- Kay, C. D., G. Mazza, et al. (2004): Anthocyanin metabolites in human urine and serum. *British Journal of Nutrition* 91(6): 933-42.
- Koga, T., K. Moro, et al. (1999): Increase of antioxidative potential of rat plasma by oral administration of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(5): 1892-7.
- Kowalczyk, E., A. Kopff, et al. (2003): Effect of anthocyanins on selected biochemical parameters in rats exposed to cadmium. *Acta Biochimica Polonica* 50(2): 543-8.
- Kowalczyk, E., A. Kopff, et al. (2002): Anthocyanins--an adjunct to cardiovascular therapy? *Kardiologia Polska* 57(10): 332-6.
- Kuhnle, G., J. P. Spencer, et al. (2000): Epicatechin and catechin are O-methylated and glucuronidated in the small intestine. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 277(2): 507-12.
- Lala, G., M. Malik, et al. (2006): Anthocyanin-rich extracts inhibit multiple biomarkers of colon cancer in rats. *Nutrition and Cancer* 54(1): 84-93.
- Liebster, G. and H. G. Levin (1999): *Warenkunde Obste und Gemüse*. Weil die Stadt, Walter Hädecke Verlag: 55-56.
- Lüdders, P., Foltan, H. (1997): Einflüsse der N-Ernährung auf Wachstum, Ertrag und Anthocyangehalt von *Aronia Melanocarpa* bei unterschiedlichem Fruchtbehang. in 1. Internationale Wildfruchttagung, Berlin, Schriftenreihe des Fachgebietes Obstbau: 97-100.
- Malik, M., C. Zhao, et al. (2003): Anthocyanin-rich extract from *Aronia melanocarpa* E induces a cell cycle block in colon cancer but not normal colonic cells. *Nutrition and Cancer* 46(2): 186-96.
- Matsumoto, M., H. Hara, et al. (2004): Gastroprotective effect of red pigments in black chokeberry fruit (*Aronia melanocarpa* Elliot) on acute gastric hemorrhagic lesions in rats. *Journal of Agricultural and food Chemistry* 52(8): 2226-2229.
- Mc Donald, M., Mila, Isabelle, Scalbert, Augustin (1996): Precipitation of Metal Ions by Plant Polyphenols: Optimal Conditions and Origin of Precipitation. *Journal of Agricultural and food Chemistry* 1996(44): 599-606.

- Murphy, K. J., A. K. Chronopoulos, et al. (2003): Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (*Theobroma cacao*) inhibit platelet function. *American Journal of Clinical Nutrition* 77(6): 1466-73.
- Natella, F., F. Belevi, et al. (2002): Grape seed proanthocyanidins prevent plasma postprandial oxidative stress in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(26): 7720-5.
- Ohgami, K., I. Ilieva, et al. (2005): Anti-inflammatory effects of aronia extract on rat endotoxin-induced uveitis. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 46(1): 275-81.
- Oszmianski, J. und J. C. Sapis (1988): Anthocyanins in Fruits of *Aronia Melanocarpa* (Chokeberry). *Journal of Food Science* 53, 1988(4): 1241-1242.
- Oszmianski, J. und A. Wojdylo (2005): *Aronia melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology* 2005(221): 809-813.
- Pilaczynska-Szczesniak, L., A. Skarpanska-Steinborn, et al. (2005): The influence of chokeberry juice supplementation on the reduction of oxidative stress resulting from an incremental rowing ergometer exercise. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism* 15(1): 48-58.
- Pirc, H. (2002): Wildobst im eigenen Garten Apfelbeere, Schlehdorn, Kornelkirsche & Co. Graz-Stuttgart, Leopold Stocker Verlag:74-77
- Pool-Zobel, B. L., A. Bub, et al. (1999): Anthocyanins are potent antioxidants in model systems but do not reduce endogenous oxidative DNA damage in human colon cells. *European Journal of Nutrition* 38(5): 227-34.
- Puupponen-Pimia, R., L. Nohynek, et al. (2005): Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *Journal of Applied Microbiology* 98: 991-1000.
- Ricardo-Da-Silva J. M., D. N., Fernandez Y., Mitjavila S. (1991): Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins in grape seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 9: 1549-1552.
- Richter, G. (1988): Stoffwechselphysiologie der Pflanzen: Physiologie und Biochemie des Primär- und Sekundärstoffwechsels. Stuttgart, Georg Thieme Verlag Stuttgart: 402-427.
- Rios, L. Y., R. N. Bennett, et al. (2002): Cocoa procyanidins are stable during gastric transit in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* 76(5): 1106-10.
- Ruwisch, I. (1997): Aronia - Ein neues Geschmackserlebnis mit unbereizter Anwendungsvielfalt. 1. Internationale Wildfruchttagung, Berlin, Schriftenreihe des Fachgebietes Obstbau:150-153.
- Ryszawa, N., A. Kawczynska-Drozd, et al. (2006): Effects of novel plant antioxidants on platelet superoxide production and aggregation in atherosclerosis. *Journal of Physiology and Pharmacology* 57(4): 611-26.
- Saint-Cricq De Gaulejac, N., C. Provost, et al. (1999): Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(2): 425-31.
- Salas Kastilio, L. (1993): Aronia-Heilpflanze der Zukunft?in: Anbau und Verwertung von Wildobst. H.-J. Albrecht. Braunschweig, Thalacker Verlag Braunschweig. Bd. 24: 93-101.

- Sano, A., J. Yamakoshi, et al. (2003): Procyanidin B1 is detected in human serum after intake of proanthocyanidin-rich grape seed extract. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 67(5): 1140-3.
- Sarni-Manchado, P., V. Cheynier, et al. (1999): Interactions of grape seed tannins with salivary proteins. *Journal of Agricultural and food Chemistry* 47(1): 42-7.
- Scalbert, A. (1991): Antimicrobial Properties of Tannins. *Phytochemistry* 30(12): 3875-3883.
- Scalbert, A., S. Deprez, et al. (2000). Proanthocyanidins and human health: systemic effects and local effects in the gut. *Biofactors* 13(1-4): 115-20.
- Scalbert, A. und G. Williamson (2000): Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition* 130(8S Suppl): 2073-85.
- Seidemann, J. (1993): Die Aroniafrucht eine bisher wenig bekannte Obstart. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 89(5): 149-151.
- Shoji, T., S. Masumoto, et al. (2006): Apple procyanidin oligomers absorption in rats after oral administration: analysis of procyanidins in plasma using the porter method and high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(3): 884-92.
- Simeonov, S. B., N. P. Botushanov, et al. (2002): Effects of Aronia melanocarpa juice as part of the dietary regimen in patients with diabetes mellitus. *Folia Medica (Plovdiv)* 44(3): 20-3.
- Slimestad, R., K. Torskangerpoll, et al. (2005): Flavonoids from black chokeberries, Aronia melanocarpa. *Journal of Food Composition and Analysis* 18: 61-68.
- Stolle, B. (1993): Erfahrungen beim Anbau der Apfelbeere in Sachsen in: Anbau und Verwertung von Wildobst. H.-J. Albrecht. Braunschweig, Thalacker Verlag Braunschweig: 79-85.
- Strigl, A. W., E. Leitner, et al. (1994): Qualitative und Quantitative Analyse der Anthocyane in Schwarzen Apfelbeeren (*Aronia melanocarpa* Michx. Eil.) mittels TLC, HPLC und UV/VIS-Spektrometrie. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung* 1995(201): 266-268.
- Strigl, A. W., E. Leitner, et al. (1995): Die Schwarze Apfelbeere (*Aronia melanocarpa*) als natürliche Farbstoffquelle. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 91(6): 177-180.
- Stroev, E. A. und E. G. Martynov (1979): Accumulation of Polysaccharides under the Influence of Chlorocholine Chloride in *Aronia melanocarpa*. I.P. Pavlov Ryazan' Medical Institute 5: 601-604.
- Taiz, L. und E. Zeiger (2000): Physiologie der Pflanzen. Heidelberg/Berlin, Spektrum Akademischer Verlag: 363-366.
- Tanaka, T. und A. Tanaka (2001): Chemical Components and Characteristics of Black Chokeberry. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 48(8): 606-610.
- Valcheva-Kuzmanova, S., P. Borisova, et al. (2004): Hepatoprotective effect of the natural fruit juice from *Aronia melanocarpa* on carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology* 56(3): 195-201.

Valcheva-Kuzmanova, S., K. Kuzmanov, et al. (2006): Antihyperlipidemic Effect of Aronia melanocarpa Fruit Juice in Rats Fed a High-Cholesterol Diet. *Plant Foods for Human Nutrition*.

Valcheva-Kuzmanova, S., K. Marazova, et al. (2005): Effect of Aronia melanocarpa fruit juice on indomethacin-induced gastric mucosal damage and oxidative stress in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology* 56(6): 385-92.

Ward, N. C., K. D. Croft, et al. (2004): Supplementation with grape seed polyphenols results in increased urinary excretion of 3-hydroxyphenylpropionic Acid, an important metabolite of proanthocyanidins in humans. *Journal of Agricultural and food Chemistry* 52(17): 5545-9.

Watzl, B. und C. Leitzmann (1999): *Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln*. Stuttgart, Hippokrates Verlag GmbH.

Wilska-Jeszka, J. und A. Korzuchowska (1996): Anthocyanins and chlorogenic acid copigmentation - influence on the colour of strawberry and chokeberry juice. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung* 203: 38-42.

Wu, X., H. E. Pittman, et al. (2005): Aglycones and sugar moieties alter anthocyanin absorption and metabolism after berry consumption in weanling pigs. *Journal of Nutrition* 135(10): 2417-24.

Yamakoshi, J., A. Sano, et al. (2004): Oral intake of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds improves chloasma. *Phytotherapy Research* 18(11): 895-9.

Zhao, C., M. M. Giusti, et al. (2004): Effects of commercial anthocyanin-rich extracts on colonic cancer and nontumorigenic colonic cell growth. *Journal of Agricultural and food Chemistry* 52(20): 6122-8.

Zheng, W. und S. Y. Wang (2003): Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *Journal of Agricultural and food Chemistry* 51(2): 502-9.

Zlatanov, M. (1999): Lipid composition of Bulgarian chokeberry, black currant and rose hip seed oils. *Journal of Science of Food and Agriculture* 79: 1620-1624.

11 Abkürzungsverzeichnis

ABTS	:2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)
ACs	:Anthocyane
ACF	:Aberrant Crypt Foci
ALT	:Alanin Aminotransferase
ARE	:Anthocyan reiche Extrakte
AST	:Aspartat Aminotransferase
CCl ₄	:Tetrachlormethan
CEACAM1	:Carcion-Embryonale Antigen-bezogene Zellen Adhäsion Moleküle1
COX	:Cyclooxygenase
DPPH	:1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazin
FG	:Frischegewicht
FRAP	:Ferric Reducing Ability of Plasma
GC	:Gaschromatographiegerät
GSH	:Glutathion
HPLC	:High Performance Liquid Chromatography
KG	:Körpergewicht
MDA	:Malondialdehyde
MS	:Massenspektrometer
ORAC	:Oxygen Radical Absorbance Capacity
PAAs	:Proanthocyanidine
PCs	:Procyanidine
ROS	:Reactiv oxygen species
SCEs	:Sister Chromatic Exchanges
SPE	:Solid-phase extraktion
TBARS	:Thiobarbitursäure-reaktiver Substanzen
TEAC	:Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
TS	:Trockensubstanz

12 Anhänge

12.1 Tabellen 1-3

Tabelle 1.

**Konzentration in μg und Verteilung in Prozent der Phenolischen Verbindungen
in der Apfelbeere pro g Frischegewicht nach Zheng und Wang 2003**

Verbindung	Menge	%
Kaffeesäure	1411,4 μg	22,2
Kaffeesäure Derivate	1206,1 μg	19
Quercetin 3-Galactoside	302,4 μg	4,7
Quercetin 3-Glucoside	273,1 μg	4,2
Cyanidin 3-Galactoside	1256,3 μg	19,8
Cyanidin 3-Glucoside	16,9 μg	0,3
Cyanidin 3-Xyloside	469,0 μg	7,4
Cyanidin 3- Arabinoside	1424,3 μg	22,4

Tabelle 2.

**Phenolische Verbindungen und antioxidative Aktivität der *Aronia melanocarpa*
nach Oszmianski und Wojdylo 2005**

Verbindung	Frucht (mg/100 g TG)	Trester (mg/100 g TG)	Saft (mg/100 g TG)
Chlorogensäure	301,85	204,35	415,86
Neochlorogensäure	290,81	169,2	393,1
(-)-Epicatechin	15,04	11,41	12,71
polymere Procyanidine	5181,6	8191,58	1578,79
Quercetin 3-Rutinoside	15,1	13,55	27,53
Quercetin 3-Galactoside	36,98	47,44	49,76
Quercetin 3-Glucoside	21,64	26,5	31,24
Quercetin Derivate	27,43	82,4	46,93
Cyanidin 3-Galactoside	1282,41	1119,7	787
Cyanidin 3-Glucoside	42,14	79,44	28,15
Cyanidin 3-Arabinoside	581,5	532,64	324,37
Cyanidin 3-Xyloside	52,71	105,06	33,63
Gesamt Phenole	7849,21	10583,27	3729,07
Antioxidative Aktivität in μM Trolox/100 g Trockengewicht			
DPPH-Radikale	279,38	301,89	127,45
ABTS-Radikale	439,49	779,58	314,05

Tabelle 3.

**Identifikation der Anthocyane und ihren Metaboliten im Urin nach
der Aufnahme von Apfelbeeren in MS nach Wu, Pittman et al.**

Verbindung	Messung in Minuten nach der Aufnahme	nmol/kg KG	% im Urin
Isopeonidin-3-Arabinosid Monoglucuronid	13,6	0,45	0,0007
Peonidin-3-Galactosid Monoglucuronid	14,9	5,41	0,0036
Peonidin-3-Arabinosid Monoglucuronid	17,8	5,31	0,0082
Peonidin-3-Xylosid Monoglucuronid	21,3	1,27	0,0151
Cyanidin-3-Galactosid	23,9	89,48	0,0596
Cyanidin-3-Glucosid	26,2	2,10	0,0369
Cyanidin Monoglucuronid	26,9	6,21	0,1090
Cyanidin-3-Arabinosid	28,5	19,56	0,0302
Isopeonidin-3-Galactosid	30,5	10,44	0,0070
Peonidin-3-Galactosid	31,1	35,73	0,0238
Isopeonidin Monoglucuronid	33,9	4,61	0,0031
Peonidin Monoglucuronid	34,9	23,52	0,0157
Isopeonidin-3-Arabinosid	35,6	3,18	0,0049
Peonidin-3-Arabinosid	36,7	11,29	0,0175
Cyanidin-3-Xylosid	38,2	3,15	0,0376
Isopeonidin-3-Xylosid	46,2	0,66	0,0078
Peonidin-3-Xylosid	47,8	1,20	0,0143

12.2 Ethikantrag

12.2.1 Antragsformular

Ethikkommission
bei der Landesärztekammer Baden-Württemberg

Antragsformular zur Beurteilung ethischer und rechtlicher Fragen eines medizinischen Forschungsvorhabens am Menschen¹

(auszufüllen auf der Grundlage des Prüfplans/Studienprotokolls)

I. Allgemeines

1. Titel des Projektes

Procyanidine - Biotransformation und biologische Aktivität (Pilotstudie)

2. Name und Anschrift des

- a) verantwortlichen Projektleiters

Prof. Dr. rer. nat. Sabine Kulling
Universität Potsdam, Institut für Ernährungswissenschaft,
Lehrstuhl Lebensmittelchemie
Arthur-Scheunert-Allee 114-116, 14558 Nuthetal

- b) betreuenden Arztes

PD Dr. med. Achim Bub
Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel, Institut für
Ernährungsphysiologie
Haid-und-Neu-Str. 9, 76131 Karlsruhe

3. Krankenhaus, Institut oder Praxis, in dem oder in der das Forschungsvorhaben durchgeführt werden soll

Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel, Institut für
Ernährungsphysiologie

4. Name und Anschrift des geschäftsführenden Leiters der Institution

Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Dr. rer. nat. habil. Gerhard Rechkemmer
Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel
Haid-und-Neu-Str. 9, 76131 Karlsruhe

5. Finanzierung

Die Studie ist Teil eines Projektes, das von Bundesministerium für Bildung und Forschung im Rahmen der Förderaktivität „Funktionelle Ernährungsforschung“ finanziert wird.

Projekttitel: Procyanidine – Vom besseren Verständnis der Wirkung zur Entwicklung funktioneller Lebensmittel (AZ 31P4243).

6. Wurde schon ein Antrag gleichen Inhalts bei einer anderen Ethikkommission gestellt? Wenn ja, bei welcher? (ggf. Votum beilegen)

Nein

II. Forschungsvorhaben

1. Kurzer Abriss des Projektes

Das Ziel der vorliegenden Pilot-Studie ist die Untersuchung des Aufnahmeweges sowie der Bioverfügbarkeit von Procyanidinen unterschiedlicher Struktur. In der Studie eingesetzt werden: Epicatechin (monomere Einheit), Procyanidin B2 (Dimeres aus 2 Epicatechineinheiten) sowie eine Oligomerfraktion (Procyanidine, die aus mind. 5 Epicatechineinheiten bestehen).

Die gereinigten Procyanidine, die aus Traubenkernextrakten sowie aus Extrakten der Apfelbeere gewonnen werden, werden den gesunden, männlichen Probanden einmalig in einer Dosierung von 1,5 mg/kg KG verabreicht. Die Studie ist kontrolliert und randomisiert. Blutabnahmen finden am Interventionstag (5 Entnahmen), in der Vorphase zur Charakterisierung der Probanden (1 Entnahme) sowie am Morgen des 2. und 3. Studientages (jeweils 1 Entnahme) statt. Urin- und Faecesproben werden am Interventionstag und am 2. Studientag gesammelt. Hauptzielkriterium ist die Bestimmung der Konzentration der nicht verstoffwechselten Procyanidine und der gebildeten Metabolite im Blutplasma, Urin und Stuhl. Als Begleitparameter werden der Umfang und die Geschwindigkeit der Bioverfügbarkeit (AUC , C_{max} , T_{max}), die Systemic Clearance und das Verteilungsvolumen im Blutplasma gemessen. Ruhenüchternumsatz, Körperfettmasse, Körpergröße, Körpergewicht sowie die Erfassung der Ernährungsgewohnheiten dienen der Charakterisierung des Probandenkollektives.

2. Art des Forschungsvorhabens**2.1 Handelt es sich um eine Arzneimittelprüfung?**

ja nein

2.2 Handelt es sich um eine Untersuchung mit einem Medizinprodukt?

ja nein

2.3 Handelt es sich um eine andere Form der Forschung (weder mit Arzneimitteln noch Medizinprodukten)?

Forschung mit epidemiologischen Daten

Forschung mit menschlichen Geweben oder Körperflüssigkeiten

Andere Form von biomedizinischer Forschung am Menschen

Liegt eine Einverständniserklärung der Betroffenen vor?

ja nein

3. Ziel der Prüfung

Therapie

Prophylaxe

Diagnostik

Humanexperiment an gesunden oder kranken Probanden, wesentlich im Interesse des wissenschaftlichen Erkenntnisfortschritts

4. Sollen Minderjährige an der Untersuchung beteiligt werden?

ja nein

5. Sollen Nichteinwilligungsfähige an der Untersuchung beteiligt werden?

ja nein

6. Typ der Studie

vergleichend (kontrolliert)	<input checked="" type="checkbox"/>	placebokontrolliert	
offen		randomisiert	<input checked="" type="checkbox"/>
einfachblind		Pilotstudie	<input checked="" type="checkbox"/>
doppelblind	<input checked="" type="checkbox"/>	multizentrisch	

7. Handelt es sich um eine Untersuchung auf die

- a) die Strahlenschutzverordnung
- b) die Röntgenverordnung
- c) die Medizingeräteverordnung

Anwendung findet?

Nein

8. Anzeigepflicht beim Regierungspräsidium

entfällt

9. Prüfplan/Untersuchungsplan

siehe Anlage

III. Fragen zu den Voraussetzungen der geplanten Studie

1. Bei Arzneimittelstudien und Studien nach dem MPG: Bisherige Erkenntnisse und Erfahrungen zur Fragestellung

entfällt

2. Bisher schon dokumentierte und möglicherweise zu erwartende unerwünschte Wirkungen, Risiken und Art der Komplikationen

keine

IV. Durchführung der Studie

1. Risiko-Nutzen-Abwägung

Durch die Intervention mit Procyanidinen aus der Apfelbeere und der Traube entstehen keine zusätzlichen oder besonderen Risiken. Risiken bestehen nur in der Blutabnahme (Infektion, Hämatom, Blutverlust) und können bei *lege artis* Durchführung nahezu ausgeschlossen werden. Die Studienteilnehmer haben keinen persönlichen Nutzen. Die Studie soll Auskunft darüber geben, wie Procyanidine in Abhängigkeit zu ihrer Struktur metabolisiert werden und klären, ob sie für den Menschen bioverfügbar sind.

2. Ärztliche Schweigepflicht und Datenschutz

Zu Beginn der Studie werden die persönlichen Daten der Probanden anonymisiert. Alle personenbezogenen Daten unterliegen der ärztlichen Schweigepflicht und dürfen nicht an Dritte weitergegeben werden.

3. Aufklärung

siehe Anlage

V. Abbruchkriterien

Individuelle Abbruchkriterien:

- geringe Compliance der Probanden
- Probanden, die während der Versuchszeit Medikamente einnehmen
- Probanden, bei denen unverträgliche, unerwünschte Ereignisse auftreten
- Probanden mit akuten Magen-Darm-Erkrankungen im Versuchszeitraum
- Probanden, die ihre Zustimmung zur Teilnahme an der Studie widerrufen

Studienabbruchkriterien:

Wenn durch die individuellen Abbruchkriterien die Zahl der Probanden soweit reduziert ist, dass eine statistische Auswertung nicht mehr durchzuführen ist.

VI. Kostenübernahmeerklärung

Eine Kostenübernahmeerklärung ist angeschlossen

VII. Unterschriften

Potsdam,

Ort, Datum

Prof. Dr. rer. nat. Sabine Kulling
(Projektleiterin)

Karlsruhe,

Ort, Datum

PD Dr. med. Achim Bub
(verantwortlicher Studienarzt)

12.2.2 Probandeninformation

Untersuchung zur Bioverfügbarkeit und zum Metabolismus von Procyanidinen aus der Apfelbeere und der Traube

PROBANDEN - INFORMATION

Lieber Studienteilnehmer,

freundlicherweise haben Sie sich bereit erklärt, an dieser Interventionsstudie teilzunehmen, die die Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel (BFEL) in Kooperation mit der Universität Potsdam durchführt. Die Studie beschäftigt sich mit der Aufnahme und der Verfügbarkeit von bioaktiven Inhaltsstoffen der Apfelbeere (*Aronia melanocarpa*) und der Weintraube im menschlichen Organismus.

Wissenschaftliche Studien bestätigen, dass die tägliche Aufnahme von Obst und Gemüse eine gesundheitsfördernde Wirkung auf den Menschen hat. Pflanzliche Lebensmittel können vor Erkrankungen wie Herz-Kreislauferkrankungen oder Krebs schützen oder den Verlauf dieser Krankheiten positiv beeinflussen. Neben den Vitaminen und Mineralstoffen spielen hierbei die sekundären Pflanzenstoffe eine entscheidende Rolle. Polyphenole machen einen Großteil der sekundären Pflanzenstoffe aus. Zu den wichtigsten Polyphenolen gehören die Procyanidine, von denen wir täglich zwischen 100 - 500 mg über die pflanzliche Nahrung aufnehmen. Bisher ist nur sehr wenig über den Stoffwechselweg dieser Verbindung bekannt, da die Struktur der Procyanidine sehr komplex ist und eine Untersuchung erschwert.

Procyanidine kommen in vielen Früchten, vor allem Beerenfrüchten, vor. Besonders reich an Procyanidinen ist die Apfelbeere (*Aronia melanocarpa*). Sie ist eine am Strauch wachsende Wildbeere und stammt ursprünglich aus Nordamerika. Als Ziergehölz wurde die Aronia über Osteuropa und Russland nach Deutschland gebracht. In Russland ist die Aronia heute noch eine anerkannte Heilpflanze. Roh werden die etwa Heidelbeer-großen, schwarzvioletten Beeren wegen ihres adstringierenden Geschmacks selten verzehrt, aber als Saft oder Marmelade ist die Beere inzwischen in vielen Reformhäusern zu finden. Die Besonderheit dieser Frucht liegt in ihrem hohen Anteil an Polyphenolen, der mit 7 g pro 100 g

Frischegewicht etwa das Fünffache des Polyphenol-Gehaltes anderer Beeren, z.B. der Cranberry, ausmacht. Zwei Drittel der in Aronia enthaltenen Polyphenole sind Procyanidine.

In der Traube sind Procyanidine vor allem in der Schale und den Kernen enthalten. Neben dem Apfel ist die Weintraube für den Menschen die Hauptaufnahmekquellen für diese Verbindungen.

In welcher Form und in welchem Umfang die Procyanidine im Körper aufgenommen werden, ist noch nicht umfassend geklärt, da aufgrund von fehlenden Reinsubstanzen bisher nur Lebensmittelextrakte für Untersuchungen eingesetzt wurden, die neben den verschiedenen Procyanidinen auch viele andere Verbindungen enthalten. Es wird jedoch vermutet, dass der Abbauweg und die dabei entstandenen Abbauprodukte (Metaboliten) für die gesundheitsfördernde Wirkung der Procyanidine mitverantwortlich sind.

In dieser Studie soll geklärt werden, in welchem Umfang Procyanidine aufgenommen werden und zu welchen Metaboliten sie umgewandelt werden. Dazu werden sowohl die unveränderten Procyanidine, als auch ihre Metaboliten nach einer einmaligen Aufnahme von drei unterschiedlichen Procyanidinen im Blutplasma, Urin und Stuhl analysiert.

Die Teilnahme an dieser Studie hat für Sie persönlich keinen körperlichen oder finanziellen Vorteil – allerdings leisten Sie hierdurch einen wertvollen Beitrag dazu, dass die Aufnahme und die Verfügbarkeit von Procyanidinen im menschlichen Körper besser erforscht werden kann.

Ablauf der Studie:

- **Vor Versuchsbeginn** wird Ihr Grundumsatz (Energieverbrauch im Ruhezustand) mittels indirekter Kalorimetrie bestimmt. Bei diesem Verfahren wird die Sauerstoffaufnahme gemessen, die Auskunft über den Energieumsatz gibt. Ihre Körperfettmasse wird durch die Bioelektrische Impedanzanalyse bestimmt, die auf der unterschiedlichen Leitfähigkeit verschiedener Gewebearten für Wechselstrom basiert. Über Hautelektroden wird dabei ein homogenes elektrisches Wechselstromfeld mit konstanter Stromstärke erzeugt und anschließend der Gesamtwiderstand des Körpers gemessen. Mit dieser ungefährlichen, schmerzfreien und genauen Methode wird der Körperwassergehalt gemessen und hieraus Ihr Körperfettgehalt berechnet. Zusätzlich wird Ihr Körpergewicht und Ihre Körpergröße ermittelt. Eine einmalige Nüchtern-Blutentnahme (ca. 20 ml Blut) aus einer

Armvene dient der Dokumentation Ihres Gesundheitszustandes. Ihre Ernährungsgewohnheiten werden mit Hilfe eines Fragebogens erfaßt.

- Bereits **24 Stunden vor** dem ersten Studientag dürfen Sie zur ‚Auswaschung‘ keine Lebensmittel essen, die Procyanidine enthalten. Eine ‚Rote Liste‘ mit Lebensmitteln, die Sie meiden müssen, erhalten Sie vor Beginn der Studie.
- Am ersten Studientag müssen Sie morgens **nüchtern** in das Institut kommen. Als erstes wird Ihnen unser Studienarzt PD Dr. med. Bub 20 ml Blut abnehmen. Anschließend bekommen Sie mit einem normalen Frühstück eine Gelatinekapsel, die Procyanidin-Verbindungen aus der Apfelbeere und Trauben enthält. Den Tag über werden Sie zur regelmäßigen Blutabnahme sowie zur Urin- und Stuhlprobe im Humantrakt der BFEL verbringen. Mittag- sowie Abendessen werden Ihnen während dieses Tages bereitgestellt. Zur Übernachtung bekommt jeder Studienteilnehmer ein Einzelzimmer mit WC zur Verfügung gestellt.
- Eine Stunde nach der Aufnahme der Kapsel erfolgt die zweite Blutabnahme. Die 3., 4. und 5. Blutentnahme erfolgt 2, 4 und 8 Stunden nach Aufnahme der Kapsel.
- Des Weiteren werden Ihnen am 2. (24 Stunden) und am 3. (48 Stunden) Tag nach der Aufnahme jeweils 20 ml Blut abgenommen. Zusätzlich werden Sie gebeten, am 2. Tag Ihren Urin in dafür zur Verfügung stehenden Behältern zu sammeln.
- Nach der Übernachtung in der BFEL wird eine Stuhlsammlung in der Toilette unserer Probandenzimmer vorgenommen. Der Morgenurin wird ebenfalls gesammelt. In nüchternem Zustand wird Ihnen nochmals 20 ml Blut abgenommen. Sie erhalten auf Wunsch ein Frühstück und können die BFEL anschließend verlassen.
- Am darauf folgen Morgen d.h. am dritten Studientag müssen Sie nochmals zu einer einmaligen Blutentnahme in die BFEL kommen. Sie brauchen nicht nüchtern zu sein. Insgesamt werden Ihnen bei dieser Studie 160 ml Blut bei 8 Blutentnahmen abgenommen. Diese Menge entspricht 1/3 der Blutmenge, die bei einer Blutspende üblich ist.

Die Untersuchungen und Analysen Ihrer Blutproben werden in der BFEL (Institut für Ernährungsphysiologie) in Kooperation mit der Universität Potsdam durchgeführt. Im Falle

eines Studienrücktritts können Sie die Vernichtung Ihrer Proben verlangen. Auf Wunsch können Sie die Ergebnisse Ihrer Untersuchungen von dem verantwortlichen Studienarzt PD Dr. med. A. Bub erfahren.

Die Zuordnung der Kapseln mit den verschiedenen Procyanidinen wird durch eine ‚randomisierte‘ Verteilung (nach dem Zufallsprinzip) vorgenommen.

Ihre Teilnahme an dieser Studie ist **freiwillig** und kann jederzeit und ohne Angabe von Gründen abgebrochen werden. Im Falle eines Rücktritts wird bereits gewonnenes (Daten-) Material vernichtet, es sei denn, Sie stimmen zu, dass Sie trotz Ihres Rücktritts mit der Auswertung des Materials einverstanden sind.

Bezüglich möglicher Risiken ist zu erwähnen, dass generell jeder Mensch zu jeder Zeit eine Allergie gegenüber bestimmten Stoffen entwickeln kann, was auch in dieser Studie nicht ausgeschlossen werden kann. Bei der Blutabnahme ist die Bildung eines Hämatoms oder eine Infektion möglich.

Die Vorschriften über die ärztliche Schweigepflicht und den Datenschutz werden im Rahmen dieser Studie eingehalten. Es werden ggf. nur anonymisierte Datenbögen ohne Namensnennung weitergegeben. Zu Beginn der Studie werden die persönlichen Daten der Probanden anonymisiert. Dritte erhalten keinen Einblick in Originalunterlagen.

Die personenbezogenen Daten verbleiben beim Versuchsleiter und werden nach Abschluss der Studie 10 Jahre aufbewahrt (gemäß den ‚Regeln zur Sicherung guter wissenschaftlichen Praxis‘ der Deutschen Forschungsgemeinschaft).

Vielen Dank für Ihre Mitarbeit !

Karlsruhe, den

Datum

Unterschrift des Versuchsleiters

12.2.3 Rote Liste

Rote Liste

der Procyanidin-haltigen Nahrungsmittel

Während der gesamt Studienphase (inkl. 24 Stunden vor Beginn) sollten Sie folgen Lebensmittel **meiden**:

- Jegliches **Obst (auch Avocados)** und **Trockenobst**
- **Nüsse** aller Art einschließlich **Erdnüsse** und **Mandeln**
- **Bohnen** aller Art auch **Sojaprodukte (inkl. Miso)** und **Linsen**
- Die Getreidesorten **Gerste, Hirse, Buchweizen**
- **Kakao** und Kakaoprodukte
- Schwarzer und grüner **Tee, Kaffee**
- **Wein, Bier (Hopfen), Fruchtsäfte**
- **Kürbis**
- **Zimt und Curry**

Bitte achten Sie darauf, das auch Lebensmittel, die hier nicht im speziellen aufgelistet sind Procyanidin-haltige Inhaltstoffe enthalten können wie **Nutella, Müsli (Rosinen), Malzkaffee (Carokaffee), Malzbier, Tofu, Nussöl oder Fruchtjoghurt** . Damit gehören diese Lebensmittel ebenfalls zu den „verbotenen“ Lebensmitteln.

Ein Blick auf die Zutatenliste hilft bei der Orientierung!

Zu empfehlen ist der Verzehr von Weizenbrot- oder Brötchen, Zucchini, Auberginen, Möhren, Kichererbsen und Ananas.

Tierische Produkte wie Milchprodukte (Käse, Butter, Quark usw.) sowie Fleisch, Fisch und Eier können unbedenklich gegessen werden.

12.2.4 Untersuchungsplan

1 ALLGEMEINES

1.1 Titel des Projektes

Procyanidine: Biotransformation und biologische Aktivität (Pilotstudie)

1.2 Einrichtung, in der das Forschungsvorhaben durchgeführt wird

Bundeforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel (BFEL)
Institut für Ernährungsphysiologie
Haid-und-Neu-Str. 9, 76131 Karlsruhe

1.3 Leiter der Studie

Prof. Dr. rer. nat. Sabine Kulling

Telefon (33200) 88-580, Fax (33200) 88-582
E-mail: kulling@uni-potsdam.de

1.4 Verantwortlicher Studienarzt sowie Leiter des Humanlabors

PD Dr. med. Achim Bub

Telefon (0721) 6625-411, Fax (0721) 6625-404
E-mail: achim.bub@bfel.de

1.5 Weitere an der Studie Beteiligte

1.6 Finanzierung

Die Studie ist Teil eines Projektes, das von Bundesministerium für Bildung und Forschung im Rahmen der Förderaktivität „Funktionelle Ernährungsforschung“ finanziert wird.

Projekttitle: Procyanidine – Vom besseren Verständnis der Wirkung zur Entwicklung funktioneller Lebensmittel (AZ 31P4243).

2 ZUSAMMENFASSUNG

Die Ergebnisse epidemiologischer Studien weisen auf einen Zusammenhang zwischen einer obst- und gemüsereichen Kost und einem verringerten Risiko chronischen Erkrankungen hin. Danach korreliert die Aufnahme an Flavonoiden, sekundären Pflanzenstoffen in Obst und Gemüse, mit der protektiven Wirkung. Tierexperimentelle Studien und *in vitro*-Untersuchungen unterstützen diese Ergebnisse. Zu den wichtigsten phenolischen Verbindungen der Flavonoide gehören die Procyanidine (PCs), die mit fast 60 % den Hauptteil der aufgenommenen Flavonoide ausmachen. Aufgrund ihrer heterogenen Struktur lässt sich diese komplexe Stoffgruppe aber nur sehr schwer analysieren. Zur Qualifizierung der dimeren und oligomeren Verbindungen stehen bisher keine Standardsubstanzen zur Verfügung, weshalb über PCs wenig bekannt ist. Das Ziel dieser Pilot-Studie ist die Untersuchung des Aufnahmeweges sowie der Bioverfügbarkeit von unterschiedlichen PCs hinsichtlich ihrer Struktur im Vergleich mit dem monomeren Baustein (Epicatechin) im menschlichen Körper. Zu diesem Zweck werden ein Proyanidin Dimer (B2) sowie eine Oligomerfraktion eingesetzt. Die Untersuchung soll im Rahmen einer randomisierten, kontrollierten Studie stattfinden. Gereinigte PCs (Dimer und Oligomer) aus Traubenkernextrakten sowie aus Extrakten der Apfelbeere werde im Vergleich zu dem monomeren PC Baustein (Epicatechin) gesunden, männlichen Probanden einmalig in einer Dosierung von 1,5 mg/kg Körpergewicht verabreicht. Blutabnahmen finden jeweils am Interventionstag (5 Blutentnahmen), in der Vorphase zur Charakterisierung der Probanden sowie am Morgen des 2. und 3. Studientages (jeweils 1 Entnahme) statt. Urin- und Stuhlproben werden am Interventionstag sowie am darauf folgenden Tag gesammelt. Hauptzielkriterium ist die Identifizierung der Ausgangsverbindung sowie der gebildeten Metaboliten im Plasma, Urin und Stuhl der Probanden. Der Umfang und die Geschwindigkeit der Bioverfügbarkeit (AUC , C_{max} , T_{max}) der PCs, wie auch die Systemic Clearance und das Verteilungsvolumen werden als Nebenzielgrößen im Blutplasma gemessen. Zur Charakterisierung des Probandenkollektives werden der Ruhe-Nüchternumsatz, der Körperfettgehalt, die Körpergröße, die Körpermasse sowie die Ernährungsgewohnheiten dokumentiert.

3 INHALTSVERZEICHNIS

1	ALLGEMEINES	82
1.1	Titel des Projektes	82
1.2	Einrichtung, in der das Forschungsvorhaben durchgeführt wird	82
1.3	Leiter der Studie	82
1.4	Verantwortlicher Studienarzt sowie Leiter des Humanlabors	82
1.5	Weitere an der Studie Beteiligte	82
1.6	Finanzierung	82
2	ZUSAMMENFASSUNG	83
3	INHALTSVERZEICHNIS	84
4	EINLEITUNG	85
4.1	Wissenschaftliche Grundlagen	85
4.1.1	Allgemeines	85
4.1.2	Bioverfügbarkeit und Metabolismus von Procyanidinen	85
5	ZIELE DER STUDIE/ZIELKRITERIEN	86
5.1	Hauptzielkriterien	87
5.2	Nebenzielkriterien/Begleitparameter	87
5.3	Sicherheitsparameter	87
6	STUDIENDESIGN(-TYP)	87
7	EINSCHLUSSKRITERIEN	87
8	AUSSCHLUSSKRITERIEN	88
8.1	Ausschlusskriterien während der Studie (Drop-outs)	88
8.2	Ausschlusskriterien für die nachfolgende Auswertung	88
9	RANDOMISIERUNGSVERFAHREN	88
10	STUDIENABLAUF	89
10.1	Ernährungsintervention	89
10.2	Angabe der Kontrollzeitpunkte bzw. angewandete Methodik	90
10.2.1	Hauptzielkriterium	90
10.2.2	Begleitparameter	90
10.2.3	Hinweis auf die Messmethoden	90
11	BESCHREIBUNG VON RISIKEN / RISIKO-NUTZEN-ABWÄGUNG	90
12	BEGLEITTHERAPIE UND SICHERHEITSLABOR	91
13	ABBRUCHKRITERIEN	91
13.1	Individuelle Abbruchkriterien	91
13.2	Studienabbruchkriterien	91
14	STATISTISCHE AUSWERTUNG	91
15	BEHANDLUNG DER PROBEN UND PROBENDATEN	91
16	RECHTLICHE UND ETHISCHE ASPEKTE	91
16.1	Ethische Grundlagen	91
16.1.1	Probandeninformation / Einverständniserklärung	92
16.2	Rechtliche Grundlagen	92
16.2.1	Votum der Ethikkommission	92
16.2.2	Datenschutz / Ärztliche Schweigepflicht	93
16.2.3	Police der Versicherung	93
17	LITERATURANGABEN	93
18	UNTERSCHRIFTEN	94

4 EINLEITUNG

4.1 Wissenschaftliche Grundlagen

4.1.1 Allgemeines

Flavonoide sind in der pflanzlichen Nahrung sehr weit verbreitet. Die Ergebnisse epidemiologischer Studien weisen auf einen Zusammenhang zwischen einer flavonoidreichen Ernährung und einem verringerten Risiko von chronischen Erkrankungen hin. Procyanidine (PCs) gehören zu den wichtigsten phenolischen Verbindungen und machen fast 60 % der aufgenommenen Flavonoide aus. PCs kommen vor allem in Beerenobst und andern Früchten sowie in Nüssen, Bohnen, Tee, Kakao und Kaffee vor. Äpfel stellen eine Hauptaufnahmequelle für PCs dar. Der Gehalt an PCs beträgt in einem Apfel der Sorte Golden Delicious ca. 85 mg/100 g verzehrbaren Anteils (de Pascual-Teresa, Santos-Buelga et al. 2000). Aufgrund ihrer hohen antioxidativen Kapazität (Ricardo-Da-Silva J. M. 1991; Saint-Cricq De Gaulejac, Provost et al. 1999) werden PCs eine Reihe gesundheitsfördernder Wirkungen zugeschrieben. Kardiovaskuläre Erkrankungen werden bspw. durch eine Reduzierung der Lipidperoxidation, eine Verminderung der Thrombozytenaggregation und einer Erweiterung der Gefäße bei der Aufnahme von PCs positiv beeinflusst (Fine 2000; Murphy, Chronopoulos et al. 2003). Eine präventive Wirkung gegen Brustkrebs (Eng, Ye et al. 2003) wird mit den PCs genauso in Verbindung gebracht, wie die antibakterielle Wirkung gegen die Erreger von Harnwegsinfektionen (Foo, Lu et al. 2000). Aufgrund dieser vielfältigen Wirkung werden ständig neue Studien mit PC-reichen Lebensmitteln durchgeführt. Für die Untersuchungen werden meist Lebensmittelextrakte eingesetzt, da PCs als Reinsubstanzen bisher nicht zur Verfügung stehen. Diese Studie wird durchgeführt, um die Biokinetik von charakterisierten, gereinigten PCs (Dimere und Oligomere) im menschlichen Organismus im Vergleich zu monomeren PCs zu bestimmen.

4.1.2 Bioverfügbarkeit und Metabolismus von Procyanidinen

Bisher gibt es nicht viele Informationen zur Bioverfügbarkeit und zum Metabolismus von PCs. Lediglich die Monomeren sind genauer untersucht worden. Die Monomere Catechin und Epicatechin werden im Verdauungstrakt resorbiert und gelangen als Konjugate in nicht-methylierter oder 3'-O-methylierter Form ins Plasma. Die

Bioverfügbarkeit von Epicatechin ist höher als die von Catechin (Baba, Osakabe et al. 2001).

PCs mit einem hohen Polymerisierungsgrad werden im Darm schlechter resorbiert und zeigen eine niedrigere Bioverfügbarkeit (Sarni-Manchado, Cheynier et al. 1999). Die Aufnahme von PCs im Darm beschränkt sich daher auf Verbindungen, mit einem niedrigen Polymerisierungsgrad und deren im Dickdarm gebildeten Metaboliten (Scalbert, Deprez et al. 2000). Polymere PCs können wegen ihres hohen Molekulargewichtes nicht im Intestinaltrakt resorbiert werden. Sie können aber von der Mikroflora des Darms zu bioverfügbaren phenolischen Säuren abgebaut werden, die für die gesundheitsfördernde Wirkung verantwortlich gemacht werden (Deprez, Brezillon et al. 2000).

Oligomere PCs können vermutlich ebenfalls metabolisiert werden: In mehreren Studien wird bestätigt dass der Konsum von Kakao, Äpfeln und synthetischen Oligomeren zu einer Ansammlung von ganzen PC-Einheiten oder deren Metaboliten im Plasma von Ratten führt (Holt, Lazarus et al. 2002; Shoji, Masumoto et al. 2006; Garcia-Ramirez, Fernandez-Larrea et al. 2006). Auch beim Menschen kann man nach der Aufnahme von Traubenkernextrakten das PA B1 im Plasma nachweisen (Sano, Yamakoshi et al. 2003).

Einzig in einer Studie von Donovan et al. aus dem Jahr 2002 wurde festgestellt, dass PA B3 nicht metabolisiert wird und daher weder als ganzes, noch in konjugierter Form im Plasma und Urin von Ratten ermittelt werden konnte (Donovan, Manach et al. 2002).

Eine genaue Analyse des Metabolismus der unterschiedlichen PC-Verbindungen konnte aufgrund der nicht vorhandenen Reinsubstanzen bisher nicht durchgeführt werden. Weitere Studien in diesem Bereich sind notwendig, um den Metabolismus und die Bioverfügbarkeit der verschiedenen PCs (Dimere, Oligomere und Polymere) aufzuklären. Dies ist die Voraussetzung dafür, die vermuteten gesundheitsfördernden Effekte zu verstehen.

5 ZIELE DER STUDIE/ZIELKRITERIEN

Das Ziel der vorliegenden Pilot-Studie ist, den Metabolismus und die Bioverfügbarkeit von unterschiedlichen PC-Verbindungen (Dimere und Oligomere)

hinsichtlich ihrer Struktur im Vergleich zu Epicatechin, dem monomeren Baustein der PCs, zu analysieren.

Hauptzielkriterien

Hauptzielkriterium ist die quantitative Bestimmung der PC-Ausgangsverbindung und deren Metabolite im Plasma, im Urin und im Stuhl der Probanden.

Nebenzielkriterien/Begleitparameter

Als Begleitparameter werden der Umfang und die Geschwindigkeit der Bioverfügbarkeit (AUC , C_{max} , T_{max}), die Systemic Clearance und das Verteilungsvolumen im Blutplasma gemessen. Außerdem werden zur Charakterisierung des Probandenkollektives Ruhe-Nüchternumsatz, Körperfettgehalt, Körpergröße, Körpermasse und die Ernährungsgewohnheiten erfasst.

5.1 Sicherheitsparameter

Sicherheitsparameter entfallen, da es sich um eine Ernährungsintervention mit einem natürlichen Lebensmittelinhaltsstoff und nicht um eine Arzneimittelintervention handelt.

6 STUDIENDESIGN(-TYP)

Es handelt sich um eine humane, randomisierte, prospektive, monozentrische Interventionsstudie (Pilotstudie). Die Blindung bezieht sich zum einen auf die Studienteilnehmer, die nicht wissen, welchen der drei PC-Verbindungen sie in dieser Studie erhalten. Zum anderen bezieht sich die Blindung auf die Personen, die mit der Aufarbeitung und Analyse der Proben betraut sind. Zu diesem Zweck findet eine Codierung der Proben statt. Die Studie wird mit 18 gesunden männlichen Nichtrauchern (6 Probanden pro Gruppe) an der Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel durchgeführt.

7 EINSCHLUSSKRITERIEN

- Männliche Probanden (Nichtraucher) im Alter zwischen 20 und 40 Jahren
- Probanden mit normalen Blutdruckwerten (<140 / <90 mm Hg RR)
- Probanden, die in schriftlicher Form ihr Einverständnis zur Teilnahme an der Studie gegeben haben

8 AUSSCHLUSSKRITERIEN

- Probanden mit schwerwiegenden Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes
- Probanden mit Fettstoffwechselstörungen
- Probanden mit Tumorerkrankungen in der Vorgeschichte
- Probanden mit chronisch-entzündlichen oder immunologischen Erkrankungen in der Vorgeschichte
- Probanden mit infektiösen Erkrankungen
- Probanden mit Lebensmittelallergien in der Vorgeschichte
- Probanden mit Alkohol- oder Medikamentenabusus
- Probanden, die sich vegan oder alternativ ernähren
- Probanden, die in den letzten 6 Monaten Antibiotika eingenommen haben
- Probanden, die regelmäßig Vitaminpräparate zu sich nehmen
- Probanden, die im Versuchszeitraum exzessive körperliche Aktivitäten betreiben
- Probanden, die auf gerichtliche oder behördliche Anordnung in einer Anstalt verwahrt werden
- Probanden, die voraussichtlich die Versuchsbedingungen nicht einhalten
- Probanden, die ihre Zustimmung zur Teilnahme an der Studie widerrufen
- Raucher

8.1 Ausschlusskriterien während der Studie (Drop-outs)

- Probanden, die während der Versuchszeit Medikamente einnehmen
- Probanden, bei denen unvertretbare, unerwünschte Ereignisse auftreten
- Probanden mit akuten Magen-Darm-Erkrankungen im Versuchszeitraum
- Probanden, die ihre Zustimmung zur Teilnahme an der Studie widerrufen

8.2 Ausschlusskriterien für die nachfolgende Auswertung

- Probanden, bei denen unvertretbare unerwünschte Ereignisse auftreten
- Probanden, die die Versuchsbedingungen nicht einhalten
- Probanden, bei denen relevante Daten fehlen

9 RANDOMISIERUNGSVERFAHREN

Das Probandenkollektiv besteht aus 18 männlichen Nichtraucher, die in drei Gruppen (pro Gruppe 6 Probanden) aufgeteilt jeweils eine PC-Reinsubstanz (Monomer, Dimer oder Oligomer) aufnehmen: Gruppe 1 erhält PC Monomere (Epicatechin), Gruppe 2 bekommt das PC Dimer B2 und die 3. Gruppe erhält ein PC

Oligomer. Die Zuordnung der Probanden zu den Gruppen erfolgt per Zufallsgenerator d.h. randomisiert.

10 STUDIENABLAUF

10.1 Ernährungsintervention

- In einer 24-stündigen Auswaschphase verzichten die Probanden auf PC-haltige Lebensmittel. Die Ernährungsintervention besteht in der einmaligen Aufnahme einer PC-Reinsubstanz aus der Apfelbeere oder der Traube von 1,5 mg/kg Körpergewicht. Die PC-Verbindung wird dabei zur besseren Handhabung in Form einer Gelatine kapsel eingenommen. Die Menge der aufgenommenen PCs entspricht in etwa der Menge, die bei dem Konsum eines Apfels aufgenommen wird.

- Die Studienteilnehmer sammeln am Morgen des ersten Studientages zu Hause Kontrollurin. Nach Eintreffen in der BFEL (am selben Morgen) wird den Probanden im nüchternen Zustand Blut aus der Armvene entnommen (Kontrollwert für Plasma und Lymphozyten; $t=0$). Weitere Blutentnahmen erfolgen 1 Stunde ($t=1$), 2 Stunden ($t=2$), 4 Stunden ($t=4$) und 8 Stunden ($t=8$) nach der Aufnahme der Kapsel. Am Versuchstag wird ebenfalls der Urin gesammelt.

Während des Tages erhalten die Probanden eine standardisierte und kontrollierte Kost, die der üblichen westlichen Mischkost entspricht und an den individuellen Energiebedarf angeglichen wird. Diese umfaßt ein Frühstück (eine halbe Stunde nach Aufnahme des Sojaextraktes) sowie Mittag- und Abendessen, die im Speiseraum des Humantraktes der BFEL eingenommen werden.

- Die Studienteilnehmer übernachten im Humantrakt der BFEL. Am Morgen des zweiten Studientages erfolgt eine weitere Blutentnahme ($t=24$ h). Zudem wird Morgenurin und Faeces gesammelt. Die Teilnehmer erhalten ein Frühstück und können die BFE verlassen.

- Die Studienteilnehmer erscheinen am Morgen des dritten Studientages zur letzten Blutentnahme ($t=48$ h).

10.2 Angabe der Kontrollzeitpunkte bzw. angewandete Methodik

Zu Beginn der Studie werden die Parameter Probanden-Initialen, Geburtsdatum, Geschlecht, Größe, Gewicht, Körperfettgehalt, Ruhe-Nüchternumsatz und Anamnesedaten erhoben.

10.2.1 Hauptzielkriterium

Hauptzielkriterium ist die Bestimmung der Ausgangsverbindungen sowie der von der Darmflora oder den körpereigenen Phase I- und Phase II-Enzymen gebildeten Metaboliten in Blutplasma, Urin und Faeces.

10.2.2 Begleitparameter

Als Begleitparameter wird der Umfang der sowie die Geschwindigkeit der Bioverfügbarkeit (AUC , C_{max} , T_{max}), als auch die Systemic Clearance und das Verteilungsvolumen im Blutplasma gemessen. Ruhe-Nüchternumsatz, Körperfettgehalt, Körpergröße und Körpermasse sowie die Erfassung der Ernährungsgewohnheiten dienen der Charakterisierung des Probandenkollektives.

10.2.3 Hinweis auf die Messmethoden

Die quantitative Bestimmung der PCs und deren Metaboliten in Blutplasma, Urin und Faeces wird mittels HPLC mit Diodenarray-Detektion und massenspektrometrischer Detektion (HPLC-DAD-MS) sowie mittels GC mit massenspektrometrischer Detektion (GC/MS) durchgeführt.

Weitere Methoden:

- Bioelektrische Impedanzanalyse (50 kHz) zur Körperfettbestimmung
- Indirekte Kalorimetrie zur Bestimmung des Ruhe-Nüchternumsatzes
- Parameter der klinischen Chemie mit Standardmethoden

11 BESCHREIBUNG VON RISIKEN / RISIKO-NUTZEN-ABWÄGUNG

Durch die Intervention mit Lebensmitteln entstehen keine zusätzlichen oder besonderen Risiken. Risiken bestehen nur in der Blutabnahme (Infektion, Hämatom, Blutverlust) und können bei *Lege artis* Durchführung nahezu ausgeschlossen werden. Die Studienteilnehmer haben keinen persönlichen Nutzen. Die Studie hilft aber, mögliche gesundheitsfördernde Wirkungen der Procyanidine besser zu verstehen.

12 BEGLEITTHERAPIE UND SICHERHEITSLABOR

entfallen, da es sich um eine Ernährungsintervention mit einem natürlichen Lebensmittelinhaltsstoff handelt.

13 ABRUCHKRITERIEN

13.1 Individuelle Abbruchkriterien

- geringe Compliance der Probanden
- Probanden, die während der Versuchszeit Medikamente einnehmen
- Probanden, bei denen unvermeidbare, unerwünschte Ereignisse auftreten
- Probanden mit akuten Magen-Darm-Erkrankungen im Versuchszeitraum
- Probanden, die ihre Zustimmung zur Teilnahme an der Studie widerrufen

13.2 Studienabbruchkriterien

Wenn durch die individuellen Abbruchkriterien die Zahl der Probanden soweit reduziert ist, dass eine statistische Auswertung nicht mehr durchzuführen ist.

14 STATISTISCHE AUSWERTUNG

Im Rahmen dieser Studie wird eine deskriptive Statistik der Parameter der Hauptziel- und Nebenzieldaten durchgeführt, die die Berechnung der arithmetischen Mittelwerte innerhalb der drei Gruppen beinhaltet. Eine statistische Power-Abschätzung zur Kalkulation des Stichprobenumfangs ist aufgrund des Pilotstudienansatzes nicht erforderlich.

15 BEHANDLUNG DER PROBEN UND PROBENDATEN

Alle gewonnenen Proben und Daten werden an der Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel gesammelt, aufbewahrt und ausgewertet. Personenbezogene Daten dürfen nicht an Dritte weitergegeben werden

16 RECHTLICHE UND ETHISCHE ASPEKTE

16.1 Ethische Grundlagen

Die Untersuchung wird in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki in der Fassung von 1996 durchgeführt.

Die Teilnahme der Probanden an der Untersuchung ist freiwillig; die Zustimmung kann jederzeit, ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile zurückgezogen werden.

16.1.1 Probandeninformation / Einverständniserklärung

Die Probanden werden vor Studienbeginn schriftlich und mündlich über Wesen und Tragweite der geplanten Untersuchung vom Studienleiter aufgeklärt. Sie umfasst folgende Punkte:

- Art und Ablauf des Versuchsvorhabens;
- Studienziel und den erhofften Nutzen für Kranke und für die Wissenschaft;
- die Frage, ob und welchen Nutzen der Proband selbst von seiner Teilnahme zu erwarten hat;
- die geplanten Untersuchungen, insbesondere Häufigkeit der Blutentnahmen und die dabei gewonnene Blutmenge;
- mögliche Belastungen und Risiken;
- zu erwartende Wirkungen;
- Hinweis auf die Freiwilligkeit der Teilnahme und auf das Recht, jederzeit und ohne Angabe von Gründen aus der Studie auszusteigen;
- Hinweise auf die Wahrung des Arztgeheimnisses;
- Erläuterungen und Hinweise, damit der Proband selbst abwägen kann, zu welchem Zweck er die erläuterten Risiken auf sich nimmt;
- Aushändigung einer gedruckten Probandeninformation an den einzelnen Probanden zur Kenntnisnahme mit anschließender Ablage bei der Einverständniserklärung.

Die Zustimmung der Probanden wird durch ihre Unterschrift auf der Einverständniserklärung dokumentiert. Die Einverständniserklärung bleibt aus datenschutzrechtlichen Gründen beim Versuchsleiter. Bei Rücktritt von der Studie wird bereits gewonnenes (Daten-) Material vernichtet oder beim Proband angefragt, ob er mit der Auswertung des Materials einverstanden ist.

16.2 Rechtliche Grundlagen

16.2.1 Votum der Ethikkommission

Der Untersuchungsplan wird vor Studienbeginn der Ethikkommission der Landesärztekammer Baden-Württemberg zur Begutachtung vorgelegt. Es wird nicht

mit dem Einschluss von Probanden begonnen, bevor nicht das schriftliche Votum der Ethikkommission vorliegt.

16.2.2 Datenschutz / Ärztliche Schweigepflicht

Die Namen der Probanden und alle anderen vertraulichen Informationen unterliegen der ärztlichen Schweigepflicht und den Bestimmungen des Bundesdatenschutzgesetzes (BDSG). Eine Weitergabe von Probandendaten erfolgt ggf. nur in anonymisierter Form (zu Beginn der Studie werden die persönlichen Daten der Probanden anonymisiert).

16.2.3 Police der Versicherung

entfällt, da es sich hier um eine Ernährungsintervention und keine versicherungspflichtige Prüfung nach AMG handelt, potentielle Schäden sind über die Generalhaftung des Bundes abgedeckt.

17 LITERATURANGABEN

- Baba, S., N. Osakabe, et al. (2001). "In vivo comparison of the bioavailability of (+)-catechin, (-)-epicatechin and their mixture in orally administered rats." *J Nutr* 131(11): 2885-91.
- de Pascual-Teresa, S., C. Santos-Buelga, et al. (2000). "Quantitative analysis of flavan-3-ols in Spanish foodstuffs and beverages." *J Agric Food Chem* 48: 5331-5337.
- Deprez, S., C. Brezillon, et al. (2000). "Polymeric proanthocyanidins are catabolized by human colonic microflora into low-molecular-weight phenolic acids." *J Nutr* 130(11): 2733-8.
- Donovan, J. L., C. Manach, et al. (2002). "Procyanidins are not bioavailable in rats fed a single meal containing a grapeseed extract or the procyanidin dimer B3." *Br J Nutr* 87(4): 299-306.
- Eng, E. T., J. Ye, et al. (2003). "Suppression of estrogen biosynthesis by procyanidin dimers in red wine and grape seeds." *Cancer Res* 63(23): 8516-22.
- Fine, A. M. (2000). "Oligomeric Proanthocyanidin Complexes: History, Structure and Phytopharmaceutical Applications." *Alternative Medicine Review* 5(2): 144-151.
- Foo, L. Y., Y. Lu, et al. (2000). "The structure of cranberry proanthocyanidins which inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated *Escherichia coli* in vitro." *Phytochemistry* 54(2): 173-81.
- Garcia-Ramirez, B., J. Fernandez-Larrea, et al. (2006). "Tetramethylated dimeric procyanidins are detected in rat plasma and liver early after oral administration of synthetic oligomeric procyanidins." *J Agric Food Chem* 54(7): 2543-51.
- Holt, R. R., S. A. Lazarus, et al. (2002). "Procyanidin dimer B2 [epicatechin-(4beta-8)-epicatechin] in human plasma after the consumption of a flavanol-rich cocoa." *Am J Clin Nutr* 76(4): 798-804.
- Murphy, K. J., A. K. Chronopoulos, et al. (2003). "Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (*Theobroma cacao*) inhibit platelet function." *Am J Clin Nutr* 77(6): 1466-73.
- Ricardo-Da-Silva J. M., D. N., Fernandez Y., Mitjavila S. (1991). "Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins in grape seeds." *J. Agric. Food Chem* 39: 1549-1552.

- Saint-Cricq De Gaulejac, N., C. Provost, et al. (1999). "Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods." *J Agric Food Chem* 47(2): 425-31.
- Sano, A., J. Yamakoshi, et al. (2003). "Procyanidin B1 is detected in human serum after intake of proanthocyanidin-rich grape seed extract." *Biosci Biotechnol Biochem* 67(5): 1140-3.
- Sarni-Manchado, P., V. Cheynier, et al. (1999). "Interactions of grape seed tannins with salivary proteins." *J Agric Food Chem* 47(1): 42-7.
- Scalbert, A., S. Deprez, et al. (2000). "Proanthocyanidins and human health: systemic effects and local effects in the gut." *Biofactors* 13(1-4): 115-20.
- Shoji, T., S. Masumoto, et al. (2006). "Apple procyanidin oligomers absorption in rats after oral administration: analysis of procyanidins in plasma using the porter method and high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry." *J Agric Food Chem* 54(3): 884-92.

Studienleiter:

Potsdam,
Ort, Datum Prof. Dr. rer. nat. Sabine Kulling

Studienarzt:

Karlsruhe,
Ort, Datum PD Dr. med. Achim Bub