

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Gemüsebau

Bestimmung von Antioxidantien in *Perilla frutescens* L.
und deren Wirkung im Menschen

Franziska Müller-Waldeck

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. J. Meyer

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. W. H. Schnitzler, i. R.
2. Univ.-Prof. Dr. D. R. Treutter
3. Univ.-Prof. Dr. W. Schwab

Die Dissertation wurde am 05.10.2010 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 14.04.2011 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	I
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	V
TABELLENVERZEICHNIS	VIII
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	IX
1 EINLEITUNG	11
1.1 Stand des Wissens	11
1.1.1 Natürliche Antioxidantien	11
1.1.2 <i>Perilla frutescens</i> L.	13
1.1.2.1 Botanik und Herkunft	13
1.1.2.2 Taxonomie und Genetik	14
1.1.2.3 Nutzung	15
1.2 Ziel der Arbeit	18
2 MATERIAL	19
2.1 Pflanzenmaterial, Kultursubstrat und Dünger	19
2.2 Reagenzien und Chemikalien	21
2.3 Puffer und Lösungen	23
2.4 Geräte und Anlagen	26
2.5 Verbrauchsmaterialien	27
3 METHODEN	28
3.1 Übersicht durchgeführter Versuche	28
3.2 Versuchsaufbau	29
3.2.1 Bonitur morphologischer Merkmale 5 verschiedener <i>Perilla</i> Linien	29
3.2.2 Salz- und Trockenstress	31
3.2.3 Freiland-Gewächshaus	32
3.3 Anbau und Ernte	33
3.3.1 Linienvergleich und Homogenitätsprüfung	33
3.3.2 Stressversuche	33
3.3.3 Freiland- und Gewächshausanbau	35

3.4	Aufbereitung und Extraktion des Pflanzenmaterials	36
3.4.1	Trockensubstanzbestimmung	36
3.4.2	Gewinnung des Extraktpulvers	36
3.4.3	Extraktion von Blattinhaltsstoffen	36
3.4.4	Perillaketon	37
3.4.5	Extraktion von Carotinoiden und Vitamin E	37
3.4.6	Extraktion von Polyphenolen	38
3.5	Testsysteme zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität	39
3.5.1	2,2`-Azinobis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure)- oder ABTS-Entfärbeassay	39
3.5.2	Lipidperoxidation menschlichen Blutplasmas <i>in vitro</i>	41
3.6	Inhaltstoffanalytik der Pflanzenextrakte- Identifizierung und Quantifizierung	44
3.6.1	Perillaketon	44
3.6.2	Carotinoide und Vitamin E	44
3.6.3	Polyphenole	46
3.6.4	Folin-Ciocalteu-Test-Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes	46
3.6.5	Hochdruckflüssigchromatographie	47
3.6.6	Hydrolyse	48
3.7	Verzehrstudie	49
3.7.1	Studiendesign und Probandenauswahl	49
3.7.2	Herstellung und Verabreichung des Perilla-Präparates	50
3.8	Aufbereitung und Extraktion des Blutplasma	52
3.8.1	Aufbereitung des Blutplasma	52
3.8.2	Extraktion aus Blutplasma	52
3.8.3	Extraktion von SH-Gruppen	53
3.8.4	Extraktion von Malondialdehyd	53
3.8.5	Extraktion lipophiler Antioxidantien aus Blutplasma	54
3.9	Statistik	55
4	ERGEBNISSE	56
4.1	Linienvergleich	56
4.1.1	Phänotypische Merkmalsunterschiede 5 verschiedener Perilla-Linien .	56
4.1.2	Perillaketon	66
4.1.3	Carotinoide- Gehalte und antioxidative Kapazität (ABTS)	69

4.1.4	Polyphenole-Gehalte und antioxidative Kapazität (ABTS).....	81
4.1.5	Antioxidative Wirkung 5 verschiedener Perilla-Linien (LPO).....	86
4.1.6	Antioxidative Kapazität von Trolox und Vitamin E	92
4.1.7	Quantifizierung phenolischer Substanzen aus 5 Perilla Linien	93
4.1.8	Einordnung phenolischer Substanzen der Linie 5 in Phenolklassen	99
4.2	Einfluss von Salz- und Trockenstress	106
4.2.1	Ertragsparameter	106
4.2.2	Carotinoide und Chlorophylle- Gehalte und antioxidative Kapazität ...	111
4.2.3	Polyphenole- Gehalte und antioxidative Kapazität	127
4.3	Einfluss von Freiland und Gewächshausanbau.....	134
4.3.1	Morphologie und Ertrag	134
4.3.2	Carotinoide und Chlorophylle-Gehalte und antioxidative Kapazität	137
4.3.3	Polyphenole- Gehalte und antioxidative Kapazität	140
4.4	Verzehrstudie	142
4.4.1	Vergleich Gesunde / Diabetiker vor Supplementierung	143
4.4.2	Einfluss von Supplementierung auf Gesunde und Diabetiker	145
5	DISKUSSION.....	152
5.1	Taxonomische Einordnung.....	153
5.1.1	Phänotypische Merkmale.....	156
5.1.2	Inhaltstoffmuster.....	160
5.1.2.1	Perillaketone	162
5.1.2.2	Polyphenole	164
5.2	Antioxidantien-Gehalte und antioxidative Kapazität	168
5.2.1	Carotinoide	169
5.2.2	Polyphenole	175
5.2.3	Bemerkung zu den Testsystemen	180
5.2.3.1	Folin-Ciocalteu	180
5.2.3.2	ABTS-Testsystem	181
5.2.3.3	LPO-Testsystem.....	182
5.3	Salz- und Trockenstress	185
5.3.1	Einfluss von Salz- und Trockenstress auf Habitus und Ertrag.....	186
5.3.2	Einfluss von Salz- und Trockenstress auf die inhaltstoffliche Zusammensetzung	187

5.4	Vergleich von Freiland- und Gewächshausanbau auf die Qualität von <i>Perilla frutescens</i> L.	191
5.4.1	Einfluss auf Habitus und Ertrag	192
5.4.2	Einfluss auf die inhaltstoffliche Zusammensetzung und die antioxidative Kapazität	194
5.4.3	Anbaufähigkeit von <i>Perilla frutescens</i> L. im Gewächshaus und im Freiland.....	197
5.5	Verzehrstudie	199
6	ZUSAMMENFASSUNG.....	205
7	LITERATURVERZEICHNIS	209
8	ANHANG	225
9	LEBENS LAUF.....	242
10	DANKSAGUNG.....	244

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Windsichter mit Förderband (a) und 3 Selektionskammern (b, c, d)	20
Abb. 2: Anzucht der Jungpflanzen im Gewächshaus. a) in Anzuchtschalen, b) in Vefis , c) in 11 er-Töpfen.....	34
Abb. 3: Oxidation des Indikatormoleküls ABTS zum ABTS-Radikalkation	39
Abb. 4: Typischer Verlauf einer kupferinduzierten Lipidperoxidation in menschlichem Blutplasma	41
Abb. 5: Hartgelatine kapseln, Kapselgröße 0 (0,68 ml) a) Perilla-Präparat- befüllt mit getrocknetem, vermahlenem Pflanzenmaterial b) Placebokapseln-befüllt mit Zellulose	51
Abb. 6: Gesamtwuchshöhe 5 verschiedener Perilla-Linien.....	57
Abb. 7: Blattlänge an 3 Internodien bei 5 Perilla-Linien	58
Abb. 8: Blattbreite an 3 Internodien bei 5 Perilla-Linien	59
Abb. 9: 3 Wochen alte Keimlinge 5 verschiedener Linien von <i>Perilla frutescens</i> L. im Vergleich	60
Abb. 10: Habitus, Blattspreite und Stängel von Perilla Linie 1	61
Abb. 11: Habitus, Blattspreite und Stängel von Perilla Linie 2	62
Abb. 12: Habitus, Blattspreite und Stängel von Perilla Linie 3	63
Abb. 13: Habitus, Blattspreite und Stängel von Perilla Linie 4	64
Abb. 14: Habitus, Blattspreite und Stängel von Linie 5	65
Abb. 15: Massenspektrum Perillaketone rein.....	66
Abb. 16: Massenspektrum Linie 1, Peak 30.872 min.....	67
Abb. 17: Massenspektrum Blattextrakt Perilla Linie 2, Peak 31.184 min.....	67
Abb. 18: Massenspektrum Blattextrakt Perilla Linie 3, Peak 29.939 min.....	68
Abb. 19: Massenspektrum Blattextrakt Perilla Linie 4, Peak 30.872 min.....	68
Abb. 20: Gehalt von β -Carotin und Lutein von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 1 (n=4).....	69
Abb. 21: Gehalt an Zeaxanthin und α -Carotin von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 1 (n=4).....	70
Abb. 22: Gehalt von β -Carotin und Lutein von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 2 (n=4).....	70
Abb. 23: Gehalt an Zeaxanthin und α -Carotin von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 2 (n=4).....	71
Abb. 24: Gehalt von β -Carotin und Lutein von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 3 (n=4).....	71
Abb. 25: Gehalt an Zeaxanthin und α -Carotin von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 3 (n=4).....	72
Abb. 26: Gehalt von β -Carotin und Lutein von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 4 (n=4).....	73
Abb. 27: Gehalt an Zeaxanthin und α -Carotin von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 4 (n=4).....	73
Abb. 28: Gehalt von β -Carotin und Lutein von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 5 (n=4).....	74
Abb. 29: Gehalt an Zeaxanthin und α -Carotin von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 5 (n=4).....	74
Abb. 30: Gesamtcarotinoidgehalte (n=4) und antioxidative Kapazität der Carotinoide [mg TE/ 100 g FS] (n=6) von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 1	75
Abb. 31: Gesamtcarotinoidgehalte (n=4) und antioxidative Kapazität der Carotinoide [mg TE/ 100 g FS] (n=6) von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 2.....	76
Abb. 32: Gesamtcarotinoidgehalte (n=4) und antioxidative Kapazität der Carotinoide [mg TE/ 100 g FS] (n=6) von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 3.....	77
Abb. 33: Gesamtcarotinoidgehalte (n=4) und antioxidative Kapazität der Carotinoide [mg TE/ 100 g FS] (n=6) von 5 Unterlinien der Linie 4	78
Abb. 34: Gesamtcarotinoidgehalte (n=4) und antioxidative Kapazität der Carotinoide [mg TE/ 100 g FS] (n=6) von 5 Unterlinien der Linie 5	79
Abb. 35: Gesamtcarotinoidgehalte (n=20) [mg/ 100 g FS] und antioxidative Kapazität der Carotinoide [mg TE/ 100 g FS] (n=30) 5 verschiedener Perilla Linien	80
Abb. 36: Gesamtpolyphenolgehalte und antioxidative Kapazität verschiedener Unterlinien der Perilla-Linie 1 (n=6)	81
Abb. 37: Gesamtpolyphenolgehalte und antioxidative Kapazität verschiedener Unterlinien der Perilla-Linie 2 (n=6)	82

Abb. 38: Gesamtpolyphenolgehalte und antioxidative Kapazität verschiedener Unterlinien der Perilla-Linie 3 (n=6)	83
Abb. 39: Gesamtpolyphenolgehalte und antioxidative Kapazität verschiedener Unterlinien der Perilla-Linie 4 (n=6)	84
Abb. 40: Gesamtpolyphenolgehalte und antioxidative Kapazität verschiedener Unterlinien der Perilla-Linie 5 (n=6)	85
Abb. 41: Gesamtpolyphenolgehalte und antioxidative Kapazität 5 verschiedener Perilla-Linien (n=30)	86
Abb. 42: Einfluss verschiedener Verdünnungen eines Polyphenolextraktes auf die Lagphasendauer (n=4)	87
Abb. 43: Einfluss verschiedener Verdünnungen eines Carotinoideextraktes auf die Lagphasendauer (n=4)	88
Abb. 44: Darstellung der Lagphasenverlängerung nach Zugabe von Polyphenolextrakten von 5 Perilla-Linien	89
Abb. 45: Einfluss von Polyphenolextrakten 5 verschiedener Perilla-Linien auf die Dauer der Lagphase (n=4)	90
Abb. 46: Einfluss von Carotinoideextrakten 5 verschiedener Perilla-Linien auf die Dauer der Lagphase (n=4)	91
Abb. 47: Einfluss verschiedener Konzentrationen von Trolox und Vitamin E auf die Dauer der Lagphase (n=4)	92
Abb. 48: Chromatogramm von <i>Perilla frutescens</i> L. Linie 1	94
Abb. 49: Chromatogramm von <i>Perilla frutescens</i> L. Linie 2	94
Abb. 50: Chromatogramm von <i>Perilla frutescens</i> L. Linie 3	95
Abb. 51: Chromatogramm von <i>Perilla frutescens</i> L. Linie 4	96
Abb. 52: Chromatogramm von <i>Perilla frutescens</i> L. Linie 5	97
Abb. 53: Polyphenolklassen der 5 Perilla-Linien im Vergleich	98
Abb. 54: Chromatogramm Linie 5 mit rot markierten Hauptkomponenten (1-9)	99
Abb. 55: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf die Wuchshöhe der Perilla-Linie 2 in den Versuchsjahren 2007/2008	107
Abb. 56: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf die Wuchshöhe der Perilla-Linie 5 in den Versuchsjahren 2007/2008	108
Abb. 57: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf die Trockensubstanz der Perilla-Linie 2 in 2007/2008	109
Abb. 58: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf die Trockensubstanz der Perilla-Linie 5 in 2007/2008	110
Abb. 59: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den Luteingehalt der Perilla-Linie 2 in 2007/2008	111
Abb. 60: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den Luteingehalt der Perilla-Linie 5 in 2007/2008	112
Abb. 61: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den β -Carotingehalt der Perilla-Linie 2 in 2007/2008	113
Abb. 62: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den β -Carotingehalt der Perilla-Linie 5 in 2007/2008	114
Abb. 63: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den Zeaxanthingehalt der Perilla-Linie 2 in 2007/2008	115
Abb. 64: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den Zeaxanthingehalt der Perilla-Linie 5 in 2007/2008	116
Abb. 65: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den α -Carotingehalt der Perilla-Linie 2 in 2007/2008	117
Abb. 66: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den α -Carotingehalt der Perilla-Linie 5 in 2007/2008	118
Abb. 67: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den Chlorophyll-a Gehalt der Perilla-Linie 2 in 2007/2008	119

Abb. 68: Einfluss von Salz-und Trockenstress auf den Chlorophyll-a Gehalt der Perilla-Linie 5 in 2007/2008	120
Abb. 69: Einfluss von Salz-und Trockenstress auf den Chlorophyll-b Gehalt der Perilla-Linie 2 in 2007/2008	121
Abb. 70: Einfluss von Salz-und Trockenstress auf den Chlorophyll-b Gehalt der Perilla-Linie 5 in 2007/2008	122
Abb. 71: Einfluss von Salz-und Trockenstress auf den Gesamtcarotinoidgehalt der Perilla-Linie 2 in 2007/2008.....	123
Abb. 72: Einfluss von Salz-und Trockenstress auf den Gesamtcarotinoidgehalt der Perilla-Linie 5 in 2007/2008.....	124
Abb. 73: Einfluss von Salz-und Trockenstress auf die antioxidative Kapazität der Carotinoide aus Perilla-Linie 2 in 2007/2008.....	125
Abb. 74: Einfluss von Salz-und Trockenstress auf die antioxidative Kapazität der Carotinoide aus Perilla-Linie 5 in 2007/2008.....	126
Abb. 75: Einfluss von Salz-und Trockenstress auf den Gesamtpolyphenolgehalt der Perilla-Linie 2 in 2007/2008.....	127
Abb. 76: Einfluss von Salz-und Trockenstress auf den Gesamtpolyphenolgehalt der Perilla-Linie 5 in 2007/2008.....	128
Abb. 77: Einfluss von Salz-und Trockenstress auf die antioxidative Kapazität der Polyphenole aus Perilla-Linie 2 in 2007/2008.....	129
Abb. 78: Einfluss von Salz-und Trockenstress auf die antioxidative Kapazität der Polyphenole aus Perilla-Linie 5 in 2007/2008.....	130
Abb. 79: Einfluss von Carotinoidextrakten verschiedener Stressvarianten auf die Dauer der Lagphase (n=4), Versuchsjahr 2007	131
Abb. 80: Einfluss von Carotinoidextrakten verschiedener Stressvarianten auf die Dauer der Lagphase (n=4), Versuchsjahr 2008	131
Abb. 81: Einfluss von Polyphenolextrakten verschiedener Stressvarianten auf die Dauer der Lagphase (n=4), Versuchsjahr 2007	132
Abb. 82: Einfluss von Polyphenolextrakten verschiedener Stressvarianten auf die Dauer der Lagphase (n=4), Versuchsjahr 2008	133
Abb. 83: Freilandpflanzen: Perilla-Linien 2 und 5 im Versuchsjahr 2008	134
Abb. 84: Konzentration von Malondialdehyd (MDA) im Blutplasma von Gesunden und Diabetikern vor und nach Einnahme des Placebo bzw. Perilla-Präparates	147
Abb. 85: Konzentration von Lutein im Blutplasma von Gesunden und Diabetikern vor und nach Einnahme des Placebo- bzw. Perilla-Präparates	148
Abb. 86: HbA1c-Wert im Blutplasma von Gesunden und Diabetikern vor und nach Einnahme des Placebo- bzw. Perilla-Präparates	149
Abb. 87: Antioxidative Kapazität des Blutplasmas von Gesunden und Diabetikern vor und nach Einnahme des Placebo- bzw. Perilla-Präparates	150
Abb. 88: Gehalt an Zeaxanthin [μM] im Blutplasma von Gesunden und Diabetikern vor und nach Einnahme des Placebo- bzw. Perilla-Präparates	151
Abb. 89: Schematische Darstellung der Bildung pflanzlicher Inhaltstoffe	160

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Nutzung von <i>Perilla frutescens</i> L.	17
Tab. 2: Verwendete Saatgutlinien	19
Tab. 3: Verwendete Chemikalien und Reagenzien	21
Tab. 4: Verwendete Geräte und Apparaturen	26
Tab. 5: Übersicht durchgeführter Versuche	28
Tab. 6: Morphologische Merkmale in der Bonitur	30
Tab. 7: Einstellungen der Salzstressniveaus	32
Tab. 8: Einstellungen der Trockenstressniveaus	32
Tab. 9: Aufbereitung der Extrakte bzw. Trolox für Einsatz im Testsystem	40
Tab. 10: Pipettierschema ABTS-Testsystem	41
Tab. 11: Pipettierschema für LPO-Testsystem	43
Tab. 12: Gradient Carotinoidanalyse	45
Tab. 13: Gradient Polyphenolanalyse	47
Tab. 14: Morphologische Eigenschaften 5 verschiedener Perilla-Linien	56
Tab. 15: Farbliche Kennzeichnung der phenolischen Substanzklassen	93
Tab. 16: Retentionszeit und Maximum der dargestellten Peaks aus Perilla-Linie 5	100
Tab. 17: Perilla-Linie 5- Spektrum von Peak 1	100
Tab. 18: Perilla-Linie 5- Spektrum von Peak 2	101
Tab. 19: Perilla-Linie 5- Spektrum von Peak 3	101
Tab. 20: Perilla-Linie 5- Spektrum von Peak 4	101
Tab. 21: Perilla-Linie 5- Spektrum von Peak 5	102
Tab. 22: Perilla-Linie 5-Spektrum von Peak 6	102
Tab. 23: Perilla-Linie 5- Spektrum von Peak 7	102
Tab. 24: Perilla-Linie 5- Spektrum von Peak 8	103
Tab. 25: Perilla-Linie 5- Spektrum von Peak 9	103
Tab. 26: Vergleich von Ertragsparametern von Perilla-Linien 2 und 5- Freiland- und Gewächshausanbau 2007/2008	135
Tab. 27: Carotinoidgehalte der Perilla-Linien 2 und 5- Freiland- und Gewächshausanbau 2007/2008	137
Tab. 28: Gesamtcarotinoid- und Chlorophyllgehalte, antioxidative Kapazität der Carotinoide aus Perilla-Linien 2 und 5- Freiland- und Gewächshausanbau 2007/2008	139
Tab. 29: Gesamtpolyphenolgehalte und antioxidative Kapazität der Polyphenole aus Perilla- Linien 2 und 5- Freiland- und Gewächshausanbau 2007/2008	140
Tab. 30: Ermittelte Parameter in Blutplasma von Gesunden und Diabetikern zum Zeitpunkt t1 und t2	144
Tab. 31: Mittelwerte und Standardabweichungen von ermittelten Parametern bei gesunden Probanden zum Zeitpunkt t3 und t5	145
Tab. 32: Mittelwerte und Standardabweichungen von ermittelten Parametern bei Diabetikern zum Zeitpunkt t3 und t5	146
Tab. 33: Carotinoidgehalt verschiedener Gemüsearten	169
Tab. 34: Gesamtcarotinoidgehalte 5 verschiedener Perilla-Linien	170
Tab. 35: Zusammensetzung der Carotinoide 5 verschiedener Perilla-Linien	170
Tab. 36: Zusammensetzung und Gehalte von Carotinoiden aus Perilla-Linien 2 und 5 in 2007/2008	171
Tab. 37: Polyphenolgehalte und antioxidative Kapazität verschiedener Pflanzen	176
Tab. 38: Gesamtpolyphenolgehalte und AK verschiedener Perilla-Linien	176

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
Abk.	Abkürzung
ABTS	2,2-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonsäure
AFLP	verstärkte Fragmentlängenpolymorphismus (engl. amplified fragment-length polymorphism)
AK	antioxidative Kapazität
AMD	Altersbedingte Makuladegeneration
BMI	body mass index
BHT	Betahydroxytoluol
DNPH	2,4-Dinitrophenylhydrazine
DTNB	5`5- Dithio-bis (2-nitrobenzoesäure)
EC	electronical conductivity, elektrische Leitfähigkeit
FL	Freiland
FS	Frischsubstanz
GAE	Gallussäureequivalent
GC/MS	Gaschromatograph mit Massenspektrometer
GH	Gewächshaus
hPa	Hektopascal
HPLC	high performance liquid chromatography
H ₂ O _{bidest}	(zweifach) destilliertes Wasser
IAA	Indolessigsäure
KMB	α-Keto-γ-methiol-Buttersäure
LM	Lösungsmittel
LPO	Lipidperoxidation
MDA	Malondialdehyd
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (engl. restriction fragment length polymorphism)
SH-Gruppen	Schwefel Wasserstoff Gruppen
SPV	sonstige phenolische Verbindungen
u.a.	unter anderem
UL	Unterlinie

Fortsetzung des Abkürzungsverzeichnisses auf Seite X

Fortsetzung des Abkürzungsverzeichnisses von Seite IX

UPOV	Union international pour la protection des obtentions végétales -The International Union for the Protection of New Varieties of Plants
u.v.m.	und vielen mehr
Tab.	Tabelle
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidative Capacity
TE	Troloxequivalent
THF	Tetrahydrofuran
PBS	phosphate buffered saline
PK	Perillaketon
z. B.	zum Beispiel

1 Einleitung

1.1 Stand des Wissens

1.1.1 Natürliche Antioxidantien

In den letzten Jahren sind pflanzliche Antioxidantien zunehmend Gegenstand wissenschaftlicher Forschung geworden. Sie werden als Zusätze in kosmetischen Produkten, Nahrungsmitteln und Getränken verwendet. Ebenso sind sie im Zusammenhang mit präventiver Gesundheitsvorsorge in das Licht wissenschaftlichen und kommerziellen Interesses gerückt. Der wachsende Markt von Phytopharmaka und Nahrungsergänzungsmitteln umfasst mittlerweile zahlreiche Produkte mit unterschiedlichster Wirksamkeit (Bruni und Sacchetti, 2009).

Viele wissenschaftliche Studien belegen, dass natürliche Antioxidantien einen wichtigen Beitrag in der Prävention verschiedener Krankheiten wie z. B. Arteriosklerose, Herz- und Kreislauferkrankungen (Arab und Stock, 2000), Krebs (Mares-Perlman, 2002), Makuladegeneration (Beatty et al., 2001) u.v.m. leisten können (Copper, 1999; Klipstein-Grobusch, 2000; Kitchevsky, 1999). Hier werden verschiedene Wirkungsweisen beschrieben. Es wird vermutet, dass sie den schädigenden oxidativen Stress im Organismus verringern, indem sie reaktive Sauerstoffmoleküle neutralisieren und somit unschädlich machen. Den vielen unterschiedlichen chemischen Strukturen verschiedener Antioxidantien stehen viele unterschiedliche Wirkungsweisen und Wirkungsorte im Organismus gegenüber. Ebenso weisen wissenschaftliche Studien daraufhin, dass natürliche Stoffe die synthetischen insbesondere in ihrer antioxidativen Kapazität übertreffen (Maisuthisakul et al., 2007).

Die Entstehung von ROS, Radikal Oxygen Species, basiert auf dem Prinzip von Energieübertragung und den damit verbundenen Redoxprozessen. ROS entstehen somit während Atmungs- und Umwandlungsprozessen in Zellen. Vom menschlichen Körper werden sie im Kampf gegen Krankheiten eingesetzt, allerdings können sie aufgrund ihrer chemischen Struktur auch bestehende Zellstrukturen schädigen und biochemische Prozesse aus dem Gleichgewicht bringen. Im Organismus steht der

Synthese von ROS ein sehr effektives und komplexes antioxidatives System gegenüber, das die Radikale neutralisieren kann und somit unschädlich macht. Durch Umwelteinflüsse wie z. B. intensive Sonnenstrahlen, Umweltgifte, Drogen, Nahrungsmittelzusatzstoffe u.v.m. wird die Entstehung von ROS gefördert. Werden die Radikale nicht in ausreichendem Maße neutralisiert, entsteht ein Ungleichgewicht im Organismus. ROS greifen Lipide, Proteine und DNA an, was zu Zellschädigungen, Stoffwechselstörungen und genetischen Veränderungen führen kann (Halliwell, 1994).

Die Hypothese, dass über die Nahrung aufgenommene exogene Antioxidantien vor Erkrankungen schützen können, ist Gegenstand vieler Interventionsstudien. Diese Studien lieferten bisher sehr widersprüchliche Ergebnisse. Einzeln verabreichte, hoch dosierte, synthetisch hergestellte und auch natürliche Antioxidantien führten zum vermehrten Auftreten von Krankheiten. Oftmals mussten die Studien abgebrochen werden, da die Probanden erkrankten (Hennekens et al., 1996). Einzeln verabreichte Antioxidantien zeigten zwar eine Wirkung in *in vitro* Testsystemen, allerdings schienen sie im Menschen nicht gesundheitsfördernd, sondern eher gesundheitsschädigend zu wirken (Omenn et al., 1996; Heinonen et al., 1994). Zweifelsohne konnte allerdings bisher festgestellt werden, dass ein vermehrter Verzehr von Obst und Gemüse, die Entstehung von Krankheiten verschiedenster Art verhindern konnte (DGE 2005, WHO/FAO, 2003). Die Vermutung liegt nahe, dass Antioxidantien sowohl in menschlichen, tierischen und auch pflanzlichen Zellen eine kumulative Wirkung besitzen. Da sie über diverse biochemische Strukturen verfügen und sehr unterschiedliche Wirkungsweisen besitzen, scheinen sie im Verbund additive und synergistische Effekte zu erzielen (Schilcher, 1990, 1999, Berenbaum, 1989) und somit ein sehr gut funktionierendes, antioxidatives System darzustellen (Graßmann et al., 2002).

Die Pflanze *Perilla frutescens* L. verfügt über hohe Gehalte an sekundären Inhaltsstoffen. Aufgrund ihrer hohen antioxidative Kapazität (Azuma et al., 1999, Sato et al., 2002, Schirmacher et al., 2010; Müller-Waldeck et al., 2010) könnte diese Pflanze als Nahrungs- bzw. Nahrungsergänzungsmittel zur Prävention von oxidativem Stress und dessen Folgen auf den menschlichen Körper eingesetzt werden.

1.1.2 *Perilla frutescens* L.

1.1.2.1 Botanik und Herkunft

Die Gattung *Perilla* gehört zu der Familie der Lippenblütler. In Ostasien ist sie eine weit verbreitete Nutzpflanze, die je nach Habitat und Art unterschiedliche morphologische Ausprägungen zeigt. Vermutet wird, dass es sich bei einigen Erscheinungsformen um Hybriden handelt.

Es handelt sich um eine einjährige, krautige Kurztagspflanze, die eine Gesamthöhe von 0,3 bis 2 Meter erreicht. Der Stängel ist vierkantig, wie bei vielen Lippenblütern und zeigt je nach Varietät eine Rot- bzw. Grünfärbung. Die Blätter sind axillar angeordnet, eiförmig, sind je nach Varietät schwach bis stark gezahnt, glatt bzw. blasig sowie schwach bis stark behaart. Die Blattspreiten sind je nach Varietät entweder beidseitig violett gefärbt, auf der Oberseite grünlich und auf der Unterseite leicht violett oder beidseitig grün gefärbt. Die Blüten sind 3 bis 4 mm lange, weiß- bzw. rosa blühende Lippenblüten, die in 5–20 cm langen Blütenständen wachsen. Der Blühzeitraum liegt zwischen Juli und Oktober. *Perilla frutescens* L. vermehrt sich durch Selbstbefruchtung. Je Blüte entwickeln sich jeweils 4 graubraune Nussfrüchte, die sich in Aussehen und Beschaffenheit je nach Varietät stark unterscheiden. Der Blattstiel ist 2-7 cm lang und ebenfalls violett, grün-violett oder grün gefärbt. *Perilla frutescens* var. *frutescens* zeigt im Vergleich zur *Perilla frutescens* var. *crispa* einen höheren Wuchs, größere und weichere Samen, grüngefärbte Blätter und Stängel und glatte Blattspreiten (Lee, 2002). Die Varietät *crispa* erreicht geringere Wuchshöhen, besitzt kleinere, sehr harte Samen, rote oder grüne Blätter, charakteristisch gerollte und stark gezahnte Blattspreiten. Zahlreiche Literaturquellen weisen daraufhin, dass sie aufgrund ihrer hohen genetischen und morphologischen Vielfalt (Makino et al., 1961; Zeven und de Wet, 1982; Nitta und Ohnishi, 2001) und der langjährigen traditionellen Nutzung in China, vermutlich in den Bergregionen, ihren Ursprung hat (Li, 1969). Die ältesten Aufzeichnungen über die Nutzung von *Perilla frutescens* L. in China stammen aus dem 5. bzw. 6. Jahrhundert.

1.1.2.2 Taxonomie und Genetik

In Asien kommen sehr viele verschiedene phänotypische Ausprägungen der Gattung *Perilla* vor. Die taxonomische Einordnung weist zahlreiche Unklarheiten auf, da bisher nicht geklärt ist, ob es sich bei den unterschiedlich ausgeprägten Phänotypen um unterschiedliche Arten, Varietäten oder um genetische Vorfahren bzw. Wildtypen handelt (Nitta und Ohnishi, 1999).

Somit ist auch die taxonomische Einteilung in den Literaturquellen widersprüchlich. In der *Flora of China* werden 3 Varietäten der Art *Perilla frutescens* (L.) beschrieben: a) *Perilla frutescens* var. *frutescens*, b) *Perilla frutescens* var. *purpurescens* (Hayata), c) *Perilla frutescens* var. *crispa* (Benth). Andere Literaturquellen beschreiben lediglich 2 Varietäten, nämlich a) *Perilla frutescens* var. *frutescens* und b) *Perilla frutescens* var. *crispa* beschrieben (Lee et al., 2002, Nitta et al., 2003). Beiden Varietäten werden jeweils ein Wildtyp und ein Kulturtyp zugeordnet. Die Varietäten lassen sich untereinander kreuzen (Honda et al., 1990, 1994, Nagai, 1935), was die Entstehung von Hybriden bedingt.

Andere Literaturquellen weisen daraufhin, dass eine Art verschiedene Synonyme bzw. Artnamen (*Flora of China*, 1994) besitzt. So wird z. B. die Art *Perilla frutescens* var. *frutescens* in einigen Literaturquellen als *Perilla ocymoides* bezeichnet. Dieser widersprüchliche Sachverhalt bedarf zunächst genauester Beschreibung und Prüfung der einzelnen phänotypischen Merkmale. Als nützliche Unterscheidungsmerkmale der einzelnen Arten gelten: Blattgröße, Blattfarbe, Blattstruktur, Wuchshöhe, Grad der Verzweigung, Stängelfarbe, Grad der Behaarung, Samengröße, Samenhärte und der charakteristische Geruch der Blätter (Lee und Ohnishi, 2001). Allerdings können diese auch innerhalb einer Art von geographischen Einflüssen signifikant beeinflusst werden (Lee und Ohnishi, 2001). Aus anderen Quellen geht hervor, dass *Perilla frutescens* L. aufgrund der Hauptkomponenten des etherischen Öls in verschiedene Chemotypen eingeteilt wurde. Hier wird zwischen den Typen (PA) Perillaaldehyd, (PK) Perillaketon, (EK) Elsholtziaketon und (PP) Phenolpropanoid unterschieden. (Ito, 1970, Nagao et al., 1974; Koezuka et al., 1984). Das Perillaketon wird in der Literatur als lungentoxisch beschrieben (Kerr et al., 1984).

Als Grundlage von Züchtungsprogrammen werden großflächig angelegte molekularbiologische Untersuchungen durchgeführt (AFLP, RFLP). Diese sollen Erkenntnisse über die Diversität der Gattung *Perilla* liefern, um Klarheit über Herkunft, Verbreitung und Entstehung der einzelnen Varietäten zu bekommen und diese taxonomisch einordnen zu können. Mikroskopische Untersuchungen ergaben, dass *Perilla frutescens* L. zwei tetraploide ($2n=40$) Varietäten, *Perilla frutescens* var. *frutescens* und *Perilla frutescens* var. *crispa* aufweisen, denen jeweils ein unkrautartiger, diploider ($2n=20$) Typ gegenüber gestellt wird. Nitta et al. (2003) teilten die Gattung *Perilla* in a) die tetraploide Kulturform mit den Varietäten *frutescens* und *crispa* und b) in die diploide Wildform mit den Vertretern *Perilla hirtella*, *Perilla citriodora* und *Perilla seytoniensis*.

1.1.2.3 Nutzung

Perilla frutescens L. stellt in ihrer Formenvielfalt eine seit langem traditionell verwendete Nutzpflanze in weiten Teilen Ostasiens dar. Zum einen dient sie als Nahrungspflanze und wird in zahlreichen Zubereitungsformen verzehrt. Desweiteren wird sie aufgrund ihrer bioaktiven Substanzen, denen antioxidative (Jung et al., 2001) antiallergische (Makino et al., 2003, Takano et al., 2004) und entzündungshemmende Wirkungen (Ueda et al., 2002) zugrunde gelegt werden, als medizinisches Lebensmittel bzw. als Zusatz von kosmetischen Produkten verwendet. Extrakte von *Perilla frutescens* L. zeigten im Vergleich zu 25 weiteren Gemüsearten die höchste antioxidative Kapazität (Azuma et al., 1999). Die einzelnen Varietäten von *Perilla frutescens* L. zeigen phänotypische und inhaltstoffliche Unterschiede, was unterschiedliche Nutzungsformen der einzelnen Varietäten begründet. In Aufzeichnungen aus dem 5. bzw. 6. Jahrhundert geht hervor, dass bereits zu dieser Zeit in China zwei distinkte Nutzungsformen von *Perilla frutescens* L. bekannt waren (Li, 1969).

Perilla frutescens var. *frutescens* zeichnet sich im Vergleich zu der Varietät *crispa* durch deutlich höheren Wuchs und größere Samen aus. Sie wird in Korea und China kommerziell angebaut und hier vornehmlich zur Gewinnung des Samenöls genutzt, ist allerdings in Korea in den letzten Jahren auch zu einer wichtigen Gemüsepflanze

geworden (Lee, 2002). In Japan, Korea, China und Nepal werden die Samen außerdem als Gewürz für traditionelle Speisen verwendet.

Die Varietät *crispa* gilt als traditionelle chinesische Heil-, Gewürz- und Gemüsepflanze. In China trägt sie den Namen „Zisu“, in Japan „Shiso“ und in Korea wird sie „Cha-jo-ki“ genannt. Sie gilt als traditionelle Gemüsepflanze und wird für die Zubereitung vieler traditioneller Speisen verwendet. Der anthocyanhaltige Typ wird als Lebensmittelfarbstoff bei sauer eingelegten Lebensmitteln verwendet. Zum einen werden die Blätter als Gemüse verzehrt, die aromatischen Blütenstände werden getrocknet und als Tee vermarktet. In der Traditionell Chinesischen Medizin werden Samen und getrocknete Blätter als Heilmittel eingesetzt. In den Monographien des Arzneibuches der Volksrepublik China wird beschrieben, dass die Samen „*Fructus Perillae*“ gegen Keuchhusten und die getrockneten Blätter „*Perillae folium*“ bei Erkältungskrankheiten Husten, Übelkeit, Erbrechen und Fischvergiftungen eingesetzt werden (Arzneibuch der chinesischen Medizin, 2003). Desweiteren wird beschrieben, dass Perilla-Blatt Decocte (Abkochungen) wirksame Eigenschaften bei Hauterkrankungen zeigte (Kosuna und Haga in: The Genus Perilla, 1997) und ebenso bei entzündlichen Krankheiten wie z. B. Gicht und rheumatischer Arthritis (Pandey und Bhatt, 2008).

Die nachfolgende Tabelle (s. Tab. 1) stellt die verschiedenen Nutzungsarten von *Perilla frutescens* L. in verschiedenen Ländern Ostasiens dar.

Tab. 1: Nutzung von *Perilla frutescens* L.

Teil der Pflanze	Nutzung	Länder	Referenz
Samen	Nahrungsmittel für Menschen (Gewürz, Öllieferant) und Tierfutter, medizinisch	China, Japan, Indien	a, b, c, d
Blätter	Gemüse (roh, gekocht, eingelegt), Tee, oder Snack (getrocknet u. gesalzen), medizinisch (gegen Asthma und Allergien, Übelkeit, Erkältungen entzündliche Krankheiten z. B. Rheuma, Gicht)	China, Korea Japan, Indien Europa	b, e, f, g, k
Blütenstände	Gemüse (roh, gekocht), Tee, Perilla Alkohol	China Indien	i
fettes Öl (Samen)	Kochen, in Kosmetikprodukten als Antiseptikum (Zahnhygiene, Seife)	Indien China Japan	a, f, i, j
etherisches Öl (Blätter)	als Aroma für Nahrungsmittel, Getränke, medizinisch (gegen Asthma, Erkältungen entzündliche Krankheiten, biologisches Schädlingsbekämpfungsmittel gegen Mehltau	China Japan Korea Indien Europa	a, h, k

a Hanelt (2001), **b** Nitta et al. (2003), **c** Tanaka (1976), **d** Wealth of India (1985),
e Uphof (1968), **f** Atkinson (1882), **g/h** Arora (1997, 2006), **i** Kumar (1999),
j Wiersema und Leon (1999), **k** Pandey und Bhatt (2008)

1.2 Ziel der Arbeit

Die in Europa noch weitgehend unbekannt, asiatische Heil- und Gewürzpflanze *Perilla frutescens* L. stellt in Asien ein weit verbreitetes Nahrungsmittel dar, das gesundheitsfördernde Eigenschaften besitzt. Der hohe Gehalt an sekundären Inhaltsstoffen und deren hohe antioxidative Wirksamkeit wurde in *in vitro* Untersuchungen vielfach nachgewiesen.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Selektion eines Genotyps von *Perilla frutescens* L., der sich durch gute Verzehreigenschaften, hohe ernährungsphysiologische Qualität und gute Anbaueignung in hiesigen Freilandbedingungen auszeichnet. Hierfür wird zunächst das Inhaltstoffmuster 5 verschiedener Perilla-Linien analysiert und verglichen. Im Vordergrund stehen die Gesamtgehalte der Polyphenole und Carotinoide und deren antioxidative Kapazität sowie der Nachweis des toxisch wirkenden Perillaketons. Unter Salz- und Trockenstressbedingungen wird untersucht, ob die ernährungsphysiologische Qualität über variierende Anbaubedingungen beeinflussbar ist. Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wird, basierend auf den Ergebnissen der durchgeführten Untersuchungen, ein Genotyp ausgewählt, dessen gesundheitsfördernden Eigenschaften innerhalb einer Verzehrstudie am Menschen ermittelt werden. Hier ist das Ziel, die Bioverfügbarkeit der ernährungsphysiologisch wertvollen Substanzen aus *Perilla frutescens* L. im Menschen zu untersuchen und herauszufinden, ob diese Pflanze den oxidativen Status im Menschen beeinflussen kann.

Im Vordergrund steht die Frage, ob *Perilla frutescens* L. als gesundheitsförderndes Nahrungsmittel bzw. als Nahrungsergänzungsmittel im präventiven Einsatz gegen Zivilisationskrankheiten, die mit oxidativem Stress in Verbindung gebracht werden, sinnvoll eingesetzt werden kann.

2 Material

2.1 Pflanzenmaterial, Kultursubstrat und Dünger

Die Jungpflanzen wurden im ersten Versuchsjahr (2006) aus Samen unterschiedlicher Herkünfte angezogen. Die Herkunft des jeweiligen Saatguts geht aus der folgenden Tabelle hervor (s. Tab. 2).

Tab. 2: Verwendete Saatgutlinien

Saatgutlinie	Bezeichnung	Keton	Herkunft
	Park 2	unbekannt	Korea
2	Z 220508	unbekannt	Fa. Juliwa-Enza, Heidelberg
3	Pi 553074	ketonfrei	United Germplasm Center, U.S.A.
4	Pi 481701	ketonhaltig	United Germplasm Center, U.S.A.
5	Z 226239	unbekannt	Fa. Juliwa-Enza, Heidelberg

Für die folgenden Anbaujahre (2007/2008) wurde das Saatgut aus eigener Ernte verwendet. Hierzu wurden die Blütenstände der Mutterpflanzen nach der Tотреife geerntet. Im Anschluss daran wurden die Blüten in den Räumen des Instituts für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Abteilung Heil- und Gewürzpflanzen, der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft gedroschen und mittels Windsichter (s. Abb. 1) scharf selektiert. Im Windsichter wurde das Saatgut in 3 verschiedene Fraktionen eingeteilt. Die leichten, großflächigen Hülsenbestandteile wurden verworfen (d). Die leichten, teils wenig gefüllten oder leeren Samenschalen (c) wurde von den schweren, gut ausgereiften, vollen Samen (b) getrennt. Die saubere Trennung der einzelnen Fraktionen hängt ab von der Beschickungsgeschwindigkeit des Erntematerials. Die Qualität der einzelnen Saatgutfraktionen hängt ab von der Windstärke und der Beschickungsgeschwindigkeit. Da im Anbau von Perilla die Keimfähigkeit des Saatguts ein großes Problem darstellt, wurde in diesem Fall sehr scharf selektiert, um möglichst keimfähiges Vermehrungsmaterial zu gewinnen.

Die einzelnen Saatgutfraktionen wurden mikroskopisch untersucht, um die Einstellungen zu optimieren. Somit konnte eine sehr gute Saatgutqualität gewährleistet werden. Im Anschluss wurde das Saatgut in Plastiktüten verpackt und bei 4°C gelagert. Vor der Saat wurde das Saatgut grundsätzlich mit Polyram gebeizt und in Anzuchtschalen ausgesät. Als Substrat wurde, wenn nicht anders erwähnt, Cultural F von der Firma Eufloer verwendet. Nach 10 Tagen wurden die Keimlinge vereinzelt und in 96-iger Vefis gesetzt. Gedüngt wurden die Jungpflanzen über Flüssigdüngung mit Flory hydro 9, eingestellt auf EC 3,0. Im 4-Blatt-Stadium wurden die Pflanzen in Töpfe mit 11 cm Durchmesser (11 er-Töpfe) umgepflanzt. Aufgrund des starken Wachstums wurden die Pflanzen im 8-Blatt-Stadium in Töpfe mit 18 cm Durchmesser (18 er-Töpfe) gepflanzt. Bei den Salz- und Trockenstressuntersuchungen wurde der Versuch nach einer 7-tägigen Durchwurzungsdauer gestartet.



Abb. 1: Windsichter mit Förderband (a) und 3 Selektionskammern (b, c, d)

2.2 Reagenzien und Chemikalien

In der folgenden Tabelle (s. Tab. 3) werden die verwendeten Chemikalien und Reagenzien aufgeführt.

Tab. 3: Verwendete Chemikalien und Reagenzien

Name	Formel / Abk.	M [g/mol]	Firma	Best.-Nr.
Aceton	(CH ₃) ₂ CO	58,08	Fisher Scientific	
Acetonitril	CH ₃ CN	41,05	Fisher Scientific	A-0627/17
Ameisensäure	CH ₂ O ₂	46,03	Merck	
Apigenin	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270,23	Roth	5611,1
2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonsäure	C ₁₈ H ₁₈ N ₄ O ₆ S ₄ * (NH ₃) /ABTS	548,70	Merck	A-1888
β-apo-8`-Carotenal	C ₃₀ H ₄₀ O	416,65	Fluka	
Cyanidin	C ₁₅ H ₁₁ O ₆	287,06	Extrasynthèse	
Dinitrophenylhydrazin	C ₆ H ₆ N ₄ O ₄	198,14	Fluka	42210
5`5- Dithio-bis (2-nitrobenzoesäure)	C ₁₄ H ₈ N ₂ O ₈ S ₂	396.35	Sigma	43760
Essigsäure (Eisessig)	CH ₃ COOH	60,05	Fisher Scientific	A/0400/PB15
Folin-Ciocalteu-Reagenz	-	-	Merck	3264
Gallussäure	C ₇ H ₆ O ₅	170,00	ACROS	41086
Hydroxylamin	NH ₂ OH* HCl	69,49	Sigma	H-9876
α-Keto-γ-methiolbuttersäure	C ₅ H ₇ O ₃ Sna	170,20	Sigma	K-6000
Luteolin	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286,24	Roth	
Luteolin-7-glucosid	C ₂₁ H ₂ OO ₁₁	448,39	Roth	4164.1
Methanol	CH ₄ O MeOH	32,04	Roth	4627.5
Natriumcarbonat	Na ₂ CO ₃	105,99	ACROS	2078
N-(1-Naphtyl)-ethyl-diamindihydrochlorid	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ * 2HCl NED	259,18	Roth	4342.1
(±) Naringenin	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272,30	Sigma	N- 5893
Natriumacetat	CH ₃ COONa	82,03	Merck	6268
Di-Natriumhydrogenphosphat	Na ₂ HPO ₄	141,96	Merck	1.06586

Fortsetzung der Tabelle auf der folgenden Seite (Seite 22)

Fortsetzung der Tabelle 3 von Seite 21:

Name	Formel / Abk.	M [g/mol]	Firma	Best.-Nr.
Natriumdihydrogenphosphat Dihydrat	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	177,99	Merck	1.06580
Natriumhydroxid	NaOH	40,01	Roth	6771.2
Perchlorsäure 20 %	ClHO_4	100,46	Fluka	77233
Quercetin	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	338,26	ACROS	174070
Rutin	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$	664,60	ACROS	1323900
Rosmarinsäure	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{C}_8$	360,34	Extrasynthèse	
Salzsäure	HCl	36,50	Merck	1.00317
Tetrahydrofuran	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$ THF	72,11	Merck	
Triethylamin	$\text{C}_6\text{H}_{15}\text{N}$	101,19	Riedel de Haen	121448
Tris(hydroxymethyl)-aminomethan	$\text{H}_2\text{NC}(\text{CH}_2\text{OH})_3$	121,14	Merck	1083820100
Trolox	$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4$	250,30	ACROS	218940
Wasserstoffperoxid-Lösung (30 %)	H_2O_2	34,01	Merck	1.07209

2.3 Puffer und Lösungen

Sofern nicht anders beschrieben, wurden die Lösungen und Puffer mit ($\text{H}_2\text{O}_{\text{bidest}}$) hergestellt.

ABTS-Lösung:

1,097 mg/ml werden in EtOH gelöst

Ammoniumacetatpuffer

Ammoniumacetat gelöst in $\text{H}_2\text{O}_{\text{bidest}}$ (3,85 g/l)

DNPH (2,4-dinitrophenylhydrazine)-Lösung

10 mM (1,98 mg/ml)

DTNB-(5`5- Dithio-bis (2-nitrobenzoesäure))-Lösung

10 mM (3,96 mg/ml)

Phosphatpuffer (0,2 M, pH 7,4)

Lösung A: 0,2 M Na_2HPO_4 (35,6 g/l)

Lösung B: 0,2 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (27,9 g/l)

Lösung A wird vorgegeben, durch Zugabe von Lösung B wird der gewünschte pH-Wert von 7,4 am pH-Meter eingestellt.

PBS-Puffer für die LDL-Oxidation im LPO-Testsystem

100 ml Phosphatpuffer (0,2 M, pH 7,4) werden in 1 l Gefäß vorgelegt.

9 g NaCl werden darin gelöst.

mit $\text{H}_2\text{O}_{\text{bidest}}$ wird auf 1 l aufgefüllt.

Peroxidase-Lösung für ABTS-Testsystem

Es wurde eine Ausgangslösung hergestellt, die die Konzentration von 1 mg POD / ml $\text{H}_2\text{O}_{\text{bidest}}$ hatte. Diese Ausgangslösung wurde 1:10 mit $\text{H}_2\text{O}_{\text{bidest}}$ verdünnt und bei 403 nm im Photometer deren exakte Konzentration ermittelt. Nun wurde die Ausgangslösung entsprechend verdünnt, um eine 60 μM Lösung zu erhalten

Angesäuertes Ethanol für ABTS-Testsystem

Ethanol p.a. wird mit 0,7 % H_2PO_4 angesäuert.

Natriumacetat für Hydrolyse

(pH 4,6 , 0,1 mol/L)

Natriumcarbonat-Lösung 7 %-ig

7 g Na_2CO_3 werden in 100 ml $\text{H}_2\text{O}_{\text{bidest}}$ gelöst.

Natriumchlorid-Lösung 10 %-ig:

10 g NaCl werden in 100 ml $\text{H}_2\text{O}_{\text{bidest}}$ gelöst

Tris-EDTA-Puffer

Tris 0,25 M (30,285 mg/ml)

EDTA 20mM (7,4448 mg/ml)

Der pH-Wert wird mit HCl auf 8,2 eingestellt.

Folin-Ciocalteu-Lösung 10 %-ig

10 ml Folin-Ciocalteu-Reagenz werden mit 90 ml $\text{H}_2\text{O}_{\text{bidest}}$ auf 100 ml verdünnt.

Natriumcarbonat-Lösung 7%-ig:

7 g Na_2CO_3 werden in 100 ml $\text{H}_2\text{O}_{\text{bidest}}$ gelöst.

H₂O₂-Lösung (0,7 mM)

10 M Stammlösung wird entsprechend mit EtOH verdünnt

2.4 Geräte und Anlagen

Die folgende Tabelle zeigt eine Zusammenfassung der verwendeten Geräte und Anlagen.

Tab. 4: Verwendete Geräte und Apparaturen

Geräte	Firma
UV-Vis Photometer	Pharmacia LKB Biochrom 4060
	Thermo Spectronic Helios beta 9423 UVB 1002E
HPLC 1	Säule: EC 250/4 Nucleosil 120-3 C18
	Autosampler: GINA 160 Gynkothek
	Degaser: DG 503 Gynkothek
	Pumpe: High Precision Pump Modell 480 Gynkothek
	Ofen: Gynkothek
	Detektor: UV/VIS SP 8450 Gynkothek
HPLC 2	Säule: LiChrospher 100, RP-18; 5µm; 100 mm Länge
	Autosampler: Gilson-Abimed 231
	Pumpe: Kontron T-414
	Detektor: Kontron Uvikon Modell 740 LC, 280 nm
HPLC 3	Säule 1: EC 250/4 Nucleosil 120-3 C18
	Säule 2: 250/4,6 Phenomenex Synergy Hydro RP mit 4,3 mm Vorsäule (Phenomenex C 18)
	Autosampler: Kontron 465
	Pumpen: Kontron 422
	Detektor: Diodenarray 440
HPLC 4 (Carotinoidanalysen)	Säule 1: Phenomenex Develosil RP, C30 (250 × 46 mm, 5 µm)
	Säule 2: 250/4,6 Phenomenex Synergy Hydro RP mit 4,3 mm Vorsäule (Phenomenex C 18)
	Pumpe: Merck Hitachi L 6200 A intelligent pump
	Detektor: UV-Vis Detector (Merck Hitachi L-4250).
Waagen	Elektronische Halb-Mikro-und Analysewaage RC 210S Sartorius
	Elektrische Analysewaage 1702 MP 8 Sartorius
Zentrifuge	Laborzentrifuge 2-15 Sigma
Ultraschallbad	Transonic Digital Elma
	Sonorex Super 10 P Bandelin
pH-Meter	pH Meter Set Qph 70 (6204724) VWR International GmbH
Wasserbad	Typ 1092 Gesellschaft für Labortechnik MbH
Trockenschrank	Modell 800 von Memmert

Fortsetzung der Tabelle siehe folgende Seite (Seite 27)

Fortsetzung der Tabelle 4 von Seite 26:

Geräte	Firma
Gefriertrocknung	VirTis SQ 25 LE-6 Genesis
	VirTis 1Z LL Genesis
GC/MS (5890 Series II)	Hewlett Packard, Säule: Supelcowax TM 10 24081 (60mx0.25mm, Film Dicke 0.25µm)
Mühle	Planetenschnellmühle Retsch
Vortexer	Heidolph REAX top
	Heidolph REAX 2000
	Eurolab Merck
Vakuumkonzentrator	5301 Eppendorf

2.5 Verbrauchsmaterialien

Hartgelantine-Leer Kapseln, Kapselgröße 0, (0,68 ml)

Cellulose, mikrokristallin PH 102, für Kapselherstellung, Fagron

Rührspatel 120 mm, Sarstedt,

1,5 ml Gewindeflasche (Vials), 32 x 11,6 mm, VWR

Küvetten, 10 x 10 x 45mm, 10 x 4 x 45 mm,

Insulinspritzen 1 ml U-100 BD Micro Fine

Filter Minisart RC 25, Ø 0,45 µm Sartorius

Falcon Röhrchen 15 ml Sarstedt

Reagiergefäße Sarstedt (1,5 ml, 2 ml)

Einmalspritzen Omnifix 2ml Braun

Schraubgläser zum Einfrieren des Pflanzenmaterials

Reagiergefäße Eppendorf (1,5 ml, 2 ml)

3 Methoden

3.1 Übersicht durchgeführter Versuche

Die folgende Tabelle zeigt eine Zusammenfassung und Kurzbeschreibung der durchgeführten Versuche (s. Tab. 5).

Tab. 5: Übersicht durchgeführter Versuche

Anbau-jahr	Versuchsbeschreibung
2006	<p style="text-align: center;">Linienvergleich:</p> <p><u>Inhaltsstoffe:</u> Vergleich 5 verschiedener Linien von <i>Perilla frutescens</i> L. bezüglich Variabilität und Qualität des Inhaltstoffmusters. Untersucht wurden Gehalte und antioxidative Kapazität von Polyphenol- und Carotinoidextrakten aus Perilla-Blatt. Die Sorten wurden auf Keton-haltigkeit überprüft.</p> <p><u>Morphologie:</u> Es wurden phänotypische Parameter ermittelt.</p>
2007	<p style="text-align: center;">1. Salz- und Trockenstress (ST1):</p> <p>Der Einfluss verschiedener Salz- und Trockenheitsstufen auf Gehalt und AK von Polyphenolen und Carotinoiden wurde untersucht.</p> <p style="text-align: center;">Freiland-Gewächshaus (FG1):</p> <p>Ertragsparameter: Es wurde ermittelt, ob ausgewählte Sorten von <i>Perilla frutescens</i> L. sich in unseren Klimabedingungen im Freiland kultivieren lassen. Verschiedene Ertragsparameter wurden erhoben.</p> <p>Inhaltsstoffe: Es wurde untersucht, ob der Gehalt und die AK von Polyphenolen und Carotinoiden im Blatt von <i>Perilla frutescens</i> L. durch den Freilandanbau gesteigert werden kann.</p>
2008	<p style="text-align: center;">2. Salz- und Trockenstress:</p> <p>Wiederholung von ST1.</p> <p style="text-align: center;">2. Freiland-Gewächshaus:</p> <p>Wiederholung von FG1.</p> <p style="text-align: center;">Verzehrstudie:</p> <p>Die gesundheitliche Wirkung von <i>Perilla frutescens</i> L. auf den oxidativen Status im Menschen wurde getestet. Ein Perilla - Präparat wurde in Kapselform verabreicht. Der oxidative Status von Diabetikern und Gesunden wurde anhand verschiedener Parameter über einen Zeitraum von 6 Wochen bestimmt.</p>

3.2 Versuchsaufbau

Die Anzucht der Versuchspflanzen (Linienvergleich und Homogenitätsprüfung, Salz- und Trockenstress, Freiland, Gewächshaus) wurde unter kontrollierten Gewächshausbedingungen der Versuchsanlage des Gewächshaus Labor Zentrum Dürnast der Technischen Universität München durchgeführt (48°N, 12°E). Aus einem Pool 5 verschiedener *Perilla*-Linien wurden zunächst im Rahmen des Linienvergleiches morphologische, agronomische und pharmakologische Informationen bezüglich der 5 Genotypen der Gattung *Perilla* gewonnen. Basierend auf den Ergebnissen dieser Untersuchungen wurden für weiterführende Versuche die Linien 2 und 5 herangezogen. Die Jungpflanzen wurden im Gewächshausabteil 2-3 aufgezogen. Die Stressversuche wurden in den Gewächshausabteilen 2-1 und 2-2 durchgeführt. Die Temperaturen während der Kulturzeit betragen 22°C am Tag und 16°C in der Nacht. Die Pflanzen für Freilandversuche wurden 2007 und 2008 in Pflanzbeeten des Gewächshaus Labor Zentrum Dürnast angebaut. Um dem Einfluss bodenbürtiger Schädlinge vorzubeugen wurden die Freilandversuche im Jahr 2008 in dem benachbarten Freilandbeet angebaut.

3.2.1 Bonitur morphologischer Merkmale 5 verschiedener *Perilla* Linien

Die taxonomische Einordnung einzelner Genotypen von *Perilla frutescens* L. ist derzeit noch sehr schwer, da es sich in Europa um eine relativ junge, unerforschte Pflanze, mit polymorphen Eigenschaften handelt. In Asien ist sie seit Jahrtausenden bekannt und dort aufgrund ihrer positiven Wirkungen und ihrer vielseitigen Nutzungsmöglichkeiten vermehrt Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen geworden. Dennoch gehen aus der Literatur viele widersprüchliche Angaben bezüglich der taxonomischen Einordnung der Gattung *Perilla* hervor. Um die jeweilige Homogenität der 5 Saatgutherkünfte, die in dieser Arbeit untersucht wurden, zu prüfen und um Aufschluss über die phänotypischen Unterschiede zu gewinnen, wurden morphologische Merkmale von Blatt, Stängel und Blüte erfasst und deren Ausprägung wie folgt bonitiert (s. Tab. 6) und fotodokumentiert (s. Abb. 9 bis Abb. 14).

Tab. 6: Morphologische Merkmale in der Bonitur

Blattmerkmale	
Blattgröße	klein, mittel, groß
Blattfarbe	rot, grün
Behaarung	schwach, mittel, sehr stark
Festigkeit der Blätter	weich, fest, sehr fest
Struktur der Blattspreite	glatt, blasig (var. crispa)
Zahnung	schwach, mittel, sehr stark
Stängelmerkmale	
Gesamthöhe [cm]	ermittelt zum Erntezeitpunkt
Stengelfärbung	grün, rot
Stengelbehaarung	schwach, mittel, sehr stark
Blütenmerkmale	
Blütenfarbe	weiß, rosa
Blühtermin	früh, mittel, spät

3.2.2 Salz- und Trockenstress

Aufgrund der Ergebnisse des vorangegangenen Linienvergleichs aus 2006 wurden die Linien 2 und 5 für folgende Versuche herangezogen.

Die Salz- und Trockenstressversuche wurden mit Hilfe des Ebbe- Flut Bewässerungssystems auf Gewächshaustischen durchgeführt. Der Versuchsaufbau wurde randomisiert, wobei jedes Niveau aus 2x20 Pflanzen der Linie 2 und 5 bestand. Als Maßstab für die Salzkonzentrationen wurde die elektrische Leitfähigkeit (EC-electrical conductivity) herangezogen. Die Kontrollgruppe wurde mit Hilfe des Düngers Flory 9 eingestellt auf EC 3,0 versorgt und 2 mal täglich bewässert. Die EC-Werte der Bewässerungsbecken wurde täglich ermittelt, mit den Werten des Kontrollbeckens verglichen und mit einer konzentrierten NaCl-Lösung auf die gewünschten Werte eingestellt (s. Tab. 7). Die Giessbecken wurden 1x wöchentlich ausgepumpt und neu eingestellt.

Der Trockenstress wurde mit Hilfe von manuell ablesbaren Saugkerzen durchgeführt. Nach einer 10-tägigen Durchwurzelungsphase wurden die getopften Versuchspflanzen zu Beginn des Versuchs getaucht, um eine einheitliche Wassersättigung des Substrats aller Versuchspflanzen zu erreichen. Die Tensiometer wurden mit Bodenschluss in den Töpfen befestigt. Mit den Tensiometern wurde die Saugspannung des Bodens täglich erfasst. Die verschiedenen Trockenniveaugruppen (s. Tab. 8) umfassten 2x20 Pflanzen der Linien 2 und 5. Je Gruppe wurden 6 Saugkerzen verteilt. Wenn das Mittel der gemessenen Werte das Trockenstressniveau erreicht hatte, wurden die Pflanzen mit Hilfe des Stauverfahrens bewässert. Die Bewässerung erfolgte mit einer Nährstofflösung, die mit Flory 9 auf EC 3,0 eingestellt worden war. Die Tensiometer wurden nach jeder Bewässerung wiederum bis zur Markierung mit H₂O dest. aufgefüllt. Wichtig war, dass die Tensiometer bei der Befüllung nicht bewegt wurden, um den Bodenschluss nicht zu unterbrechen. Im Folgenden werden die einzelnen Stresstufen angezeigt:

Tab. 7: Einstellungen der Salzstressniveaus

EC 3,0 (Kontrolle)	Flory 9 (ohne NaCl)
EC 5,0	Flory 9 + NaCl (10 mmol NaCl/L)
EC 7,1	Flory 9 + NaCl (20 mmol/NaCl/L)

Tab. 8: Einstellungen der Trockenstressniveaus

Kontrolle	ca. 50-80 hPa
1. Niveau	150 hPa
2. Niveau	250 hPa
3. Niveau	400 hPa

3.2.3 Freiland-Gewächshaus

Ob sich die Perilla-Pflanzen für den Freilandanbau in unserem Klima eignen und wie sich dies im Vergleich zum Gewächshausanbau auf die inhaltstoffliche Qualität der Nahrungspflanze auswirkt, wurde in zwei aufeinanderfolgenden Versuchsjahren (2007/2008) an den Perilla-Linien 2 und 5 untersucht. Aufgezogen wurden die Pflanzen unter gleichen Bedingungen im Gewächshaus 2-3. Im Alter von 5 Wochen (8 Blatt-Stadium) wurden alle Pflanzen gestutzt. Die Kontrollpflanzen, jeweils 2x30 Pflanzen je Linie, wurden im Gewächshaus 2-2 mit Hilfe des Stauverfahrens mit Flory 9 hydro EC 3,0 versorgt.

Randomisiert zu je 2x30 wurden sie in einem Abstand von 35 x 50 cm in die Frühbeetkästen des Gewächshaus Labor Zentrum Dürnast gepflanzt. Im Versuchsjahr 2007 begann der Freilandversuch mit der Auspflanzung am 08.05. und endete am 17.07. mit der Ernte. 2008 wurde der Versuch am 26.05. gestartet und am 17.07. mit der Ernte beendet. Eine gemäßigte Startergabe von 10 kg Mehrnährstoffdünger (12-12-17-2) (NPK Mg) wurde dem Boden bei der Pflanzung zugegeben. Über den gesamten Vegetationszeitraum von 8 Wochen wurde mit 15 kg desselben Mehrnährstoffdüngers gedüngt.

3.3 Anbau und Ernte

3.3.1 Linienvergleich und Homogenitätsprüfung

Für die Anzucht von den Pflanzen für den Linienvergleich, wurde das Saatgut, das aus unterschiedlichen Quellen stammte (s. Tab. 2) zunächst 3 Tage lang bei -20°C gelagert. Die Aussaat erfolgte am 25.05.05 in Anzuchtschalen. Als Substrat wurde jeweils Cultural F (Fa. Euflor) verwendet. Um eine Homogenitätsprüfung der einzelnen 5 Linien durchzuführen, wurde jede Linie in 5 Unterlinien aufgeteilt. Dafür wurden am 30.01.2006 aus dem Bestand jeweils 5 Mutterpflanzen durch Kopfstecklinge vermehrt. Jeweils 9-12 Pflanzen bildeten eine Unterlinie, somit umfassten 45-60 Pflanzen den Gesamtbestand einer Linie. Als die Kopfstecklinge am 03.03.2006 eine Größe von 5–8 cm erreicht hatten, wurden sie pikiert. Am 09.05.2006 wurden die Pflanzen in 11 er-Töpfe umgesetzt. Eine Schädlingsbekämpfung erfolgte regelmäßig mit einer 2 %-igen Neudosan Spritzung. Bei Neudosan handelt es sich um eine Kalilauge (515 g/l) die auch im ökologischen Landbau gegen saugende Insekten (Spinnmilbe, weiße Fliege, etc.) im Freiland und Gewächshaus zum Einsatz kommt. Am 14.08.06 wurden die Pflanzen in 18 er-Töpfe umgetopft. Gedüngt wurde der Bestand mit Flory 9 10 % (EC 2.0). Der Dünger setzt sich wie folgt zusammen: 15+7+22(+6) (NPK Mg). Geerntet wurden die Blätter der Pflanzen am 26.09.06. Die Pflanzen befanden sich zum Zeitpunkt der Ernte kurz vor der Blüte. Nach der Ernte wurde das Pflanzenmaterial vakuumdicht verpackt, stufenweise gefriergetrocknet und vermahlen. Das Pulver wurde in Gläsern bei -20°C eingefroren.

3.3.2 Stressversuche

Als Substrat für die gesamte Anzucht wurde Cultural F (Fa. Euflor) verwendet. Die Anzucht der Pflanzen im 1. Versuchsjahr begann mit der Aussaat am 22.05.2007 in Anzuchtschalen (s. Abb. 2a). Am 11.06.2007 wurden die Pflanzen pikiert, in 96-iger Vefis gepflanzt (s. Abb. 2b) und am 05.07.07 in Töpfe mit 11 cm Durchmesser (11 er Töpfe) umgetopft (s. Abb. 2c). Im 6-Blatt-Stadium wurde der Bestand am 20.07.07 um ein Blattpaar gestutzt und am 29.07.07 in größere Töpfe mit 18 cm Durchmesser (18 er Töpfe) umgesetzt.

Nach einem Durchwurzelungszeitraum von 10 Tagen wurden die Salz- und Trockenstressversuche am 08.08.2007 gestartet. Am 04.09.2007 wurde der Versuch durch die Ernte beendet. Im 2. Versuchsjahr wurden die Pflanzen aus organisatorischen Gründen schon am 08.01.2008 ausgesät, am 08.02.08 pikiert und am 08.03.08 in Töpfe mit 18 cm Durchmesser (18 er-Töpfe) umgesetzt. Nach einer 10-tägigen Durchwurzelungsphase wurde der Versuch am 19.03.08 begonnen und die Ernte erfolgte am 21.04.2008.

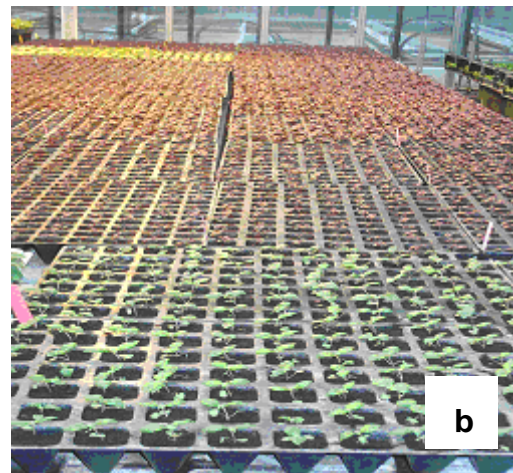
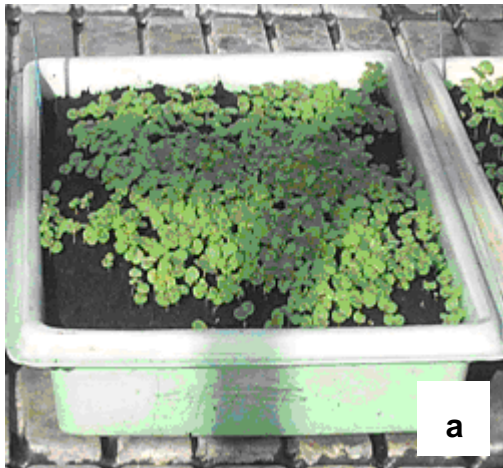


Abb. 2: Anzucht der Jungpflanzen im Gewächshaus. a) in Anzuchtschalen, b) in Vefis , c) in 11 er-Töpfen.

3.3.3 Freiland- und Gewächshausanbau

Im ersten Versuchsjahr wurde der Versuch am 14.05.07 mit der Auspflanzung der Pflanzen in die Freilandbeete gestartet. Es wurden jeweils 50 Pflanzen randomisiert (2x25) in Reihenabständen von 50 cm und Pflanzenabständen von 35 cm in die Pflanzkästen der Gewächshausanlage des Gewächshaus Labor Zentrum Dürnast gepflanzt. Als Startergabe wurde mit 10 kg Mehrnährstoffdünger mit einer Zusammensetzung von 12-12-17-2 (v.d. Reijt) gedüngt. Nach 4 Wochen wurde der Bestand erneut mit 15 kg Mehrnährstoffdünger gedüngt.

Bei länger anhaltender Trockenheit wurde der Bestand bewässert und wiederholt mit Flory 9 hydro (EC 3.0) gedüngt. Am 17.07.07 wurde der Versuch durch die Ernte beendet.

Die Kontrollpflanzen wurde in 18 er-Töpfe getopft und im Gewächshaus 2-2 aufgestellt. Gedüngt wurden diese mit Flory 9 hydro (EC 3,0).

Im 2. Versuchsjahr wurden die Pflanzen am 03.04.08 in Anzuchtschalen ausgesät. Aus Lieferungsschwierigkeiten des herkömmlichen Substrats Cultural F (Eufloor) wurde stattdessen Florgrad 3 Vermehrungserde verwendet. Pikiert wurden die Pflanzen am 18.04.08 in Vefis, am 10.05.08 in 11 er-Töpfe und am 26.05.08 in die Freilandkästen gepflanzt. Um den Befall von bodenbürtigen Schädlingen zu vermeiden, wurden in diesem Jahr benachbarte Pflanzbeete genutzt. Aufgrund der starken Hagelfälle im Sommer 2007 wurden im Versuchsjahr 2008 Schutznetze über dem Bestand gespannt. Die Düngung erfolgte, wie im Jahr zuvor, mit einer Startergabe von 10 kg Mehrnährstoffdünger dergleichen Zusammensetzung. Nach 4 Wochen wurde der Bestand erneut mit 15 kg Mehrnährstoffdünger gedüngt. Bei der Ernte wurde zugrunde gelegt, dass es sich bei *Perilla frutescens* L. vordergründig um eine Gemüsepflanze handelt, bei der vorzugsweise das Blattmaterial als Nahrungsmittel genutzt wird. Aus diesem Grund wurde für alle Analysen ausschließlich das frisch geerntete Blattmaterial verwendet. Nach der Ernte der Blattfrischmasse am 17.07.08 wurde des Material gewogen, eine Mischprobe hergestellt, vakuumverpackt und bei -20°C eingefroren.

3.4 Aufbereitung und Extraktion des Pflanzenmaterials

3.4.1 Trockensubstanzbestimmung

Direkt im Anschluss an die Ernte wurde der Trockensubstanzgehalt aus Mischproben der einzelnen Versuchsvarianten bestimmt. Hierzu wurden etwa 30 g zerkleinertes Blattmaterial in Bechergläser eingewogen und unter Frischluftzufuhr 3 Tage lang bei stufenweiser Temperatursteigerung (60°C, 90°C, 105°C) im Trockenschrank getrocknet. Die verbleibende Trockensubstanz wurde rückgewogen und der Trockensubstanzgehalt unter Bildung des Verhältnis Trockensubstanz/Frischsubstanz bestimmt. Dargestellt wird er durch den Mittelwert aus 3 Wiederholungen.

3.4.2 Gewinnung des Extraktpulvers

Das eingefrorene Blattmaterial wurde zunächst zerkleinert und stufenweise gefriergetrocknet (-5°C, 2°C, 9°C, 14°C). Das gefriergetrocknete Blattmaterial wurde mit Hilfe einer Kugelmühle gemahlen. Anschließend wurde es in dunkle Schraubgläser gefüllt und bei -20°C gelagert.

3.4.3 Extraktion von Blattinhaltsstoffen

Die im Folgenden dargestellten Extraktionen wurden jeweils mit getrocknetem und vermahlenem Pflanzenmaterial durchgeführt. Eine Ausnahme stellt die einmalige Extraktion von Frischblattmasse dar, die durchgeführt wurde, um zu untersuchen, ob während des Trocknungsvorgangs phenolische Substanzklassen vollkommen zerstört bzw. in hohem Maße verändert wurden.

3.4.4 Perillaketon

Für die Extraktion des Perillaketons wurden zunächst 0,5 g Pflanzenmaterial in 10 ml Plastik-Reagenzröhrchen abgewogen. Diese wurden mit 5 ml Diethylether versetzt (Takano et. al, 1990) und 30 Minuten bei 4°C mit Ultraschall extrahiert. Nach der Zentrifugation bei 4900 U/min. für 10 Minuten wurde der Überstand abgezogen, in 1 ml Vials überführt und schließlich unverdünnt in das GC/MS eingespritzt und gemessen.

3.4.5 Extraktion von Carotinoiden und Vitamin E

In Anlehnung an die Methode von Hart und Scott (1995) wurden 0,1 g gemahlene Pflanzenmaterial in 2 ml Eppendorf Reagiergefäßen eingewogen. Zur Neutralisation von Säuren wurde 0,01 g K_2CO_3 hinzu gegeben. Als interner Standard wurde β -Apo-8'-carotenal herangezogen. Als Lösungsmittel diente hier ebenfalls MeOH/THF im Verhältnis 1:1. Die Konzentration der Stammlösung des internen Standards betrug 500 μ M (0,208 mg/ml). Als Extraktionsmittel wurden 0,9 ml MeOH/THF (1:1) hinzu pipettiert. Bei der Extraktion mit internem Standard, wurden 0,72 ml MeOH/THF und 0,18 ml interner Standardlösung dazu pipettiert. Die Probe wurde 1 Minute gevortext und 3 Minuten im Ultraschallbad (4°C) gelöst. Dann wurden 0,5 ml Hexan zu der Probe dazu pipettiert. Bei Extraktion mit internem Standard wurde dem Hexan 0,1 % BHT zugesetzt, um den internen Standard vor Oxidation zu schützen. 0,25 ml NaCl-Lösung wurde der Probe hinzugegeben. Die Proben wurden 15 Sekunden gevortext dann 3 Minuten im Ultraschall behandelt, und anschließend 3 Minuten bei 4000 U/min. zentrifugiert. 0,5 ml des Überstandes (THF und Hexanphase) wurden abgezogen und in Falcon Röhrchen gesammelt. Den Proben wurden wiederum 0,6 ml Hexan/BHT hinzu gefügt, dann wurden sie 15 Sekunden gevortext, 3 Minuten bei 4°C mit Ultraschall gelöst und schließlich bei 4000 U/min. zentrifugiert. Nun wurden 0,6 ml der obersten Phase abgezogen und wieder im Falcon Röhrchen aufgefangen. Die Schritte von der Zugabe von Hexan/BHT bis zur Vereinigung des Überstandes im Falcon Röhrchen wurden nun noch 3 mal wiederholt, bis sich im Falcon-Röhrchen 2,9 ml Überstand befinden. Dieser wird in 40 Minuten im Vakuumverdampfer bis zur Trocknung verdampft. Im Anschluss wurden die getrockneten Extrakte bei -20°C gelagert.

3.4.6 Extraktion von Polyphenolen

Die Extraktion der Polyphenole wurde, je nach Untersuchungsschwerpunkt, auf 3 verschiedene Weisen vollzogen. Zum einen wurden die Polyphenole extrahiert, um sie in weiteren Schritten auf ihre antioxidative Kapazität zu überprüfen. Anhand dieser Extrakte wurde ebenfalls der Gesamtpolyphenolgehalt mittels Folin-Ciocalteu-Test bestimmt. Die Extraktion für diese Untersuchungen wurde folgendermaßen durchgeführt: In ein Zentrifugenröhrchen wurden 0,5 g der zu extrahierenden Probe (gefriergetrocknetes, gemahlene Material) eingewogen und mit 5 ml Methanol (80 %-ig, mit 5 % Ameisensäure) versetzt.

Nach einer Minute Vortexen wurden die Proben für 60 Minuten in ein Ultraschallbad (Temperatur ca. 4-7°C) gestellt. Anschließend wurde das Gemisch 10 Minuten bei 10.000 U/min zentrifugiert. 3 ml des Überstands wurden in Zentrifugenröhrchen pipettiert und erneut bei 10.000 U/min 10 Minuten zentrifugiert. Für die weitere Analysen wurden jeweils 1 ml des Überstands in 2 ml-Eppendorf-Caps pipettiert und im Rotovapor bis zur vollständigen Trocknung (ca. 4 Stunden) verdampft. Die extrahierten Proben wurden eingefroren und für die unten beschriebenen Analysen verwendet.

Für die Identifizierung der Polyphenole wurde von Perilla-Linie 5 ein höher konzentriertes Extrakt hergestellt, um auch diejenigen polyphenolischen Verbindungen identifizieren zu können, die in geringerer Menge im Blatt vorkommen. Hierzu wurden 2,5 g vermahlene Pflanzenmaterial in Glaszentrifugenröhrchen eingewogen und mit 40 ml MeOH 80 % + 5 % Ameisensäure versetzt, dann 60 Minuten bei 4°C im Ultraschallbad gelöst, bei 4900 U/min. zentrifugiert und der Überstand in einen 100 ml Rundkolben überführt. Im Rotationsverdampfer wurde das Extrakt bei 40°C und 80 mbar bis zur Trockne eingedampft und schließlich bei -20°C eingefroren. Für die Quantifizierung der einzelnen phenolischen Verbindungen wurden Extrakte aller 5 Perilla-Linien hergestellt. Als interner Standard wurde Naringenin 7-Glucosid in einer Endkonzentration von 0,5 mg / ml eingesetzt. 0,1 g Pflanzenmaterial wurde in 2 ml Eppendorf-Caps eingewogen und mit 2 ml MeOH 80 % + 5 % Ameisensäure + Naringenin 7-Glucosid (0,05 mg/ ml) versetzt. Die Probe wurde kurz gevortext und bei 4°C für 60 Minuten im Ultraschallbad gelöst. Im Anschluss wurde die Probe bei 10.000 U/min. 10 Minuten lang zentrifugiert. Der Überstand wurde in 2 ml Eppendorf-Caps übertragen und wiederum bei 10.000 U/min. für 10 Minuten zentrifugiert. 1 ml des Überstands wurde abgezogen, in 1,5 ml Eppendorf-Caps pipettiert und im Rotovapor eingedampft.

Das getrocknete Extrakt wurde mit 100 μl MeOH 80 % + 5 % Ameisensäure versetzt und 15 μl in die HPLC injiziert.

3.5 Testsysteme zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität

3.5.1 2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure)- oder ABTS-Entfärbeassay

Das ABTS-Entfärbe-Assay stellt ein *in vitro* Testsystem dar, mit Hilfe dessen die antioxidative Kapazität lipophiler und hydrophiler Antioxidantien photometrisch ermittelt werden kann (s. Abb. 3). Durch die Zugabe von POD (Peroxidase) und H_2O_2 (Wasserstoffperoxid) wird ABTS zum ABTS-Radikalkation oxidiert (Cano et al., 2000), dessen Grünfärbung bei 734 nm photometrisch bestimmt werden kann (Miller und Rice-Evans, 1996).

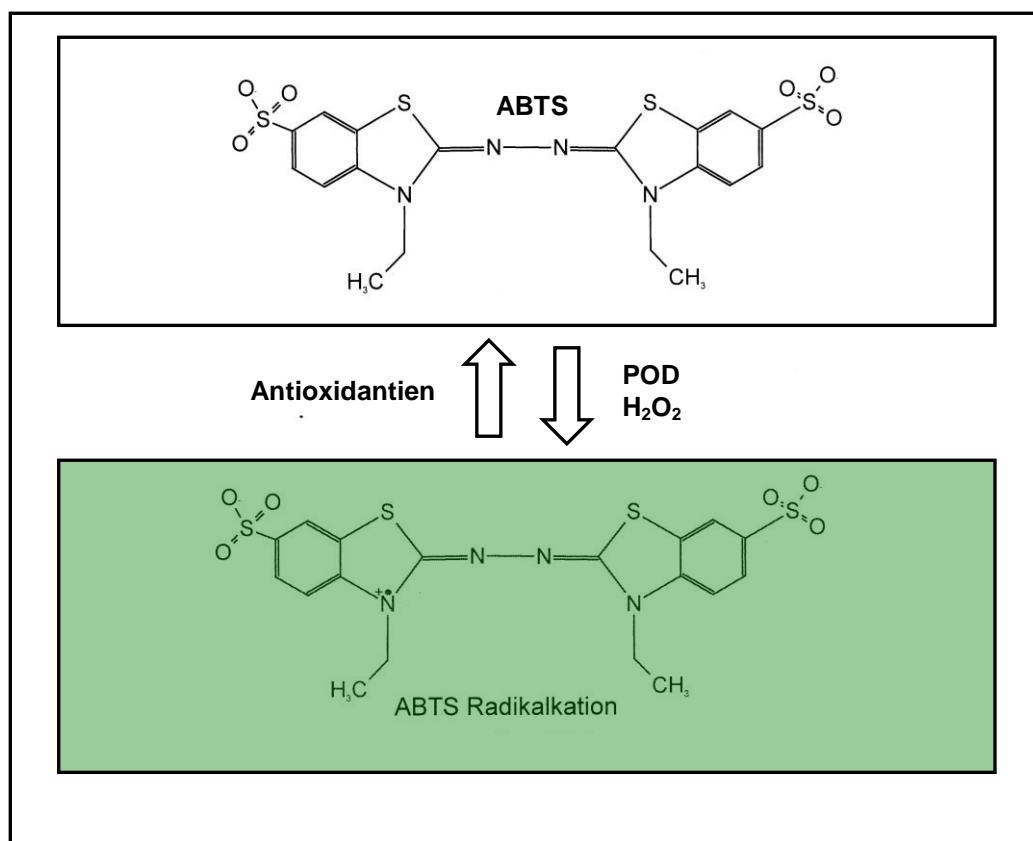


Abb. 3: Oxidation des Indikatormoleküls ABTS zum ABTS-Radikalkation

Durch Zusatz von Antioxidantien reagiert das grüne ABTS-Radikal zu seiner farblosen Ausgangssubstanz. Die ungehinderte Reaktion ohne Zusatz eines Antioxidans wird als 100%-Wert bezeichnet. Alle Proben werden gegen eine Referenz ohne Zusatz von Probe und H_2O_2 gemessen (Yu und Ong, 1999). Somit stellt eine verminderte Farbstoffbildung ein Maß für die antioxidative Kapazität der zugefügten Substanz dar. Bevor die Extrakte im ABTS-System eingesetzt werden konnten, mussten die eingefrorenen Aliquots zunächst aufbereitet werden. Die Aufbereitung der verschiedenen Extrakte wird in der folgenden Tabelle (Tab. 9) beschrieben.

Tab. 9: Aufbereitung der Extrakte bzw. Trolox für Einsatz im Testsystem

Extrakte/Substanzen	Aufbereitung
Polyphenolextrakte	+ 500 μl 80 % MeOH + 5% CH_2O_2 , Ultraschall bei 4°C 10 Minuten, 1:100 verdünnt mit EtOH
Carotinoideextrakte	+ 500 μl CH_2Cl_2 , 1 Minute vortexen, + 500 μl EtOH, 1:5 verdünnt mit EtOH
Trolox	verdünnt mit EtOH zu folgenden Konzentrationen: 1 mM, 0,75 mM, 0,5 mM, 0,25 mM, 0,1 mM, 0,05 mM

Das Pipettierschema (s. Tab. 10) verdeutlicht die Reihenfolge der Pipettierschritte und die pipettierten Mengen. Alle Substanzen außer H_2O_2 wurden in 3 ml Küvetten vorgelegt und ins Photometer gestellt. Durch Zugabe von H_2O_2 wurde die Reaktion gestartet. Damit sich eine homogene Färbung einstellen kann war sorgfältiges Rühren sehr wichtig. Nach 10 Sekunden wurde die Messung gestartet. Innerhalb der ersten 2 Minuten stabilisierte sich die Färbung (Zeitpunkt t_2). Jetzt wurden jeweils 100 μl des Extrakts bzw. der Standards hinzugegeben. Wichtig war hier das erneute gründliche Durchmischen der Probe. Nach weiteren 4 Minuten hatte sich wiederum eine stabile Absorption eingestellt (Zeitpunkt t_6). Die Differenz der Absorption zwischen dem Zeitpunkt t_2 und t_6 wird als Maß der Entfärbung und somit als Maß der antioxidativen Kapazität des Extraktes verstanden. Sofern nicht anders beschrieben, wurden die jeweiligen Substanzen an zwei Tagen jeweils in 3 Wiederholungen gemessen ($n=2 \times 3$). Um die antioxidative Kapazität verschiedener Substanzen vergleichbar zu machen, wurde mittels des Standardantioxidans Trolox eine Kalibrationsgrade erstellt. Anhand dieser Geraden wurde die antioxidative Kapazität der Extrakte umgerechnet und als Troloxequivalente (TE) bezeichnet, dargestellt.

Tab. 10: Pipettierschema ABTS-Testsystem

	Referenz	Probe	Konzentration im Ansatz
ABTS	1000 μ l	1000 μ	1 mM
EtOH	300 μ l	100 μ l	
H₃PO₄/EtOH	100 μ l	100 μ l	
H₂O bidest	500 μ l	500 μ l	
POD	100 μ l	100 μ l	60 μ M
H₂O₂	-	100 μ l	700 μ M
Extrakt/ Standard	-	100 μ l	variabel

3.5.2 Lipidperoxidation menschlichen Blutplasmas *in vitro*

Bei dieser *in vitro* Methode, werden die Blutfette durch Zugabe von Kupfer oxidiert und es entstehen Abbauprodukte, sogenannte konjugierten Diene, die bei 234 nm photometrisch bestimmt werden können (Esterbauer et al., 1989).

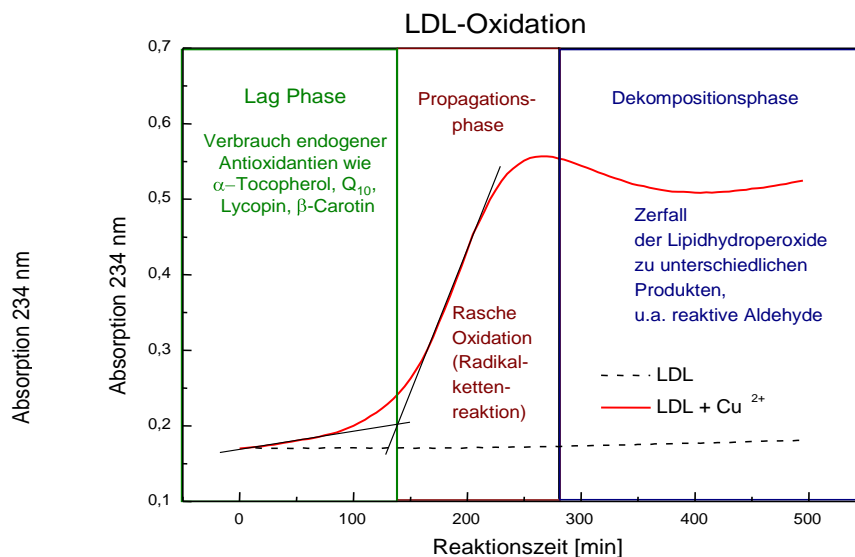


Abb. 4: Typischer Verlauf einer kupferinduzierten Lipidperoxidation in menschlichem Blutplasma

Die Lipidperoxidation (LPO) ist, wie auch andere Oxidationsreaktionen eine Kettenreaktion freier Radikale. Sie lässt sich in 3 Phasen (Abb. 4) einteilen (Dix und Aikens, 1993, Benzie, 1996).

1. Phase: Die sogenannte Lag-Phase bezeichnet den Zeitraum, in dem endogene Antioxidantien (u.a. Carotinoide, Vitamin E, Bilirubin) als Oxidationsschutz dienen. Nach Zugabe eines Oxidationsmittels verläuft die Oxidation in dieser Phase sehr langsam. Endogene Antioxidantien werden hier verbraucht.

2. Phase: Während der Propagationsphase sind endogene Antioxidantien bereits zum Großteil verbraucht. Die Oxidationsrate steigt in zunehmendem Maße an. Aus vielfach ungesättigten Fettsäuren bilden sich u.a. Lipidhydroperoxide. Die Dienbildung erreicht in dieser Phase ihr Maximum.

3. Phase: Die Dekompositionsphase zeichnet sich dadurch aus, dass konjugierte Diene zu Endprodukten der Lipidperoxidation zerfallen. Hier entstehen Epoxide oder Aldehyde.

Um das antioxidative Potential verschiedener Substanzen vergleichen zu können, wird häufig die Dauer der Lag-Phase verwendet (Parathasarathy, 1998). Die Dauer der Lag-Phasen wird verglichen und die Differenz der Lag-Phasen, also die Lag-Phasenverlängerungen, werden als Maß für den antioxidativen Schutz herangezogen. Je länger die Lag-Phase andauert, desto größer ist der Schutz vor oxidativer Schädigung der Lipide.

In dieser Arbeit wurde untersucht, inwiefern der Oxidationsschutz von Plasmalipiden konzentrationsabhängig ist. Als Standard-Antioxidantien wurden Vitamin E und Trolox in den Konzentration von 50 μM , 100 μM , 250 μM und 500 μM eingesetzt. Auch die Schutzwirkungen von Carotinoid- und Polyphenolextrakten aus Perilla-Blatt wurde untersucht. Carotinoidextrakte der Perilla-Linie 2 wurden 1:2, 1:5, 1:7 und 1:10, verdünnt mit Ethanol, eingesetzt. Die Polyphenolextrakte wurden 1:50, 1:100, 1:250 und 1:500 mit Ethanol verdünnt eingesetzt.

Desweiteren wurde im Rahmen der Verzehrstudie mit Hilfe des LPO-Testsystems untersucht, ob durch die Einnahme eines Perilla-Präparates die Dauer der Lagphase *ex vivo* beeinflusst werden konnte.

Nach Schnitzer et al. (1998) wurden folgende Reagenzien hergestellt:

PBS Puffer (16 M NaCl, eingestellt auf pH 7;4)

Blutplasma 1:5 verdünnt mit PBS

CuCl₂ 1 mM

Natriumcitrat 3,6 mM

Tab. 11: Pipettierschema für LPO-Testsystem

Reagens	Referenz	Kontrolle -*	Kontrolle + **	Probe + ***
PBS	700 µl	800 µl	700	
Plasma	-	100 µl	100 µl	100 µl
Extrakt/ LM	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl
CuCl₂	100 µl	-	100	100 µl
Natriumcitrat	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl

*Kontrolle + (Lösungsmittel mit CuCl₂);

**Kontrolle – (Lösungsmittel ohne CuCl₂ als 0-Kontrolle);

***Probe + (Extrakt mit CuCl₂)

Die Gewinnung und die Aufbereitung (siehe Kapitel 3.8) der Blutproben erfolgte am Lehrstuhl für Ernährungsmedizin der Technischen Universität München. Aus organisatorischen Gründen wurden innerhalb dieser Arbeit verschiedene Plasmachargen verwendet, die jeweils aus Mischproben von mindestens 8 Probanden bestanden. Nach Aufbereitung wurden sie portionsweise (je 600 µl) in 1,5 ml Eppendorf Caps bei -20°C eingefroren. Für die Untersuchungen wurde das Plasma aufgetaut und bei 4°C und 13.000 x g 3 Minuten lang abzentrifugiert, um es von Schwebteilen und Blutfetten zu befreien. Um es im LPO-Testsystem einzusetzen, wurde es 1:5 mit PBS verdünnt und auf Eis gelagert.

In die 3 ml UV-Küvetten wurde zunächst 700 µl PBS Puffer vorgelegt. Entsprechend des in Tab. 11 dargestellten Pipettierschemas wurden nun 100 µl verdünntes Plasma (ausgenommen der Referenz), 10 µl verdünnter Extrakt bzw. Lösungsmittel, 100 µl

CuCl₂-Lösung (ausgenommen der 0-Kontrollen) und 100 µl Natriumcitratlösung hinzupipettiert. Die Proben wurden sorgfältig mit Rührspateln vermischt und ihre Absorption über einen Zeitraum von 540 Minuten mit 5 minütigen Messintervallen bei 245 nm gemessen. Sofern nicht anders beschrieben, wurden die jeweiligen Substanzen an zwei Tagen jeweils in 2 Wiederholungen gemessen (n=2x2). Die Wiederholungen erfolgten jeweils an 2 verschiedenen Photometern.

3.6 Inhaltstoffanalytik der Pflanzenextrakte- Identifizierung und Quantifizierung

3.6.1 Perillaketon

Nachdem das Keton mit Diethylether aus dem Pflanzenmaterial extrahiert worden war, wurde 1 µl des Überstands in das GC/MS injiziert. Als Trägersubstanz diente Helium mit einer Fließgeschwindigkeit von 0,6 ml/min und einem Splitverhältnis von ca. 1:25 (Sitzmann, mündliche Mitteilung, 2007). Die Ionisierungsenergie des Detektors beträgt 70 eV, die Injektionstemperatur beträgt 200°C und die Detektortemperatur 280°C. Das Temperaturprogramm verlief folgendermaßen: 3 min 50°C, 10°C/min → 120°C, 2 min 120°C, 3°C/min → 136°C, 3 min 136°C, 9°C/min → 240°C, 30 min 240°C. Die Identifizierung wurde anhand eines Vergleichs der Retentionszeit und des Massenspektrums einer Standardsubstanz vollzogen. Eine Quantifizierung wurde für das Perillaketon nicht durchgeführt.

3.6.2 Carotinoide und Vitamin E

Die carotinoidhaltigen Extrakte enthalten neben den Carotinoiden auch Vitamin E und die Chlorophylle a und b. Chlorophylle und Carotinoide wurden gemeinsam quantifiziert. Für die Analyse wurden die Extrakte mit 500 µl Dichlormethan versetzt und gründlich gevortext. Nachdem sich das Extrakt vollends gelöst hatte, wurde es mit 1500 µl Ethanol versetzt, gemischt, 1:2 mit Ethanol verdünnt und filtriert (45 µm). Die Probe wurde nach der Methode von Sander et al. (1994) unter folgenden Bedingungen mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie quantifiziert:

Flussgeschwindigkeit:	1ml/min.
Injektionsvolumen:	20µl
Säulentemperatur:	30°C
Wellenlänge:	450 nm
Laufmittel A:	MeOH + 0,05 % Triethylamin
Laufmittel B:	Aceton
Laufmittel C:	Aqua bidest + 0,05 % Ammoniumacetat

Tab. 12: Gradient Carotinoidanalyse

Zeit [min]	B [%]	C [%]
0	10	4
0-25	30	4
25-45	60	4
45-70	90	4
70-75	100	0
75-85	100	0
85-90	10	4
90-105	10	4

Der Gradient, mit dem die Carotinoide und Chlorophylle aufgetrennt wurden, geht aus Tab. 12 hervor. Quantifiziert wurden folgende Substanzen: Lutein, Zeaxanthin, Chlorophyll a und b, α -Carotin und β -Carotin. Für die Bereinigung des Extraktionsverlustes verschiedener Substanzen wurde β -apo-8-Carotenal als interner Standard verwendet. Um den Vitamin E Gehalt zu bestimmen, wurden die Proben in 2 ml Ethanol gelöst, filtriert und in Vials pipettiert. 100 µl des Extraktes wurden injiziert und unter folgenden Bedingungen mittels HPLC analysiert:

Flussgeschwindigkeit:	1ml/min
Injektionsvolumen:	100µl
Säulentemperatur:	35°C
Wellenlänge:	292 nm
Laufmittel A:	Acetonitril
Laufmittel B:	Methanol
Laufmittel C:	Tetrahydrofuran

Der Gradient verlief isokratisch.

3.6.3 Polyphenole

Die Quantifizierung der Polyphenole wurde zum einen mit der photometrischen Methode, dem Folin-Ciocalteu-Test und weiterführend mittels HPLC durchgeführt. Zur Identifizierung wurden die einzelnen Substanzen mit Hilfe des Enzyms Sulfatase hydrolysiert. Sulfatase spaltet Glykoside unspezifisch und als Spaltprodukte entstehen Aglykone und Zucker. Das Spektrum und die Retentionszeit der reinen Aglykone ermöglichen eine detaillierte Identifizierung der Grundstruktur von polyphenolischen Substanzen.

3.6.4 Folin-Ciocalteu-Test-Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes

Folin-Ciocalteu-Lösung wird im alkalischen Milieu durch reduzierende Verbindungen, wozu unter anderem Phenole zählen, zu einem blauen Farbstoff umgesetzt (Imeh und Khokhar, 2002, Tchoné, 2003). Der gebildete Farbstoffkomplex kann im Photometer bei 720 nm quantifiziert werden. Anhand einer mit Gallussäure erstellten Eichgerade wird der Phenolgehalt einer Probe bestimmt und in Gallussäure-äquivalenten (GAE) ausgedrückt.

Durchführung: (nach Singleton, 1998). Die zu bestimmende Probe wurde in 500 µl MeOH 80 % und 5 % CH₂O₂ versetzt, im Ultraschallbad gelöst und kurz gevortext. Anschließend wird der gelöste Extrakt 1:100 mit Ethanol verdünnt. Von dem gelösten Extrakt bzw. von der angelösten Gallussäure wurden 0,2 ml in 3 ml Einmalküvetten vorgelegt. Dazu wurde jeweils 1 ml Folin-Ciocalteu-Lösung (10 %-ig) pipettiert. Nach 2 Minuten wurde jeder Probe 1 ml Natriumcarbonat-Lösung (7 %-ig) zugegeben und umgerührt. Kurz vor der photometrischen Messung wurden gegebenenfalls die Gasblasen an der Küvettenwand vorsichtig mit einem Rührspatel entfernt, da diese die photometrische Messung beeinträchtigen können. Die Entstehung von Blasen konnte durch die Entgasung der Lösung im Ultraschallbad verringert werden. Nach 60 Minuten wurde die Absorption der Proben bei 720 nm gemessen.

3.6.5 Hochdruckflüssigchromatographie

Für die Identifizierung der einzelnen Polyphenole im Perilla-Blatt-Extrakt wurde zunächst die Linie 5 herangezogen. Diese Linie schien die meisten Polyphenolgruppen zu enthalten, da sie zusätzlich eine große Menge an Anthocyanen enthielt. Mittels Retentionszeiten und Spektren externer Standards wurden die Polyphenole identifiziert. Mit Hilfe von Responsfaktoren der verschiedenen Polyphenolgruppen wurden die im Extrakt enthaltenen Substanzen unter Einbeziehung eines internen Standards quantifiziert. Wie im Kapitel 3.4.6 beschrieben, wurden die Polyphenole aus Perilla-Blatt extrahiert. Zur Analyse wurden sie mit 5 ml MeOH 80 % + 5 % CH₂O₂ versetzt, im Ultraschallbad gelöst, in ein Reagiergefäß pipettiert, 10 Minuten lang bei 4900 U/min zentrifugiert. 50 µl des Überstands wurden in ein Vial überführt und davon wurden 10 µl in die HPLC injiziert und unter folgenden Bedingungen analysiert:

Flussgeschwindigkeit:	0,5 ml / min
Injektionsvolumen:	10 µl
Säulentemperatur:	Raumtemperatur
Wellenlänge:	Diodenarray (280 nm, 320 nm, 350 nm, 540 nm)
Laufmittel A:	MeOH
Laufmittel B:	Aqua bidest + 5 % CH ₂ O ₂

Die Auftrennung der phenolischen Substanzen erfolgte mittels Gradient (s. Tab. 13).

Tab. 13: Gradient Polyphenolanalyse

Zeit [min]	B [%]
0-5	95
5-35	90
35-70	85
35-55	85
55-110	80
110-145	75
145-180	70
180-210	60
210-220	50
220-240	35
240-250	20
250-270	10

3.6.6 Hydrolyse

Für die Identifizierung der phenolischen Substanzen wurden die Zucker von dem phenolischem Grundgerüst abgespalten. Die Hydrolyse erfolgte enzymatisch mittels Sulfatase, die unspezifisch wirkt und sämtliche Zucker abspaltet. Nach der durchgeführten Hydrolyse wurden die Zuckerbestandteile von den übrigen Spaltprodukten getrennt und die Aglykone lagen in ungebundener Form vor. Als Ausgangssubstanz dienten die einzelnen Fraktionen der 9 flächengrößten Peaks aus dem Chromatogramm der Perilla-Linie 5 (s. Abb. 55). Jeder einzelne Peak wurde während der Auftrennungsphase mittels HPLC nach der Detektion in einem Eppendorf-Cap aufgenommen. Um eine ausreichende Konzentration der gelösten Substanz zu gewährleisten, wurden die 9 Peaks während jeweils 10 Durchgängen aufgefangen, vereinigt und durch Verdampfung eingeengt. Anschließend wurden die Proben bei -20 °C eingefroren.

Zur weiteren Untersuchung wurden die einzelnen Proben zunächst aufgeteilt. Dazu wurden sie mit 300 µl MeOH versetzt, im Ultraschall gelöst, zu je einem Drittel in 1,5 ml Caps aufgefangen und durch Verdampfen eingeengt. Damit die im Folgenden eingesetzte Sulfatase ihre enzymatische Wirkung entfalten konnte, musste sichergestellt werden, dass das Methanol restlos verdampft wurde, da das Enzym ansonsten unwirksam ist. Das Extrakt wurde in 600 µl Natriumacetat gelöst und 2 mg Sulfatase wurde hinzugegeben und gründlich mit der gelösten Probe vermischt.

Für 17 Stunden wurde die Probe bei 37°C im Wasserbad geschwenkt. Durch die Zugabe von 300 µl MeOH wurde die Enzymreaktion beendet. Um die abgespaltenen Zucker von den Aglykonen zu trennen, wurde die Probe mit 600 µl Ethylacetat versetzt und ausgeschüttelt. Die Ethylacetatphase, in der die Aglykone enthalten waren, wurde abgezogen. Dieser Vorgang wurde 5 mal wiederholt, die Ethylacetatphasen gesammelt und im Univapo verdampft. In der Ethylacetatphase befanden sich die Aglykone, in der wässrigen Natriumacetatphase blieben die Zucker in gelöster Form zurück. Die vereinigten Ethylacetatphasen wurden vollständig eingedampft. Zur Analyse wurden die eingedampften Proben in 100 µl MeOH gelöst, 10 Minuten zentrifugiert und 70 µl des Überstands wurden in ein Vial pipettiert, wovon 10 µl in die HPLC injiziert wurden.

3.7 Verzehrstudie

3.7.1 Studiendesign und Probandenauswahl

Die Rekrutierung der Probanden erfolgte über die Mitarbeiter des Lehrstuhls für Ernährungsmedizin der Technischen Universität München. 1 Woche vor Studienbeginn (Zeitpunkt t1) wurde anhand der Blutwerte geprüft, ob die Probanden für die Interventionsstudie in Frage kommen. Als Kriterium für alle Probanden galt generell, dass es sich um männliche, nicht medikamentierte Probanden handelte, die zwischen 50 und 65 Jahre alt waren und deren BMI zwischen 22-32 lag. Bei den Diabetikern galt als zusätzliches Kriterium, als Auflage der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Technischen Universität München, dass deren HbA1c-Wert unterhalb von 8,0 lag.

Der HbA1c-Wert gibt als eine Art Blutzuckergedächtnis den durchschnittlichen, prozentualen Anteil verzuckerter Hämoglobine an Gesamthämoglobinen der letzten 3 Monate an. Der Eiweißstoff Hämoglobin bindet Sauerstoffmoleküle und transportiert diese von der Lunge zu den Körperzellen. Zuckermoleküle können sich an die Eiweißmoleküle binden und somit entstehen „verzuckerte Hämoglobine“. Der Anteil dieser gebundenen Hämoglobine ist abhängig von der Blutzuckerkonzentration im Blut. Da dieser bei Diabetikern meist erhöht ist, liegt auch der HbA1c-Wert bei ihnen höher als bei Gesunden, deren Durchschnittswert etwa bei 5,5 liegt. Der HbA1c-Wert gilt als eindeutiges Parameter bei der Diagnose von *Diabetes mellitus*.

Rekrutiert wurden insgesamt 14 männliche Probanden, davon waren 7 Probanden an *Diabetis mellitus* Typ 2 erkrankt (Diabetiker) und 7 waren gesund (Gesunde). Die Probanden ernährten sich ausgewogen, nahmen keine Supplemente und keine Medikamente ein, tranken keine übermäßigen Mengen an Alkohol und waren Nichtraucher. Die Probanden wurden aufgefordert, ihr gewöhnliches Ernährungsverhalten während des gesamten Studienzeitraums beizubehalten. Bei der 6-wöchigen Verzehrstudie handelte es sich um eine doppelblind, placebokontrollierte, randomisierte, cross-over Studie mit 2 jeweils 14-tägigen Interventionsintervallen, die durch eine 1-wöchige Auswaschungsphase unterbrochen wurden. Zu Beginn der Studie wurde die erste Blutabnahme durchgeführt (t1) und von jedem Probanden wurde ein großes Blutbild erstellt, um dessen Gesundheitszustand zu überprüfen und mögliche Extremwerte auszuschließen.

Bei weiteren Blutabnahmetermeninen (t2-t5) wurde jeweils ein kleines Blutbild erstellt. Eine Woche nach Beginn der Studie (t1) wurde den Probanden erneut Blut abgenommen und die ermittelten Parameter wurden mit den Werten der ersten Blutabnahme (t1) gemittelt und als Basiswerte der jeweiligen Probanden herangezogen. Im Anschluss begann nun die 2 wöchige Supplementation mit dem Placebo- bzw. dem Perilla-Präparat, welche mit der 3. Blutabnahme (t3) beendet wurde. Einer nun folgenden einwöchigen Auswaschphase folgte eine weitere Supplementierungsphase mit dem jeweils anderen Präparat. Diese startete mit der 4. Blutabnahme (t4) und wurde nach einem 14 tägigen Einnahmezeitraum durch die 5. Blutabnahme (t5) beendet.

Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Technischen Universität München geprüft und die Durchführung genehmigt.

3.7.2 Herstellung und Verabreichung des Perilla-Präparates

Die Perilla-Linie 5 wurde unter standardisierten Gewächshausbedingungen im Abteil 2-3 der Gewächshausanlage Gewächshaus Labor Zentrum Dürnast der Technischen Universität München angebaut. Die Blätter wurden geerntet, stufenweise gefriergetrocknet und vermahlen. Der Luteingehalt des Materials wurde mittels HPLC quantifiziert. Um eine genaue Dosierbarkeit des vermahlenden Blattmaterials zu gewährleisten und die Einnahme zu erleichtern, wurden Gelantinekapseln als Darreichungsform gewählt. Die Kapseln wurden sowohl mit getrocknetem Pflanzenmaterial (Perilla-Präparat) und mit reiner Zellulose befüllt (Placebo) (s. Abb. 5). Die Menge der Kapseln wurde auf eine tägliche Dosis von 5 mg Lutein eingestellt. Die Probanden nahmen über einen Zeitraum von jeweils 2 Wochen täglich 15 Kapseln des Perilla-Präparates (5 mg Lutein) bzw. des Placebos zu sich.

Als Placebomaterial wurde reinste Zellulose verwendet, da sich diese im Vergleich zu anderen wirkstofffreien Substanzen durch eine sehr gute Verträglichkeit auszeichnet (mündliche Überlieferung, Skurk, 2008) und ebenfalls im Blattmaterial von *Perilla frutescens* L. vorliegt. Die Einnahme erfolgte mit 3x5 Kapseln täglich mit viel Flüssigkeit jeweils zu den Mahlzeiten.

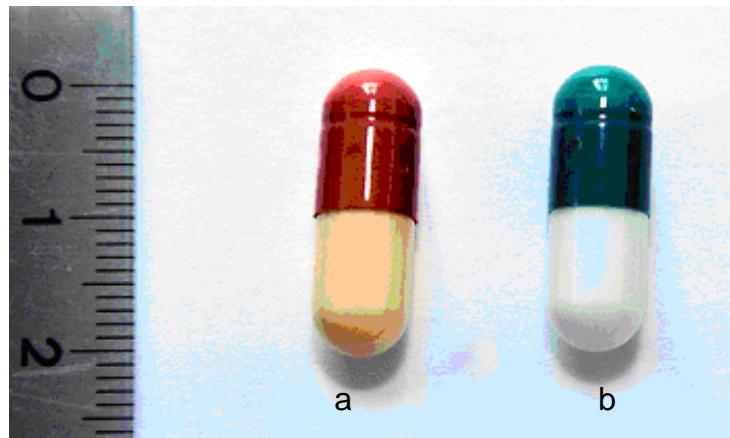


Abb. 5: Hartgelantinekapseln, Kapselgröße 0 (0,68 ml) a) Perilla-Präparat-befüllt mit getrocknetem, vermahlenem Pflanzenmaterial b) Placebokapseln-befüllt mit Zellulose

3.8 Aufbereitung und Extraktion des Blutplasma

Aufgrund der Verwendung verschiedener Zentrifugen und Rotoren mit unterschiedlichen Durchmessern wurde in den folgenden Methoden die Fliehkraft G als Maß für die einwirkende relative Zentrifugalbeschleunigung angegeben.

$$G (\text{RCF}, \text{RZB}) = (n/1000)^2 \times r \times 1,118 \text{ [g]}$$

Dabei gilt:

G = Fliehkraft, n = Umdrehungszahl, r = Radius in mm, RCF = relative centrifugal force, RZB = relative Zentrifugalbeschleunigung, [g]= stellt die Einheit dar, in der RZB bzw. RCF angegeben wird.

Die Fliehkraft G lässt sich nun exakt über die Umdrehungszahl/Minute entsprechend dem Radius des jeweiligen Rotors ermitteln.

3.8.1 Aufbereitung des Blutplasma

Während der Blutabnahme wurden 18 ml Frischblut in Heparinröhrchen gefüllt und kurz geschüttelt. Die Proben wurden bei 3000 x g 10 Minuten bei 4°C zentrifugiert. Für die Proben, die zur Vitamin C-Bestimmung herangezogen wurden, wurden 250 µl 10 %-iger Metaphosphorsäure in 1,5 ml Eppendorf-Caps vorgelegt. 250 µl Plasma wurden dazu gegeben, alles gut gemischt und auf Eis gelagert. Das restliche Plasma wurde zu je 650 µl Aliquots in 1,5 ml Eppendorf-Caps pipettiert und bei -20°C eingefroren. Die Proben für die Vitamin C-Bestimmung, wurden nun bei 3000 x g 15 Minuten bei 4°C zentrifugiert. Je 350 µl Überstand wurden abgezogen, in vorbereitete 1,5 ml Eppendorf-Caps übertragen und bei -20°C gelagert.

3.8.2 Extraktion aus Blutplasma

Für alle im Folgenden beschriebenen Extraktionen wurden zunächst die aliquotierten Plasmaproben aufgetaut und bei 13.000 x g 3 Minuten lang bei 4°C zentrifugiert. Aus dem Überstand wurden die jeweiligen Substanzen extrahiert und quantifiziert. Bei diesen Substanzen handelt es sich jeweils um Metabolite, die während der Oxidationsprozesse entstehen. Sie können somit als Parameter für die Stärke von Oxidationsprozessen im Körper herangezogen werden.

3.8.3 Extraktion von SH-Gruppen

Schwefelwasserstoff-Gruppen befinden sich in der Matrix von Proteinen. Bei zunehmender Oxidation von Proteinen werden diese freigesetzt (freie Thiolgruppen) und gelten somit als Parameter für den Grad der Proteinoxidation. Die Extraktion erfolgte nach Hu (1994). Zur Extraktion aus Blutplasma wurde die aliquotierte Plasmaprobe zunächst aufgetaut und bei 13.000 x g 3 Minuten bei 4°C zentrifugiert. 75 µl Plasma wurden in 2 ml Eppendorf-Caps pipettiert. Danach wurden 225 µl Tris-EDTA-Puffer, 15 µl DTNB-Lösung und 1,185 µl Methanol zugesetzt und alles gut vermischt. Abgedunkelt ruhten die Proben 10 Minuten bei Raumtemperatur. Anschließend wurden sie bei 3000 x g 8 Minuten lang zentrifugiert und der Überstand bei 412 nm photometrisch gemessen.

3.8.4 Extraktion von Malondialdehyd

Bei Malondialdehyd (MDA) handelt es sich um Stoffwechselprodukte, die bei der Oxidation von Blutfetten entstehen. Sie stellen somit ein Maß für den Oxidationsgrad von Blutfetten dar. Die Extraktion erfolgte nach Pilz et al. (2000). Zur alkalischen Hydrolyse des gebundenen MDA wurden zunächst 50 µl 6 M NaOH in 2 ml Eppendorf-Caps vorgelegt. 250 µl Plasma Überstand wurde dazu gegeben, gründlich gemischt und 30 Minuten bei 60°C im Wasserbad inkubiert. 250 µl 20 %-ige Perchlorsäure wurden hinzupipettiert, wiederum gut gemischt und bei 13.000 x g 3 Minuten lang zentrifugiert. 400 µl des Überstands wurden in ein 2 ml Eppendorf-Cap übertragen und mit 50 µl 10 mM DNPH-Lösung versetzt. Nun ruhte die Probe 10 Minuten bei Raumtemperatur in einem abgedunkelten Bereich. Anschließend wurden 1,2 ml Hexan zugefügt und die Probe 5 Minuten lang ausgeschüttelt (Stufe 5). 1 ml der Hexanphase wurde abgezogen und in einem Falcon-Röhrchen gesammelt. Wiederum wurde die Probe mit 1 ml Hexan versetzt, 5 Minuten geschüttelt, 1 ml der Hexanphase abgezogen und ebenfalls im Falcon Röhrchen vereinigt. Im Rotovapor wurde das Extrakt bis zur vollständigen Trocknung verdampft.

Zur Quantifizierung wurde der Extrakt in 100 µl MeOH gelöst, 50 µl in die HPLC 4 mit der Säule 2 (s. Tab. 4) injiziert. Die Elution erfolgte isokratisch mit einem Gradienten von Acetonitril/Wasser 38:62 (v/v)/5 mM Natriumacetat, dessen pH-Wert mit

Essigsäure auf 3,6 eingestellt worden war. Die Flussrate betrug 0,6 ml/min, die Säulentemperatur 30°C. Die Detektion erfolgte bei 310 nm.

3.8.5 Extraktion lipophiler Antioxidantien aus Blutplasma

Zur Bestimmung der Konzentration lipophiler Antioxidantien in Blutplasma der Probanden, wurden Carotinoide und α -Tocopherol zunächst aus dem Blutplasma der Probanden extrahiert. Dazu wurden jeweils 500 μ l Plasmaüberstand in ein 2 ml Eppendorf Cap pipettiert. Als interner Standard wurden 250 μ l α -Tocopherolacetat (500 μ M) und 250 μ l β -apo-8'-carotenal (5 μ M) hinzugegeben, gevortext und mit 1 ml Hexan/BHT 0,01% versetzt. Die Probe wurde 1 Minute lang gründlich gevortext und bei 3000 U/min. 3 Minuten lang zentrifugiert. Dann wurden 800 μ l der oberen Phase abgezogen und in einem 2 ml Eppendorf-Cap aufgefangen. Der Rückstand wurde wiederum mit 1 ml Hexan/BHT 0,01% versetzt, kurz gemischt und 3 Minuten im Ultraschallbad gelöst, bis sich das Pellet wieder homogen verteilt hatte. Die Probe wurde bei 3000 U/min. 3 Minuten lang abzentrifugiert, 800 μ l der Hexanphase abgezogen, in 2 ml Eppendorf-Caps mit der anderen Hexanphase vereinigt und im Speedvac verdampft. Die Bestimmung der Plasmakonzentration erfolgte mittels HPLC nach Graßmann et al. (2001) und Hart und Scott (2000). Für die Quantifizierung wurde das Extrakt dann in 300 μ l Ethanol gelöst. Die Quantifizierung des α -Tocopherols erfolgte an der HPLC 3 mittels der Säule 2 (s. Tab. 4). 100 μ l des gelösten Extraktes wurden injiziert. Als Laufmittel wurde Acetonitril, Methanol und Tetrahydrofuran (45/45/5, v/v) in einem isokratischen Gradienten und einer Flußgeschwindigkeit von 1 ml / min bei 30 °C verwendet. Die Detektion erfolgte bei 292 nm.

Die Quantifizierung von Carotinoiden wurde an der HPLC 4 mittels der Säule 1 durchgeführt (s. Tab. 4) Hierzu wurden 100 μ l injiziert und nach den Bedingungen wie unter 3.6.2 beschrieben eluiert. Der Gradient geht aus Tabelle 12 (s. Tab. 12) hervor. Die Detektion erfolgte bei 450 nm.

3.9 Statistik

Sofern nicht anders angegeben, wurden alle Untersuchungen an zwei verschiedenen Tagen durchgeführt, mit jeweils mindestens 3 Messwiederholungen. Aus den erhaltenen Messwerten wurden die Mittelwerte mit zugehöriger Standardabweichung nach folgender Formel berechnet:

$$\sigma_{n-1} = \left[\frac{\sum x^2 - (\sum x)^2/n}{n-1} \right]^{-2}$$

Die Ergebnisse wurden mit Microsoft Word 2003 und Microsoft Excel 2003 ausgewertet und graphisch dargestellt. Die statistische Berechnung erfolgte mittels SPSS 16.0 für Windows. Die Haupteffekte der Einflussfaktoren (verschiedene Perillanlinien, Stressniveaus, Anbaubedingungen und Probandengruppen) wurde in der ein-faktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) überprüft. Die Mittelwerte wurden mit dem Tukey-Test verglichen. Sofern nicht anders angegeben, gelten Unterschiede bei $p < 0,05$ als signifikant und wurden mittels Kleinbuchstaben oder Kennzeichnung mit * markiert. Die Zusammenhänge zwischen den Variablen wurden mit Hilfe des Pearson'schen Korrelationskoeffizienten ausgedrückt. Ab dem Niveau mit einem p -Wert $< 0,05$ galt die Korrelation als signifikant.

4 Ergebnisse

4.1 Linienvergleich

Im Rahmen des Linienvergleichs wurde anhand inhaltsstofflicher Analysen und morphologischer Parameter untersucht, inwiefern sich die 5 Perilla-Linien voneinander unterscheiden, ob eine Beständigkeit der Merkmale vorliegt und wie hoch die intraspezifische Variabilität innerhalb der einzelnen Linien ist.

4.1.1 Phänotypische Merkmalsunterschiede 5 verschiedener Perilla-Linien

Als sinnvolle phänotypische Unterscheidungsmerkmale der einzelnen Arten gelten: Blattgröße, Blattfarbe, Blattstruktur, Wuchshöhe, Stängelfarbe, Grad der Behaarung, und der charakteristische Geruch der Blätter (Lee und Ohnishi, 2001). Um für Transparenz über die in dieser Arbeit verwendeten Linien zu sorgen, wurde eine genaue Beschreibung morphologischer Merkmale, die in der Literatur als nützliche Unterscheidungsmerkmale beschrieben werden (Lee und Ohnishi, 2001), vorgenommen. Pro Linie wurden 20 Pflanzen untersucht. Die beschriebenen phänotypischen Ausprägungen der einzelnen Herkünfte wurden in 3 aufeinanderfolgenden Jahren beobachtet und dokumentiert (s. Tab. 14). Sie konnten als „beständig“ angesehen werden.

Tab. 14: Morphologische Eigenschaften 5 verschiedener Perilla-Linien

Linie	Blatt			Stängel		Blüte	
	Behaarung	Festigkeit	Zahnung	Färbung	Behaarung	Farbe	*Blühbeginn
1	schwach	fest	schwach	grün	schwach	weiß	mittel
2	schwach	weich	sehr stark	rot	schwach	weiß	früh
3	sehr stark	sehr fest	schwach	grün	sehr stark	weiß	spät
4	schwach	fest	schwach	grün	schwach	weiß	spät
5	schwach	weich	sehr stark	rot	schwach	rosa	früh

*früh: Mitte Juli; mittel: Ende Juli; spät: Mitte August-Anfang September

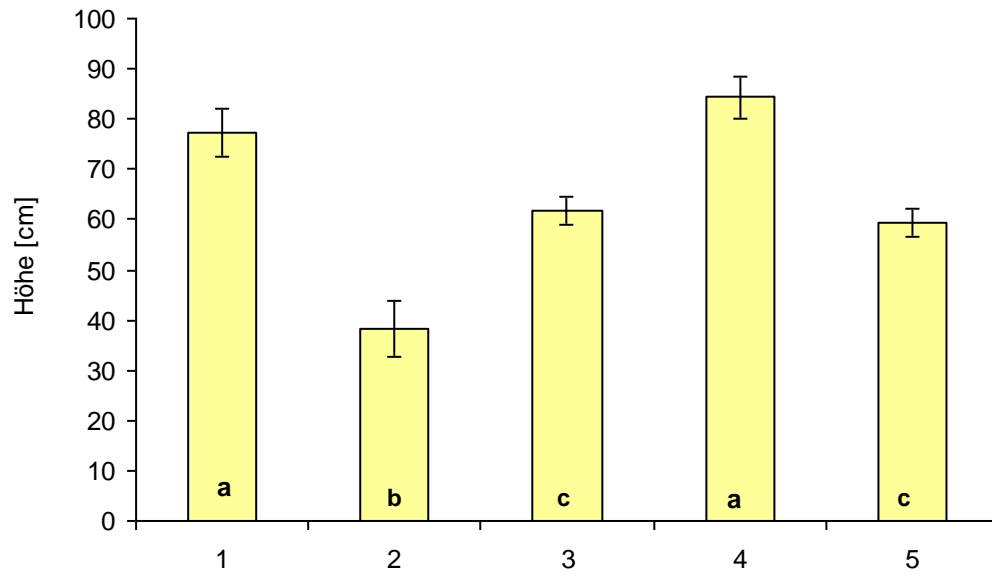


Abb. 6: Gesamtwuchshöhe 5 verschiedener Perilla-Linien

Die 5 Perilla-Linien unterschieden sich zum Teil signifikant in ihrer Gesamthöhe (s. Abb. 6) ($n = 20$). Linie 4 zeigte mit $84,3 \text{ cm} \pm 4,0 \text{ cm}$ die höchste Wuchshöhe, gefolgt von Linie 1 mit einer Gesamthöhe von $77,3 \text{ cm} \pm 4,9 \text{ cm}$, Linie 3 mit $61,9 \text{ cm} \pm 2,8 \text{ cm}$, Linie 5 mit $59,3 \text{ cm} \pm 2,9 \text{ cm}$ und Linie 2 mit $38,2 \text{ cm} \pm 5,4 \text{ cm}$.

Zwischen den Linien 1 und 4 (die größten Pflanzen) sowie den Linien 3 und 5 (mittlere Wuchshöhen) konnten keine signifikanten Unterschiede in den Wuchshöhen beobachtet werden.

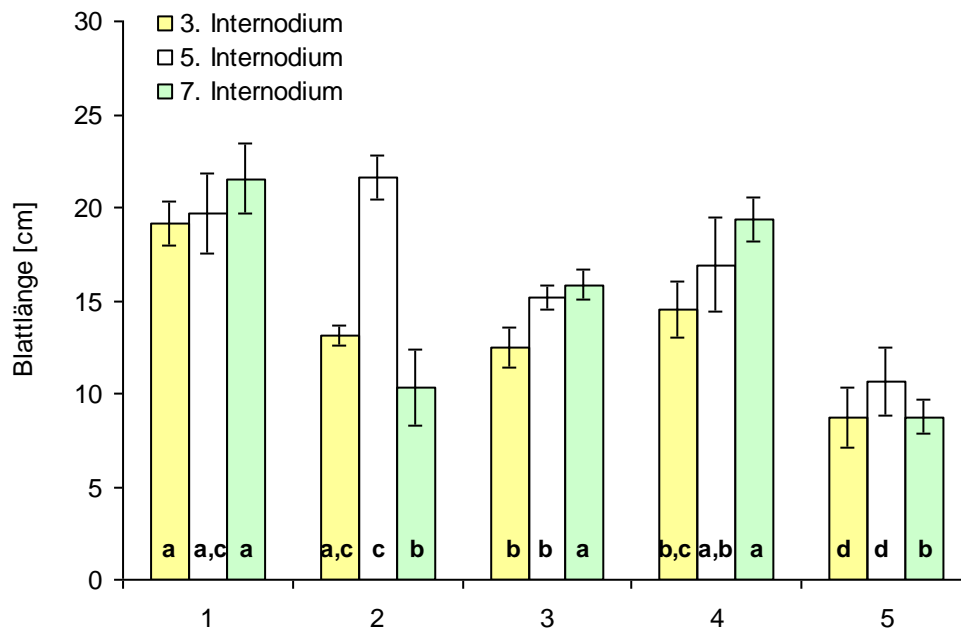


Abb. 7: Blattlänge an 3 Internodien bei 5 Perilla-Linien

Die 5 Perilla-Linien unterschieden sich signifikant in der Blattlänge, die jeweils am Internodium 3, 5 und 7 (s. Abb. 7) gemessen wurde. Ebenso unterschieden sich die Blattlängen von Pflanzen der jeweiligen Linien im Verhältnis zueinander. Die Linie 1 zeigte am Internodium 3 mit $19,1 \text{ cm} \pm 1,17 \text{ cm}$ die kleinsten Blätter, mit $19,7 \text{ cm} \pm 2,17 \text{ cm}$ am 5. Internodium und am 7. Internodium mit $21,6 \text{ cm} \pm 1,90 \text{ cm}$ länger werdende Blätter in Richtung Vegetationskegel. Die Linie 2 wies am 3. Internodium Blattlängen von $13,2 \text{ cm} \pm 0,53 \text{ cm}$, am 5. Internodium sehr lange Blätter von $21,6 \text{ cm} \pm 1,14 \text{ cm}$ und vergleichsweise kleine Blätter in Richtung Vegetationskegel (7. Internodium) mit $10,3 \text{ cm} \pm 2,1 \text{ cm}$. Linie 3 zeigte am 3. Internodium mittlere Blattlängen von $12,5 \text{ cm} \pm 1,09 \text{ cm}$, am 5. Internodium Blattlängen von $15,15 \text{ cm} \pm 0,67 \text{ cm}$ und am 7. Internodium mittlere Blattlängen von $15,9 \text{ cm} \pm 0,82 \text{ cm}$. Die Linie 4 zeigte am 3. Internodium mittlere Blattlängen von $14,5 \text{ cm} \pm 1,53 \text{ cm}$ am 5. Internodium mittlere Blattlängen von $16,9 \text{ cm} \pm 2,54 \text{ cm}$ und am 7. Internodium mittlere Blattlängen von $19,4 \text{ cm} \pm 1,20 \text{ cm}$. Die Linie 5 zeigte am 3. Internodium mittlere Blattlängen von $8,72 \text{ cm} \pm 1,66 \text{ cm}$, am 5. Internodium mittlere Blattlängen von $10,7 \text{ cm} \pm 1,83 \text{ cm}$ und am 7. Internodium mittlere Blattlängen von $8,80 \pm 0,95 \text{ cm}$.

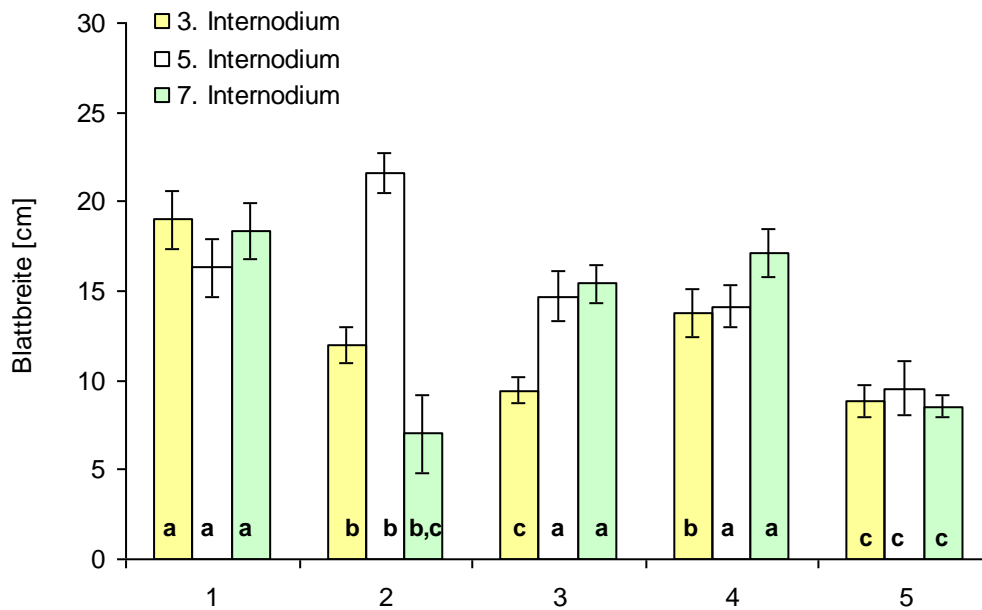


Abb. 8: Blattbreite an 3 Internodien bei 5 Perilla-Linien

Die 5 Perilla-Linien unterschieden sich signifikant in der Blattbreite, die jeweils am 3, 5 und 7 Internodium (s. Abb. 8) ermittelt wurde. Ebenso unterschieden sich die Blattbreiten von Pflanzen der jeweiligen Linien im Verhältnis zueinander. Die Linien 1, 4 und 5 wiesen ähnliche Blattbreiten an den verschiedenen Internodien auf. Die Linie 1 zeigte am 3. Internodium Blattbreiten von $18,99 \text{ cm} \pm 1,6 \text{ cm}$, am 5. Internodium mittlere Blattbreiten von $16,32 \text{ cm} \pm 1,6 \text{ cm}$ und am 7. Internodium $18,33 \text{ cm} \pm 1,5 \text{ cm}$.

Die Linie 4 zeigte am 3. Internodium mittlere Blattbreiten von $14,5 \text{ cm} \pm 1,5 \text{ cm}$, am 5. Internodium mittlere Blattbreiten von $16,9 \text{ cm} \pm 2,5 \text{ cm}$ und am 7. Internodium mittlere Blattbreiten von $19,4 \text{ cm} \pm 1,2 \text{ cm}$.

Die Linie 5 wies vergleichsweise geringe mittlere Blattbreiten auf: am 3. Internodium lag die mittlere Blattbreite bei $8,83 \text{ cm} \pm 0,9 \text{ cm}$, am 5. Internodium bei $9,55 \text{ cm} \pm 1,5 \text{ cm}$ und am 7. Internodium bei $8,55 \text{ cm} \pm 0,5 \text{ cm}$.

Die Linie 2 wies am 3. Internodium mittlere Blattbreiten von $14,63 \text{ cm} \pm 2,9 \text{ cm}$, am 5. Internodium mittlere Blattbreiten von $19,90 \text{ cm} \pm 3,4 \text{ cm}$ und am 7. Internodium mittlere Blattbreiten von $17,0 \text{ cm} \pm 2,2 \text{ cm}$ auf.

Die Linie 3 wies am 3. Internodium mittlere Blattbreiten von $9,45 \text{ cm} \pm 0,7 \text{ cm}$ auf, am 5. Internodium mittlere Blattbreiten von $14,7 \text{ cm} \pm 1,4 \text{ cm}$ auf und am 7. Internodium mittlere Blattbreiten von $15,4 \text{ cm} \pm 1,1 \text{ cm}$ auf.



Abb. 9: 3 Wochen alte Keimlinge 5 verschiedener Linien von *Perilla frutescens* L. im Vergleich

Bereits 3 Wochen alte Keimlinge weisen spezifische phänotypische und inhaltstoffliche Merkmale auf, anhand derer sich die jeweiligen Linien sich bis hin zur Seneszens unterscheiden lassen. Aus der obigen Abbildung (s. Abb. 9) lässt sich erkennen, dass die Linien 1 und 4 die Linien 2, 3 und 5 an Wuchshöhe und an Blattgröße übertreffen. Sie zeichnen sich aus durch eine sehr schnelle Keimung und durch schnelles Wachstum der Keimlinge. Die Linie 1 zeigt eine sehr leichte Anthocyanfärbung der Blättunterseiten, ihre Stängel weisen keine Anthocyanfärbung auf. Die Linie 4 zeigt weder in Stängeln noch in Blättern eine Färbung durch Anthocyane. Die Linie 2 zeichnet sich durch vergleichsweise kleine Blätter und durch eine geringere Wuchshöhe aus. Die Blätter zeigen keine Anthocyanfärbung, der Stängel weist eine deutliche Anthocyanfärbung auf. Die Linie 5 zeichnet sich ebenso durch eine vergleichsweise geringe Wuchshöhe aus, zum anderen durch die deutliche Anthocyanfärbung von Blättern und Stängeln. Die Linie 3 nimmt schon in diesem Entwicklungsstadium eine Position zwischen den Linien 1 und 4 und den Linien 2 und 5 ein. Blätter und Stängel der Linie 3 weisen keine Anthocyanfärbung auf, wie die Linien 1 und 4. In Bezug auf Blattgröße und Wuchshöhe ähnelt die Linie 3 den Linien 2 und 5.



Abb. 10: Habitus, Blattspreite und Stängel von Perilla Linie 1

Die Perilla-Linie 1 (s. Abb. 10) zeichnet sich aus durch einen vergleichsweise hohen Wuchs (77 cm). Charakteristisch sind die schwach behaarten vergleichsweise großen, glatten, schwach gezahnten Blattspreiten. Die Blattunterseiten zeigen eine leichte Anthocyanfärbung. Die Blätter weisen ein charakteristisches, zitronenähnliches Aroma auf. Der Stängel ist vierkantig, schwach behaart und grün. Die Samen der Linie 1 sind vergleichsweise groß und weisen eine sehr weiche Samenschale auf.



Abb. 11: Habitus, Blattspreite und Stängel von Perilla Linie 2

Mit einer Wuchshöhe von 38 cm ist die Perilla-Linie 2 (s. Abb. 11) die kleinste der 5 untersuchten Perilla-Linien. Charakteristisch sind die weichen, stark gezahnten, schwach behaarten, blasigen Blattspreiten. Sie weisen ein sehr intensives, zitronenähnliches Aroma auf. Der Stängel der Linie 2 ist vierkantig, schwach behaart und ältere Internodien (siehe unten links) sind anthocyanhaltig. Die Samen der Linie 2 sind vergleichsweise klein und weisen eine sehr harte Samenschale auf.



Abb. 12: Habitus, Blattspreite und Stängel von Perilla Linie 3

Die mit 62 cm mittelhoch wachsende Perilla-Linie 3 (s. Abb. 12) zeichnet sich durch eine sehr starke Behaarung der Blattoberseite, einer mittleren Behaarung der Blattunterseite und einer sehr starken Behaarung des Stängels aus. In vielen Merkmalen (Färbung von Blatt und Stängel, Wuchshöhe, Blattgröße und Samen) nimmt die Linie 3 eine Position zwischen den Linien 2 und 5 und 1 und 4 ein. Durch die ausgeprägte Behaarung unterscheidet sie sich jedoch deutlich von den anderen 4 untersuchten Linien. Die Blätter sind schwach gezahnt und vergleichsweise glatt. Die Blattunterseiten weisen eine sehr leichte Anthocyanfärbung auf. Der Stängel ist vierkantig, sehr stark behaart und grün. Auch die Blätter dieser Linie weisen ein charakteristisches, zitronenähnliches Aroma auf. Die Samen der Linie 3 nehmen in Größe und Härte der Samenschale eine mittlere Position zwischen den Linien 1 und 4 und 2 und 5 ein.



Abb. 13: Habitus, Blattspreite und Stängel von Perilla Linie 4

Die Linie 4 (s. Abb. 13) zeichnet sich mit 84 cm Wuchshöhe durch einen vergleichsweise hohen Wuchs aus. Charakteristisch sind die schwach behaarten vergleichsweise großen, glatten, schwach gezahnten Blattspreiten. Die Blattunterseiten zeigen, wie die der Perilla-Linie 3, eine sehr leichte Anthocyanfärbung. Die Blätter weisen ein charakteristisches, zitronenähnliches Aroma auf. Der Stängel ist vierkantig, schwach behaart und grün. Die Linie 4 zeichnet sich aus durch vergleichsweise große Samen, die eine sehr weiche Samenschale besitzen.



Abb. 14: Habitus, Blattspreite und Stängel von Linie 5

Die Perilla-Linie 5 (s. Abb. 14) erreicht mit 60 cm eine mittlere Wuchshöhe. Charakteristisch sind die weichen, stark gezahnten, schwach behaarten, blasigen, rot gefärbten, vergleichsweise kleinen Blätter. Der Stängel ist vierkantig, ebenfalls sehr schwach behaart und rot gefärbt. Die Blätter der Linie 5 weisen ein charakteristisches, minzartiges Aroma auf, was sich von dem Aroma der übrigen 4 untersuchten Linien deutlich unterscheidet. Die Samen der Linie 5 sind vergleichsweise klein und besitzen eine sehr harte Samenschale, ähnlich wie die der Linie 2.

4.1.2 Perillaketon

Das Perillaketon ist Bestandteil des etherischen Öles von *Perilla frutescens* L. Das Keton gilt als lungentoxisch und extrem laxativ (Koezuka et al., 1985). Aus der Literatur geht hervor, dass die Gattung *Perilla* sowohl ketonhaltige als auch ketonfreie Genotypen aufweist. Um sicherzustellen, dass in der geplanten Verzehrstudie eine ketonfreie Linie verwendet wird, wurden alle 5 angebauten *Perilla*-Linien nach der Methode von Garst (1985) auf Ketonhaltigkeit hin überprüft. Zu dem Zeitpunkt der Ketonanalyse war bekannt, dass es sich bei der Linie 3 um eine ketonfreie Linie handelt. Diese wurde, ebenso wie die anderen 4 Linien, extrahiert und wurde in Bezug auf „Ketonhaltigkeit“ somit als Negativkontrolle herangezogen. Das reine Perillaketon wurde uns als Standard von der Tierärztlichen Hochschule Hannover zur Verfügung gestellt und mittels GC/MS untersucht.

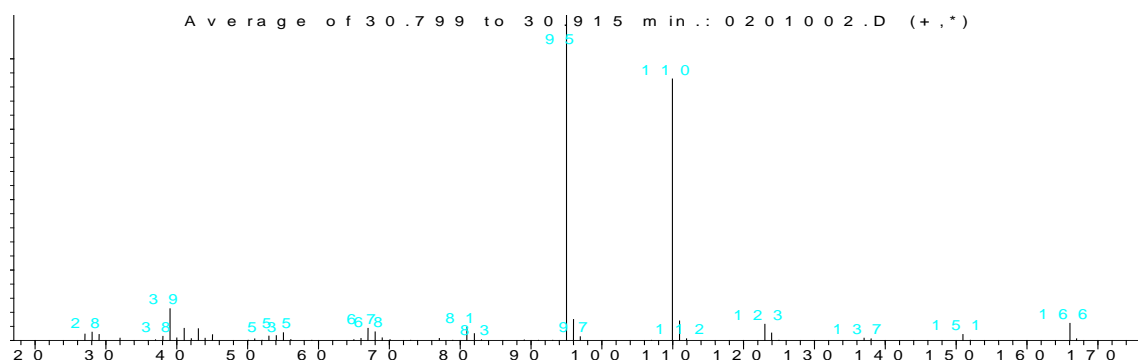


Abb. 15: Massenspektrum Perillaketon rein

Der Peak des Perillaketon in Reinform erschien bei 30,195 Minuten (s. Abb. 15). Das Massenspektrum dieses Peaks entspricht den Angaben der Literatur (Takano, 1990). Folgende Peaks werden hier als charakteristisch gekennzeichnet:

166 (8,6 %), 123 (5 %), 110 (79,3 %), 95 (100 %), 81 (3 %), 67 (3,2 %).

Bei dem Peak 166 handelt es sich um den Molekülpeak. Aufgrund der Übereinstimmung mit den Literaturangaben (s. Abb. 15), konnte die verwendete Substanz als „Keton“ identifiziert und somit als Standard für die im Folgenden dargestellten Analysen zur Identifizierung herangezogen werden.

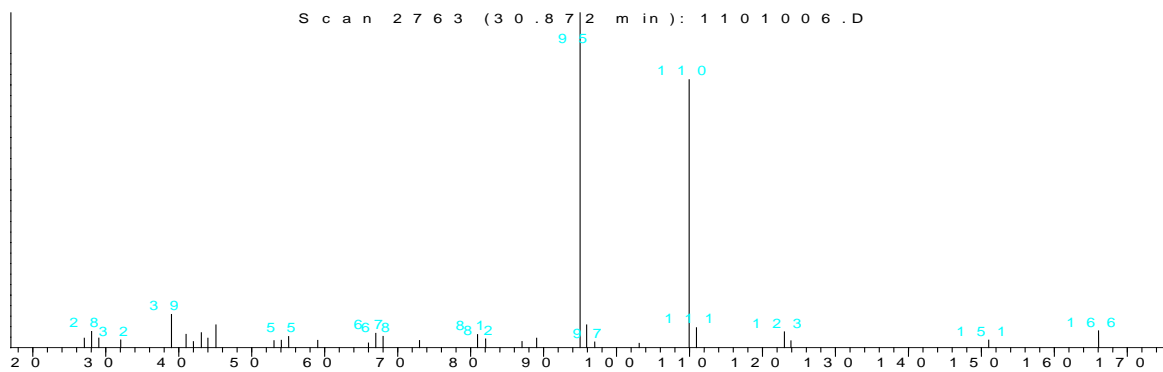


Abb. 16: Massenspektrum Linie 1, Peak 30.872 min

Im Chromatogramm der Linie 1 (s. Abb. 16) erschien ein Peak bei 30,872 Minuten, dessen Massenspektrum folgende Peaks aufwies: 166, 123, 110, 95, 81, 67. Die Peaks stimmten mit denen des Ketonstandards überein. Die Linie 1 wurde somit als ketonhaltig identifiziert.

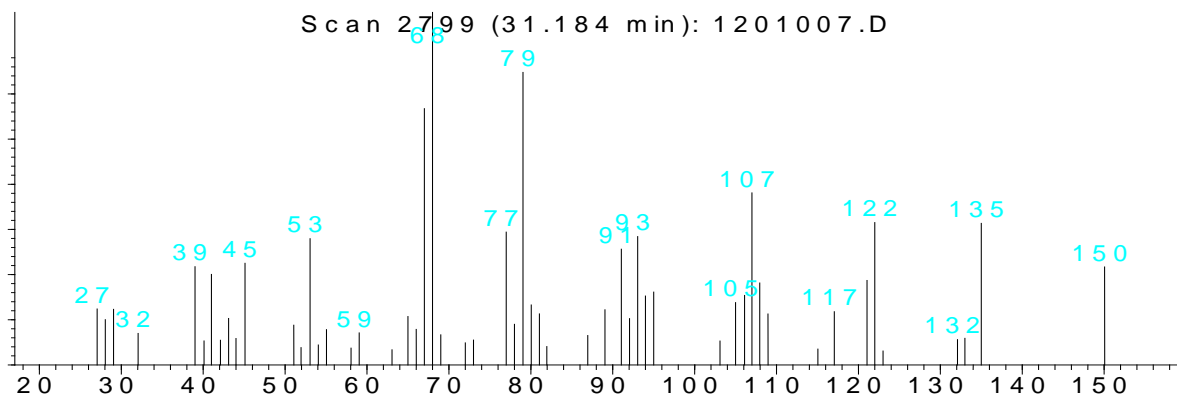


Abb. 17: Massenspektrum Blattextrakt Perilla Linie 2, Peak 31.184 min

Im Chromatogramm der Linie 2 (s. Abb. 17) erschien ein Peak bei 31,184 Minuten. Das Massenspektrum zeigte keine Übereinstimmung mit dem Massenspektrum des Perillaketons auf. Die Linie 2 wurde somit als ketonfrei identifiziert.

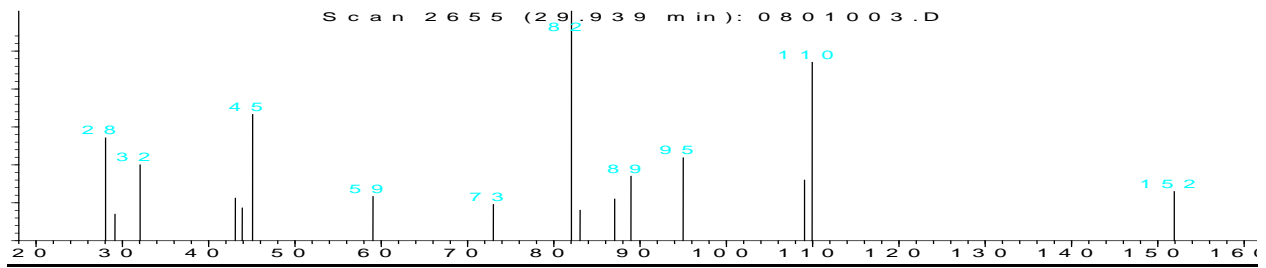


Abb. 18: Massenspektrum Blattextrakt Perilla Linie 3, Peak 29.939 min

Im Chromatogramm der Linie 3 (s. Abb. 18) erschien ein Peak bei 29,939 Minuten. Das Massenspektrum zeigte keine Übereinstimmung mit dem Massenspektrum des Perillaketons. Die Information seitens des Germ Plasm Centers (U.S.A), dass es sich bei der Linie 3 um eine ketonfreie Perilla-Linie handelt, wurde durch diese Untersuchung bestätigt. Die Linie 3 wurde somit als ketonfrei identifiziert.

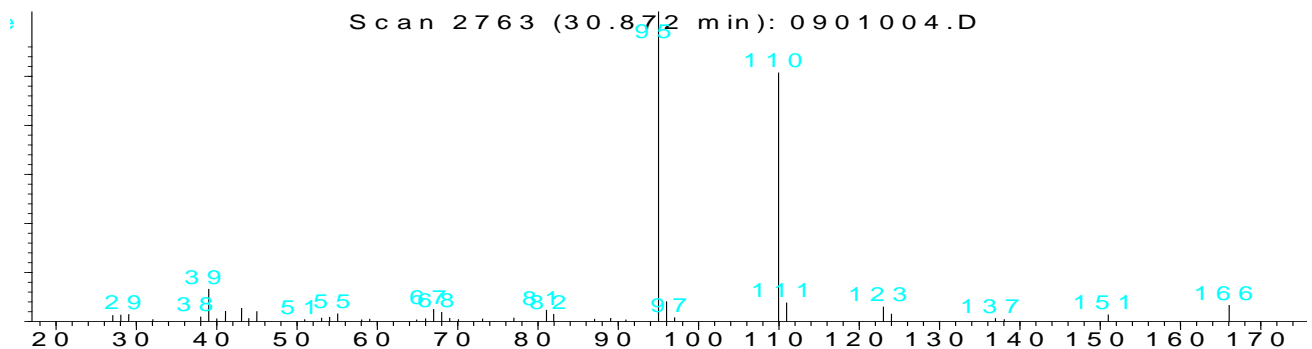


Abb. 19: Massenspektrum Blattextrakt Perilla Linie 4, Peak 30.872 min

Im Chromatogramm der Perilla-Linie 4 (s. Abb. 19) erschien ein Peak bei 30,872 Minuten. Das Massenspektrum wies folgende Peaks auf: 166, 123, 110, 95, 81, 67 und stimmt somit mit dem Spektrum des Perillaketonstandard überein. Die Perilla-Linie 4 wurde somit als ketonhaltig identifiziert. Das Chromatogramm der Perilla-Linie 5 weist zur ketonspezifischen Retentionszeit keinerlei Peaks auf und wurde somit als ketonfrei identifiziert. Zusammenfassend konnte durch diese Untersuchungen bestätigt werden, dass es sich bei der Perilla-Linie 3 um eine ketonfreie Linie handelt. Bei den Linien 2 und 5 konnte kein Keton nachgewiesen werden. Somit wurden die Linien 2 und 5 als „ketonfrei“ identifiziert. In den Perilla-Linien 1 und 4 konnte Keton nachgewiesen werden. Somit wurden die Linien 1 und 4 als „ketonhaltig“ identifiziert.

4.1.3 Carotinoide- Gehalte und antioxidative Kapazität (ABTS)

Um zu prüfen, wie hoch die intraspezifische Variabilität der einzelnen 5 Perilla-Linien in Bezug auf den Gehalt und die Zusammensetzung der Carotinoide ist, wurden zunächst jeweils 5 Unterlinien der insgesamt 5 Linien untersucht und in diesem Kapitel dargestellt. Schließlich wurden die Ergebnisse der jeweiligen Unterlinien im Linienvergleich zusammengefasst und sowohl die Gehalte der Carotinoide als auch die antioxidative Kapazität der Carotinoideextrakte aus den 5 untersuchten Linien dargestellt. Die antioxidative Kapazität der Extrakte wurde mit Hilfe des ABTS-Testsystems ermittelt und der Bezugssubstanz „Trolox“ entsprechend, als Troloxequivalente (TE) dargestellt. Als Hauptkomponenten der Carotinoideextrakte aller 5 untersuchten Perilla-Linien wurden jeweils das Lutein und das β -Carotin bestimmt. Ebenso quantifiziert wurden Zeaxanthin und α -Carotin. Chlorophylle wurden in diesem Rahmen nicht quantifiziert. Signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) wurden im Diagramm mit Kleinbuchstaben gekennzeichnet.

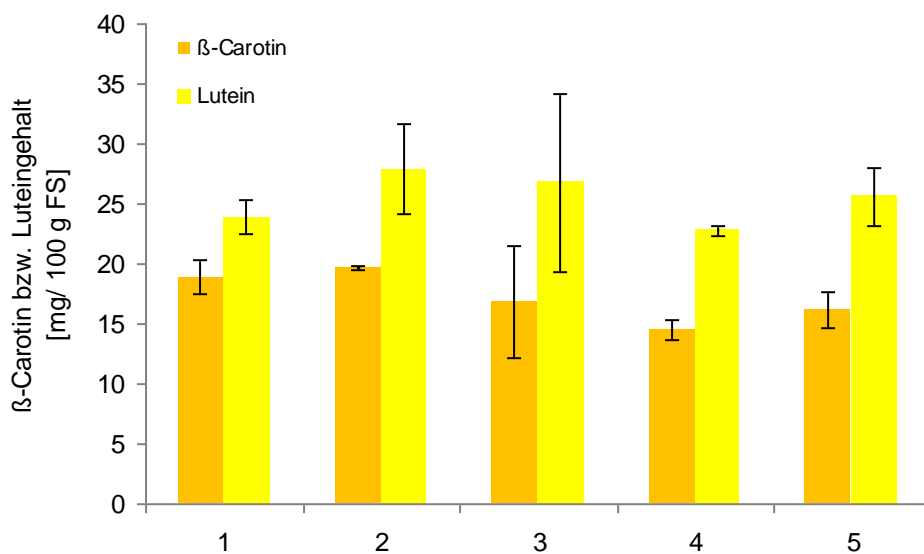


Abb. 20: Gehalt von β -Carotin und Lutein von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 1 (n=4)

Die Gehalte von β -Carotin und Lutein unterschieden sich bei den Unterlinien (UL) der Linie 1 nicht signifikant voneinander (s. Abb. 20). Im Mittel beträgt der Gehalt von β -Carotin 17,2 mg / 100 g FS und von Lutein 25,4 mg / 100 g FS.

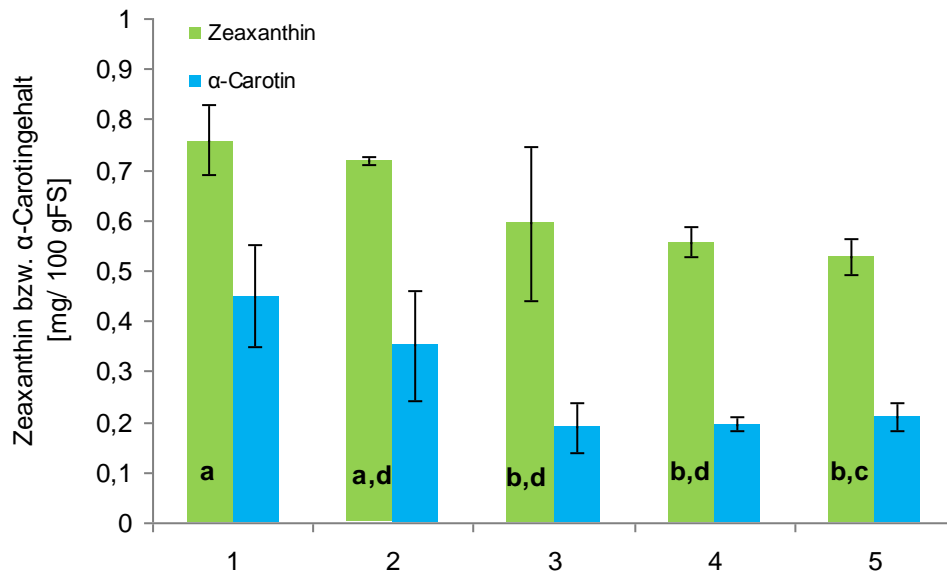


Abb. 21: Gehalt an Zeaxanthin und α -Carotin von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 1 (n=4)

Die Gehalte von α -Carotin unterschieden sich bei den Unterlinien (UL) der Linie 1 nicht signifikant voneinander (s. Abb. 21). Im Mittel betrug der Gehalt von α -Carotin 0,3 mg / 100 g FS. In den Gehalten von Zeaxanthin (s. Abb. 21) unterschieden sich die Unterlinien signifikant voneinander und lagen zwischen 0,8 mg / 100 g FS (UL 1), 0,72 mg / 100 g FS (UL 2), 0,6 mg / 100 g FS (UL 3), 0,56 mg / 100 g FS (UL 4) und 0,5 mg / 100 g FS (UL 5).

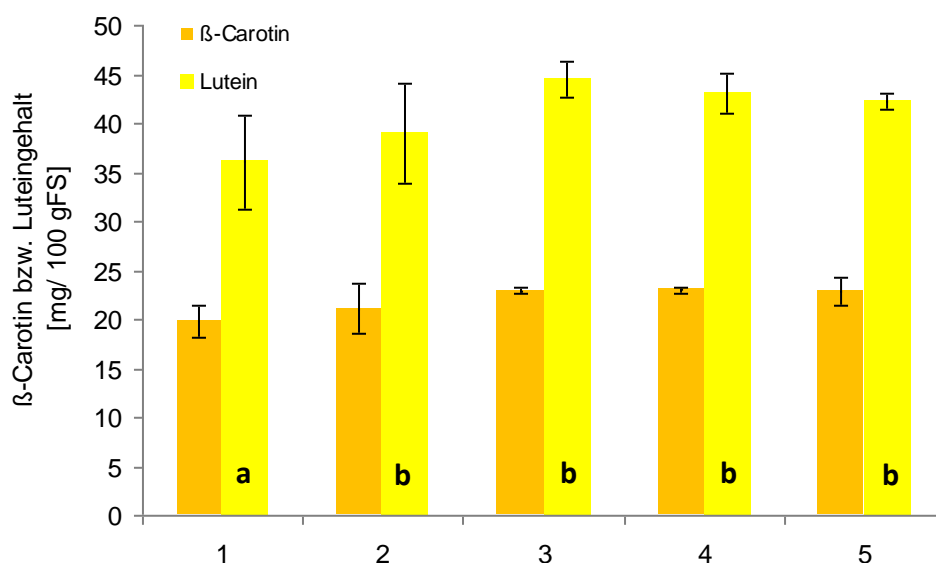


Abb. 22: Gehalt von β -Carotin und Lutein von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 2 (n=4)

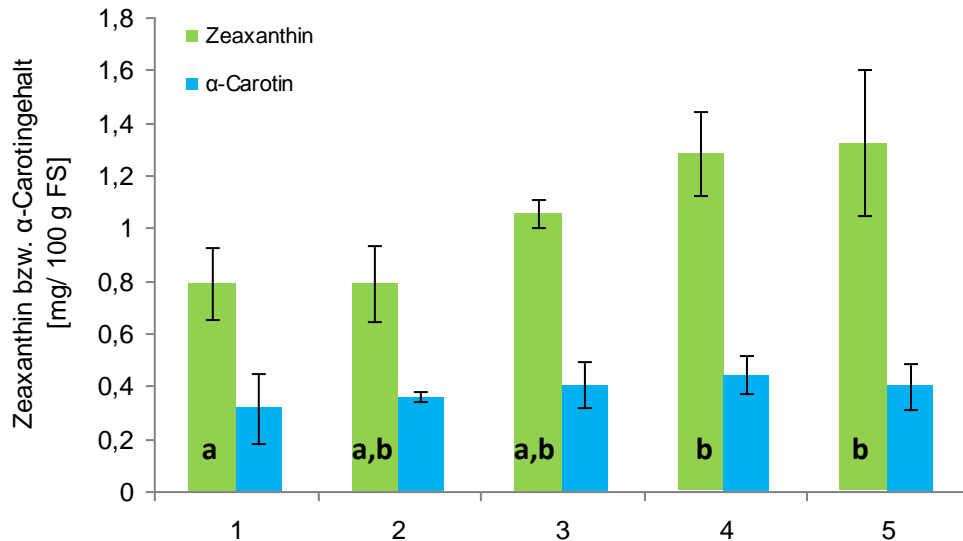


Abb. 23: Gehalt an Zeaxanthin und α -Carotin von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 2 (n=4)

Die Gehalte von β -Carotin und α -Carotin unterschieden sich bei den Unterlinien (UL) der Linie 2 nicht signifikant. Im Mittel betrug der Gehalt von β -Carotin 22,0 mg / 100 g FS (s. Abb. 22 und Abb. 23) und von α -Carotin 0,4 mg / 100 g FS. In den Gehalten von Lutein und Zeaxanthin unterschieden sich die Unterlinien signifikant voneinander und lagen für Lutein bei 44,4 mg / 100 g FS (UL 3), 43,0 mg / 100 g FS (UL 4), 42,2 mg / 100 g FS (UL 5), 39,0 mg / 100 g FS (UL 2) und 36,1 mg / 100 g FS (UL 1) (Abb. 22). Für Zeaxanthin lagen die Gehalte bei 1,32 mg / 100 g FS (UL 5), 1,3 mg / 100 g FS (UL 4), 1,1 mg / 100 g FS (UL 3), 0,8 mg / 100 g FS (UL 1) und 0,79 mg / 100 g FS (UL 2).

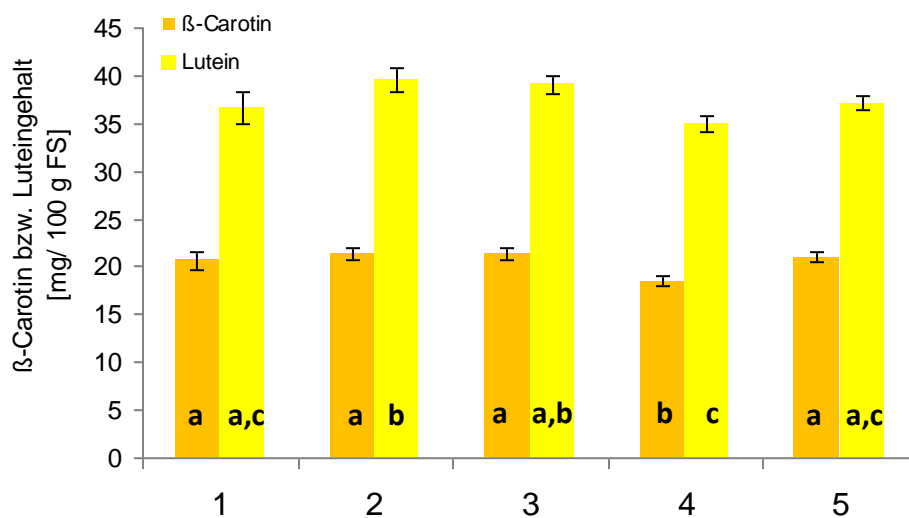


Abb. 24: Gehalt von β -Carotin und Lutein von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 3 (n=4)

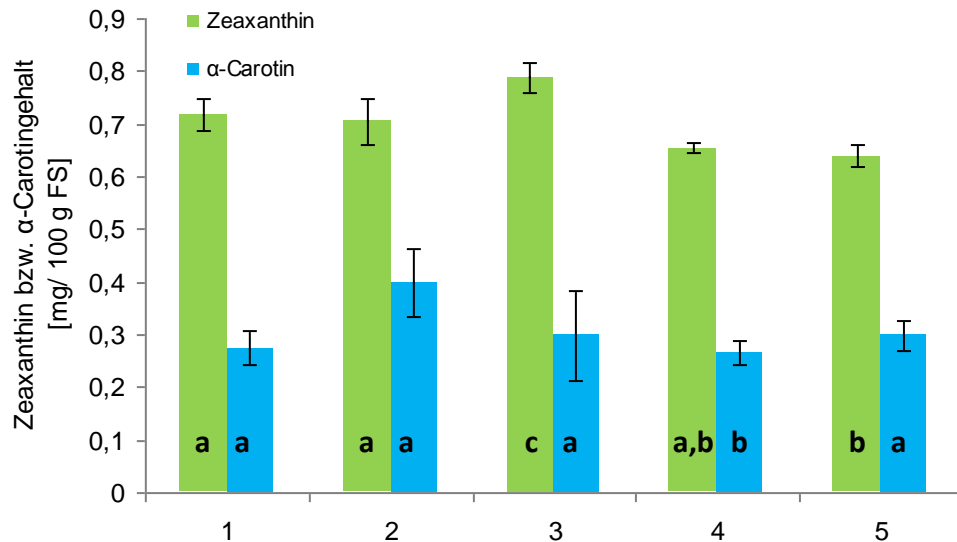


Abb. 25: Gehalt an Zeaxanthin und α -Carotin von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 3 (n=4)

Die Gehalte von β -Carotin, Lutein, Zeaxanthin und α -Carotin unterschieden sich bei den Unterlinien (UL) der Linie 3 signifikant (s. Abb. 24 und Abb. 25). Die Gehalte von β -Carotin lagen zwischen 21,3 mg / 100 g FS (UL 3), 21,3 mg / 100 g FS (UL 2), 21,0 mg / 100 g FS (UL 5), 21,0 mg / 100 g FS (UL 1) und 18,5 mg / 100 g FS (UL 4). Die Gehalte von Lutein lagen zwischen 39,5 mg / 100 g FS (UL 2), 39,1 mg / 100 g FS (UL 3), 37,1 mg / 100 g FS (UL 5), 37,0 mg / 100 g FS (UL 1) und 35,0 mg / 100 g FS (UL 4). Die Gehalte von Zeaxanthin lagen bei 0,79 mg / 100 g FS (UL 3), 0,72 mg / 100 g FS (UL 1), 0,70 mg / 100 g FS (UL 2), 0,65 mg / 100 g FS (UL 4) und 0,64 mg / 100 g FS (UL 5). Die Gehalte von α -Carotin lagen bei 0,40 mg / 100 g FS (UL 2), 0,30 mg / 100 g FS (UL 3), 0,30 mg / 100 g FS (UL 5), 0,27 mg / 100 g FS (UL 4) und 0,27 mg / 100 g FS (UL 1).

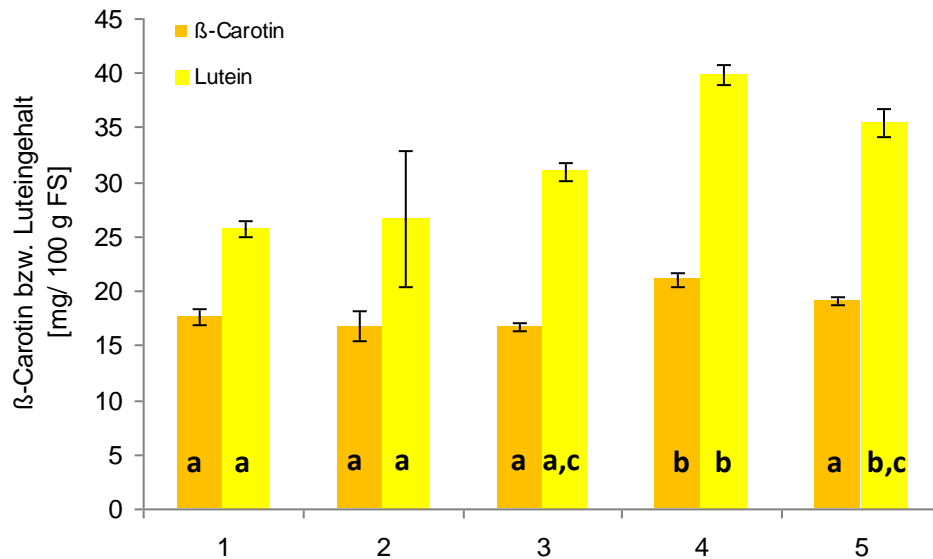


Abb. 26: Gehalt von β -Carotin und Lutein von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 4 (n=4)

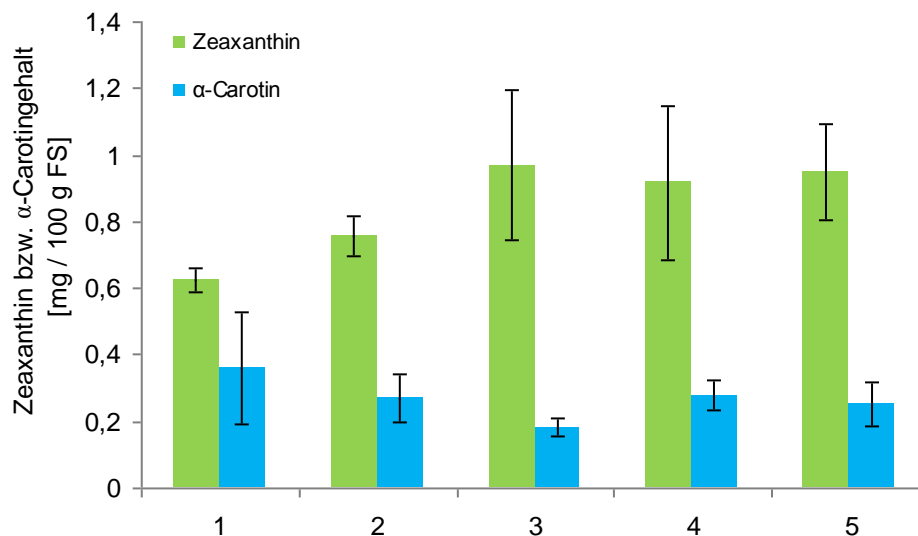


Abb. 27: Gehalt an Zeaxanthin und α -Carotin von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 4 (n=4)

Die Gehalte von β -Carotin und Lutein unterschieden sich bei den Unterlinien der Linie 4 signifikant (s. Abb. 26). Für β -Carotin lagen die Gehalte bei 21,0 mg / 100 g FS (UL 4), 19,1 mg / 100 g FS (UL 5), 16,8 mg / 100 g FS (UL 3), 16,8 mg / 100 g FS (UL 2) und 17,7 mg / 100 g FS (UL 1). Für Lutein lagen die Gehalte bei 39,8 mg / 100 g FS (UL 4), 35,4 mg / 100 g FS (UL 5), 31,0 mg / 100 g FS (UL 3), 26,7 mg / 100 g FS (UL 2) und 25,7 mg / 100 g FS (UL 1).

Die Gehalte von Zeaxanthin und α -Carotin unterschieden sich bei den Unterlinien der Linie 4 nicht signifikant voneinander (s. Abb. 27). Im Mittel betrug der Gehalt von Zeaxanthin 0,84 mg / 100 g FS und von α -Carotin 0,27 mg / 100 g FS.

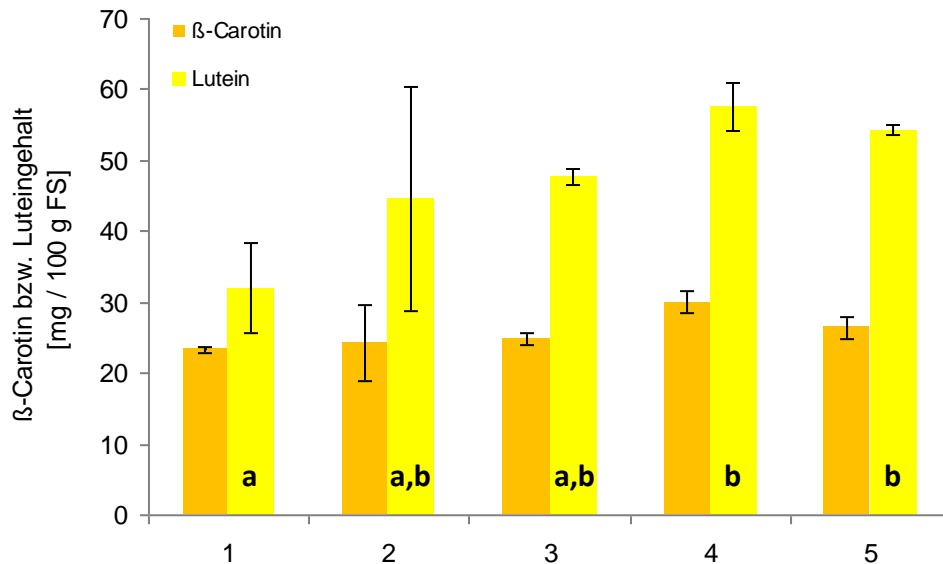


Abb. 28: Gehalt von β -Carotin und Lutein von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 5 (n=4)

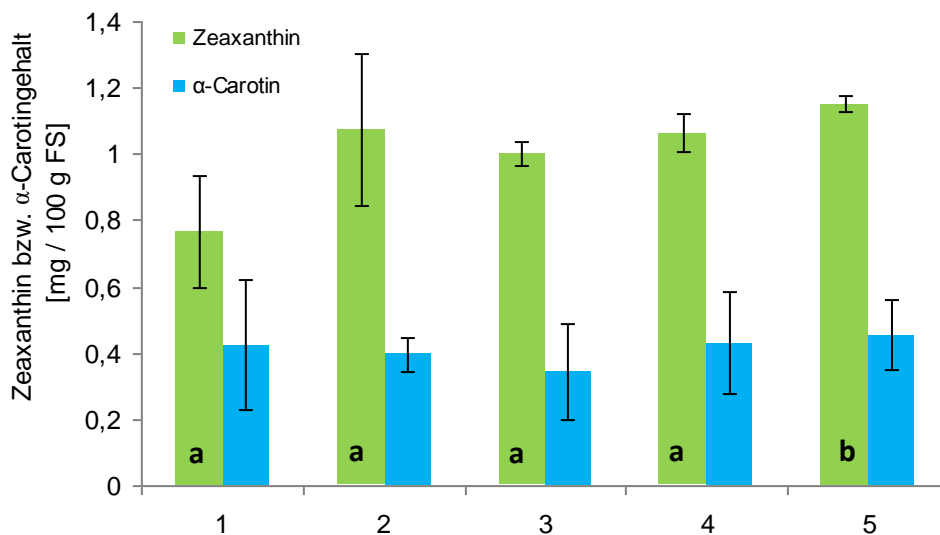


Abb. 29: Gehalt an Zeaxanthin und α -Carotin von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 5 (n=4)

Die Gehalte von β -Carotin und α -Carotin unterschieden sich bei den Unterlinien der Linie 5 nicht signifikant (s. Abb. 28 und Abb. 29). Im Mittel betrug der Gehalt von β -Carotin 25,8 mg / 100 g FS und von α -Carotin 0,41 mg / 100 g FS. In den Gehalten

von Lutein und Zeaxanthin unterschieden sich die Unterlinien signifikant voneinander und lagen für Lutein bei 57,5 mg / 100 g FS (UL 4), 54,3 mg / 100 g FS (UL 5), 47,7 mg / 100 g FS (UL 3), 44,6 mg / 100 g FS (UL 2) und 32,0 mg / 100 g FS (UL 1). Für Zeaxanthin lagen die Gehalte bei 0,77 mg / 100 g FS (UL 1), 1,0 mg / 100 g FS (UL 3), 1,1 mg / 100 g FS (UL 4), 1,1 mg / 100 g FS (UL 2) und 1,2 mg / 100 g FS (UL 5).

Im Folgenden wurden die berechneten Gesamtcarotinoidgehalte der antioxidativen Kapazität der Carotinoide extrakte gegenübergestellt. In die Berechnung der Gesamtcarotinoidgehalte gingen die Gehalte von Lutein, β -Carotin, Zeaxanthin und α -Carotin mit ein. Die Darstellung der Gesamtcarotinoidgehalte in den folgenden Abbildungen erfolgte durch die rote Linie, die antioxidative Kapazität wurde mit Hilfe der blauen Balkendiagramme dargestellt.

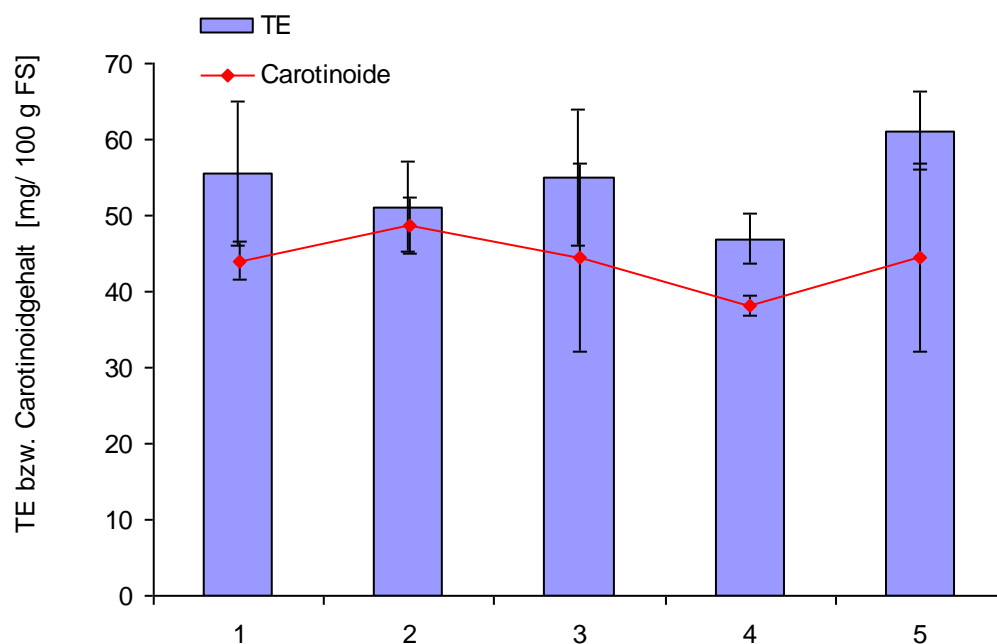


Abb. 30: Gesamtcarotinoidgehalte (n=4) und antioxidative Kapazität der Carotinoide [mg TE/ 100 g FS] (n=6) von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 1

Die Gesamtcarotinoidgehalte und die Troloxäquivalente der Unterlinien von Perilla-Linie 1 unterschieden sich nicht signifikant voneinander (s. Abb. 30). Die Gesamtcarotinoidgehalte der Unterlinien betragen im Mittel 54,0 mg / 100 g FS. Die Troloxäquivalente betragen im Mittel 44,0 mg / 100 g FS.

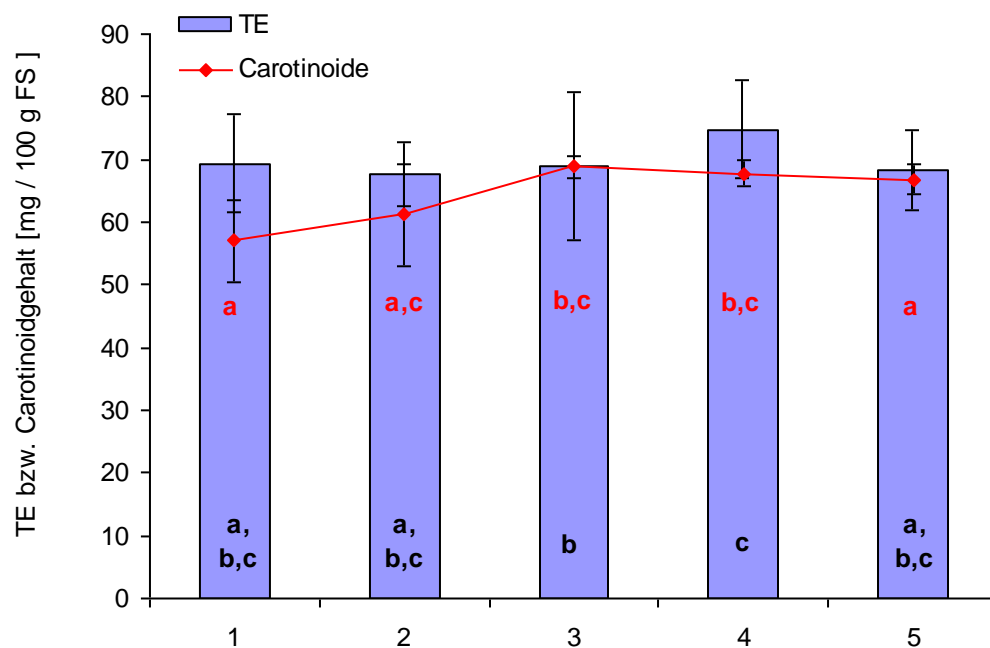


Abb. 31: Gesamtcarotinoidgehalte (n=4) und antioxidative Kapazität der Carotinoide [mg TE/ 100 g FS] (n=6) von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 2

Die Gesamtcarotinoidgehalte und die Troloxäquivalente der Unterlinien (UL) von Perilla-Linie 2 unterschieden sich signifikant voneinander (s. Abb. 31). Die Gesamtcarotinoidgehalte der Unterlinien betragen 68,8 mg / 100 g FS (UL 3), 67,8 mg / 100 g FS (UL 4), 66,8 mg / 100 g FS (UL 5), 61,2 mg / 100 g FS (UL 2) und 57,0 mg / 100 g FS (UL 5). Die Troloxäquivalente betragen 74,8 mg / 100 g FS (UL 4), 69,4 mg / 100 g FS (UL 1), 69,0 mg / 100 g FS (UL 3), 68,4 mg / 100 g FS (UL 5) und 67,7 mg / 100 g FS (UL 2).

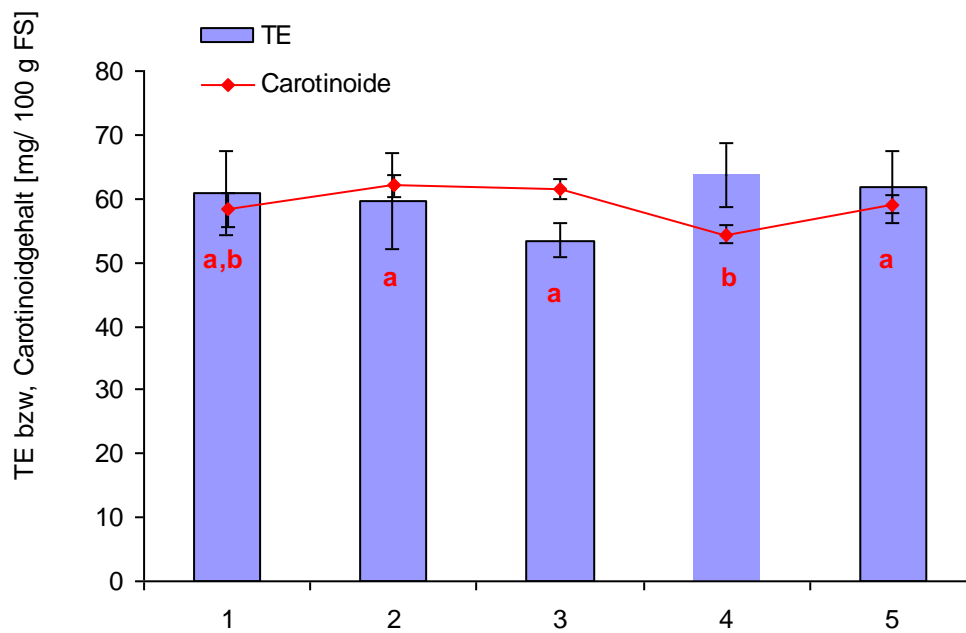


Abb. 32: Gesamtcarotinoidgehalte (n=4) und antioxidative Kapazität der Carotinoide [mg TE/ 100 g FS] (n=6) von 5 Unterlinien der Perilla-Linie 3

Die Gesamtcarotinoidgehalte der Unterlinien (UL) von Linie 3 unterschieden sich signifikant voneinander (s. Abb. 32). Sie betragen 62,0 mg / 100 g FS (UL 2), 61,5 mg / 100 g FS (UL 3), 59,0 mg / 100 g FS (UL 5), 58,3 mg / 100 g FS (UL 1) und 54,4 mg / 100 g FS (UL 4). Die Troloxäquivalente der Unterlinien unterschieden sich nicht signifikant voneinander und betragen im Mittel 59,9 mg / 100 g FS.

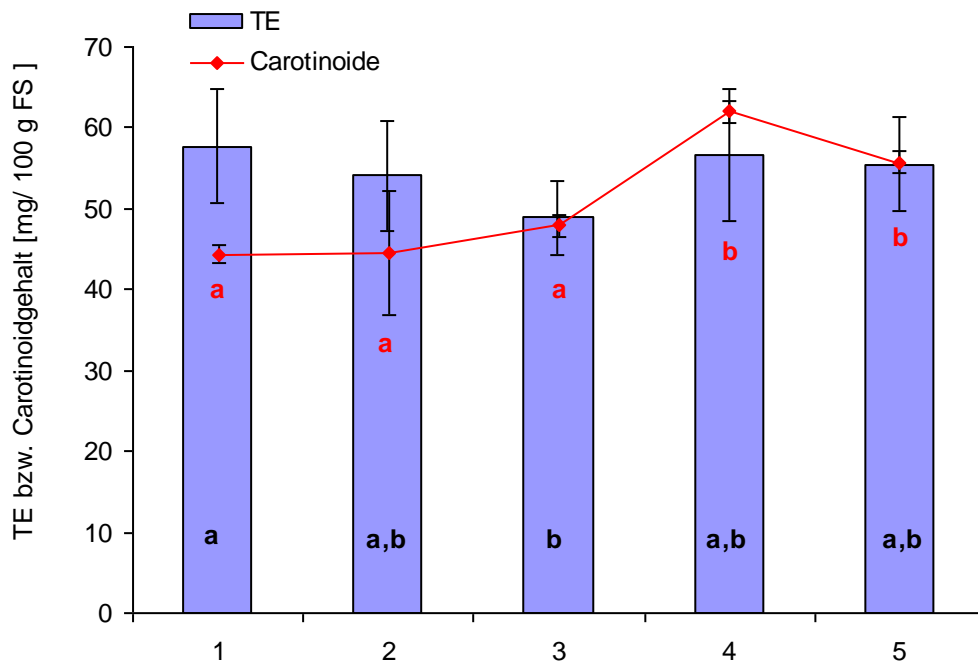


Abb. 33: Gesamtcarotinoidgehalte (n=4) und antioxidative Kapazität der Carotinoide [mg TE/ 100 g FS] (n=6) von 5 Unterlinien der Linie 4

Die Gesamtcarotinoidgehalte und die Troloxäquivalente der Unterlinien (UL) von Perilla-Linie 4 unterschieden sich signifikant voneinander (s. Abb. 33). Die Gesamtcarotinoidgehalte der Unterlinien betragen 62,1 mg/ 100 g FS (UL 4), 55,8 mg/ 100 g FS (UL 5), 48,0 mg/ 100 g FS (UL 3), 44,5 mg/ 100 g FS (UL 2) und 44,4 mg/ 100 g FS (UL 1). Die Troloxäquivalente lagen bei 58,0 mg/ 100 g FS (UL 1), 57,0 mg/ 100 g FS (UL 4), 55,5 mg/ 100 g FS (UL 5), 54,1 mg/ 100 g FS (UL 2) und 48,9 mg/ 100 g FS (UL 3).

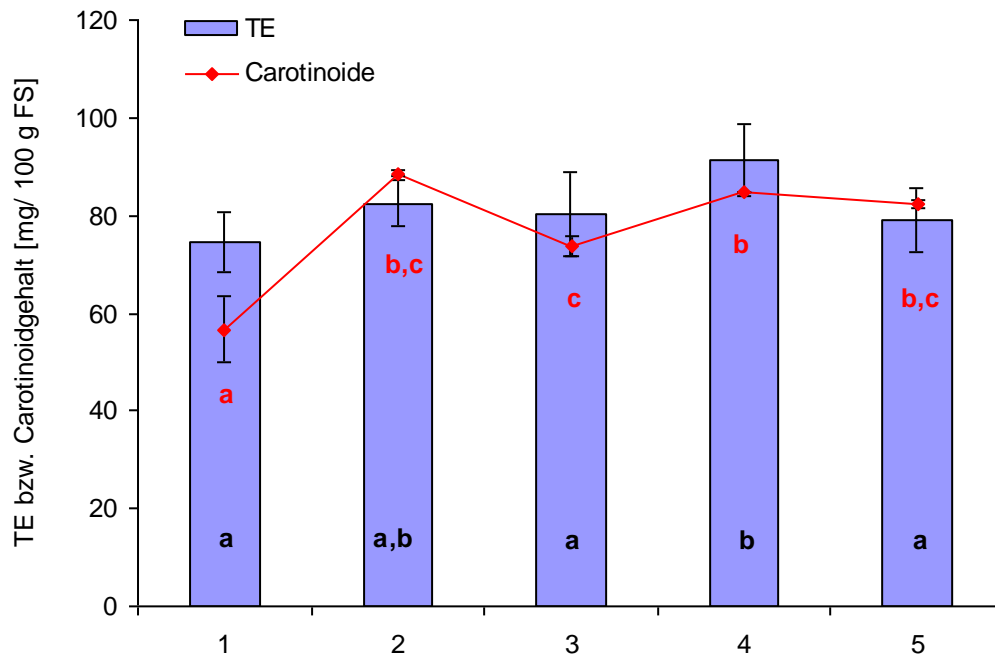


Abb. 34: Gesamtcarotinoidgehalte (n=4) und antioxidative Kapazität der Carotinoide [mg TE/ 100 g FS] (n=6) von 5 Unterlinien der Linie 5

Die Gesamtcarotinoidgehalte und die Troloxäquivalente der Unterlinien von Perilla-Linie 5 unterschieden sich signifikant voneinander (s. Abb. 34). Die Gesamtcarotinoidgehalte der Unterlinien (UL) betragen 88,7 mg / 100 g FS (UL 2), 84,9 mg / 100 g FS (UL 4), 82,4 mg / 100 g FS (UL 5), 73,8 mg / 100 g FS (UL 3) und 56,6 mg / 100 g FS (UL 1). Die Troloxäquivalente betragen 91,4 mg / 100 g FS (UL 4), 82,5 mg / 100 g FS (UL 2), 80,3 mg / 100 g FS (UL 3), 79,0 mg / 100 g FS (UL 5) und 74,4 mg / 100 g FS (UL 1).

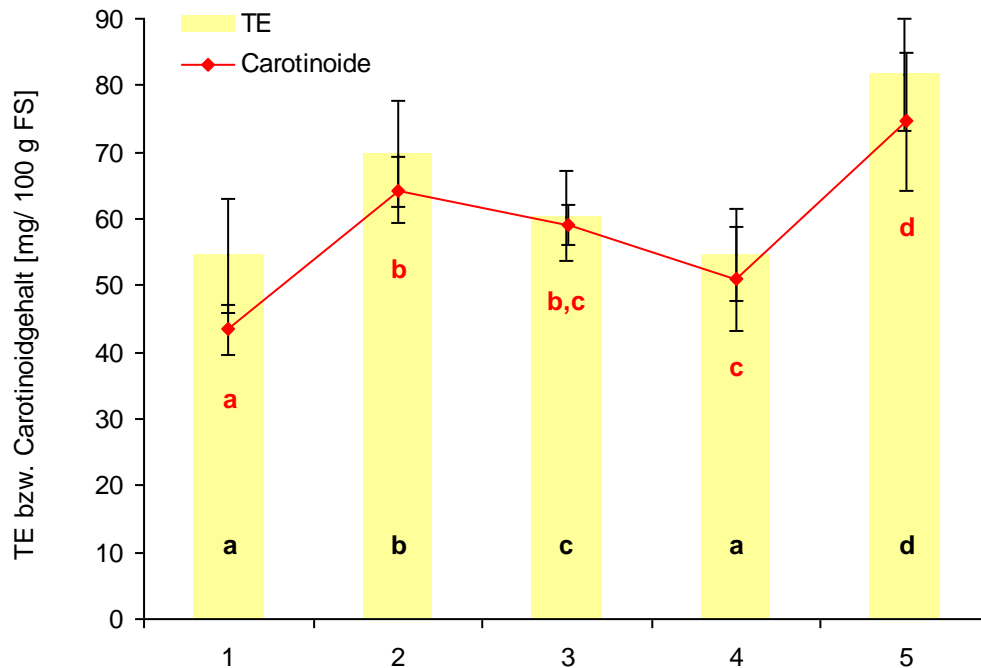


Abb. 35: Gesamtcarotinoidgehalte (n=20) [mg/ 100 g FS] und antioxidative Kapazität der Carotinoide [mg TE/ 100 g FS] (n=30) 5 verschiedener Perilla Linien

Die Gesamtcarotinoidgehalte und die Troloxäquivalente der 5 verschiedenen Perilla-Linien unterschieden sich signifikant voneinander (s. Abb. 35). Die Perilla-Linie 5 zeigte mit 81,7 mg / 100 g FS die höchsten Troloxäquivalente (TE) auf, gefolgt von der Perilla-Linie 2 mit 70,0 mg / 100 g FS, Perilla-Linie 3 mit 60,3 mg / 100 g FS, Perilla-Linie 4 mit 55,0 mg / 100 g FS und schließlich Perilla-Linie 1 mit 54,5 mg / 100 g FS. Auch bei den Gesamtcarotinoidgehalten zeigt die Perilla-Linie 5 mit 75,0 mg / 100 g FS den höchsten Gehalt, gefolgt von der Perilla-Linie 2 mit 64,3 mg / 100 g FS, Perilla-Linie 4 mit 51,0 mg / 100 g FS, Perilla-Linie 3 mit 59,0 mg / 100 g FS und Perilla-Linie 1 mit 43,3 mg / 100 g FS.

4.1.4 Polyphenole-Gehalte und antioxidative Kapazität (ABTS)

Um zu prüfen, wie hoch die intraspezifische Variabilität der einzelnen 5 Perilla-Linien in Bezug auf den Gehalt der Polyphenole ist, wurden zunächst jeweils 5 Unterlinien jeder Perilla-Linie untersucht und in diesem Kapitel dargestellt. Schließlich wurden die Ergebnisse der jeweiligen Unterlinien zusammengefasst. Im Linienvergleich wurden Gehalte und antioxidative Kapazität der Extrakte aus den 5 untersuchten Perilla-Linien dargestellt. Die Gesamtpolyphenolgehalte wurden mittels Gallussäureequivalenten berechnet und als GAE dargestellt. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) wurden im Diagramm mit Kleinbuchstaben gekennzeichnet.

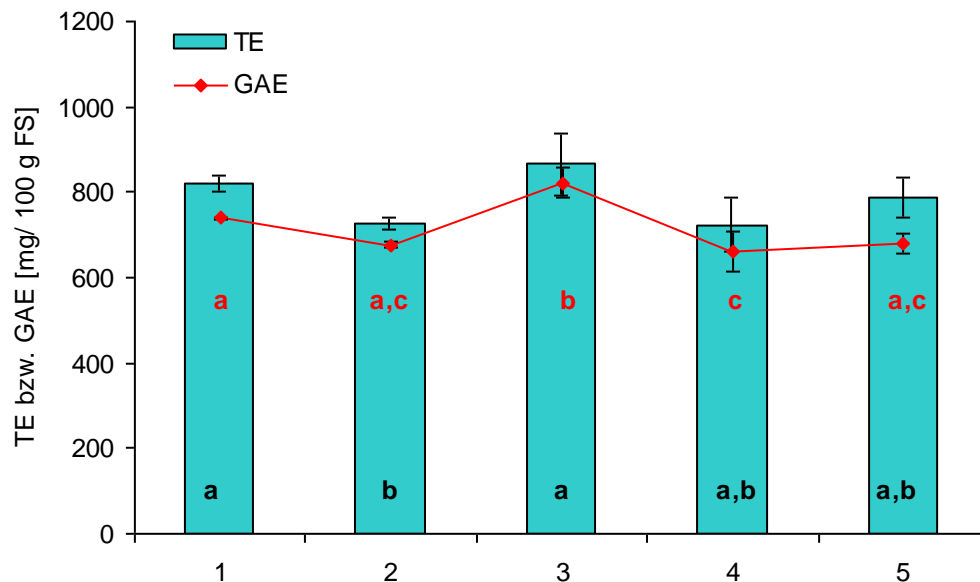


Abb. 36: Gesamtpolyphenolgehalte und antioxidative Kapazität verschiedener Unterlinien der Perilla-Linie 1 (n=6)

Die Gesamtpolyphenolgehalte und die Troloxäquivalente (TE) der Unterlinien (UL) von Perilla-Linie 1 unterschieden sich signifikant voneinander (s. Abb. 36). Die Gesamtpolyphenolgehalte der Unterlinien betragen 821,3 mg / 100 g FS (UL 3), 738,5 mg / 100 g FS (UL 1), 680,1 mg / 100 g FS (UL 5), 677,0 mg / 100 g FS (UL 2) und 660,5 mg / 100 g FS (UL 4). Die Troloxäquivalente (TE) betragen 866,4 mg / 100 g FS (UL 3), 820,6 mg / 100 g FS (UL 1), 787,4 mg / 100 g FS (UL 5), 727,4 mg / 100 g FS (UL 2) und 724,0 mg / 100 g FS (UL 4).

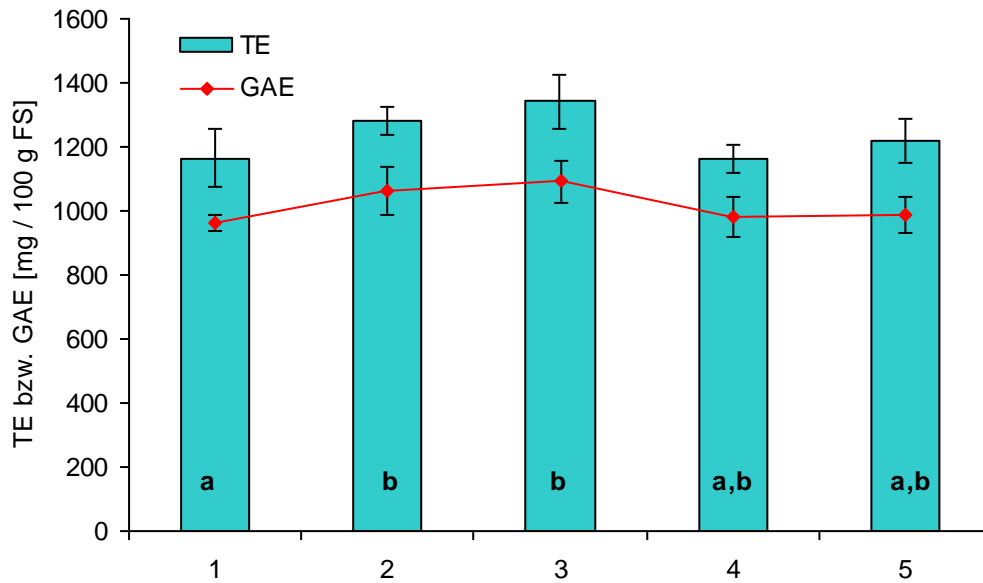


Abb. 37: Gesamtpolyphenolgehalte und antioxidative Kapazität verschiedener Unterlinien der Perilla-Linie 2 (n=6)

Die Gesamtpolyphenolgehalte der Unterlinien (UL) von Linie 2 unterschieden sich nicht signifikant voneinander (s. Abb. 37). Im Mittel betrug der Gesamtpolyphenolgehalt 1017,2 mg / 100 g FS. Die Troloxequivalente (TE) der Unterlinien von Linie 2 unterscheiden sich signifikant voneinander. Sie betragen 1341,8 mg / 100 g FS (UL 3), 1280,6 mg / 100 g FS (UL 2), 1217,2 mg / 100 g FS (UL 5), 1164,3 mg / 100 g FS (UL 1) und 1163,3 mg / 100 g FS (UL 4).

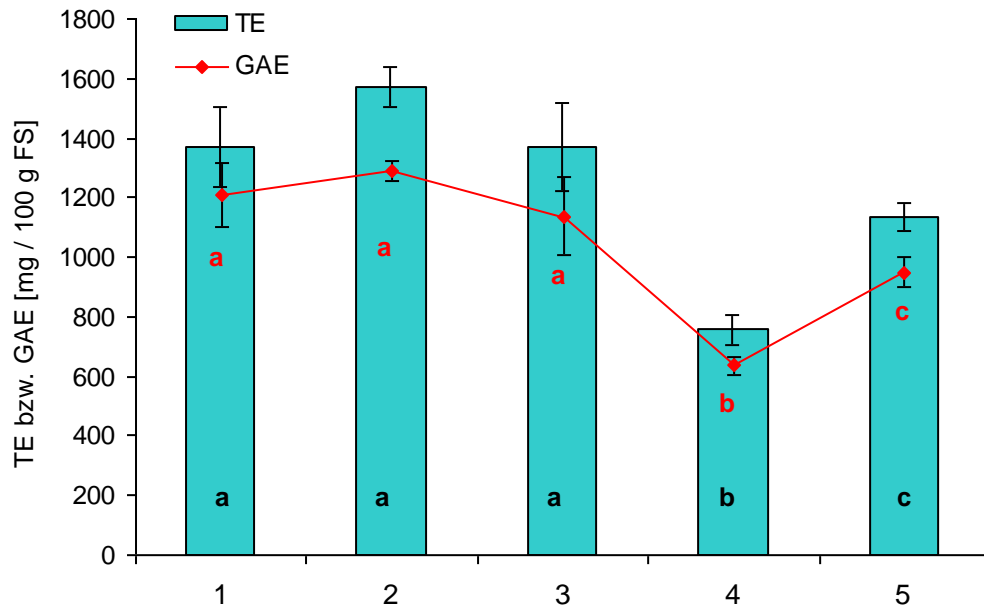


Abb. 38: Gesamtpolyphenolgehalte und antioxidative Kapazität verschiedener Unterlinien der Perilla-Linie 3 (n=6)

Die Gesamtpolyphenolgehalte und die Troloxäquivalente der Unterlinien (UL) von Linie 3 unterschieden sich signifikant voneinander (s. Abb. 38). Die Gesamtpolyphenolgehalte der Unterlinien betragen 1288,5 mg / 100 g FS (UL 2), 1208,3 mg / 100 g FS (UL 1), 1136,1 mg / 100 g FS (UL 3), 949,9 mg / 100 g FS (UL 5) und 636,5 mg / 100 g FS (UL 4). Die Troloxäquivalente betragen 1569,5 mg / 100 g FS (UL 2), 1371,2 mg / 100 g FS (UL 1), 1368,2 mg / 100 g FS (UL 3), 1137,0 mg / 100 g FS (UL 5) und 756,6 mg / 100 g FS (UL 4).

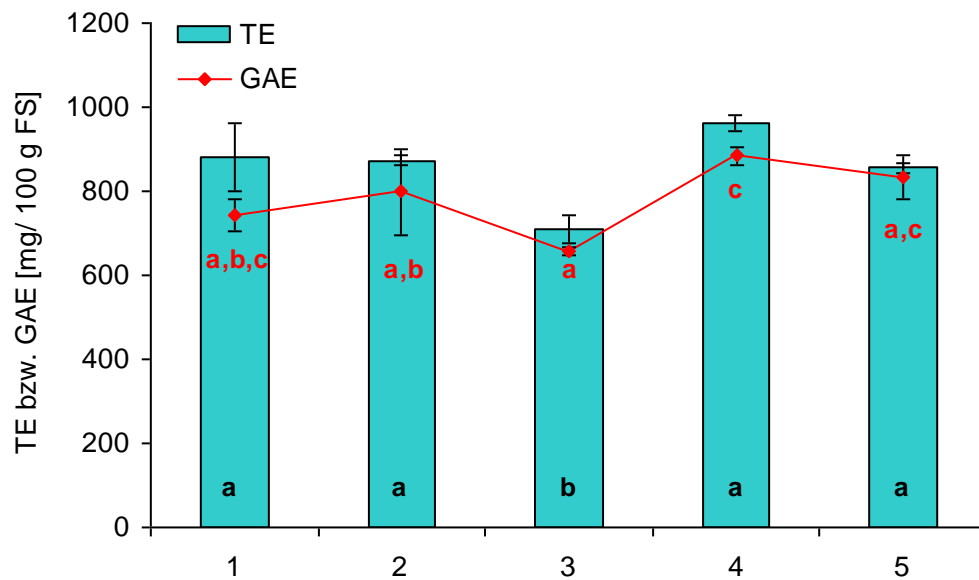


Abb. 39: Gesamtpolyphenolgehalte und antioxidative Kapazität verschiedener Unterlinien der Perilla-Linie 4 (n=6)

Die Gesamtpolyphenolgehalte und die Troloxäquivalente der Unterlinien (UL) von Linie 4 unterschieden sich signifikant voneinander (s. Abb. 39). Die Gesamtpolyphenolgehalte der Unterlinien betragen 883,9 mg / 100 g FS (UL 4), 833,4 mg / 100 g FS (UL 5), 798,9 mg / 100 g FS (UL 2), 743,4 mg / 100 g FS (UL 1) und 657,1 mg / 100 g FS (UL 3). Die Troloxäquivalente betragen 963,1 mg / 100 g FS (UL 4), 880,8 mg / 100 g FS (UL 1), 872,3 mg / 100 g FS (UL 2), 855,9 mg / 100 g FS (UL 5) und 707,8 mg / 100 g FS (UL 3).

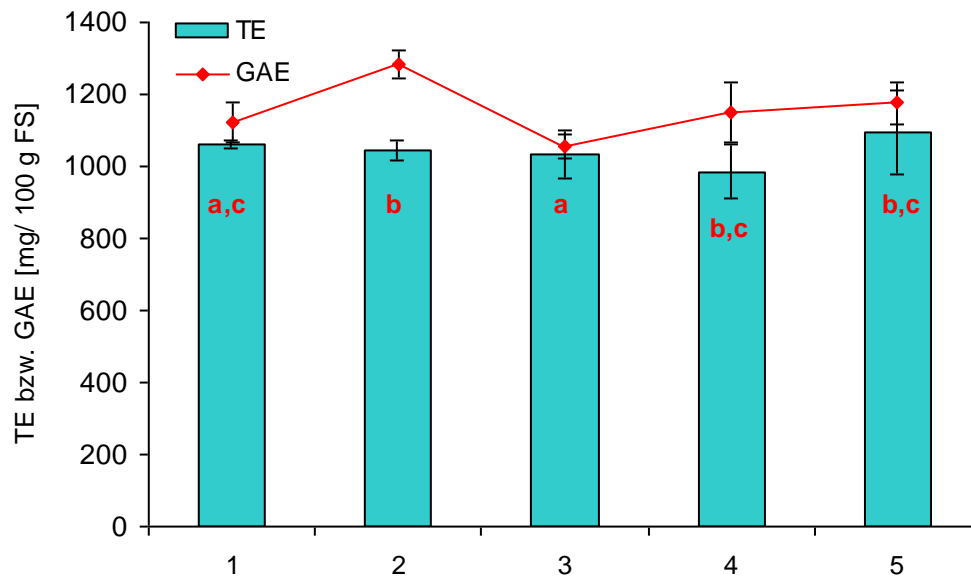


Abb. 40: Gesamtpolyphenolgehalte und antioxidative Kapazität verschiedener Unterlinien der Perilla-Linie 5 (n=6)

Die Gesamtpolyphenolgehalte der Unterlinien (UL) von Linie 5 unterschieden sich signifikant voneinander (s. Abb. 40). Sie betragen 1284,0 mg / 100 g FS (UL 2), 1175,6 mg / 100 g FS (UL 5), 1152,0 mg / 100 g FS (UL4), 1123,5 mg / 100 g FS (UL 1) und 1056,0 mg / 100 g FS (UL 3). Die Troloxequivalente der Unterlinien von Linie 5 unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Im Mittel betragen sie 1044,5 mg / 100 g FS.

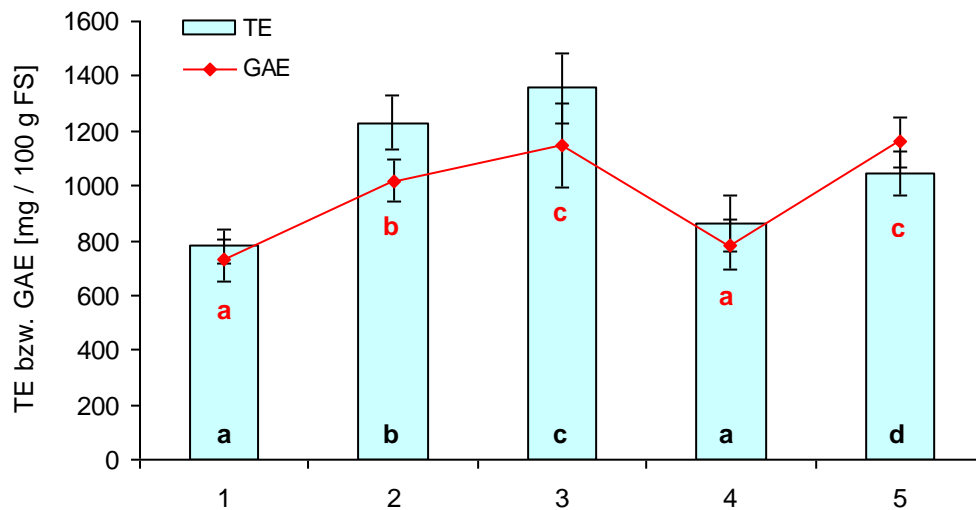


Abb. 41: Gesamtpolyphenolgehalte und antioxidative Kapazität 5 verschiedener Perilla-Linien (n=30)

In der oben dargestellten Abbildung (s. Abb. 41) werden die Ergebnisse der jeweiligen Unterlinien zusammengefasst. Linienvergleich dargestellt. Die 5 Perilla-Linien unterscheiden sich signifikant im Gehalt und der antioxidativen Kapazität der Polyphenolextrakte ($p < 0,05$; $n = 30$). Auf jeweils 100 g Frischsubstanz (FS) bezogen wurden folgende Gesamtpolyphenolgehalte bestimmt: Perilla-Linie 1: 727,3 mg, Perilla-Linie 2: 1017,2 mg, Perilla-Linie 3: 1146,7 mg, Perilla-Linie 4: 784,9 mg und Perilla-Linie 5: 1158,1 mg. Die antioxidative Kapazität, dargestellt als TE / 100 g FS betrug in der Perilla-Linie 1: 779,5 mg, in Perilla-Linie 2: 1230,2 mg, in Perilla-Linie 3: 1357,3 mg, in Perilla-Linie 4: 863,9 mg und in Perilla-Linie 5: 1045,6 mg / 100 g FS.

4.1.5 Antioxidative Wirkung 5 verschiedener Perilla-Linien (LPO)

Mit Hilfe des LPO-Testsystems wurde untersucht, inwieweit Carotinoid- bzw. Polyphenolextrakte aus 5 Perilla-Linien die Oxidation der Plasmalipide in menschlichem Blutplasma *in vitro* beeinflussen können. Mittels Konzentrationsreihen von Carotinoid- und Polyphenolextrakten wurde der jeweils optimale Konzentrationsbereich für das Messsystem ermittelt. Ebenso wurde untersucht, inwieweit die Lagphasenverschiebung eine Konzentrationsabhängigkeit zeigt.

Die antioxidative Kapazität von den Standard-Antioxidantien, Vitamin E und Trolox wurde als Vergleich ebenso in verschiedenen Konzentrationen ermittelt (s. Abb. 47). Die Proben wurden jeweils an 2 verschiedenen Messtagen und in 2 verschiedenen Photometern gemessen, sofern dies möglich war. Die Verdünnung der jeweiligen Substanzen erfolgte jeweils mit Ethanol.

Die folgende Abbildung (s. Abb. 42) zeigt die Lagphasenverschiebung [min] nach Zugabe verschiedener Konzentrationen von Polyphenolextrakt aus Perilla-Linie 2.

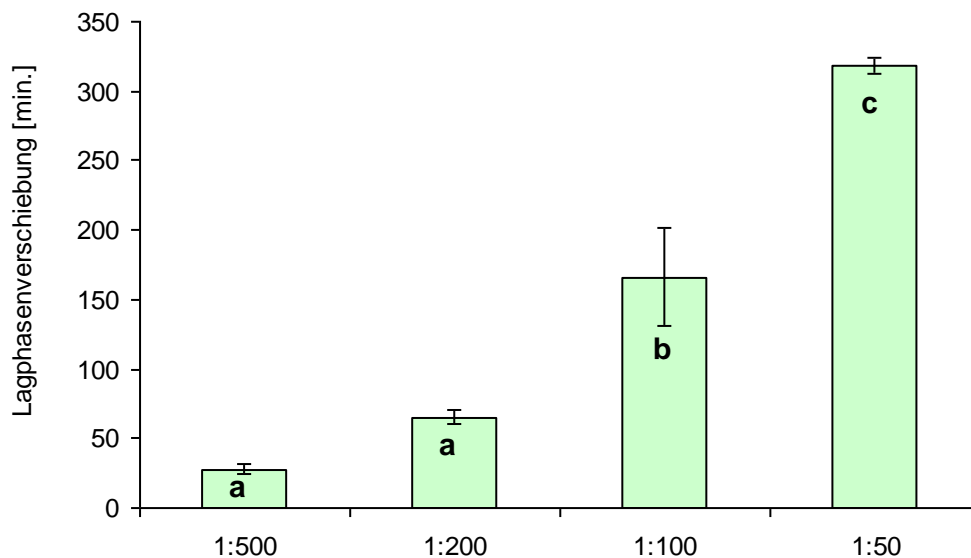


Abb. 42: Einfluss verschiedener Verdünnungen eines Polyphenolextraktes auf die Lagphasendauer (n=4)

Polyphenolextrakt aus Perilla-Linie 2 konnte die Dauer der Lagphase konzentrationsabhängig beeinflussen (s. Abb. 42). Die einzelnen Verdünnungsstufen konnten die Dauer der Lagphase signifikant beeinflussen ($p < 0,05$; $n=4$).

Eine 1:500 verdünnte Lösung zeigte eine Verlängerung der Lagphase von 28 Minuten. Durch eine Verdünnung von 1:200 wurde eine 65-minütige Verlängerung erreicht, bei 1:100 eine 166 minütige Verlängerung und bei 1:50 eine 318 minütige Verlängerung. Die Verdünnungsstufe 1:100 wurde als Standardverdünnung für nachfolgende Untersuchungen der Polyphenolextrakte verwendet.

Ob auch die eingesetzten Carotinoide extrakte eine konzentrationsabhängige Lagphasenverschiebung [min] bewirken konnten, wurde ebenfalls untersucht und in der folgenden Abbildung (s. Abb. 43) dargestellt. Hierbei handelte es sich ebenfalls um Carotinoide extrakte aus der Perilla-Linie 2.

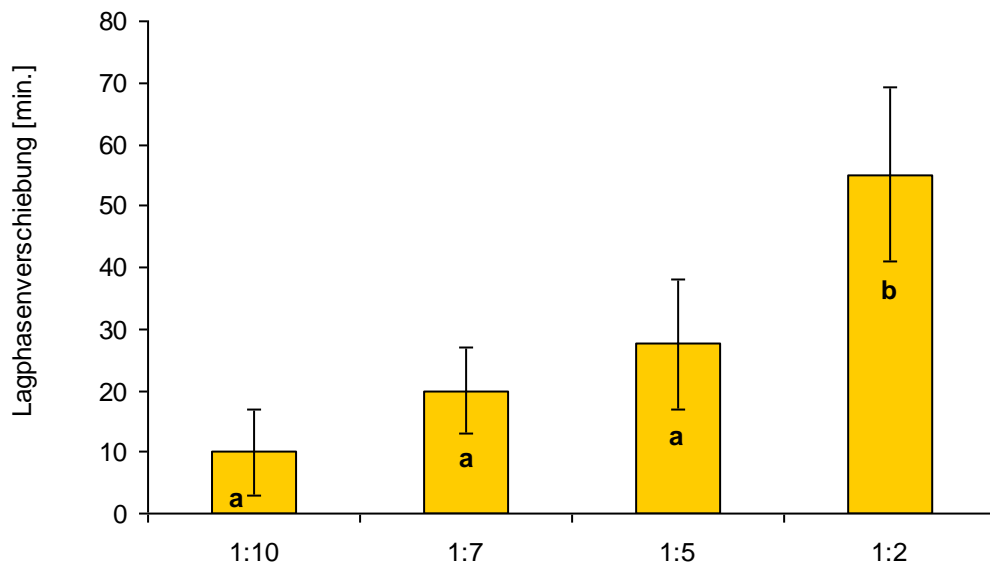


Abb. 43: Einfluss verschiedener Verdünnungen eines Carotinoide extraktes auf die Lagphasendauer (n=4)

Der Einfluss von Carotinoide extrakt auf die Dauer der Lagphase war ebenfalls konzentrationsabhängig und zeigte signifikante Unterschiede ($p < 0,05$; $n=4$). Eine 1:10 verdünnte Lösung zeigte im Mittel eine Verlängerung der Lagphase von 10 Minuten. Bei einer Verdünnung von 1:7 konnte im Mittel eine 20 minütige Verlängerung der Lagphase erreicht werden, bei einer Verdünnung von 1:5 im Mittel eine 27 minütige Verlängerung und bei einer Verdünnung von 1:2 im Mittel eine 54 minütige Verlängerung.

Die Verdünnungsstufe 1:2 wurde als Standardverdünnung für Carotinoide extrakte in nachfolgenden Untersuchungen verwendet. Nach Ermittlung der Verdünnungsstufen von Polyphenol- und Carotinoide extrakten für das LPO-Testsystem wurden 5 verschiedenen Perilla-Linien im Hinblick auf die Lagphasenverschiebung [min] hin untersucht (s. Abb. 44 und Abb. 45).

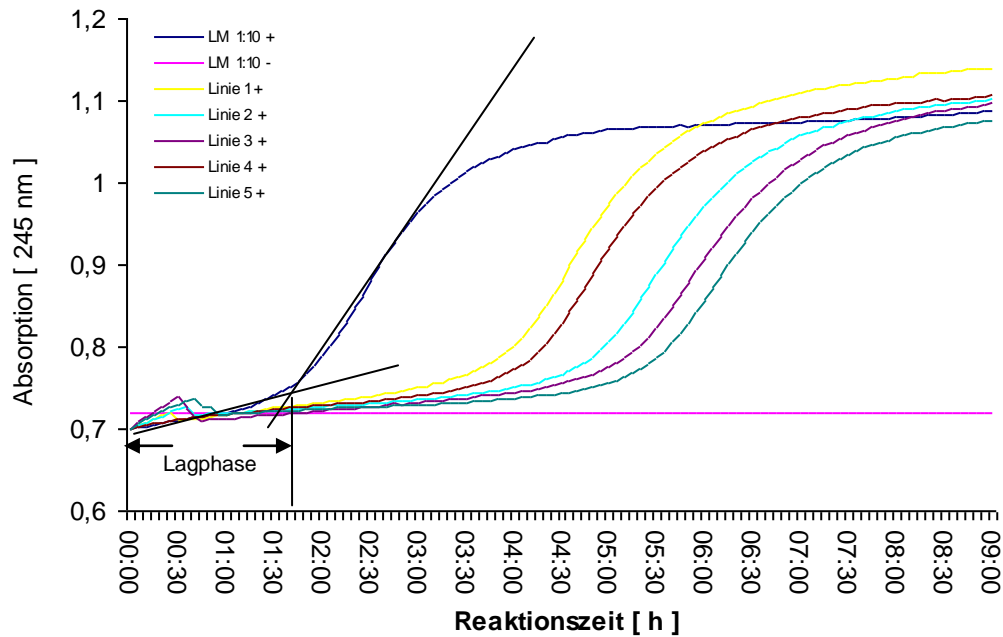


Abb. 44: Darstellung der Lagphasenverlängerung nach Zugabe von Polyphenolextrakten von 5 Perilla-Linien

Diese exemplarische Darstellung der photometrischen Messungen bei 245 nm (s. Abb. 44) zeigt, dass die Polyphenolextrakte der 5 Perilla-Linien einen unterschiedlichen Einfluss auf die Dauer der Lagphase haben. Die Dauer der Lagphase wurde ermittelt, indem an die Oxidationskurven Tangenten angelegt wurden. Im Schnittpunkt der Tangenten wird das Lot auf die x-Achse (Zeitachse) gefällt. Die Lagphase, die lediglich durch die Zugabe von Lösungsmittel mit CuCl_2 als Oxidationsmittel (LM 1:10+) ermittelt wurde, dient für die Messungen der Proben als Referenzwert, d.h. die Differenz zwischen der jeweils ermittelten Lagphase und dem Referenzwert, wurde als Lagphasenverschiebung bezeichnet. Als Negativkontrolle diente eine Probe mit Lösungsmittel ohne CuCl_2 (LM 1:10-). Diese wurde in der Abbildung als gerade Linie abgebildet und stellt die 0-Kontrolle dar. Sollte diese ansteigen, musste die Messung wiederholt werden. Ohne Zugabe von Extrakten dauerte die Lagphase etwa 100 Minuten (LM 1:10+). Die Polyphenolextrakte wurden jeweils in einer Verdünnung von 1:100 eingesetzt.

Der Einfluss von Polyphenolextrakten auf die Dauer der Lagphase zeigte signifikante Unterschiede zwischen den Perilla-5 Linien ($p < 0,05$; $n=4$) (s. Abb. 45). Die längste Verzögerung des Lipidabbaus im Mittel mit 270 Minuten \pm 27 Minuten wurde mit Zugabe des Polyphenolextraktes aus Perilla-Linie 5 (5+) erreicht, gefolgt mit 245 Minuten \pm 28 Minuten im Mittel von der Linie 3 (3+), Linie 2 (2+) mit 211 Minuten \pm 28 Minuten im Mittel, Linie 4 (4+) im Mittel mit 185 Minuten \pm 34 Minuten und schließlich Linie 1 (1+) im Mittel mit 110 Minuten \pm 21 Minuten. Die Kontrolle ohne Oxidationsmittel (LM 1:10-) zeigte keine Oxidation.

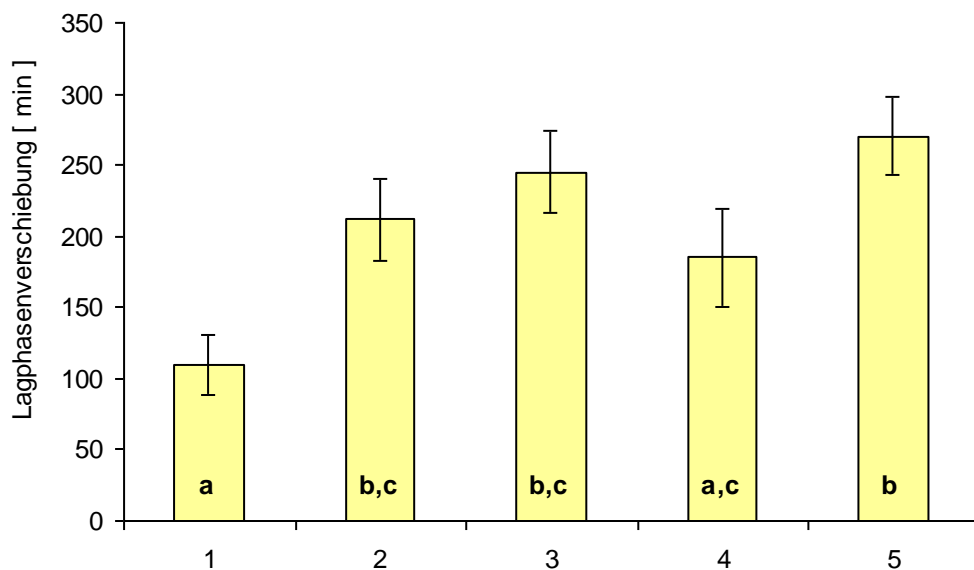


Abb. 45: Einfluss von Polyphenolextrakten 5 verschiedener Perilla-Linien auf die Dauer der Lagphase (n=4)

Die Carotinoideextrakte der 5 Perilla-Linien wurden jeweils in einer Verdünnung von 1:2 im LPO-Testsystem eingesetzt und die Lagphasenverschiebung [min] wurde bestimmt (s. Abb. 46).

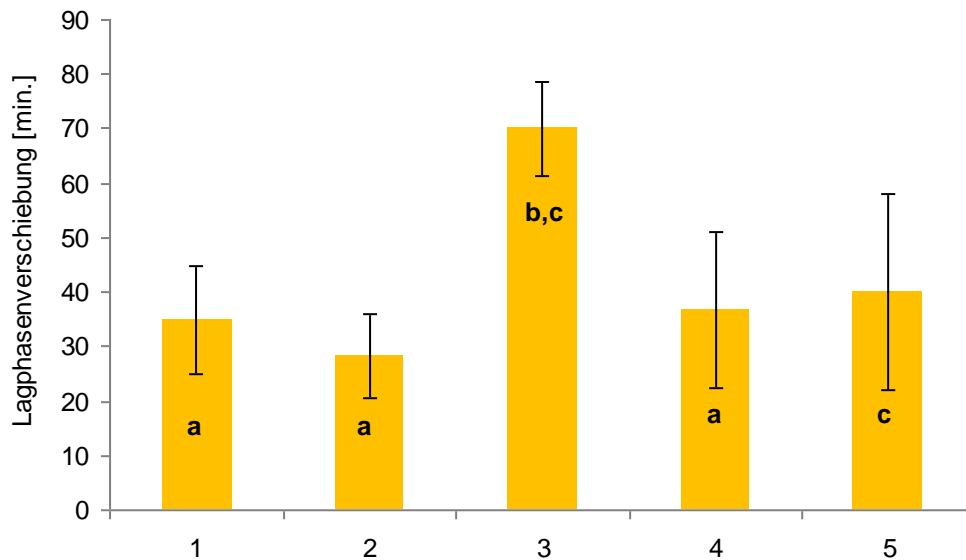


Abb. 46: Einfluss von Carotinoideextrakten 5 verschiedener Perilla-Linien auf die Dauer der Lagphase (n=4)

Der Einfluss von Carotinoideextrakten auf die Dauer der Lagphase zeigte ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen den 5 Linien ($p < 0,05$; $n=4$). So konnte die Lagphase durch Zugabe des Extraktes von Perilla-Linie 1 im Mittel um 35 Minuten, von Perilla-Linie 2 im Mittel um 28 Minuten, von Perilla-Linie 3 im Mittel um 70 Minuten, von Perilla-Linie 4 im Mittel um 37 und von Perilla-Linie 5 im Mittel um 40 Minuten verlängert werden (s. Abb. 46).

4.1.6 Antioxidative Kapazität von Trolox und Vitamin E

Zum Vergleich wurde neben der Wirkung von Extrakten auf die Dauer der Lagphase der konzentrationsabhängige Einfluss von 2 Standard-Antioxidantien, Trolox und Vitamin E, auf die Dauer der Lagphase untersucht (s. Abb. 47).

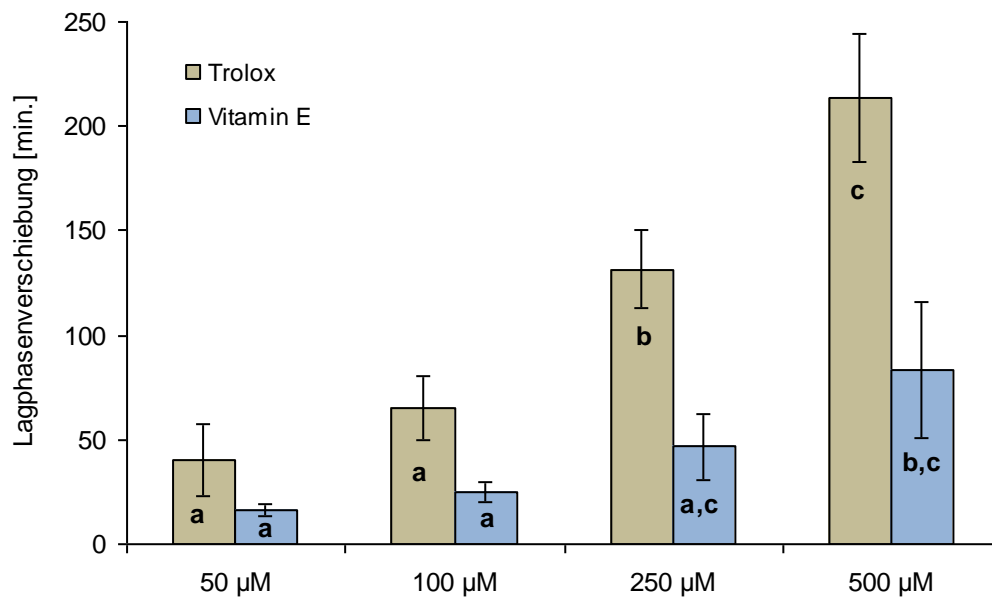


Abb. 47: Einfluss verschiedener Konzentrationen von Trolox und Vitamin E auf die Dauer der Lagphase (n=4)

Es konnte sowohl für Trolox als auch für Vitamin E eine signifikante, konzentrationsabhängige Wirkung nachgewiesen werden ($p < 0,05$; $n=4$). So verlängerte sich die Dauer der Lagphase bei Zugabe von einer Troloxlösung bei 50 µM im Mittel um 40 Minuten, bei 100 µM im Mittel um 65 Minuten, bei 250 µM im Mittel um 132 Minuten und bei 500 µM im Mittel um 213 Minuten. Bei Zugabe von Vitamin E verlängerte sich die Dauer die Lagphase bei 50 µM im Mittel um 17 Minuten, bei 100 µM im Mittel um 25 Minuten, bei 250 µM im Mittel um 47 Minuten und bei 500 µM im Mittel um 83 Minuten. In der geringsten Konzentration von 50 µM zeigte Trolox eine etwa doppelt so hohe antioxidative Kapazität, die sich mit zunehmender Konzentration auf die etwa dreifache antioxidative Kapazität erhöhte.

4.1.7 Quantifizierung phenolischer Substanzen aus 5 Perilla Linien

Die Polyphenolanalysen wurden im Rahmen der Masterarbeit von Caroline Bruna (2010) in Kooperation mit dem Fachgebiet für Obstbau, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, der Technischen Universität München, durchgeführt.

Zur Veranschaulichung wurde von jeder Perilla-Linie ein Chromatogramm dargestellt, das jeweils die Detektion bei 280 nm wiedergibt (s. Abb. 48 bis Abb. 52). Zunächst wurden die Substanzen anhand von Retentionszeiten und Absorptionsspektren den im Folgenden dargestellten Klassen polyphenolischer Verbindungen zugeordnet (s. Tab. 15). Als Vergleichssubstanzen wurden verschiedene Standards aus den jeweiligen Substanzklassen eingesetzt. Die Peaks wurden je nach Zuordnung farblich im Chromatogramm gekennzeichnet (s. Tab. 15).

Zur Quantifizierung wurde als interner Standard Naringenin 7-Glucosid eingesetzt. In den Chromatogrammen wies dieser eine Retentionszeit zwischen 100 und 110 Minuten auf und ist orange gekennzeichnet. Mit Hilfe des internen Standards und den entsprechenden Responsfaktoren von Standards der jeweiligen Phenolgruppe wurden die Gesamtpolyphenolgehalte der 5 Perilla-Linien berechnet (s. Tab. 15). Als Berechnungsgrundlage dienten die Flächeneinheiten der Substanzen, die bei dem Wellenlängenbereich ihrer maximalen Absorption ermittelt worden waren. So wurden Hydroxyzimtsäuren bei 320 nm, Flavone bei 320 bzw. 350 nm und Anthocyane bei 540 nm quantifiziert. Substanzen, die diesen Klassen nicht zugeordnet werden konnten, wurden als „sonstige phenolische Substanzen“ (SPV) zusammengefasst, bei 280 nm detektiert und ausgewertet.

Tab. 15: Farbliche Kennzeichnung der phenolischen Substanzklassen

Klasse	Farbe
sonstige phenolische Substanzen (SPV)	Magenta
Hydroxyzimtsäuren	Dunkelrot
Flavone	Gelb
Anthocyane	Rosa
interner Standard	Orange

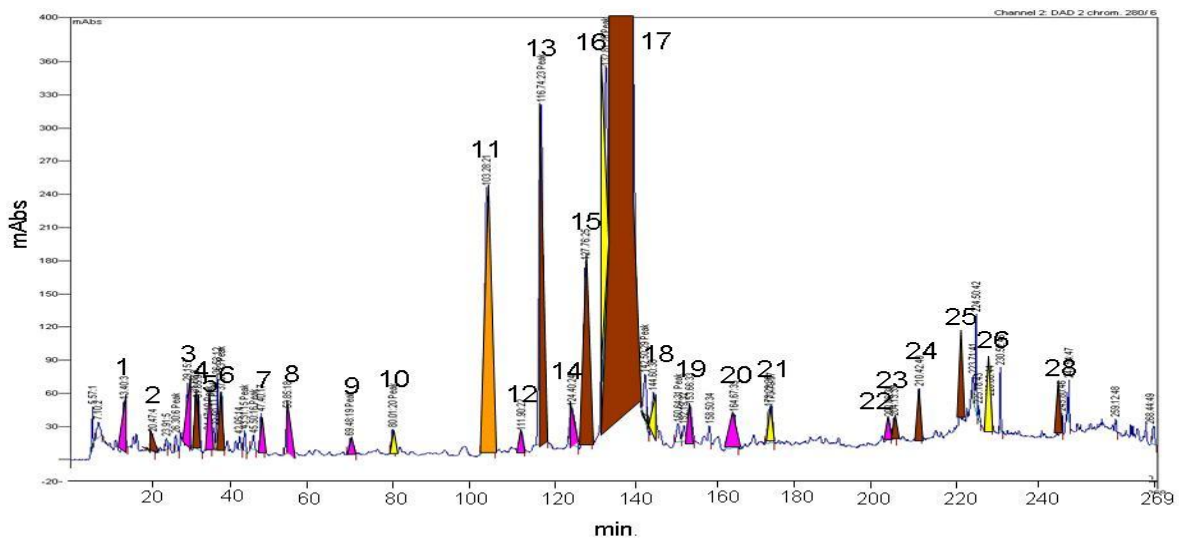


Abb. 48: Chromatogramm von *Perilla frutescens* L. Linie 1

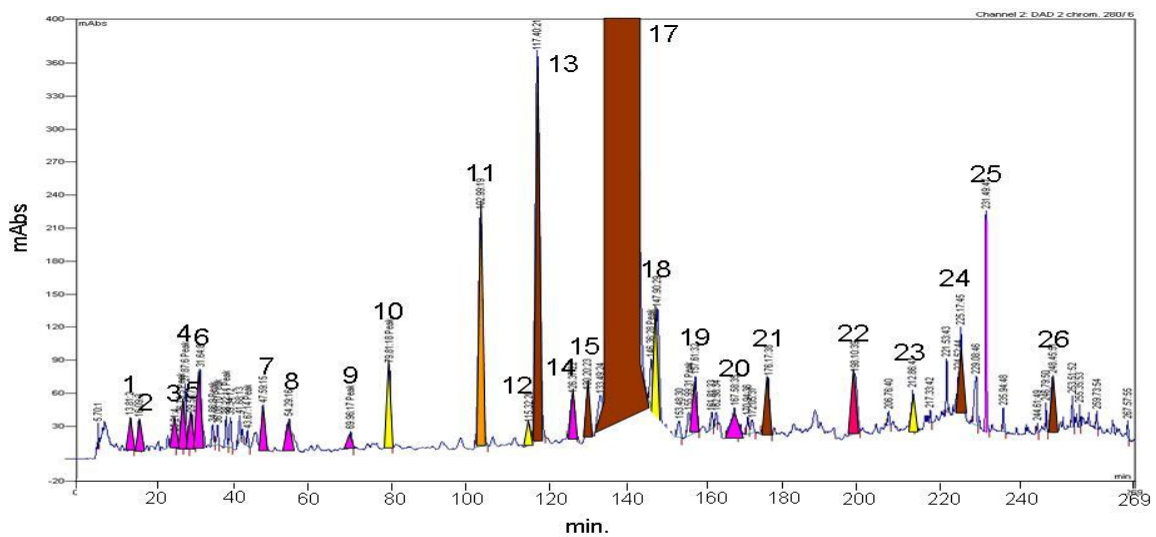


Abb. 49: Chromatogramm von *Perilla frutescens* L. Linie 2

Die Perilla-Linien 1 und 2 (s. Abb. 48 und Abb. 49) enthielten Phenole aus den Substanzklassen der Flavone, der Hydroxyzimtsäuren und Substanzen, die als sonstige phenolische Verbindungen (SPV) zusammengefasst wurden. Desweiteren enthielt die Perilla-Linie 2 geringe Mengen an Anthocyanen (s. Abb. 49, Peak 22).

Der Peak 17, eine Hydroxyzimtsäure, stellt in den beiden Perilla-Linien 1 und 2 die Hauptkomponente der Extrakte dar.

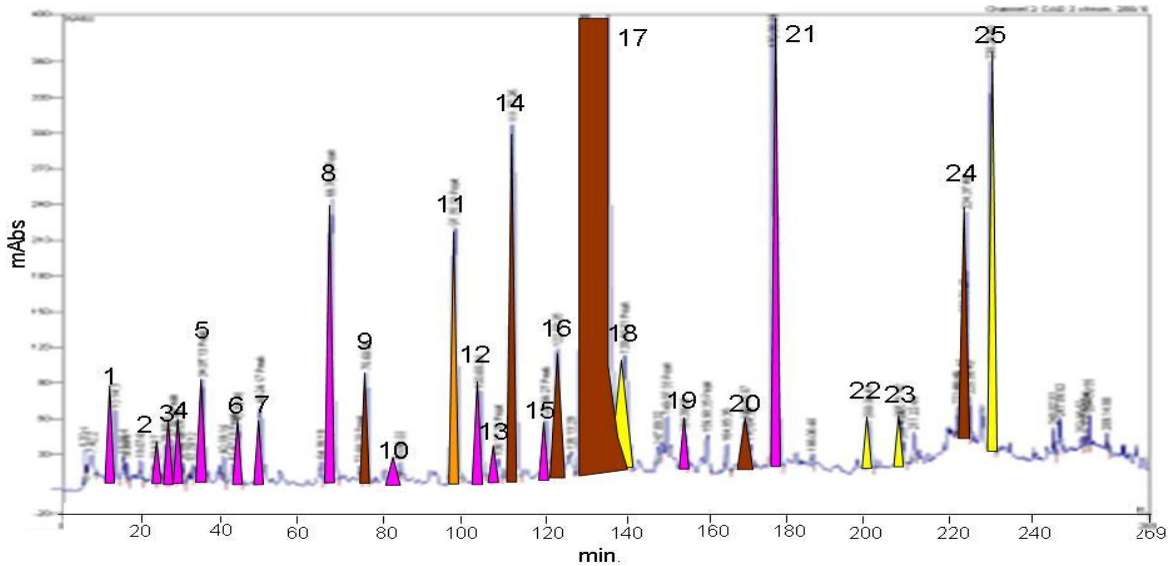


Abb. 50: Chromatogramm von *Perilla frutescens* L. Linie 3

Die Perilla-Linie 3 (s. Abb. 50) enthielt Substanzen aus Substanzklassen der Flavone, der Hydroxyzimtsäuren und Substanzen, die als sonstige phenolische Verbindungen (SPV) zusammengefasst wurden. Bei der Perilla-Linie 3 erschienen Peaks, die in keiner der anderen 4 Perilla-Linien auftauchten (Peak 8, Peak 21). Diese Substanzen konnten im Rahmen dieser Arbeit nicht näher identifiziert werden und wurden als sonstige phenolische Verbindungen zusammengefasst (SPV). Bei der Perilla-Linie 3 stellte der Peak 17, eine Hydroxyzimtsäure, wie auch in den anderen untersuchten Perilla-Linien, die Hauptkomponenten des Extraktes dar.

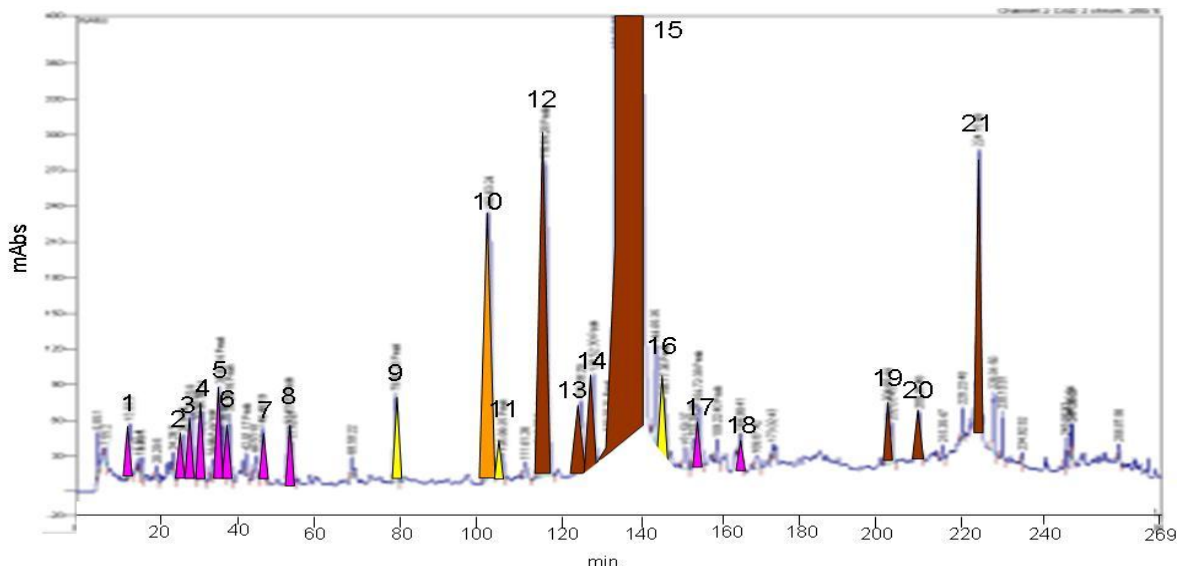


Abb. 51: Chromatogramm von *Perilla frutescens* L. Linie 4

Die Perilla-Linie 4 (s. Abb. 51) enthielt Substanzen aus Substanzklassen der Flavone, der Hydroxycimtsäuren und Substanzen, die als sonstige phenolische Verbindungen (SPV) zusammengefasst wurden. Bei der Perilla-Linie 4 stellte der Peak 15 als Hydroxycimtsäure, wie auch in den anderen 4 untersuchten Perilla-Linien, die Hauptkomponenten des Extraktes dar.

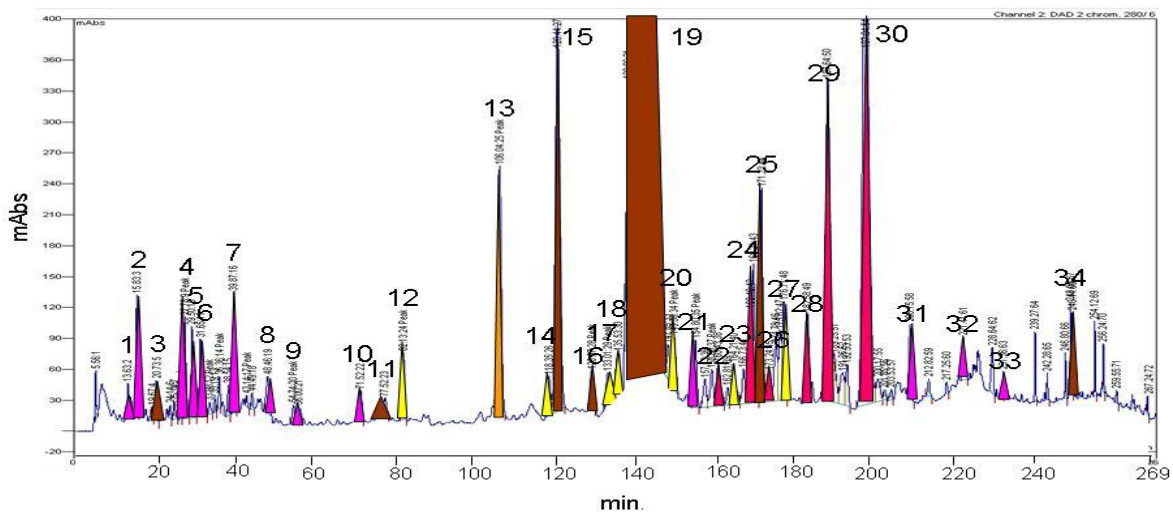


Abb. 52: Chromatogramm von *Perilla frutescens* L. Linie 5

Die Perilla-Linie 5 (s. Abb. 52) enthielt Substanzen aus den Substanzklassen der Flavone, der Hydroxyzimtsäuren und der Anthocyane, (Peak 22, Peak 24, Peak 28, Peak 29 und Peak 30). Weitere Substanzen wurden als sonstige phenolische Verbindungen (SPV) zusammengefasst.

Als Hauptkomponente der Extrakte lag in allen 5 Perilla-Linien eine Hydroxyzimtsäure vor. Um diese quantifizieren zu können, wurde das Extrakt aller 5 Perilla-Linien 1:30 mit Methanol verdünnt und mittels HPLC quantifiziert (s. Abb. 53). Aus der Abbildung (s. Abb. 53) kann die phenolische Zusammensetzung der Extrakte von 5 Perilla-Linien abgelesen werden.

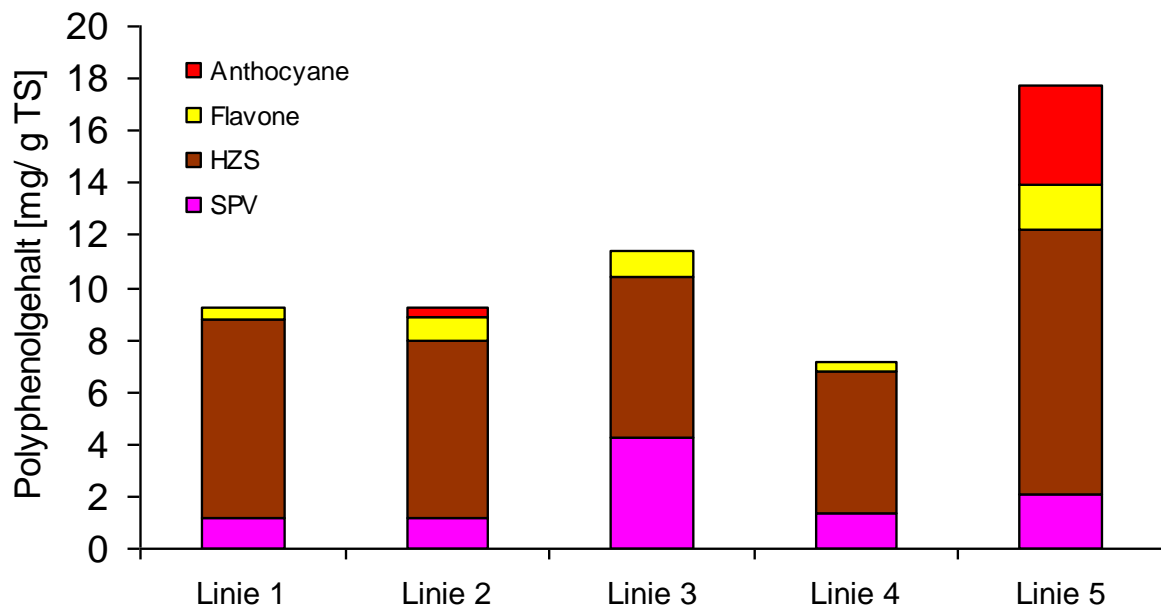


Abb. 53: Polyphenolklassen der 5 Perilla-Linien im Vergleich

Die 5 Perilla-Linien unterschieden sich in Gehalt und Zusammensetzung der polyphenolischen Substanzen (s. Abb. 53). In allen 5 Linien konnten Hydroxyzimtsäuren, Flavone und sonstige phenolische Verbindungen (SPV) nachgewiesen werden, in der Perilla-Linie 2 und 5 wurden zusätzlich Anthocyane detektiert.

Die Perilla-Linie 5 zeigte mit 17,7 mg / g TS den höchsten Gesamtgehalt an phenolischen Inhaltsstoffen, gefolgt von der Perilla-Linie 3 mit 11,4 mg / g TS, Perilla-Linie 1 mit 9,22 mg / g TS, Perilla-Linie 2 mit 9,19 mg / g TS und Perilla-Linie 4 mit 7,2 mg / g TS. Perilla-Linie 5 zeigte mit 10,2 mg / g TS den höchsten Gehalt an Hydroxyzimtsäuren, gefolgt von 3,8 mg / g TS Anthocyanen, 2,0 mg / g TS SPV und 1,8 mg / g TS Flavonen.

Die Perilla-Linie 3 zeichnete sich mit 4,2 mg / g TS durch einen vergleichsweise hohen Gehalt von SPV aus, enthielt 6,2 mg / g TS Hydroxyzimtsäuren und 1,1 mg / g TS Flavone. Die Perilla-Linie 1 enthielt 7,8 mg / g TS Hydroxyzimtsäuren, gefolgt von 1,2 mg / g TS SPV, 0,5 mg / g TS Flavone.

Die Perilla-Linie 2 enthielt 6,8 mg / g TS Hydroxyzimtsäuren, 1,2 mg / g TS SPV, 1,0 mg / g TS Flavone und mit 0,3 mg / g TS Spuren von Anthocyanen.

Die Perilla-Linie 4 enthielt als Hauptkomponente 5,4 mg / g TS Hydroxyzimtsäuren 1,4 mg / g TS SPV und 0,4 mg / g TS Flavone.

4.1.8 Einordnung phenolischer Substanzen der Linie 5 in Phenolklassen

Zur näheren Klassifizierung der phenolischen Hauptkomponenten aus Extrakt der Perilla-Linie 5 wurden die neun flächengrößten Peaks aufkonzentriert und analysiert. Die Peaks wurden im Chromatogramm rot markiert und nummeriert (1-9) (s. Abb. 54).

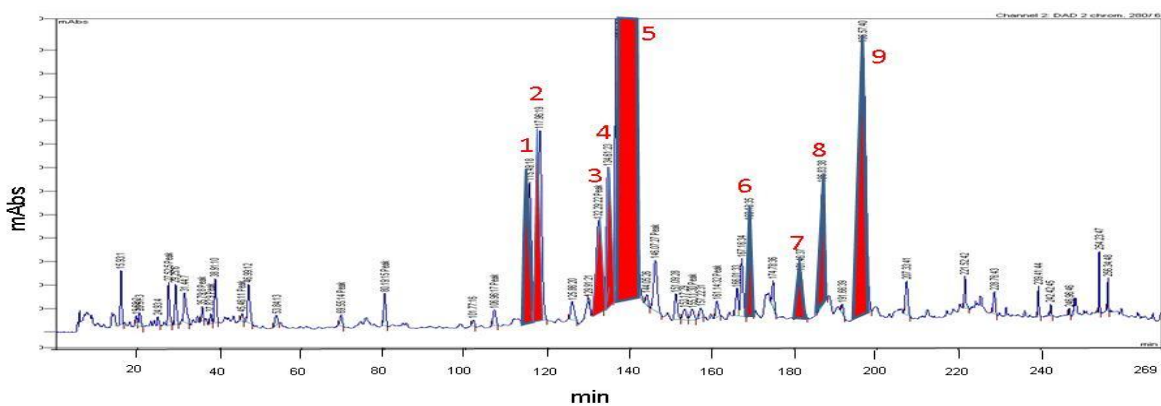


Abb. 54: Chromatogramm Linie 5 mit rot markierten Hauptkomponenten (1-9)

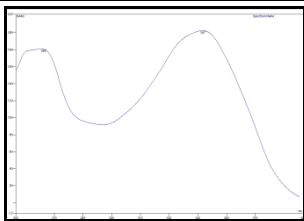
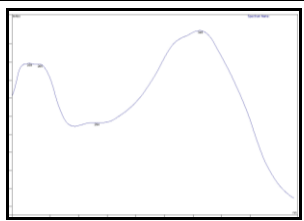
Die Retentionszeit und das Absorptionsspektrum der einzelnen Peaks lieferten erste Anhaltspunkte zur Einordnung der Substanzen in die einzelnen Substanzklassen. Anhand von Vergleichen der Spektren mit denen von Standards konnten die einzelnen Substanzen somit den Hydroxycimtsäuren, den Anthocyanen, den Flavonen und den sonstigen phenolischen Verbindungen zugeordnet werden. Zur näheren Identifizierung der einzelnen Peaks wurde im Rahmen der Masterarbeit von Caroline Bruna (2010) jeder einzelne der neun gekennzeichneten Peaks zunächst aufkonzentriert und mittels enzymatischer Hydrolyse mit dem Enzym Sulfatase in Aglykon und Zuckerbestandteil gespalten. Als Vergleichssubstanzen wurden ebenfalls Standards herangezogen.

Tab. 16: Retentionszeit und Maximum der dargestellten Peaks aus Perilla-Linie 5

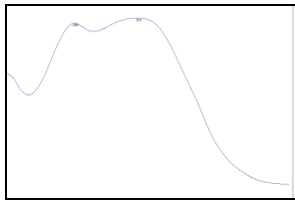
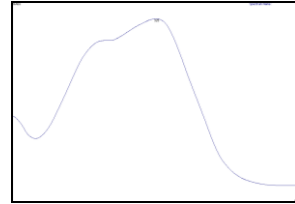
Peak Nr	Retentionszeit [min]	Absorptionsmaximum [nm]
1	119,55	264/347
2	123,58	286/319
3	137,72	266/334
4	140,75	281
5	143,24	329
6	171,09	280/526
7	173,25	303
8	189,97	282/310/329
9	199,62	282/525

Im Folgenden werden Retentionszeiten und Absorptionsspektren der Peaks 1-9 aus dem Chromatogramm des Blattextraktes aus Perilla-Linie 5 dargestellt (s. Abb. 54). Anhand von Spektren der einzelnen Substanzen wurden diese den Hydroxyzimtsäuren, den Flavonen und den Anthocyanen zugeordnet. Die Zuordnung erfolgte anhand des Vergleiches mit Spektren von Standardsubstanzen der jeweiligen Substanzklasse, die in den folgenden Tabellen gegenübergestellt wurden.

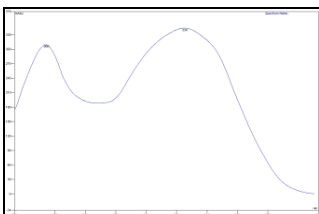
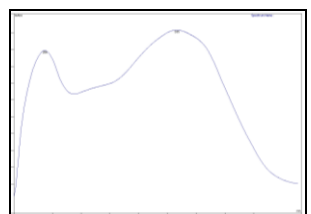
Tab. 17: Perilla-Linie 5- Spektrum von Peak 1

Peak 1		Luteolin-Standard	
Retentionszeit [min]	119,55		201,21
Absorptionsmaximum [nm]	264/347		265/349
Substanzklasse	Flavone		-

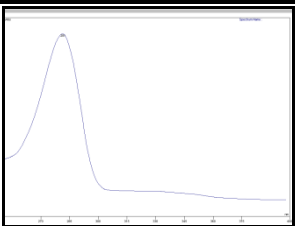
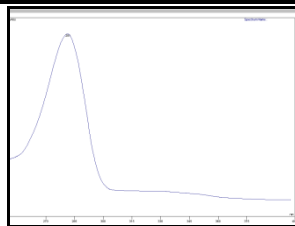
Tab. 18: Perila-Linie 5- Spektrum von Peak 2

Peak 2		Kaffeensäure-Standard	
Retentionszeit [min]	123,58		41,00
Absorptionsmaximum [nm]	286/319		322
Substanzklasse	Hydroxycimtsäuren		-

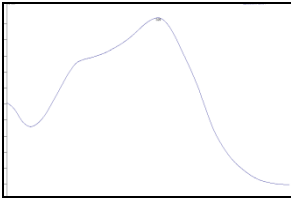
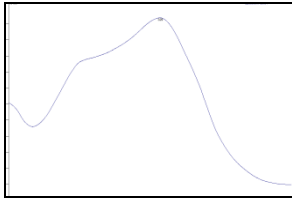
Tab. 19: Perilla-Linie 5- Spektrum von Peak 3

Peak 3		Apigenin-Standard	
Retentionszeit [min]	137,72		222
Absorptionsmaximum [nm]	266/334		266/334
Substanzklasse	Flavone		-

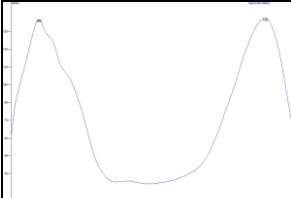
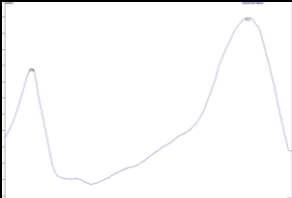
Tab. 20: Perilla-Linie 5- Spektrum von Peak 4

Peak 4		Dihydrokaffeensäure-Standard	
Retentionszeit [min]	140		24
Absorptionsmaximum [nm]	281		281
Substanzklasse	-		-

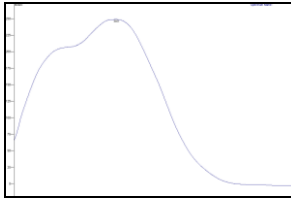
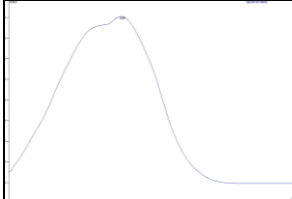
Tab. 21: Perilla-Linie 5- Spektrum von Peak 5

Peak 5		Rosmarinsäure-Standard	
Retentionszeit [min]	143		143
Absorptionsmaximum [nm]	329		329
Substanzklasse	Hydroxycimtsäuren		-

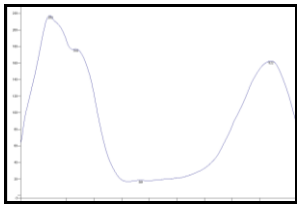
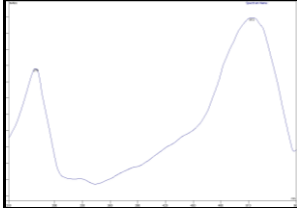
Tab. 22: Perilla-Linie 5-Spektrum von Peak 6

Peak 6		Cyanidin Standard	
Retentionszeit [min]	171,09		162,14
Absorptionsmaximum [nm]	280/526		276/526
Substanzklasse	Anthocyane		-

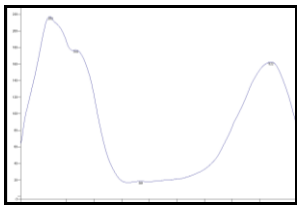
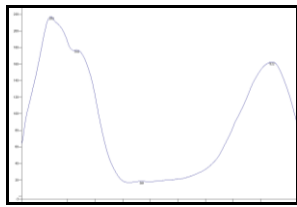
Tab. 23: Perilla-Linie 5- Spektrum von Peak 7

Peak 7		trans-p-Cumarsäure-Standard	
Retentionszeit [min]	173,25		75,97
Absorptionsmaximum [nm]	303		308
Substanzklasse	Hydroxycimtsäuren		-

Tab. 24: Perilla-Linie 5- Spektrum von Peak 8

Peak 8		Cyanidin-Standard	
Retentionszeit [min]	189,97		162,14
Absorptionsmaximum [nm]	282/310/522		276/526
Substanzklasse	Anthocyane		-

Tab. 25: Perilla-Linie 5- Spektrum von Peak 9

Peak 9		Cyanidin-Standard	
Retentionszeit [min]	199,62		162,14
Absorptionsmaximum [nm]	282/525		276/526
Substanzklasse	Anthocyane		-

Peak 1 und Peak 3 wurden aufgrund ihrer Absorptionsspektren und ihrer Spaltprodukte, die nach der enzymatischen Hydrolyse entstanden, der Substanzklasse der Flavonone zugeordnet. Der Peak 1 erschien bei 119,55 Minuten im Chromatogramm (s. Abb. 54). Seine Absorptionsmaxima lagen bei 264/347 nm (s. Tab. 17). Das Spektrum wies große Ähnlichkeit mit dem Absorptionsspektrum des Luteolin-Standards auf, dessen Maxima bei 265/349 nm und dessen Retentionszeit bei 201,21 Minuten lagen. Nach der enzymatischen Hydrolyse entstand als Spaltprodukt das Aglykon Luteolin, mit einem Absorptionsspektrum von 265/349 nm und einer Retentionszeit von 205,25 min. Vermutlich handelt es sich bei Peak 1 um ein Luteinderivat, was aufgrund des angehängten Zuckers eine frühere Retentionszeit aufweist als das Aglykon. Peak 3 erschien bei 137,72 Minuten im

Chromatogramm (s. Abb. 54). Seine Absorptionsmaxima lagen bei 266/334 nm (s. Tab. 19). Der Apigenin-Glykosid-Standard wies die gleichen Absorptionsmaxima auf, die Retentionszeit lag bei 159,23 Minuten. Nach der enzymatischen Hydrolyse des Peak 3 entstand als Spaltprodukt das Aglykon Apigenin, dessen Absorptionsmaxima bei 266/334 nm und dessen Retentionszeit bei 218, 20 Minuten lagen. Vermutet wird, dass es sich bei dieser Substanz um ein Apigeninderivat handelt, was aufgrund des angehängten Zuckerrestes eine bessere Wasserlöslichkeit und dementsprechend eine frühere Retentionszeit aufweist als das Aglykon. Auch wenn einige Spektren auf Flavonole hinwiesen, konnten keine Flavonole in den Extrakten der 5 Perilla-Linien nachgewiesen werden (Bruna, 2010).

Der Peaks 6, 8 und 9 wurden aufgrund ihrer Absorptionsspektren der Substanzklasse der Anthocyane zugeordnet. Sie erschienen bei 171,09 Minuten, 189,97 Minuten und 199,62 Minuten im Chromatogramm (s. Abb. 54). Ihre Absorptionsmaxima lagen bei 280/526 nm (s. Tab. 22), 282/310/522 nm (s. Tab. 24) und bei 282/525 nm (s. Tab. 25). Aufgrund ihres Absorptionsspektrums scheinen alle drei Peaks an eine weitere Substanz, z.B. eine Hydroxyzimtsäure gebunden, vorzuliegen. In der Literatur werden Malonylshisonin und Shisonin als Hauptanthocyane des Perilla-Blatt beschrieben. Diese setzen sich zusammen aus Cyanidin, an das eine Hydroxyzimtsäure über Glucose gebunden vorliegt. Der Cyanidinstandard wies mit den Absorptionsmaxima von 276/526 nm eine große Übereinstimmung mit den Absorptionsspektren der Peaks 6,8 und 9 auf. Somit wurden die Peaks 6,8 und 9 als Cyanidinderivate identifiziert. Nach der enzymatischen Hydrolyse der Substanzen konnten als Spaltprodukte p-Cumarsäure und weitere Rosmarinsäurederivate nachgewiesen werden, was daraufhin deutet, dass es sich um das in der Literatur beschriebenen Shisonin bzw. Malonylshisonin handelt. Aglykone der Anthocyane wurden nach der enzymatischen Hydrolyse nicht detektiert, was auf die geringe Konzentration zurückzuführen ist.

Die Peaks 2 und 5 wurden aufgrund ihrer Absorptionsspektren der Substanzklasse der Hydroxyzimtsäuren zugeordnet. Als Vertreter der Hydroxyzimtsäuren wurde Kaffesäure als Standardsubstanz herangezogen und dargestellt (s. Tab. 18). Peak 2 und 5 erschienen bei 123,58 Minuten und 143 Minuten im Chromatogramm (s. Abb. 54). Ihre Absorptionsmaxima lagen bei 286/319 nm (s. Tab. 18) und bei 329 nm (s. Tab. 21). Der Rosmarinsäure-Standard wies ebenfalls eine Retentionszeit von 143

Minuten und ein Absorptionsmaximum von 329 nm auf. Nach der enzymatischen Hydrolyse des Peak 5 wurde Kaffeesäure als Spaltprodukt nachgewiesen.

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde der Peak 5 als Rosmarinsäure identifiziert. Das Spektrum des Peak 2 wies große Ähnlichkeit auf mit einer Substanz, die nach der enzymatischen Hydrolyse von Rosmarinsäure entstanden war. Weitere Untersuchungen ergaben, dass es sich bei dieser Substanz vermutlich um eine cis-Form der Rosmarinsäure handelt (Bruna, 2010). Auch der Peak 7 wurde aufgrund des Absorptionsspektrums doch insbesondere aufgrund der nach der Hydrolyse entstandenen Spaltprodukte der Substanzklasse der Hydroxycimtsäuren zugeordnet. Er erschien bei 173,25 Minuten im Chromatogramm (s. Abb. 54). Sein Absorptionsmaximum lag bei 303 nm (s. Tab. 23). Nach der Hydrolyse entstanden Spaltprodukte, die als p-Cumarsäure und Protocatechusäure identifiziert wurden. Eine nähere Identifizierung des Peak 7 wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt.

Der Peak 4 erschien bei 140 Minuten im Chromatogramm (s. Abb. 54). Sein Absorptionsmaximum lag bei 281 nm (s. Tab. 20). Sein Spektrum stimmte zwar mit dem des Dihydrokaffeesäure-Standards überein, jedoch zeigten beide Substanzen sehr unterschiedliche Retentionszeiten, die beim Dihydrokaffeesäure-Standard bei 24 Minuten und bei dem Peak 4 bei 140 Minuten lagen. Peak 4 wurde nicht näher untersucht und ging als sonstige phenolische Verbindung in die Quantifizierung ein.

4.2 Einfluss von Salz- und Trockenstress

In diesem Kapitel erfolgt zunächst die Darstellung des Einflusses von Salz- und Trockenstress auf die Ertragsparameter beim Anbau von *Perilla frutescens* L. Anschließend wird der Einfluss der Stressniveaus auf die inhaltstoffliche Zusammensetzung der Perilla-Linien dargestellt.

4.2.1 Ertragsparameter

Sofern es möglich war, wurden die Wuchshöhe und die Trockensubstanz der Perilla-Linien 2 und 5 in den Anbaujahren 2007 und 2008 ermittelt. Signifikante Unterschiede wurden mittels Kleinbuchstaben gekennzeichnet. Als signifikant galten Daten mit einem p-Wert $< 0,05$. Die Kontrollgruppen wurden 2 mal täglich mit einer Nährlösung bewässert, die auf EC 3,0 eingestellt worden war. Die Differenz der elektrischen Leitfähigkeit (EC) von den Kontrollgruppen zu den Salzstresstufen wurde durch Zugabe von NaCl erreicht.

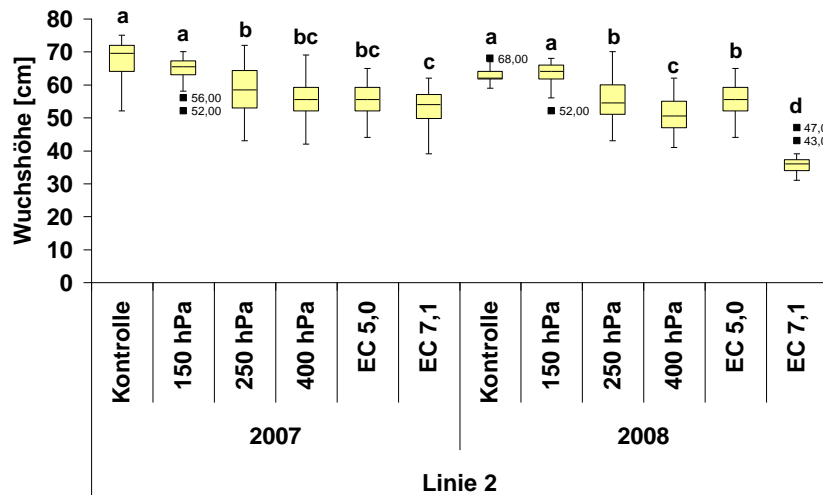


Abb. 55: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf die Wuchshöhe der Perilla-Linie 2 in den Versuchsjahren 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 2 zeigte die Wuchshöhe innerhalb beider Versuchsjahre signifikante Unterschiede zwischen den Stresstufen ($n=30$) (s. Abb. 55). Den höchsten Wuchs im Mittel zeigten jeweils die Kontrollpflanzen mit $68,0 \text{ cm} \pm 5,5 \text{ cm}$ im Anbaujahr 2007 und $62,7 \text{ cm} \pm 2,1 \text{ cm}$ im Anbaujahr 2008. Die Wuchshöhe von Pflanzen, die einem leichtem Trockenstress von 150 hPa ausgesetzt worden waren, betrug im Mittel im Jahr 2007 $64,8 \text{ cm} \pm 3,8 \text{ cm}$ und im Jahr 2008 $63,3 \text{ cm} \pm 3,5 \text{ cm}$, womit diese sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe unterschieden. Mit zunehmendem Trockenstress nahmen die Wuchshöhen in beiden Versuchsjahren signifikant ab. Bei Trockenstress von 250 hPa zeigten die Pflanzen im Jahr 2007 eine Wuchshöhe von $58,7 \text{ cm} \pm 8,2 \text{ cm}$, im Jahr 2008 eine Wuchshöhe von $55,0 \text{ cm} \pm 6,6 \text{ cm}$, bei zunehmendem Trockenstress von 400 hPa betrug die Wuchshöhe im Jahr 2007 $55,5 \text{ cm} \pm 6,1 \text{ cm}$ und im Jahr 2008 $50,5 \text{ cm} \pm 5,5 \text{ cm}$.

Bei Salzstress von EC 5,0 erreichten die Pflanzen im Jahr 2007 eine Wuchshöhe von $55,4 \text{ cm} \pm 5,2 \text{ cm}$, im Jahr 2008 $54,1 \text{ cm} \pm 3,2 \text{ cm}$. Die Pflanzen zeigten bei Salzstress von EC 7,1 in beiden Jahren die geringste Wuchshöhe von $53,0 \text{ cm} \pm 5,3 \text{ cm}$ im Jahr 2007 und $36,2 \text{ cm} \pm 2,8 \text{ cm}$ im Jahr 2008.

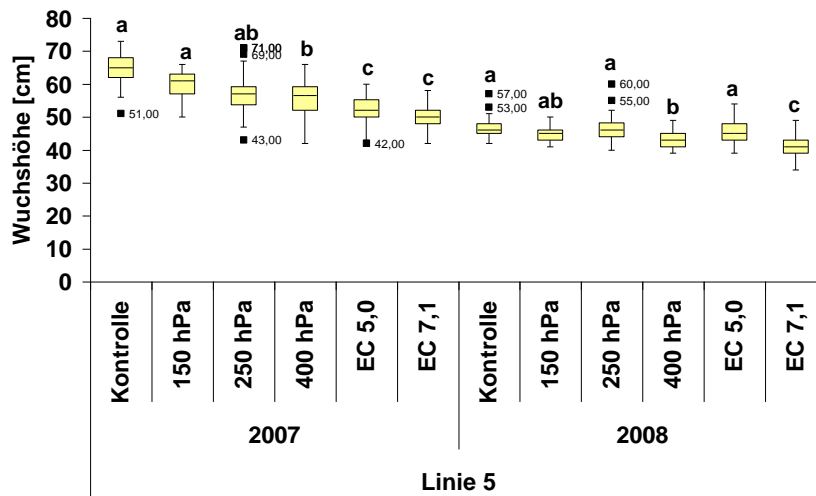


Abb. 56: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf die Wuchshöhe der Perilla-Linie 5 in den Versuchsjahren 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 5 zeigte die Wuchshöhe in beiden Versuchsjahren (s. Abb. 56) signifikante Unterschiede zwischen den Stressstufen ($n=30$). Den höchsten Wuchs im Mittel zeigten jeweils die Kontrollpflanzen mit $64,6 \text{ cm} \pm 4,7 \text{ cm}$ im Anbaujahr 2007 und $46,7 \text{ cm} \pm 2,9 \text{ cm}$ im Anbaujahr 2008. Die Wuchshöhe von Pflanzen, die leichtem Trockenstress von 150 hPa ausgesetzt worden waren, betrug im Mittel im Jahr 2007 $60,1 \text{ cm} \pm 4,2 \text{ cm}$ und im Jahr 2008 $44,6 \text{ cm} \pm 2,2 \text{ cm}$, womit diese sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe unterschieden. Mit zunehmendem Trockenstress nahm die Wuchshöhe im Jahr 2007 tendenziell ab und betrug im Mittel bei 250 hPa $57,1 \text{ cm} \pm 6,3 \text{ cm}$, im Jahr 2008 $46,5 \text{ cm} \pm 4,0 \text{ cm}$ und bei 400 hPa im Jahr 2007 $55,9 \text{ cm} \pm 5,2 \text{ cm}$ und im Jahr 2008 $43,3 \text{ cm} \pm 2,8 \text{ cm}$.

Bei Salzstress von EC 5,0 und EC 7,1 zeigten die Pflanzen im Jahr 2007 signifikant niedrigere Wuchshöhen von $52,5 \text{ cm} \pm 4,0 \text{ cm}$, und $50,1 \text{ cm} \pm 3,4 \text{ cm}$. Im Jahr 2008 zeigten die Pflanzen für EC 5,0 eine Wuchshöhe von $45,5 \text{ cm} \pm 4,0 \text{ cm}$ und eine signifikant niedrigere Wuchshöhe bei EC 7,1 von $41,0 \text{ cm} \pm 3,3 \text{ cm}$.

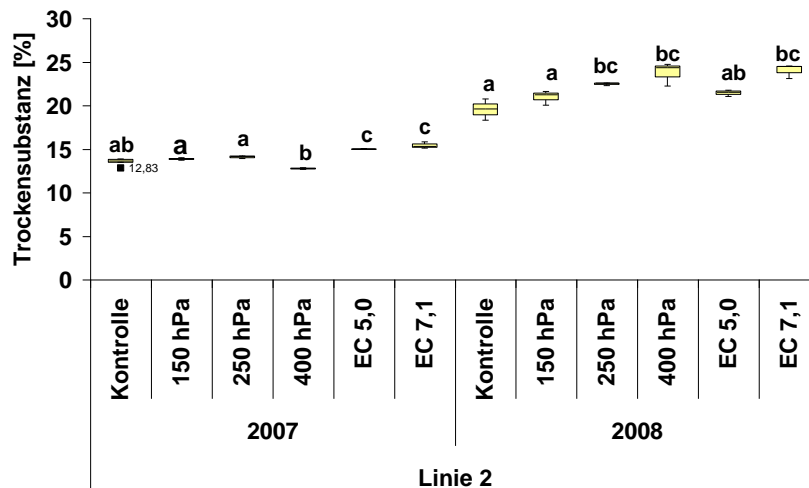


Abb. 57: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf die Trockensubstanz der Perilla-Linie 2 in 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 2 (s. Abb. 59) zeigten die Trockensubstanzerträge innerhalb beider Versuchsjahre signifikante Unterschiede zwischen den Stressstufen ($n=6$). Im Jahr 2007 betrug der Trockensubstanzgehalt der Kontrollgruppe $15,4 \% \pm 0,4 \%$, im Jahr 2008 lag dieser mit $19,6 \% \pm 1,2 \%$ deutlich höher. Der Trockensubstanzgehalt bei leichtem Trockenstress von 150 hPa lag 2007 im Mittel bei $14,0 \% \pm 0,1 \%$, im Jahr 2008 bei $21,0 \% \pm 0,8 \%$. Bei einem Trockenstressniveau von 250 hPa lag der Trockensubstanzgehalt 2007 im Mittel bei $14,2 \% \pm 0,2 \%$, im Jahr 2008 bei $22,5 \% \pm 0,2 \%$. Bei einem Trockenstressniveau von 400 hPa lag der Trockensubstanzgehalt 2007 im Mittel bei $13,0 \% \pm 1,2 \%$, im Jahr 2008 bei $23,8 \% \pm 1,3 \%$.

Der Trockensubstanzgehalt betrug bei Pflanzen die unter Salzstressbedingungen von EC 5,0 wuchsen im Jahr 2007 im Mittel $15,0 \% \pm 0,05 \%$, und im Jahr 2008 $22,0 \% \pm 0,4 \%$. Den höchsten Trockensubstanzgehalt zeigten in beiden Jahren die Pflanzen, die unter EC 7,1 wuchsen. Im Mittel lagen die Trockensubstanzgehalte im Jahr 2007 bei $15,0 \% \pm 0,05 \%$ und im Jahr 2008 bei $24,0 \% \pm 0,8 \%$.

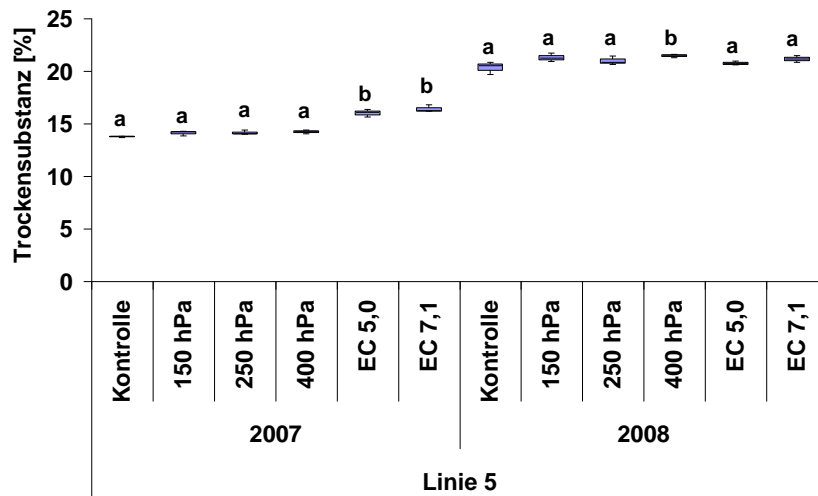


Abb. 58: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf die Trockensubstanz der Perilla-Linie 5 in 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 5 zeigten die Trockensubstanzgehalte innerhalb beider Versuchsjahre signifikante Unterschiede zwischen den Stresstufen (s. Abb. 58). Im Jahr 2007 unterschieden sich die Trockensubstanzgehalte der Kontrollgruppe und der Trockenstressniveaus nicht signifikant und betragen im Mittel $14,1 \% \pm 0,1 \%$. Der Trockensubstanzgehalt wurde 2007 unter Salzstressbedingungen von EC 5,0 und EC 7,1 signifikant erhöht und betrug im Mittel $16,2 \% \pm 0,4 \%$. 2008 lagen die Trockensubstanzgehalte deutlich höher als im Jahr 2007 und unterschieden sich mit der Ausnahme der Trockenstressstufe 400 hPa nicht signifikant. Im Mittel betragen sie $21,0 \% \pm 0,2 \%$, bei der Trockenstressstufe von 400 hPa betragen sie im Mittel $21,5 \% \pm 1,8 \%$.

4.2.2 Carotinoide und Chlorophylle- Gehalte und antioxidative Kapazität

Zunächst werden in diesem Kapitel die Gehalte der einzelnen Carotinoide und Chlorophylle von Perilla-Linie 2 und 5 beider Anbaujahre gegenübergestellt. Signifikante Unterschiede werden mit Kleinbuchstaben gekennzeichnet. Wenn keine signifikanten Unterschiede vorlagen, blieb eine Kennzeichnung aus.

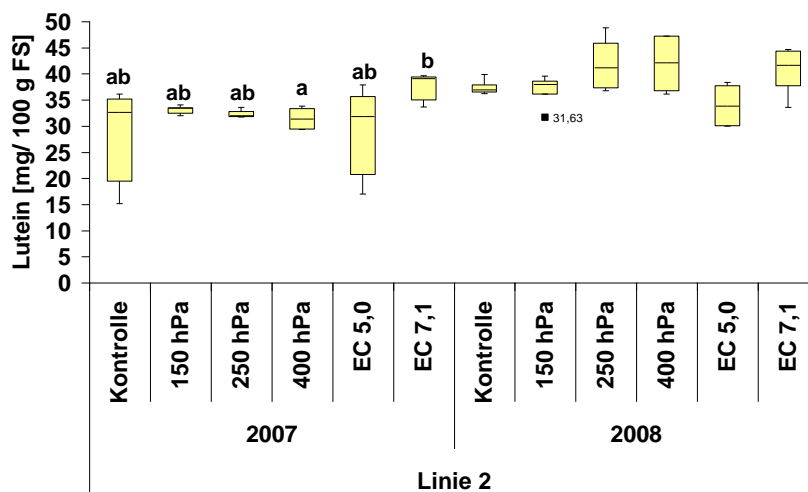


Abb. 59: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den Luteingehalt der Perilla-Linie 2 in 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 2 zeigten die Luteingehalte im Jahr 2007 signifikante Unterschiede zwischen den Stresstufen (s. Abb. 59). Im folgenden Anbaujahr 2008 wurden diese nicht nachgewiesen. Den höchsten Luteingehalt, bezogen auf 100 g Frischsubstanz, zeigten die Pflanzen der Stresstufe EC 7,1 mit $37,1 \text{ mg} \pm 3,1 \text{ mg}$, gefolgt von den Pflanzen der Gruppe 150 hPa mit $33,1 \text{ mg} \pm 0,8 \text{ mg}$, Pflanzen der Gruppe 250 hPa mit $32,4 \text{ mg} \pm 1,0 \text{ mg}$, Pflanzen der Gruppe 400 hPa mit $31,4 \pm 2,4 \text{ mg}$, Pflanzen der Gruppe EC 5,0 mit $27,1 \text{ mg} \pm 9,5 \text{ mg}$ und schließlich den Pflanzen der Kontrollgruppe mit $28,0 \text{ mg} \pm 9,9 \text{ mg}$. Im Versuchsjahr 2008 betrug der Luteingehalt im Mittel $38,7 \text{ mg} \pm 5,1 \text{ mg}$.

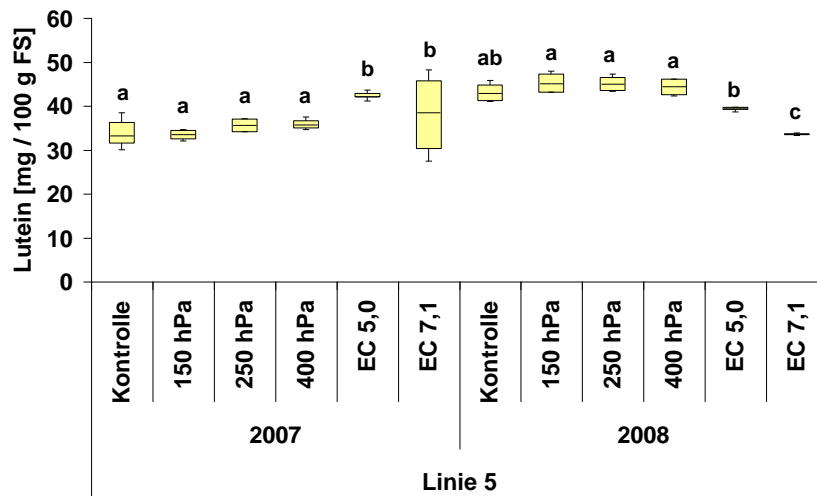


Abb. 60: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den Luteingehalt der Perilla-Linie 5 in 2007/2008

Bei der Linie 5 zeigten die Luteingehalte innerhalb beider Versuchsjahre signifikante Unterschiede zwischen den Stressstufen (s. Abb. 60). Den höchsten Luteingehalt, bezogen auf 100 g Frischsubstanz, zeigten im Jahr 2007 die Pflanzen der Stressstufe EC 5,0 mit $42,4 \text{ mg} \pm 1,0 \text{ mg}$, gefolgt von den Pflanzen der Gruppe EC 7,1 mit $38,1 \text{ mg} \pm 9,2 \text{ mg}$, Pflanzen der Gruppe 400 hPa mit $36,0 \text{ mg} \pm 1,3 \text{ mg}$, Pflanzen der Gruppe 250 hPa mit $35,6 \pm 1,7 \text{ mg}$, Pflanzen der Kontrollgruppe mit $34,0 \text{ mg} \pm 3,3 \text{ mg}$ und schließlich den Pflanzen der Gruppe 150 hPa mit $33,4 \text{ mg} \pm 1,3 \text{ mg}$. Im Jahr 2008 zeigten die Pflanzen der Stressstufe 15 hPa mit $45,3 \text{ mg} \pm 2,5 \text{ mg}$ den höchsten Luteingehalt bezogen auf 100 g Frischsubstanz, gefolgt von Pflanzen der Gruppe 250 hPa mit $45,1 \text{ mg} \pm 1,9 \text{ mg}$, gefolgt von Pflanzen der Gruppe 400 hPa mit $44,3 \text{ mg} \pm 2,1 \text{ mg}$, Pflanzen der Kontrollgruppe mit $43,2 \text{ mg} \pm 2,4 \text{ mg}$, Pflanzen der Gruppe EC 5,0 mit $39,4 \text{ mg} \pm 0,5 \text{ mg}$ und schließlich Pflanzen der Gruppe EC 7,1 mit $33,5 \text{ mg} \pm 0,2 \text{ mg}$.

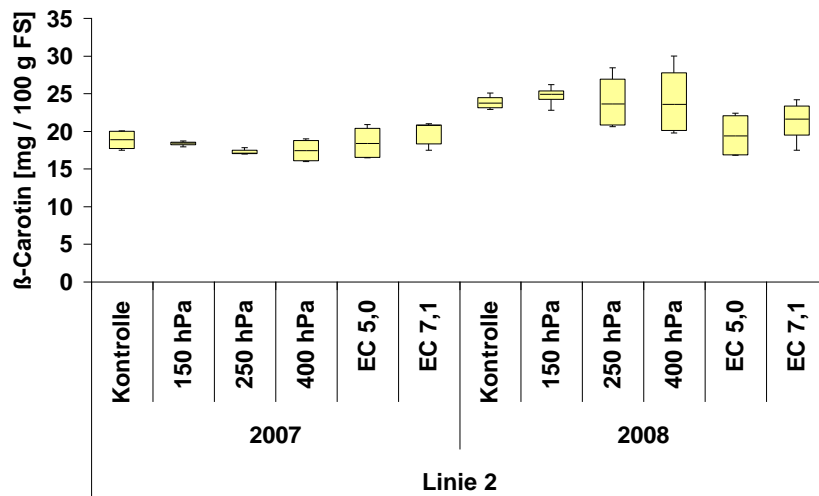


Abb. 61: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den β -Carotingehalt der Perilla-Linie 2 in 2007/2008

Bei der Linie 2 zeigten die β -Carotingehalte in den Jahren 2007 und 2008 keine signifikanten Unterschiede zwischen den Stresstufen (s. Abb. 61). Im Mittel betragen die Gehalte im Jahr 2007 $18,32 \text{ mg} \pm 1,6 \text{ mg}$ und im Jahr 2008 $23,0 \text{ mg} \pm 3,4 \text{ mg}$.

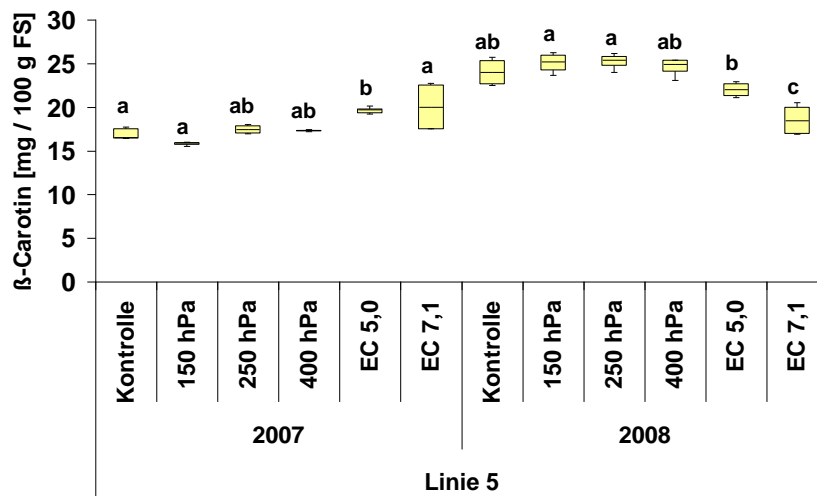


Abb. 62: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den β -Carotingehalt der Perilla-Linie 5 in 2007/2008

Bei der Linie 5 zeigten die β -Carotingehalte innerhalb beider Versuchsjahre signifikante Unterschiede zwischen den Stresstufen (s. Abb. 62). Im Jahr 2007 konnte in den Gruppen der gestressten Pflanzen erhöhte Gehalte an β -Carotin ermittelt werden. Den höchsten β -Carotingehalt zeigten die Pflanzen der Stresstufe EC 7,1 mit $20,1 \text{ mg} \pm 2,9 \text{ mg}$, gefolgt von den Pflanzen der Gruppe EC 5,0 mit $19,6 \text{ mg} \pm 0,3 \text{ mg}$, g, Pflanzen der Gruppe 250 hPa mit $17,5 \text{ mg} \pm 0,5 \text{ mg}$, Pflanzen der Gruppe 400 hPa mit $17,3 \text{ mg} \pm 0,1 \text{ mg}$, Pflanzen der Kontrollgruppe mit $17,0 \text{ mg} \pm 0,6 \text{ mg}$ und Pflanzen der Gruppe 150 hPa mit $15,8 \text{ mg} \pm 0,2 \text{ mg}$.

Im Jahr 2008 lagen die Gehalte tendenziell höher. Die β -Carotingehalte nahmen in diesem Jahr insbesondere in salzgestressten Pflanzen ab. Der höchste β -Carotingehalt mit $25,2 \text{ mg} \pm 0,9 \text{ mg}$ wurde für die Pflanzen der Gruppe 250 hPa ermittelt, gefolgt von $25,1 \text{ mg} \pm 1,2 \text{ mg}$ in der Gruppe mit moderatem Trockenstress von 150 hPa, gefolgt von $24,6 \text{ mg} \pm 1,1 \text{ mg}$ in der Gruppe mit einem Trockenstressniveau von 400 hPa, gefolgt von der Kontrollgruppe mit $24,0 \text{ mg} \pm 1,7 \text{ mg}$ und schließlich die salzgestressten Pflanzen aus der Gruppe EC 5,0 mit $22,0 \text{ mg} \pm 0,9 \text{ mg}$ und $18,6 \text{ mg} \pm 1,9 \text{ mg}$ in der Gruppe EC 7,1.

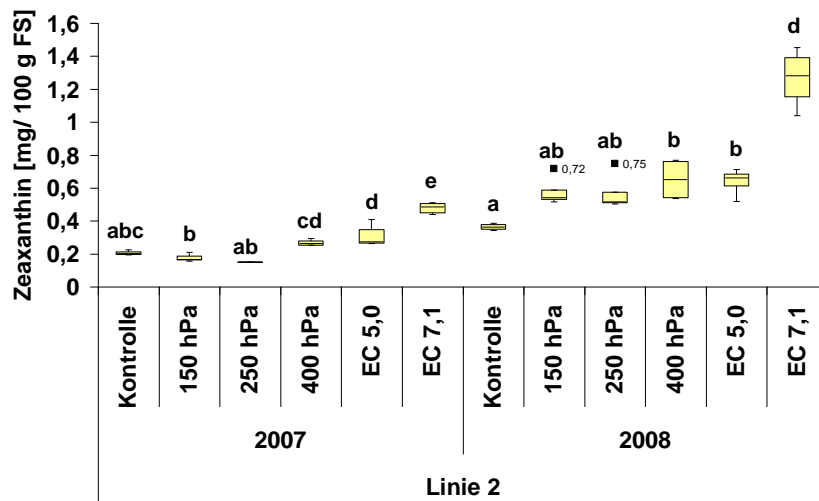


Abb. 63: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den Zeaxanthingehalt der Perilla-Linie 2 in 2007/2008

Bei der Linie 2 zeigten die Zeaxanthingehalte innerhalb beider Versuchsjahre signifikante Unterschiede zwischen den Stresstufen (s. Abb. 63). In beiden Versuchsjahren konnte der Zeaxanthingehalt sowohl durch Trocken-, als auch durch Salzstress erhöht werden. Im Jahr 2007 zeigten die Pflanzen der Gruppe EC 7,1 mit $0,5 \text{ mg} \pm 0,03 \text{ mg}$ den höchsten Gehalt, gefolgt von der Gruppe EC 5,0 mit $0,31 \text{ mg} \pm 0,06 \text{ mg}$, der Gruppe 400 hPa mit $0,27 \text{ mg} \pm 0,02 \text{ mg}$, der Kontrollgruppe mit $0,21 \text{ mg} \pm 0,01 \text{ mg}$ und schließlich der Gruppe 250 hPa mit $0,15 \text{ mg} \pm 0,02 \text{ mg}$.

Im Jahr 2008 lagen die Gehalte deutlich höher. Den höchsten Gehalt erzielte auch hier die Gruppe EC 7,1 mit $1,3 \text{ mg} \pm 0,19 \text{ mg}$, gefolgt von den Gruppen 400 hPa mit $0,65 \text{ mg} \pm 0,13 \text{ mg}$, der Gruppe EC 5,0 mit $0,64 \text{ mg} \pm 0,08 \text{ mg}$, der Gruppe 150 hPa mit $0,58 \text{ mg} \pm 0,1 \text{ mg}$, der Gruppe 250 hPa mit $0,57 \text{ mg} \pm 0,1 \text{ mg}$ und schließlich der Kontrollgruppe mit $0,4 \text{ mg} \pm 0,01 \text{ mg}$.

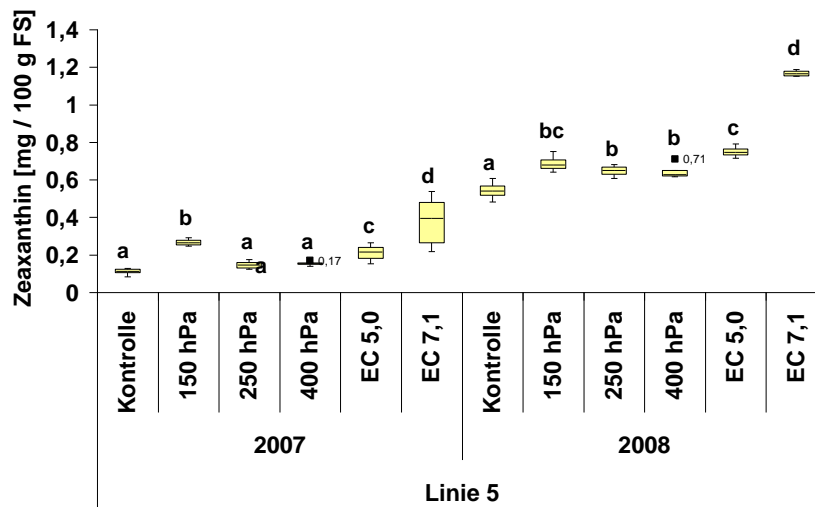


Abb. 64: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den Zeaxanthingehalt der Perilla-Linie 5 in 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 5 zeigten die Zeaxanthingehalte innerhalb beider Versuchsjahre ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen den Stresstufen (s. Abb. 64). Auch hier konnte der Zeaxanthingehalt sowohl durch Trocken-, als auch durch Salzstress erhöht werden. Im Jahr 2007 zeigten die Pflanzen der Gruppe EC 7,1 mit $0,4 \text{ mg} \pm 0,1 \text{ mg}$ den höchsten Gehalt, gefolgt von der Gruppe 150 hPa mit $0,3 \text{ mg} \pm 0,02 \text{ mg}$, der Gruppe EC 5,0 mit $0,21 \text{ mg} \pm 0,04 \text{ mg}$, der Gruppe 400 hPa mit $0,15 \text{ mg} \pm 0,01$ der Gruppe 250 hPa mit $0,15 \text{ mg} \pm 0,02 \text{ mg}$ und schließlich der Kontrollgruppe mit $0,1 \text{ mg} \pm 0,02 \text{ mg}$. Im Jahr 2008 lagen die Gehalte höher. Den höchsten Gehalt erzielte auch hier die Gruppe EC 7,1 mit $1,2 \text{ mg} \pm 0,2 \text{ mg}$, gefolgt von den Gruppen EC 5,0 mit $0,75 \text{ mg} \pm 0,03 \text{ mg}$, 150 hPa mit $0,69 \text{ mg} \pm 0,05 \text{ mg}$, 250 hPa mit $0,65 \text{ mg} \pm 0,03 \text{ mg}$, gefolgt von 400 hPa mit $0,64 \text{ mg} \pm 0,04 \text{ mg}$ und schließlich der Kontrollgruppe mit $0,54 \text{ mg} \pm 0,05 \text{ mg}$.

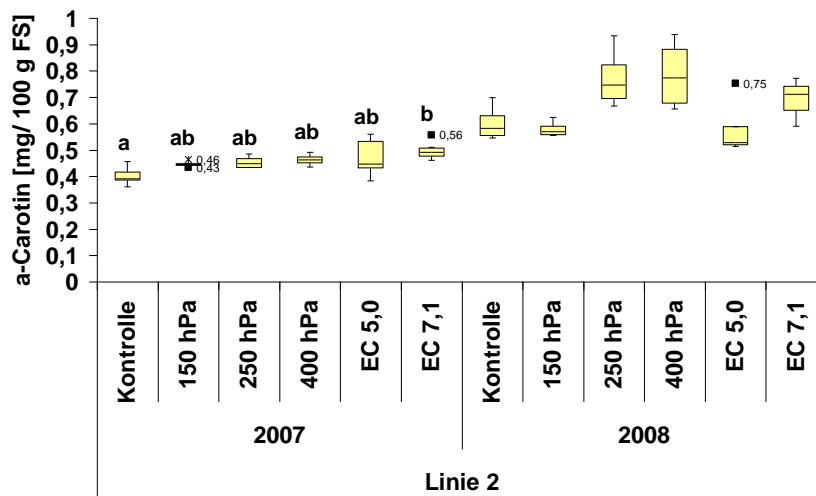


Abb. 65: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den α -Carotingehalt der Perilla-Linie 2 in 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 2 zeigten die α -Carotingehalte im Jahr 2007 signifikante Unterschiede zwischen den Stresstufen (s. Abb. 65). Die höchsten Werte zeigten die Pflanzen der Gruppe EC 7,1 mit $0,49 \text{ mg} \pm 0,03 \text{ mg}$, gefolgt von Pflanzen der Gruppen EC 5,0 mit $0,47 \text{ mg} \pm 0,07 \text{ mg}$, 400 hPa mit $0,46 \text{ mg} \pm 0,02 \text{ mg}$, 250 hPa mit $0,45 \text{ mg} \pm 0,03 \text{ mg}$, 150 hPa mit $0,45 \text{ mg} \pm 0,01 \text{ mg}$ und schließlich der Kontrollgruppe mit $0,40 \text{ mg} \pm 0,03 \text{ mg}$. Im Jahr 2008 wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Hier lagen die Gehalte an α -Carotin im Mittel bei $0,67 \text{ mg} \pm 0,04 \text{ mg}$.

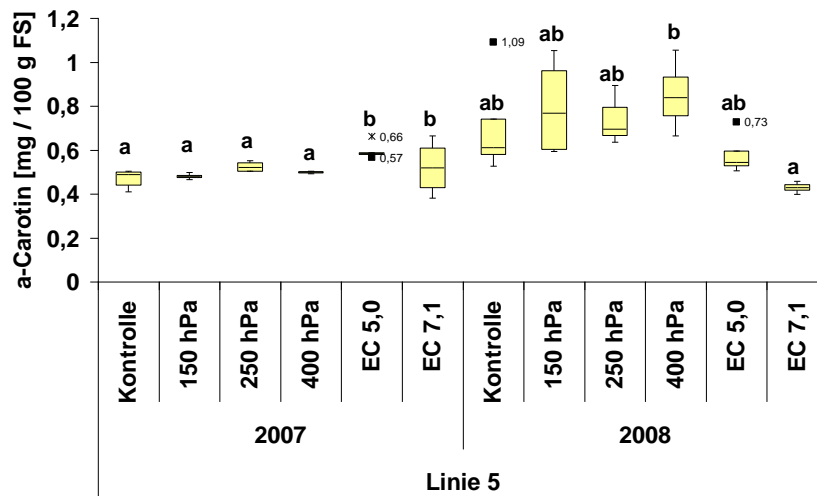


Abb. 66: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den α -Carotingehalt der Perilla-Linie 5 in 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 5 zeigten die α -Carotingehalte im Jahr 2007 und im Jahr 2008 signifikante Unterschiede zwischen den Stresstufen (s. Abb. 66). Im Jahr 2007 zeigte die Gruppe EC 5,0 mit $0,59 \text{ mg} \pm 0,03 \text{ mg}$ den höchsten Gehalt, gefolgt von der Gruppe 250 hPa mit $0,52 \text{ mg} \pm 0,02 \text{ mg}$, der Gruppe EC 7,1 mit $0,52 \text{ mg} \pm 0,01 \text{ mg}$ der Gruppe 400 hPa mit $0,50 \text{ mg} \pm 0,001 \text{ mg}$, der Gruppe 150 hPa mit $0,48 \text{ mg} \pm 0,01 \text{ mg}$ und schließlich der Kontrollgruppe mit $0,47 \text{ mg} \pm 0,04 \text{ mg}$. Im Jahr 2008 lagen die Gehalte durchschnittlich höher, mit $0,85 \text{ mg} \pm 0,17 \text{ mg}$ in der Gruppe 400 hPa, gefolgt von $0,80 \text{ mg} \pm 0,23 \text{ mg}$ in der Gruppe 150 hPa, gefolgt von $0,74 \pm 0,14 \text{ mg}$ in der Gruppe 250 hPa, der Kontrollgruppe mit $0,71 \pm 0,26 \text{ mg}$, $0,58 \text{ mg} \pm 0,10 \text{ mg}$ in der Gruppe EC 5,0 und schließlich $0,43 \text{ mg} \pm 0,02 \text{ mg}$ in der Gruppe EC 7,1.

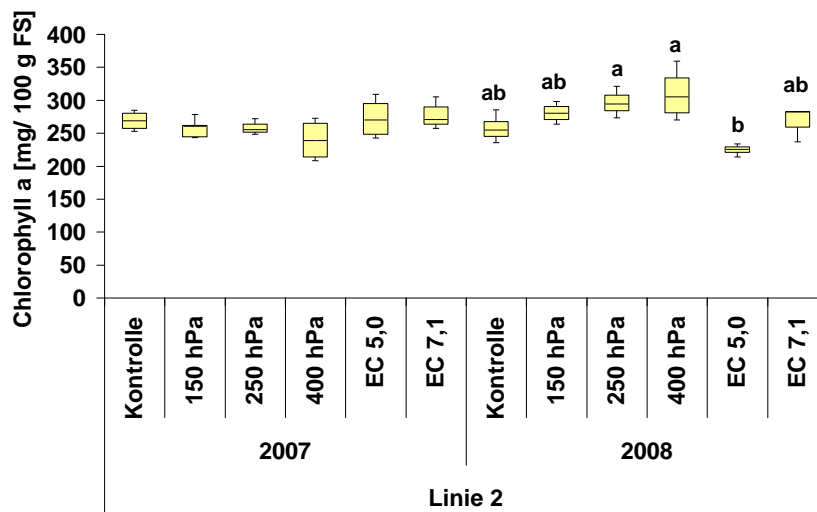


Abb. 67: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den Chlorophyll-a Gehalt der Perilla-Linie 2 in 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 2 zeigten die Gehalte an Chlorophyll-a im Jahr 2007 keine signifikanten Unterschiede zwischen den Stresstufen (s. Abb. 67). Im Mittel betragen diese bezogen auf 100 g Frischsubstanz $262 \text{ mg} \pm 9,0 \text{ mg}$. Im Jahr 2008 wurden signifikante Unterschiede zwischen den Stresstufen festgestellt. Den höchsten Gehalt zeigten die Pflanzen der Gruppe 400 hPa mit $310 \text{ mg} \pm 40 \text{ mg}$, gefolgt von Pflanzen der Gruppe 250 hPa mit $296 \text{ mg} \pm 24 \text{ mg}$, der Gruppe 150 hPa mit $281 \text{ mg} \pm 15 \text{ mg}$, der Gruppe EC 7,1 mit $267 \text{ mg} \pm 27 \text{ mg}$, der Kontrollgruppe $258 \text{ mg} \pm 21 \text{ mg}$ und schließlich der Gruppe EC 5,0 mit $225 \text{ mg} \pm 8,0 \text{ mg}$.

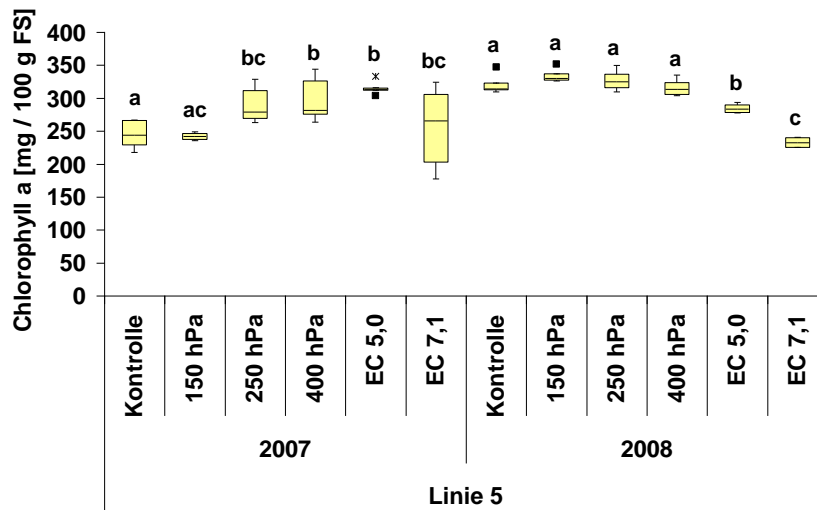


Abb. 68: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den Chlorophyll-a Gehalt der Perilla-Linie 5 in 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 5 zeigten die Chlorophyll-a Gehalte im Jahr 2007 und im Jahr 2008 signifikante Unterschiede zwischen den Stresstufen (s. Abb. 68). Im Jahr 2007 zeigte die Gruppe EC 5,0 den höchsten Gehalt mit $315 \text{ mg} \pm 9,7 \text{ mg}$, gefolgt von der Gruppe 400 hPa mit $297 \text{ mg} \pm 35 \text{ mg}$, der Gruppe 250 hPa mit $289 \text{ mg} \pm 28 \text{ mg}$, der Gruppe EC 7,1 mit $256 \text{ mg} \pm 63 \text{ mg}$, der Kontrollgruppe mit $245 \text{ mg} \pm 21 \text{ mg}$ und schließlich der Gruppe 150 hPa mit $242 \text{ mg} \pm 6,2 \text{ mg}$. Im Jahr 2008 wurden die Gehalte durch Salzstress signifikant verringert. Durch Trockenstress wurden keine signifikanten Veränderungen hervorgerufen. Im Mittel lag der Gehalt in der Kontrollgruppe und den Gruppen 150 hPa, 250 hPa und 400 hPa bei $325 \text{ mg} \pm 7,8 \text{ mg}$, in der Gruppe EC 5,0 bei $285 \text{ mg} \pm 7,9 \text{ mg}$ und in der Gruppe EC 7,1 bei $233 \pm 8,7 \text{ mg}$.

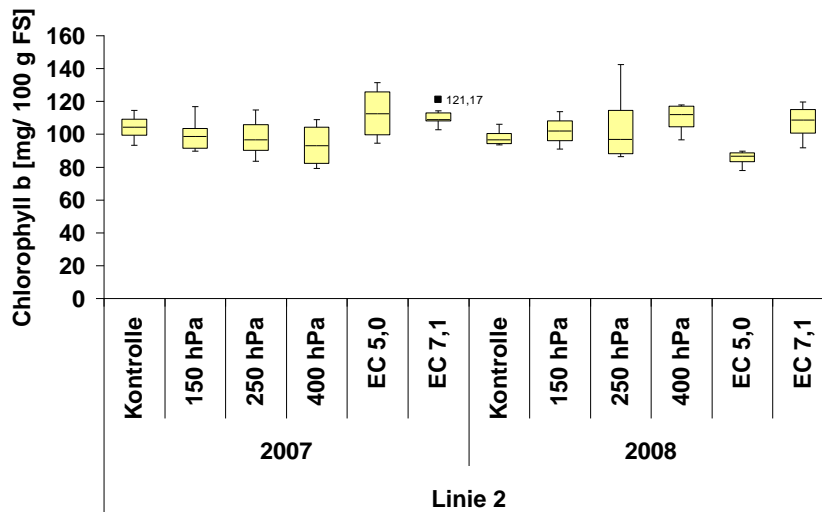


Abb. 69: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den Chlorophyll-b Gehalt der Perilla-Linie 2 in 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 2 zeigten die Chlorophyll-b Gehalte in den Jahren 2007 und 2008 keine signifikanten Unterschiede zwischen den Stresstufen (s. Abb. 69). Im Mittel betragen diese bezogen auf 100 g Frischsubstanz im Jahr 2007 $103 \text{ mg} \pm 7,4 \text{ mg}$ und im Jahr 2008 $101 \text{ mg} \pm 9,0 \text{ mg}$.

Bei der Perilla-Linie 5 jedoch konnten für die Chlorophyll-b Gehalte in den Jahren 2007 und 2008 signifikante Unterschiede zwischen den Stresstufen (s. Abb. 70) ermittelt werden. Im Jahr 2007 zeigte die Gruppe EC 5,0 mit $132 \text{ mg} \pm 5,3 \text{ mg}$ die höchsten Gehalte, gefolgt von der Gruppe 400 hPa mit $127 \text{ mg} \pm 14,4 \text{ mg}$, der Gruppe 250 hPa mit $124 \text{ mg} \pm 11 \text{ mg}$, der Gruppe EC 7,1 mit $123 \pm 24 \text{ mg}$, der Kontrollgruppe mit $105 \text{ mg} \pm 13 \text{ mg}$ und schließlich der Gruppe 150 hPa mit $102 \text{ mg} \pm 9,7 \text{ mg}$. Im Jahr 2008 wurden in allen Gruppen deutlich niedrigere Werte erzielt, die sogar unter denen der Kontrollgruppe lagen. So zeigte nur die Gruppe 150 hPa mit $141 \text{ mg} \pm 9,9 \text{ mg}$ einen höheren Gehalt als die Kontrollgruppe mit $134 \text{ mg} \pm 15,0 \text{ mg}$, gefolgt von der Gruppe 250 hPa mit $133 \text{ mg} \pm 14,0 \text{ mg}$, der Gruppe 400 hPa mit $129 \text{ mg} \pm 18,2 \text{ mg}$, der Gruppe EC 5,0 mit $117 \text{ mg} \pm 11 \text{ mg}$ und schließlich der Gruppe EC 7,1 mit $96 \text{ mg} \pm 8,5 \text{ mg}$.

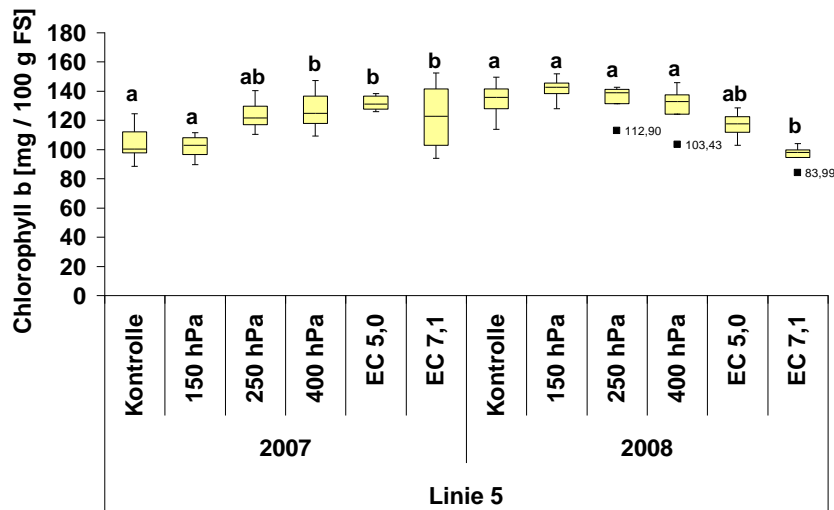


Abb. 70: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den Chlorophyll-b Gehalt der Perilla-Linie 5 in 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 5 zeigten die Chlorophyll-b Gehalte in den Jahren 2007 und 2008 signifikante Unterschiede zwischen den Stresstufen. Im Jahr 2007 zeigte die Gruppe EC 5,0 mit $132 \text{ mg} \pm 5,3 \text{ mg}$ die höchsten Gehalte, gefolgt von der Gruppe 400 hPa mit $127 \text{ mg} \pm 14,4 \text{ mg}$, der Gruppe 250 hPa mit $124 \text{ mg} \pm 11 \text{ mg}$, der Gruppe EC 7,1 mit $123 \pm 24 \text{ mg}$, der Kontrollgruppe mit $105 \text{ mg} \pm 13 \text{ mg}$ und schließlich der Gruppe 150 hPa mit $102 \text{ mg} \pm 9,7 \text{ mg}$.

Im Jahr 2008 zeigte die Gruppe 150 hPa mit $141 \text{ mg} \pm 9,9 \text{ mg}$ den höchsten Gehalt, gefolgt von der Kontrollgruppe mit $134 \text{ mg} \pm 15,0 \text{ mg}$, der Gruppe 250 hPa mit $133 \text{ mg} \pm 14,0 \text{ mg}$, der Gruppe 400 hPa mit $129 \text{ mg} \pm 18,2 \text{ mg}$, der Gruppe EC 5,0 mit $117 \text{ mg} \pm 11 \text{ mg}$ und schließlich der Gruppe EC 7,1 mit $96 \text{ mg} \pm 8,5 \text{ mg}$.

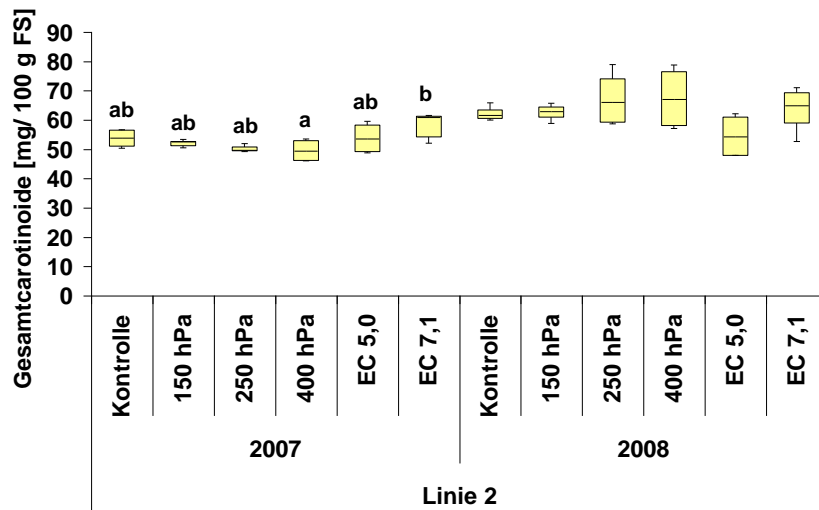


Abb. 71: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den Gesamtcarotinoidgehalt der Perilla-Linie 2 in 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 2 zeigten die Gesamtcarotinoidgehalte nur im Jahr 2007 signifikante Unterschiede zwischen den Stresstufen (s. Abb. 73). Die höchsten Werte zeigten die Pflanzen der Gruppe EC 7,1 mit $58 \text{ mg} \pm 4,7 \text{ mg}$, gefolgt von Pflanzen der Gruppe EC 5,0 mit $54 \text{ mg} \pm 5,6 \text{ mg}$, der Kontrollgruppe mit $53,7 \text{ mg} \pm 3,3 \text{ mg}$. Die Trockenstresspflanzen hatten niedrigere Gesamtcarotinoidgehalte: in der Gruppe 150 hPa mit $52,1 \text{ mg} \pm 1,2 \text{ mg}$, der Gruppe 250 hPa $50,3 \text{ mg} \pm 1,5 \text{ mg}$ und schließlich der Gruppe 400 hPa mit $50,0 \text{ mg} \pm 4,1 \text{ mg}$.

Im Jahr 2008 wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Hier lagen die Gehalte im Mittel bei $63 \text{ mg} \pm 5 \text{ mg}$.

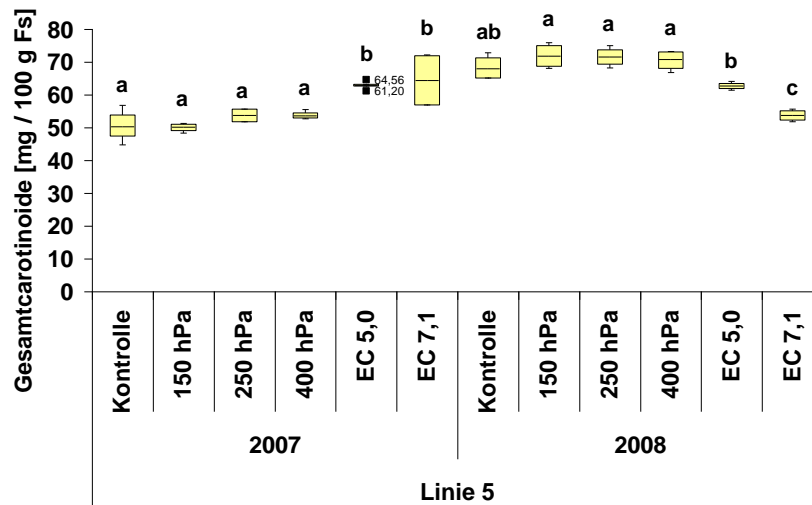


Abb. 72: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den Gesamtcarotinoidgehalt der Perilla-Linie 5 in 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 5 dagegen konnten in beiden Versuchsjahren in den Gesamtcarotinoidgehalten signifikante Unterschiede zwischen den Stresstufen ermittelt werden (s. Abb. 72). Im Jahr 2007 zeigte die Gruppe EC 7,1 mit $64,4 \text{ mg} \pm 8,6 \text{ mg}$ die höchsten Gehalte, gefolgt von der Gruppe EC 5,0 mit $63,0 \text{ mg} \pm 1,2 \text{ mg}$, der Gruppe 400 hPa mit $54,1 \text{ mg} \pm 1,3 \text{ mg}$, der Gruppe 250 hPa mit $54,2 \pm 2,2 \text{ mg}$, der Kontrollgruppe mit $51 \text{ mg} \pm 4,7 \text{ mg}$ und schließlich der Gruppe 150 hPa mit $50,1 \text{ mg} \pm 1,4 \text{ mg}$.

Im Jahr 2008 wurden die Gesamtcarotinoidgehalte in den salzgestressten Gruppen signifikant verringert. Den höchsten Gehalt zeigte die Gruppe 150 hPa mit $71,9 \text{ mg} \pm 4,0 \text{ mg}$, gefolgt von der Gruppe 250 hPa mit $71,5 \text{ mg} \pm 3,2 \text{ mg}$, der Kontrollgruppe mit $68,4 \text{ mg} \pm 4,0 \text{ mg}$, der Gruppe 400 hPa mit $70,3 \text{ mg} \pm 3,2 \text{ mg}$, der Gruppe EC 5,0 mit $62,8 \text{ mg} \pm 1,2 \text{ mg}$ und schließlich der Gruppe EC 7,1 mit $53,7 \text{ mg} \pm 1,9 \text{ mg}$.

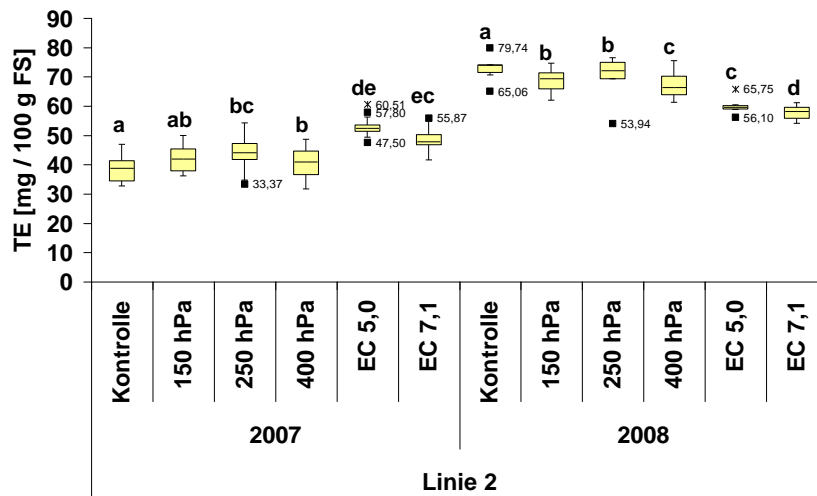


Abb. 73: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf die antioxidative Kapazität der Carotinoide aus Perilla-Linie 2 in 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 2 zeigte die antioxidative Kapazität der Carotinoide, berechnet als Troloxäquivalent, dargestellt durch den TE-Wert, in den Jahren 2007 und 2008 signifikante Unterschiede zwischen den Stressstufen (s. Abb. 73). Im Jahr 2007 zeigten die Pflanzen der Gruppe EC 5,0 mit $53 \text{ mg} \pm 3,0 \text{ mg}$ den höchsten Wert, gefolgt von der Gruppe EC 7,1 mit $48,5 \text{ mg} \pm 4,1 \text{ mg}$, der Gruppe 250 hPa mit $43,6 \text{ mg} \pm 5,0 \text{ mg}$, der Gruppe 150 hPa mit $42,4 \text{ mg} \pm 4,1 \text{ mg}$, der Gruppe 400 hPa mit $40,1 \text{ mg} \pm 4,7 \text{ mg}$ und schließlich der Kontrollgruppe mit $38,2 \pm 4,0 \text{ mg}$. Im Jahr 2008 lagen die TE-Gehalte zwar insgesamt deutlich höher, allerdings wirkten sich alle Stressbedingungen negativ auf die TE-Entwicklung aus. Den höchsten Wert erzielte hier die Kontrollgruppe mit $73 \text{ mg} \pm 4,8 \text{ mg}$, gefolgt von der Gruppe 250 hPa mit $70,0 \text{ mg} \pm 8,4 \text{ mg}$, der Gruppe 150 hPa mit $69,0 \text{ mg} \pm 4,6 \text{ mg}$, der Gruppe 400 hPa mit $67,4 \text{ mg} \pm 5,3 \text{ mg}$, der Gruppe EC 5,0 mit $60,0 \text{ mg} \pm 3,2 \text{ mg}$ und schließlich der Gruppe EC 7,1 mit $58,0 \text{ mg} \pm 2,8 \text{ mg}$.

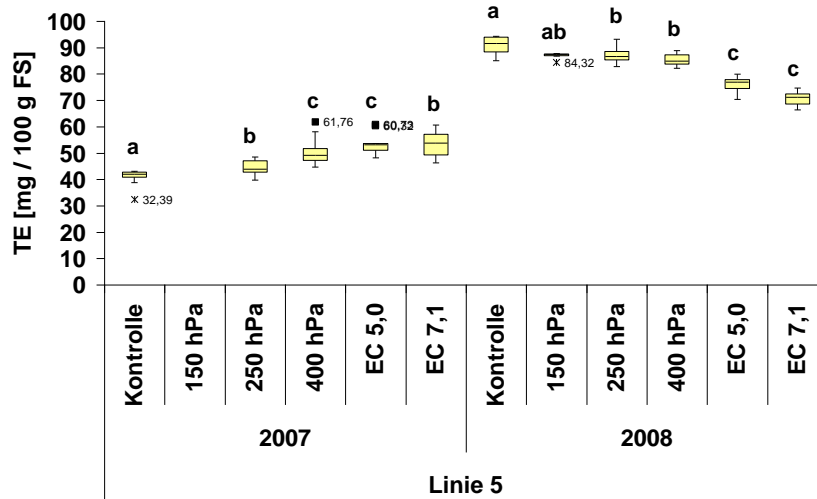


Abb. 74: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf die antioxidative Kapazität der Carotinoide aus Perilla-Linie 5 in 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 5 zeigte die antioxidative Kapazität der Carotinoideextrakte, in den Jahren 2007 und 2008 signifikante Unterschiede zwischen den Stressstufen (s. Abb. 74). Im Jahr 2007 zeigten die Pflanzen der Gruppe EC 7,1 mit $54 \text{ mg} \pm 5,0 \text{ mg}$ den höchsten Wert, gefolgt von der Gruppe EC 5,0 mit $53 \text{ mg} \pm 4,0 \text{ mg}$, der Gruppe 400 hPa mit $50 \text{ mg} \pm 4,8 \text{ mg}$, der Gruppe 250 hPa mit $45 \text{ mg} \pm 2,9 \text{ mg}$ und schließlich der Kontrollgruppe mit $41 \text{ mg} \pm 3,1 \text{ mg}$. Aufgrund der geringen Menge an Probenmaterial konnte die Gruppe 150 hPa in diesem Jahr nicht analysiert werden.

Im Jahr 2008 lagen auch hier die TE-Werte deutlich höher als im Vorjahr und die TE-Werte der Stressgruppen lagen niedriger als die Kontrollgruppe. Den höchsten Wert erzielte hier die Kontrollgruppe mit $91 \text{ mg} \pm 3,8 \text{ mg}$, gefolgt von der Gruppe 250 hPa mit $87 \text{ mg} \pm 3,6 \text{ mg}$, der Gruppe 150 hPa mit $87 \text{ mg} \pm 1,3 \text{ mg}$, der Gruppe 400 hPa mit $85 \text{ mg} \pm 2,6 \text{ mg}$, der Gruppe EC 5,0 mit $76 \text{ mg} \pm 3,4 \text{ mg}$ und schließlich der Gruppe EC 7,1 mit $71 \text{ mg} \pm 3,0 \text{ mg}$.

4.2.3 Polyphenole- Gehalte und antioxidative Kapazität

Im Versuchsjahr 2007 konnten die Analysen der Gruppe 150 hPa teilweise aufgrund zu geringer Menge an Probenmaterial nicht durchgeführt werden.

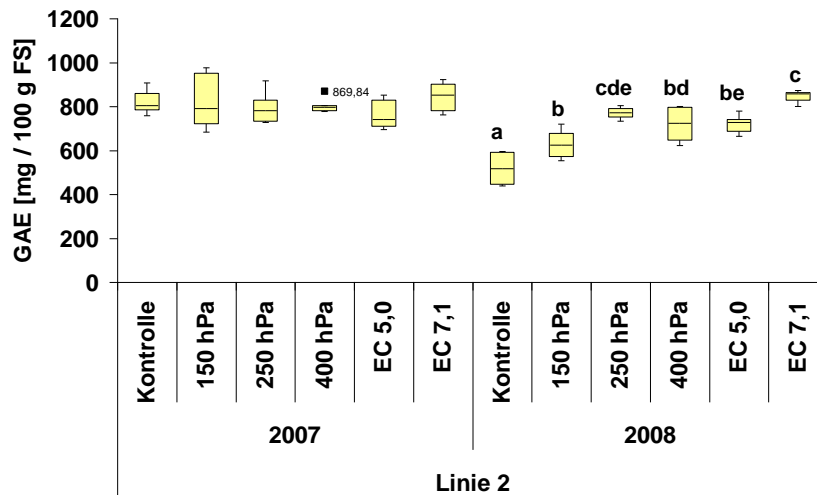


Abb. 75: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den Gesamtpolyphenolgehalt der Perilla-Linie 2 in 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 2 zeigten die Gesamtpolyphenolgehalte im Jahr 2007 keine signifikanten Unterschiede zwischen den Stresstufen (s. Abb. 75). Im Mittel betragen diese bezogen auf 100 g Frischsubstanz $810 \text{ mg} \pm 32 \text{ mg}$. Im Jahr 2008 wurden signifikante Unterschiede zwischen den Stresstufen nachgewiesen. Sowohl durch Trockenstress als auch durch Salzstress konnten die Gehalte bezogen auf 100 g Frischsubstanz erhöht werden. Den höchsten Gehalt mit $846 \text{ mg} \pm 29 \text{ mg}$ zeigten die Pflanzen der Gruppe EC 7,1, gefolgt mit $770 \text{ mg} \pm 28 \text{ mg}$ in der Gruppe 250 hPa, der Gruppe EC 5,0 mit $720 \text{ mg} \pm 43 \text{ mg}$, der Gruppe 400 hPa mit $718 \text{ mg} \pm 86 \text{ mg}$, der Gruppe 150 hPa mit $629 \text{ mg} \pm 68 \text{ mg}$ und schließlich in der Kontrollgruppe mit $518 \text{ mg} \pm 80 \text{ mg}$.

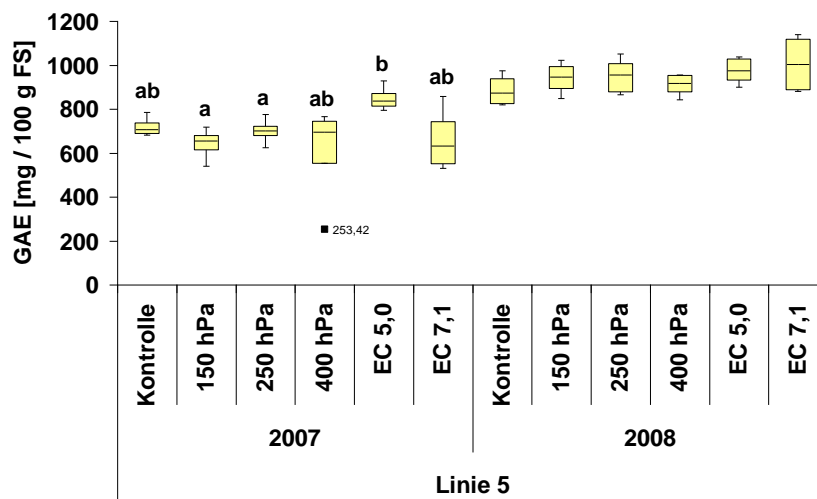


Abb. 76: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf den Gesamtpolyphenolgehalt der Perilla-Linie 5 in 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 5 zeigten die Gesamtpolyphenolgehalte im Jahr 2007 signifikante Unterschiede zwischen den Stresstufen (s. Abb. 76). Den höchsten Gehalt bezogen auf 100 g Frischsubstanz zeigten mit $849 \text{ mg} \pm 58 \text{ mg}$ die Pflanzen der Gruppe EC 5,0 gefolgt von der Kontrollgruppe mit $720 \text{ mg} \pm 46 \text{ mg}$, der Gruppe 250 hPa mit $700 \text{ mg} \pm 62 \text{ mg}$, der Gruppe EC 7,1 mit $662 \text{ mg} \pm 150 \text{ mg}$, der Gruppe 150 hPa mit $641 \text{ mg} \pm 76 \text{ mg}$, und schließlich die Gruppe 400 hPa mit $602 \text{ mg} \pm 237 \text{ mg}$.

Im Jahr 2008 wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Stresstufen nachgewiesen, jedoch wurden durchschnittlich höhere Gehalte erzielt als im Vorjahr. Im Mittel betragen diese bezogen auf 100 g Frischsubstanz $944 \text{ mg} \pm 29 \text{ mg}$.

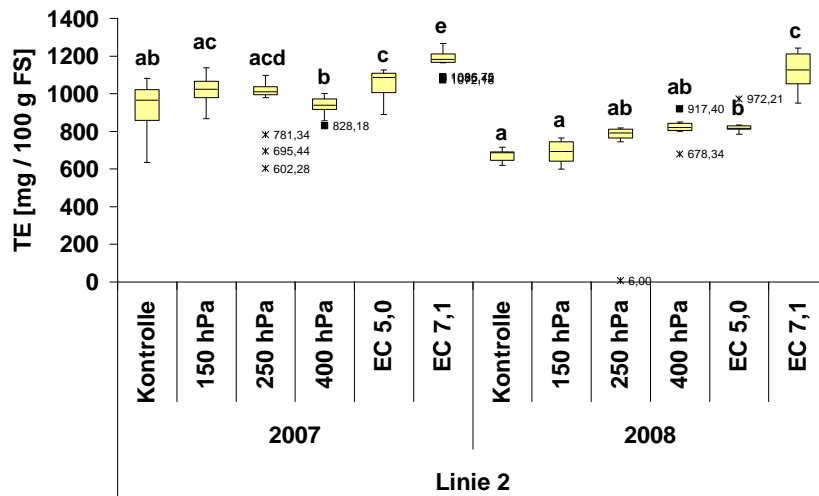


Abb. 77: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf die antioxidative Kapazität der Polyphenole aus Perilla-Linie 2 in 2007/2008

Bei der Perilla-Linie 2 zeigte die antioxidative Kapazität der Polyphenolextrakte, berechnet als Troloxäquivalent, dargestellt durch den TE-Wert, in den Jahren 2007 und 2008 signifikante Unterschiede zwischen den Stressstufen (s. Abb. 77). Im Jahr 2007 zeigten die Pflanzen der Gruppe EC 7,1 mit 1177 mg ± 58 mg den höchsten Wert, gefolgt von der Gruppe EC 5,0 mit 1058 mg ± 68 mg, der Gruppe 150 hPa mit 1012 mg ± 84 mg, der Gruppe 250 hPa mit 971 mg ± 135 mg, der Gruppe 400 hPa mit 934 mg ± 52 mg und schließlich der Kontrollgruppe mit 932 ± 122 mg. Im Jahr 2008 lagen die Werte deutlich niedriger. Den höchsten Wert erzielte hier ebenfalls die Gruppe EC 7,1 mit 1118 mg ± 115 mg, gefolgt von der Gruppe EC 5,0 mit 838 mg ± 67 mg, der Gruppe 400 hPa mit 814 mg ± 78 mg, der Gruppe 250 hPa mit 792 mg ± 27 mg, der Gruppe 150 hPa mit 689 mg ± 69 mg und schließlich der Kontrollgruppe mit 671 mg ± 37 mg.

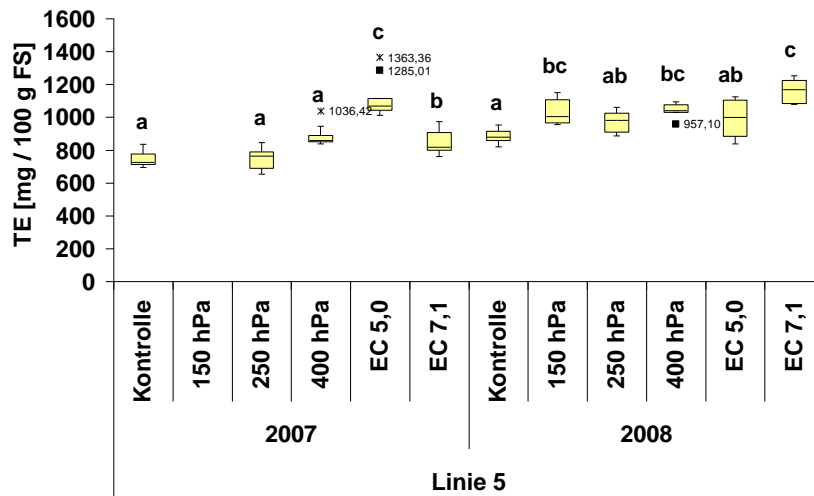


Abb. 78: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf die antioxidative Kapazität der Polyphenole aus Perilla-Linie 5 in 2007/2008

Auch bei der Perilla-Linie 5 zeigte die antioxidative Kapazität der Polyphenolextrakte in beiden Versuchsjahren signifikante Unterschiede zwischen den Stresstufen (s. Abb. 78). Die Pflanzen der Gruppe EC 5,0 zeigten mit $1116 \text{ mg} \pm 124 \text{ mg}$ die höchsten Werte, gefolgt von der Gruppe 400 hPa mit $885 \text{ mg} \pm 58 \text{ mg}$, der Gruppe EC 7,1 mit $852 \pm 77 \text{ mg}$, der Gruppe 250 hPa mit $749 \text{ mg} \pm 67 \text{ mg}$ und schließlich der Kontrollgruppe mit $746 \text{ mg} \pm 52 \text{ mg}$.

Im Jahr 2008 erzielte die Gruppe EC 7,1 mit $1161 \text{ mg} \pm 78 \text{ mg}$ den höchsten Gehalt, gefolgt von der Gruppe 400 hPa mit $1040 \text{ mg} \pm 49 \text{ mg}$, der Gruppe 150 hPa mit $1034 \text{ mg} \pm 88 \text{ mg}$, der Gruppe EC 5,0 mit $990 \text{ mg} \pm 130 \text{ mg}$, der Gruppe 250 hPa mit $971 \text{ mg} \pm 73 \text{ mg}$ und schließlich der Kontrollgruppe mit $884 \text{ mg} \pm 49 \text{ mg}$.

Im Folgenden wird die ermittelte antioxidative Kapazität von Carotinoid- und Polyphenolextrakten der jeweiligen Stressniveaus von Perilla-Linien 2 und 5 aus den Versuchsjahren 2007 und 2008 im LPO- Testsystem dargestellt (s. Abb. 79 bis Abb. 82). Im Versuchsjahr 2007 konnten die Analysen der Gruppe 150 hPa aufgrund zu geringer Menge an Probenmaterial nicht durchgeführt werden.

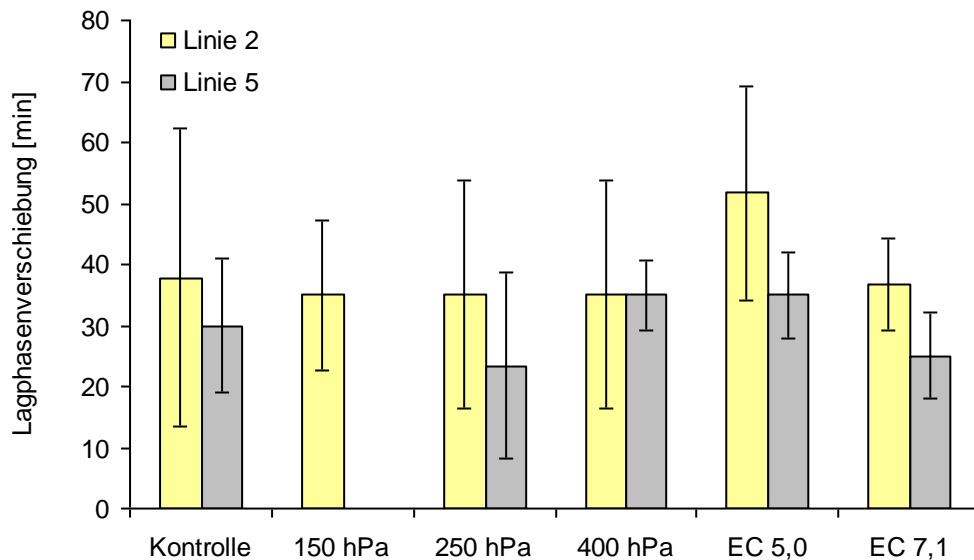


Abb. 79: Einfluss von Carotinoidextrakten verschiedener Stressvarianten auf die Dauer der Lagphase (n=4), Versuchsjahr 2007

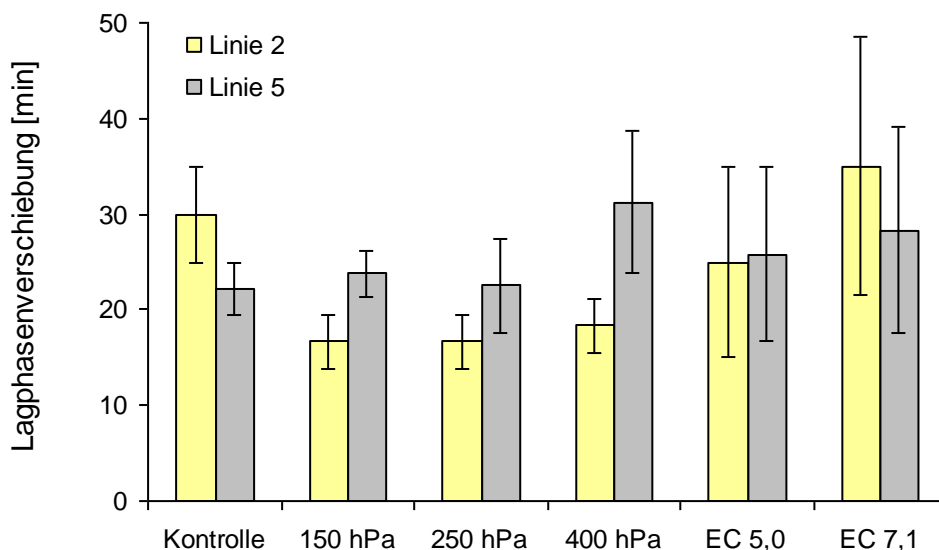


Abb. 80: Einfluss von Carotinoidextrakten verschiedener Stressvarianten auf die Dauer der Lagphase (n=4), Versuchsjahr 2008

Aufgrund der hohen Standardabweichungen konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Stressstufen oder zwischen den Linien der jeweiligen Versuchsjahre 2007 und 2008 nachgewiesen werden. Im Jahr 2007 erreichten die Carotinoideextrakte der Perilla-Linie 2 im Durchschnitt eine Lagphasenverschiebung von 35 Minuten, wobei das Extrakt der Salzstressstufe EC 5,0 mit 51 Minuten tendenziell höher lag (Abb. 81). Im Jahr 2008 lag die Lagphasenverschiebung durch Carotinoideextrakte der Perilla-Linie 2 bei durchschnittlich 30 Minuten (Abb. 82). Die Extrakte der Perilla-Linie 5 des Versuchsjahres 2007 konnten die Lagphase ebenfalls um durchschnittlich 35 Minuten verlängern. Im Jahr 2008 lag die Lag-Phasenverschiebung bei durchschnittlich 31 Minuten.

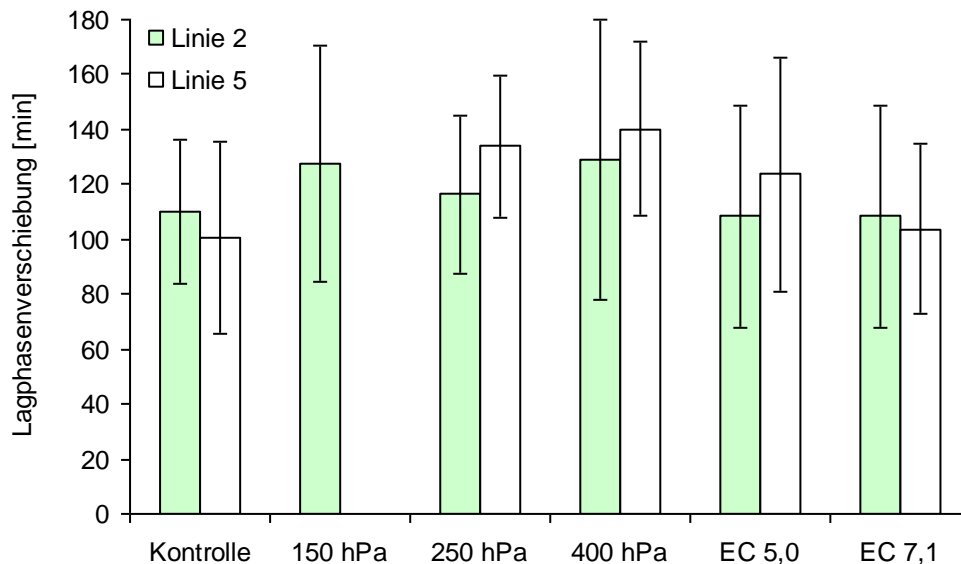


Abb. 81: Einfluss von Polyphenolextrakten verschiedener Stressvarianten auf die Dauer der Lagphase (n=4), Versuchsjahr 2007

Polyphenolextrakte aus Pflanzen der Linie 2, die unterschiedlichen Stressniveaus ausgesetzt worden waren, verlängerten im Jahr 2007 die Lagphasen durchschnittlich um 116 Minuten. Innerhalb der Stressniveaus konnten keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Lagphasenverschiebung festgestellt werden. Durch die Zugabe von Polyphenolextrakten aus Linie 5 konnten im Durchschnitt die Lagphasen um 120 Minuten verzögert werden (Abb. 81).

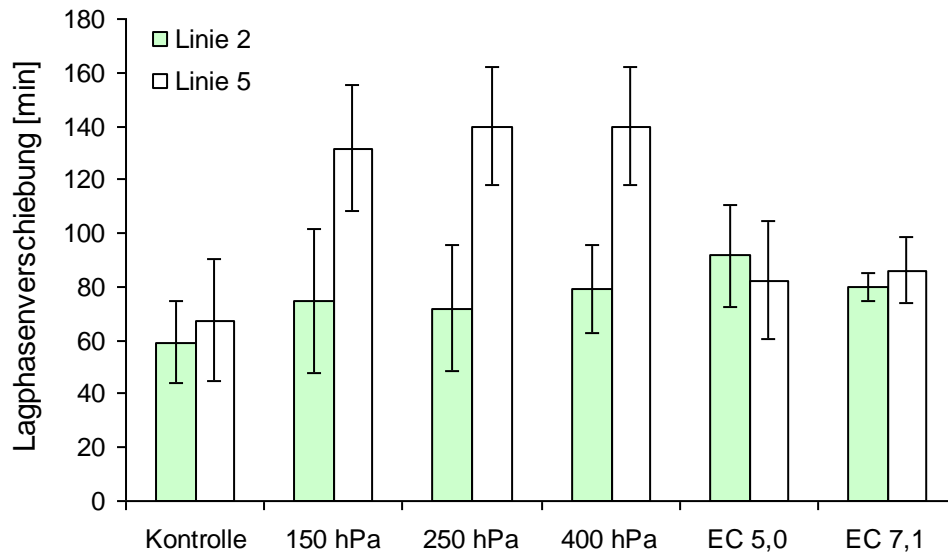


Abb. 82: Einfluss von Polyphenolextrakten verschiedener Stressvarianten auf die Dauer der Lagphase (n=4), Versuchsjahr 2008

Polyphenolextrakte aus Pflanzen der Perilla-Linie 2, die unterschiedlichen Stressniveaus ausgesetzt worden waren, verlängerten im Jahr 2008 die Lagphasen durchschnittlich um 76 Minuten. Innerhalb der Stressniveaus konnten keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Lagphasenverschiebung festgestellt werden. Durch die Zugabe von Polyphenolextrakten aus Perilla-Linie 5 konnten die Lagphasen durchschnittlich um 110 Minuten verzögert werden. (Abb. 82).

4.3 Einfluss von Freiland und Gewächshausanbau

Im Vordergrund bei diesem Versuch stand die Frage, ob sich die verschiedenen Linien der Gattung *Perilla* für den gewerbsmäßigen Freilandanbau (FL) zu hiesigen Bedingungen eignen. Geprüft wurden Erträge und inhaltstoffliche Zusammensetzung der Pflanzen, die mit Daten aus dem Gewächshausanbau (GH) verglichen wurden.

4.3.1 Morphologie und Ertrag

Beide Linien zeigten eine sehr gute Anbaueignung in hiesigen Bedingungen. Das unten abgebildete Foto (Abb. 85) zeigt den Freilandanbau beider *Perilla*-Linien. Das dort zu sehende Gerüst wurde aufgrund der extremen Hagelfälle im Spätsommer 2007 im Folgejahr aufgestellt und sollte den Bestand vor Hagelschäden schützen. Im Versuchsjahr 2008 wurden die Anbauversuche in der benachbarten Parzelle wiederholt, um den Befall bodenbürtiger Schädlinge zu vermeiden. In beiden Jahren konnten sehr gutes Wachstum beider Linien und gute Erträge im Freilandanbau verzeichnet werden. Als einzige Schädlinge wurde die weiße Fliege beobachtet, die nach einer Spritzung mit Seifenlauge (Neudosan) wieder verschwand. Wie in der Abbildung 85 erkennbar, entwickelten sich die Pflanzen sehr gut aber beschatteten sich gegenseitig, was zu leichten Ertragseinbußen führte.



Abb. 83: Freilandpflanzen: *Perilla*-Linien 2 und 5 im Versuchsjahr 2008

Tab. 26: Vergleich von Ertragsparametern von Perilla-Linien 2 und 5- Freiland- und Gewächshausanbau 2007/2008

Linie	Versuchsjahr	Wuchshöhe [cm]		Trockensubstanz [g]	
		FL	GH	FL	GH
2	2007	84,6 ± 3,6	87,0 ± 5,6	16,2 ± 1,6	19,2 ± 0,3 *
	2008	76,6 ± 5,9	83,9 ± 5,6 *	15,4 ± 0,3	17,0 ± 0,3 *
5	2007	80,3 ± 4,5	96,0 ± 3,7 *	17,7 ± 0,4	15,9 ± 0,1 *
	2008	72,0 ± 5,8	96,5 ± 3,8 *	15,9 ± 0,2	16,8 ± 0,2 *
Linie	Versuchsjahr	Blattmasse [g]			
		FL		GH	
2	2007	482,7 ± 32,8		409,7 ± 35,8 *	
	2008	446,5 ± 74,3		374,2 ± 30,7 *	
5	2007	347,4 ± 32,1		292,1 ± 53,1 *	
	2008	307,5 ± 52,7		251,8 ± 31,0 *	

FL = Freilandanbau, GH = Gewächshausanbau

* signifikante Unterschiede $p < 0,05$

Die Perilla-Pflanzen aus dem Freilandanbau (n=50) zeigten in agronomischen und morphologischen Parameter (s. Tab. 26), bis auf eine Ausnahme, signifikante Unterschiede gegenüber den Gewächshauspflanzen (n=50). Generell wuchsen die Freilandpflanzen gedrungener, wirkten „buschiger“ und fester in der Blattstruktur. Außerdem zeigten sie in beiden Versuchsjahren und Linien einen signifikant höheren Blattmasseertrag. Die Gewächshauspflanzen, zeigten bei der Linie 2 im Jahr 2008 und bei der Linie 5 in beiden Versuchsjahren einen signifikant höheren Wuchs als die Freilandpflanzen. Im Jahr 2007 konnten zwischen Gewächshaus- und Freilandpflanzen der Perilla-Linie 2 keine signifikanten Unterschiede in der Wuchshöhe festgestellt werden. Die Gewächshauspflanzen zeigten hier im Mittel eine Wuchshöhe von 87,0 cm ± 5,6 cm, die Freilandpflanzen eine mittlere Wuchshöhe von 84,6 cm ± 3,6 cm. Im Jahr 2008 lag die mittlere Wuchshöhe der Gewächshauspflanzen von Linie 2 bei 83,9 cm ± 5,6 cm und die der Freilandpflanzen mit 76,6 cm ± 5,9 cm darunter.

Bei der Perilla-Linie 5 lag die mittlere Wuchshöhe von Gewächshauspflanzen im Jahr 2007 mit $96,0 \text{ cm} \pm 3,7 \text{ cm}$ deutlich höher als die mittlere Wuchshöhe der Freilandpflanzen mit $80,3 \text{ cm} \pm 4,5 \text{ cm}$. Im Jahr 2008 lag die mittlere Wuchshöhe von Gewächshauspflanzen der Linie 5 bei $96,5 \text{ cm} \pm 3,8 \text{ cm}$ und die der Freilandpflanzen bei $72,0 \text{ cm} \pm 5,8 \text{ cm}$.

Bei beiden Perilla-Linien und Versuchsjahren wiesen die Gewächshauspflanzen eine signifikant geringere Blattmasse auf als die Gruppe der Freilandpflanzen. Bei der Linie 2 betrug die mittlere Blattmasse von Freilandpflanzen im Jahr 2007 $482,7 \text{ g} \pm 32,8 \text{ g}$, die der Gewächshauspflanzen lag im Mittel bei $409,7 \text{ g} \pm 3,8 \text{ g}$. Im Jahr 2008 fiel der Ertrag beider Linien etwas geringer aus als im Jahr zuvor. Die Freilandpflanzen der Linie 2 wiesen eine mittlere Blattmasse von $446,5 \text{ g} \pm 74,3 \text{ g}$ auf und die Gewächshauspflanzen erreichten ein Mittel von $374,2 \text{ g} \pm 30,7 \text{ g}$. Die Linie 5 wies im Jahr 2007 eine mittlere Blattmasse von $347,4 \text{ g} \pm 32,1 \text{ g}$ auf, die Gewächshauspflanzen erreichten eine mittlere Blattmasse von $292,1 \text{ g} \pm 53,1 \text{ g}$. Im Jahr 2008 lag die mittlere Blattmasse von Freilandpflanzen der Linie 5 bei $307,5 \text{ g} \pm 52,7 \text{ g}$ während die Gewächshauspflanzen eine mittlere Blattmasse von $251,8 \text{ g} \pm 31,0 \text{ g}$ aufwiesen.

Die Trockensubstanzgehalte beider Perilla-Linien zeigten bei den Gewächshauspflanzen der Linie 2 in beiden Jahren signifikant höhere Werte im Vergleich zu den Freilandpflanzen. Der mittlere Trockensubstanzgehalt lag in 2007 bei $19,2 \text{ g} \pm 0,3 \text{ g}$ (GH) und bei $16,2 \text{ g} \pm 1,6 \text{ g}$ (FL) sowie in 2008 bei $17,0 \text{ g} \pm 0,3 \text{ g}$ (GH) und bei $15,4 \pm 0,3 \text{ g}$ (FL). Bei Linie 5 lag im Jahr 2007 der Trockensubstanzgehalt der Freilandpflanzen mit $17,7 \text{ g} \pm 0,4 \text{ g}$ signifikant höher als der der Gewächshauspflanzen mit $15,9 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ ebenso wie im Jahr 2008 mit $16,8 \text{ g} \pm 0,2 \text{ g}$ (GH) und mit $15,9 \text{ g} \pm 0,2 \text{ g}$ (FL).

4.3.2 Carotinoide und Chlorophyll-Gehalte und antioxidative Kapazität

Um festzustellen, wie sich der Einfluss des Freilandanbaus auf den Gehalt und die Zusammensetzung der Carotinoide auswirkte, wurden die Gesamtcarotinoidgehalte und die Gehalte einzelner Carotinoide von Gewächshauspflanzen und Freilandpflanzen miteinander verglichen. Außerdem wurden die Chlorophyll-a und Chlorophyll-b Gehalte ermittelt und miteinander verglichen.

Tab. 27: Carotinoidgehalte der Perilla-Linien 2 und 5- Freiland- und Gewächshausanbau 2007/2008

Linie	Versuchsjahr	β-Carotiningehalt [mg / 100 g TS]		Luteingehalt [mg / 100 g TS]	
		FL	GH	FL	GH
2	2007	16,0 ± 0,3	24,6 ± 0,1 *	26,6 ± 0,2	46,8 ± 0,3 *
	2008	13,8 ± 0,6	16,1 ± 0,7 *	30,6 ± 1,7	40,6 ± 3,0 *
5	2007	15,7 ± 0,3	24,3 ± 0,3 *	31,9 ± 0,8	52,5 ± 0,7 *
	2008	19,1 ± 0,5	20,7 ± 0,4 *	37,5 ± 0,8	45,3 ± 1,2 *
Linie	Versuchsjahr	α-Carotiningehalt [mg / 100 g TS]		Zeaxanthingehalt [mg / 100 g TS]	
		FL	GH	FL	GH
2	2007	0,23 ± 0,02	0,6 ± 0,22 *	0,5 ± 0,02	0,9 ± 0,02 *
	2008	0,25 ± 0,05	0,31 ± 0,03	0,46 ± 0,03	0,72 ± 0,05 *
5	2007	0,05 ± 0,01	0,8 ± 0,02 *	0,5 ± 0,04	0,6 ± 0,04
	2008	0,35 ± 0,05	0,34 ± 0,02	0,51 ± 0,03	0,6 ± 0,01 *

* signifikante Unterschiede $p < 0,05$

In beiden Perilla-Linien stellte Lutein mit Abstand die Hauptkomponente der Carotinoide in Gewächshaus- und Freilandpflanzen dar. Sowohl die Perilla-Linie 2 als auch die Perilla-Linie 5 wiesen in beiden Versuchsjahren signifikant höhere Gehalte an β-Carotin und Lutein in den Gewächshauspflanzen auf (s. Tab. 27). Die Gehalte lagen im Jahr 2007 deutlich höher als die Gehalte aus 2008. Im Jahr 2007 lag das Mittel von β-Carotin in Gewächshauspflanzen der Linie 2 bei 24,6 mg ± 0,1 mg, das der Freilandpflanzen bei 16,0 mg ± 0,3 mg. Im Jahr 2008 lag der Gehalt an β-Carotin in Gewächshauspflanzen der Linie 2 bei 16,1 mg ± 0,7 mg, der der Freilandpflanzen bei 13,8 mg ± 0,6 mg. In der Linie 5 lag der β-Carotiningehalt im Jahr

2007 bei den Gewächshauspflanzen bei $24,3 \text{ mg} \pm 0,3 \text{ mg}$, bei den Freilandpflanzen bei $15,7 \text{ mg} \pm 0,6 \text{ mg}$. Der Luteingehalt der Linie 2 lag im Jahr 2007 in den Gewächshauspflanzen im Mittel bei $46,8 \text{ mg} \pm 0,3 \text{ mg}$, in den Freilandpflanzen bei $26,6 \text{ mg} \pm 0,2 \text{ mg}$. Im Jahr 2008 lag der Luteingehalt der Gewächshauspflanzen bei $40,6 \text{ mg} \pm 3,0 \text{ mg}$ und der der Freilandpflanzen bei $30,6 \text{ mg} \pm 1,7 \text{ mg}$. Die Linie 5 zeigte im Jahr 2007 in Gewächshauspflanzen Luteingehalte von $52,5 \text{ mg} \pm 0,7 \text{ mg}$, in den Freilandpflanzen im Mittel $31,9 \text{ mg} \pm 0,8 \text{ mg}$. Im Jahr 2008 liegt der mittlere Gehalt von Gewächshauspflanzen der Linie 5 bei $45,3 \text{ mg} \pm 1,2 \text{ mg}$ und bei Freilandpflanzen bei $37,5 \text{ mg} \pm 0,8 \text{ mg}$.

Die Gewächshauspflanzen der Linie 2 und der Linie 5 zeigten in beiden Jahren im Vergleich zu den Freilandpflanzen jeweils höhere Gehalte an α -Carotin und Zeaxanthin, die jedoch nicht immer signifikant waren. Im Jahr 2007 lag der Gehalt an α -Carotin in Gewächshauspflanzen der Linie 2 mit $0,6 \text{ mg} \pm 0,22 \text{ mg}$ im Mittel signifikant höher als der Gehalt der Freilandpflanzen mit $0,23 \text{ mg} \pm 0,02 \text{ mg}$. Im Jahr 2008 lag der Gehalt mit $0,31 \text{ mg} \pm 0,03 \text{ mg}$ etwas höher als der Gehalt der Freilandpflanzen mit $0,25 \text{ mg} \pm 0,05 \text{ mg}$. Bei der Linie 5 lag der Gehalt von α -Carotin im Jahr 2007 in Gewächshauspflanzen mit $0,8 \text{ mg} \pm 0,02 \text{ mg}$ signifikant höher als in Freilandpflanzen mit $0,05 \text{ mg} \pm 0,01 \text{ mg}$. Im Jahr 2008 unterschieden sich die Gehalte von Freiland- und Gewächshauspflanzen kaum. Der Gehalt liegt in Freilandpflanzen im Mittel bei $0,35 \text{ mg} \pm 0,02 \text{ mg}$, bei Gewächshauspflanzen bei $0,34 \text{ mg} \pm 0,02 \text{ mg}$.

Im Jahr 2007 lag der Gehalt an Zeaxanthin in Gewächshauspflanzen der Linie 2 mit $0,9 \text{ mg} \pm 0,02 \text{ mg}$ im Mittel signifikant höher als der Gehalt der Freilandpflanzen mit $0,5 \text{ mg} \pm 0,02 \text{ mg}$. Im Jahr 2008 lag der Gehalt mit $0,72 \text{ mg} \pm 0,05 \text{ mg}$ signifikant höher als der Gehalt der Freilandpflanzen mit $0,46 \text{ mg} \pm 0,03 \text{ mg}$. Bei der Linie 5 lag der Gehalt von Zeaxanthin im Jahr 2007 in Gewächshauspflanzen mit $0,6 \text{ mg} \pm 0,04 \text{ mg}$ etwas höher als in Freilandpflanzen mit $0,5 \text{ mg} \pm 0,04 \text{ mg}$. Im Jahr 2008 lag der Gehalt an Zeaxanthin in Freilandpflanzen im Mittel bei $0,51 \text{ mg} \pm 0,03 \text{ mg}$ und bei Gewächshauspflanzen mit $0,6 \text{ mg} \pm 0,01 \text{ mg}$ signifikant höher.

Tab. 28: Gesamtcarotinoid- und Chlorophyllgehalte, antioxidative Kapazität der Carotinoide aus Perilla-Linien 2 und 5- Freiland- und Gewächshausanbau 2007/2008

Linie	Versuchsjahr	Chlorophyll a [mg / 100 g TS]		Chlorophyll b [mg / 100 g TS]	
		FL	GH	FL	GH
2	2007	107,8 ± 3,0	163,21 ± 6,4 *	42,0 ± 1,8	66,0 ± 3,6 *
	2008	238,7 ± 2,2	301,5 ± 10,4 *	102,0 ± 1,5	125,3 ± 5,7 *
5	2007	229,2 ± 2,2	354,1 ± 16,1 *	100,0 ± 8,0	117,0 ± 22,5
	2008	285,2 ± 11,5	317,9 ± 3,6 *	128,6 ± 6,5	147,3 ± 2,9 *
Linie	Versuchsjahr	Gesamtcarotinoid- gehalt [mg / 100 g TS]		TE [mg / 100 g TS]	
		FL	GH	FL	GH
2	2007	43,4 ± 0,6	72,8 ± 0,6 *	53,5 ± 5,8	62,5 ± 6,6
	2008	45,1 ± 2,4	57,8 ± 3,8 *	69,3 ± 7,5	92,4 ± 23,1 *
5	2007	48,6 ± 1,1	78,1 ± 1,1 *	52,3 ± 2,4	58,6 ± 2,6 *
	2008	57,5 ± 1,3	67,0 ± 1,6 *	72,0 ± 8,7	95,5 ± 8,6 *

FL = Freilandanbau, GH = Gewächshausanbau, TE= Troloxäquivalent

* signifikante Unterschiede $p < 0,05$

Die Gehalte an Chlorophyll-a und Chlorophyll-b lagen bei beiden Linien in beiden Versuchsjahren in Gewächshauspflanzen signifikant höher als in den Freilandpflanzen, mit einer Ausnahme bei der Linie 5 im Jahr 2007. Linie 5 zeigte auch im Gewächshaus höhere Gehalte als die Linie 2 (s. Tab. 28). Im Jahr 2007 wiesen Gewächshauspflanzen der Linie 2 einen Chlorophyll-a Gehalt von 163,21 mg ± 6,4 mg auf, die Freilandpflanzen einen Gehalt von 107,8 mg ± 3,0 mg. Im Jahr 2008 lag der Gehalt in Gewächshauspflanzen bei 301,5 mg ± 10,4 mg, bei Freilandpflanzen bei 238,7 mg ± 2,2 mg.

4.3.3 Polyphenole- Gehalte und antioxidative Kapazität

Um festzustellen wie der Einfluss des Freilandbaus sich auf den Gehalt und die antioxidative Kapazität der Polyphenole auswirkt, wurden die Gesamtpolyphenolgehalte mittels Folin-Ciocalteu und die antioxidative Kapazität im ABTS – Testsystem bestimmt.

Tab. 29: Gesamtpolyphenolgehalte und antioxidative Kapazität der Polyphenole aus Perilla-Linien 2 und 5- Freiland- und Gewächshausanbau 2007/2008

Linie	Versuchsjahr	GAE [mg/ 100 g FS]		TE [mg/ 100 g FS]	
		FL	GH	FL	GH
2	2007	761,6 ± 42,4	653,8 ± 75,0 *	757,3 ± 19,6	634,4 ± 71,2
	2008	1016,9 ± 82,1	885,0 ± 57,2 *	989,1 ± 41,0	890,8 ± 24,2 *
5	2007	831,6 ± 111,5	730,9 ± 145,8	750,6 ± 38,3	620,0 ± 50,2
	2008	962,2 ± 87,4	892,0 ± 38,1 *	960,1 ± 73,5	814,7 ± 73,5 *

GAE= Gesamtpolyphenolgehalte, TE= Troloxäquivalent,
 FL = Freilandanbau, GH = Gewächshausanbau
 * signifikante Unterschiede p<0,05

Die Polyphenolgehalte (GAE) in Freilandpflanzen lagen bei der Linie 2 und der Linie 5 sowohl im Jahr 2007 als auch im Jahr 2008 signifikant höher als in den Gewächshauspflanzen, mit der Ausnahme der Linie 5 im Jahr 2007. Dort ergaben sich aufgrund der hohen Standardabweichung keine signifikanten Unterschiede (Tab. 29). Im Jahr 2007 zeigte die Linie 2 Gehalte von 761,6 mg ± 42,2 mg, berechnet in GAE und bezogen auf 100 g Frischsubstanz. Die Gewächshauspflanzen zeigten einen Gehalt von 653,8 mg ± 75,0 mg. Im Jahr 2008 lagen die Gehalte bei den Freilandpflanzen mit 1016,9 mg ± 82,1 mg und den Gewächshauspflanzen mit 885,0 mg ± 57,2 mg höher als im Jahr davor. Die Linie 5 erreichte im Jahr 2007 Gehalte von 831,6 mg ± 111,5 mg in den Freilandpflanzen, in den Gewächshauspflanzen dagegen 730,9 mg ± 145,8 mg. Im Jahr 2008 erreichte die Linie 5 in den Freilandpflanzen einen Gehalt von 962,2 mg ± 87,4 mg in den Gewächshauspflanzen einen Gehalt von 892,0 mg ± 87,4 mg.

Die Polyphenolgehalte beider Linien im Vergleich zeigten kaum Unterschiede, wobei die Linie 5 etwas höhere Gehalte in den Gewächshauspflanzen erzielte (s. Tab. 29). Im Jahr 2008 wiesen beide Linien sowohl in den Freilandpflanzen als auch in den Gewächshauspflanzen höhere Polyphenolgehalte auf als im Jahr 2007.

Was die antioxidative Kapazität der Polyphenolextrakte betrifft, erreichten auch hier die Freilandpflanzen beider Linien in beiden Jahren durchweg höhere Werte als die Gewächshauspflanzen, wobei diese Unterschiede im Jahr 2008 in beiden Linien signifikant waren. Extrakte aus dem Jahr 2008 zeigten in der Linie 2 und der Linie 5 im Jahr 2008 höhere Werte als im Jahr 2007. Die Linie 2 zeigte im Jahr 2007 in den Freilandpflanzen eine antioxidative Kapazität, dargestellt in TE-Werten bezogen auf 100 g Frischsubstanz, von $757,3 \text{ mg} \pm 19,6 \text{ mg}$, in den Gewächshauspflanzen $634,4 \text{ mg} \pm 71,2 \text{ mg}$. Im Jahr 2008 lagen die TE-Werte in den Freilandpflanzen der Linie 2 bei $989,1 \text{ mg} \pm 41,0 \text{ mg}$, bei den Gewächshauspflanzen bei $890,8 \text{ mg} \pm 24,2 \text{ mg}$. Im Jahr 2007 lagen die TE-Werte der Freilandpflanzen von Linie 5 bei $750,6 \text{ mg} \pm 38,3 \text{ mg}$, die der Gewächshauspflanzen bei $620,0 \text{ mg} \pm 50,2 \text{ mg}$. Im Jahr 2008 lagen sowohl die TE-Werte der Linie 5 bei den Freilandpflanzen mit $960,1 \text{ mg} \pm 73,5 \text{ mg}$, als auch die der Gewächshauspflanzen mit $814,7 \text{ mg} \pm 73,5 \text{ mg}$ höher als im Jahr davor.

4.4 Verzehrstudie

In der Verzehrstudie wurde untersucht, ob durch Supplementierung mit einem Perilla-Präparat der oxidative Stress im menschlichen Organismus messbar beeinflusst werden konnte.

Tab. 30: Eingangsparameter der Verzehrstudie

	Kontrollgruppe	Diabetiker
Anzahl (n)	7	7
Alter	55.14 ± 5.58	59.71 ± 6.73
BMI	25.31 ± 1.46	28.02 ± 5.24
HbA1c	5.58 ± 0.12	7.31 ± 0,4 *

BMI = Body Mass Index,
HbA1c = an Hämoglobin gebundener Blutzucker
*signifikante Unterschiede $p < 0,001$

Der Gruppe von Diabetikern (n=7) stand die Gruppe der Gesunden (n=7, Kontrollgruppe) gegenüber. Bei den Probanden handelte es sich um Männer zwischen 50 und 65 Jahren, einem BodyMass Index (BMI) zwischen 24-31 und einem HbA1c-Wert zwischen 5,5-7,7. Der Eiweißstoff Hämoglobin bindet Sauerstoffmoleküle und transportiert diese von der Lunge zu den Körperzellen. Zuckermoleküle können sich an die Eiweißmoleküle binden und somit entstehen „verzuckerte Hämoglobine“. Deren Anteil am Gesamthämoglobin ist abhängig von der Blutzuckerkonzentration im Blut. Da dieser bei Diabetikern meist erhöht ist, liegt auch der HbA1c-Wert bei Ihnen höher als bei Gesunden. Der HbA1c-Wert gibt, als eine Art Blutzuckergedächtnis, den durchschnittlichen prozentualen Anteil verzuckerter Hämoglobine an Gesamthämoglobinen der letzten 3 Monate an. Er gilt als eindeutiger Parameter bei der Diagnose von *Diabetes mellitus*. So wurde auch in den Voruntersuchungen dieser Studie festgestellt, dass Diabetiker mit 7,31 % ± 0,4 % einen signifikant höheren Wert aufwiesen als Gesunde mit 5,58 % ± 0.12 %. In weiteren Eingangskriterien wie Alter und Body Mass Index waren jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Probandengruppen vorhanden.

4.4.1 Vergleich Gesunde / Diabetiker vor Supplementierung

Der HbA1c-Wert stellt den durchschnittlichen Blutzuckerwert der letzten 3 Monate dar (s. Tab. 30). Dieser Wert lag innerhalb der Gruppe der Diabetiker mit $7,3 \% \pm 0,4 \%$ hoch signifikant höher als der Wert der Gruppe der Gesunden mit $5,6 \% \pm 0,1 \%$.

Die Konzentrationen der Carotine Zeaxanthin und Cryptoxanthin im Blutplasma, lagen in der Gruppe der Gesunden signifikant höher als in der Gruppe der Diabetiker. Zeaxanthin erreichte in der Gruppe der Gesunden eine Plasmakonzentration von $0,13 \mu\text{M} \pm 0,06 \mu\text{M}$, in der Gruppe der Diabetiker eine Plasmakonzentration von $0,09 \mu\text{M} \pm 0,06 \mu\text{M}$. Im Blutplasma von Gesunden erreichte Cryptoxanthin eine Konzentration von $0,41 \mu\text{M} \pm 0,25 \mu\text{M}$, im Blutplasma von Diabetikern lag die Konzentration mit $0,23 \mu\text{M} \pm 0,17 \mu\text{M}$ signifikant niedriger. Als Stoffwechselprodukt des Lipidabbaus wurde Malondialdehyd (MDA) in signifikant höheren Konzentrationen im Blutplasma von Diabetikern nachgewiesen als in der Vergleichsgruppe der Gesunden. Diabetiker zeigten eine Konzentration von $9,33 \mu\text{M} \pm 2,15 \mu\text{M}$, gesunde Probanden dagegen eine Konzentration von $7,15 \mu\text{M} \pm 2,26 \mu\text{M}$.

Tab. 30: Ermittelte Parameter in Blutplasma von Gesunden und Diabetikern zum Zeitpunkt t1 und t2

	Gesunde	Diabetiker	Signifikanz
n	7	7	
Alter	55,1 ± 5,6	59,7 ± 6,7	n.s.
BMI	25,3 ± 1,5 (n=6)	28,0 ± 5,2 (n=5)	n.s.
HbA1c[%]	5,6 ± 0,1	7,3 ± 0,4	**p<0,001
Vitamin E [µM]	37,6 ± 12,7	39,8 ± 9,2	n.s.
β-Carotin [µM]	1,3 ± 0,6	1,5 ± 1,8	n.s.
Zeaxanthin [µM]	0,13 ± 0,06	0,09 ± 0,06	*p<0,05
Cryptoxanthin [µM]	0,41 ± 0,25	0,23 ± 0,17	*p<0,05
α-Carotin [µM]	0,30 ± 0,12	0,26 ± 0,15	n.s.
Lycopin [µM]	1,6 ± 0,9	1,4 ± 0,7	n.s.
Vitamin C [µM]	21,8 ± 8,9	24,4 ± 11,7	n.s.
Harnsäure [µM]	423,0 ± 139,1	448,4 ± 201,6	n.s.
Bilirubin[mg/dl]	0,7 ± 0,3	0,7 ± 0,3	n.s.
Albumin [mg/dl]	4402,4 ± 260,1	4430,4 ± 312,1	n.s.
LDL/HDL Quotient	2,4 ± 0,7	2,5 ± 0,9	n.s.
Lagphase [min]	90,7 ± 10,2	93,4 ± 22,1	n.s.
SH-Gruppen [mM]	0,43 ± 0,06	0,43 ± 0,06	n.s.
MDA [µM]	7,15 ± 2,26	9,33 ± 2,15	*p<0,05
TEAC [mM]	343,3 ± 36,0	354,4 ± 39,1	n.s.

Parameter, die keine signifikanten Unterschiede zwischen den Probandengruppen aufzeigen, werden in der rechten Spalte mit „nicht signifikant“ (n.s) gekennzeichnet. Parameter, die signifikante Unterschiede zwischen den Probandengruppen aufweisen, werden mit Kleinbuchstaben gekennzeichnet und in der rechten Spalte mit dem jeweiligen Signifikanzniveau gekennzeichnet (p<0,001 oder p<0,05) LDL/HDL= Cholesterin-Quotient, MDA=Malondialdehyd, TEAC= Trolox equivalent antioxidant capacity

4.4.2 Einfluss von Supplementierung auf Gesunde und Diabetiker

In Tabelle 31 werden die Mittelwerte und die Standardabweichungen der ermittelten Parameter bei gesunden Probanden bzw. bei Diabetikern (s. Tab. 32) dargestellt. Die Probandenanzahl betrug jeweils n=7.

Die in der Tabelle 31 dargestellten Parameter wurden in gesunden Probanden weder durch die Einnahme von Placebo noch durch die Einnahme von Perilla signifikant beeinflusst ($p < 0,05$).

Tab. 31: Mittelwerte und Standardabweichungen von ermittelten Parametern bei gesunden Probanden zum Zeitpunkt t3 und t5

Gesunde				
	vor Placebo	nach Placebo	vor Perilla	nach Perilla
Vitamin E [µM]	38,2 ± 15,0	37,6 ± 13,6	38,4 ± 13,3	37,5 ± 13,0
β-Carotin [µM]	1,6 ± 1,2	1,4 ± 0,7	1,2 ± 0,7	1,5 ± 0,7
Zeaxanthin [µM]	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,04	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
Cryptoxanthin [µM]	0,4 ± 0,3	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,3	0,4 ± 0,3
α-Carotin [µM]	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1
Lycopin [µM]	1,7 ± 0,9	1,8 ± 0,7	1,7 ± 0,7	1,6 ± 0,4
Vitamin C [µM]	17,4 ± 10,8	13,5 ± 8,7	13,9 ± 7,4	14,8 ± 8,0
Harnsäure [µM]	602,8 ± 300,9	486,3 ± 300,3	683,8 ± 683,8	559,3 ± 297,0
Bilirubin[mg/dl]	0,8 ± 0,3	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,4	0,8 ± 0,2
Albumin [mg/dl]	4290,4 ± 252,0	4262,4 ± 252,0	4304,7 ± 159,1	4275,4 ± 164,3
LDL/HDL Quotient	2,3 ± 0,7	2,3 ± 0,6	2,4 ± 0,8	2,4 ± 0,7
Lagphase [min]	90,4 ± 12,1	86,4 ± 17,0	86,1 ± 11,8	87,1 ± 13,7
SH-Gruppen [mM]	0,4 ± 0,6	0,5 ± 0,7	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,8

LDL/HDL= Cholesterin-Quotient, SH= Schwefelwasserstoff

Die in der Tabelle 32 dargestellten Parameter wurden in Diabetikern weder durch die Einnahme von Placebo noch durch die Einnahme von Perilla signifikant beeinflusst ($p < 0,05$).

Tab. 32: Mittelwerte und Standardabweichungen von ermittelten Parametern bei Diabetikern zum Zeitpunkt t3 und t5

Diabetiker				
	vor Placebo	nach Placebo	vor Perilla	nach Perilla
Vitamin E [µM]	36,4 ± 6,0	37,4 ± 5,3	40,4 ± 11,4	39,0 ± 7,3
β-Carotin [µM]	1,8 ± 2,1	1,3 ± 1,3	1,5 ± 2,0	1,8 ± 1,7
Zeaxanthin [µM]	0,08 ± 0,05	0,09 ± 0,03	0,09 ± 0,07	0,09 ± 0,06
Cryptoxanthin [µM]	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,2	0,4 ± 0,3
α-Carotin [µM]	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,2
Lycopin [µM]	1,4 ± 0,6	1,4 ± 0,7	1,6 ± 0,6	1,7 ± 0,7
Vitamin C [µM]	12,5 ± 11,6	12,5 ± 11,1	16,4 ± 7,1	16,9 ± 4,6
Harnsäure [µM]	665 ± 187	546 ± 254	583 ± 384	607 ± 405
Bilirubin[mg/dl]	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,3	0,8 ± 0,3
Albumin [mg/dl]	4274 ± 407,3	4340 ± 331,0	4242 ± 313,0	4275 ± 306,0
LDL/HDL Quotient	2,5 ± 1,0	2,5 ± 1,0	2,6 ± 1,0	2,6 ± 1,0
Lagphase [min]	91,07 ± 27,0	86,4 ± 18,0	88,0 ± 16,0	87,0 ± 23,0
SH-Gruppen [mM]	0,4 ± 0,1	0,45 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1

LDL/HDL= Cholesterin-Quotient, SH= Schwefelwasserstoff

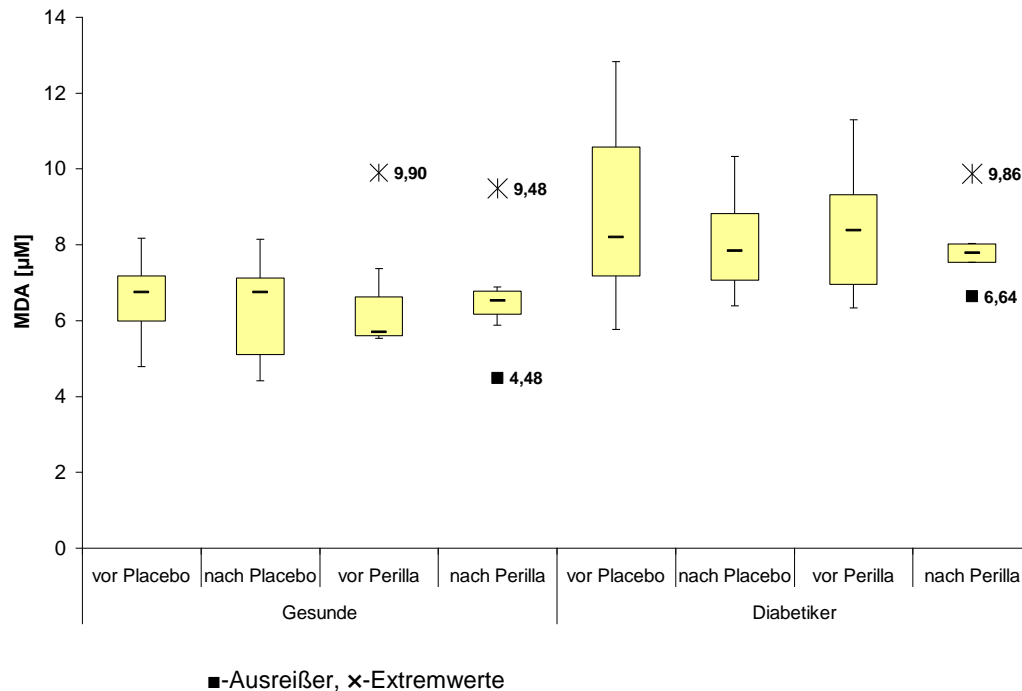
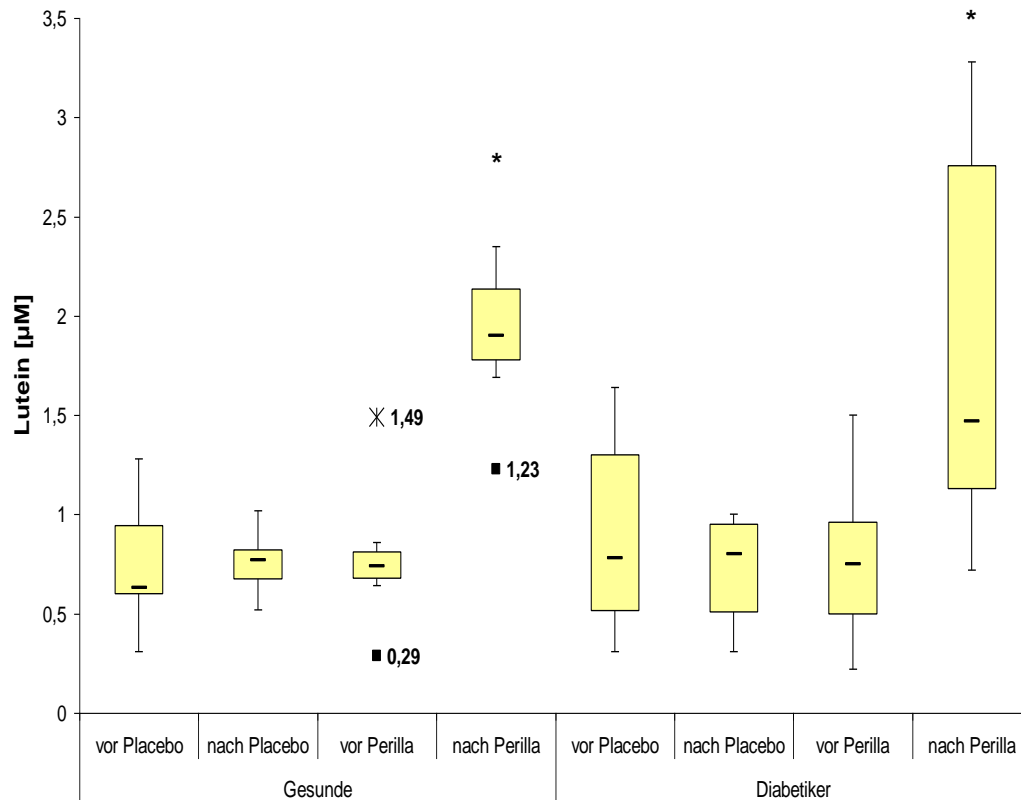


Abb. 84: Konzentration von Malondialdehyd (MDA) im Blutplasma von Gesunden und Diabetikern vor und nach Einnahme des Placebo bzw. Perilla-Präparates

Die Konzentration [µM] von Malondialdehyd (MDA) im Blutplasma von Gesunden und Diabetikern zeigte signifikante Unterschiede zwischen den Probandengruppen und deutliche Unterschiede zwischen den Interventionen auf. Vor Beginn der Intervention (t1; t2) wies die Gruppe der Diabetiker signifikant höhere Konzentrationen von MDA im Blutplasma auf als die Gruppe der Gesunden (s. Tab. 30). Im Mittel lag die Konzentration von MDA vor der Einnahme von Placebo bei Gesunden bei $6,48 \mu\text{M} \pm 0,96 \mu\text{M}$, bei Diabetikern bei $8,96 \mu\text{M} \pm 2,23 \mu\text{M}$. Nach der Einnahme lag die Konzentration bei der Gruppe der Gesunden im Mittel bei $6,24 \mu\text{M} \pm 1,43 \mu\text{M}$ und bei Diabetikern bei $8,04 \mu\text{M} \pm 1,42 \mu\text{M}$. Durch die Einnahme des Perilla-Präparates konnte weder bei Gesunden noch bei Diabetikern eine signifikante Veränderung der Konzentration von MDA im Blutplasma erreicht werden. Bei Diabetikern konnte jedoch eine tendenzielle Verringerung der Konzentration von MDA beobachtet werden. Diese lag bei Gesunden vor der Einnahme bei $6,51 \mu\text{M} \pm 1,63 \mu\text{M}$, danach bei $6,62 \mu\text{M} \pm 1,49 \mu\text{M}$. Bei der Gruppe der Diabetiker wurde die Konzentration von MDA von $8,36 \mu\text{M} \pm 1,81 \mu\text{M}$ vor der Einnahme auf $7,91 \mu\text{M} \pm 0,98 \mu\text{M}$ verringert. Auffallend war, dass die Streuung der Werte bei Diabetikern viel höher lag als in der Gruppe der Gesunden.



* signifikante Unterschiede zum Zeitpunkt vor Einnahme des Perilla-Präparates ($p < 0,01$),
 ■ - Ausreißer, × - Extremwerte

Abb. 85: Konzentration von Lutein im Blutplasma von Gesunden und Diabetikern vor und nach Einnahme des Placebo- bzw. Perilla-Präparates

Durch die Einnahme eines Perilla-Präparates konnte sowohl bei Diabetikern als auch bei Gesunden die Konzentration von Lutein im Blutplasma hoch signifikant gesteigert werden (s. Abb. 85). Bei den Gesunden lag die Konzentration von Lutein vor der Einnahme des Präparats im Mittel bei $0,79 \mu\text{M} \pm 0,36 \mu\text{M}$, nach der Einnahme lag der Wert im Mittel bei $1,90 \mu\text{M} \pm 0,38 \mu\text{M}$. In der Gruppe der Diabetiker konnte die Konzentration von Lutein von $0,77 \mu\text{M} \pm 0,42 \mu\text{M}$ vor der Einnahme des Perilla-Präparates auf $1,89 \mu\text{M} \pm 1,02 \mu\text{M}$ nach der Einnahme, erhöht werden. Auffallend hier war die große Streuung der Werte. Die Einnahme von Placebo zeigte weder bei Gesunden noch bei Diabetikern einen signifikanten Einfluss auf die Konzentration von Lutein im Blutplasma. Bei Gesunden wurde vor der Placebogabe eine Konzentration von $0,76 \mu\text{M} \pm 0,32 \mu\text{M}$ ermittelt. Nach der Einnahme von Placebo lag dieser Wert ebenfalls bei $0,76 \mu\text{M} \pm 0,16 \mu\text{M}$. Bei den Diabetikern wurde vor der Placebo-Einnahme eine Konzentration von $0,91 \pm 0,52 \mu\text{M}$ Lutein bestimmt, nach der Einnahme lag der Wert bei $0,76 \pm 0,29 \mu\text{M}$. Auffallend hier ist die große Streuung der Werte nach Einnahme des Perilla-Präparates in der Gruppe der Diabetiker.

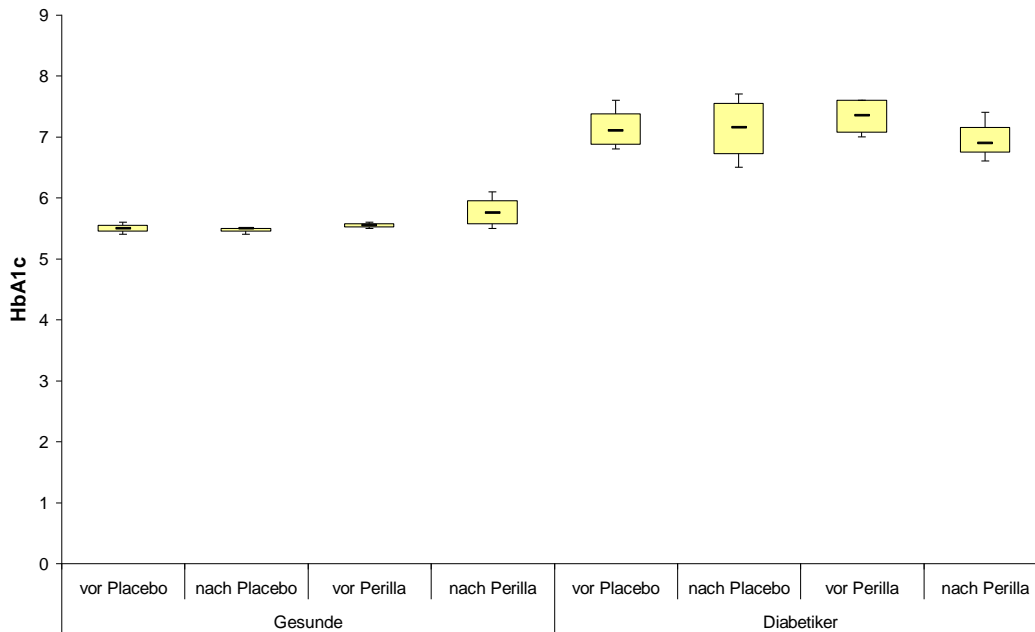


Abb. 86: HbA1c-Wert im Blutplasma von Gesunden und Diabetikern vor und nach Einnahme des Placebo- bzw. Perilla-Präparates

Die HbA1c-Werte zeigten signifikante Unterschiede zwischen den Probandengruppen auf, aber nicht zwischen den Interventionen (s. Abb. 86). Vor Beginn der Intervention (t1; t2) wies die Gruppe der Diabetiker signifikant höhere Werte auf als die Gruppe der Gesunden (s. Tab. 30, $p < 0,001$). Der Mittelwert lag vor der Einnahme des Placebos bei $7,13 \pm 0,37$ und vor Einnahme des Perilla-Präparates bei $7,33 \pm 0,32$. Bei den Gesunden lag der Mittelwert vor der Placeboeinnahme bei $5,50 \pm 0,10$ und vor der Einnahme des Perilla-Präparates bei $5,55 \pm 0,07$. Durch die Einnahme des jeweiligen Präparates (t3-t5) wurden die HbA1c-Werte innerhalb der Gruppen nicht signifikant beeinflusst. Die Gruppe der Diabetiker zeigte auch hier signifikant höhere Werte gegenüber der gesunden Kontrollgruppe. Die HbA1c-Werte lagen in der Gruppe der Diabetiker nach der Einnahme des Placebos im Mittel bei $7,13 \pm 0,57$ und nach der Einnahme des Perilla-Präparates bei $6,97 \pm 0,10$. Bei den Gesunden lagen die Werte im Mittel bei $5,47 \pm 0,06$ nach der Placeboeinnahme und bei $5,98 \pm 0,28$ nach der Einnahme des Perilla-Präparates. Die Streuung der Werte war sehr gering.

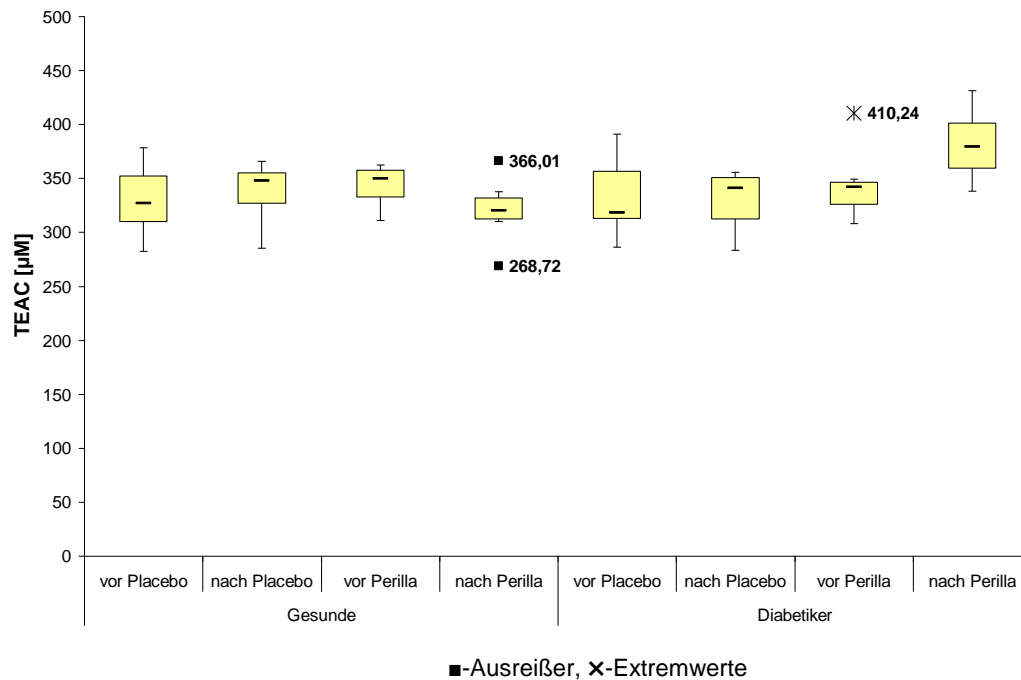


Abb. 87: Antioxidative Kapazität des Blutplasmas von Gesunden und Diabetikern vor und nach Einnahme des Placebo- bzw. Perilla-Präparates

Weder die Probandengruppe noch die Intervention zeigte einen signifikanten Einfluss auf die antioxidative Kapazität des Blutplasmas aller Probanden (s. Abb. 87). Die antioxidative Kapazität des Blutplasmas der gesunden Probanden lag vor Einnahme des Placebos im Mittel bei $330 \mu\text{M} \pm 34 \mu\text{M}$ danach bei $338 \mu\text{M} \pm 29 \mu\text{M}$. Vor der Einnahme des Perilla-Präparates lag die antioxidative Kapazität des Plasma bei $343 \mu\text{M} \pm 20 \mu\text{M}$, nach der Einnahme bei $320 \mu\text{M} \pm 29 \mu\text{M}$. In der Gruppe der Diabetiker lag des Mittel vor Einnahme des Placebos bei $333 \mu\text{M} \pm 36 \mu\text{M}$ nach Einnahme bei $330 \mu\text{M} \pm 28 \mu\text{M}$. Vor der Einnahme des Perilla-Präparates lag die antioxidative Kapazität des Plasma bei $344 \mu\text{M} \pm 33 \mu\text{M}$, nach der Einnahme bei $381 \mu\text{M} \pm 33 \mu\text{M}$. Bei den Diabetikern konnte somit eine tendenzielle Erhöhung der antioxidativen Kapazität durch die Einnahme des Perilla-Präparates erreicht werden. Insgesamt war die Streuung der Werte bei der Bestimmung der antioxidativen Kapazität mittels TEAC (μM) sehr gering.

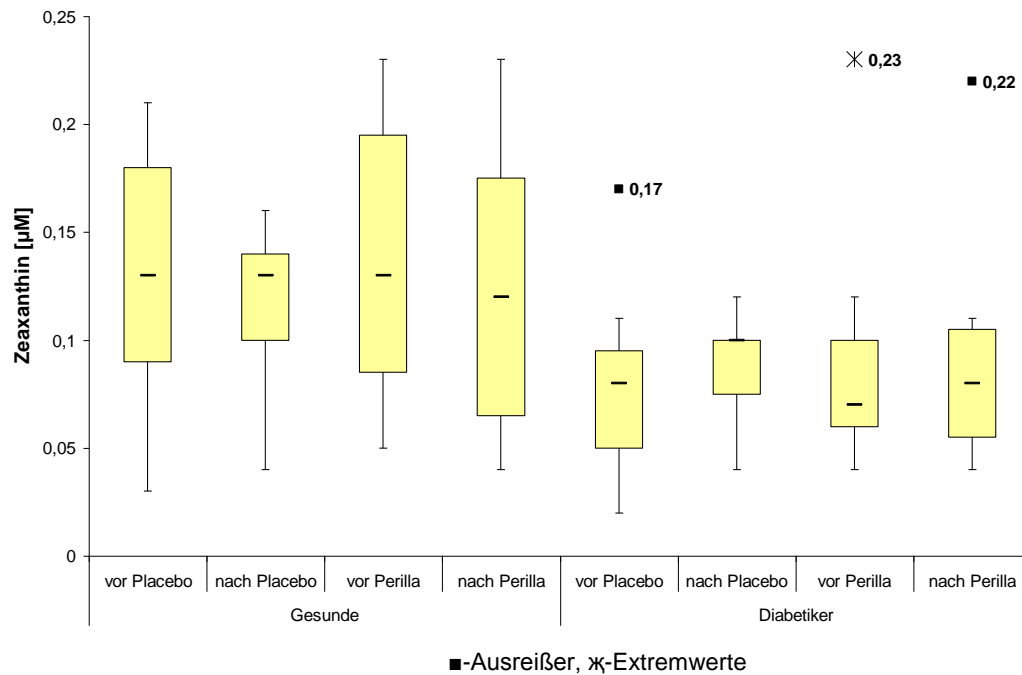


Abb. 88: Gehalt an Zeaxanthin [µM] im Blutplasma von Gesunden und Diabetikern vor und nach Einnahme des Placebo- bzw. Perilla-Präparates

Vor der Intervention (t1; t2) war die Konzentration von Zeaxanthin [µM] im Blutplasma von Diabetikern signifikant niedriger als im Blutplasma von Gesunden ($p < 0,05$; s. Tab. 31 und Tab. 32). Nach der Intervention (t3-t5) konnten keine signifikanten Unterschiede innerhalb oder zwischen den Probandengruppen nachgewiesen werden. Vor der Einnahme des Placebos lagen die Werte in der Gruppe der Gesunden im Mittel bei $0,13 \mu\text{M} \pm 0,07 \mu\text{M}$, danach bei $0,12 \mu\text{M} \pm 0,04 \mu\text{M}$. Vor Einnahme des Perilla-Präparates lagen die Werte im Mittel bei $0,14 \mu\text{M} \pm 0,07 \mu\text{M}$ und nach der Einnahme bei $0,12 \mu\text{M} \pm 0,07 \mu\text{M}$. Auffällig hier war die Streuung der Werte bei der Gruppe der Gesunden.

In der Gruppe der Diabetiker lagen die Werte vor Einnahme des Placebos im Mittel bei $0,08 \mu\text{M} \pm 0,05 \mu\text{M}$ und danach im Mittel bei $0,09 \mu\text{M} \pm 0,03 \mu\text{M}$. Vor der Einnahme des Perilla-Präparates lagen die Werte im Mittel bei $0,09 \mu\text{M} \pm 0,07 \mu\text{M}$, danach lagen die Werte im Mittel bei $0,09 \mu\text{M} \pm 0,06 \mu\text{M}$.

5 Diskussion

In den letzten Jahren sind pflanzliche Antioxidantien zunehmend Gegenstand vieler Forschungsarbeiten geworden. Im Gegensatz zu früheren Untersuchungen weiß man heute, dass diese sekundären Inhaltsstoffe wichtige physiologische Aufgaben in der Pflanze erfüllen (Demming-Adams, 2002). Vielfältige gesundheitsfördernde Eigenschaften, wie z. B. entzündungshemmende, antimikrobielle, antikanzerogene, antioxidative, immunstimulierende, verdauungsfördernde, blutdruck- und cholesterinsenkende Wirkungen werden beschrieben (Antony et al., 1999, Basile et al., 1999, Beatty et al., 2000, Moline et al., 2000, Owen et al., 2000, Puupponen-Pimiae et al., 2001, Riemersma et al., 2001, Santos et al., 1999). Viele dieser sekundären Inhaltsstoffe, die pflanzliche Zellen vor oxidativem Stress schützen, zeigen ebenfalls eine antioxidative Wirkung im tierischen und menschlichen Organismus (Demming-Adams, 2002). Aufgrund von Parallelen der Entstehung von oxidativem Stress im pflanzlichen, tierischen und menschlichen Organismus, liegt die Vermutung nahe, dass antioxidativ wirksame Inhaltsstoffe der pflanzlichen Matrix oxidative Prozesse im menschlichen und tierischen Körper ebenfalls beeinflussen können (Graßmann et al., 2002). Vermutet wird, dass die sekundären Inhaltsstoffe eine kumulative Wirkung besitzen und insbesondere im Verbund ihre gesundheitsfördernde Wirkung entfalten. Dies lässt sich unter anderem damit erklären, dass diese zahlreichen Substanzen schon aufgrund ihrer chemischen Eigenschaften unterschiedliche Wirkungsorte besitzen. So wurde nachgewiesen, dass sich z. B. Lutein und Zeaxanthin, die in der Pflanze insbesondere im Chloroplasten anreichern und dort den Photosyntheseapparat vor überschüssiger Energie schützen, indem sie diese in Form von Wärme ableiten (Demming-Adams, 2002, Josue und Frank 2002). Im Menschen reichern sich Lutein und Zeaxanthin insbesondere in der Makula des Auges an, welches dem ständigen Einfluss von UV-Licht ausgesetzt ist, ähnlich wie die Chloroplasten im Blatt.

Studien weisen daraufhin, dass die Supplementierung mit einer antioxidativ wirksamen Substanz allein keine positiven Effekte auf die Gesundheit im Menschen zeigte. Allerdings wurde schon oftmals bestätigt, dass sich ein vermehrter Verzehr von Obst und Gemüse positiv auf die Prävention von Herz- und Kreislauferkrankungen, Artherosklerose u.v.m. auswirkt (World cancer Research, 1997, WHO/FAO Report, 2003).

Wie die einzelnen Substanzen im menschlichen Körper wirken, ist derzeit noch vollkommen unklar. Da exogene Antioxidantien aus der Nahrung einen positiven Einfluss auf den Menschen zeigen, stellen Pflanzen mit hohen Gehalten an sekundären Inhaltsstoffen und einer hohen antioxidativen Kapazität eine Möglichkeit zur Prävention von Krankheiten, die durch oxidativen Stress bedingt werden, dar.

Zahlreiche Studien belegen eine Beeinflussung der Gehalte sekundärer Inhaltsstoffe und deren antioxidative Kapazität durch Salz- und Trockenstress oder durch den Einfluss von UV-Licht (Schmitz-Hoerner, 2003, Nitz et al, 2004, Schirmmacher et al., 2004). Die Anreicherung von wirksamen Substanzen, induziert durch kontrollierte Stressbedingungen in der Pflanze, könnte somit eine interessante Möglichkeit darstellen, die ernährungsphysiologische Qualität von Nahrungspflanzen zu verbessern.

Bei der Pflanze *Perilla frutescens* L. handelt es sich um eine asiatische Heil-Gewürz- und Gemüsepflanze, die vielfältige gesundheitsfördernde Eigenschaften besitzt, welche auf ihre sekundären Inhaltsstoffe zurückgeführt werden (Cai et al., 2003, Tsuji et al., 2008, Zekonis et al., 2008). Untersuchungen zeigten, dass Extrakte von *Perilla frutescens* L. in *in vitro* Testsystemen im Vergleich zu anderen Gemüsearten eine der höchsten antioxidativen Kapazität besitzt (Azuma et al., 1999, Sato et al., 2002). Ebenso wurden in *Perilla frutescens* L im Vergleich zu anderen Nutzpflanzen die höchsten Gehalte an Polyphenolen nachgewiesen (Povilaites und Venskutonis, 2000, Sato et al., 2002).

In der vorliegenden Arbeit wurden fünf verschiedene *Perilla*-Linien hinsichtlich Anbaueignung und ernährungsphysiologischer Qualität untersucht. Ziel der Arbeit war es, eine vorteilhafte Linie zu selektieren und herauszufinden, inwiefern sich Gehalte und antioxidative Kapazität von Polyphenolen und Carotinoiden durch Salz- und Trockenstress beeinflussen lassen. Des Weiteren wurde im Rahmen einer Verzehrstudie untersucht, ob die Einnahme eines *Perilla* Präparats Einfluss auf den oxidativen Status im Menschen zeigte.

5.1 Taxonomische Einordnung

Die Gattung *Perilla* umfasst sehr viele unterschiedliche Arten und Varietäten, die sich sowohl phänotypisch als auch inhaltstofflich stark voneinander unterscheiden. Die taxonomische Einordnung der Art *Perilla frutescens* L. ist weitgehend ungeklärt, was

nicht überrascht, da es sich bei dieser Pflanze um eine sehr alte, über weite Teile Asiens verbreitete Nutz- und Heilpflanze handelt. In Europa besitzt diese allerdings keine lange Historie. Das Interesse an dieser Heilpflanze ist jedoch während der letzten Jahre sowohl in Asien als auch den europäischen Ländern gestiegen. In asiatischen Ländern wird inzwischen innerhalb verschiedener Züchtungsprogramme untersucht, wo der Ursprung dieser Pflanze liegt und inwieweit Verwandtschaftsverhältnisse zwischen den einzelnen Arten bzw. Varietäten vorliegen, um wichtige züchtungsrelevante Informationen zu gewinnen (Lee et al., 2002, Nitta et al., 2003). Von asiatischen Wissenschaftlern liegen zwar ältere Klassifizierungstheorien vor, die sich allerdings gegenseitig keineswegs bestätigen, sondern eher widersprechen.

Zunächst wurden zu Beginn dieser Arbeit morphologische Unterscheidungsmerkmale der einzelnen Herkünfte festgelegt, um in den folgenden Jahren neben der inhaltstofflichen Analyse auch Informationen über die Beständigkeit phänotypischer Merkmale zu erhalten. Dies sollte Aufschluss darüber geben, ob es sich bei den untersuchten Herkünften um homogene Arten bzw. Sorten oder eventuell um Hybriden handelt, deren Merkmalsausprägungen intermediär sind.

Als Klassifizierungsversuche für die einzelnen Arten der Gattung *Perilla* gehen aus der Literatur folgende Unterscheidungsmerkmale hervor:

phänotypische Unterscheidungsmerkmale: als phänotypische Unterscheidungsmerkmale werden Wuchshöhe, Blattgröße, Blattstruktur, Stängel- und Blattfarbe, Stärke der Verzweigung, Samenfarbe und Samengröße genannt (Honda et al., 1990) sowie auch die Samenhärte (Honda und Ito, 1996). Ergänzend wird erklärt, dass unter den erwähnten Unterscheidungsmerkmalen die Samengröße bei der Unterscheidung von Varietäten der verlässlichste Parameter ist (Ohwi, 1953), während sich die anderen Merkmale innerhalb einer Art in verschiedenen Habitaten signifikant unterscheiden können (Lee und Ohnishi, 2001).

Molekularbiologische Methoden: Züchtungsprogramme bedienen sich molekularbiologischer Verfahren wie AFLP (amplified fragment-length polymorphism) (Lee et al., 2002) und RAPD (randomly amplified polymorphic DNA) (Nitta et al., 2003) um Informationen bezüglich der Verwandtschaftsverhältnisse der Arten bzw. Varietäten zueinander zu gewinnen. Als weitere taxonomische Unterscheidungsmöglichkeit

wurde die Anzahl der Chromosomen genannt. So wurden in der Literatur diploide ($2n=20$) und tetraploide ($2n=40$) Arten unterschieden (Honda und Ito, 1996). Gemutmaßt wird, dass die diploiden Arten wie z. B. *Perilla hirtella* und *Perilla citriodora* die Vorfahren der tetraploiden Kulturpflanze *Perilla frutescens* L darstellen.

Inhaltstoffliche Unterscheidungsmerkmale: als inhaltstoffliche Unterscheidungsmerkmale wurden in der Literatur die Inhaltstoffmuster polyphenolischer Substanzen und die Zusammensetzung etherischer Öle erwähnt. Allerdings geht aus anderen Literaturstellen hervor, dass weder die Zusammensetzung des etherischen Öls noch die der polyphenolischen Inhaltsstoffe als verlässliche Klassifizierungsparameter in Frage kommen, da sie je nach Habitat signifikant voneinander abweichen können (Honda et al, 1990).

In der vorliegenden Arbeit wurden zur taxonomischen Einordnung der in dieser Arbeit untersuchten *Perilla*-Linien zunächst die Anzahl von Chromosomen aus deren Wurzelspitzenzellen bestimmt. Während der Metaphase konnten die Chromosomen zwar optisch erkannt werden. Aufgrund der geringen Größe war es jedoch nicht möglich verlässliche Aussagen über die Chromosomenanzahl zu liefern. In der Literatur wurde bestätigt, dass sich die Gattung *Perilla* durch sehr kleine Chromosomen auszeichnet (Honda et al., 1994, Jung et al., 2004). Die Chromosomenanzahl könnte gemeinsam mit phänotypischen, inhaltstofflichen und molekularbiologischen Parametern zu einer aussagekräftigen Klassifizierung für Arten der Gattung *Perilla* herangezogen werden.

Desweiteren wurden im Rahmen dieser Arbeit phänotypische Merkmale der 5 verschiedenen Linien von *Perilla frutescens* L. untersucht. Ziel war es, einerseits zu prüfen, ob sich die Linien bezüglich phänotypischer Merkmale hinreichend unterscheiden, um als andersartig eingestuft zu werden und ob eine Beständigkeit der Merkmale der jeweiligen Linie zugrunde gelegt werden kann. Die Überprüfung auf Beständigkeit von phänotypischen Merkmalen erfolgte über einen Zeitraum von 3 Jahren.

Im Hinblick auf die ernährungsphysiologische Qualität der 5 *Perilla*-Linien wurden Inhaltstoffanalysen durchgeführt, die neben Gehaltsangaben von Carotinoiden und Polyphenolen ebenso Informationen bezüglich deren Zusammensetzung lieferten. Durch diese Untersuchungen können Aussagen hinsichtlich der inter- und

intraspezifischen Variabilität der untersuchten Perilla-Linien getroffen werden. Neben der Identifikation und Quantifizierung der Antioxidantien wurde deren antioxidative Wirkung in zwei verschiedenen, etablierten *in vitro* Testsystemen, dem LPO-Testsystem und dem ABTS-Testsystem, untersucht.

Als weiteres Klassifizierungsmerkmal wurde die Ketonhaltigkeit der 5 Perilla-Linien herangezogen. Bei dem Keton handelt es sich um einen toxischen und extrem laxativen Bestandteil des etherischen Öls der Blätter von Perilla (Koezuka et al., 1985). Das Keton wurde in Zusammenhang gebracht mit dem plötzlich auftretenden Tod von Weidetieren, die größere Mengen von Perilla-Blatt verzehrt hatten (Lindley, 1978). Die toxische Wirkung von Perillaketon wurde in Tierversuchen an Wiederkäuern und Monogastriden getestet und bestätigt (Garst und Wilson, 1985, Kerr et al., 1986, Wilson et al., 1990, Schmidbauer et al., 2004).

Basierend auf Ergebnissen der Inhaltstoffanalytik wurden in den Versuchsjahren 2007 und 2008 lediglich die Linien 2 und 5 für weiterführende Versuche herangezogen.

5.1.1 Phänotypische Merkmale

In der Akte des UPOV-Übereinkommens von 1991 wird in Artikel 8 festgelegt, dass die Homogenität einer Sorte auf der Grundlage geprüft wird, dass die Sorte „hinreichend einheitlich in ihren maßgebenden Merkmalen ist“. In Artikel 9 wird definiert, dass eine Sorte dann als „beständig“ angesehen wird, wenn ihre maßgebenden Merkmale nach aufeinander folgenden Vermehrungen oder, im Falle eines besonderen Vermehrungszyklus, am Ende eines jeden Zyklus unverändert bleiben. Im ersten Versuchsjahr (2006) wurden die Pflanzen aus Saatgut unterschiedlicher Quellen gewonnen (s. Tab 2). Die Versuchspflanzen der darauffolgenden Jahre (2007 und 2008) wurden aus Saatgut eigener Herstellung herangezogen.

Dieser, in den Richtlinien beschriebene Sachverhalt bezüglich der „Beständigkeit“ von Merkmalen, wurde für jede einzelne der in dieser Arbeit untersuchten Perilla-Linien nachgewiesen. Ebenso ließen sich die untersuchten Linien hinsichtlich ihrer Merkmalsausprägung gut voneinander unterscheiden. Als Unterscheidungsmerkmale wurden folgende herangezogen: Blattfarbe, Blattgröße, Blattstruktur, Behaarung von

Blatt und Stängel, Blütenfarbe, Blühtermin und Wuchshöhe. Aus der Literatur gehen als weitere phänotypische Unterscheidungsmerkmale die Größe, die Härte und die Farbe der Samen hervor (Honda, 1996). Lee und Ohnishi (2001) beschreiben die Samengröße als verlässlichsten Parameter bei der Unterscheidung von den Varietäten *frutescens* und *crispa*. Zwar wurden die Samen der einzelnen Linien in dieser Arbeit nicht genauer untersucht, allerdings fiel während der Aufbereitung des Saatguts auf, dass die Samen sich in Größe, Härte und Farbe stark unterscheiden.

Die Linien 2 und 5 zeigten u.a. in ihren phänotypischen Merkmalen viele Übereinstimmungen in den aus der Literatur hervorgehenden Unterscheidungsmerkmalen. Sie zeichneten sich aus durch gewellte, rote oder grüne Blätter, weiche, unbehaarte, stark gezahnte Blattspreiten, anthocyanhaltige Blätter und Stängel, geringere Wuchshöhen und ein charakteristisches Aroma der Blätter (Lee und Ohnishi, 2001). Eine weitere Übereinstimmung der Linien 2 und 5 stellte die frühe Bildung von Anthocyanen dar, die schon im Keimlingsstadium erkennbar war (s. Abb. 9). Dadurch unterschieden sich diese beiden Linien ebenfalls von den Linien 1, 3 und 4. Der Blühbeginn der Linien 2 und 5 lag im Vergleich zu den übrigen 3 Linien früh. Bei der Saatguternte fiel auf, dass die Samen beider Linien übereinstimmende, charakteristische Merkmale aufwiesen. Beide Linien bildeten sehr harte, kleine, dunkle Samen, die in der Literatur der Varietät *crispa* zugeordnet wurden. Aufgrund der Summe an übereinstimmenden phänotypischen Merkmalen wurden die Linien 2 und 5 *Perilla frutescens* Varietät *crispa* zugeordnet. Diese Varietät wird in der Literatur als sehr inhaltsstoffreich beschrieben. Ebenso wird in der Literatur darauf hingewiesen, dass die Varietät *crispa* traditionell insbesondere als Heilpflanze eingesetzt worden ist und das toxische Perillaketon nicht enthält. Im Rahmen der durchgeführten Inhaltstoffanalytik wurden diese Hinweise geprüft.

Auch die Linien 1 und 4 zeigten viele phänotypischen Übereinstimmungen. Sie zeichneten sich aus durch ein vergleichsweise hohes Wachstum. Sie bildeten sehr große Blattspreiten, die ein zunehmendes Blättlängenwachstum in Richtung Vegetationskegel aufwiesen. Die Blätter waren grün, sehr fest, glatt, schwach gezahnt und kaum behaart. Aufgrund der festen Blattstruktur schieden die Linien 1 und 4 für den Verzehr des Frischblatts aus. Der Blühbeginn der Linie 1 lag früher als bei Linie 4, die Blütenfarbe beider Linien ist weiß. Die Stängel beider Linien waren

schwach behaart und zeigten auch im Keimlingsstadium keinerlei Färbung durch Anthocyane (s. Abb. 9). Im Gegensatz zu den Linien 2 und 5, die schon im frühen Keimlingsstadium eine deutliche Anthocyanfärbung aufwiesen, was als beständiges Merkmal galt, zeigten die Linien 1, 3 und 4 erst in fortgeschrittenem Wachstumsstadium in einigen Fällen eine sehr leichte Anthocyanfärbung der Blattunterseiten (s. Abb. 10 und Abb. 13). Bei Analysen konnten jedoch keine Anthocyane detektiert werden, was vermutlich auf die geringe Menge zurückzuführen ist. Honda et al. (1990) beschreiben, dass die Anwesenheit von Anthocyanen nicht als verlässlicher Parameter für die Einteilung in Varietäten gelten kann, da diese je nach Habitat und Bedingungen variieren kann. Diese Beobachtung wurde in dieser Arbeit bestätigt. Im Gegensatz zu den Linien 1,3 und 4 zeigten sich die frühe Anthocyanbildung der Linien 2 und 5 jedoch als beständiges Merkmal und wurde als Hinweis zur taxonomischen Einteilung verstanden. Die Samen der Linien 1 und 4 waren vergleichsweise groß, ihre Samenschale hellgrau und die Samenschale war sehr weich. Um Beschädigungen vorzubeugen, musste das Saatgut besonderes schonend aufbereitet werden.

Aufgrund der Summe an übereinstimmenden phänotypischen Merkmalen wurden die Linien 1 und 4 der Varietät *Perilla frutescens* Varietät *frutescens* zugeordnet. Diese Varietät wird in der Literatur u.a. als seit langem vornehmlich genutzte Ölpflanze beschrieben, was eine Erklärung für die vergleichsweise großen Samen sein könnte. Desweiteren wird erwähnt, dass diese Varietät das toxisch wirkende Perillaketon enthalten kann, was im Rahmen der Inhaltsstoffanalytik in dieser Arbeit untersucht wurde. Als ein weiteres charakteristisches Merkmal der Linien 1 und 4 ist das Aroma der Blätter zu nennen. Die Zusammensetzung von etherischen Öle der Blätter wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht näher untersucht. Das sehr ähnliche Aroma der Blätter von Linien 1 und 4 fiel jedoch auf und könnte u. a. auf das Perillaketon zurückzuführen sein, was ein Bestandteil des etherischen Öls ist (Lee und Ohnishi, 2001, Nitta et al., 2003).

Die Linie 3 zeigte anhand phänotypischer Merkmale Ähnlichkeiten mit den Linien 1 und 4. Ihre Blätter waren ebenfalls grün, glatt und schwach gezahnt. Weder Blattspreiten noch Stängel zeigten eine Anthocyanfärbung. Die Blätter besaßen eine sehr feste Struktur jedoch waren sie im Gegensatz zu allen anderen Linien sehr stark behaart, ebenso wie der Stängel. Durch dieses Merkmal unterscheidet sich die Linie 3 von allen übrigen Linien. Aufgrund der starken Behaarung scheidet die Linie 3 als

Nahrungspflanze aus. Der Blühtermin der Linie 3 lag, wie bei der Linien 4, eher spät. Sie blühte ebenfalls weiß. Die Samen der Linie 3 nahmen eine mittlere Position zwischen den Linien 1 und 4 und den Linien 2 und 5 ein. Sie waren zwar größer als die der Linien 2 und 5, heller besaßen aber ebenfalls eine sehr harte Samenschale. Die Samen der Linie 3 waren kleiner, fester und dunkler als die der Linien 1 und 4.

Die Linie 3 konnte anhand phänotypischer Merkmale weder der Varietät *Perilla frutescens* var. *frutescens* noch der Varietät *Perilla frutescens* var. *crispa* zugeordnet werden, da sie sich in einigen Merkmalsausprägungen, wie z. B. der Samengröße und der Samenhärte, der Wuchshöhe und der Behaarung von den Linie 1 und 4 deutlich unterscheidet, ebenso wie in anderen Merkmalen von den Linien 2 und 5. Aus der Literatur geht hervor, dass geographische Unterschiede phänotypische Ausprägungen der gleichen Varietät von *Perilla* signifikant verändern können (Lee und Ohnishi, 2002). Um mögliche Hinweise zur taxonomischen Einordnung der untersuchten Linien zu bekommen, wurden inhaltstoffliche Analysen durchgeführt, die im Folgenden diskutiert werden.

5.1.2 Inhaltstoffmuster

Das Inhaltstoffmuster von Pflanzen liefert uns zahlreiche Informationen über biochemische Vorgänge im pflanzlichen Organismus (s. Abb. 89). Insbesondere Metabolite des Phenylpropanoid Synthesewegs unterliegen artspezifischen Mustern und können herangezogen werden, um Verwandtschaftsverhältnisse zwischen Varietäten bzw. Arten zu klären (Vogt, 2010). Desweiteren können, basierend auf Inhaltstoffmustern, Hinweise auf die ernährungsphysiologische Qualität pflanzlicher Nahrungsmittel gegeben werden. Außerdem kann das Inhaltstoffmuster u. a. Aufschluss darüber geben, in welchem Entwicklungs- oder Gesundheitszustand sich eine Pflanze befindet. Das Inhaltstoffmuster ist zum einen genetisch festgelegt, kann jedoch durch Umwelteinflüsse stark beeinflusst werden.

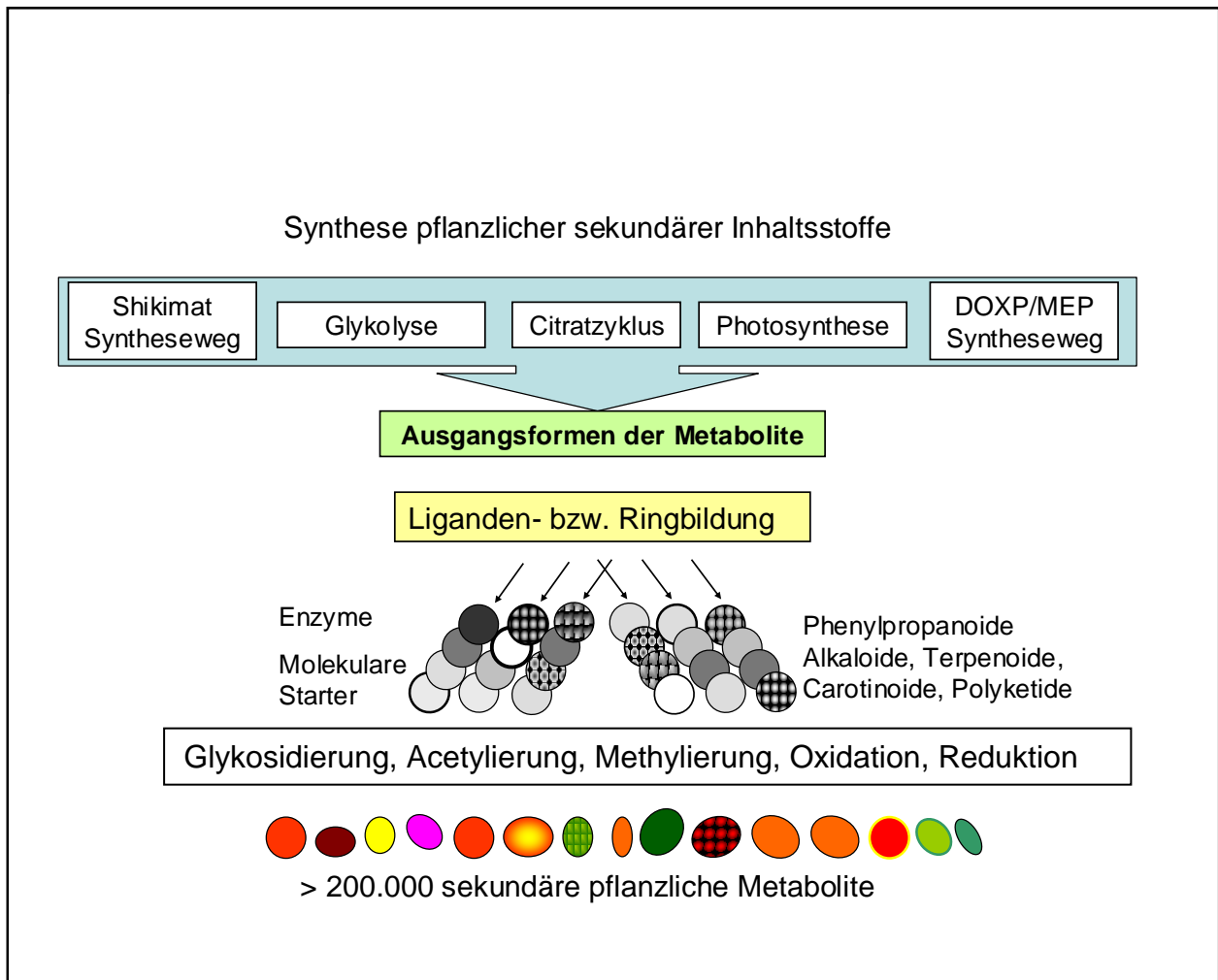


Abb. 89: Schematische Darstellung der Bildung pflanzlicher Inhaltsstoffe

Für *Perilla frutescens* L. beschreiben Lee und Ohnishi (2001) innerhalb einer Art signifikante Unterschiede phänotypischer und inhaltstofflicher Natur, die sie auf geographische Unterschiede zurückführen. Aufgrund der Beeinflussbarkeit des Inhaltstoffmusters durch abiotische und biotische Einflussfaktoren muss insbesondere bei der taxonomischen Einteilung berücksichtigt werden, dass Inhaltsstoffe lediglich als zusätzliches Kriterium herangezogen werden sollten, da diese keine hinreichenden Informationen über Verwandtschaftsverhältnisse liefern können. So teilen Ito (1970), Nagao et al. (1974) und Koezuka et al. (1984) *Perilla frutescens* L. aufgrund der Hauptkomponenten des etherischen Öls in verschiedene Chemotypen ein. Sie unterscheiden zwischen den Typen (PA) Perillaaldehyd, (PK) Perillaketon, (EK) Elsholtziaketon und (PP) Phenolpropanoid. Honda et al. (1990) beschreiben, dass die Zusammensetzung des etherischen Öls gegenüber Umwelteinflüssen nicht stabil ist. In der vorliegenden Arbeit konnte bestätigt werden, dass die 5 Perilla-Linien teilweise sehr unterschiedliche Blattaromen aufwiesen. Nur die Perilla Linien 1 und 4 ließen sich anhand des Aromas nicht unterscheiden. Die Anwesenheit von Perillaketon könnte ein Grund dafür sein und ein Hinweis auf nahe Verwandtschaft darstellen. Die Perilla-Linie 3 unterscheidet sich im Blattaroma leicht von den Linien 1 und 4. Die Perilla-Linie 2 zeigt ein sehr ausgeprägtes zitronenartiges Aroma, womit sie sich stark von den übrigen 4 Perilla-Linien abhebt. Ebenso hebt sich das Aroma der Perilla-Linie 5 sich stark ab von allen anderen 4 Linien, insbesondere auch von der Linie 2 mit der sie sonst viele phänotypischen Übereinstimmungen aufweist. Aufgrund dieser Übereinstimmungen und den Literaturquellen, aus denen hervorgeht, dass die Linie 2 und die Linie 5 innerhalb einer Varietät, nämlich der var. *crispa*, zusammengefasst werden, bleibt zu prüfen, welche Aussagekraft die Ölkomponenten im Hinblick auf die taxonomische Einteilung tatsächlich hat.

Um eine taxonomische Einteilung vorzunehmen, sollte das Inhaltstoffmuster daher ausschließlich in Verbindung mit phänotypischen Merkmalen und molekularbiologischen Untersuchungen interpretiert werden. Eine Selektion im Hinblick auf vorteilhafte Inhaltsstoffe ist durchaus möglich, wenn das Inhaltstoffmuster und die Gehalte isoliert betrachtet werden, insbesondere wenn die untersuchten Bestände unter vergleichbaren Umweltbedingungen aufgewachsen sind. Allerdings muss vorher sichergestellt werden, dass die einzelnen Bestände sich hinsichtlich des zu

untersuchenden Merkmals hinreichend unterscheiden und jeweils in sich homogen sind (Pank, 1999).

In der vorliegenden Arbeit wurden neben der Bestimmung der phänotypischen Merkmale, auch die Gehalte und die Zusammensetzungen von Carotinoiden und Polyphenolen analysiert. Ebenso wurden die 5 Perilla-Linien auf Ketonhaltigkeit hin überprüft. Das Inhaltstoffmusters der einzelnen Arten, insbesondere die Biosynthese von Polyphenolgruppen und die Biosynthese von Perillaketon, könnten als Hinweise für die taxonomische Zuordnung der einzelnen Arten herangezogen werden. Die Polyphenol- und Carotinoidextrakte wurden in 2 verschiedenen Testsystemen, dem ABTS-Testsystem und dem LPO-Testsystem auf ihre antioxidative Kapazität hin untersucht. Es liegen Werte von 3 Versuchsjahren zugrunde. Da die inhaltstoffliche Zusammensetzung und die Gehalte je nach Entwicklungsstadium variieren, ist es wichtig, die zu vergleichenden Genotypen in vergleichbarem Entwicklungsstadium zu ernten. In dieser Arbeit wurden die Pflanzen, sofern nicht anders angegeben, kurz vor dem Erscheinen der Blüte geerntet.

5.1.2.1 Perillaketon

Zu Anfang der Untersuchungen wurden die 5 Perilla-Linien auf Ketonhaltigkeit hin untersucht. Das Perillaketon (PK) wird in der Literatur als lungentoxischer Bestandteil des etherischen Öls einiger Perilla Arten bezeichnet. Somit musste für die Auswahl einer geeigneten Linie für Verzehrzwecke sichergestellt werden, dass diese ketonfrei ist. Wilson et al. (1977) beschreiben, dass der Verzehr von ketonhaltigem Perillakraut in Weidetieren schwerwiegende Lungenödeme hervorgerufen hat. Ebenso bestätigten Koezuka et al. (1985) einen toxischen Effekt des Perillaketons bei Mäusen, dessen Letaldosis (LD₅₀) von Wilson et al. (1989) bei Mäusen (Notre Dame) mit $30 \pm 5 \mu\text{mol/kg}$ nach 48 h angegeben wurde. In der traditionellen Verwendung verschiedener Arten der Gattung Perilla werden seit Langem zwischen ketonhaltigen und ketonfreien Genotypen unterschieden, wobei die ketonfreien meist zu medizinischen Zwecken verwendet werden. Dies könnte ein Hinweis darauf sein könnte, dass die toxischen Eigenschaften lange bekannt sind. In der Literatur werden ebenso ketonfreie und ketonhaltige Varietäten von *Perilla frutescens* L. beschrieben. Das Keton könnte als ein Hinweis für die Verwandtschaftsverhältnisse zwischen den Arten verstanden werden. In dieser Arbeit konnte bestätigt werden, dass sowohl die

ketonhaltigen als auch die ketonfreien Linien jeweils auch in weiteren Merkmalen Ähnlichkeiten aufwiesen.

Untersuchungen der 5 vorliegenden Perilla-Linien konnte die Ketonhaltigkeit für die Linien 2, 3 und 5 ausgeschlossen werden. Die Linien 1 und 4 zeigten neben ihrer Ketonhaltigkeit deutlich niedrigere Gehalte an Carotinoiden und Polyphenolen, sowie eine deutlich verringerte antioxidative Kapazität. Die Wirkung des Perillaketons auf den Menschen ist derzeit vollkommen unklar. Insbesondere vor dem Hintergrund ist alarmierend, dass Takano et al. (1990) auf dem japanischen Markt bei 9 von 25 medizinischen Produkten, die Perilla-Blatt enthielten, das toxische Perillaketon nachweisen konnte. Diese Tatsache zeigt deutlich, dass für die kommerzielle Nutzung dieser Pflanze zunächst der Ausschluss des Perillaketons sichergestellt sein muss.

Lee und Ohnishi (2001) beschreiben unterschiedliche Aromen der Blätter von *Perilla frutescens* var. *frutescens* und *Perilla frutescens* var. *crispa*. Dieser Sachverhalt bestätigte sich in dieser Arbeit, wurde allerdings nicht näher untersucht, da die Ölkopponenten der Blätter nicht näher analysiert wurden. Allerdings wiesen die Perilla-Linien 1 und 4, in denen das Keton als Bestandteil des etherischen Öls nachgewiesen wurde, ein spezifisches eher unangenehmes Zitronenaroma auf, was sie von den übrigen 3 Perilla-Linien deutlich unterscheidet. Ein weiterer interessanter Hinweis bezüglich der taxonomischen Einordnung könnte die Tatsache sein, dass die ketonhaltigen Linien 1 und 4, abgesehen von der Ähnlichkeit ihrer phänotypischen Merkmale, jeweils große Samen mit sehr weichen Samenschalen besitzen. Die Linien 1 und 4 zeichneten sich ebenso durch sehr schnelles Keimen und zügiges Wachstum aus (s. Abb. 9). Diese wurden aufgrund ihrer Merkmale der Varietät *frutescens* zugeordnet, die seit langem als Ölpflanze genutzt wird. Für die Ölausbeute spielen in erster Linie der Ölgehalt und somit die Größe der Samen eine wichtige Rolle. Die Ketonhaltigkeit der Pflanze ist hierbei von untergeordneter Bedeutung, zumal das fette Öl aufgrund seiner Beschaffenheit eher im Handwerk und weniger im Ernährungsbereich zum Einsatz kommt. Die Pflanzen der Varietät *crispa*, die vornehmlich als Nahrungsmittel bzw. zu medizinischen Zwecken genutzt werden, sind ketonfrei. Die Untersuchungen dieser Arbeit bestätigen diesen Sachverhalt: die ketonfreien Linien 2 und 5 werden aufgrund ihres Phänotyps der Varietät *crispa* zugeordnet. Die Linie 3 kann nicht eindeutig zugeordnet werden, da sie aufgrund ihrer phänotypischen Merkmalsausprägungen sowohl Ähnlichkeit mit

der Varietät *frutescens* als auch mit der Varietät *crispa* aufweist. Sie ist ebenfalls ketonfrei, wie die Linien 2 und 5 die der Varietät *crispa* zugeordnet worden waren.

5.1.2.2 Polyphenole

Im Vergleich zu herkömmlichen Gemüsearten zeigt *Perilla frutescens* L. einen hohen Gesamtgehalt phenolischer Verbindungen (Povilaitytesand und Venskutonis, 2000). Die Blattextrakte verschiedener Genotypen der Gattung *Perilla* zeichnen sich in *in vitro* Testsystemen durch eine sehr hohe antioxidative Kapazität aus (Meng et al., 2009, Azuma et al., 1999, Sato et al., 2002, Müller-Waldeck et al., 2010).

Die Pflanze *Perilla frutescens* L. besitzt rotblättrige und grünblättrige Genotypen, die sich u.a. anhand ihres Polyphenolmusters unterscheiden. Saito und Kamazaki (2002) benennen zwei Typen von *Perilla frutescens* L. var. *crispa*, die sich in vielen Merkmalen sehr ähneln, sich aber insbesondere in ihrer Anthocyanbiosynthese unterscheiden. Der rotblättrige Typ weist über den gesamten Vegetationszeitraum hin einen vergleichsweise hohen Gehalt an Anthocyaninen in epidermalen Zellen von Stängeln und Blättern auf. Die grünblättrige Varietät enthält dagegen lediglich Spuren von Anthocyanen. Als Hauptkomponenten der Anthocyane beider Typen werden Shisonin und Malonylshisonin als Derivate des Cyanidins genannt (Meng et al., 2006, 2009, Kondo et al., 1989, Yamazaki, et al., 2003). Aufgrund der Unterschiede der Varietäten von *Perilla frutescens* dient diese Pflanze als Modellpflanze für Forschungen von Anthocyanbiosynthesewegen (Saito und Yamazaki, 2002). Auf welche Weise das farblose Leucoanthocyanidin zum roten Anthocyanidin umgewandelt wird, ist unklar. Allerdings ist bekannt, dass in *Perilla frutescens* L. als roter Blattfarbstoff Cyanidinderivate gebildet werden, die in die Vakuole der epidermalen Zellen transportiert und dort akkumuliert werden (Nakajima et al., 2001).

In dieser Arbeit wurden zum einen die Gesamtpolyphenolgehalte von Extrakten aus 5 *Perilla*-Linien mittels Folin-Ciocalteu und HPLC ermittelt. Im Rahmen der Masterarbeit von Caroline Bruna (2010) wurde die Zusammensetzung der Phenolklassen anhand von Retentionszeiten und Spektren der Substanzen im Vergleich zu Standardsubstanzen analysiert. Zur näheren Identifizierung der Aglykone wurden die Zuckerbestandteile mit dem Enzym Sulfatase mittels Hydrolyse

abgespalten. Eine nähere Untersuchung der Zuckerbestandteile wurde nicht durchgeführt.

Der Vergleich von Chromatogrammen aller 5 Perilla-Linien zeigte, dass die Linie 5 die meisten polyphenolischen Komponenten aufwies. Die Substanzen, die in den Linien 1-4 vorkommen, sind auch in der Linie 5 vertreten, mit Ausnahme von 2 Substanzen, die ausschließlich in der Linie 3 identifiziert werden konnten. In der vorliegenden Arbeit wurden daher stellvertretend für alle 5 Linien die 9 polyphenolische Hauptkomponenten mit den flächengrößten Peaks der Linie 5 identifiziert (s. Abb. 55).

Aus dem Blattmaterial von *Perilla frutescens* L. wurden Zimtsäurederivate, Flavone, und Anthocyane identifiziert. Als Zimtsäurederivate wurden Rosmarinsäure und Derivate der p-Cumarsäure und der Kaffeesäure identifiziert. Nach dem Spektrum zu urteilen, liegen in dem Blattextrakt von Perilla cis-Isomere der Zimtsäurederivate vor. Der Peak 2 (s. Tab.18) wurde als cis-Rosmarinsäure identifiziert. Yoshida et al. (1990) und Meng et al. (2009) beschreiben ebenfalls die Anwesenheit von cis-Isomeren des Malonylshisonin und von Zimtsäurederivaten in der rotblättrigen Perilla. Die vermehrte Bildung von cis-Isomeren der Zimtsäurederivate wird unter dem Einfluss von UV Licht beschrieben (Yoshida et al., 1991). Im Rahmen der Identifizierung konnten diese Beobachtungen bestätigt werden. Der Rosmarinsäurestandard weist bei einer Retentionszeit von 143 Minuten im Spektrum ein Maximum von 329 nm auf. Nach einer sechs-stündigen Bestrahlung mit UV-Licht, zeigen sich Veränderungen in Retentionszeit und Spektrum. Die Retentionszeit liegt nun bei 125 Minuten und das Spektrum zeigte seine Maxima bei 286 nm / 315 nm. Diese stimmen überein mit den Daten des Peak 2 (Bruna, 2010). Yoshida et al. (1990) vermuten, dass die cis-Isomeren zum Schutz vor energiereichem, kurzwelligem UV-Licht in der Pflanze synthetisiert werden. Die Pflanzen, die in dieser Arbeit untersucht wurden, waren im Gewächshaus kultiviert worden und somit nicht dem Einfluss von UV-Licht ausgesetzt worden.

Als Flavone wurden in Perilla-Blatt Derivate von Apigenin (Peak 3) und Luteolin (Peak 1) identifiziert (Bruna, 2010). Im Rahmen der Quantifizierung ging auch Skutellarein als Komponente der Flavone in die Berechnung mit ein, allerdings wurde diese Substanz bei der Identifizierung der 9 Hauptkomponenten nicht mit erfasst, da sie in zu geringer Menge vorlag. Anthocyane lagen in Form von Cyanidinderivaten

ausschließlich in der rotblättrigen Linie 5 vor, die grünblättrige Linie 2 enthält lediglich Spuren von Anthocyanen. Meng et al. (2009) bestätigte die oben genannte Zusammensetzung der polyphenolischen Inhaltsstoffe und identifizierte in wässrigem Extrakt Rosmarinsäure, Cumarsäure und Kaffeesäure als Zimtsäurederivate, Apigenin 7-O-Glykoside, Skutellarein-, Luteolin-, und Apigenin-7-O-Glukuronide, als Flavone und als Anthocyane Cyanidinderivate in Form von cis-Shisonin, Shisonin und Malonylshisonin. Die Absorptionsspektren der Peaks 6, 8 und 9 deuten daraufhin, dass die Anthocyane in gebundener Form vorliegen. Nach saurer Hydrolyse von Malonylshisonin wurde Shisonin als Spaltprodukt identifiziert. Der Kern des Shisonin stellt Cyanidin dar, an das zwei Zuckermoleküle o-glykosidisch gebunden sind. Die Glucose ist mit p-Cumarsäure acyliert. Ergebnisse der Hydrolyse (Bruna, 2010) von Peak 6, Peak 8 und Peak 9 bestätigen die Vermutung, dass es sich bei den Anthocyanen um Shisonin bzw. Malonylshisonin handelt. Nach der Hydrolyse entstanden u. a. trans p-Cumarsäure und Protocatechussäure als Zimtsäurederivate der Anthocyane. Da Shisonin ein glykosidiertes Cyanidin ist, an welches p-Cumarsäure gebunden vorliegt, kann die Entstehung der p-Cumarsäure nach der Hydrolyse als Identifizierungsnachweis für Shisonin herangezogen werden. Die Protocatechusäure könnte zum einen ein Abbauprodukt des Cyanidins darstellen oder als Hinweis auf eine weitere Verbindung der Anthocyane verstanden werden.

Weitere Literaturquellen bestätigen die in dieser Arbeit beschriebenen Substanzen und beschreiben darüber hinaus die Identifikation von Flavonolen, insbesondere Kämpferol und Catechin (Peng et al, 2005, Sawabe et al, 2006). Im Rahmen dieser Arbeit konnten in keiner der 5 Perilla-Linien phenolische Substanzen der Klasse der Flavonole nachgewiesen.

Als Hauptbestandteil der polyphenolischen Stoffgruppe aus Perilla-Blattmaterial konnte Rosmarinsäure identifiziert werden. Diese Ergebnisse decken sich ebenfalls mit Daten aus der Literatur (Meng et al, 2009, Peng et al, 2005). In der vorliegenden Arbeit wurde die Rosmarinsäure nicht separat quantifiziert, sondern ging in der Berechnung in die Gruppe der Hydroxymzimsäuren ein. Anhand der Abbildungen 49-53 lässt sich erkennen, dass bei jeder einzelnen Linie die Rosmarinsäure den Hauptbestandteil des phenolischen Extraktes darstellt. Der Gehalt an Rosmarinsäure liegt in der rotblättrigen Perilla-Linie 5 im Vergleich zu den grünblättrigen Perilla Linien 1, 2, 3 und 4 mit Abstand am höchsten.

Dies widerspricht Ergebnissen von Okuda et al. (1986), die in grünen Varietäten höhere Rosmarinsäuregehalte festgestellt haben. Die Gesamtpolyphenolgehalte der 5 Perilla-Linien liegen zwischen 7,2 mg / g TS und 17,7 mg / g TS. Die Gehalte an Zimtsäurederivaten betragen zwischen 5,4 mg / g TS und 10,2 mg / g TS, die Gehalte an Anthocyanen betragen zwischen 0,3 mg / g TS und 3,8 mg / g TS und die Gehalte an Flavonen liegen zwischen 0,4 mg / g TS und 1,8 mg / g TS. Diese Daten decken sich teilweise mit Gehaltsangaben von Meng et al. (2008), die für Hydroxyzimtsäuren Gehalte zwischen 0,1 - 11 mg / g TS ermittelten, für Anthocyane 0,7 – 2,0 mg / g TS und für Flavone Werte zwischen 3,5 – 18,5 mg / g TS. Ergebnisse der Arbeit von Huang und Hwang (1980) beschreiben Anthocyangehalte verschiedener Perilla Linien zwischen 1,9 mg / g TS – 2,3 mg / g TS und bestätigten damit die in dieser Arbeit ermittelten Werte. Aus der Arbeit von Huang und Hwang (1980) geht hervor, dass der Gehalt an Anthocyanen über den Entwicklungszeitraum stark variiert. Der höchste Gehalt an Anthocyanen wurde kurz vor der Blüte ermittelt. Die Ernte des Perilla-Blatt in dieser Arbeit wurde kurz vor der Blüte durchgeführt. Generell zeigen Pflanzen der Familie der Lippenblütler, denen auch die Gattung Perilla angehört, oftmals hohe Polyphenolgehalte, deren größten Anteil meist die Rosmarinsäure darstellt. Für Oregano-Arten haben Damboleno et al. (2010) einen Gesamtpolyphenolgehalt zwischen 9,0 und 19,0 mg / g TS ermittelt.

Charakteristisch für die Perilla-Linie 5 ist der hohe Anthocyangehalt, der sich aus einer Summe verschiedener Cyanidinderivaten ergibt. Meng et al (2009) gibt Malonylshisonin als Hauptkomponente an, gefolgt von Shisonin.

In der vorliegenden Arbeit konnten Spuren von Anthocyanen in der Linie 2 nachgewiesen werden. Diese Linie zeigt in Bezug auf ihre phänotypischen Merkmale große Übereinstimmung mit der Linie 5 (s. Abb. 12 und Abb. 15).

Die Anthocyanbiosynthese findet bei den Linien 2 und 5 bereits im 2-Blatt-Stadium (s. Abb. 10) statt und scheint zu diesem Entwicklungszeitpunkt ein klares Unterscheidungsmerkmal gegenüber weiteren grünblättrigen Arten zu sein (s. Abb.11, Abb. 13, Abb. 14). Anhand von Flavonoidstrukturen von Pflanzen lassen sich Verwandtschaftsverhältnisse von Pflanzenarten ableiten.

Die Bildung von Anthocyanen in den Linien 2 und 5 bestätigen die nahe Verwandtschaft dieser Linien, die schließlich als *Perilla frutescens* var. *crispa*. Zusammengefasst werden. Während des fortgeschrittenen Vegetationszeitraums

zeigten die grünblättrigen Linien 1, 3 und 4 rötlich gefärbte Blattunterseiten. In den Analysen konnten allerdings keine Anthocyane nachgewiesen werden, was vermutlich auf die zu geringe Menge zurückzuführen ist.

5.2 Antioxidantien-Gehalte und antioxidative Kapazität

Als antioxidativ wirksame Substanzen wurden in dieser Arbeit Carotinoide und Polyphenole aus Blattmaterial von *Perilla frutescens* L. untersucht. Als Ausgangsmaterial diente getrocknetes, vermahlendes Blattmaterial 5 verschiedener Perilla-Linien. Polyphenolextrakte wurden zum einen mittels Folin-Ciocalteu photometrisch als Gesamtpolyphenol quantifiziert. Um auszuschließen, dass phenolische Bestandteile während des Trocknungsvorgangs zerstört wurden, wurde als Vergleich ein Phenolextrakt aus Frischblatt gegenübergestellt. Es konnte somit sichergestellt werden, dass die Aufbereitung des Pflanzenmaterials die qualitative Beschaffenheit der phenolischen Verbindungen des Extraktes nicht einschränkte. Ob die Aufbereitung auf die quantitative Beschaffenheit der phenolischen Verbindungen einen Einfluss zeigte, wurde in dieser Arbeit nicht untersucht. Die Carotinoide wurden mittels HPLC Analytik quantifiziert und identifiziert.

Mit Hilfe dieser Untersuchungen konnten zum einen Aussagen über die ernährungsphysiologische Bedeutung der einzelnen Perilla-Linien getroffen werden, indem den Gehalten der sekundären Inhaltsstoffe deren antioxidative Kapazität gegenübergestellt wurde, die in *in vitro* Testsystemen ermittelt wurde. Zum anderen konnte mit Hilfe dieser Analysen eine Aussage über die intraspezifische Variabilität der einzelnen 5 Linien getroffen werden. Aus evolutionsbiologischer Sicht stellt die Variabilität innerhalb einer Art ein charakteristisches Merkmal dar, insbesondere für Arten, die vielfältige Habitate besiedeln. Als wesentlicher Teil der Programme für Arzneipflanzenstandardisierung stellt die intraspezifische Variabilität jedoch einen wichtigen Parameter im Bezug auf standardisierte Produkte dar (Bruni und Sacchetti, 2009). Zur Untersuchung der Bestände der 5 Perilla-Linien wurden zunächst jeweils 5 Mutterpflanzen ausgewählt, die jeweils über 9-12 Kopfstecklinge vegetativ vermehrt wurden. Somit zählten zum Bestand jeder Linie nun 5 Unterlinien mit insgesamt etwa 50 Pflanzen. Zunächst wurden die Unterlinien jeweils separat analysiert, um eine Aussage über die Variabilität des Inhaltstoffmusters treffen zu können.

5.2.1 Carotinoide

Untersuchungen der Carotinoidextrakte 5 verschiedener Genotypen von *Perilla frutescens* L zeigten, dass es sich um eine carotinoidreiche Pflanze handelt. Die Genotypen verfügen über hohe bis sehr hohe Carotinoidgehalte, wobei Lutein und β -Carotin den größten Anteil darstellen. Zeaxanthin und α -Carotin sind ebenfalls in allen Perilla-Linien enthalten. Im Vergleich zu den bekannten, carotinoidreichen Gemüsearten wie z. B. Spinat, Möhren, Erbsen und Broccoli zeigen Arten der Gattung Perilla einen deutlich höheren Carotinoidgehalt und stellen somit ein interessantes Nahrungsmittel für eine carotinoidreiche Ernährung dar (s. Tab. 33).

Tab. 33: Carotinoidgehalte verschiedener Gemüsearten

Gemüseart	β -Carotin [mg/100 g FS]	Lutein [mg/ 100 g FS]	Referenz
Möhren	4,4–9,53	0,10–0,78	a,b,c
Spinat	3,1–4,8	3,92–9,54;12	a,b,c;d
Erbsen	0,27–0,52	0,47–1,91;1,7	a,b,c;d
Broccoli	0,29–1,75	0,71–3,3;2,4	a,b,c;d
Salat	0,07–2,96	0,07–9,65	a,b,c
Grünkohl	-	21	d
Feldsalat	-	7	d
Perilla	17,5–26,0	25,0–46,0	e

a (Maiani et al., 2009), **b** (Müller, 1996), (O'Neill et al., 2001), **c** (Calvo, 2005), **d** (Mangels et al., 1993), **e** (Müller-Waldeck et al., 2010)

Die 5 untersuchten Perilla-Linien zeigten im Jahr 2006 signifikante ($p < 0.05$) Unterschiede im Gesamtgehalt der Carotinoide (s. Abb. 35). Linien 1 und 4, wiesen die geringsten Gehalte auf und unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Die Linien 2 und 5 zeigten die höchsten Gesamtcarotinoidgehalte und galten als bevorzugte Linien für weiterführende Versuche (s. Tab. 34).

Tab. 34: Gesamtcarotinoidgehalte 5 verschiedener Perilla-Linien

Gesamtcarotinoidgehalt [mg/ 100 g FS]				
Linie1	Linie 2	Linie 3	Linie 4	Linie 5
43,5 ± 3,9	64,5 ± 4,4	59,0 ± 3,0	51,0 ± 7,8	75,6 ± 5,6

Auch in der Zusammensetzung der Carotinoide unterschieden sich die 5 Linien voneinander, wobei auch hier die Linien 1 und 4 ähnliche Gehalte aufwiesen. Die Linie 5 zeigte die höchsten Gehalte an Lutein und β -Carotin. Die Linien 2 und 3 wiesen ähnliche Gehalte an β -Carotin auf und die Linie 2 hatte höhere Luteingehalte als die Linie 3 (s. Tab. 35).

Tab. 35: Zusammensetzung der Carotinoide 5 verschiedener Perilla-Linien

Carotinoide [mg/100gFS]	Linie 1	Linie 2	Linie 3	Linie 4	Linie 5
β -Carotin	17,2 ± 1,7	22,0 ± 1,2	21,0 ± 0,7	18,2 ± 0,9	25,8 ± 1,9
Lutein	25,4 ± 3,0	41,0 ± 2,9	37,5 ± 1,1	32,0 ± 2,3	48,4 ± 3,5
Zeaxanthin	0,6 ± 0,05	1,1 ± 0,2	0,7 ± 0,02	0,8 ± 0,12	1,0 ± 0,1
α -Carotin	0,3 ± 0,06	0,4 ± 0,08	0,3 ± 0,05	0,3 ± 0,08	0,4 ± 0,13

Auch für Gemüsearten wie Broccoli, Tomaten und Kartoffeln wurde beschrieben, dass der Genotyp der Haupteinflussfaktor für den Carotinoidgehalt und die Zusammensetzung darstellt (Reddivari et al., 2007, Kurilich et al., 2002, Lenucci et al., 2006).

Aufgrund ihrer hohen Gehalte an sekundären Inhaltsstoffen und der Ketonfreiheit wurden die Linien 2 und 5 für weitergehende Versuche ausgewählt. Nur im zweiten Versuchsjahr (2007) wiesen die Pflanzen der Linie 2 und der Linie 5 geringere Gehalte an Carotinoiden auf (s. Tab. 36). Eine Erklärung für die geringeren Gehalte im Jahr 2007 liegt derzeit nicht vor.

Grundsätzlich kann festgehalten werden, dass die Linie 5 in allen Versuchsjahren die höchsten Gehalte an Lutein, β -Carotin und folglich die höchsten Gesamtcarotinoidgehalte aufweist.

Tab. 36: Zusammensetzung und Gehalte von Carotinoiden der Perilla-Linien 2 und 5 in 2007/2008

Carotinoide [mg/100gFS]	Linie 2		Linie 5	
	2007	2008	2007	2008
β -Carotin	18,32 \pm 1,6	23,0 \pm 3,4	17,0 \pm 0,6	24,0 \pm 1,7
	24,6 \pm 0,1	16,1 \pm 0,7	24,3 \pm 0,3	21,0 \pm 0,4
Lutein	28,0 \pm 9,9	38,0 \pm 5,1	34,0 \pm 3,3	43,2 \pm 2,4
	46,8 \pm 0,3	40,6 \pm 3,0	52,5 \pm 0,7	45,3 \pm 1,2
Zeaxanthin	0,21 \pm 0,01	0,4 \pm 0,01	0,1 \pm 0,02	0,5 \pm 0,05
	0,9 \pm 0,02	0,72 \pm 0,05	0,6 \pm 0,04	0,6 \pm 0,01
α -Carotin	0,4 \pm 0,03	0,7 \pm 0,04	0,5 \pm 0,04	0,7 \pm 0,2
	0,6 \pm 0,02	0,34 \pm 0,03	0,8 \pm 0,02	0,34 \pm 0,02
Gesamtcarotinoid- gehalte [mg/100gFS]	47,0 \pm 2,9	62,1 \pm 8,6	51,6 \pm 4,0	68,4 \pm 4,4
	73,0 \pm 0,74	58,0 \pm 4,0	78,4 \pm 1,1	67,0 \pm 1,6

Neben der somit nachgewiesenen Variabilität zwischen den 5 Perilla-Linien wurde im Linienvergleich anhand der Unterlinien auch die intraspezifische Variabilität untersucht. Hierfür wurden durch vegetative Vermehrung von 5 ausgewählten Pflanzen aus dem Bestand je Linie 5 Unterlinien herangezogen. Untersucht wurden Gehalte und Zusammensetzung von Carotinoiden und deren antioxidative Kapazität.

Die Linie 1 zeigte im Gegensatz zu den anderen 4 Linien im Gehalt von Lutein, β -Carotin und α -Carotin keine signifikanten ($p < 0,05$) Unterschiede zwischen den Unterlinien (s. Abb. 20, s. Abb. 21) und wies im Vergleich zu den übrigen Perilla-Linien die geringste intraspezifische Variabilität auf.

Der β -Carotingehalt zeigte in den Unterlinien der Linien 1,2 und 5 keine signifikanten Unterschiede und ist somit vergleichsweise konstant. In den Linien 1,2,4 und 5 konnten in den 5 Unterlinien keine signifikanten Unterschiede für α -Carotin ermittelt werden, allerdings kommt es in einer vergleichsweise geringen Konzentration vor und beeinflusst den Gesamtcarotinoidgehalt somit kaum.

Durch die vegetative Vermehrung der Pflanzen zu Beginn des Versuchs lag genetisch homogenes Pflanzenmaterial vor, das offensichtlich signifikante Unterschiede in Gehalt und Zusammensetzung der Carotinoide aufweist. Signifikante intraspezifische Unterschiede werden oftmals insbesondere bei den Pflanzen beobachtet, die vielfältige Habitate besiedeln und züchterisch wenig bearbeitet wurden (Allard, 1999). Die Ausgangspopulationen verfügen somit über eine weitreichende genetische Variabilität. Oftmals ist dies bei Heil- und Gewürzpflanzen der Fall, da diese bisher züchterisch generell eher weniger bearbeitet wurden. Eine ausgeprägte intraspezifische Variabilität gilt als wichtige Voraussetzung für gezielte Züchtungserfolge. Die Linie 1 zeigt im Vergleich zu den übrigen 4 Perilla-Linien den geringsten Gesamtcarotinoidgehalt. Im Gesamtcarotinoidgehalt und dessen Zusammensetzung zeigten die 5 Unterlinien der Linie 1 keine intraspezifischen Unterschiede, was ein Hinweis darauf sein könnte, dass diese Perilla-Linie bereits züchterisch bearbeitet worden ist. Wie auch aus dem Handbuch für Arznei- und Gewürzpflanzen Band 1 (2009) hervorgeht, nimmt die Variabilität mit zunehmendem Züchtungsfortschritt ab. Als weiterer Hinweis auf die züchterische Bearbeitung der Linie 1 wurden bereits die auffallend großen Samen mit der ausgesprochen weichen Samenschale und die Ketonhaltigkeit angeführt. Vermutlich handelt es sich bei der Linie 1 um die alte Varietät *Perilla frutescens* var. *frutescens*, die seit Langem traditionell als Ölpflanze genutzt wird und züchterisch bereits intensiv bearbeitet worden ist.

Das zunehmende wirtschaftliche Interesse an pflanzlichen Antioxidantien als Zusätze für Kosmetika und Nahrungsmittelzusatzstoffe begründen die Fülle wissenschaftlicher Untersuchungen mit antioxidativ wirksamen Substanzen.

Heil- und Gewürzpflanzen bzw. Kräuter weisen oftmals viel höhere Gehalte bioaktiver Substanzen auf, als herkömmliche Gemüsepflanzen (Cai et al., 2003) und geraten somit als Antioxidantienquellen in den Fokus wissenschaftlicher Untersuchungen. Insbesondere Arten der Familie Labiatae, zu denen auch die Gattung Perilla zählt, zeichnen sich durch eine ausgesprochen hohe antioxidative Kapazität in *in vitro* Testsystemen aus. Auch die untersuchten Perilla-Linien wiesen einen vergleichsweise hohen Gehalt an Antioxidantien und eine vergleichsweise hohe antioxidative Kapazität auf (Azuma, 1999, Povilaitytė und Venskutonis, 2000, Sato et al., 2002).

Die antioxidative Kapazität von Carotinoideextrakten aus 5 untersuchten Perilla-Linien, angegeben in Troloxequivalent / 100 g Frischmasse (TE/ 100 g FS), lag zwischen 54 mg / 100 g FS und 82 mg/ 100 g FS. Dabei hatte die Linie 5 die höchste AK, gefolgt von der Linie 2 mit 70 mg / 100 g FS und der Linie 3 mit 60 mg / 100 g FS. Die Linien 1 und 4 erreichten mit jeweils 54 mg / 100 g FS die geringste AK. Die niedrigen Gehalte an Carotinoiden und Polyphenolen sind vermutlich die Erklärung für die vergleichsweise geringe AK der Extrakte aus Linien 1 und 4 und könnte in Zusammenhang stehen mit der Ketonhaltigkeit dieser Linien. Basierend auf Untersuchungen dieser Arbeit wurden die Linien 1 und 4 der in der Literatur beschriebenen Varietät *frutescens* zugeordnet, die eine lange Tradition als Ölpflanze besitzt. Das fette Öl der Samen wurde nicht für den Verzehr vorgesehen. Wichtige Eigenschaften, wie z.B. große Samen mit hohem Ölgehalt entwickelten sich und kamen in dieser Varietät zum Ausdruck. Weder hohe Gehalte an sekundären Inhaltsstoffen noch die Ketonfreiheit spielten im Bezug auf Selektionsvorteil der Varietät *frutescens* eine Rolle. Vielmehr kamen diese Eigenschaften bei der Varietät *crispa*, die vornehmlich als Heilpflanze genutzt wurde, zum Ausdruck.

Die antioxidative Kapazität der Carotinoideextrakte aus Perilla ist positiv korreliert mit dem Lutein-, dem β -Carotin- und dem Zeaxanthingehalt. Bei den gewonnenen Extrakten galt es zu beachten, dass deren antioxidative Wirkung nicht ausschließlich auf die darin enthaltenen Carotinoide zurückzuführen ist, sondern auch durch Chlorophylle und α -Tocopherol hervorgerufen werden kann, da diese ebenfalls in den lipophilen Extrakten enthalten sind. Um eine Aussage dahingehend treffen zu können, inwiefern die antioxidative Wirkung der Extrakte auf die Carotinoide und das Vitamin E zurückgeführt werden kann, wurden die einzelnen Substanzen im Vergleich zu Trolox im ABTS-System untersucht. Die Substanzen besitzen eine in folgender Reihenfolge dargestellten abnehmenden antioxidative Kapazität: Lutein (x Faktor 2,63), α -Tocopherol (x Faktor 2,52), Zeaxanthin (x Faktor 2,35), β -Carotin (x Faktor 1,02), Chlorophyll a (x Faktor 0,56), α -Carotin (x Faktor 0,40) und schließlich Chlorophyll b (x Faktor 0,001). Miller und Rice Evans (1996) ermittelten für β -Carotin eine höhere antioxidative Kapazität als für Zeaxanthin und Lutein, was zunächst überrascht, denn die funktionelle OH-Gruppe am ϵ -Iononring des Luteinmoleküls sollte es generell anfälliger für Oxidation und somit reaktionsfreudiger machen. Möglicherweise lassen sich die Beobachtungen von Miller et al. (1996) auf die Verwendung anderer Lösungsmittel zurückführen.

Ihre Untersuchungen führten sie in einem hydrophilen Testsystem durch, in dem das ABTS-Reagenz mit PBS-Puffer hergestellt wurde, während die Carotinoide in Hexan gelöst wurden. Das verwendete Lösungsmittel kann die antioxidative Wirkung von Antioxidantien (Marinova et al., 1991, Chen et al., 1992), insbesondere von Carotinoiden, beeinflussen, was eine Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse bezüglich der antioxidativen Wirkung sein könnte (El-Agamey et al., 2004, Truscott, 2001). In der vorliegenden Arbeit wurde Ethanol als Lösungsmittel eingesetzt, ausschließlich die Peroxidase wurde in Wasser gelöst. Die Carotinoide wurden in Dichlormethan/Ethanol gelöst und im ABTS-Testsystem eingesetzt.

Das Blattmaterial der 5 Perilla-Linien wies eine vergleichsweise geringe Konzentration von α -Tocopherol im Extrakt auf. Obwohl reines α -Tocopherol *in vitro* zwar eine gute antioxidative Wirkung zeigte, werden hier aufgrund der geringen Gehalte von α -Tocopherol in Extrakten lediglich synergistische antioxidative Wirkungsweisen vermutet. Synergistische Wirkungen von den lipophilen Antioxidantien α -Tocopherol und Carotinoiden wurden bereits von Böhm et al. (1997) und Niki et al. (1995) beschrieben.

In dem LPO-Testsystem konnten lediglich die Extrakte der Linie 3 die Oxidation von Plasmalipiden signifikant verzögern (s. Abb. 46). Diese Linie wies mit 3,4 mg/ 100 g FS den höchsten α -Tocopherol-Gehalt aller 5 untersuchten Linien auf. Diese Tatsache spricht für die synergistische Wirkung von Carotinoiden und α -Tocopherol, die im LPO-Testsystem ihre Wirkung entfalten. Linie 4 zeigte mit 3,0 mg/ 100 g FS ebenso einen vergleichsweise hohen Gehalt an α -Tocopherol auf, der sich allerdings nicht auf eine Verlängerung der Lagphase auswirkte. Offensichtlich spielen bei der Entfaltung antioxidativer Eigenschaften nicht ausschließlich Gehalte, sondern ebenso synergistische Effekte eine wichtige Rolle. In dem LPO-Testsystem entfalten andere Stoffe ihre antioxidative Wirkung als im ABTS-Testsystem. Im ABTS-Testsystem schien der Gehalt an α -Tocopherol keinen Einfluss auf die antioxidative Wirkung zu haben. Dagegen ist die antioxidative Schutzwirkung von α -Tocopherol auf die Lipidoxidation bekannt und vielfach beschrieben (Spranger et al, 1998, Noguchi und Niki, 1998, Kontush et al., 1996, Esterbauer et al., 1991). Auch phenolische Inhaltsstoffe können gemeinsam mit Carotinoiden synergistisch wirken und Lipide vor Oxidation schützen (Fuhrmann et al., 2000, Trombino et al., 2004, Milde et al., 2007, Yang et al., 2009). Da die Carotinoidextrakte keine Polyphenole enthalten, wird die vergleichsweise gute Schutzwirkung von Extrakten der Linie 3 auf lipophile

Substanzen wie z. B. Triterpene zurückgeführt. Antioxidative Eigenschaften von Terpenen werden vielfach beschrieben (Wang et al., 2010). Bisher wurden 9 Triterpensäuren in *Perilla* Blatt nachgewiesen, die sich je nach Genotyp in Gehalt und Zusammensetzung stark unterscheiden (Banno et al., 2004, Chen et al., 2003). Ein Grund für die hervorragende antioxidative Wirkung der Linie 3 im LPO-Testsystem könnte demnach ein vergleichsweise hoher Gehalt an Triterpenen sein, die gemeinsam mit Carotinoiden und α -Tocopherol eine synergistische Wirkung entfalten.

5.2.2 Polyphenole

Die Untersuchungen der polyphenolischen Inhaltsstoffe von 5 *Perilla*-Linien zeigten zum einen sehr hohe Gehalte in allen 5 Linien, eine sehr hohe antioxidative Kapazität der Blattextrakte und eine signifikante genetische intra- und interspezifische Variabilität. Die ermittelten Polyphenolgehalte, die als Gallussäureequivalente (GAE) bezogen auf 100 g Frischsubstanz (FS) angegeben werden, variierten bei den 5 untersuchten *Perilla*-Linien zwischen 0,73 g und 1,16 g / 100 g FS. Wu et al. (2004) beschreiben Polyphenolgehalte in Nahrungspflanzen zwischen 0,02 und 0,8 g GAE/ 100 g FS. Stratil et al. (2006) beschreiben Gehalte zwischen 0,03 – 0,34 g GAE bezogen auf 100 g Frischsubstanz. Zheng und Wang (2001) fanden in Kräutern höhere Gehalte phenolischer Inhaltsstoffe als bei herkömmlichen Gemüsearten. Sie ermittelten Gehalte zwischen 0,026 und 1,75 g GAE/ 100 g FS (s. Tab. 37). Sato et al. (2002) ermittelte für *Perilla* einen Gesamtpolyphenolgehalt von 0,95 g / 100 g FS, der im Vergleich mit 19 weiteren traditionellen süd- und südost asiatischen Gemüsearten an dritter Stelle steht. An erste Stelle rückte „*Perilla*“ in der Untersuchung durch die herausragende antioxidative Kapazität von 0,5 - 1,1 / 100 g FS. Unklar ist jedoch, welche Art von *Perilla frutescens* L. für diese Untersuchungen verwendet wurde.

Tab. 37: Polyphenolgehalte und antioxidative Kapazität verschiedener Pflanzen

Pflanze	Polyphenolgehalt in GAE (g / 100 g FS)	Antioxidative Kapazität in TE (g / 100 g FS)	Referenz	
Artischoke	0,8	2,3	a	a
Salate	0,05-0,1	0,3	a	a
Erbsen	0,65	0,93	a	a
Roter Pfeffer	0,5	0,7	a	a
Mexikanischer Oregano	1,18	2,3	b	b
Griechischer Bergoregano	1,17	1,6	b	b
Süßer Majoran	1,17	1,8	b	b
Perilla	0,73-1,16	0,78-1,36	c	c

a Wu et al (2004), b Zheng und Wang (2001), c Müller-Waldeck et al. (2010)

In dieser Arbeit zeigen die 5 untersuchten Perilla-Linien einen vergleichsweise hohen Gesamtpolyphenolgehalt. Mit dem Gehalt liegen sie, wie auch andere Lippenblütler, in dem Bereich der phenolreichen Pflanzen (Zheng und Wang, 2001).

Tab. 38: Gesamtpolyphenolgehalte und AK verschiedener Perilla-Linien

Gesamtpolyphenolgehalt in GAE [g / 100 g FS]				
Linie 1	Linie 2	Linie 3	Linie 4	Linie 5
0,73 ± 0,07	1,02 ± 0,07	1,15 ± 0,15	0,78 ± 0,09	1,16 ± 0,09
Antioxidative Kapazität (AK) in TE [g / 100 g FS]				
Linie 1	Linie 2	Linie 3	Linie 4	Linie 5
0,78 ± 0,06	1,23 ± 0,09	1,36 ± 0,12	0,86 ± 0,10	1,05 ± 0,08

Die 5 Perilla-Linien unterscheiden sich signifikant in ihrem Gesamtpolyphenolgehalt (s. Tab. 38). Die Linien 1 und 4, wiesen mit 0,73 g und 0,80 g die geringsten Gehalte und die geringste antioxidative Kapazität der Blattextrakte auf. Die Linien 2,3 und 5 zeigten die höchsten Gehalte. Entsprechend der Gesamtpolyphenolgehalte wiesen die Polyphenolextrakte der Perilla-Linien eine vergleichsweise hohe antioxidative Kapazität auf. Dies wurde bereits durch frühere Untersuchungen von Sato et al. (2002) Povilaitytesand und Venskutonis (2002) bestätigt.

Der Gesamtpolyphenolgehalt und die antioxidative Kapazität der Extrakte sind positiv korreliert ($p=0,792$ (ABTS); $p=0,663$ (LPO)) (siehe Anhang). Diese Beobachtung bestätigten Zheng und Wang (2001), Meda-Lamien et al. (2010). Povilaitytesand und Venskutonis (2000) dagegen konnten keine positive Korrelation zwischen Gesamtpolyphenolgehalt und antioxidativer Kapazität der untersuchten Extrakte beobachten. Trotz vergleichbarer Gesamtpolyphenolgehalte der Linien 3 und 5 zeigte die Linie 3 im ABTS-Testsystem eine signifikant höhere antioxidative Kapazität. Die ausgesprochen hohe antioxidative Kapazität der Linie 3 im ABTS-Testsystem lässt sich durch die polyphenolischen Substanzen in dieser Linie und deren synergistische Wirkungsweisen erklären. Synergistische Effekte von Polyphenolen konnten im Zusammenhang mit Lipidperoxidation bereits nachgewiesen werden (Yeomans et al., 2005, Cirico und Omaye, 2006). Die Linie 3 besitzt einen vergleichsweise hohen Anteil an SPV (s. Abb. 90), was der Grund für die ausgesprochen gute Schutzwirkung der Blattextrakte im LPO-Testsystem sein könnte. Überraschender Weise zeigte die Linie 5, die basierend auf Ergebnissen der HPLC Analysen zwar den höchsten Gesamtgehalt an Polyphenolen aufwies (s. Abb. 90) jedoch im ABTS-Testsystem nicht die beste antioxidative Wirkung (s. Abb. 41) erreichte.

Der genaue Wirkungsmechanismus von Antioxidantien im ABTS-Testsystem konnte bisher nicht geklärt werden. Inwiefern sich der Gesamtpolyphenolgehalt, die spezifische Zusammensetzung der Polyphenole bzw. deren Hydroxylierungszustand sich auf ihre antioxidative Wirkung auswirkt, ist derzeit noch vollkommen unklar. Rice-Evans et al. (1995) vermuten, dass die chemische Struktur von Polyphenolen Einfluss auf deren antioxidative Wirkung hat. Tatsache ist allerdings, dass Substanzen, die ähnliche chemische Strukturen aufweisen, starke Abweichungen in den ermittelten TEAC-Werten zeigten. So wurde für Quercetin ein Wert von 3,0 bestimmt, für Kaempferol dagegen ein Wert von 1,0, Kaffeesäure zeigte einen Wert von 1,0, Ferulasäure dagegen einen Wert von 1,9 der vergleichbar ist mit p-Cumarsäure für die ein Wert von 2,0 ermittelt wurde (Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds, 2000).

Im LPO-Testsystem zeigten die Extrakte der Linien 1 und 4 die geringste Schutzwirkung vor Lipidoxidation, entsprechend den Ergebnissen des ABTS-Testsystems. Die geringere Schutzwirkung lässt sich durch die vergleichsweise geringen Polyphenolgehalte erklären.

Die Linien 2 und 3 wiesen entsprechend der Ergebnisse aus HPLC Analysen geringere Gesamtpolyphenolgehalte auf als die Linie 5 (s. Abb. 53), zeigten im LPO-Testsystem dennoch eine vergleichbare Schutzwirkung (s. Abb. 45). Diese Tatsache deutet daraufhin, dass die Schutzwirkungen der jeweiligen Substanzen sich je nach Testsystem unterschiedlich ausprägen (Huang et al., 2005, Frankel und Meyer, 2000).

Neben der vorliegenden interspezifischen Variabilität der Polyphenolgehalte der 5 untersuchten Linien, wiesen deren Unterlinien jeweils auch eine signifikante intraspezifische Variabilität auf. Dies spiegelt sich u.a. auch in der antioxidativen Kapazität ihrer Blattextrakte. Bei der Linie 3 (s. Abb. 38) wichen die Polyphenolgehalte und die antioxidative Kapazität der Unterlinien 4 und 5 weit ab von den Unterlinien 1 und 3, was auf einen Spritzschaden zurückzuführen ist. Die Pflanzen dieser Unterlinien wurden stark beschädigt, die Ergebnisse der Vollständigkeit halber aber trotzdem dargestellt. Die intraspezifische Variabilität von Polyphenolen unter kontrollierten Anbaubedingungen wurde auch von Bruni und Sacchetti (2009) für *Hypericum perforatum* beschrieben. Bei *Hypericum perforatum* wurden in Keimlingen intraspezifische Unterschiede im Hyperforingehalt von 1,3 mg bis 3 mg / g TS ermittelt (Kosuth et al., 2003). Die Tatsache, dass sich diese Variabilität auch unter kontrollierten Bedingungen bereits im Jungpflanzenstadium abzeichnet, deutet daraufhin, dass es sich um züchterisch wenig bearbeitete Arten handelt.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die aus Blattextrakten von Perilla gewonnenen Polyphenole im ABTS-Testsystem eine sehr viel höhere antioxidative Wirkung entfalten konnten, als die Carotinoide. Ebenso vermochten die Polyphenole im LPO-Testsystem die Blutfette weitaus besser vor Oxidation zu schützen als die Carotinoide. Yu, Kosuna und Haga (1997) beschreiben, dass wässrige Extrakte aus Perilla Blatt die höchste Bioaktivität zeigten, was die Beobachtungen dieser Arbeit unterstützt. Die Vermutung, dass Carotinoide als unpolare Antioxidantien Lipide besser vor Oxidation schützen als Polyphenole konnten Untersuchungen der vorliegenden Arbeit nicht bestätigen. Auch Frankel et al. (1996) sprechen vom „Polaren Paradoxon“, was auf den Beobachtungen basiert, dass polare Antioxidantien eher in unpolarem Milieu ihre Wirkung entfalten und unpolare Antioxidantien in polarem Substrat. Fest steht jedenfalls, dass Extraktionsmittel und Testsysteme großen Einfluss auf Gehalt und antioxidative Kapazität der

Antioxidantien besitzen. Als Folge daraus sollte die antioxidative Kapazität immer ausschließlich als relative Größe angegeben werden mit Bezug auf das verwendete Testsystem. Ergebnisse verschiedener Testsysteme können nicht miteinander verglichen werden, da eine Referenz fehlt (Nedyalka et al., 2006).

Die Linien 1 und 4 wurden wegen der vergleichsweise geringen Gehalte an Antioxidantien und der daraus resultierenden geringen antioxidativen Kapazität, aber insbesondere wegen ihrer Ketonhaltigkeit in dieser Arbeit nicht näher untersucht. Aufgrund der hohen Gesamtphenolgehalte und der hohen antioxidativen Kapazität der Extrakte stellen Linien 2,3 und 5 aus ernährungsphysiologischer Sicht die interessantesten Linien dar. Da die Linie 3 sich aufgrund nachteiliger Merkmale (Behaarung, Blatthärte) nicht für den Verzehr eignet, wurden weiterführende Versuche ausschließlich an den Linien 2 und 3 durchgeführt.

5.2.3 Bemerkung zu den Testsystemen

5.2.3.1 Folin-Ciocalteu

Der Folin-Ciocalteu-Test misst colorimetrisch alle reduzierenden Verbindungen eines Extraktes unter alkalischen Bedingungen. Das reduzierende Potential eines Extraktes wird farblich dargestellt, bei 760 nm photometrisch gemessen und ins Verhältnis gesetzt mit einer Eichsubstanz, meist Gallussäure oder Chlorogensäure, die zuvor als Einzelsubstanz im Testsystem eingesetzt wurde.

Mit Hilfe dieser Eichsubstanz, in diesem Fall mit Gallussäure, wird eine Eichreihe erstellt, die die Grundlage für die mengenmäßige Berechnung des Polyphenolgehalts eines Extraktes darstellt.

Der Folin-Ciocalteu-Test ist ein international anerkannter und etablierter Schnelltest zur Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes. Er ist jedoch eher ungenau, da er unspezifisch misst und somit nicht sichergestellt ist, dass ausschliesslich polyphenolische Substanzen erfasst werden. Bei der Literaturrecherche fiel auf, dass die Reagenzien dieses Tests oftmals in unterschiedlichen Konzentrationen verwendet wurden. Übereinstimmend werden jeweils Standardphenolsäuren als Eichsubstanzen eingesetzt, die als Berechnungsgrundlage herangezogen werden. In pflanzlichen Extrakten liegen phenolische Verbindungen mit unterschiedlichsten chemischen Strukturen vor, die somit auch vom Folin-Ciocalteu-Testsystem unterschiedlich stark erfasst werden. So liegen in der Pflanze polyphenolische Stoffe meist als Glykoside vor, in seltenen Fällen als Aglykone. Tatsächlich zeigen Aglykone im Folin-Ciocalteu-Test eine sehr viel ausgeprägtere reduzierende Wirkung als ihre Glykoside, was sich dann bei der Berechnung in einem verminderten Gesamtpolyphenolgehalt niederschlägt (Georgè et al., 2005).

Substanzen wie z. B. Vitamin C, Zucker oder Aminosäuren (Singleton et al., 1998) werden bei dem Folin-Ciocalteu-Test ebenfalls erfasst und gehen somit in den Gesamtpolyphenolgehalt mit ein. Sie können die Testergebnisse außerdem beeinflussen, indem sie das alkalische Milieu und somit die chemischen Reaktionen verändern (z. B. Vitamin C). Dies würde den Gesamtpolyphenolgehalt erhöhen. In der vorliegenden Arbeit wurden alle Polyphenolextrakte mit 80 %-igem Methanol hergestellt, was sehr polare Substanzen nicht mit erfasst. Auch unpolare Substanzen

wie Carotinoide zeigen einen deutlichen Einfluss auf das Testsystem (Georgè et al., 2005), wurden aber durch die Wahl des Lösungsmittels nicht aus dem Pflanzenmaterial extrahiert. Als weiterer Aspekt ist zu nennen, dass im Folin-Ciocalteu-Test die phenolischen Substanzen entsprechend der Anzahl ihrer OH-Gruppen unterschiedlich reagieren (Singleton et al., 1998), was sich fälschlicher Weise schließlich in der quantitativen Berechnung niederschlägt, obwohl es sich hier vielmehr um qualitative Unterschiede handelt. Trotz der dargestellten „Schwächen“ des Folin-Ciocalteu-Testes, eignet er sich als Schnelltest für eine Art „Screening“ von ähnlichem Ausgangsmaterial, wie z. B. in dieser Arbeit den 5 Genotypen der Gattung *Perilla*. Bei ähnlichem Pflanzenmaterial kann man davon ausgehen, dass ähnliche Substanzgruppen in den Extrakten enthalten sind, die den Test gleichermaßen beeinflussen. Somit können die Gesamtpolyphenolgehalte in Form eines relativen Vergleiches dargestellt werden. Zu beachten ist bei der Anwendung diesen Testes, dass auch das Extraktionsmittel einen wichtigen Einfluss auf die Aussagekraft der Folin-Messungen hat, da hierdurch beeinflusst wird, welche Substanzen sich in dem Extrakt befinden.

5.2.3.2 ABTS-Testsystem

Das ABTS-Testsystem wurde erstmalig von Miller et al. (1993) beschrieben. Trolox dient als Standardreferenz und wird für die Berechnung der Gehalte antioxidativer Substanzen, ausgedrückt in Troloxequivalenten (TEAC), herangezogen. Induziert wird die Reaktion durch die Reduktion des ABTS zu dem sehr stabilen, grünlich gefärbten ABTS-Radikal, was bei 734 nm photometrisch bestimmt und quantifiziert werden kann. Die Reaktion ist vergleichbar mit dem initialen Schritt der Lipidperoxidation, der Wasserstoffabstraktion des Moleküls. Verläuft die Reaktion enzymkatalysiert, ist die maximale Färbung innerhalb weniger Minuten erreicht, was Ergebnisse in kurzer Zeit liefert. Diese Methode besitzt viele Vorteile, denn sie ist zum Einen leicht durchzuführen und liefert gleichzeitig kurzfristige Ergebnisse. Deshalb wird sie oft angewendet und es liegen zahlreiche Untersuchungen vor, die die antioxidative Kapazität pflanzlicher Proben in Form von TEAC-Werten darstellen. Allerdings sind die Ergebnisse dieser Methode unter gewissem Vorbehalt zu interpretieren. Das Wesen von freien Sauerstoffradikalen ist es, schnell zu reagieren. Da das ABTS-Radikal im Gegensatz zu den ROS ein sehr stabiles Radikal ist, steigt

in der Folge die Chance, dass die im Extrakt enthaltenen phenolischen Substanzen mit ihm in Reaktion treten und ihre spezifische Wirkung erst nach längerer Zeit entfalten. Synergistische Effekte von Substanzen könnten somit besser zum tragen kommen, werden jedoch im ABTS-Testsystem nicht mit erfasst. Das Testsystem liefert lediglich Informationen über schnellwirkende antioxidativen Eigenschaften eines Extraktes. Das Testsystem eignet sich sowohl für lipophile als auch für hydrophile Antioxidantien, wobei die antioxidative Kapazität hydrophiler Extrakte scheinbar genauer bestimmt werden kann (Pulido et al., 2003). Die Reaktion verläuft unabhängig vom pH-Wert. Somit eignet sich dieses Testsystem, um den Einfluss von pH-Wert auf das antioxidative Potential zu untersuchen (Lemanska et al., 2001). Die Untersuchung von Extrakten im ABTS-System kann sicherlich keine absoluten Informationen bezüglich deren antioxidativen Kapazität geben. Durchaus kann es aber verwendet werden um, wie in dieser Arbeit, Aufschluss zu geben über die antioxidative Kapazität verschiedener Extrakte, die aus ähnlichem Ausgangsmaterial hergestellt wurden und somit übereinstimmende Substanzgruppen enthalten. Um die Aussage des ABTS-Testsystems zu prüfen, sollte die antioxidative Kapazität der Extrakte zusätzlich in einem weiteren Testsystem ermittelt werden, was in dieser Arbeit mit Hilfe des LPO- Testsystems durchgeführt wurde.

5.2.3.3 LPO-Testsystem

Die Lipidperoxidation stellt eine Radikalkettenreaktion dar, die im Gegensatz zu dem ABTS-Modell auch im menschlichen Organismus abläuft. Ermittelt wird in diesem System der Schutz der Plasmalipide vor Oxidation, der in Form der Lagphasendauer angegeben wird. Die Katalyse der Lipidperoxidation erfolgt durch die Zugabe von Kupfer-II-Peroxidase. Das extrem reaktive Hydroxylradikal reagiert mit Wasserstoffatomen von Methylengruppen ungesättigter Fettsäuren. Durch die Verschiebung von Doppelbindungen und die wiederholte Wasserstoffabstraktion bilden sich Fettsäureperoxide, die zerfallen und dadurch weitere Radikale bilden. Diese Phase der Lipidperoxidation, die Propagationsphase, bezeichnet die exponentielle Zunahme der Oxidation von Lipiden und besitzt somit die maximale Dienbildungsrate. Die Diene können als Reaktionsprodukte als Maß für die Lipidperoxidation bei 234 nm photometrisch bestimmt werden. Die Kettenreaktion kommt zum Stillstand, sobald die Radikale mit Molekülen stabile Produkte bilden.

Die LPO-Methode verläuft sehr viel komplexer als das ABTS-Testsystem und bietet somit mehrere Erklärungsansätze für die antioxidative Wirkungsweise von Extrakten:

- Zum einen können die Antioxidantien in den Radikalbildungsprozess eingreifen, indem sie mit H_2O_2 direkt oder mit Metaboliten der Radikalkettenreaktion reagieren und mit diesen stabile Komplexe bilden.
- Indem sie mit Cu (II) einen Komplex bilden.
- Indem sie die Reaktion der Peroxidase mit H_2O_2 beeinflussen.
- Antioxidantien können sich je nach chemischer Struktur an Plasmalipide anlagern und diese vor Oxidation schützen und somit die Lipidperoxidation unterbinden.

Bei der direkten Reaktion der Antioxidantien mit den Plasmalipiden sollten die lipophilen Carotinoideextrakte eine bessere Wirkung zeigen als die hydrophilen Polyphenolextrakte.

In dieser Arbeit zeigten jedoch die Polyphenolextrakte im LPO-Testsystem einen sehr viel wirksameren Schutz vor Oxidation der Plasmalipide als die Carotinoideextrakte. Auf welchem Mechanismus diese Wirkung im Einzelnen beruht, oder ob es sich um synergistische Wirkungsmechanismen handelt, konnte nicht geklärt werden. Eine konzentrationsabhängige Schutzfunktion konnte mittels des LPO-Testsystems sowohl für die Reinsubstanzen Trolox und Vitamin E als auch für Polyphenol- und Carotinoideextrakte nachgewiesen werden. Erstaunlicherweise zeigte das lipophile Vitamin E im Vergleich zum wasserlöslichen Trolox eine vergleichsweise schwache Schutzwirkung im LPO-Testsystem, was die Theorie der Schutzfunktion von Plasmalipiden durch Komplexierung eher widerlegt. Hier sollte Vitamin E als lipophilere Substanz sicherlich die bessere Schutzwirkung besitzen, was offensichtlich nicht der Fall ist. Beim durchgeführten Linienvergleich zeigten Polyphenolgehalt und antioxidative Wirkung sowohl im LPO- als auch im ABTS-Testsystem eine positive Korrelation (0,663 und 0,792), was für die Carotinoide nicht zutrifft. Die ausgesprochen gute Schutzwirkung der Linie 5 könnte auf den hohen Gehalt an Hydroxycimtsäuren zurückgeführt werden, die reaktionsfreudige OH-Gruppen besitzen. Diese Tatsache spricht dafür, dass die Schutzfunktion im LPO-Testsystem eher durch die Reaktion der OH-Gruppen zu stabilen Komplexen der Fall ist. Untersuchungen von Manach et al. (1998), Brown et al. (1998) und Heijnen et al.

(2002) zeigten, dass insbesondere Quercetin Plasmalipide vor Oxidation schützen konnte. Vermutet werden verschiedene Mechanismen, die jeweils auf die Reaktion der OH-Gruppen zurückgeführt werden. Brown (1998) und Yamamoto et al. (1999) vermuten eine Komplexbildung mit Cu (II), eine Radikal-Scavenger Funktion (Pietta, 2000) und einen Schutz des α -Tocopherols im Plasma (Hirano et al, 2001).

Zusammengefasst können die Aussagen beider *in vitro* Testsysteme Auskunft darüber geben, welche Extrakte *in vitro* eine bessere antioxidative Wirkung entfalten. Rückschlüsse auf die Bioverfügbarkeit bzw. die Wirkung dieser Extrakte im menschlichen oder tierischen Organismus können anhand der Ergebnisse aus *in vitro* Testsystemen nicht getroffen werden. Die Etablierung von reproduzierbaren Testsystemen stellt jedoch generell eine wichtige Voraussetzung für weiterführende Untersuchungen vielversprechender Extrakte dar.

5.3 Salz- und Trockenstress

Die Wasseraufnahme der Pflanze erfolgt zunächst über die Wurzelzellen, die nach selektiver Aufnahme der enthaltenen Ionen die Nährlösung in das Xylem weiterleiten. Der Transport der Nährlösung erfolgt hier dem Transpirationsstrom entsprechend in Richtung Apex. Die Wasseraufnahme und die Abgabe über die Stomata der Blätter bedingen den osmotischen Zustand der Pflanze. Das osmotische Gleichgewicht innerhalb der Pflanze beeinflusst alle folgenden Stoffwechselfvorgänge in der Pflanze, da es durch die Steuerung der Stomataöffnung direkten Einfluss auf die Photosynthese hat. Durch die selektive Ionenaufnahme der Wurzelzellen kann die Pflanze einer gewissen Salzkonzentration der Nährlösung entgegenwirken, ohne dass die biochemischen Synthesewege innerhalb der Pflanze beeinflusst werden. Die Pflanzen reagieren hier oftmals mit vermindertem apikalem Wachstum, was durch eine hormonelle Steuerung der Wurzelzellen induziert wird. Bei zunehmender Salzkonzentration nimmt die Pflanze weniger Wasser auf als sie verbraucht und beginnt zu welken. Die Ausprägung von Salz- und Trockenstress rufen hier zunächst dieselben Symptome in der Pflanze hervor. Pflanzen besitzen verschiedenste und unterschiedlich stark ausgeprägte, synergistisch wirkende Mechanismen, um das osmotische Gleichgewicht wiederherzustellen, was die unterschiedlichsten Stufen der Salztoleranz in Pflanzen begründet. Biochemische Strategien umfassen z. B. eine begrenzte Aufnahme der Ionen in das Blatt, eine gezielte Speicherung der Ionen in bestimmten Zellkompartimenten (z. B. der Vakuole), die Bildung osmotisch wirksamer Substanzen und die Veränderung der Membranstruktur. Außerdem konnte beobachtet werden, dass durch Stresseinfluss die Gehalte antioxidativ wirksamer Substanzen, wie z. B. Carotinoide (Kim et al., 2008) und Polyphenole (Foyer et al., 1994, Adams et al., 1992, Kennedy und De Fillippis, 1999) und deren chemische Struktur zugunsten der antioxidativen Wirkung erhöht werden konnten. So wurde beobachtet, dass Pflanzen unter Salzstress zunehmend methylierte Metabolite bildeten, die gute radikalabfangende und osmotische Eigenschaften besitzen (Parida und Das, 2005). Ziel der Versuche dieser Arbeit war es herauszufinden, wie die Perilla-Linien auf den Einfluss von Salz- und Trockenstress reagieren und inwiefern sich der Stress auf die Gehalte der Carotinoide und Polyphenole auswirkt.

5.3.1 Einfluss von Salz- und Trockenstress auf Habitus und Ertrag

Salz- und Trockenstress beeinflussen die Wasserverfügbarkeit, den Ionenaustausch und den gesamten Ionenhaushalt in der Pflanze. Zunächst wirkt der osmotische Stress und im weiteren Verlauf setzt zusätzlich der ionische Stress in der Pflanzenzelle ein. Der Stress beeinflusst die gesamten Stoffwechselfvorgänge in der Pflanze und wirkt auf die Photosyntheserate, den Protein und den Lipidstoffwechsel. In welchem Maße eine Pflanze durch den ausgesetzten Stress reagiert ist abhängig von der jeweiligen Stresstoleranz, die auf verschiedenen biochemischen Vorgängen in den Zellen beruhen. Als anfängliches Stresssymptom reagieren Pflanzen mit reduziertem Wachstum. Dies bestätigen die Untersuchungen der gestressten Pflanzen der Linien 2 und 5 in der vorliegenden Arbeit. Die Wuchshöhe wurde sowohl durch Trocken- als auch durch Salzstress signifikant beeinflusst, wobei der Salzstress das Wachstum stärker verringerte. Die Linie 2 reagierte stärker auf Salz- und Trockenstress als die Linie 5 und zeigte bei maximalem Trockenstress (400 hPa) eine verminderte Wuchshöhe von 18% (2007) und 20% (2008) und bei maximalem Salzstress (EC 7,1 -20 mmol NaCl) eine verminderte Wuchshöhe von 23% (2007) und 40% (2008). Bei der Linie 5 wurde bei Trockenstress eine verminderte Wuchshöhe von 14% (2007) und 8% (2008) beobachtet, bei Salzstress von 23% (2007) und 13% (2008). Zunächst werden bei Verringerung des osmotischen Potentials in der Pflanze die Stomata geschlossen, um verstärktem Wasserverlust durch Verdunstung vorzubeugen. Der Gasaustausch wird somit eingeschränkt und die Photosyntheserate nimmt ab. Die Pflanze stellt das Wachstum ein. Außerdem wird bei zunehmendem Salzstress in den Wurzelzellen vermehrt Abscisinsäure gebildet (Parida und Das, 2005) die über das Xylem bis zur Sprossspitze gelangt und dort ein vermindertes apikales Wachstum hervorruft. Diese Hormonwirkung und der zusätzliche zum osmotischen Stress einsetzende ionische Stress begründen die stärkere Ausprägung der Symptome von Salzstress auf das Wachstum der Linien 2 und 5. Chaves und Pinheiro (2009) bestätigen eine stärkere Ausprägung der Stresssymptome ausgelöst durch Salzstress im Vergleich zu Trockenstress.

Überraschender Weise wurde in der Linie 2 in beiden Versuchsjahren und bei der Linie 5 im Versuchsjahr 2007 der Trockensubstanzgehalt unter Einfluss von Salzstress erhöht (10-20 %). Diese Beobachtung wurde auch von Kim et al. (2008) bei *Lactuca sativa* L. beschrieben. Ebenso beschreiben Kurban et al. (1999) eine

Zunahme der Trockensubstanz bei *Alhagi pseudoalhagi* unter dem Einfluss geringerer Salzkonzentrationen (50 mM NaCl) und eine Abnahme bei steigender Salzkonzentration (>100 mM). Vermutet wird, dass geringe Konzentrationen von NaCl möglicherweise als Mineralstoffquelle genutzt werden und somit das Wachstum positiv beeinflussen könnten (Kim et al., 2008). Ein weiterer Grund könnte ein durch Stress induziertes, vorzeitiges Einsetzen der generativen Phase sein, was eine Erhöhung des Zellwandmaterials und somit auch eine Erhöhung der Trockensubstanz bewirkt. Im Versuchsjahr 2008 liegt der Trockensubstanzgehalt beider Linien deutlich höher als im Jahr 2007. Die Pflanzen aus dem Versuchsjahr 2008 wurden aus organisatorischen Gründen im Winter unter Zusatzubelichtung kultiviert. Sowohl die Linie 2 als auch die Linie 5 befanden sich im Gegensatz zum Vorjahr im generativen Stadium, wobei dieses bei der Linie 2 deutlicher ausgepägt war und diese deutliche Blütenstände bildete. Generell nimmt der Trockensubstanzgehalt im generativen Stadium zu.

5.3.2 Einfluss von Salz- und Trockenstress auf die inhaltstoffliche Zusammensetzung

Salz- und Trockenstress beeinflussen die biochemischen Stoffwechselfvorgänge innerhalb des pflanzlichen Organismus und führen zu einer erhöhten Produktion von ROS (Ashraf, 2009, Ali und Alqurainy, 2002, Mittler, 2002, Dat et al., 2000). Als Schutzfunktion reagieren die Pflanzen auf die erhöhte Bildung von ROS, im Rahmen ihrer Möglichkeiten, mit einer vermehrten Bildung von antioxidativ wirksamen Substanzen wie z. B. Enzymen oder auch Carotinoiden und Polyphenolen. Die Möglichkeit, die ernährungsphysiologische Qualität pflanzlicher Nahrungsmittel durch induzierte Stressbedingungen zu verbessern, wurde vielfach untersucht. Diese Untersuchungen lieferten viele, zum Teil widersprüchliche Ergebnisse. Untersuchungen an Tomaten zeigten, dass Salzstress die Gehalte an Carotinoiden und Polyphenolen steigerte (Sgherri et al., 2008, Wu und Kubota, 2008, Kubota und Thompson, 2006, De Pascale et al., 2001). Krauß et al. (2006) beschreiben neben der Steigerung der Gehalte von Carotinoiden und Polyphenolen ebenfalls eine Verbesserung der geschmacksrelevanten Faktoren durch Salzstress. Bei Erdbeeren und Melonen hatte die Salztoleranz der verschiedenen Sorten einen großen Einfluss auf die Reaktion der Pflanze. So konnten die Gehalte von Ascorbinsäure und

Polyphenolen in salztoleranten Spezies erhöht werden, salzempfindliche Spezies dagegen wurden entweder nicht beeinflusst oder die Gehalte verringerten sich (Keutgen und Pawelzik, 2007, Yasar et al., 2006). In salztolerantem Zuckerrohr konnte der Polyphenolgehalt durch Salzstress im Vergleich zu salzempfindlichen Arten deutlich gesteigert werden (Wahid und Ghanzafar, 2006). In Broccoli verringerte sich der Polyphenolgehalt, in älteren Blättern signifikant in jüngeren Blättern tendenziell. Der Polyphenolgehalt korrelierte negativ mit zunehmendem Salzstress. Die Blüten dagegen zeigten bei moderatem Salzstress eine leichte Zunahme des Polyphenolgehaltes (Lopez-Berenguer et al., 2009). Bei Römersalat (*Lactuca sativa* L.), einer salzempfindlichen Pflanze, konnte durch Langzeitversuche mit geringer Salzkonzentration (5 mM NaCl) eine Steigerung des Carotinoidgehaltes und eine Verringerung des Polyphenolgehaltes beobachtet werden (Kim et al., 2008).

Generell scheint die Reaktion der Pflanze auf Salzstress von mehreren Faktoren abzuhängen: von Dauer und Stärke des Salzstress, von dem Entwicklungszustand und Alter der Pflanze und der einzelnen Organe (Lopez-Berenguer et al., 2009) und von der Salztoleranz der Pflanze selbst, d.h. ihrer Möglichkeit, dem Salzstress mit der Bildung biochemischer Substanzen zu begegnen.

Vorversuche, anhand derer die Höhe der Salz- und Trockenstresstufen festgelegt wurden zeigten, dass die rotblättrige Perilla-Linie 5 unter erstaunlich hohem Stresseinfluss (EC 15 – 45 mmol NaCl) wuchs, ohne sichtbare Stresssymptome zu entwickeln. Pflanzen der Perilla-Linie 2 entwickelten bereits bei einem EC Wert von 7,1 (20 mmol NaCl) Blattrandnekrosen. Unter dem Einfluss von 2 Salzstresstufen (EC 5,0 und EC 7,1) und 3 Trockenstresstufen (150 hPa, 250 hPa, 400 hPa) reagierte die Linie 5 in beiden Versuchsjahren stärker als die Linie 2. Auch reagierte die Perilla-Linie 5 mit geringerem Rückgang der Wuchshöhe. Diese Tatsachen deuten auf eine höhere Toleranz der Linie 5 gegenüber Salzstress hin. Untersuchungen der vorliegenden Arbeit bestätigten, dass Salzstress einen deutlich stärkeren Einfluss auf die Bildung von Carotinoiden und Polyphenolen hat, als Trockenstress. So wurden die Gesamtcarotinoidegehalte durch induzierten Trockenstress weder bei Perilla-Linie 2 noch bei Perilla-Linie 5 signifikant beeinflusst. Die Reaktionen auf den induzierten Salzstress der Versuchsjahre 2007 und 2008 zeigten bei den Carotinoiden gegensätzliche Ausprägungen. Im Jahr 2007 zeigten beide Linien eine signifikante Erhöhung der Gesamtcarotinoidgehalte, die sich bei der Linie 5 mit 22 % deutlich stärker ausprägten als bei der Linie 2 mit 7%. Bei der

Linie 5 stiegen die Gehalte der Carotinoide Lutein (16%), β -Carotin (15%), Zeaxanthin (50 %) und α -Carotin (15 %) und die Gehalte der Chlorophylle a (13%) und b (17%) signifikant an. In der Linie 2 erhöhten sich die Gehalte an Lutein (14%) und Zeaxanthin (42 %) signifikant. Gehalte an β -Carotin, α -Carotin und der Chlorophylle a und b erhöhten sich tendenziell. Im Jahr 2008 verringerten sich die Gesamtcarotinoidgehalte der Linie 2 tendenziell, die der Linie 5 verringerten sich signifikant um 12 %. Die Gehalte der Chlorophylle zeigten in der Linie 2 keine signifikante Veränderung. In der Linie 5 sanken die Gehalte signifikant sowohl bei Chlorophyll a (20 %) als auch bei Chlorophyll b (16 %).

In der Literatur werden oftmals gegensätzliche Reaktionen auf Salz- und Trockenstress beschrieben. Kim et al. (2009) beschreiben die Zunahme an Carotinoiden und Chlorophyllen in Blättern von Römersalat bei geringen Salzkonzentrationen, jedoch eine Abnahme bei steigenden Konzentrationen. Generell geht mit einer steigenden Salzkonzentration eine Abnahme von Gehalten an Chlorophyllen und Carotinoiden einher (Parida et al., 2005). Erste Chlorosen tauchen meist an älteren Blättern auf und schreiten mit zunehmender Dauer fort (Hernandez et al., 1995, 1999, Gadallah 1999, Agastia et al., 2000). Die konzentrationsabhängige Reaktion bestätigen Parida et al. (2002) und Kennedy und de Fillippis (1999). Kennedy und De Fillippis (1999) beobachteten ebenfalls eine signifikante Abnahme des Gehalts an Chlorophyllen und Carotinoiden, zudem eine signifikante Zunahme phenolischer Substanzen.

Stressinduzierte Erhöhungen des Polyphenolgehaltes konnten in der vorliegenden Arbeit im Jahr 2008 in der Perilla Linie 2 beobachtet werden. Durch Trockenstress wurde der Gesamtpolyphenolgehalt um 28 % gesteigert, durch Salzstress konnten der Gesamtpolyphenolgehalte zwischen 28 % (10 mmol) und 38 % (20 mmol) erhöht werden. Die Gesamtpolyphenolgehalte lagen im Jahr 2007 deutlich höher als im Jahr 2008. Bei der Linie 5 wurde im Jahr 2008 durch induzierten Salzstress der Gesamtpolyphenolgehalt tendenziell erhöht, Trockenstress zeigte keine Effekte auf den Polyphenolgehalt. Die antioxidative Kapazität der Linie 5, die im ABTS- und im LPO- Testsystem bestimmt worden war, korrelierte im Jahr 2007 in beiden Testsystemen (ABTS: $p=0,620$, LPO: $p=0,487$) und im Jahr 2008 im ABTS- Testsystem positiv mit dem Gesamtpolyphenolgehalt (ABTS: $p=0,487$). Bei der Linie 2 korrelierte der Gesamtpolyphenolgehalt nur im Jahr 2008 positiv mit der antioxidativen Kapazität (ABTS: $p=0,727$; LPO: $p=0,489$). Der Polyphenolgehalt der

Linie 5 lag im Jahr 2008 deutlich höher als im Jahr 2007 und wurde durch induzierte Stressbedingungen nicht signifikant gesteigert. Ein Grund für die erhöhten Gehalte an Polyphenolen im Jahr 2008 könnte die Zusatzbelichtung gewesen sein, die im Jahr 2007 nicht appliziert wurde. Wie im Kapitel 5.4.2 ausführlich beschrieben, bilden Pflanzen unter UV-Einfluss vermehrt Polyphenole in epidermalen Zellen (Schmitz-Hörner und Weissböck, 2003). Parr und Bowell (2000) und Santos et al. (2002) beobachteten eine biosynthetische Konversion von mono-hydroxylierten zu dihydroxylierten Phenolen unter Einfluss von UV-Licht. Im Jahr 2008 stieg die antioxidative Kapazität der phenolischen Inhaltsstoffe von Linie 5 signifikant bei nur tendenziellem Anstieg von dem Gesamtpolyphenolgehalt, was auf die Zunahme der OH-Gruppen zurückgeführt werden kann.

Trotz naher Verwandtschaft der Linie 2 und der Linie 5, die zusammengefasst werden unter der Artbezeichnung *Perilla frutescens* L. var. *crispa* deuten sowohl die phänotypischen Merkmale wie Farbe, Blattgröße als auch die inhaltstofflichen Analysen und die Reaktionen auf induzierten Stress auf unterschiedliche biochemische Stoffwechselfvorgänge hin. Der Ursprung der Linie 5 soll in hohen Bergregionen Chinas liegen, worauf zum einen die hohe antioxidative Wirkung der Polyphenole und auch die starke Anthocyanfärbung der Blätter deuten, die als UV-Schutz verstanden werden. Um eine gute Keimfähigkeit in der Linie 5 zu erreichen, benötigte das Saatgut der Linie 5 einen Kältereiz, was sie von den übrigen 4 untersuchten Linien und insbesondere von der sonst so ähnlichen Linie 2 unterscheidet. Generell ist eine Erhöhung des Gehaltes antioxidativer Inhaltsstoffe in *Perilla frutescens* L. möglich, wobei Salzstress stärkere Reaktionen in der Pflanze auslöst als Trockenstress. Die Linie 5 eignet sich aufgrund ihrer höheren Toleranz besser als die Linie 2, wobei das Entwicklungsstadium der Pflanze offensichtlich einen wesentlichen Einfluss hat.

5.4 Vergleich von Freiland- und Gewächshausanbau auf die Qualität von *Perilla frutescens* L.

Im Vergleich zum Gewächshausanbau stellt der Freilandanbau in vielen Fällen eine kostengünstigere Anbauform dar. Oftmals lassen sich durch Freilandanbau sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe anreichern und somit Qualität und Geschmack der Nutzpflanzen sogar verbessern. Für Landwirte stellen Sonderkulturen, die sich im Freiland anbauen lassen, interessante, zusätzliche Einkommensquellen dar. Neben den positiven Effekten auf die Fruchtfolge und die Artenvielfalt bietet der Anbau von Sonderkulturen im Freiland auch wirtschaftliche Vorteile. Seit geraumer Zeit steigt die Nachfrage der Bevölkerung nach pflanzlichen Arzneimitteln. Seitdem wissenschaftliche Studien die Wirksamkeit pflanzlicher Arzneimittel belegen, wächst der Bedarf an Rohware ständig. Deutschland ist derzeit mit Abstand der wichtigste Markt für Phytopharmaka in der EU (38%) (Bomme, 2007). Die wachsenden Ansprüche an die Qualität des Erntegutes (z. B. Inhaltsstoffgehalt, Verunreinigungen, mikrobiologische Reinheit, Schwermetalle, Aflatoxine, Pflanzenschutzmittel) fordern eine lückenlose Dokumentation der Produktion der Rohware um für Transparenz und qualitativ hochwertige Produkte zu sorgen. Bisher wurde die Rohware zu über 90 % aus dem Ausland bezogen. Durch die strengeren Auflagen wird es zunehmend schwieriger die geforderten Qualitätsstandards mit importierter Ware aus dem Ausland einzuhalten (Bomme, 2007). Das ist einer der Gründe dafür, warum der einheimische Arzneipflanzenanbau derzeit an Attraktivität gewinnt (Handbuch des Arznei- und Gewürzpflanzenanbaus, 2009).

Wie aus der Tabelle 1 hervorgeht, wird die Pflanze *Perilla frutescens* L. in weiten Teilen Asiens als Arznei-, Gewürz- und Gemüsepflanze verwendet. Ebenso wird die Pflanze inzwischen in Deutschland kommerziell genutzt. Zum Einen findet das fette Öl der Samen Verwendung als Nahrungsergänzungsmittel für die Versorgung mit Omega-3-Fettsäuren, zum Anderen wird sie als homöopathisches Arzneimittel im Einsatz gegen Gicht und als Antioxidans in der Kosmetikindustrie verwendet. Die Rohware wird dafür aus dem Ausland, vornehmlich aus China, importiert.

5.4.1 Einfluss auf Habitus und Ertrag

In dieser Arbeit wurde innerhalb von Freilandversuchen ermittelt, ob die Pflanze *Perilla frutescens* L. unter hiesigen Klimabedingungen im Freiland kultivierbar ist und inwiefern sie sich in Ertrag und Qualität von denen der Gewächshauspflanzen unterscheiden. Untersucht wurden agronomische Parameter wie Blattmasse, Trockensubstanz, Wuchshöhe und inhaltstoffliche, wertbestimmende Parameter wie Gehalte an Carotinoiden und Polyphenolen sowie deren antioxidative Kapazität. Die Untersuchungen wurden an den Linien 2 und 5 (s. Abb. 12 und Abb. 15) durchgeführt. Die Gewächshauspflanzen zeigten signifikante Unterschiede gegenüber den Freilandpflanzen.

Ein möglicher Einflussfaktor auf die Merkmalsausprägung der Freilandpflanzen könnte das natürliche UV-B und UV-A im Spektrum des Tageslichts sein, welches einen großen Einfluss auf den Habitus und den Metabolismus sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe (Hogewoning et al., 2010) hat. Durch UV-Licht werden insbesondere der Phenylpropanoid-, aber auch der Carotinoidstoffwechsel beeinflusst (Bharti und Khurana, 1996, Reuber et al., 1996, Kovács und Keresztes, 2002, Cuadra et al., 1997, Giuntini, 2005, Guidi, 2008). Sonnenlicht enthält neben dem photosynthetisch aktivem, sichtbaren Licht (400-700 nm) auch die kurzwelligen UV-Licht Komponenten, das UV-B und das UV-A (280-400 nm). Der Einfluss von Sonnenlicht auf den Habitus und Metabolismus sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe wurde bisher in zahlreichen Studien nachgewiesen (Heuberger et al, 2004, Guidi et al, 2007).

Die Freilandpflanzen beider Linien wiesen im Vergleich zu den Gewächshauspflanzen einen veränderten Habitus auf (s. Tab. 26). Sie zeigten in beiden Versuchsjahren bei beiden Linien eine signifikant geringere Wuchshöhe. Im Jahr 2007 lag die Wuchshöhe der Freilandpflanzen der Linie 2 mit 5 %, die der Linie 5 mit 17% unterhalb der der Gewächshauspflanzen. Im Jahr 2008 waren die Freilandpflanzen der Linie 2 durchschnittlich 10 %, die der Linie 5 um 26 % kleiner als die Gewächshauspflanzen. Die Blattmassen der Freilandpflanzen beider Linien lagen in beiden Jahren signifikant höher als die der Gewächshauspflanzen. Im Jahr 2007 lagen die Blattmassen der Freilandpflanzen der Linie 2 um 16 %, die der Linie 5 um 15 % höher, im Jahr 2008 die der Linie 2 um 17 % und bei der Linie 5 um 19 % höher als bei den Gewächshauspflanzen. Auffallend waren die viel kleineren Blätter

der Freilandpflanzen, insbesondere der Linie 2, im Vergleich zu denen der Gewächshauspflanzen. Die Freilandpflanzen wirkten buschiger und ihre Blätter fester. Amudha et al. (2005) beschreiben, dass die Blätter verschiedener Leguminosen bei Behandlung mit UV-Licht vergleichsweise kleine, dicke Blätter bildeten, im Gegensatz zu den Pflanzen, die ohne den Einfluss von UV-Licht aufwuchsen. Zunächst widersprüchlich erscheint einerseits die verminderte Wuchshöhe, die höhere Blattmasse und die kleineren Blätter der Freilandpflanzen. Diese Beobachtungen werden dennoch häufig in der Literatur beschrieben. Durch die Umleitung von Ressourcen zur Bildung von UV-B-Schutzpigmenten kann das Wachstum der Pflanzenzellen beeinträchtigt werden (Jordan, 2002). Als Folge dessen treten vermindertes Sprosswachstum, kürzere Internodien, kleinere Zellen und letztendlich kleinere Blattflächen auf. Dies begründet den stabileren und kompakteren Wuchs und festere Blattstrukturen der Freilandpflanzen gegenüber den Gewächshauspflanzen.

Der Trockensubstanzgehalt der Freilandpflanzen lag in beiden Perilla-Linien und in beiden Versuchsjahren signifikant niedriger als der Trockensubstanzgehalt der Gewächshauspflanzen. Allen et al. (1998) bestätigen diese Beobachtung und vermuten, dass UV-Licht die Öffnung der Stomata beeinflusst und somit eine verminderte Transpirationsrate zur Folge hat. Schirmacher (2005) bestätigte ebenso eine Abnahme der Trockensubstanz in Spinat bei Langzeitbelichtung mit UV-B und UV-A haltigem Licht.

Ebenso beobachteten Krizek und Santos (2004) eine zunehmende Blattdicke unter dem Einfluss von UV-Strahlung, die vermutlich eine direkte Schutzfunktion besitzt. Guidi (2007) beobachtete, dass mit zunehmender UV-B Einstrahlung eine Abnahme der Blattgröße und eine geringere Wuchshöhe einhergingen. Ein vermindertes Sprosswachstum, eine Verkürzung der Internodien, kürzere Blattstiele und kleinere Blattflächen sind eine weit verbreitete Reaktion (Tevini, 1993 und Brunold, 1996). Als Erklärung gibt Hollósy (2002) an, dass UV-Licht durch eine photolytische Degradation die Konzentration von Indolelessigsäure (IAA) in der Zelle reduzieren kann und in Verbindung mit einem IAA-Photoprodukt somit das hypokotyle Wachstum negativ beeinflusst.

5.4.2 Einfluss auf die inhaltstoffliche Zusammensetzung und die antioxidative Kapazität

Unter Freilandbedingungen konnten in der vorliegenden Arbeit neben phänotypischen auch inhaltstoffliche Veränderungen in Perillapflanzen nachgewiesen werden. Schon einige Tage nach der Auspflanzung in die Freilandbeete wurde beobachtet, dass die Blätter der Freilandpflanzen im Vergleich zu denen der Gewächshauspflanzen viel heller waren. Eine Mangelerscheinung wurde ausgeschlossen und dieselben Beobachtungen konnten im Folgejahr wiederholt gemacht werden. Diese Beobachtung wird ebenfalls von Schirmacher (2005) beschrieben: die Anzahl der hellgrünen Blätter nimmt mit zunehmender UV-Bestrahlung zu. Dies wird auf den verminderten Gehalt von Chlorophyll zurückgeführt. UV-Licht scheint die Gehalte von Chlorophyllen und Carotinoiden je nach Stärke und Dauer der Einwirkung (Jansen et al., 2008) und je nach Pflanzart und Entwicklungszustand (Ibanez et al., 2008, Steel und Keller, 2000) unterschiedlich zu beeinflussen. Ein Vergleich der Ergebnisse ist somit schwierig. Aus der Literatur gehen viele unterschiedliche Beobachtungen hervor. Barsing und Malz (2000) konnten keinerlei Effekte beobachten, während andere (Guidi et al., 2007, Carletti et al., 2003, Gaberscik et al., 2002; Costa et al., 2002; Smith et al., 2000) unter Einfluss von UV-Licht bzw. Sonnenlicht eine Abnahme der Chlorophyll- und Carotinoidegehalte verzeichneten. Cuadra et al. (1997) wies auf einen Anstieg der Gehalte von Carotinoiden und Chlorophyllen unter Einfluss von UV-Licht hin, Dohler (1998) konnte eine Abnahme der Xanthophylle und eine Zunahme von Chlorophyllen und Carotinen beobachten, während Stephanou und Manetas (1997) keine Effekte für Chlorophylle, jedoch einen Anstieg von Carotinoiden beschreiben. Die Analysen des Pflanzenmaterials beider Perilla-Linien aus der vorliegenden Arbeit bestätigten den signifikanten Unterschied von Carotinoid- und Chlorophyllgehalt in Freiland- und Gewächshauspflanzen in den Versuchsjahren 2007 und 2008 (Tab. 27 und Tab. 28). Als Hauptkomponenten der Carotinoide lagen Lutein und β -Carotin in den Freilandpflanzen beider Linien in signifikant geringerer Menge vor als in den Gewächshauspflanzen. Die Gehalte von α -Carotin und Zeaxanthin der Gewächshauspflanzen sind in beiden Linien und beiden Versuchsjahren ebenfalls höher als die der Freilandpflanzen, allerdings waren die Unterschiede hier nicht immer signifikant. Die Gesamtcarotinoidgehalte der Gewächshauspflanzen beider Linien liegen im Jahr 2007 um etwa 40 % und im Jahr 2008 um etwa 20 % höher als

die der Freilandpflanzen. Amudha et al. (2005) beschreiben ebenfalls eine signifikante Zunahme von Carotinoid- und Chlorophyllgehalten bis zu 30 % bei Ausschluss von UV-Komponenten aus Sonnenlicht.

Auch der Chlorophyllgehalt der Gewächshauspflanzen lag in beiden Perilla-Linien in der vorliegenden Arbeit im Jahr 2007 um etwa 30 % und im Jahr 2008 um etwa 15 % höher als in den Freilandpflanzen. Beim Vergleich der Chlorophyll- und Gesamtcarotinoidgehalte der Freilandpflanzen fällt auf, dass diese im Jahr 2008 durchweg höher lagen als im Jahr 2007. Bei den Carotinoidgehalten fallen insbesondere die erhöhten Luteingehalte im Jahr 2008 ins Gewicht. Vergleiche der Klimadaten (Anhang) zeigen keine extremen Unterschiede in Temperatur, Niederschlag und Strahlungsstärke auf. Eine Erklärung für die erhöhten Gehalte könnte die Beschattung der Freilandpflanzen im Jahr 2008 sein. Aufgrund der starken Hagelfälle im Sommer 2007 wurde im Jahr 2008 der Freilandbestand mit Schutznetzen versehen (s. Abb. 85). Diese hatte zur Folge, dass die Pflanzen schattiert wurden und somit nicht dem Sonnenlicht in dem Maße ausgesetzt waren, wie im Jahr zuvor. Auch die geringere Blattmasse im Jahr 2008 könnte demnach eine Folge der Schattierung und dem somit geringeren Anteil des UV-Lichts sein (Kadur 2007, Amudha, 2005). Lichtenthaler (2007) beschreibt eine Abnahme des Verhältnisses von Chlorophyll a/Chlorophyll b bei zunehmender Beschattung und abnehmendem Einfluss von UV-Licht, was ebenfalls bei Freilandpflanzen beider Perilla-Linien im Versuchsjahr 2008 nachgewiesen werden konnte. Carotinoide gehören als Tetraterpene in die Stoffklasse der Terpenoide, bestehen aus 8 Isopren-Untereinheiten und besitzen 40 C-Atome. Etherische Öle von *Perilla frutescens* L var. *crispa* bestehen größtenteils aus Mono- bzw. Sesquiterpenen (Schnitzler et al., 2004) die 10 bzw. 15 C-Atome besitzen und aus 2 bzw. 3 Isopreneinheiten aufgebaut sind. Etherische Öle besitzen zahlreiche Funktionen in der Pflanze und es konnte vielfach nachgewiesen werden, dass die Gehalte mit zunehmender Sonneneinstrahlung steigen (Schnitzler et al., 2004, Nitz und Schnitzler, 2004). Diterpene besitzen 20 C-Atome und sind aus 4 Isopren Untereinheiten aufgebaut. Als Wachstumshormone wie z. B. Abscisinsäure (Graßmann, 2009) und Gibbereline wirken sie auf das Wachstum der Pflanze ein und liegen in der Pflanze u. a. gebunden an Chlorophyll vor. Es ist bekannt, dass Wurzelzellen unter Stressbedingungen die Bildung von Abscisinsäure induzieren (Parida und Das, 2005), die in apikalen Geweben wirken und das Wachstum reduzieren. Möglicherweise findet unter Stressbedingungen,

unter Abbau der Chloroplasten, ebenfalls eine Freisetzung des Hormons Abscisinsäure statt, was als Folge das apikale Wachstum einschränkt. Ebenso könnte ein Abbau der Carotinoide unter erhöhtem Einfluss von Sonneneinstrahlung zu einem Zerfall der Tetraterpene führen und zu einer Bildung neuer, niederer Terpene wie z. B. Mono bzw. Sesquiterpenen führen. Die würde eine Abnahme der Carotinoide und Chlorophylle bei einer gleichzeitigen Zunahme von etherischen Ölen erklären.

Die antioxidative Kapazität der Carotinoideextrakte aus Gewächshauspflanzen beider Perilla-Linien und Anbaujahre ist signifikant höher als die aus Freilandpflanzen. Im Jahr 2007 lag sie in beiden Linien um etwa 13 % höher, im Jahr 2008 um etwa 25%. Somit liegt die antioxidative Kapazität der Carotinoideextrakte aus Gewächshauspflanzen zwar höher als die aus Freilandpflanzen, allerdings nicht in dem Maße wie die Gehalte. Der Gehalt an Lutein, β -Carotin, Zeaxanthin, und Chlorophyll a korrelierte in beiden Versuchsjahren und beiden Perilla-Linien positiv mit der antioxidativen Kapazität der Carotinoideextrakte. In dem Versuchsjahr 2008 weisen Carotinoideextrakte der Gewächshauspflanzen von Perilla-Linien 2 und 5 im Vergleich zu den Freilandpflanzen eine außergewöhnlich hohe antioxidative Kapazität auf, was sich nicht durch einen erhöhten Gesamtcarotinoidgehalt erklären lässt. Eine Begründung könnten neben erhöhten Chlorophyll-b Gehalten insbesondere die hohen Chlorophyll-a Gehalte sein, die im ABTS-System eine antioxidative Wirkung entfalten. Ein weiterer Grund könnte der erhöhte Luteinanteil am Gesamtcarotinoidgehalt sein. Lutein, ein Xanthophyll, liegt über Proteine gebunden an die Chlorophylle-a und b vor, die in Chloroplasten beschatteter Blätter in höherer Menge vorkommen. Der Anteil an Lutein in beschatteten Blättern ist somit höher als in belichteten Blättern. Im Gegensatz dazu nimmt der Gehalt von β -Carotin, bei zunehmender Beschattung ab (Lichtenthaler et al., 2007). Zudem zeigte Lutein im Vergleich zu anderen Carotinoiden und Chlorophyllen im ABTS-System die beste antioxidative Wirkung (Müller-Waldeck et al., 2010).

Im Gegensatz zu den Carotinoiden konnten für die Polyphenole klare Effekte beobachtet werden. Der Gehalt der Polyphenole lag in den Freilandpflanzen beider Linien in beiden Jahren signifikant höher als in den Gewächshauspflanzen. Im Jahr 2007 lag der Gehalt der Freilandpflanzen beider Linien durchschnittlich um 14 % höher, was sich ebenfalls in einer erhöhten durchschnittlichen antioxidativen Kapazität von 17 % widerspiegelt. Im Jahr 2008 war der Polyphenolgehalt der

Freilandpflanzen beider Linien um durchschnittlich 10 % höher, die antioxidative Kapazität liegt hier um 13 % höher. In der Literatur wird oftmals eine Erhöhung des Gehaltes phenolischer Substanzen als Folge von Einfluss von UV-Licht beschrieben (Jansen et al., 2008, Nitz et al., 2004, Jordan, 2002). Es wird angenommen, dass Polyphenole die Pflanze vor UV-Strahlung schützen, indem sie sich bei zunehmendem Einfluss von UV-Licht in epidermalen Zellen anreichern und somit das Mesophyll als photosynthetisch aktives Gewebe schützen (Bornman et al., 1997, Schnitzler et al., 1996, Burchard et al., 2000, Kolb et al., 2001, Schmitz-Hörner und Weissenböck, 2003).

Eine Beeinflussung von Enzymen des Phenylpropanoidstoffwechsels führt zu einer Änderung in der Synthese und Zusammensetzung von phenolischen Substanzen in den Pflanzen (Reuber et al., 1996, Bharti und Khurana, 1997). Durch UV-Strahlung kann es zusätzlich zu einer biosynthetischen Konversion von monohydroxylierten zu dihydroxylierten Phenolen kommen. Diese besitzen aufgrund der OH-Gruppen eine höhere antioxidative Wirkung und stellen somit eine Adaption der Pflanze an erhöhte UV-Strahlung und dem damit verbundenen oxidativen Stress bei einem Anstieg von ROS dar (Parr und Bolwell, 2000 und Santos et al., 2004).

Die Zusammensetzung der polyphenolischen Substanzen von Freiland- und Gewächshauspflanzen konnten in dieser Arbeit nicht näher untersucht werden.

5.4.3 Anbaufähigkeit von *Perilla frutescens* L. im Gewächshaus und im Freiland

Die Pflanzen wurden in beiden Versuchsjahren im Gewächshaus angezogen und im Mai in die Frühbeete gepflanzt. Bedingt durch ein sehr gutes Wachstum beider Linien (2 und 5) schloss sich der Bestand bei einem Reihenabstand von 35 cm und einem Pflanzabstand von 50 cm innerhalb weniger Wochen. Somit waren Unkrautbekämpfungsmaßnahmen nicht erforderlich. Die Frischmasseerträge übertrafen die der Gewächshauspflanzen deutlich. Die inhaltstoffliche Qualität der Rohware aus Freilandanbau ist sehr gut, die Polyphenolgehalte übertreffen die der Gewächshauspflanzen. Die Pflanzen zeigten eine ausgeprägte Wuchsfreudigkeit, sollten allerdings früh ins Freiland ausgepflanzt werden, da Gewächshauspflanzen ausgesprochen schnell wachsen und sich dementsprechend durch ihren instabilen Wuchs wie z. B. längeren Internodien nicht für Anbau im Freiland eignen und bei der

Auspflanzung schaden nehmen könnten. Einen Nachteil im Freilandanbau stellte die mangelnde Belichtung der unteren Blätter dar, die zu vorzeitigem Absterben der beschatteten Blätter führte. Sowohl die Gewächshauspflanzen als auch die Freilandpflanzen wurden in beiden Anbaujahren von der Spinnmilbe und der weißen Fliege befallen, wobei die Gewächshauskulturen einen stärkeren Befall zeigten. In der Literatur wird ebenfalls ein bevorzugter Befall von *Perilla frutescens* L durch stechend, saugende Insekten beschrieben. Der Schädlingsbefall fiel allerdings insgesamt gering aus und konnte durch mehrmalige Spritzungen mit verdünnter Seifenlauge (Neudosan 10%) kontrolliert werden. Diese wird ebenfalls im ökologischen Landbau verwendet und sollte im Anbau von Arznei- und Gewürzpflanzen keinerlei Einfluss auf Qualität des Erntegutes zeigen. Im Versuchsjahr 2008 zeigten die Gewächshauspflanzen einen auffällig starken Befall durch Raupen, der durch Absammeln und Evakuierung der stark befallenen Pflanzen kontrolliert werden konnte. Insgesamt zeigten die Pflanzen sowohl im Freiland als auch im Gewächshaus ein sehr gutes Wachstum eine zügige Bestandsdichte und eine insgesamt gute Anbaufähigkeit. Aufgrund des zügigen Wachstums und dem somit schnell geschlossenen Bestands, eignete sich diese Pflanze insbesondere als unkrautmindernde Zwischenfrucht.

Als Lippenblütler besitzt diese Pflanze einen weiten Blühhorizont, was eine ungleiche Abreife des Saatguts begründet und somit die Qualität des Saatguts wesentlich beeinflusst. Im Versuchsjahr 2008 konnte die Keimfähigkeit durch die Saatgutaufbereitung mit Hilfe des Windsichters wesentlich verbessert werden. Insbesondere bei der Direktsaat sollte unbedingt eine Selektion des keimfähigen Saatguts durchgeführt werden, um einen gleichmäßigen Auflauf und eine gewünschte Bestandsdichte gewährleisten zu können. In der Literatur (Brenner, 1993) wird ebenso die geringe Lagerungsfähigkeit des Saatguts der Gattung *Perilla* als weiteres Problem beschrieben, was jedoch in dieser Arbeit nicht bestätigt werden konnte. Im Gegensatz zu den anderen 4 Linien, brauchte das Saatgut der Linie 5 lediglich einen Kältereiz, um eine gute Keimfähigkeit zu erzielen.

5.5 Verzehrstudie

Pflanzen können auf vermehrten oxidativen Stress mit der Bildung von endogenen Antioxidantien reagieren. Menschen verfügen im Gegensatz zu Pflanzen nicht über diese Möglichkeit und sind dementsprechend auf eine exogene Zufuhr von Antioxidantien angewiesen (Demming-Adams, 2002). Anhand vorhegehender Untersuchungen wurde nachgewiesen, dass die Pflanze *Perilla frutescens* L. neben hohen Gesamtgehalten an Carotinoiden und Polyphenolen ebenfalls eine sehr gute antioxidative Wirkung *in vitro* zeigte. Ob sich diese ernährungspysiologisch interessanten Eigenschaften auch *in vivo* nachweisen lassen, war Gegenstand der im Folgenden diskutierten Interventionsstudie.

Die Ergebnisse durchgeführter Interventionsstudien deuten daraufhin, dass eine hoch dosierte Gabe einzelner Antioxidantien wie z. B. β -Carotin, Ascorbinsäure und α -Carotin keine gesundheitsfördernden sondern vielmehr gesundheitsschädliche Eigenschaften zeigten (Heinonen et al., 1994, Omenn et al., 1996, Steinhubl, 2008, Alpers, 2007). Dagegen belegten zahlreiche Studien jedoch die gesundheitsfördernde Wirkung einer obst- und gemüsereichen Ernährung. Als Grund wird vermutet, dass der Summe der zahlreichen Antioxidantien in Obst und Gemüse kooperative und synergistische Wirkungsweisen zugrunde liegen (Yang et al., 2009, Liu, 2003, Eastwood, 1999, Hercberg et al., 1998).

Basierend auf Ergebnissen von Thompson et al. (2005) die beschreiben, dass insbesondere Probanden mit erhöhtem oxidativem Stress auf antioxidantienreiche Supplementierung reagierten, wurde diese Interventionsstudie sowohl an Gesunden als auch an Diabetikern Typ-2 durchgeführt. Aufgrund eines erhöhten Blutzuckerspiegels bei der Erkrankung an *Diabetes mellitus*, liegen in dem Blutplasma viele Stoffe wie z. B. Lipide, Proteine und Enzyme in glukosidierter Form vor. Als Folge dessen entsteht im Organismus erhöhter oxidativer Stress, der auf vermehrter Bildung von ROS bzw. vermindertem Abbau der reaktiven Sauerstoffspezies beruht. Auch Wiernsperger (2003) beschreibt den oftmals erhöhten oxidativen Stress bei Diabetikern, der wiederum Folgeerkrankungen wie z. B. Makulardegeneration, Artherosklerose, generelle Entzündungsgeschehen im Körper und schlecht heilende Wunden bedingt und als Langzeitfolge von oxidativem Stress verstanden werden kann.

In der durchgeführten Verzehrstudie wurde untersucht, ob durch Supplementierung mit einem Perilla-Präparat der oxidative Stress im menschlichen Organismus messbar beeinflusst werden kann.

Aufgrund der Auflagen der Ethikkommission der Technischen Universität München durften für diese Studie lediglich Diabetiker eingesetzt werden, deren HbA1c-Wert unterhalb von 8 lag. Somit handelte es sich um Diabetiker, bei denen die Erkrankung vergleichsweise schwach ausgeprägt ist. Als Folge dessen wird erwartet, dass auch die negativen Folgeerscheinungen, wie z. B. erhöhter oxidativer Stress verhältnismäßig schwach ausgeprägt ist. Bei den Probanden handelte es sich um 7 männliche Gesunde und 7 männliche Diabetiker im Alter zwischen 50-64 und einem BMI zwischen 23 und 32. Die Probanden rauchten nicht und nahmen keine Nahrungssupplemente oder Medikamente ein. Die verabreichte Menge an Perilla-Präparat wurde auf eine tägliche Dosis von 5 mg Lutein berechnet. Zu Beginn der Studie wurden die Probanden dahingehend aufgeklärt, ihre üblichen Ernährungsgewohnheiten fortzusetzen, Alkohol nicht in übermäßigen Mengen zu konsumieren und keine carotinoidreiche Kost zu sich zu nehmen. Es handelte sich bei der Studie um eine placebokontrollierte, randomisierte Doppelblindstudie mit cross-over Design. Als Placebo wurde Cellulose verabreicht. Eine Woche vor Studienbeginn wurde anhand des großen Blutbildes und den Blutzuckerwerten ermittelt, ob die Probanden für die Studie in Frage kamen.

Zu Beginn der Studie wurde den Probanden Blut entnommen (t_2) und die ermittelten Werte gemeinsam mit den Werten der vorhergegangenen Blutabnahme (t_1) gemittelt und als Basiswerte (t_1+t_2) herangezogen. Nach einer 2-wöchigen Interventionsphase mit einem Perilla-bzw. Placebopräparat erfolgte die Blutabnahme. Nach einer einwöchigen Auswaschphase erfolgte wiederum eine Blutabnahme, der ein letzter Einnahmezeitraum von 14 Tagen und eine abschließenden Blutabnahme folgte.

Zwischen Diabetikern und Gesunden können vor der Intervention anhand der Basiswerte (t_1+t_2) signifikante Unterschiede für die HbA1c-Werte, die Gehalte der Carotinoide Cryptoxanthin und Zeaxanthin und den Gehalt an Malondialdehyd (MDA) ermittelt werden (s. Tab. 30), wobei der HbA1c-Wert und der MDA-Gehalt in Diabetikern signifikant höher lag als bei Gesunden, die Carotinoidgehalte in Gesunden signifikant höher lagen als bei Diabetikern. Die ermittelten Basiskonzentrationen (t_1 und t_2) der Hauptcarotinoide im Blutplasma lagen für

β -Carotin bei Gesunden bei $1,3 \pm 0,6 \mu\text{M}$ und bei Diabetikern bei $1,5 \pm 1,8 \mu\text{M}$, und für Lutein bei Gesunden bei $0,79 \pm 0,36 \mu\text{M}$ und bei Diabetikern bei $0,77 \pm 0,42 \mu\text{M}$. Im Vergleich zu Literaturangaben, (Kopsell et al., 2006, Nantz et al., 2006, Riso et al., 2004, 2003, Upritchard et al., 2003, 1997, Visioli, 2003, Gueguen et al., 2002, Olmedilla et al., 2001, Hininger et al., 2001) in denen für β -Carotin die ermittelten Mittelwerte zwischen $0,11$ und $1,59 \mu\text{M}$ und für Lutein zwischen $0,07$ und $0,93 \mu\text{M}$ angegeben werden, liegen die Konzentrationen der durchgeführten Verzehrstudie vergleichsweise hoch, was vermutlich auf die Extraktionsmethode zurückzuführen ist. In der vorliegenden Arbeit wurden die Plasmacarotinoide unter Zugabe des Antioxidans BHT extrahiert, um Oxidation vorzubeugen. Wird BHT nicht zugegeben, wie bei Methoden der oben genannten Autoren der Fall, kann die Konzentration an Carotinoiden während der Extraktion aufgrund von oxidativem Abbau sinken.

Die übrigen Parameter wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Probandengruppen auf. Diese Tatsache überrascht zunächst und könnte darin begründet sein, dass es sich bei den untersuchten Diabetikern um Probanden handelt, bei denen *Diabetes mellitus* schwach ausgeprägt ist und diesbezüglich vermutlich auch die negativen Begleiterscheinungen der Erkrankung vergleichsweise gering sind. Nach der 14-tägigen Supplementierung mit einem Perilla-Präparat konnte bei Gesunden und bei Diabetikern eine signifikante Erhöhung der Luteinplasmakonzentration erreicht werden.

Bei Gesunden erhöhte sich die Konzentration von $0,79 \pm 0,36 \mu\text{M}$ auf $1,9 \pm 0,38 \mu\text{M}$ bei Diabetikern von $0,77 \pm 0,42 \mu\text{M}$ auf $1,89 \pm 1,02 \mu\text{M}$. Die vergleichsweise hohe Bioverfügbarkeit des Luteins wurde bereits im Rahmen einer vorherigen Verzehrstudie ermittelt (Graßmann, 2009) und auch von anderen Autoren beschrieben (Erdmann, 1999; van het Hof et al., 1999). Wie aus den Analysen des Blattmaterials von Perilla hervorgeht, (Abb. 22, Abb. 24, Abb. 26, Abb. 28, Abb. 30), verfügt die Pflanze über einen vergleichsweise hohen Luteingehalt. Sullivan et al. (2009) beschreiben eine negative Korrelation des β -Carotins und Luteintransports in Caco-2 Zellen, was ein weiterer Grund für die vergleichsweise gute Luteinbioverfügbarkeit sein könnte. Van den Berg (1999) spricht ebenfalls von einer Interaktion bei der Aufnahme von Carotinoiden, insbesondere von β -Carotin und dem Xanthophyll Lutein. Die Konkurrenz der Carotinoide bei Aufnahme in Mizellen, der Austausch von Carotinoiden zwischen Lipoproteinen und die Hemmung der Provitamin-A Spaltung wird als Begründung für Interaktionen diskutiert (van den

Berg, 1999). Auch van het Hof et al. (1999) und Castenmiller et al. (1999) beschreiben eine höhere Bioverfügbarkeit von Lutein gegenüber β -Carotin. O'Neill et al. (1998) beschreiben, dass die höchste Serumkonzentration von Lutein 2 Stunden nach einer luteinhaltigen Mahlzeit erreicht wird, früher als bei anderen Carotinoiden. Für weitere Carotinoide konnte keine signifikante Konzentrationsveränderung festgestellt werden, was vermutlich auf die geringen Gehalte von Zeaxanthin und α -Carotin in Perilla-Blatt zurückgeführt werden kann.

Inzwischen liegen viele Forschungsergebnisse bezüglich Aufnahme und Transport von sekundären Inhaltsstoffen im menschlichen Organismus vor, die verschiedenste Theorien besitzen und sich oftmals widersprechen. Nachgewiesen werden konnte jedoch mehrfach, dass die Xanthophylle Zeaxanthin und Lutein in außergewöhnlich hoher Konzentration in der Makula des Auges vorkommen. Der Gehalt der Carotinoide in der Makula beträgt ein Fünffaches von dem Gehalt der peripheren Retina (Handelmann et al., 1988). Die Augen sind, ähnlich wie Chloroplasten der Pflanzen, dem ständigen Einfluss von UV-Licht ausgesetzt und somit wird vermutet, dass die Carotinoide das Auge vor phototoxischen Schädigungen schützen, ebenso wie die Chloroplasten. Es wurde nachgewiesen, dass eine Ernährung mit xanthophyllreicher Kost die Pigmentdichte der Makula steigern konnte (Krinsky, 2003).

Weitere Studien belegen, dass die Aufnahme lutein- und zeaxanthinreicher Nahrungsmittel negativ korreliert mit dem Auftreten eines Katarakts oder einer altersbedingten Degeneration der Makula (Jacques und Chylack, 1991, Mares-Perlman et al., 2001). Aufgrund der reaktiven OH-Gruppen der Xanthophylle können diese direkt als Antioxidantien wirken. Xanthophylle können aber auch indirekt vor oxidativem Stress schützen, indem sie blaues Licht absorbieren und somit den oxidativen Stress in der Netzhaut minimieren. Studien belegen, dass Lutein die Intensität von kurzwelligem Blaulicht um 40-90 % senkt. Somit wird vermutet, dass Lutein mit Hilfe mehrerer Wirkungsweisen vermag, photochemische Schäden der Netzhaut zu vermindern und somit die Entstehung der altersbedingten Makuladegeneration (AMD) verhindert (Santosa, 2005).

In einer an Affen durchgeführten Studie wurde nachgewiesen, dass bei xanthophyllfrei ernährten Tieren weder im Blutplasma noch in der Makula des Auges Lutein oder Zeaxanthin nachgewiesen werden konnte. Während der

Supplementierung stieg der Lutein und Zeaxanthingehalt im Blutplasma stark an. Nach lebenslanger xanthophyllfreien Ernährung reagierten Affen nach Supplementierung mit Lutein und Zeaxanthin mit deutlich ansteigenden Plasmakonzentrationen und Pigmentierung der Makula (Neuringer et al., 2004). Augustin et al. (2002) vermuten einen kausalen Zusammenhang zwischen der Abnahme von Lutein und Zeaxanthingehalten der Retina und dem Auftreten von AMD. Somit könnte Perilla als Luteinquelle insbesondere zur Prävention von altersbedingter Makuladegeneration eingesetzt werden.

Bezüglich der antioxidativen Kapazität des Blutplasmas konnte durch die Einnahme des Perilla-Präparates keine Veränderung erreicht werden. Lediglich eine tendenzielle Erhöhung der antioxidativen Kapazität von $344 \pm 33 \mu\text{M}$ auf $381 \pm 33 \mu\text{M}$ wurde bei Diabetikern festgestellt. Die Lagphasen der Probanden wurden durch die Einnahme des Präparats weder bei Diabetikern noch bei Gesunden beeinflusst. Auch die SH-Gruppen, die als Parameter für die Oxidation von Proteinen herangezogen werden, wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen Probanden und Intervention auf. Der Gehalt des Malondialdehyd, als Maß für die Lipidperoxidation, lag vor der Intervention bei Diabetikern signifikant höher als bei Gesunden, die Streuung der Werte war bei den Diabetikern deutlich höher als bei Gesunden.

Auffällig war der tendenzielle Rückgang des Gehalts an MDA von $8,36 \pm 1,81 \mu\text{M}$ auf $7,91 \pm 0,98 \mu\text{M}$ und die deutliche Abnahme der Streuung der Werte nach der Intervention mit dem Perilla-Präparat bei Diabetikern (Abb. 86). Der Effekt der verringerten MDA-Konzentration nach Supplementierung durch Perilla wurde auch in der vorhergehenden Verzehrstudie von Schirmacher et al. (2010) beschrieben. Hier wird ebenso beschrieben, dass Probanden, die zunächst keine Lagphase besaßen, nach der Einnahme von Perilla eine Lagphase vorwiesen.

Ein Grund für die abnehmende Oxidation der Plasmalipide in Diabetikern könnte die signifikante Zunahme des Luteingehalts nach Intervention mit dem Perilla-Präparat sein. Lutein zeigte im Vergleich mit weiteren Carotinoiden in *in vitro* Untersuchungen die höchste antioxidative Kapazität (Müller-Waldeck et al., 2010). Die Tatsache, dass die erhöhte Konzentration von Lutein nicht einhergeht mit einer erhöhten antioxidativen Kapazität des Plasmas, überrascht zunächst, wurde jedoch schon oftmals beschrieben (Cao et al., 1998, Gill et al., 2007, Perez-Jimenez et al., 2009

Schirmacher et al., 2010). Weitere Literaturstellen beschreiben, dass eine erhöhte Carotinoidkonzentration im Blutplasma weder den Schutz der Plasmalipide noch die antioxidative Kapazität des Plasmas verbesserte (Nelson et al., 2003; Tyssandier et al., 2004).

Kawashima et al. (2007) und Wise et al. (1996) konnten durch Supplementierung mit einem Frucht- und Gemüsekonzentrat zusätzlich zur gewöhnlichen Ernährung eine deutliche Verminderung von Oxidation der Plasmalipide verzeichnen. Auch die Ergebnisse dieser Studie zeigten neben einer signifikanten Zunahme der Luteinkonzentration im Plasma der Probanden eine tendenzielle Verringerung der Lipidperoxidation bei Diabetikern nach der Supplementierung durch Perilla. Thompson et al. (2005) wiesen nach, dass die antioxidative Wirkung von Antioxidantien *in vivo* je deutlicher ist desto höher der oxidative Stress, dem der Organismus ausgesetzt ist. In Anbetracht dessen, dass es sich bei den Diabetikern um Patienten handelte, die nur leichte Symptome der Erkrankung aufwiesen, können die Ergebnisse durchaus als Hinweis auf eine präventive, oxidative Schutzwirkung des Perilla-Präparates interpretiert werden, insbesondere vor dem Hintergrund, dass die verabreichte Menge an Carotinoiden vergleichsweise gering war.

6 Zusammenfassung

Deutschland ist EU-weit das Land mit der höchsten Nachfrage nach pflanzlichen Rohstoffen für die Herstellung von Phytopharmaka, Kosmetika und Nahrungsergänzungsmitteln. Aufgrund der in EU-Richtlinien geforderten Qualitätsansprüche an die Rohware und der oftmals ungenügenden Qualität von importierter Ware, steigt die Nachfrage nach heimischer Rohware stetig an.

Die Pflanze *Perilla frutescens* L., die in Asien als Heilpflanze durch jahrtausendelange Tradition bekannt ist, erfreut sich inzwischen auch zunehmenden Interesses in der Europäischen Union. Sie wird hier als Nahrungsergänzungsmittel, Zusatz in der Kosmetikindustrie und als homöopathisches Arzneimittel kommerziell genutzt, die Rohware wird importiert. Innerhalb der vorliegenden Arbeit wurde das ernährungsphysiologische Potential dieser Pflanze und die Möglichkeit des heimischen Anbaus von *Perilla frutescens* L. untersucht.

Der Projektverlauf führte zunächst über die Selektion eines Genotyps der Gattung *Perilla*, der sich durch hohe Gehalte an Carotinoiden und Polyphenolen, gute antioxidative Wirkung der Extrakte und gute Verzehreigenschaften auszeichnet. Die antioxidativen Eigenschaften der Carotinoid- und Polyphenolextrakte wurde in zwei etablierten *in vitro* Testsystemen, dem ABTS- und dem LPO-Testsystem, ermittelt. Weiterführend wurden Blattextrakte der fünf Genotypen auf das toxisch wirkende Perillaketon untersucht, um ketonhaltige Varietäten von weiterführenden Untersuchungen auszuschließen. Die taxonomische Einordnung der Genotypen in die Varietäten *Perilla frutescens* var. *frutescens* und *Perilla frutescens* var. *crispa* erfolgte anhand beständiger morphologischer Merkmale und wurde vor dem Hintergrund inhaltstofflicher Charakteristika diskutiert.

Im Anschluss an die Selektion wurde im Rahmen einer placebokontrollierten Interventionsstudie die Bioverfügbarkeit von Carotinoiden aus *Perilla* im Menschen untersucht. Ebenso wurde ermittelt, inwiefern die Supplementierung mit einem *Perilla*-Präparat den oxidativen Status in Diabetikern (Typ 2) und Gesunden beeinflusst.

Im Vergleich zu herkömmlichen Gemüsearten wiesen alle untersuchten Genotypen hohe bis sehr hohe Gehalte an Carotinoiden und Polyphenolen auf.

Als Hauptkomponenten der Carotinoide aller fünf Genotypen lagen Lutein und β -Carotin vor. Rosmarinsäure stellte die polyphenolische Hauptkomponente dar. Auch die antioxidativen Eigenschaften der Extrakte aus Perilla-Blatt lagen im Vergleich zu Extrakten anderer Gemüsearten vergleichsweise hoch. Sowohl die Carotinoideextrakte, als auch die Polyphenolextrakte, entfalteten in beiden Testsystemen sehr gute antioxidative Wirkungen, wobei die Polyphenolextrakte den Carotinoideextrakten überlegen waren und insbesondere im LPO-Testsystem eine herausragende antioxidative Schutzwirkung auf Plasmalipide zeigten.

Die Genotypen 1 und 4, die der Varietät *Perilla frutescens* var. *frutescens* zugeordnet wurden, wiesen die geringsten Gehalte an Polyphenolen und Carotinoiden auf, einhergehend mit einer vergleichsweise geringen antioxidativen Wirkung in beiden Testsystemen. Auch die Identifizierung des toxischen Perillaketons in Blattextrakten dieser Genotypen begründete deren Ausschluss von weiteren Untersuchungen.

Die Genotypen 2, 3 und 5 zeichneten sich durch sehr hohe Gehalte an Polyphenolen und Carotinoiden aus. Die Extrakte wiesen sehr gute antioxidative Eigenschaften in beiden Testsystemen auf. Sie waren ketonfrei und stellten somit aus ernährungsphysiologischer Sicht interessante Genotypen für weitere Untersuchungen dar. Eine Sonderposition nahm der Genotyp 3 ein, dessen Carotinoideextrakte im LPO-Testsystem eine vergleichsweise hohe Schutzwirkung gegenüber der Oxidation von Plasmalipiden entfalteten. Auch die Polyphenolextrakte des Genotypen 3 wiesen eine ausgesprochen gute antioxidative Kapazität im ABTS-Testsystem auf. Qualitative Untersuchungen zeigten, dass der Genotyp 3 Substanzen enthält, die in keiner der übrigen Genotypen vorkommen. Diese wurden jedoch nicht näher identifiziert werden. Der Genotyp 3 ist aus ernährungsphysiologischer Sicht sehr interessant, scheidet jedoch aufgrund der starken Behaarung und der Festigkeit der Blattspreiten wegen schlechter Verzehreigenschaften für weitere Untersuchungen aus. Bei Betrachtung der phänotypischen und inhaltsstofflichen Merkmale nimmt er eine Position zwischen den Varietäten *frutescens* und *crispa* ein und konnte nicht eindeutig zugeordnet werden.

Die Genotypen 2 und 5 wurden aufgrund phänotypischer und inhaltsstofflicher Merkmale der Varietät *Perilla frutescens* var. *crispa* zugeordnet. Im Gegensatz zu den übrigen Genotypen bildeten sie schon im Keimlingsstadium Anthocyane aus, was als frühes Unterscheidungsmerkmal herangezogen werden kann.

Die Genotypen 2 und 5 zeigten vergleichbare antioxidative Eigenschaften von Polyphenolextrakten im ABTS-Testsystem, wobei der Genotyp 5 im LPO-Testsystem die beste antioxidative Schutzwirkung vor Oxidation von Plasmalipiden aufwies.

Anhand von Ertragsparametern und qualitativen Untersuchungen von Freilandpflanzen der Genotypen 2 und 5 konnte nachgewiesen werden, dass sich gute Erträge hochwertiger Rohware bei hiesigen Klimabedingungen erzeugen lassen. Aufgrund des guten Wachstums und der daraus resultierenden zügigen Bestandsdichte, eignet sich die einjährige Pflanze hervorragend als unkrautmindernde Zwischenfrucht. Aufgrund des für Lamiaceae typischen, weiten Blühhorizontes und der somit ungleichen Abreife und Keimfähigkeit der Samen, sollte das Saatgut unbedingt aufbereitet werden (z. B. mittels Windsichter), um ein gleichmäßiges Auflaufen und eine lückenlose Bestandsdichte gewährleisten zu können.

Unter dem Einfluss von induziertem Salz- und Trockenstress konnte die inhaltstoffliche Zusammensetzung der Genotypen 2 und 5 beeinflusst werden. Insbesondere der Gehalt an Polyphenolen und deren antioxidative Kapazität konnte gesteigert werden. Für die Carotinoide konnte, mit Ausnahme des Zeaxanthins, dessen Gehalt in beiden Genotypen unter Stressbedingungen signifikant zunahm, keine eindeutige Aussage getroffen werden. Vermutet wird, dass neben der spezifischen Sensibilität einzelner Genotypen gegenüber Stress auch das Entwicklungsstadium der Pflanzen eine wichtige Rolle im Bezug auf die Reaktion auf Salzstress spielt. Die Möglichkeit, die inhaltstoffliche Qualität pflanzlicher Nahrungsmittel durch gezielte Stressmaßnahmen zu verbessern, wird insbesondere durch die Sensibilität der Pflanzen gesteuert. Der Genotyp 5 verfügt über eine deutlich höhere Salz- und Trockenstresstoleranz als der Genotyp 2 und eignet sich dementsprechend besser für Stressversuche. Zu prüfen bleibt, inwiefern das Entwicklungsstadium der Pflanze die Stresstoleranz beeinflusst.

Basierend auf Ergebnissen der Inhaltsstoffanalytik wurde im Anschluss im Rahmen einer Interventionsstudie die Bioverfügbarkeit von Carotinoiden des Genotypen 5 im Menschen untersucht. Ebenso wurde ermittelt, inwiefern die Supplementierung mit einem Perilla-Präparat den oxidativen Status in Diabetikern (Typ 2) und Gesunden beeinflussen kann.

Durch das Präparat erfolgte eine tägliche Supplementierung von 5 mg Lutein. Es wurden insgesamt 14 männliche Probanden, darunter 7 Diabetiker (Typ 2) und 7 Gesunde im Alter zwischen 50-65 und einem Body Mass Index (BMI) zwischen 24-31, rekrutiert. Die Untersuchungen wurden als doppelblind, randomisierte, placebokontrollierte Studie im cross-over Design durchgeführt. Die zwei zweiwöchigen Interventionsphasen wurden durch eine einwöchige Auswaschphase unterbrochen. Eine Woche vor Beginn der Supplementierung und am Tage des Beginns wurden Blutparameter der Probanden ermittelt und als Basiswerte zusammengefasst.

Die Untersuchungen ergaben, dass durch die Supplementierung mit einem Perilla-Präparat sowohl in Gesunden als auch in Diabetikern die Luteinkonzentration des Blutplasmas signifikant gesteigert werden konnte und Perilla somit eine hervorragende Luteinquelle mit hoher Bioverfügbarkeit darstellt. Die Oxidation von Plasmalipiden konnte durch die Einnahme des Präparates tendenziell verringert werden, wobei die antioxidative Kapazität des Blutplasmas durch die Supplementierung nicht gesteigert wurde. Generell hängt die Wirkung von Antioxidantien aus Nahrungsmitteln im Menschen stark von dem Versorgungsstatus der Probanden ab.

7 Literaturverzeichnis

- Adams W W, Volk M, Hoehn A, Demming-Adams B, 1992. Leaf orientation and the response of xanthophylls cycle to incident light. *Oecologia* 90:404–410
- Agastian P, Kingsley S J, Vivekanandan M, 2000. Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. *Photosynthetica* 38:287–290
- Ali A, Alqurainy F, 2006. Activities of antioxidants in plants under environmental stress. In: Motohashi N. (Ed.), *The lutein- prevention and treatment of age-related disease*, 2006. Transworld research network, India. 187-266
- Allard P W, 1999. *Principles of Plant Breeding*. 2. Auflage. Wiley VHC, Weinheim
- Allen D J, Nogués S, Baker N R, 1998. Ozone depletion and increased UV-B radiation: is there a real threat to Photoynthesis? *J Exp Bot*, 49(328):1775-1788
- Alpers D H, 2007. Vitamins and prevention of cardiovascular disease and cancer: should we give supplements? *Curr Opin Gastroenterol* 23:159-163
- American Institute for Cancer Research, World Cancer Research Fund. *Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective*. Washington D.C.: American Institute for Cancer Research, 1997
- Amudha P, Jayakumar M, Kulandaivelu G, 2005. Impacts of ambient solar UV (280–400 nm) radiation on three tropical legumes. *J Plant Biol*, 48:284-291
- Antony S, Kuttan R, Kuttan G, 1999. Immunomodulatory activity of curcumin. *Immunol Invest* 28:291-303
- Arora R K, 1997. Plant genetic resources of northeastern region: diversity, domestication trend, conservation and uses. *Proc. Indian National Sci Acad B63 No 3*: 175-186
- Arora R K, Sharm G D, Vandana J, Phogat B S, Bhatt K C, Rana J C, 2006. Under utilized crops. In Dhillon, B C, Saxena S, Agrawal A, Tyagi R K. *Plant genetic resources: Foodgrain crops*. Narosa Publishing house, New Delhi, 320-342
- Arzneibuch der chinesischen Medizin, 2. Auflage. Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart 2003
- Ashraf M, 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnol Adv* 27:84-93
- Atkinson E T, 1982. *Economic botany of the Himalayan region*. Cosma Publication, New Delhi, India, p 708
- Augustin A J; Dick H B; Offermann I., 2002. Bedeutung oxidativer Mechanismen bei Erkrankungen der Netzhaut, in: *Klinische Monatsblätter Augenheilkunde* 219
- Azuma K, Ippoushi K, Ito H, Higashio H, Terea J, 1999. Evaluation of antioxidative activity of vegetable extracts in linoleic acid emulsion and phospholipid bilayers. *J Sci Food Agr* 79:2010-2016
- Banno N, Akihisa T, Tokuda H, Yasukawa K, Higashiara H, Ukiya M, Watanabe K, Kumura Y, Hasegawa J, Nishino H, 2004. Triterpene acids from the leaves of *Perilla frutescens* and their anti-inflammatory and antitumor-promoting effects. *Biosci Biotechnol Biochem* 68(1):85-90
- Barsig N, Malz R, 2000. Fine structure, carbonhydrates and photosynthetic pigments of sugar maize leaves under UV-B radiation. *Env Exp Bot* 43:121-130

- Basile A, Giordano S, Lopez-Saez J A, Cibiachni R C, 1999. Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses. *Phytochem* 52:1479-1482
- Beatty S, Boulton M, Henson D B, Koh H-K, Murray I J, 1999. Macular pigment and risk for age related macular degeneration in subjects from a northern European population. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42:439-446
- Beatty E R, O'Reilly J D, England T G, McAnlis G T, Young, I.S, Geissler C A, Sanders T.A, 2000. Effect of dietary quercetin on oxidative DNA damage in healthy human subjects. *Brit J Nutr* 84:919-925
- Berenbaum M C, 1989. What is synergy ? *Pharmacol Rev* 41:93-141
- Bharti A K, Khurana J P, 1997. Mutants of Arabidopsis as tools to understand the regulation of Phenylpropanoid Pathway and UVB protection mechanisms. *Photochem Photobiol*, 65(5):765-776
- Böhm F, Edge R, Land E J, McGarvey D J, Truscott T G, 1997. Carotenoids enhance vitamin E antioxidant efficiency. *J Am Chem Soc* 119:621-622
- Bomme U, 2007. Prognose zum Deutschen Arznei- und Gewürzpflanzenanbau im Jahr 2020. *Z Arznei- und Gewürzpflanzen* 12(3):153-155
- Bornman J F, Reuber S, Cen Y-P, Weissenböck G, 1997. Ultraviolet radiation as a stress factor and the role of protective pigments. In: Lumsden P J. (Ed.). *Plants and UV-B: Responses to environmental change*. Cambridge University Press, Cambridge, 157-168
- Brenner D M, 1993. Perilla: Botany uses and genetic resources. In: Janick, J and Simon J E (eds.). *New crops*, New York, 322-328
- Brouillard R, Delaporte B, 1977. Chemistry of anthocyan pigment. 2. Kinetic and thermodynamic study of proton transfer, hydration and tautomeric reactions of Malvin-3-glycoside. *J Am Chem Soc* 99:8461-8468
- Bruna C, 2010. Identifizierung und Quantifizierung der Polyphenole aus *Perilla frutescens* L. Masterarbeit Humboldt-Universität zu Berlin, Betreuung durch: Technische Universität München, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Fachgebiet Obstbau.
- Bruni R, Sacchetti G, 2009. Factors affecting polyphenol biosynthesis in wild and field grown St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L. Hypericaceae/Guttiferae). *Molecules* 14:682-725
- Brunold C, 1996. Stress bei Pflanzen. Haupt-Verlag. ISBN/ISSN 3-258-05372-3
- Burchard P, 2000. Lösliche Phenylpropane im Primärblatt von Gerste (*Hordeum vulgare* L.) und ihre Bedeutung als UV-B-Schutzsubstanzen für die Photosynthese. Dissertation Universität zu Köln. Elektronische Version verfügbar: <http://www.ub.uni-Koeln.de>
- Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H, 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences* 74(17):2157-2184
- Calvo M M, 2005. Lutein: A valuable ingredient of fruit and vegetables, *Crit Rev Food Sci Nutr* 45:671-696
- Cano A, Acosta M, Arnao M B, 2000. A method to measure antioxidant activity in organic media: application to lipophilic vitamins. *Redox Rep* 5:356-370

- Cao G, Booth S L, Sadowski J A, Prior R L, 1998. Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruits and vegetables. *Am J Clin Nutr* 68:1081-1087
- Carletti P, Masi A, Wonisch A, Grill D, Tausz M, Ferretti M, 2003. Changes in antioxidant and pigment pool dimensions in UV-B irradiated maize seedlings. *Env Exp Bot* 50:149-157
- Castenmiller J J, West C E, Linssen J P, van het Hof K H, Voragen A G, 1999. The food matrix of spinach is a limiting factor in determining the bioavailability of β -Carotin and to a lesser extend of lutein in humans. *J Nutr* 129:2162-2169
- Chaves M M, Flexas J, Pinheiro C. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany* 103:551–560
- Chen Q, Shi H, Ho C-T, 1992. Effects of Rosemary extracts and major constituents on lipid oxidation and soybean lipoxygenase activity. *J Am Oil Chem Soc* 69:999-1002
- Chen J H, Xia Z H, Tan, R X, 2003. High-performance liquid chromatographic analysis of bioactive triterpenes in *Perilla frutescens*. *J Pharmaceut Biomed Analysis* 32:1175-1179
- Cirico T L, Omaye S T, 2006. Additive or synergistic effect of phenolic compounds on human low density lipoprotein oxidation. *Food Chem Toxicol* 44:510-516
- Copper D A, Eldridge A L, Peters J C, 1999. Dietary carotinoids and certain cancers, heart disease, and age-related macular degeneration: a review of recent research; *Nutr Rev* 57 (7): 201-214
- Costa H, Gallego S M, Tomaro M L, 2002. Effect of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. *Plant Sci* 162:939-945
- Cuadra P, Harborne J B, Waterman P G, 1997. Increases in surface flavonols and photosynthetic pigments in *Gnaphalium luteo-album* in response to UV-B radiation. *Photochemistry* 45:1377-1383
- Dambolena J S, Zunino M P, Lucinil I E, Olmedo R, Banchio E, Bima P J, Zygadlo J A, 2010. Total phenolic content, radical scavenging properties, and essential oil composition of *Origanum* species from different populations. *J Agric Food Chem*. 58:1115-1120
- Dat J, Vandenabeele S, Vranova E, van Montagu M, Inze D, van Breusegem, F, 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell Mol Life Sci* 57:779-795
- Demming-Adams B, Adams W W, 2002. Antioxidants in Photosynthesis and human nutrition. *Science* 298:2149-2153
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V-DGE-aktuell 2005. Gemüse und Obst - Multitalente in Sachen Gesundheitsschutz. DGE aktuell 07/2005 vom 07.06.2005
- De Pascale S, Maggio A, Fogliano V, Ambrosino P, Ritieni A, 2001. Irrigation with saline water improves carotinoids content and antioxidant activity of tomato. *J Hort Sci Biotchnol* 76:447-453
- Dix T A, Aikens, J, 1993. Mechanism and biological relevance of Lipid Peroxidation Initiation. *Chemical Research in Toxicology* 6:2-18
- Dohler G, 1998. Effect of UV radiation on pigments of the antarctic macroalga *Leptosomia simplex* L. *Photosynthetica* 35:473-476
- Eastwood M A, 1999. Interaction of dietary antioxidants *in vivo*: how fruit and vegetables prevent disease? *Q J Med* 92:527-530

- El-Agamey A, Lowe G M, Mc Garvey D J, Mortensen A, Phillip D M, Truscott T G, Young A J, 2004. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Arch Biochem Biophys* 430:37-48
- Erdman J W, 1999. Variable bioavailability of carotenoids from vegetables. *Am J Clin Nutr* 70 (2):179-180
- Esterbauer H, Dieber-Rotheneder M, Striegl G, Waeg G, 1991. Role of vitamin E in preventing the oxidation of low-density lipoprotein, *Am J Clin Nutr* 53:314-321
- Flora of China, 1994. *Perilla Linnaeus*, Gen Pl, ed. 6, 578. 1764. 17:241-242
- Foyer C H, Lelandais M, Kunert K J, 1994. Photooxidative stress in plants. *Physiol. Plant.* 92:696–717
- Frank H A, Josue J S, 2002. Spectroscopic and photochemical properties of open-chain carotenoids. *J Phys Chem* 106:4815
- Frankel E N, Huang S W , Aeschbach R, Prior E, 1996. Antioxidant activity of rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion. *J Agric Food Chem* 44:131-135
- Frankel E N, Meyer A S, 2000. The problems of using onedimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *J Sci Food Agric* 80:1925-1941
- Fuhrman B, Volkova N, Rosenblat M, Aviram M, 2000. Lycopene synergistically inhibits LDL oxidation with vitamin E, glabridin, rosmarinic acid, carnosic acid, or garlic. *Antiox Redox Signal* 2:491–506
- Gaberscik A, Voncina M, Trost T, Germ M, Olof Björn L, 2002. Growth and production of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) treated with reduced, ambient, and enhanced UV-B radiation. *J Photochem Photobiol* 66:30-36
- Gadallah M A A, 1999. Effects of proline and glycinebetaine on *Vicia faba* response to salt stress. *Biol Plant* 42:249–257
- Garst J E und Wilson B J, 1984. Synthesis and analysis of various 3- Furyl Ketones from *Perilla frutescens*. *J Agric Food Chem* 32:1083-1087
- Gill C I, Haldar S, Boyd L A, Bennett R, Whiteford J, Butler M, Pearson J R, Bradbury I, Rowland I R, 2007. Watercress supplementation in diet reduces lymphocyte DNA damage and alters blood antioxidant status in healthy adults. *Am J Clin Nutr* 85:504-510
- Graßmann J, 2009. Habilitationsschrift. Terpenoids as antioxidants. Modes of action *in vitro* and *in vivo*. Fachgebiet Obstbau. Department für Pflanzenwissenschaften. Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt Freising-Weihenstephan, Technische Universität München.
- Graßmann J, Schneider D, Weiser D, Elstner E F, 2001. Antioxidative effects of lemon oil and its components on copper induced oxidation of low density lipoprotein. *Arzneim-Forsch/Drug Res* 51(III):799–805
- Graßmann J, Hippeli S, Elstner E F, 2002. Plant's defence and its benefits for animals and medicine: role of phenolics and terpenoids in avoiding oxygen stress. *Plant Physiol Biochem* 40:471–478
- Gueguen S, Herbeth B, Siest G, Leroy P, 2002. An isocratic liquid chromatographic method with diode-array detection for the simultaneous determination of α -tocopherol, retinol, and five carotenoids in human serum. *J Chromatogr Sci* 40:69-76

- Guidi L, Degl'Innocenti E, Remorini D, Massai R, Tattini M, 2007. Interactions of water stress and solar irradiance on the physiology and biochemistry of *Ligustrum vulgare*. *Tree Physiol* 28:873–883
- Giuntini D, Graziani G, Lercari B, Fogliano V, Soldatini G F, Ranieri A, 2005: Changes in carotenoid and ascorbic acid contents in fruits of different tomato genotypes related to the depletion of UV-B-radiation. *J Agr Food Chem* 53:3174-81
- Halliwell B, 1994. Free radicals and antioxidants. *Nutr Rev* 52: 253-265
- Handbuch des Arznei- und Gewürzpflanzenanbaus, Band 1 2009. 1 Ed. Bernburg. Verein für Arznei- und Gewürzpflanzen Saluplanta e V Bernburg pp 438-471
- Handelman G J, Dratz E A, Reay C C, van Kujik J G. 1988 Carotenoids in the human macula and whole retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 29:850-855
- Hanelt P, 2001. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (eds.). Mansfeld's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops, (4) Springer-Verlag, Berlin, pp:1968-1970
- Hart D J, Scott K J, 1995. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. *Food Chem* 54:101-111
- Heinonen O P, Albanes D, 1994. The α -tocopherol, β -carotene (ATBC) cancer prevention group The effect of vitamin E and β -carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N Engl J Med* 330 (15):1029-1035
- Heijnen C G, Haenen G R M M, Oostveen R. M., Stalpers E M, Bast A, 2002. Protection of flavonoids against lipid peroxidation: the structure activity relationship revisited. *Free Radic Res* 36:575–581
- Hennekens C H, Buring J E , Manson J E, Stampfer M J, Rosner B, Cook N R, Belanger C, LaMotte F, Gaziano J M, Ridker P M, Willett W C, Peto R, 1996. Lack of effect of long-term supplementation with β -carotene on the incident of malignant neoplasms and cardiovascular disease. *N Engl J Med* 334 (18):1145-1149
- Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Alfarez M-J, Vazquez C, 1998. The potential role of antioxidant vitamins in preventing cardiovascular diseases and cancer. *Nutrition* 14:513-520
- Hernandez J A, Olmos E, Corpas F J, Sevilla F, del Rio L A, 1995. Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants. *Plant Sci* 105:151–167
- Hernandez J A, Campillo A, Jimenez A, Alacon J J, Sevilla F, 1999. Response of antioxidant systems and leaf water relations to NaCl stress in pea plants. *New Phytol.* 141:241–251
- Heuberger H, Praeger U, Georgi M, Schirmacher G, Graßmann J, Schnitzler W H, 2004. Precision stressing by UV-B radiation to improve quality of spinach under protected cultivation. *Acta Hort* 659:201-206
- Hininger I A, Meyer-Wenger A, Moser U, Wright A, Southon S, Thurnham D, Chopra M, van den Berg H, Olmedilla B, Favier A E, Roussel A-M, 2001. No significant effects of lutein, lycopene or β -Carotene, supplementation on biological markers of oxidative stress and LDL oxidizability in healthy adult subjects. *J Am Coll Nutr* 20:232-238

- Hirano R, Sasamoto W, Matsumoto A, Itakura H, Igarashi O, Kondo K, 2001. Antioxidant ability of various flavonoids against DPPH radicals and LDL oxidation. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 47(5):357–362
- Hirschfeld D und Mahler K, 2009. Asia Salate und Gemüse- Fernöstliches im heimischen Anbau-Teil II. *Gemüse* 9:18-21
- Hogewoning S W, Douwstra P, Trouwborst G, van Leperen W, Harbinson J, 2010. An artificial solar spectrum substantially alters plant development compared with usual climate room irradiance spectra. *J Exp Bot* 61 (5):1267-76
- Hollósy F, 2002. Effect of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron*. 179-197
- Honda G, Koezuka Y, Tabata M, 1990. Genetic studies of fruit color and hardness in *Perilla frutescens* L. *Japan J Breed* 40:469-474
- Honda G, Yuba A, Kojima T, Tabata M, 1994. Chemotaxonomic and cytogenetic studies on *Perilla frutescens* var. *citriodora* ("Lemon Egoma"). *Natural Medicine* 48:185-190
- Honda G, Ito M, 1996. A taxonomic study of Japanese wild *Perilla* (Labiatae). *J Phytogeography and Taxonomy* 44:43-52
- Howard L R, 2002: Antioxidant capacity and phenolic content of spinach as affected by genetics and growing season. *J Agr Food Chem* 50:5891-96
- Hu M L, 1994. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. *Methods Enzymol* 233:380-385
- Huang S A, Hwang L S, 1980. Studies on the natural red pigment of *Perilla*: changes of anthocyanin content with variety and growing stage. *Food science (Taiwan)* 7:161-169
- Huang D, Ou B, Prior L R, 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem* 53:1841-1856
- Ibanez S, Rosa M, Hilal M, Gonzales J A, Prado F E, 2008. Leaves of *Citrus aurantifolia* exhibit a different sensibility to solar UV-radiation according to development stage in relation to photosynthetic pigments and UV-B absorbing compounds production. *J Photochem Photobiol B* 90:163-169
- Ikeda Y, Murakami A, Ohigashi H, 2008. Ursolic acid: An anti- and pro-inflammatory Triterpenoid. *Mol Nutr Food Res*. 52, 26-42
- Ill Min C, Song Joong Y, Jung Tae K, Jae Gyun G, Jae Duck S, Hyang Soo S, 1995. Test of superoxide dismutase characteristics and antioxidative activity in *Perilla* leaves. *Korean J Crop Sci* 40:504-511
- Ito H, 1970. Studies on *Folium Perillae*. VI. Constituent of essential oils and evaluation of genus *Perilla*. *Yakugaku Zasshi* 90:883. (Shoyakugaku Zasshi)
- Jacques P F, Chylack L T, Jr. 1991. Epidemiological evidence of a role for the antioxidant vitamins and carotenoids in cataract prevention. *Am J Clin Nutr*, 53:352-355
- Jansen M A K, Hectors K, O'Brien N M, Guisez Y, Potters G, 2008. Plant stress and human health: Do human consumers benefit from UV-B-acclimated crops? *Plant Sci* 175: 449-458
- Jordan B R, 2002. Molecular response of plant cells to UV-B stress. *Funct Plant Biol* 29:909-916
- Josue J S, Frank H A, 2002. Direct determination of the S1 excited-state energies of xanthophylls by low-temperature fluorescence spectroscopy. *J. Phys Chem A* 106:4815-4824

- Jung M, Chung H, Choi J, Jung M J, Chung H Y, Choi J S, 2001. Antioxidant activity of roasted defatted perilla seed. *Nat Prod Sci* 7:72-75
- Jung C S, Oh K-W, Kim H K, Lee M H, Park C B, Sung J D, Kwack Y H, Suh D Y, 2004. New directions for a diverse planet. Proc 4th Intern Crop Sci Congr Brisbane, Australia, 26th Sept.-1st Oct. Poster: Discovery of new diploid *Perilla* species in Korea. 3/3/2/729. ISBN 1-920842-20-9
- Kadur G, Swapan E, Sunita K, Sanjeev J, Arjun T, Sanjay B, Abhinav R, Mohanty P, 2007. Growth enhancement of soybean (*Glycine max*) upon exclusion of UV-B and UV-B/A components of solar radiation: characterization of photosynthetic parameters in leaves. *Photosynth Res* 94:299–306
- Kawashima A, Madarame T, Koike H, Komatsa Y, Wise J A, 2007. For week supplementation with mixed fruit and vegetable juice concentrates increased protective serum antioxidants and folate and decreased plasma homocystein in Japanese subjects. *Asia Pac J Clin Nutr* 16:411-421
- Kennedy B F, De Fillippis L F, 1999. Physiological and oxidative response to NaCl of the salt tolerant *Grevillea ilicifolia* and the salt sensitive *Grevillea arenaria*. *J Plant Physiol* 155:746–754
- Kerr L A, Johnson B J, Burrows B.E, 1984. Intoxication of cattle by *Perilla frutescens*. *Vet Hum Toxicol* 28:412-416.
- Keutgen A J, Pawelzik E, 2007. Modifications of strawberry fruit antioxidant pools and fruit quality under NaCl stress. *J Agric Food Chem* 55:4066-4072
- Kim H-Y, Fonseca J M, Choi J-H, Kubota C, Kwon D Y, 2008. Salt in irrigation water affects the nutritional and visual properties of romaine lettuce (*Lactuca sativa* L.) *J Agric Food Chem* 56:3772-3776
- Klipstein-Grobusch K, Launer L J, Geleijnse J M, Boing H, Hofman A, Witterman J C M, 2000. Serum carotinoids and artherosklerosis- The Rotterdam study. *Artherosklerosis* 148:49-56
- Koezuka Y, Honda G, Tabata M, 1984. Essential oil types of the local varieties and their F1 hybrids of *Perilla frutescens*. *Jap J Pharmacog (Shoyakugaku Zasshi)*, 39:228
- Koezuka Y, Honda G, Tabata M, 1985. An intestinal propulsion promoting substance from *Perilla frutescens* and its mechanisms of action. *Planta Med* 6:480-482
- Kolb C, Käser M, Kopecky J, Zotz G, Riederer M, Pfündel E, 2001. Effects of natural intensities of visible and ultraviolet radiation on epidermal ultraviolet screening and photosynthesis in grape leaves. *Plant Physiol* 127:1–13
- Kondo T, Tamura H, Yoshida K, Goto T, 1989. Structure of Malonylshisonin, a genuine pigment in purple leaves of *Perilla ocymoides* L. var. *crispa* Benth. *Agric Biol Chem* 53(3):797-800
- Kopsell D A, Kopsell D E, 2006. Accumulation and bioavailability of dietary carotinoids in vegetable crops. *Trend Plant Sci* 11:499-507
- Kopsell D A, Lefsrud M G, Kopsell D E, Wenzel A J, Gerweck C, Curran-Celentano J, 2006. Spinach cultigen variations for tissue carotinoid concentrations influences human serum carotinoid serum levels and macular pigment optical density following a 12-week dietary intervention. *J Agric Food Chem* 54:7998-8005

- Kosuna K und Haga M. The development and application of Perilla extract as an anti-allergic substance. In: The genus Perilla. Harwood Academic Publishers 1. ed. 1997, pp 86
- Kosuth J, Koperdakova J, Tolonen A, Hohtola A, Cellarova E, 2003. The content of hypericins and phloroglucinols in *Hypericum perforatum* L. seedlings at early stage of development. Plant Sci 165:515-521
- Kovács E, Keresztes A, 2002. Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cells. Micron 33(2):199-210
- Krauβ S, Schnitzler W H, Graβmann J, Woitke M, 2006. The influence of different electrical conductivity values in a simplified recirculating soilless system on inner and outer fruit quality characteristics of tomato. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54:441-448
- Krinsky N I, Landrum J T, Bone R A, 2003. Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthine in the eye. Annu Rev Nutr 23:171-201
- Krizek D T, 2004. Influence of PAR and UV-A in Determining Plant Sensitivity and Photomorphogenic Responses to UV-B Radiation. Photochemistry and Photobiology 79 (4)307-315
- Kitchevsky S B, 1999. β-Carotene, carotenoids and the prevention of coronary heart disease; J Nutr 129, 5-8
- Kubota C, Thompson C A, 2006. Controlled environments for production of value-added food crops with high phytochemical concentrations: lycopene in tomato as an example. Hortiscience 41:522-525
- Kumar S, 1999. The economic plants of northeast India. Scientific Publishers, Jodhpur, Rajasthan, India, p 46
- Kurban H, Saneoka H, Nehira K, Adilla R, Premachandra, G S, Fujita K, 1999. Effect of salinity on growth, photosynthesis and mineral composition in leguminous plant *Alhagi pseudoalhagi* (Bieb.). Soil Sci Plant Nutr 45:851-862
- Kurilich A C, Jeffery E H, Juvik J A, Wallig M A, Klein B P, 2002. Antioxidant capacity of different broccoli (*Brassica oleracea*) genotypes using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. J Agr Food Chem 50:5053–5057
- Landrum J T, Bone R A, Joa H, Kilbum M D, Moore L L, Spargue K E, 1997. A one-year study of the macular pigment: The effect of 140 days of a lutein supplement. Exp Eye Res, 65:57-62
- Lakshinarayana R, Raju M, Krishnakantha T P, Baskaran V, 2007. J Agric Food Chem, 55:6395-6400
- Lamien-Meda A, Nell M, Lohwasser U, Boerner A, Franz C, Navak A, 2010. Investigation of antioxidant and rosmarinic acid variation in the sage collection of the Genebank in Gatersleben. J Agric Food Chem 58:3813–3819
- Liu R H, 2003. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. Am J Clin Nutr 78:17-20
- Lee J K, Ohnishi O, 2001. Geographic differentiation of morphological characters among Perilla crops and their weedy types in East Asia. Breed Sci 51:247-255
- Lee J K, Ohnishi O, 2002. Genetic relationships among cultivated types of *Perilla frutescens* and their weedy types in East Asia revealed by AFLP markers, Gen. Res. Crop Evol 50, 64–74
- Lee J K, Nitta M, Kim N S, Park C H, Yoon K M, Shin Y B, Ohnishi O, 2002. Genetic diversity of Perilla and related weedy types in Korea determined by AFLP analyses. Crop Sci 42:2161-2166

- Lemanska K, Szymusiak H, Tyrakowska B, Zielinski R, Soffer A, Rietjens, I., 2001. The influence of pH on the antioxidant properties and the mechanisms of antioxidant action of hydroxyflavones. *Free Radical Biol Med* 31:869-881
- Lenucci M S, Cadinu D, Taurino M, Piro G, Dalessandro G, 2006. Antioxidant composition in cherry and high-pigment tomatoes, *J Agr Food Chem* 54:2606–2613
- Li H L, 1969. The vegetables of ancient China. *Economic Botany*. 23: 235-260
- Lichtenthaler H K, 2007. Biosynthesis, accumulation and emission of carotenoids, alpha-tocopherol, plastoquinone, and isoprene in leaves under high photosynthetic irradiance. *Photosynth Res* 92(2):163-79
- Lindley W H, 1978. Acute pulmonary edema in horses caused by consuming *Perilla frutescens*. *Modern Veterinary Practice* 59(1):64-65
- Lopez-Berenguer C, Martinez-Ballesta M del C, Moreno D A, Carvajal M, Garcia-Viguera C, 2009. Growing hardier crops for better health: salinity tolerance and the nutritional value of broccoli. *J Agric. Food Chem.* 57:572-578
- Maiani G, Periago Castón M J, Catasta G, Toti E, Cambrodón I G, Bysted A, Granado-Lorencio F, Olmedilla-Alonso B, Knuthsen P, Valoti M, Böhm V, Mayer-Miebach E, Behnlian D, Schlemmer U, 2009. Carotenoids: actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Mol Nutr Food Res*, 53:194-218
- Maisuthisakul P, Suttajit M, Pongsawatmanit R, 2007. Assesment of phenolic content and free radical scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chem* 100 (4):1409-1418
- Mangels A R, Holden J M, Beecher G R, 1993. Carotenoid content of fruits and vegetables: An evaluation of analytic data, in: *Journal of the American Dietetic Association* 93
- Mares-Perlman, J A, Fisher A, Klein R, Palta M, Block G, Millen A E, Wright J D, 2001. Lutein and zeaxanthin in the diet and serum and their relation to age-related maculopathy in the third national health and nutrition examination Survey. *Am. J. Epidemiol.*, 153, 424-432
- Marinova E, Yanishlieva N, Ganeva I, 1991. Antioxidative effect of Bulgarian Rosemary and inhibiting effect of its carnosol. *Oxidation Commun* 14:125-131
- Makino T, Furata Y, Wakushima H, Fujii H, Saito K, Kano Y, 2003. Antiallergic effekt of *Perilla frutescens* and its active constituents. *Phytother Res*17:240-243
- Manach C, Morand C, Crespy V, Demigne C, Texier O, Regerat F, 1998: Quercetin is recovered in human plasma as conjugated derivatives wich retain antioxidant properties. *FEBS Lett.* 426:331-336
- Meng L, Lozano Y, Bombarda I, Gaydo E, Li B, 2006. Anthocyanin and flavonoid production from *Perilla frutescens*: pilot plant scale processing including cross-flow microfiltration and reverse osmosis. *J Agric Food Chem* 54, 4297-4303
- Meng L, Lozano Y F, Gaydo E M, Li B, 2009. Antioxidant activities of polyphenols extracted from *Perilla frutescens* varieties. *Molecules* 14:133-140
- Milde J, Elstner E F, Graßmann J, 2007. Synergistic effects of phenolics and carotenoids on human low density lipoprotein oxidation. *Mol Nutr Food Res* 51(8): 956–961

- Miller N J, Diplock A T, Rice-Evans C, Davies M J, Gopinathan V, Milner A, 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci* 84:407-412
- Miller N J, Rice-Evans C A, 1996. Spectrometric determination of antioxidant activity. *Redox Report* 2(3):161-171
- Miller N J, Sampson J, Candeias L P, Bramley P M, Rice-Evans C A, 1996. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls, *FEBS Lett* 384:240–242
- Mittler R, 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci* 7:405-410
- Moline J, Bukharovich I F, Wolff M S, Phillips R, 2000. Dietary flavonoids and hypertension: Is there a link? *Med Hypoth* 55:306-309
- Müller H, 1996. Die tägliche Aufnahme von Carotinoiden (Carotine und Xanthophylle) aus Gesamtnahrungsmitteln und die Carotinidgehalte ausgewählter Gemüse- und Obstsorten, *Z Ernährungswiss* 35:45–50
- Müller-Waldeck F, Sitzmann J, Schnitzler W H, Graßmann J, 2010: Determination of toxic perilla ketone, secondary plant metabolites and antioxidative capacity in five *Perilla frutescens* L. varieties. *Food and Chemical Toxicology* 48(1):264-270
- Munns R, 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell & Environment* 25:239–250
- Nagai I, 1935. On “Shiso” and “Egoma”. *Agriculture and horticulture* 10: 2265-2273 (Japanisch)
- Nagao Y, Komiya T, Fujioka S, Matsuoka T, 1974. Studies of the quality of the Chinese drug “Soyo” and the cultivation of the original plant. 1 *J Takeda Res Lab* 33:111
- Nakajima J, Tanaka Y, Yamazaki M, Saito K, 2001. Reaction Mechanism from Leucoanthocyanidin to Anthocyanidin 3-Glucoside, a Key Reaction for Coloring in Anthocyanin Biosynthesis. *J Biol Chem* 2001 276: 797-803
- Nantz M P, Rowe C A, Nieves C Jr, Percival S S, 2006. Immunity and antioxidant capacity in humans is enhanced by consumption of a dried, encapsulated fruit and vegetable juice concentrate. *J Nutr* 136:2606-2610
- Nedyalka V Y, Marinova E, Pokorny J, 2006. Natural antioxidants from herbs and spices. *Eur J Lipid Sci Technol* 108:776-793
- Nelson J L, Bernstein P S, Schmid M C, von Tress M S, Askew E W, 2003. Dietary modification and moderate antioxidant supplementation differentially affect serum carotenoids, antioxidant levels and markers of oxidative stress in older humans. *J Nutr* 133:3117-3123
- Neuringer M, Sandstrom M M, Johnson E J, 2004. Nutritional Manipulation of primate retinas, in: Effects of Lutein or Zeaxanthin supplements on serum and macular pigment in Xanthophyll-Free Rhesus Monkeys. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 45:9
- Niki E, Noguchi N, Tsuchihashi H, Gotoh N, 1995. Interaction among vitamin C, vitamin E, and β -carotene, *Am J Clin Nutr* 62:1322–1326
- Nitta M und Ohnishi O. 1999. Genetic relationships among two *Perilla* crops, shiso and egoma, and the weedy type revealed by RAPD markers. *Genes Genetic. Syst.* 74: 43-48
- Nitta M, Lee J K, Ohnishi O, 2003. Asian *Perilla* crops and their weedy forms: their cultivation, utilization and genetic relationship. *Economic botany* 57(2):245-253

- Nitta M, Lee J K, Whan Kang C, Katsuta M, Yasumoto S, Liu D, Nagamine T, Ohnishi O, 2005. The distribution of *Perilla* species. Genetic resource and crop evolution. 52:797-804
- Nitz G M, Grubmüller E, Schnitzler W H, 2004. Differential flavonoid response to PAR and UV-B light in Chive (*Allium schoenoprasum* L.). Acta Horticulturae 659(2):825-830
- Nitz G M, Schnitzler W H, 2004. Effect of PAR and UV-B radiation on the quality and quantity of the essential oil in Sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) Acta Horticulturae 659(2):375-381
- Nitta M, Lee J K, Whan Kang C, Katsuta M, Yasumoto S, Liu D, Nagamine T, Ohnishi O, 2005. The distribution of *Perilla* species. Genetic resource and crop evolution. 52: 797-804
- Noguchi N, Niki E, 1998. Dynamics of vitamin E against LDL oxidation, Free Rad Res 28: 561–572
- Ohwi J, 1953. Flora of Japan. Shibundo. Tokyo. p 1066 (Japanisch)
- Okuda T, Hatano T, Agata I, Nishibe S, 1986. Yakugaku Zasshi, 106, p 1108
- Olmedilla B, Granado F, Southon S, Wright A J, Blanco I, Gil-Martinez E, Berg H, Corridan B, Rousell A M, Chopra M, Thurnham D I, 2001. Serum concentrations of carotenoids and vitamins A, E and C in control subjects from five European countries. Br J Nutr 85:227-238
- Omenn G S, Goodman G E, Thornquist M D, Balmes J, Cullen M R, Glass A, Keogh J P, Meyskens Jr B, Valanis J H, Williams S, Barnhart S, Hammer S, 1996. Effects of a combination of β -carotene and Vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease- The CARET Study. N Eng J Med 334:1150-1155
- O'Neill M E, Carroll Y, Corridan B, Olmedilla B, Granado F, Blanco I, Van den Berg H, Hininger I, Rousell A M, Chopra M, Southon S, Thurnham D I, 2001. A European carotenoid database to assess carotenoid intakes and its use in a five-country comparative study. Br J Nutr 85:499–507
- O'Sullivan L, Aisling S A, O'Brien N M, 2009. Investigation of beta-carotene and lutein transport in Caco-2 cells: carotenoid-carotenoid interactions and transport inhibition by ezetimibe. Int J Vitam Nutr Res. Sep 79(5-6):337-47
- Owen R W, Giacosa A, Hull W E, Haubner R, Spiegelhalder B, Bartsch H. 2000, The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. Europ J Cancer 36:1235-1247
- Pandey A, Bhatt K C, 2008. Diversity distribution and collection of genetic resources of cultivated and weedy type in *Perilla frutescens* L Britton var. *frutescens* and their uses in Indian Himalaya. Genet Resour Crop Evol 55:883-892
- Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds, Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, Food and Nutrition Board Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and α -Carotene and Other Carotenoids: Overview, Antioxidant Definition, and Relationship to Chronic Disease. In Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids; Nat Acad Sci Washington DC 2000. pp 35-57
- Pank F, 2007. Medicinal Plant Breeding. In: Kayser, O., Quax, W. Medicinal Plant Biotechnology. From basic research to industrial applications. Wiley-VCH. Weinheim
- Parathasarathy S, 1998: Implication of Lag-time concept on the oxidation of LDL; Free Rad Res 28:583-591

- Parida A K, Das A B, 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60 324–349
- Parr A J, Bolwell G P, 2000. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *J Sci Food Agric* 80:985-1012
- Peng Y, Ye J, Kong J, 2005. Determination of phenolic compounds in *Perilla frutescens* L. by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *J Agric Food Chem* 53:8141-8147
- Perez-Jimenez J, Serrano J, Tabernero M, Arranz S, Diaz-Rubio M E, Garcia-Diz L, Goni I, Saura-Calixto F, 2009. Bioavailability of phenolic antioxidants associated with dietary fiber: plasma antioxidant capacity after acute and long-intake in humans. *Plant Foods Hum Nutr* 64:102–107
- Pietta P G, 2000. Flavonoids as Antioxidants. *J Nat Prod* 63:1035-1042
- Pilz J, Meinecke I, Gleiter C H, 2000. Measurement of free and bound malondialdehyde in plasma by high-performance liquid chromatography as the 2, 4-dinitrophenylhydrazine derivative. *J Chromatogr B* 742:315–325
- Povilaitytesand V, Venskutonis P R, 2000. Antioxidative activity of purple Peril (*Perilla frutescens* L.), Moldavian Dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) and Roman Chamomile (*Arthemis nobilis* L.) Extracts in rapeseed oil. *JAOCS* 77(9) 951-956
- Pulido R, Hernandez-Garcia M, Saura-Calixto F, 2003. Contribution of beverages to the intake of lipophilic and hydrophilic antioxidants in the Spanish diet. *Eur J Clin Nutr* 57:1275-1282
- Puupponen-Pimiaie R, Nohynek L, Meier C, Kaehkoenen M, Heinonen M, Hopia A, Oksman-Caldentey K M, 2001. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *J Appl Microbiol* 90:494-507
- Reddivari L, Hale A L, Creighton Miller J, 2007. Genotype, location, and year influence antioxidant activity, carotenoid content, phenolic content, and composition in specialty potatoes. *J Agric Food Chem* 55:8073–8079
- Reuber, S, Bornman J F, Weissenböck G, 1996. Phenylpropanoid compounds in primary leaf tissue of rye (*Secale cereale*). Light response of their metabolism and the possible role in UV-B protection. *Phys Plantarum* 97:160-168
- Rice-Evans C, Miller N J, Bolwell P G, Bramley P M, Pridham J B, 1995. The relative antioxidant of plant derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Res* 22:375–383
- Riemersma R A, Rice-Evans C A, Tyrrell R M, Clifford M N, Lean M E, 2001. Tea flavonoids and cardiovascular health. *Q J M* 94:277-282
- Riso P, Brusamolino A, Ciappellano S, Porrini M, 2003. Comparison of lutein bioavailability from vegetable and supplement. *Int J Vitam Nutr Res* 73:201-205
- Riso P, Brusamolino A, Scalfi L, Porrini M, 2004. Bioavailability of carotinoids from spinach and tomatoes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 14:150-156
- Rühmann S, mündliche Übelieferung. 2009. Fachgebiet Obstbau. Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Technische Universität München
- Saito K und Yamazaki M, 2002. Biochemistry and molecular biology of the late-stage of biosynthesis of anthocyanin: Iasons from *Perilla frutescens* as a model plant. *New Phytologist* 155:9-23.

- Sander L C, Sharpless K E, Craft N E, Wise S A, 1994. Development of engineered stationary phases for the separation of carotenoid isomers. *Anal Chem* 66:1667–1674
- Santos K F, Oliviera T T, Nagem T J, Pinto A S, Oliviera M G, 1999. Hypolipidaemic effects of naringenin, rutin, nicotinic acid and their associations. *Pharmacol Res* 40:493-496
- Santos I, Fidalgo F, Almeida J M, Salema R, 2004. Biochemical and ultrastructural changes in leaves of potato plants under supplementary UV-B radiation. *Plant Sci* 167:925-935
- Santosa S, Jones P J H, 2005. Oxidative stress in ocular disease: Does lutein play a protective role? in: *Canadian Medical Association Journal* 173
- Sato T, Nagata M, Engle L M, 2002. Evaluation of antioxidant activity of indigenous vegetables from South and Southeast Asia. *Jircas Res Highlights*
- Sawabe A, Satake T, Aizawa R, Sakatani K, Nishimoto K, Ozeki C, Hamada Y, Komemushi S, 2006. Toward use of the leaves of *Perilla frutescens* L. Britton var. *Acuda kudo* (red Perilla) with Japanese dietary Pickled plum (Umeboshi). *J Oleo Sci* 55(8):413-422
- Schirmacher G, Schnitzler W H, Graßmann J, 2004. Determination of secondary plant metabolites and antioxidative capacity as new parameter for quality evaluation – Indicated by the new Asia Salad *Gynura bicolor*. *Journal of Applied Botany* 78:133-134, 2004
- Schirmacher G, 2005. Dissertation: Einfluss von UV-Licht auf Zusammensetzung und antioxidative Kapazität polyphenol- und carotinoidhaltiger Extrakte aus *Gynura bicolor* (Willd.) DC. und *Spinacia oleracea* L. Lehrstuhl für Gemüsebau, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Technische Universität München
- Schirmacher G, Skurk T, Hauner H, Graßmann J, 2010. Effect of *Spinacia oleraceae* L. and *Perilla frutescens* L. on antioxidants and lipid peroxidation in an intervention study in healthy individuals. *Plant Foods Hum Nutr* 65:71-76
- Schmidbauer S M, Venner M, von Samson-Himmelstjerna G, Drommer W, Gruber A D, 2004. Compensated overexpression of procollagens alpha 1(I) and alpha 1(III) following perilla mint ketone-induced acute pulmonary damage in horses. *J Comp Pathol* 131(2-3):186-198
- Schmitz-Hörner R, Weissenböck G, 2003. Contribution of phenolic compounds to the UV-B screening capacity of developing barley primary leaves in relation to DNA damage and repair under elevated UV-B levels. *Phytochemistry* 64:243–255
- Schnitzler J-P, Jungblut T P, Heller W, Köfferlein M, Hutzler P, Heinzmann U, Schmelzer E, Ernst D, Langebartels C, Sandermann Jr H, 1996. Tissue localization of UV-B-screening pigments and of chalcone synthase mRNA in needles of Scots pine seedlings. *New Phytologist* 132:247-258
- Schnitzler W H, Habegger R, 2004. *Perilla frutescens* – Perilla Red and its secondary plant metabolism. *Acta hort* 659(1):371-374
- Sgherri C, Kadlevoca Z, Pardossi A, Navari-Izzo F, Izzo R, 2008. Irrigation with diluted sea water improve the nutritional value of cherry tomatoes. *J Agric Food Chem* 56:3391-3397
- Singleton V L, Orthofer R, Lamuela-Raventós M, 1998. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu-reagent. *Meth Enzymol* 299:152-178
- Smith J L, Burrit D J, Bannister P, 2000. Shoot dry weight, Chlorophyll and UV-B-absorbing compounds as indicators of a plant's sensitivity to UV-B radiation. *Ann Bot* 86:1057-63

- Steel C C, Keller M, 2000. Influence of UV-B radiation on the carotinoid content of *Vitis vinifera* tissues. *Biochem Soc Trans* 28:883-885
- Steinhubl S R, 2008. Why have antioxidants failed in clinical trials? *Am J Cardiol* 101:14-19
- Stratil P, Klejdus B, Kubaän V, 2006. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables - Evaluation of spectrophotometric methods. *J Agric Food Chem* 54:607-616
- Stephanou M, Maneteas Y, 1997. Ultraviolet-B radiation effects on the Mediterranean ruderal *Dittrichia viscosa*. *Plant Ecol* 128:109-112
- Tanaka T, 1976. *Cyclopedia of edible plants of the world*. Keigaku Publishing Co, Tokyo, Japan.
- Takoano H, Osakabe N, Sanbongi C, Yanagisawa R, Inoue K, Yasuda A, Natsume M, Baba S, Ichiishi E, Yoshikawa T, 2004. Extract of *Perilla frutescens* enriched for rosmarinic acid, a polyphenolic phytochemical, inhibits seasonal allergic rhinoconjunctivitis in humans. *Exp Biol Med* 229:247-254
- Takano I, Yasuda T, Hamano T, Seto T, Akiyama K, 1990. Determination of perilla ketone in perilla herb by capillary gas chromatography/mass spectrometry, *Jap J Toxicol Environ Health* 36:320-325
- Tevini M. 1993. Effects of enhanced UV-B radiation on terrestrial plants, in: *UV-B radiation and ozone depletion: effects on humans, animals, plants, microorganisms and materials*, Tevini M. (ed.), Lewis Publishers, Boca Raton, U.S.A. 125-153
- Thompson H J, Heimendinger J, Gillette C, Sedlack S M, Heagele A, O'Neill C, Wolfe P, 2005. *In vivo* investigation of changes in biomarkers of oxidative stress induced by plant food rich diets. *J Agric Food Chem* 53:6126-6132
- Trombino S, Serini S, Di Nicuolo F, Celleno L, Ando S, Picci N, Calviello G, Palozza P, 2004. Antioxidant effect of ferulic acid in isolated membranes and intact cells: synergistic interactions with alpha-tocopherol, beta-carotene, and ascorbic acid. *J Agr Food Chem* 52:2411-2420
- Truscott T G, 2001. Synergistic effects of antioxidant vitamins. in: *Walter P, Hornig D, Moser U: functions of vitamins beyond recommended daily allowances*. Karger Bibl Nutr Dieta, Basel 68-79
- Tsuji M, Miyagawa K, Takeuchi T, Takeda H, 2008. Pharmacological characterisation and mechanisms of the novel antidepressive-and/or anxiolytic-like substances identified from *Perilla-Herbae*. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi* 28 (4):159-67
- Tyssandier V, Cardinault N, Caris-Veyrat C, Arniot M J, Grolier P, Bouteloup C, Azais-Braesco V, Borel P, 2002. Vegetable-borne lutein, lycopene and β -carotene compete for incorporation into chylomicrons, with no adverse effect on the medium-term (3-wk) plasma status of carotenoids in humans. *Am J Clin Nutr* 75:526-534
- Tyssandier V, Feillet-Courday C, Caris-Veyrat C, Guillard J C, Coundray C, Bureau S, Reich M, Amiot-Carlin M J Bouteloup-Demange C, Boirie Y, Borel P, 2004. Effect of tomatoe product consumption on the plasma status of antioxidant microconstituents and on the plasma total antioxidant capacity in healthy subjects. *J Am Coll Nutr* 23:148-156
- Ueda H, Yamazaki C, Yamazaki M, 2002. Luteolin as an anti-inflammatory and anti-allergic constituent of *Perilla frutescens*. *Biol Pharm Bull* 25:1197-1202

- Uphof J C, 1968. Dictionary of economic plants. Hafner service agency, New York, p. 272
- UPOV-Internationaler Verband zum Schutz von Pflanzenzüchtungen, 2002. Allgemeine Einführung zur Prüfung auf Unterscheidbarkeit, Homogenität und Beständigkeit und Erarbeitung harmonisierter Beschreibungen von neuen Pflanzensorten. TG/1/3. 1-27
- Upritchard J E, Schuurman C R, Wiersma A, Tijburg L B, Coolen S A, Rijken P J, Wiseman S A, 2003. Spread supplemented with moderate doses of vitamin E and carotenoids reduces lipid peroxidation in healthy, non-smoking adults. *Am J Clin Nutr* 78:985-992
- van den Berg H, 1999. Carotenoid interactions. *Nutr Rev* Jan 57(1):1-10
- van het Hof K H, Brouwer I A, West C E, Haddeman E, Steegers-Theunissen P M, van Dusseldorp M, Weststrate J A, Eskes T K A B, Hautvast J G A J, 1999. Bioavailability of lutein from vegetables is five times higher than that of β -carotene. *Am J Clin Nutr* 70:261–268
- Visioli F, Riso P, Grande S, Galli C, Porrini M, 2003. Protective activity of tomato products on in vivo markers of lipid oxidation. *Eur J Nutr* 42:201-206
- Vogt T, 2010. Phenylpropanoid Biosynthesis. *Molecular Plant* 3(1):2–20
- Wada K C, Kondo H, Takeno K, 2009. Obligatory short-day plant, *Perilla frutescens* var. *crispa* can flower in response to low-intensity light stress under long-day conditions. *Physiol Plant* Dec. 2
- Wahid A, Ghazanfar A, 2006. Possible involvement of some secondary plant metabolites in salt tolerance sugarcane. *J Plant Physiol* 163:723-730
- Wang X, Ye X L, Liu R, Chen H L, Bai H, Liang X, Zhang X D, Wang Z, Li W L, Hai C X, 2010. Antioxidant activities of oleanolic acid in vitro: possible role of Nrf2 and MAP kinases. *Chem Bio Interact* 184(3):328-337
- Wang Y, Nil N, 2000. Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase–oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. *J Hort Sci Biotechnol* 75:623–627
- Wealth of India. 1985. The wealth of India- raw materials, Publication and Information Directorate, Council for Scientific and Industrial Research, New Delhi, India, 7, 311-313
- WHO/FAO Report 2003. Report of the WHO/FAO expert consultation. Diet nutrition and the prevention of chronic diseases. WHO Technical Report Series, No 916 (TRS 916)
- Wiernsperger N F, 2003. Oxidative stress as a therapeutic target in diabetes: revisiting the controversy. *Diabetes Metab* 29(6):579-85
- Wiersema J H, Leon B, 1999. World economic plants- a standard reference. CRC Press, Washington D.C, U.S.A. Wilson B J, Garst J E, Linnabary R D, Channe I R B, 1977. Perilla ketone: a potent lung toxin from the mint plant, *Perilla frutescens* britton. *Science* 197:573–574
- Wilson W C, Simon J, Garst J E, 1990. The effect of selected bulky substituents on the pulmonary toxicity of 3-furylketones in mice. *J Anim Sci* 68:1072-1076
- Wise J A, Morin R J, Sanderson R, Blum K, 1996. Changes in plasma carotenoid, alpha-tocopherol, and lipid peroxide levels in response to supplementation with concentrated fruit and vegetable extracts: a pilot study. *Curr Ther Res* 57:445-461
- Wiseman H, 2000. Effect of dietary quercetin on oxidative DNA damage in healthy human subjects
World cancer Research, 1997

- Wu X, Beecher G R, Holden J M, Haytowitz D B, Gebhardt S.E, Prior R L, 2004. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *J Agr Food Chem* 52:4026–4037
- Wu M, Kubota C, 2008. Effect of high electrical conductivity of nutrient solution and its application timing on lycopene, chlorophyll and sugar concentration of hydroponic tomatoes during ripening. *Scientia Horticulturae* 116:122-129
- Yamamoto N, Moon J H, Tsushida T, Nagao A, Terao J, 1999. Inhibitory effect of quercetin metabolites and their related derivatives on copper ion-induced lipid peroxidation in human low-density lipoprotein. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 372(2):347-354
- Yamazaki M, Nakajima J-I, Yamanashi M, Sugiyama M, Makita Y, Springob K, Awazuhara M, Saito K, 2003. Metabolomics and differential gene expression in anthocyanin chemo-varietal forms of *Perilla frutescens*. *Phytochemistry* 62:987-995
- Yang W-J, Li D-P, Li J-K, Li M-H, Chen Y-L, Zhang P-Z, 2009. Synergistic antioxidative activities of eight traditional chinese herb pairs. *Biol Pharm Bull* 32(6):1021-1026
- Yasar F; Kusvuran S, Ellialtioglu S, 2006. Determination of antioxidant activities in some melon (*Cucumis melo* L.) varieties and cultivates under salt stress. *J Hort Sci Biotchnol* 81:627-630
- Yeomans V C, Linseisen C und Wolfram G, 2005. Interactive effects of polyphenols, tocopherol and ascorbic acid on the Cu²⁺-mediated oxidative modification of human low density lipoproteins. *Eur J Nutr* 44:422–428
- Yoshida K, Kondo T, Kameda K, Goto T, 1990. Structures of anthocyanins isolated from purple leaves of *Perilla ocimoides* L. var. *crispa*. Benth and their isomerization of irradiation of light. *Agric Biol Chem* 54:1745-1751
- Yoshida K, Kameda K, Kondo T, 1993. Diclucuronoflavones from purple leaves of *Perilla ocimoides*. *Phytochemistry* 33 (4):919-919
- Yu H-C, Kosuna K, Haga M, 1997. In: *Perilla-The Genus Perilla*. Taylor & Francis Group, LLC
- Yu T W, Ong C N, 1999. Lag time measurement of antioxidant capacity using myoglobin and ABTS: rationale, application, and limitation. *Anal Biochem* 275: 217-223
- Zekonis G, Zekonis J, Sadzeviciene R, Simoniene G, Kevelaitis E, 2008. Effect of *Perilla frutescens* aqueous extract on free radical production by human neutrophil leucocytes. *Medicina (Kaunas)* 44(9):699-705
- Zeven A C und Wet J M J, 1982. *Dictionary of cultivated plants and their regions of diversity*. Centre for Agricultural publishing and documentation, Wageningen.
- Zhang K, Bao Q, Wu Y, Rosen P, 1990. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38: p1194
- Zheng W, Wang S Y, 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs, *J Agr Food Chem* 49:5156–5170

8 Anhang

Anhang 1: Linienvergleich: Peakflächen der erfassten polyphenolischen Substanzen von Perilla-Linien 1-4

	SPV [280 nm]		HZS [320 nm]		Flavone [320 nm]		Flavone [350 nm]		Anthocyane [540 nm]	
Rf	1,76E-05		1,7196E-05		1,8452E-05		1,291E-05		1,5291E-05	
	PeakNr	Area [mAbsx min]	Peak kNr.	Area [mAbsx min]	Peak Nr.	Area [mAbsxmin]	Peak Nr.	Area [mAbsx min]	Peak Nr.	Area [mAbsx min]
Linie 1	1	25,0	2	28,0	-	-	10	17,00	-	-
	3	30,0	4	43,0	-	-	18	39,00	-	-
	5	34,1	6	108,0	-	-	24	61,00	-	-
	7	21,0	13	391,0	-	-	26	46,00	-	-
	8	24,0	15	288,0	-	-	-	-	-	-
	9	6,10	16	15,0	-	-	-	-	-	-
	12	15,0	17	940,0	-	-	-	-	-	-
	14	56,0	21	73,0	-	-	-	-	-	-
	19	35,0	23	24,0	-	-	-	-	-	-
	20	48,0	25	89,0	-	-	-	-	-	-
	22	16,0	28	20,0	-	-	-	-	-	-
Total		310,2		2019,0		-		163,00		-
Linie 2	1	20,20	13	494,6	10	61,0	12	24,67		7,57
	2	11,32	15	84,0	18	101,0	23	50,38		9,72
	3	5,81	-	-	-	-	-	-		16,66
	4	14,09	-	-	-	-	-	-	22	53,63
	5	32,70	-	-	-	-	-	-	-	-
	6	13,23	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	22,00	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	5,000	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	10,12	-	-	-	-	-	-	-	-
	19	39,00	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	39,00	-	-	-	-	-	-	-	-
	25	62,00	-	-	-	-	-	-	-	-
Total		274,5		1637,89		162,0		75,05		87,58
Linie 3	1	33,59	9	66,33	18	39,0	22	65,0	-	-
	2	22,52	14	390,00	-	-	23	50,0	-	-
	3	20,21	16	184,00	-	-	25	249,00	-	-
	4	23,51	17	630,3	-	-	22	65,0	-	-
	5	38,71	20	32,00	-	-	-	-	-	-
	6	25,00	24	44,00	-	-	-	-	-	-
	7	33,00	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	215,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	7,20	-	-	-	-	-	-	-	-
	12	72,50	-	-	-	-	-	-	-	-
	13	18,00	-	-	-	-	-	-	-	-
	15	59,30	-	-	-	-	-	-	-	-
	18	98,12	-	-	-	-	-	-	-	-
	19	35,00	-	-	-	-	-	-	-	-
21	453,3	-	-	-	-	-	-	-	-	
22	34,00	-	-	-	-	-	-	-	-	
23	40,12	-	-	-	-	-	-	-	-	
Total		1229,1		1346,63		39,0		364,0		-

Anhang 2: Peakflächen der erfassten polyphenolischen Substanzen von Linie 4

Linie 4	SPV [280 nm]		HZS [320 nm]		Flavone [320 nm]		Flavone [350 nm]		Anthocyane [540 nm]	
	1,76E-05		1,7196E-05		1,8452E-05		1,291E-05		1,5291E-05	
	PeakNr	Area [mAbsx min]	PeakNr.	Area [mAbsx min]	Peak Nr.	Area [mAbsxmin]	Peak Nr.	Area [mAbsx min]	Peak Nr.	Area [mAbsx min]
	1	32,00	12	312,00	-	-	9	58,00	-	-
	2	12,00	13	140,00	-	-	11	16,00	-	-
	3	21,00	14	55,00	-	-	16	49,00	-	-
	4	53,00	15	571,5	-	-	-	-	-	-
	5	78,00	17	21,00	-	-	-	-	-	-
	6	52,00	18	28,00	-	-	-	-	-	-
	7	16,00	19	38,00	-	-	-	-	-	-
	8	52,00	20	53,00	-	-	-	-	-	-
			21	79,00	-	-	-	-	-	-
Total		316,00		1297,50	-	-	-	123,00		

Anhang 3: Peakflächen der erfassten polyphenolischen Substanzen von Linie 5

Rf	SPV [280 nm]		HZS [320 nm]		Flavone [320 nm]		Flavone [350 nm]		Anthocyane [540 nm]	
	1,76E-05		1,7196E-05		1,8452E-05		1,291E-05		1,5291E-05	
	PeakNr	Area [mAbsx min]	Peak kNr.	Area [mAbsx min]	Peak Nr.	Area [mAbsxmin]	Peak Nr.	Area [mAbsx min]	Peak Nr.	Area [mAbsx min]
	1	10,13	3	27,63	12	55,96	14	69,33	22	35,99
	2	53,00	11	29,40	17	48,86	18	106,22	23	104,12
	4	50,60	k 15	536,83	20	53,67	-	-	25	34,26
	5	45,70	16	13,77	23	54,00	-	-	28	74,04
	6	35,43	19	1763	27	31,00	-	-	29	211,88
	7	60,77	25	109,34	27	46,00	-	-	30	589,34
	8	36,21	34	34,19	-	-	-	-	-	-
	9	11,82	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	13,05	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	20,07	-	-	-	-	-	-	-	-
	21	53,12	-	-	-	-	-	-	-	-
	31	52,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	32	21,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	33	30,0	-	-	-	-	-	-	-	-
Total		492,90		2514,16		289,49		175,55		1049,06

Anhang 4: Berechnungsformel und Berechnung der polyphenolischen Substanzen der Perilla-Linien 1-5

Berechnungsformel: $c(A) = Rf(A) / Rf(Std.) \times A(A) / A(Std.) \times c(Std.) \times Mf$ berechnet in [mg/l a TS]					
	SPV	HZS	Flavone	Anthocyane	Total
Linie 1	1,191	7,573	0,459		9,223
Linie 2	1,165	6,754	0,955	0,323	9,197
Linie 3	4,210	6,177	1,055		11,442
Linie 4	1,350	5,416	0,385		7,151
Linie 5	2,037	10,150	1,786	3,768	17,741

c(A)=Konzentration phenolischer Substanz in Probe; c(Std)= Konzentration Standard; Rf=Retentionsfaktor; Mf=Multiplikationsfaktor, in diesem Fall gilt: Mf=20;

Anhang 5: Linienvergleich: Carotinoide-Gehalte und Signifikanzen der Linie 1 und 2

Carotinoide [mg/ 100 g FS]										
Linie										
	Unterlinie	β -Carotin	Lutein	Zeaxanthin	α -Carotin	Signifikanzen				
						Unterlinie n bzw. Linien	β -Carotin	Lutein	Zeaxanthin	α -Carotin
1	1	19,22	24,57	0,80	0,43	UL2	0,984	0,736	0,830	0,982
		19,79	25,61	0,82	0,48	UL3	0,116	0,999	0,035	0,931
		16,81	22,94	0,74	0,32	UL4	0,728	0,688	0,011	0,233
		19,65	22,53	0,67	0,56	UL5	0,579	0,999	0,004	0,997
	2	19,50	24,73	0,72	0,43	UL3	0,051	0,905	0,174	0,708
		19,72	24,54	0,73	0,46	UL4	0,455	0,175	0,058	0,106
		19,48	31,06	0,72	0,25	UL5	0,310	0,617	0,022	0,900
		19,86	31,20	0,71	0,27	UL1	0,984	0,763	0,830	0,982
	3	22,26	35,36	0,77	0,23	UL4	0,682	0,614	0,967	0,672
		14,18	22,49	0,51	0,14	UL5	0,713	0,989	0,778	0,989
		14,14	22,56	0,51	0,20	UL1	0,166	0,999	0,035	0,981
	4	-	-	-	-	UL2	0,051	0,905	0,174	0,708
		14,18	22,56	0,54	0,20	UL5	1,000	0,816	0,984	0,365
		14,02	22,45	0,54	0,21	UL1	0,728	0,688	0,011	0,233
		15,52	23,28	0,59	0,18	UL2	0,455	0,175	0,058	0,106
	5	-	-	-	-	UL3	0,682	0,614	0,967	0,672
		17,97	27,34	0,57	0,22	UL1	0,579	0,999	0,004	0,997
		15,15	23,10	0,50	0,22	UL2	0,310	0,617	0,022	0,900
		15,44	23,92	0,52	0,17	UL3	0,713	0,989	0,778	0,989
	MW	17,50	25,23	0,64	0,28	2	0,000	0,000	0,000	0,985
	Stw	2,60	2,70	0,12	0,04	3	0,002	0,000	0,891	0,071
						4	0,539	0,109	0,009	0,964
						5	0,000	0,000	0,000	1,00
	2	1	18,50	32,07	0,64	0,19	UL2	0,768	0,047	0,946
18,28			31,79	0,71	0,22	UL3	0,071	0,005	0,275	0,675
21,34			40,45	0,89	0,42	UL4	0,064	0,019	0,011	0,334
21,06			39,98	0,92	0,43	UL5	0,081	0,046	0,006	0,720
2		18,69	34,38	0,64	0,35	UL3	0,449	0,990	0,854	0,976
		18,98	34,71	0,69	0,37	UL4	0,418	1,000	0,142	0,808
		23,42	43,73	0,93	0,35	UL5	0,486	0,975	0,086	0,984
		23,11	43,22	0,89	0,37	UL1	0,768	0,046	0,946	0,984
3		22,83	46,22	1,09	0,47	UL4	1,000	0,936	0,370	0,968
		22,45	45,85	1,11	0,49	UL5	1,000	0,710	0,220	1,000
		23,16	42,68	1,01	0,34	UL1	0,071	0,005	0,275	0,675
		23,17	43,01	1,01	0,32	UL2	0,449	0,990	0,854	0,976
4		23,08	44,96	1,17	0,35	UL5	1,000	0,985	0,996	0,951
		22,88	44,71	1,12	0,52	UL1	0,064	0,019	0,011	0,334
		23,20	41,87	1,45	0,45	UL2	0,418	1,000	0,142	0,808
		22,70	40,95	1,39	0,46	UL3	1,000	0,936	0,370	0,968
5		21,69	41,82	1,10	0,49	UL1	0,081	0,046	0,006	0,720
		23,95	42,66	1,56	0,33	UL2	0,486	0,975	0,086	0,984
		24,23	43,13	1,58	0,32	UL3	1,000	0,710	0,220	1,000
		21,45	41,34	1,07	0,46	UL4	1,000	0,985	0,996	0,951
		21,91	40,98	1,05	0,38	3	0,288	0,016	0,000	0,217
		1,90	1,93	0,28	0,04	4	0,000	0,000	0,000	0,760
						5	0,000	0,000	0,999	0,975
						1	0,000	0,000	0,000	0,985

Anhang 6: Linienvergleich: Carotinoide-Gehalte und Signifikanzen der Linie 3

Carotinoide [mg/ 100 g FS]										
Linie										
3	Unterlinie	β-Carotin	Lutein	Zeaxanthin	α-Carotin	Signifikanzen				
						Unterlinie n bzw. Linien	β-Carotin	Lutein	Zeaxanthin	α-Carotin
1		19,63	34,96	0,69	0,30	UL2	0,609	0,030	0,968	0,057
		20,02	35,53	0,70	0,23	UL3	0,600	0,085	0,033	0,958
		21,79	38,69	0,76	0,27	UL4	0,004	0,338	0,065	0,948
		21,05	37,41	0,72	0,30	UL5	1,000	0,940	0,014	0,952
2		20,79	38,45	0,69	0,45	UL3	1,000	0,973	0,011	0,177
		20,84	38,53	0,65	0,47	UL4	0,000	0,001	0,183	0,041
		21,93	40,71	0,73	0,34	UL5	0,657	0,068	0,034	0,411
		21,69	40,52	0,75	0,34	UL1	0,609	0,030	0,968	0,057
3		20,78	38,19	0,76	0,42	UL4	0,000	0,003	0,000	0,906
		20,74	38,24	0,77	0,21	UL5	0,026	0,154	0,000	0,947
		21,93	40,07	0,82	0,30	UL1	0,004	0,085	0,033	0,958
		21,83	39,71	0,81	0,28	UL2	0,000	0,973	0,011	0,177
4		18,15	34,48	0,65	0,26	UL5	0,026	0,620	0,621	0,909
		17,97	34,05	0,65	0,25	UL1	0,004	0,338	0,065	0,948
		19,00	35,95	0,67	0,26	UL2	0,000	0,001	0,183	0,041
		18,74	35,48	0,65	0,30	UL3	0,000	0,003	0,000	0,906
5		20,58	36,69	0,63	0,29	UL1	1,000	0,940	0,014	0,952
		20,45	36,26	0,62	0,33	UL2	0,657	0,068	0,034	0,411
		21,65	37,90	0,66	0,31	UL3	0,649	0,154	0,000	0,947
		21,46	37,59	0,65	0,26	UL4	0,026	0,620	0,621	0,909
MW		20,55	37,47	0,70	0,31	4	0,148	0,239	0,097	0,011
Stw		1,26	0,38	0,06	0,03	5	0,000	0,000	0,000	0,062
						1	0,002	0,000	0,891	0,071
						2	0,288	0,016	0,000	0,217

Anhang 7: Linienvergleich: Carotinoide-Gehalte und Signifikanzen der Linie 4/5

Carotinoide [mg/ 100 g FS]										
Linie										
	Unterlinie	β-Carotin	Lutein	Zeaxanthin	α-Carotin	Signifikanzen				
						Unterlinie n bzw. Linien	β-Carotin	Lutein	Zeaxan- thin	α-Carotin
4	1	18,52	26,06	0,63	0,42	UL2	0,932	0,941	0,764	0,999
		17,42	24,89	0,58	0,49	UL3	0,887	0,558	0,416	0,999
		17,15	26,09	0,66	0,17	UL4	0,001	0,000	0,211	0,154
			26,06	0,63	0,42	UL5	0,387	0,011	0,143	0,393
	2	16,08	23,26	0,73	0,31	UL3	0,399	0,910	0,961	0,999
		15,91	22,91	0,71	0,32	UL4	0,000	0,000	0,760	0,098
		18,38	33,84	0,82	0,19	UL5	0,098	0,028	0,611	0,293
			23,26	0,71	0,32	UL1	0,932	0,941	0,764	0,999
	3	16,53	31,14	1,13	0,19	UL4	0,003	0,001	0,984	0,124
		17,00	32,06	0,81	0,19	UL5	0,819	0,129	0,932	0,354
		16,46	30,25	1,03	0,14	UL1	0,887	0,558	0,416	0,999
		17,50	30,53	0,91	0,20	UL2	0,399	0,910	0,961	0,999
	4	20,15	38,82	0,83	0,25	UL5	0,037	0,133	0,999	0,957
		21,28	39,32	1,27	0,35	UL1	0,001	0,000	0,211	0,154
		21,31	40,51	0,78	0,26	UL2	0,000	0,000	0,760	0,098
		21,42	40,63	0,79	0,25	UL3	0,003	0,001	0,984	0,124
	5	19,02	34,51	1,09	0,34	UL1	0,387	0,011	0,143	0,393
		18,74	34,18	1,04	0,25	UL2	0,098	0,028	0,611	0,293
		19,08	37,06	0,77	0,22	UL3	0,819	0,129	0,932	0,354
		19,68	35,96	0,89	0,20	UL4	0,037	0,133	0,999	0,957
MW	18,71	18,71	0,85	0,28	5	0,000	0,000	0,000	0,981	
Stw	1,85	1,85	0,20	0,06	1	0,539	0,109	0,009	0,964	
					2	0,000	0,000	0,000	0,760	
					3	0,148	0,239	0,097	0,11	
5	1	23,04	35,55	0,86	0,51	UL2	0,994	0,000	0,163	0,998
		23,86	35,67	0,87	0,56	UL3	0,821	0,000	0,562	0,943
		23,35	24,73	0,57	0,20	UL4	0,052	0,000	0,196	0,999
		23,04	35,55	0,86	0,51	UL5	0,626	0,000	0,035	0,998
	2	19,72	30,95	0,88	0,51	UL3	0,946	0,006	0,861	0,985
		19,61	31,00	0,87	0,56	UL4	0,071	0,789	0,999	0,996
		28,58	58,11	1,27	0,20	UL5	0,798	0,274	0,874	0,965
		29,11	58,27	1,28	0,51	UL1	0,994	0,000	0,163	0,998
	3	24,08	46,68	0,98	0,25	UL4	0,240	0,036	0,909	0,925
		24,44	47,74	0,98	0,27	UL5	0,995	0,053	0,349	0,801
		25,66	48,82	1,05	0,51	UL1	0,821	0,001	0,562	0,943
		24,08	46,68	0,98	0,25	UL2	0,946	0,006	0,861	0,985
	4	28,64	54,81	1,01	0,37	UL5	0,408	0,903	0,817	0,999
		28,99	54,57	1,02	0,31	UL1	0,052	0,000	0,196	0,999
		31,27	60,80	1,13	0,61	UL2	0,071	0,789	0,999	0,996
		31,32	60,12	1,10	0,37	UL3	0,240	0,036	0,909	0,925
	5	27,84	54,03	1,16	0,36	UL1	0,626	0,000	0,035	0,998
		27,69	53,52	1,12	0,57	UL2	0,798	0,274	0,874	0,965
		25,26	54,99	1,17	0,52	UL3	0,995	0,053	0,349	0,801
		25,07	54,59	1,15	0,37	UL4	0,408	0,903	0,817	0,999
MW	25,97	47,23	1,03	0,41	4	0,000	0,000	0,000	0,981	
Stw	3,45	6,18	0,17	0,05	1	0,000	0,000	0,000	1,00	
					2	0,000	0,000	0,999	0,975	
					3	0,000	0,000	0,000	0,062	

Anhang 9: Linienvergleich: Polyphenole und Carotinoide-Gehalte und antioxidative Kapazität (TEAC) der Linien 2 und 3

Gehalte [mg/ 100 g FS] und antiox. Kapazität TEAC [mg TE/ 100 g FS]											
Linie											
	Unterlinie	Gesamrpolyphenolgehalt [mg/ 100 g FS]	Antioxidative Kapazität Polyphenole	Antioxidative Kapazität Carotinoide	Signifikanz						
					Unterlinien bzw. Linien	Gehalt Polyphenole	Antioxid. Kapazität				
							Polyphenole		Carotinoide		
							TEAC	LPO	TEAC	LPO	
2	3	1140,51	1228,64	66,53	81,85	UL4	0,121	0,059	-	0,037	-
		1167,12	1250,49	65,93	-	UL5	0,221	0,135	-	0,341	-
		1141,27	1241,73	55,85	-	UL1	0,051	0,003	-	0,079	-
		1003,64	1446,52	53,23	-	UL2	0,909	0,861	-	0,446	-
		1062,19	1381,78	80,84	-	-	-	-	-	-	-
		1037,86	1349,36	79,02	-	-	-	-	-	-	-
	4	1033,85	1144,79	72,62	-	UL5	0,969	0,990	-	0,687	-
		1052,19	1152,18	75,87	-	UL1	0,989	0,590	-	0,993	-
		1010,93	1161,79	71,81	-	UL2	0,438	0,305	-	0,565	-
		896,31	1191,74	70,80	-	UL3	0,121	0,059	-	0,037	-
		923,05	1160,07	89,65	-	-	-	-	-	-	-
		981,13	1096,02	68,16	-	-	-	-	-	-	-
	5	1041,07	1217,82	68,65	80,52	UL1	0,913	0,338	-	0,893	-
		1009,02	1194,04	66,68	71,82	UL2	0,649	0,545	-	0,999	-
		1009,02	1174,20	67,86	67,07	UL3	0,221	0,135	-	0,341	-
		998,59	1144,60	69,05	73,40	UL4	0,996	0,990	-	0,687	-
		985,92	1329,33	59,95	-	-	-	-	-	-	-
		877,12	1210,32	58,57	-	-	-	-	-	-	-
	MW	1017,23	1230,15	69,75		5	0,001	0,000	0,136	0,000	0,220
	Stw	75,23	96,47	8,01		1	0,000	0,000	0,014	0,000	0,709
						3	0,000	0,000	0,615	0,000	0,000
					4	0,000	0,000	0,702	0,000	0,709	
3	1	1377,99	1472,10	57,10	54,43	UL2	0,981	0,235	-	0,729	-
		1255,47	1485,04	58,13	56,69	UL3	0,799	0,938	-	0,134	-
		1252,37	1510,50	74,55	-	UL4	0,000	0,000	-	0,999	-
		1125,19	1218,06	55,05	-	UL5	0,000	0,000	-	0,818	-
		1125,97	1231,30	64,69	-	-	-	-	-	-	-
		1112,78	1310,27	62,23	-	-	-	-	-	-	-
	2	1331,72	1524,66	60,87	52,53	UL3	0,488	0,619	-	0,698	-
		1248,60	1502,53	55,46	53,43	UL4	0,000	0,000	-	0,818	-
		1258,78	1502,87	65,82	73,48	UL5	0,000	0,000	-	0,999	-
		1296,10	1610,25	49,38	58,62	UL1	0,981	0,235	-	0,729	-
		1282,53	1624,40	70,33	-	-	-	-	-	-	-
		1313,06	1652,26	69,43	-	-	-	-	-	-	-
	3	1265,67	1428,74	49,89	-	UL2	0,488	0,619	-	0,698	-
		1246,69	1489,92	51,83	-	UL4	0,000	0,000	-	0,178	-
		1254,12	1504,35	51,83	-	UL5	0,000	0,000	-	0,598	-
		987,62	1421,20	56,29	-	UL1	0,799	0,938	-	0,134	-
		1024,74	1153,52	56,10	-	-	-	-	-	-	-
		1037,95	1211,65	54,94	-	-	-	-	-	-	-
	4	635,31	797,90	61,07	-	UL2	0,000	0,000	-	0,818	-
		593,23	761,14	70,47	-	UL3	0,000	0,000	-	0,178	-
		610,55	733,05	55,84	-	UL5	0,001	0,000	-	0,892	-
655,93		732,00	63,79	-	UL1	0,000	0,000	-	0,999	-	
665,01		828,30	66,29	-	-	-	-	-	-	-	
659,23		686,99	64,62	-	-	-	-	-	-	-	

Anhang 10: Linienvergleich: Polyphenole und Carotinoide-Gehalte und antioxidative Kapazität (TEAC) der Linien 3 und 4

Gehalte [mg/ 100 g FS] und antiox. Kapazität TEAC [mg TE/ 100 g FS]											
Linie											
	Unterlinie	Gesamtpolyphenolgehalt [mg/ 100 g FS]	Antioxidative Kapazität Polyphenole	Antioxidative Kapazität Carotinoide		Signifikanzen					
						Unterlinien bzw. Linien	Gehalt Polyphenole	Antioxid. Kapazität			
								Polyphenole		Carotinoide	
								TEAC	LPO	TEAC	LPO
3	5	936,99	1124,23	53,90	63,91	UL1	0,000	0,001	-	0,818	-
		902,05	1229,52	59,94	-	UL2	0,000	0,000	-	0,999	-
		879,94	1139,72	54,46	-	UL3	0,003	0,000	-	0,598	-
		986,90	1109,69	67,31	-	UL4	0,001	0,000	-	0,892	-
		996,89	1104,69	65,61	-	-	-	-	-	-	-
		996,17	1114,22	66,56	-	-	-	-	-	-	-
	MW	1145,68	1357,28	60,31		1	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000
	Stw	152,87	127,26	6,76		2	0,000	0,000	0,615	0,000	0,000
						4	0,000	0,000	0,074	0,003	0,000
						5	0,979	0,001	0,735	0,000	0,000
4	1	613,33	836,33	65,48	-	UL2	0,990	0,573	-	0,386	-
		639,99	876,19	62,24	-	UL3	0,067	0,001	-	0,038	-
		573,88	886,05	68,90	-	UL4	0,060	0,812	-	0,445	-
		554,99	853,43	53,30	-	UL5	0,641	0,708	-	0,606	-
		563,33	856,94	56,54	-	-	-	-	-	-	-
		562,22	880,09	55,20	-	-	-	-	-	-	-
		554,99	880,09	51,40	-	-	-	-	-	-	-
		563,33	836,33	48,74	-	-	-	-	-	-	-
	562,22	876,19	65,48	-	-	-	-	-	-	-	
	2	571,66	793,38	48,82	52,66	UL3	0,151	0,025	-	0,639	-
		586,11	809,42	53,21	-	UL4	0,025	0,122	-	0,999	-
		551,11	786,63	47,54	-	UL5	0,383	0,999	-	0,995	-
		713,33	984,56	67,28	-	UL1	0,990	0,537	-	0,386	-
		721,11	1003,35	58,69	-	-	-	-	-	-	-
		724,44	998,24	50,28	-	-	-	-	-	-	-
	3	507,22	672,96	52,54	54,63	UL1	0,067	0,001	-	0,038	-
		495,55	688,14	45,50	54,44	UL2	0,151	0,025	-	0,639	-
		507,22	699,71	50,26	49,69	UL4	0,000	0,000	-	0,573	-
		519,99	744,30	42,84	-	UL5	0,005	0,016	-	0,415	-
		509,44	744,11	43,79	-	-	-	-	-	-	-
		507,22	760,14	46,07	-	-	-	-	-	-	-
	4	634,99	954,84	56,14	55,53	UL1	0,060	0,812	-	0,445	-
		634,99	930,03	51,24	48,39	UL2	0,025	0,122	-	0,999	-
		634,99	953,52	50,63	48,39	UL3	0,000	0,000	-	0,573	-
		630,55	962,50	60,63	-	UL5	0,520	0,180	-	0,999	-
		662,22	988,85	67,97	-	-	-	-	-	-	-
		619,99	963,52	70,42	-	-	-	-	-	-	-
	5	589,99	845,42	58,23	50,67	UL1	0,641	0,708	-	0,606	-
		584,99	852,22	53,38	46,01	UL2	0,383	0,999	-	0,995	-
		682,77	870,12	47,95	55,32	UL3	0,005	0,016	-	0,415	-
629,99		845,42	63,08	62,89	UL4	0,520	0,180	-	0,999	-	
657,22		852,22	59,20	58,04	-	-	-	-	-	-	
637,77		870,12	50,09	61,34	-	-	-	-	-	-	
MW	784,93	863,85	54,57		1	0,510	0,071	0,067	0,512	0,999	
Stw	94,25	102,07	6,97		2	0,000	0,000	0,702	0,000	0,709	
					3	0,000	0,000	0,074	0,003	0,000	
					5	0,000	0,000	0,09	0,000	0,915	

Anhang 11: Linienvergleich: Polyphenole und Carotinoide-Gehalte und antioxidative Kapazität (TEAC) der Linie 5

Gehalte [mg/ 100 g FS] und antiox. Kapazität TEAC [mg TE/ 100 g FS]											
Linie											
5	Unterlinie	Gesamrpolyphenolgehalt [mg/ 100 g FS]	Antioxidative Kapazität Polyphenole	Antioxidative Kapazität Carotinoide		Signifikanzen					
						Unterlinien bzw. Linien	Gehalt P polyphenole	Antioxid. Kapazität			
								Polyphenole		Carotinoide	
								TEAC	LPO	TEAC	LPO
1		1082,44	1070,4	71,95	72,38	UL2	0,010	0,982	-	0,381	-
		1095,24	1070,2	68,55	67,91	UL3	0,413	0,999	-	0,948	-
		1068,84	1068,9	77,70	74,51	UL4	0,332	0,334	-	0,006	-
		1214,45	1042,0	78,12	-	UL5	0,210	0,853	-	0,702	-
		1126,44	1066,0	70,46	-	-	-	-	-	-	-
		1153,65	1047,9	87,70	-	-	-	-	-	-	-
2		1234,61	1002,3	74,83	-	UL3	0,000	0,972	-	0,787	-
		1266,06	1039,5	84,55	-	UL4	0,323	0,626	-	0,177	-
		1283,54	1047,1	88,49	-	UL5	0,481	0,560	-	0,978	-
		1276,55	1048,2	84,79	-	UL1	0,010	0,982	-	0,381	-
		1356,06	1053,3	80,62	-	-	-	-	-	-	-
		1287,03	1087,8	81,78	-	-	-	-	-	-	-
3		1051,10	1058,4	68,95	79,65	UL4	0,014	0,303	-	0,023	-
		1074,55	1124,7	79,65	82,44	UL5	0,008	0,882	-	0,978	-
		1063,23	1094,4	67,67	-	UL1	0,413	0,999	-	0,948	-
		997,73	987,68	94,21	-	UL2	0,000	0,972	-	0,787	-
		1096,38	975,69	83,08	-	-	-	-	-	-	-
		1052,71	965,09	86,50	-	-	-	-	-	-	-
4		1208,52	910,34	97,47	91,84	UL5	0,998	0,065	-	0,066	-
		1211,79	930,89	87,95	82,10	UL1	0,332	0,334	-	0,006	-
		1256,70	928,40	96,17	80,37	UL2	0,332	0,626	-	0,177	-
		1082,77	1063,4	97,91	81,67	UL3	0,014	0,303	-	0,023	-
		1081,14	1074,4	93,36	87,30	-	-	-	-	-	-
		1068,07	1007,1	101,15	99,85	-	-	-	-	-	-
5		1230,57	1289,0	84,70	65,86	UL1	0,210	0,853	-	0,702	-
		1247,72	1128,8	77,55	80,58	UL2	0,481	0,560	-	0,978	-
		1202,81	950,46	78,64	-	UL3	0,008	0,882	-	0,978	-
		1125,23	1085,9	81,45	-	UL4	0,998	0,065	-	0,66	-
		1121,97	1096,0	75,82	-	-	-	-	-	-	-
		1125,23	1018,2	87,08	-	-	-	-	-	-	-
MW		1158,10	1045,5	81,80		4	0,000	0,000	0,009	0,000	0,915
Stw		92,21	81,38	9,17		1	0,001	0,000	0,000	0,000	0,220
						2	0,008	0,001	0,136	0,000	0,000
						3	0,000	0,000	0,735	0,000	0,915

Anhang 12: Linienvergleich: Korrelationen nach Pearson

	b_Car	Lutein	Zea	α Car.	Chl_a	Chl_b	Caro Ges	-Poly Ges	Caro TEAC	Poly TEAC
b_Car	1	0,879**	0,679**	0,204	0,631**	0,556**	0,34	0,65**	0,706**	0,365**
Lutein	0,879**	1	0,712**	0,126	0,864**	0,573**	0,44	0,646**	0,686**	0,411**
Zea	0,697**	0,712**	1	0,264*	0,583**	0,553**	0,33	0,407**	0,518**	0,213*
α Car.	0,204	0,126	0,264*	1	0,205	0,196	0,069	0,026	-0,013	-0,144
Chl_a	0,631**	0,864**	0,583**	0,205	1	0,627**	-0,126	0,517**	0,491**	0,396**
Chl_b	0,556**	0,573**	0,553**	0,196	0,627**	1	0,176	0,517**	0,464**	0,315**
Caro Gesamt	-0,034	0,044	0,033	0,069	-0,126	0,176	1	0,175	0,106	0,089
Poly Gesamt	0,625**	0,646**	0,407**	0,026	0,517**	0,517**	0,175	1	0,106	0,089
Caro TEAC	0,706**	0,686**	0,518**	-0,013	0,491**	0,464**	0,106	0,571**	1	0,321**
Poly TEAC	0,365**	0,411*	0,213*	-0,144	0,396**	0,315**	0,089	0,792**	0,321**	1
Caro LPO	-0,031	0,003	-0,295**	-0,261*	0,053	-0,029	0,144	0,156	-0,033	0,292**
Poly LPO	0,687**	0,677**	0,463**	-0,159	0,584**	0,503**	-0,044	0,663**	0,580**	0,529**

Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant, ** Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 signifikant

Fortsetzung der Tabelle auf folgender Seite (Seite 235)

Fortsetzung Anhang 12; Anhang 12b: Korrelationen nach Pearson

Poly LPO	0,687**	0,677**	0,463**	-0,159	0,584**	0,503**	-0,044	0,663**	0,580**	0,529**	0,191	1
Caro LPO	-0,031	0,003	-0,295**	-0,261*	0,053	-0,029	0,144	0,156	-0,033	0,292*	1	0,191
	b_Car	Lutein	Zea	αCar.	Chl_a	Chl_b	CaroGes	PolyGes	Caro-TEAC	Poly-TEAC	Caro_LPO	Poly_LPO

Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant

** Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 signifikant

Anhang 13: Ausschnitte des agrarmeteorologischen Wetterberichts für die Monate Mai, Juni, Juli der Jahre 2007 und 2008. Ausgabe Südbayern des Deutschen Wetterdienstes- Niederlassung Weihenstephan

		Mai		Juni		Juli	
		2007	2008	2007	2008	2007	2008
Extremwerte	absolute Höchsttemperatur	29	29,6	29,7	30,8	33,6	30,6
	absolute Tiefsttemperatur	1,8	2,4	7,1	4,2	5,4	8,0
	Höchste Tagesmenge Niederschlag	56,6	20,6	23,3	32,5	24,2	22
Mittelwerte	Lufttemperatur	14,2	14,3	17,5	17,1	17,6	17,4
	Höchsttemperatur	20,1	20,2	23,3	22,7	23,7	23,3
	Tiefsttemperatur	7,9	8,3	11,6	11,4	11,8	11,8
	Bodentemperatur 5 cm	16,6	16,4	20,3	19,8	19,4	19,7
Monatssummen	Sonnenscheindauer in Std	242,4	249,1	241,7	201,5	234	226,6
	Globalstrahlung in J/cm ²	61452	62645	63319	57931	60728	58291
	PAR-Strahlung in J/cm ²	17268	17603	18236	16684	17854	17138
	Niederschlag in mm	142,6	49,7	76,1	118,9	142,5	143,6

Anhang 14: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf die Wuchshöhe, Trockensubstanzgehalt, β -Carotingehalt, Luteingehalt, α -Carotingehalt, Zeaxanthingehalt im Anbaujahr 2007/ 2008.

Linie	Stressstufen	Wuchshöhe [cm]		Trockensubstanz [g]	
		2007	2008	2007	2008
2	Kontrolle	68,0 ± 5,5	62,7 ± 2,7	13,4 ± 0,5	19,6 ± 1,2
	150 hPa	64,8 ± 3,8	63,3 ± 3,5	13,9 ± 0,1	21,0 ± 0,8
	250 hPa	58,7 ± 8,2	55,0 ± 6,5	14,1 ± 0,2	22,5 ± 0,2
	400 hPa	55,5 ± 6,1	50,5 ± 5,5	12,8 ± 0,1	23,8 ± 1,3
	EC 5,0	55,4 ± 5,2	55,0 ± 5,2	15,0 ± 0,1	21,5 ± 0,4
	EC 7,1	53,0 ± 5,3	50,5 ± 2,8	15,4 ± 0,4	24,0 ± 0,8
5	Kontrolle	64,6 ± 4,7	46,7 ± 2,9	13,8 ± 0,1	20,3 ± 0,6
	150 hPa	60,1 ± 4,2	44,6 ± 2,2	14,1 ± 0,2	21,3 ± 0,4
	250 hPa	57,1 ± 6,3	46,5 ± 4,0	14,2 ± 0,2	21,0 ± 0,4
	400 hPa	55,9 ± 5,2	43,5 ± 2,8	14,2 ± 0,2	21,5 ± 0,2
	EC 5,0	52,5 ± 4,0	45,5 ± 4,0	16,0 ± 0,4	20,8 ± 0,2
	EC 7,1	50,1 ± 3,4	41,0 ± 3,3	16,4 ± 0,4	21,2 ± 0,3
Linie	Stressstufen	β -Carotingehalt [mg / 100 g TS]		Luteingehalt [mg / 100 g TS]	
		2007	2008	2007	2008
2	Kontrolle	18,8 ± 1,4	20,8 ± 1,0	34,3 ± 2,0	37,5 ± 1,7
	150 hPa	18,4 ± 0,3	24,7 ± 1,4	33,1 ± 0,8	36,8 ± 3,5
	250 hPa	17,3 ± 0,5	24,0 ± 3,9	32,4 ± 1,0	42,0 ± 5,8
	400 hPa	17,5 ± 1,6	24,2 ± 5,0	31,5 ± 2,4	41,9 ± 6,1
	EC 5,0	18,5 ± 4,0	19,5 ± 3,1	34,6 ± 3,2	34,0 ± 4,6
	EC 7,1	19,7 ± 1,7	21,2 ± 3,0	37,5 ± 2,9	40,4 ± 5,2
5	Kontrolle	16,2 ± 1,4	24,3 ± 1,3	33,9 ± 3,3	43,2 ± 2,4
	150 hPa	15,8 ± 0,2	25,2 ± 1,3	33,4 ± 1,3	45,3 ± 2,5
	250 hPa	17,5 ± 0,5	25,4 ± 1,1	35,6 ± 1,7	45,1 ± 2,0
	400 hPa	17,3 ± 0,1	24,5 ± 0,7	35,9 ± 1,3	44,3 ± 2,1
	EC 5,0	19,6 ± 0,4	22,0 ± 0,3	42,3 ± 0,9	39,4 ± 0,5
	EC 7,1	20,1 ± 2,9	18,2 ± 2,8	43,3 ± 5,6	33,6 ± 0,2
Linie	Stressstufen	α -Carotingehalt [mg / 100 g TS]		Zeaxanthingehalt [mg / 100 g TS]	
		2007	2008	2007	2008
2	Kontrolle	0,40 ± 0,03	0,60 ± 0,07	0,21 ± 0,01	0,36 ± 0,01
	150 hPa	0,45 ± 0,01	0,58 ± 0,03	0,18 ± 0,02	0,53 ± 0,02
	250 hPa	0,45 ± 0,03	0,77 ± 0,12	0,15 ± 0,00	0,63 ± 0,17
	400 hPa	0,46 ± 0,02	0,79 ± 0,14	0,27 ± 0,02	0,76 ± 0,01
	EC 5,0	0,47 ± 0,03	0,52 ± 0,01	0,34 ± 0,08	0,68 ± 0,05
	EC 7,1	0,50 ± 0,03	0,69 ± 0,09	0,48 ± 0,03	1,23 ± 0,06
5	Kontrolle	0,5 ± 0,04	0,7 ± 0,26	0,1 ± 0,02	0,6 ± 0,04
	150 hPa	0,5 ± 0,01	0,8 ± 0,23	0,3 ± 0,02	0,7 ± 0,04
	250 hPa	0,5 ± 0,02	0,7 ± 0,14	0,2 ± 0,02	0,7 ± 0,01
	400 hPa	0,5 ± 0,01	0,9 ± 0,17	0,2 ± 0,01	0,7 ± 0,06
	EC 5,0	0,6 ± 0,03	0,6 ± 0,10	0,2 ± 0,04	0,8 ± 0,01
	EC 7,1	0,6 ± 0,08	0,4 ± 0,02	0,5 ± 0,07	1,2 ± 0,02

Anhang 15: Einfluss von Salz- und Trockenstress auf Gesamtcarotinoidgehalte und deren antioxidative Kapazität in TE, Chlorophyllgehalte, Polyphenolgehalte und deren antioxidative Kapazität im Anbaujahr 2007/ 2008.

Linie	Stress- stufen	Gesamtcarotinoid- gehalt [mg / 100 g TS]		TE [mg / 100 g TS]	
		2007	2008	2007	2008
2	Kontrolle	53,7 ± 3,4	62,3 ± 2,7	35,2 ± 5,8	31,2 ± 1,1
	150 hPa	52,1 ± 1,2	63,0 ± 5,0	44,0 ± 5,0	25,8 ± 1,3
	250 hPa	50,3 ± 1,5	67,5 ± 10,0	45,7 ± 2,2	26,4 ± 1,7
	400 hPa	49,6 ± 4,1	67,3 ± 11,3	44,2 ± 2,7	23,4 ± 0,3
	EC 5,0	54,0 ± 7,4	54,7 ± 7,7	54,4 ± 3,4	22,7 ± 1,3
	EC 7,1	58,1 ± 4,7	63,5 ± 8,4	48,6 ± 5,6	18,9 ± 0,9
5	Kontrolle	50,7 ± 4,8	68,7 ± 4,0	44,3 ± 8,9	30,4 ± 0,9
	150 hPa	50,0 ± 1,5	72,0 ± 4,1	-	31,7 ± 4,5
	250 hPa	53,7 ± 2,3	71,9 ± 3,2	40,9 ± 3,1	36,6 ± 6,3
	400 hPa	53,7 ± 1,4	70,3 ± 3,0	48,7 ± 2,7	28,2 ± 0,6
	EC 5,0	62,7 ± 1,3	63 ± 0,9	52,2 ± 6,0	28,9 ± 1,2
	EC 7,1	64,4 ± 8,7	53 ± 3,1	53,7 ± 5,5	26,8 ± 2,0
Linie	Stress- stufen	Chlorophyll a [mg / 100 g TS]		Chlorophyll b [mg / 100 g TS]	
		2007	2008	2007	2008
2	Kontrolle	269 ± 15,4	258 ± 21,4	104 ± 9,0	98,1 ± 5,8
	150 hPa	257 ± 14,4	281 ± 15,2	100 ± 10,8	102,1 ± 9,9
	250 hPa	258 ± 12,1	296 ± 23,8	98 ± 17,7	106 ± 25,9
	400 hPa	240 ± 32,5	310 ± 40,4	94 ± 14,5	110 ± 9,9
	EC 5,0	273 ± 31,8	225 ± 8,4	113 ± 17,6	85,1 ± 5,3
	EC 7,1	277 ± 19,1	267 ± 26,5	111 ± 6,4	107,1 ± 12,2
5	Kontrolle	245 ± 21,1	321 ± 17,4	105 ± 12,6	133 ± 14,9
	150 hPa	242 ± 6,3	334 ± 11,8	102 ± 9,7	141 ± 9,9
	250 hPa	272 ± 5,2	327 ± 17,7	118 ± 6,3	133 ± 13,8
	400 hPa	275 ± 8,3	316 ± 14,4	119 ± 8,4	129 ± 18,0
	EC 5,0	315 ± 9,7	285 ± 7,9	132 ± 5,3	117 ± 11,0
	EC 7,1	293 ± 32,0	232 ± 8,7	136 ± 15,9	96 ± 8,5
Linie	Stress- stufen	GAE [mg/ 100 g FS]		TE [mg/ 100 g FS]	
		2007	2008	2007	2008
2	Kontrolle	823 ± 59,0	518 ± 80,0	932 ± 121,7	671 ± 37,1
	150 hPa	825 ± 124,1	629 ± 68,0	1012 ± 83,7	689 ± 68,6
	250 hPa	797 ± 73,3	770 ± 27,9	971 ± 135,2	792 ± 27,1
	400 hPa	806 ± 36,5	718 ± 86,0	934 ± 52,2	814 ± 78,0
	EC 5,0	765 ± 66,6	719 ± 43,1	1058 ± 67,9	838 ± 67,5
	EC 7,1	844 ± 70,7	846 ± 28,9	1177 ± 57,9	1118 ± 114,5
5	Kontrolle	732 ± 55,7	884 ± 68,7	746 ± 52,0	884 ± 48,6
	150 hPa	676 ± 36,1	941 ± 68,6	-	1034 ± 87,5
	250 hPa	726 ± 39,3	951 ± 79,8	749 ± 67,0	971 ± 72,6
	400 hPa	719 ± 51,6	910 ± 49,1	882 ± 57,8	1040 ± 48,8
	EC 5,0	848 ± 62,8	974 ± 58,8	1116 ± 124,3	990 ± 130,2
	EC 7,1	858 ± 131,3	1005 ± 130,3	852 ± 77,2	1161 ± 78,3

Anhang 16: Signifikanzen bei Salz- und Trockenstressversuchen in den Jahren 2007 und 2008

Linie		Signifikanzen												
		TS		Höhe		BM		bCar		Lut		Zea		
		2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	
5	Kontrolle	150 hPa	0,579	0,082	0,001	0,047	0,064	0,697	0,998	0,881	0,999	0,577	0,000	0,001
		250 hPa	0,472	0,378	0,052	0,999	0,000	0,380	0,488	0,804	0,082	0,668	0,311	0,014
		400 hPa	0,294	0,033	0,001	0,000	0,000	0,731	0,589	0,991	0,675	0,955	0,488	0,016
		EC 5,0	0,000	0,770	0,000	0,575	0,000	0,018	0,002	0,289	0,000	0,085	0,000	0,000
		EC 7,1	0,000	0,171	0,000	0,000	0,000	0,021	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	150 hPa	Kontrolle	0,597	0,082	0,000	0,047	0,064	0,679	0,613	0,881	0,999	0,577	0,000	0,001
		250 hPa	0,999	0,900	0,052	0,112	0,391	0,997	0,488	0,999	0,697	0,999	0,000	0,695
		400 hPa	0,991	0,003	0,866	0,485	0,055	0,999	0,999	0,995	0,574	0,962	0,000	0,642
		EC 5,0	0,000	0,532	0,000	0,805	0,000	0,504	0,143	0,043	0,000	0,003	0,047	0,255
		EC 7,1	0,000	0,997	0,000	0,000	0,000	0,531	0,088	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	250 hPa	Kontrolle	0,472	0,378	0,000	0,999	0,000	0,380	0,725	0,804	0,802	0,668	0,311	0,014
		150 hPa	0,999	0,900	0,001	0,112	0,391	0,997	0,589	0,999	0,697	0,999	0,000	0,695
		400 hPa	0,999	0,634	0,866	0,000	0,942	0,995	0,999	0,983	0,999	0,984	0,999	0,999
		EC 5	0,000	0,976	0,018	0,787	0,024	0,463	0,101	0,030	0,001	0,004	0,034	0,016
		EC 7	0,000	0,992	0,000	0,000	0,101	0,490	0,062	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	400 hPa	Kontrolle	0,294	0,033	0,000	0,000	0,000	0,018	0,001	0,991	0,675	0,955	0,466	0,016
		150 hPa	0,991	0,993	0,000	0,485	0,055	0,504	0,002	0,995	0,574	0,962	0,000	0,642
		250 hPa	0,999	0,634	0,000	0,000	0,942	0,795	0,143	0,983	0,999	0,984	0,999	0,999
		EC 5	0,000	0,272	0,018	0,032	0,239	0,463	0,101	0,112	0,001	0,016	0,035	0,014
		EC 7	0,000	0,909	0,220	0,019	0,544	0,999	0,995	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	EC 5	Kontrolle	0,000	0,770	0,064	0,575	0,000	0,021	0,001	0,289	0,000	0,085	0,000	0,000
		150 hPa	0,000	0,532	0,000	0,805	0,000	0,531	0,002	0,043	0,000	0,003	0,047	0,255
		250 hPa	0,000	0,976	0,000	0,787	0,024	0,817	0,143	0,030	0,001	0,004	0,034	0,016
		400 hPa	0,000	0,272	0,000	0,032	0,239	0,490	0,101	0,112	0,001	0,016	0,035	0,014
		EC 7	0,481	0,790	0,000	0,000	0,995	0,999	0,995	0,018	0,058	0,004	0,000	0,000
	EC 7	Kontrolle	0,000	0,171	0,064	0,000	0,000	0,021	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
		150 hPa	0,000	0,997	0,391	0,000	0,000	0,531	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
		250 hPa	0,000	0,002	0,055	0,000	0,101	0,817	0,088	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
		400 hPa	0,000	0,909	0,000	0,019	0,544	0,490	0,062	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
		EC 5	0,481	0,790	0,000	0,000	0,995	0,999	0,995	0,018	0,058	0,004	0,000	0,000
	Kontrolle	aCar	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008
		Chl_a	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008
	Kontrolle	150 hPa	0,989	0,980	0,999	0,743	0,995	0,962	0,625	0,208	0,530	0,822	0,000	0,981
		250 hPa	0,074	0,999	0,029	0,989	0,100	0,999	0,999	0,656	0,998	0,710	0,018	0,030
		400 hPa	0,629	0,862	0,008	0,994	0,037	0,994	0,999	0,931	0,999	0,993	0,000	0,885
		EC 5,0	0,000	0,888	0,000	0,012	0,006	0,457	0,000	0,113	0,095	0,399	0,000	0,972
		EC 7,1	0,000	0,248	0,038	0,000	0,002	0,008	0,000	0,000	0,995	0,126	0,000	0,444
	150 hPa	Kontrolle	0,989	0,980	0,999	0,743	0,995	0,962	0,625	0,208	0,530	0,822	0,000	0,981
		250 hPa	0,354	0,999	0,063	0,970	0,063	0,954	0,451	0,947	0,778	0,999	0,000	0,144
		400 hPa	0,957	0,998	0,020	0,436	0,025	0,756	0,451	0,693	0,620	0,984	0,000	0,492
		EC 5,0	0,000	0,512	0,001	0,001	0,005	0,131	0,000	0,001	0,003	0,978	0,000	0,691
		EC 7,1	0,000	0,074	0,070	0,000	0,001	0,001	0,000	0,000	0,265	0,736	0,000	0,136
	250 hPa	Kontrolle	0,074	0,999	0,029	0,989	0,100	0,999	0,999	0,656	0,998	0,710	0,018	0,030
		150 hPa	0,354	0,999	0,063	0,970	0,063	0,954	0,451	0,947	0,778	0,999	0,000	0,144
		400 hPa	0,834	0,965	0,993	0,863	0,997	0,996	0,999	0,991	0,999	0,949	0,001	0,002
		EC 5	0,010	0,811	0,487	0,004	0,827	0,478	0,001	0,005	0,042	0,995	0,001	0,004
		EC 7	0,000	0,218	0,999	0,000	0,365	0,008	0,000	0,000	0,928	0,843	0,000	0,000
	400 hPa	Kontrolle	0,629	0,863	0,000	0,994	0,037	0,994	0,999	0,931	0,999	0,993	0,000	0,885
		150 hPa	0,957	0,998	0,020	0,436	0,025	0,756	0,451	0,693	0,620	0,984	0,000	0,492
		250 hPa	0,834	0,965	0,993	0,863	0,997	0,996	0,999	0,991	0,999	0,949	0,001	0,002
EC 5		0,000	0,290	0,815	0,038	0,974	0,770	0,001	0,018	0,134	0,732	0,999	0,999	
EC 7		0,000	0,032	0,999	0,000	0,612	0,024	0,000	0,000	0,995	0,335	0,019	0,970	
EC 5	Kontrolle	0,000	0,888	0,000	0,013	0,006	0,457	0,000	0,113	0,095	0,399	0,000	0,972	
	150 hPa	0,000	0,512	0,001	0,001	0,005	0,131	0,000	0,001	0,003	0,978	0,000	0,691	
	250 hPa	0,010	0,811	0,487	0,004	0,827	0,478	0,001	0,005	0,042	0,995	0,001	0,004	
	400 hPa	0,000	0,290	0,815	0,038	0,974	0,770	0,001	0,018	0,134	0,732	0,999	0,999	
	EC 7	0,390	0,816	0,742	0,000	0,937	0,277	0,251	0,005	0,233	0,984	0,049	0,881	

Fortsetzung der Tabelle auf folgender Seite (Seite 239)

Fortsetzung Anhang 16; Anhang 16a: Signifikanzen bei Salz- und Trockenstressversuchen in den Jahren 2007 und 2008

Linie		Signifikanzen													
		aCar		Chl_a		Chl_b		Geh-Car		Poly_Geh		Caro_TEAC			
		2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008		
5	EC 7	150 hPa	0,000	0,248	0,038	0,000	0,002	0,008	0,000	0,000	0,995	0,126	0,000	0,444	
		250 hPa	0,000	0,074	0,070	0,000	0,001	0,001	0,000	0,000	0,265	0,736	0,000	0,136	
		400 hPa	0,000	0,218	0,999	0,000	0,365	0,008	0,000	0,000	0,928	0,843	0,000	0,000	
		EC 5,0	0,000	0,032	0,999	0,000	0,612	0,024	0,000	0,000	0,995	0,335	0,019	0,970	
		EC 7,1	0,390	0,816	0,742	0,000	0,937	0,277	0,251	0,005	0,233	0,984	0,049	0,881	
			PolyTEAC		Caro LPO		PolyLPO		-		-		-		
			2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	
		Kontrolle	150 hPa	0,001	0,038	0,001	0,999	0,000	0,005	-	-	-	-	-	-
			250 hPa	0,999	0,462	0,883	0,999	0,538	0,002	-	-	-	-	-	-
			400 hPa	0,001	0,027	0,945	0,366	0,355	0,002	-	-	-	-	-	-
			EC 5,0	0,000	0,257	0,883	0,939	0,834	0,871	-	-	-	-	-	-
			EC 7,1	0,055	0,000	0,883	0,065	0,999	0,733	-	-	-	-	-	-
		150 hPa	Kontrolle	0,000	0,038	0,001	0,999	0,000	0,005	-	-	-	-	-	-
			250 hPa	0,000	0,772	0,028	0,999	0,000	0,996	-	-	-	-	-	-
			400 hPa	0,000	0,999	0,000	0,688	0,000	0,996	-	-	-	-	-	-
			EC 5,0	0,000	0,935	0,000	0,998	0,000	0,063	-	-	-	-	-	-
			EC 7,1	0,000	0,073	0,028	0,920	0,002	0,098	-	-	-	-	-	-
		250 hPa	Kontrolle	0,999	0,462	0,883	0,999	0,538	0,002	-	-	-	-	-	-
			150 hPa	0,000	0,772	0,028	0,999	0,000	0,996	-	-	-	-	-	-
			400 hPa	0,002	0,696	0,522	0,538	0,999	0,999	-	-	-	-	-	-
			EC 5	0,000	0,999	0,453	0,978	0,997	0,023	-	-	-	-	-	-
			EC 7	0,963	0,002	0,999	0,809	0,758	0,036	-	-	-	-	-	-
		400 hPa	Kontrolle	0,000	0,027	0,945	0,366	0,355	0,002	-	-	-	-	-	-
			150 hPa	0,000	0,999	0,000	0,688	0,000	0,996	-	-	-	-	-	-
			250 hPa	0,000	0,696	0,522	0,538	0,999	0,999	-	-	-	-	-	-
			EC 5	0,000	0,892	0,999	0,851	0,976	0,023	-	-	-	-	-	-
			EC 7	0,000	0,098	0,522	0,988	0,592	0,036	-	-	-	-	-	-
		EC 5	Kontrolle	0,055	0,257	0,883	0,939	0,834	0,871	-	-	-	-	-	-
	150 hPa		0,000	0,935	0,000	0,998	0,000	0,063	-	-	-	-	-	-	
	250 hPa		0,066	0,999	0,453	0,978	0,997	0,023	-	-	-	-	-	-	
	400 hPa		0,963	0,892	0,999	0,851	0,976	0,023	-	-	-	-	-	-	
		EC 7	0,000	0,006	0,453	0,990	0,943	0,999	-	-	-	-	-	-	
	EC 7	Kontrolle	0,001	0,000	0,883	0,645	0,999	9,733	-	-	-	-	-	-	
		150 hPa	0,883	0,073	0,028	0,920	0,002	0,098	-	-	-	-	-	-	
		250 hPa	0,945	0,002	0,999	0,809	0,758	0,036	-	-	-	-	-	-	
		400 hPa	0,883	0,098	0,522	0,988	0,592	0,036	-	-	-	-	-	-	
		EC 5	0,883	0,006	0,453	0,990	0,943	0,999	-	-	-	-	-	-	
		TS		Höhe		BM		bCar		Lut		Zea			
		2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008		
2	Kontrolle	150 hPa	0,399	0,425	0,142	0,990	0,002	-	0,997	0,999	0,968	0,999	0,745	0,141	
		250 hPa	0,106	0,016	0,000	0,000	0,000	-	0,774	0,999	0,886	0,757	0,350	0,174	
		400 hPa	0,246	0,001	0,000	0,000	0,000	-	0,793	0,999	0,519	0,778	0,272	0,028	
		EC 5,0	0,000	0,170	0,000	0,000	0,000	-	0,999	0,434	0,999	0,894	0,004	0,037	
		EC 7,1	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	-	0,935	0,859	0,327	0,951	0,000	0,000	
	150 hPa	Kontrolle	0,399	0,425	0,142	0,990	0,002	-	0,997	0,999	0,968	0,999	0,745	0,141	
		250 hPa	0,929	0,359	0,000	0,000	0,000	-	0,926	0,999	0,998	0,631	0,926	0,999	
		400 hPa	0,015	0,023	0,000	0,000	0,000	-	0,944	0,999	0,890	0,654	0,011	0,955	
		EC 5,0	0,006	0,983	0,000	0,000	0,000	-	0,999	0,255	0,919	0,958	0,000	0,980	
		EC 7,1	0,000	0,012	0,000	0,000	0,000	-	0,674	0,661	0,055	0,883	0,000	0,000	
	250 hPa	Kontrolle	0,106	0,016	0,000	0,000	0,000	-	0,774	0,999	0,886	0,757	0,350	0,174	
		150 hPa	0,929	0,359	0,000	0,000	0,000	-	0,926	0,999	0,998	0,631	0,926	0,999	
		400 hPa	0,004	0,527	0,155	0,000	0,009	-	0,999	0,999	0,994	0,999	0,005	0,923	
		EC 5	0,025	0,719	0,125	0,999	0,000	-	0,895	0,375	0,807	0,210	0,000	0,961	
		EC 7	0,002	0,338	0,000	0,000	0,000	-	0,254	0,807	0,057	0,996	0,000	0,000	

Fortsetzung der Tabelle auf folgender Seite (Seite 240)

Fortsetzung Anhang 16; Anhang 16b: Signifikanzen bei Salz- und Trockenstressversuchen in den Jahren 2007 und 2008

Linie		Signifikanzen												
		TS		Höhe		BM		bCar		Lut		Zea		
		2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	
2	400 hPa	Kontrolle	0,246	0,001	0,000	0,000	0,000	-	0,793	0,999	0,519	0,778	0,272	0,028
		150 hPa	0,015	0,023	0,000	0,000	0,000	-	0,944	0,999	0,890	0,654	0,011	0,955
		250 hPa	0,004	0,527	0,155	0,000	0,009	-	0,999	0,999	0,994	0,999	0,005	0,923
		EC 5	0,000	0,069	0,999	0,000	0,946	-	0,914	0,344	0,410	0,223	0,514	0,999
		EC 7	0,000	0,999	0,406	0,000	0,000	-	0,230	0,774	0,008	0,997	0,000	0,000
	EC 5	Kontrolle	0,000	0,170	0,000	0,000	0,000	-	0,999	0,434	0,999	0,894	0,004	0,037
		150 hPa	0,006	0,983	0,000	0,000	0,000	-	0,999	0,255	0,919	0,958	0,000	0,980
		250 hPa	0,025	0,719	0,125	0,999	0,000	-	0,895	0,375	0,807	0,210	0,000	0,961
		400 hPa	0,000	0,069	0,999	0,000	0,946	-	0,914	0,344	0,410	0,223	0,514	0,999
		EC 7	0,531	0,037	0,466	0,000	0,000	-	0,815	0,971	0,436	0,426	0,000	0,000
	EC 7	Kontrolle	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	-	0,935	0,859	0,327	0,951	0,000	0,000
		150 hPa	0,000	0,012	0,000	0,000	0,000	-	0,674	0,661	0,055	0,883	0,000	0,000
		250 hPa	0,002	0,338	0,000	0,000	0,000	-	0,254	0,807	0,057	0,996	0,000	0,000
		400 hPa	0,000	0,999	0,406	0,000	0,000	-	0,230	0,774	0,008	0,997	0,000	0,000
		EC 5	0,531	0,037	0,466	0,000	0,000	-	0,815	0,971	0,436	0,426	0,000	0,000
			aCar		Chl_a		Chl_b		Geh-Car		Poly_Geh		Caro_TEAC	
			2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008
	Kontrolle	150 hPa	0,553	0,999	0,962	0,768	0,917	0,998	0,978	0,999	0,557	0,036	0,076	0,000
		250 hPa	0,470	0,223	0,984	0,361	0,986	0,965	0,861	0,936	0,925	0,000	0,000	0,000
		400 hPa	0,237	0,167	0,386	0,076	0,801	0,826	0,688	0,931	0,999	0,000	0,027	0,000
		EC 5,0	0,085	0,999	0,996	0,441	0,885	0,741	0,999	0,747	0,734	0,000	0,000	0,000
		EC 7,1	0,008	0,871	0,990	0,995	0,948	0,928	0,527	0,999	0,999	0,000	0,000	0,000
	150 hPa	Kontrolle	0,553	0,999	0,962	0,768	0,917	0,998	0,978	0,999	0,557	0,036	0,076	0,000
		250 hPa	0,999	0,116	0,999	0,960	0,999	0,999	0,997	0,950	0,945	0,004	0,480	0,930
		400 hPa	0,983	0,084	0,790	0,569	0,999	0,965	0,972	0,946	0,711	0,136	0,999	0,008
		EC 5,0	0,909	0,999	0,999	0,051	0,347	0,493	0,968	0,716	0,994	0,130	0,000	0,000
		EC 7,1	0,369	0,687	0,649	0,976	0,402	0,994	0,168	0,999	0,579	0,000	0,011	0,000
	250 hPa	Kontrolle	0,470	0,223	0,984	0,361	0,986	0,965	0,861	0,936	0,925	0,000	0,000	0,000
		150 hPa	0,999	0,116	0,999	0,960	0,999	0,999	0,997	0,950	0,945	0,004	0,480	0,930
		400 hPa	0,989	0,999	0,843	0,976	0,995	0,998	0,999	0,999	0,983	0,671	0,709	0,001
		EC 5	0,979	0,116	0,999	0,016	0,583	0,298	0,836	0,251	0,998	0,684	0,000	0,000
		EC 7	0,583	0,884	0,802	0,703	0,670	0,999	0,099	0,977	0,938	0,287	0,333	0,000
	400 hPa	Kontrolle	0,237	0,167	0,386	0,076	0,801	0,826	0,688	0,931	0,999	0,000	0,027	0,000
		150 hPa	0,983	0,084	0,790	0,569	0,999	0,965	0,972	0,946	0,711	0,136	0,999	0,008
		250 hPa	0,998	0,999	0,843	0,976	0,995	0,998	0,999	0,999	0,983	0,671	0,709	0,001
		EC 5	0,999	0,084	0,760	0,002	0,227	0,151	0,652	0,234	0,884	0,999	0,000	0,807
		EC 7	0,845	0,811	0,106	0,262	0,259	0,999	0,034	0,974	0,999	0,012	0,024	0,000
	EC 5	Kontrolle	0,085	0,999	0,996	0,441	0,885	0,741	0,999	0,747	0,734	0,000	0,000	0,000
		150 hPa	0,909	0,999	0,999	0,051	0,347	0,493	0,968	0,716	0,994	0,130	0,000	0,000
		250 hPa	0,979	0,116	0,999	0,016	0,583	0,298	0,836	0,251	0,998	0,684	0,000	0,000
		400 hPa	0,999	0,084	0,760	0,002	0,227	0,151	0,652	0,243	0,884	0,999	0,000	0,807
		EC 7	0,901	0,687	0,882	0,267	0,999	0,235	0,567	0,632	0,759	0,012	0,061	0,000
	EC 7	Kontrolle	0,008	0,871	0,990	0,995	0,948	0,928	0,527	0,999	0,999	0,000	0,000	0,000
		150 hPa	0,369	0,687	0,649	0,976	0,402	0,994	0,168	0,999	0,579	0,000	0,011	0,000
250 hPa		0,583	0,884	0,802	0,703	0,670	0,999	0,099	0,977	0,938	0,287	0,333	0,000	
400 hPa		0,845	0,811	0,106	0,262	0,259	0,999	0,034	0,974	0,999	0,012	0,024	0,807	
EC 5		0,901	0,687	0,882	0,267	0,999	0,235	0,567	0,632	0,759	0,012	0,061	0,000	

Fortsetzung der Tabelle auf folgender Seite (Seite 241)

Fortsetzung Anhang 16; Anhang 16c: Signifikanzen bei Salz- und Trockenstressversuchen in den Jahren 2007 und 2008

Linie		Signifikanzen												
		PolyTEAC		Caro LPO		PolyLPO		-		-		-		
		2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	
2	Kontrolle	150 hPa	0,777	0,999	0,999	-	0,973	0,999	-	-	-	-	-	-
		250 hPa	0,446	0,372	0,999	-	0,999	0,865	-	-	-	-	-	-
		400 hPa	0,375	0,094	0,999	-	0,964	0,190	-	-	-	-	-	-
		EC 5,0	0,013	0,012	0,894	-	0,999	0,130	-	-	-	-	-	-
		EC 7,1	0,000	0,000	0,999	-	0,999	0,354	-	-	-	-	-	-
	150 hPa	Kontrolle	0,777	0,999	0,999	-	0,973	0,999	-	-	-	-	-	-
		250 hPa	0,993	0,561	0,999	-	0,998	0,974	-	-	-	-	-	-
		400 hPa	0,013	0,185	0,999	-	0,999	0,400	-	-	-	-	-	-
		EC 5,0	0,291	0,029	0,856	-	0,983	0,246	-	-	-	-	-	-
		EC 7,1	0,000	0,000	0,999	-	0,983	0,546	-	-	-	-	-	-
	250 hPa	Kontrolle	0,446	0,372	0,999	-	0,999	0,865	-	-	-	-	-	-
		150 hPa	0,993	0,561	0,999	-	0,998	0,974	-	-	-	-	-	-
		400 hPa	0,003	0,996	0,999	-	0,997	0,816	-	-	-	-	-	-
		EC 5	0,679	0,900	0,856	-	0,999	0,546	-	-	-	-	-	-
		EC 7	0,000	0,000	0,999	-	0,999	0,872	-	-	-	-	-	-
	400 hPa	Kontrolle	0,375	0,094	0,894	-	0,964	0,190	-	-	-	-	-	-
		150 hPa	0,013	0,185	0,856	-	0,999	0,400	-	-	-	-	-	-
		250 hPa	0,003	0,996	0,856	-	0,997	0,816	-	-	-	-	-	-
		EC 5	0,000	0,994	0,856	-	0,978	0,979	-	-	-	-	-	-
		EC 7	0,000	0,000	0,923	-	0,978	0,999	-	-	-	-	-	-
	EC 5	Kontrolle	0,013	0,012	0,973	-	0,999	0,130	-	-	-	-	-	-
		150 hPa	0,291	0,029	0,999	-	0,983	0,246	-	-	-	-	-	-
		250 hPa	0,679	0,900	0,964	-	0,999	0,546	-	-	-	-	-	-
		400 hPa	0,000	0,994	0,999	-	0,978	0,979	-	-	-	-	-	-
		EC 7	0,000	0,000	0,999	-	0,999	0,994	-	-	-	-	-	-
	EC 7	Kontrolle	0,000	0,000	0,999	-	0,999	0,354	-	-	-	-	-	-
		150 hPa	0,000	0,000	0,999	-	0,983	0,546	-	-	-	-	-	-
		250 hPa	0,000	0,000	0,999	-	0,999	0,872	-	-	-	-	-	-
400 hPa		0,000	0,000	0,999	-	0,978	0,999	-	-	-	-	-	-	
EC 5		0,000	0,000	0,923	-	0,999	0,994	-	-	-	-	-	-	

9 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Franziska Müller-Waldeck
Geburtsdatum: 31.05.1977
Geburtsort: Lüdenscheid
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: ledig, eine Tochter (Mai 2001)

Akademischer Werdegang

09/06-06/10 Promotion im Bereich ernährungsphysiologischer Qualität pflanzlicher Nahrungsmittel, Lehrstuhl für Gemüsebau, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Technische Universität München (Thema: Bestimmung von Antioxidantien in *Perilla frutescens* L. und deren Wirkung im Menschen)

04/04-10/05 Studium der Ökotrophologie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel mit Zulassung zum Masterstudium

10/96- 10/03 Studium der Agrarwissenschaften an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel mit Abschluss als Diplom-Agraringenieurin (Thema der Diplomarbeit: Bedeutung des symbiotischen Bakteriums *Photorhabdus luminescens* auf Wachstum und Reproduktion des entomopathogenen Nematoden *Heterorhabditis bacteriophora*)

Berufliche Tätigkeiten

01/04- 05/06 Agraringenieurin bei der Fa. e-nema GmbH, Raisdorf,

Schulische Ausbildung:

08/93-10/94	Highschool Virginia, U.S.A
09/94-06/96	Anne Frank Gymnasium, Halver, Abschluss: Abitur
09/83-08/87	Grundschule Schöneke, Lüdenscheid

Liste der Publikationen

Müller-Waldeck F, Skurk T, Hauner H, Graßmann J, 2010. Supplementation with *Perilla frutescens* L.-Effects of intervention on oxidative status in 7 healthy and 7 diabetic (Diabetes mellitus Typ 2) individuals. Plant Foods Hum Nutr. In press.

Müller-Waldeck F, Sitzmann J, Schnitzler W H, Graßmann J, 2010. Determination of toxic perilla ketone, secondary plant metabolites and antioxidative capacity in five *Perilla frutescens* L. varieties. Food and Chemical Toxicologie 48(1):264-270

Müller-Waldeck F, Graßmann J, 2008. Gesund mit Perilla. TUM Campus 3/2008 S. 16.

Posterbeiträge:

Müller-Waldeck F, Schnitzler W H, Graßmann J, 2007. Beeinflussung des Gehaltes antioxidativ wirkender Inhaltsstoffe von *Perilla frutescens* L. über kontrollierte Anbaubedingungen. Bernburger Winterseminar 2007, Bernburg

Müller-Waldeck F, Schnitzler W H, Graßmann J, 2007. Sortenvergleiche von *Perilla frutescens* L. und Beeinflussung des Gehaltes antioxidativ wirkender Inhaltsstoffe über kontrollierte Anbaubedingungen. Vortragstagung der Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung (Pflanzliche Nahrungsmittel) e.V. 2007. Antioxidantien in pflanzlichen Lebensmitteln. Christian-Albrechts-Universität, Kiel

Müller-Waldeck F, Schnitzler W H, Graßmann J, 2007. Sortenvergleiche von *Perilla frutescens* L. hinsichtlich antioxidativ wirkender Inhaltsstoffe. Bund der Freunde der Technischen Universität München, BmW-Zentrum, München

Tagungsbeiträge:

Müller-Waldeck F, Schnitzler W H, Graßmann J, 2007. Linienvergleiche von *Perilla frutescens* L. und Wirksamkeit der antioxidativen Inhaltsstoffen im Menschen. Bundesverband für Arzneimittelhersteller e.V, Bonn

10 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die direkt oder indirekt am Entstehen dieser Arbeit beteiligt waren und mich unterstützt haben.

Mein besonderer Dank geht an Frau Prof. Dr. Johanna Graßmann, die mir zunächst überhaupt ermöglichte, diese spannende und vielseitige Arbeit zu beginnen. Vielen Dank Johanna, für all die Hilfestellungen und Tips und für die gute Zeit im Labor.

Weiterhin möchte ich mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. Schnitzler bedanken, der „grünes Licht“ gab für die Vergabe dieser Arbeit und mir insbesondere bei der Fertigstellung der Arbeit sehr nützliche Ratschläge gegeben hat.

Weiterführend geht mein besonderer Dank an das Fachgebiet für Obstbau, an Herrn Prof. Dr. Treutter, für ein offenes Ohr zu jederzeit, und die bereitwillige und hilfsbereite Unterstützung. Bei Herrn Prof. Dr. Meyer bedanke ich mich dafür, dass er als kommissarischer Leiter des Gemüsebaus jederzeit hilfsbereit zu Verfügung stand. Herrn Prof. Dr. Schwab danke ich für die Übernahme der Funktion als Drittprüfer. Bei Frau Dr. Susanne Rühmann bedanke ich mich für die vielen guten und praktischen „Gedankenvorschläge“ und die Betreuung von den Polyphenolanalysen für diese Arbeit. An dieser Stelle geht ein großes Dankeschön auch an Anja Härter, die, nicht selten mit erhobenen Zeigefinger und strengem Ton, für einen reibungslosen Ablauf im Labor sorgte. Vielen Dank auch an übrige, hier nicht namentlich erwähnten Mitarbeiter aus dem Obstbau, die mich unterstützt haben. Ausserdem bedanke ich mich bei Frau Christina Duffner für die Hilfestellungen im bürokratischen Dschungel.

Bedanken möchte ich mich auch bei den Gärtnern des Gewächshaus Laborzentrum Dürnast und des Fachgebiets für Obstbau, die meine Versuchspflanzen mit grünem Daumen pflegten und hegten und mich tatkräftig bei Anbau und Ernte unterstützt haben. Den Masterstudentinnen, Petra Klemm, Tiina Living und Caroline Bruna, und den Praktikanten Thomas Gelicz und Katharina Stamp danke ich für die fleißige Unterstützung beim Anbau, Ernte und Laboranalysen.

Ein weiterer Dank geht an das Institut für Heil- und Gewürzpflanzen der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft, insbesondere an Frau Dr. Heidi Heuberger und Herrn Rinder, die mir viele hilfreiche Tips und gute Literatur gegeben haben.

Auch bei Herrn Dr. med. Thomas Skurk und Frau Yu-Mi Lee, Lehrstuhl für Ernährungsmedizin, bedanke ich mich für die gute Zusammenarbeit im Rahmen der Verzehrstudie.

Bei den Freunden der Technischen Universität München, die im Rahmen des Preisgeldes 2007 das Perilla-Projekt erheblich förderten, bedanke ich mich für die weitreichende finanzielle Unterstützung. Ebenso bedanke ich mich bei der Frauenförderung der Technischen Universität München, die durch die Bereitstellung finanzieller Mittel insbesondere die Fertigstellung von Promotionen fördert, und mir in diesem Fall den reibungslosen Abschluss meiner Arbeit erleichterten. Ich danke Dir, lieber Herbert, für Deine Geduld und deine fortwährende Unterstützung, Euch, meinen engsten Freunden und Verwandten, für den stetigen Rückhalt, Dir liebe Anna für die unermüdliche Unterstützung in Office-Angelegenheiten und für die Korrektur meiner Arbeit.

Dir, meine Liebe kleine Zoe danke ich dafür, dass Du die Perilla immer noch magst.

Herzlichsten Dank!

.....und so in diesem Sinne.....



....Perilla gut- alles gut!....