

Lehrstuhl für Gemüsebau
Technische Universität München

Einfluss von UV-Licht auf Zusammensetzung und antioxidative Kapazität
polyphenol- und carotinoidhaltiger Extrakte aus *Gynura bicolor* (Willd.) DC.
und *Spinacia oleracea* L.

Dipl.-Ing. agr. (Univ.) Georg Schirmmacher

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 (Dr. rer. nat.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender:

Univ.-Prof. Dr. D. Treutter

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. W. H. Schnitzler

2. Univ.-Prof. Dr. E. F. Elstner, i. R.

Die Dissertation wurde am 17.11.2005 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für
Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 19.01.2006 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	IX
Abkürzungsverzeichnis	X
1 Einleitung	1
1.1 Stand des Wissens	1
1.2 Ziele der vorliegenden Arbeit	3
2 Material	5
2.1 Pflanzenmaterial, Kultursubstrat und Dünger.....	5
2.2 Reagenzien und Chemikalien	5
2.3 Puffer und andere Lösungen.....	7
2.4 Geräte und Leuchten	8
2.4.1 Geräte.....	8
2.4.2 Leuchten.....	11
3 Methoden	13
3.1 Versuchsaufbau, PAR- und UV-Belichtung.....	13
3.2 Anbau und Ernte	17
3.3 Probenaufbereitung	19
3.3.1 Bestimmung der Trockensubstanz	19
3.3.2 Extraktion verschiedener sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe (SPI)	19
3.3.2.1 Polyphenole.....	19
3.3.2.2 Carotinoide	21
3.4 Testsysteme zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität (AK).....	22
3.4.1 Xanthin/Xanthinoxidase (XOD)–Testsystem.....	22
3.4.1.1 Superoxid-katalysierte Oxidation von Hydroxylamin zu Nitrit...	22
3.4.1.2 Oxidation von α -Keto- γ -S-Methyl-Buttersäure (KMB) zu Ethylen.....	23
3.4.1.3 Harnsäurebestimmung im XOD-Testsystem	24

3.4.2	2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure) (ABTS)- Testsystem	26
3.5	Folin-Ciocalteu-Test	27
3.6	Inhaltsstoffanalytik der Pflanzenextrakte	28
3.6.1	Polyphenole	28
3.6.2	Carotinoide	29
3.7	Statistische Auswertung der Messergebnisse	31
4	Ergebnisse	32
4.1	Pflanzenhabitus vor und nach der Belichtung mit UV-B	32
4.2	Trockensubstanzgehalte	38
4.3	Testsysteme zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität (AK)	40
4.3.1	Xanthinoxidase (XOD) -Testsystem	40
4.3.2	2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure) (ABTS)- Testsystem	60
4.4	Folin-Ciocalteu-Test	75
4.5	Inhaltsstoffanalytik	80
4.5.1	Phenole	80
4.5.2	Carotinoide	99
5	Diskussion	105
5.1	Pflanzenhabitus und Biomasseproduktion	105
5.2	Testsysteme zur antioxidativen Kapazität (AK)	107
5.2.1	XOD- und ABTS-Testsystem	107
5.2.1.1	Wirkung phenolhaltiger Spinatextrakte	107
5.2.1.2	Wirkung phenolhaltiger Gynuraextrakte	109
5.2.1.3	Wirkung anthocyanhaltiger Gynuraextrakte	113
5.2.1.4	Wirkung carotinoidhaltiger Extrakte im ABTS-Testsystem	115
5.2.2	Bemerkungen zu den Testsystemen	117
5.2.3	Folin-Ciocalteu-Test: Vergleich der Rohextrakte mit Extrakten in den Testsystemen	119
5.2.4	HPLC-Analyse	120
5.2.5	Weiterführende Bemerkungen	122
6	Zusammenfassung	124

7	Anhang	125
8	Literaturverzeichnis	134
9	Danksagung	142
10	Lebenslauf	143

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Strahlungsspektrum der eingesetzten PAR-Lampen; Messung mit Lampe in Leuchte bei 50 cm Abstand unter Lampenmitte	11
Abb. 2:	Strahlungsspektrum der UV-Lampen; Messung mit Lampe in Leuchte bei 50 cm Abstand unter Lampenmitte	12
Abb. 3:	Verteilung der UV-B _{BE} -Strahlungsstärke in W/m ² unter einer einzelnen UV-Leuchte.....	15
Abb. 4:	PAR-Lichtsummen in mol/m ² d am Beispiel PER	16
Abb. 5:	Versuchsaufstellung des zweiten Anbaujahres (Gynura), Variante PER nur im 10-12 mol/m ² d Bereich	16
Abb. 6:	Xanthinoxidase-katalysierte Oxidation von Xanthin	22
Abb. 7:	ABTS-Oxidation zum ABTS-Radikalkation	26
Abb. 8:	Spinat vor Beginn des Belichtungsversuches (2. Anbaujahr)	32
Abb. 9:	Spinat nach 14-tägiger Belichtung; von links nach rechts: SGP, PAR, FGC, INT und PER (1. Anbaujahr)	33
Abb. 10:	Spinat nach Langzeitbelichtung; von links nach rechts: PER, INT, FGC, PAR und SGP (2. Versuchsjahr).....	34
Abb. 11:	Spinat nach Kurzzeitbelichtung; von links nach rechts: PER, INT, FGC, PAR und SGP (2. Anbaujahr)	34
Abb. 12:	Spinat (PER) nach Kurzzeitbelichtung (2. Anbaujahr)	35
Abb. 13:	Gynura vor Beginn des Belichtungsversuches (1. Anbaujahr).....	36
Abb. 14:	Gynura nach 14-tägiger Belichtung; von links nach rechts: SGP, PAR, FGC, INT und PER (1. Anbaujahr)	36
Abb. 15:	Gynura vor Beginn des Belichtungsversuches (2. Anbaujahr).....	37
Abb. 16:	Gynura nach Langzeitbelichtung; von links nach rechts: SGP, PAR, FGC, INT und PER (2. Anbaujahr)	38
Abb. 17:	Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte des 1. Anbaujahres auf die NH ₂ OH-Oxidation	41
Abb. 18:	Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die NH ₂ OH-Oxidation.....	42
Abb. 19:	Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die NH ₂ OH-Oxidation	43

Abb. 20:	Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres auf die NH ₂ OH-Oxidation	44
Abb. 21:	Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres auf die NH ₂ OH-Oxidation	45
Abb. 22:	Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die NH ₂ OH-Oxidation.....	46
Abb. 23:	Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die NH ₂ OH-Oxidation	47
Abb. 24:	Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die NH ₂ OH-Oxidation.....	48
Abb. 25:	Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die NH ₂ OH-Oxidation	49
Abb. 26:	Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte des 1. Anbaujahres auf die KMB-Oxidation.....	50
Abb. 27:	Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die KMB-Oxidation.....	51
Abb. 28:	Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die KMB-Oxidation	52
Abb. 29:	Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres auf die KMB-Oxidation.....	53
Abb. 30:	Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres auf die KMB-Oxidation.....	54
Abb. 31:	Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die KMB-Oxidation.....	55
Abb. 32:	Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die KMB-Oxidation	56
Abb. 33:	Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die KMB-Oxidation.....	57
Abb. 34:	Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die KMB-Oxidation	58
Abb. 35:	Harnsäurebestimmung im XOD-System mit Extraktkonzentration i. A. 10%	59
Abb. 36:	Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte des 1. Anbaujahres auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/20.....	60

Abb. 37:	Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/20 ..	61
Abb. 38:	Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/20 ..	62
Abb. 39:	Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/20.....	63
Abb. 40:	Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50.....	64
Abb. 41:	Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50.....	65
Abb. 42:	Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50 ..	66
Abb. 43:	Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50 ..	67
Abb. 44:	Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50 ..	68
Abb. 45:	Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50 ..	69
Abb. 46:	Einfluss carotinoidhaltiger Spinatextrakte des 1. Anbaujahres auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50.....	70
Abb. 47:	Einfluss carotinoidhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/100 ..	71
Abb. 48:	Einfluss carotinoidhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/100 ..	72
Abb. 49:	Einfluss carotinoidhaltiger Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50.....	73
Abb. 50:	Einfluss carotinoidhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50 ..	74

Abb. 51: Einfluss carotinoidhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50	75
Abb. 52: Chromatogramm phenolhaltiger Spinatextrakte (SGP und PER) (1. Anbaujahr)	81
Abb. 53: Diagramm phenolhaltiger Spinatextrakte (1. Anbaujahr); $\lambda = 285$ nm	82
Abb. 54: Chromatogramm phenolhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) (SGP u. PER); $\lambda = 285$ nm	83
Abb. 55: Diagramm phenolhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung); $\lambda = 285$ nm.....	84
Abb. 56: Diagramm phenolhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung); $\lambda = 285$ nm	85
Abb. 57: HPLC-Profil phenolhaltiger Gynuraextrakte SGP u. PER (1. Anbaujahr); $\lambda = 285$ nm.....	87
Abb. 58: Phenolhaltige Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres (A: Peaks < 0,05; B: Peaks > 0,05); $\lambda = 285$ nm	88
Abb. 59: Diagramm phenolhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) (A: Peaks < 0,25; B: Peaks \leq 2,05); $\lambda = 285$ nm.....	90
Abb. 60: Diagramm phenolhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) (A: Peaks < 0,07 und B: Peaks > 0,07); $\lambda = 285$ nm.....	92
Abb. 61: Chromatogramm eines hydrolysierten Gynura-Rohextraktes im 2. Anbaujahr (Langzeitbelichtung) und SGP-Behandlung; $\lambda = 285$ nm.....	95
Abb. 62: Diagramm anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres (A: Peaks < 36 Areas und B: Peaks \geq 36 Areas); $\lambda = 285$ nm	96
Abb. 63: Diagramm anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) (A: Peaks < 100 Areas und B: Peaks > 100 Areas); $\lambda = 285$ nm.....	98
Abb. 64: Diagramm: carotinoidhaltige Spinatextrakte des 1. Anbaujahres; $\lambda = 450$ nm.....	100
Abb. 65: Diagramm carotinoidhaltiger Spinatextrakte des 1. und 2. Anbaujahres (Lang- und Kurzzeitbelichtung).....	101
Abb. 66: Diagramm carotinoidhaltiger Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres.....	102

Abb. 67: Diagramm carotinoidhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Lang- und Kurzzeitbelichtung).....	103
---	-----

Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Verwendete Chemikalien bei durchgeführten Versuchen	5
Tab. 2:	Aufhängungshöhen und tägliche Belichtungszeiten der SONT-T- und UV-Lampen	14
Tab. 3:	Strahlungsintensitäten und Lichtsummen der unterschiedlichen Strahlungsquellen der belichteten Varianten	14
Tab. 4:	Trockensubstanzgehalte von Spinat.....	39
Tab. 5:	Trockensubstanzgehalte von Gynura	40
Tab. 6:	Folin-Ciocalteu-Test für phenolhaltige Spinatextrakte	76
Tab. 7:	Folin-Ciocalteu-Test für phenolhaltige Gynuraextrakte.....	77
Tab. 8:	Folin-Ciocalteu-Test für anthocyanhaltige Gynuraextrakte	78
Tab. 9:	Folin-Ciocalteu-Test für Rohextrakte aus Spinat gelöst in 100% EtOH ...	79
Tab. 10:	Folin-Ciocalteu-Test für Rohextrakte aus Gynura gelöst in 80% MeOH..	80
Tab. 11:	Vergleich SGP aus der Kurzzeit- und Langzeitvariante phenolhaltiger Gynuraextrakte des zweiten Anbaujahres	94
Tab. 12:	Datenblatt zum Xanthin/Xanthinoxidase-Testsystem.....	125
Tab. 13:	Datenblatt zu Abb. 35	128
Tab. 14:	Datenblatt zum ABTS-Testsystem (Endpunktmessung).....	128
Tab. 15:	Datenblatt der HPLC-Untersuchungen zu Abb. 53	129
Tab. 16:	Datenblatt der HPLC-Untersuchungen zu Abb. 55 – 60	130
Tab. 17:	Datenblatt der HPLC-Untersuchungen zu Abb. 62 und 63	132
Tab. 18:	Datenblatt der HPLC-Untersuchungen zu Abb. 64-67	133

Abkürzungsverzeichnis

ABTS	2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure)
AK	antioxidative Kapazität
EA	Ethylacetat
FS	Frischsubstanz
GAE	Gallussäureäquivalente
GC	Gaschromatograph
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IS	Interner Standard
KMB	α -Keto- γ -methiol-buttersäure
i. A.	im Ansatz
NED	Naphtylethylendiamin
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
S.	Seite
SPI	Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe
TS	Trockensubstanz
UV-B _{BE}	Ultra Violet-B - Biological Effective
XOD	Xanthinoxidase
z.B.	zum Beispiel
SGP	Praxiskontrolle
PAR	PAR (photosynthetisch aktive Strahlung) -Kontrolle
FGC	UV-Freiland
INT	UV-Intensiv
PER	UV-Permanent

1 Einleitung

Pflanzen leben unter stetigem Einfluss ihrer Umgebung. So können z.B. das Wasser- und Nährstoffangebot, die Umgebungstemperatur oder auch der Standort selbst das Wachstum sowohl positiv als auch negativ beeinflussen (Schlee, 1986). Das Licht mit seinem breiten Wirkungsspektrum spielt in dieser Hinsicht eine besondere Rolle.

1.1 Stand des Wissens

Schon seit längerem ist bekannt, dass Licht in ablaufende Prozesse der Pflanze eingreift. UV-B-belichtete Pflanzen zeigen unter anderem einen starken Rückgang in ihrer Wachstumsrate und Biomasseproduktion (Frohnmeier und Staiger, 2003). Die Gen-Mutation auslösende Wirkung von UV-Licht bei Pflanzen wird gezielt in der Züchtung eingesetzt (Strasburger, 1983), um z.B. neue Farb- oder Wuchsvarianten zu erzielen. Die Grundlagen der Photobiologie und der Einfluss von UV-Licht stehen seit geraumer Zeit im engeren Betrachtungsfeld der Wissenschaft (Häder und Tevini, 1987). Eine Beschädigung des Photosyntheseapparates und die begleitende Reduktion der Netto-Assimilationsrate wird auf diese Belichtungsbedingungen zurückgeführt (Tevini, 1993). Jedoch sind die benötigten Lichtstärken, welche ernsthafte Schäden dieser Art hervorrufen, etwa eine 10er-Potenz höher als die, die eine Änderung in der Genexpression bestimmter Enzyme bewirken (Brosché und Strid, 2003). Die Pflanze hat also die Möglichkeit durch eine sensitive Wahrnehmung der Strahlung auf deren destruktives Potenzial zu reagieren. Durch eine UV-B-Belichtung wird z.B. die Synthese von Flavonoiden und/oder Anthocyanen angeregt (Stapleton, 1992). Deren Produktion ist eng mit einer gesteigerten Aktivität und Expression von Chalconsynthase verbunden (Jansen et al., 1998 und Reuber et al., 1996). Phenylpropanoid-Derivate, auch Phenolsäuren, wie z.B. Hydroxyzimtsäuren, dienen der Pflanze als UV-Schutzschild und sind sowohl in der unteren, aber vor allem in der oberen Epidermis angesiedelt. So wird dadurch z.B. das Photosystem II vor einer UV-B bedingten Schädigung geschützt (Kolb et al., 2001 und Kolb, 2003).

Der Photosyntheseapparat wird zusätzlich durch die in ihm enthaltenen Chlorophylle und Carotinoide vor Schäden durch Licht mit zu hohem Energieinhalt bewahrt. Carotinoide nehmen die belichtungsbedingte überschüssige Energie in Form von Strahlung auf und geben z.B. Wärme ab (Demming-Adams und Adams, 1996). Von

Bolink et al. (2001) konnte eine sensitive Reaktion von Erbsenpflanzen auf eine UV-B-Belichtung beschrieben werden. In diesen Untersuchungen wurde eine Erhöhung im Gehalt an Xanthophyll-Zyklus-Pigmenten und von Lutein nach UV-Bestrahlung gefunden. In Früchten von Tomatenpflanzen wurde, in Abhängigkeit von Erntezeitpunkt und Sorte, sowohl ein Anstieg als auch eine Abnahme im Gehalt einzelner Carotinoide belegt (Giuntini, 2005).

Die UV-Licht bedingte Synthese von Sekundären Pflanzeninhaltsstoffen (SPI), vor allem von Phenylpropanoiden, kann in 2 primäre Aufgabenbereiche eingeteilt werden. Zum einen dienen sie als Schirmpigment zur UV-Absorption. Eine weitere Aufgabe ist das Scavenging der durch die Belichtung entstandenen Reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) (Jordan, 2002). Diese induzierte ROS-Entstehung (z.B. $O_2^{\cdot-}$) wird wiederum mit einer vermehrten Synthese protektiver, antioxidativer Schutzpigmente in Verbindung gebracht (Brosché und Strid, 2003 und Santos et al., 2004). Es wurden Untersuchungen an *A. thaliana* L. durchgeführt, die eine Entstehung bzw. Beteiligung von $O_2^{\cdot-}$ bei UV-B bedingten Mechanismen belegen (Mackerness et al., 2001). Barta et al. (2004) konnten in Blättern von Spinat zusätzlich dokumentieren, dass in diesen die Produktion von Singulett-Sauerstoff (1O_2) von der Wellenlänge innerhalb des UV-Bereichs abhängt.

Eine Reaktion der Pflanze gegen dieses verstärkte Auftreten von ROS ist eine vermehrte Synthese von Antioxidantien. Des Weiteren kann sich aber auch die Qualität der entsprechenden SPI ändern. Es werden z.B. bevorzugt Phenole mit höherem Hydroxylierungsstatus oder einer o-Diphenolstruktur gebildet, die eine höhere AK aufweisen (Parr und Bolwell, 2000, Cotelle, 2001 und Ernst et al., 2004).

In letzter Zeit werden immer wieder die Möglichkeiten einer gezielten Einflussnahme auf das Inhaltsstoffspektrum von Pflanzen diskutiert, um deren Qualität und den ernährungsphysiologisch wertvollen Gehalt an SPI, z.B. von Phenolen, positiv zu beeinflussen (Parr und Bolwell, 2000). Ein Weg ist es, in die genetischen Bedingungen direkt durch Gentechnik („genetic engineering“) einzugreifen und transgene Pflanzen mit einem erhöhten bzw. veränderten Gehalt an SPI zu erzeugen (Schijlen et al., 2004). So wird z.B. unter dem Begriff des „metabolic engineering“ in die Prozesse der Flavonoidbiosynthese eingegriffen, um neue Blütenfarben zu erzielen (Martens et al., 2003).

Da die Akzeptanz gegenüber gentechnisch veränderten Organismen sehr kontrovers gestaltet sein kann, werden auch andere Wege gegangen. Eine Strategie ist es, die Umweltbedingungen von Pflanzen zu verändern und die Pflanze unter suboptimalen Bedingungen zu kultivieren. Diese Konditionen können z.B. niedrige Temperaturen, Verwundungen, Pathogenattacken, Nährstoffmangel und/oder eine UV-Belichtung sein. Innerhalb dieser kontrollierten Anwendung von Stressbedingungen („precision stressing“) ist ein durch UV-Licht verändertes Inhaltsstoffspektrum von Pflanzen zu beobachten (Heuberger et al., 2004). So kann z.B. der Phenylpropanoid-Metabolismus durch Stress induziert werden und das Fließgleichgewicht von Enzymen dieses Stoffwechselweges steigt somit an (Dixon und Paiva, 1995). Auch ist durch die oben beschriebenen Prozesse ein Anstieg von ROS und die begleitende Akkumulation antioxidativer Schutzpigmente die Folge, was sich auf die Produktqualität auswirken kann (Bergmann et al., 1999).

1.2 Ziele der vorliegenden Arbeit

In der vorliegenden Arbeit werden *Spinacia oleracea* L. (Chenopodiaceae) und *Gynura bicolor* (Willd.) DC. (Asteraceae) unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus angebaut und mit neuartigen UV-Wachstumslampen bestrahlt. Diese Lampen emittieren Strahlung sowohl im PAR- und UV-A- als auch im UV-B-Bereich (siehe Material und Methoden).

Spinat wird als eine der bedeutsamsten, antioxidativ wirkenden Gemüsearten beschrieben. So enthält er Phenolsäuren (Watzl und Rechkemmer, 2001) und erreicht mit 1000 mg/kg einen sehr hohen Gehalt an Flavonoiden (Lomnitski et al., 2003). Spinat wird deshalb sogar als „brain food“ bezeichnet (Kaur und Kapoor, 2001). Diese Verbindungen weichen von den sonst in Obst und Gemüse weit verbreiteten Inhaltsstoffen ab und werden als Spinacetine bezeichnet (Edenharder et al., 2001, Ferreres et al., 1997 und Howard et al., 2002). Weiterhin enthält Spinat Carotinoide, deren potentiell antioxidatives Potential bekannt ist (Paiva et al., 1999 und Miller et al., 1996). Der Gehalt an SPI in Spinat ist sortenabhängig und unterliegt einer sehr breiten genetischen Variation (Kidmose, 2001). Weitere Einflussfaktoren können die Anbauverhältnisse (z.B. Wasser- und Nährstoffversorgung oder die Strahlungsbedingungen) sowie biotischer und abiotischer Stress sein (Howard et al., 2002). Es besteht also die Möglichkeit, durch eine kontrollierte Anwendung von

Stressbedingungen den Gehalt und die Zusammensetzung von in Spinat vorhandenen SPI zu modifizieren.

Gynura bicolor (Willd.) DC. ist eine von Nordwest-Indien bis nach Ost-Asien verbreitete Salatpflanze (Davies, 1978). In der chinesischen Küche sind die pikant säuerlich schmeckenden Pflanzenteile eine Spezialität und werden sowohl roh als auch gekocht verzehrt (Nitz, 2005; unveröffentlicht). Die *Gynura* ist aber nahezu un- verbreitet in Europa und somit ist auch über die Anbaubedingungen der Pflanze und ihren Inhaltsstoffgehalt wenig bekannt. In der Literatur sind nur sehr vereinzelt Angaben über die AK von *Gynura* zu finden, die aber zum Teil über der von Spinat liegt (Chu et al., 2000). Verwandte innerhalb der Spezies (z.B. *Gynura procumbens* und *Gynura elliptica*) werden traditionell in der asiatischen Kräutermedizin eingesetzt und ihnen werden gesundheitsfördernde Eigenschaften, wie z.B. eine entzündungshemmende Wirkung, zugeschrieben (Lin et al., 2000 und Iskander et al., 2002).

Gegenstand der Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit ist die Frage, ob sich durch eine UV-Belichtung der Gehalt und die Zusammensetzung an phenolischen Pflanzeninhaltsstoffen und Carotinoiden von *Spinacia oleracea* L. und *Gynura bicolor* (Willd.) DC. gezielt verändern lässt. Parallel dazu wird in unterschiedlichen biochemischen *in vitro* -Testsystemen (Xanthin/Xanthinoxidase- und ABTS- Testsystem) überprüft, wie sich die antioxidative Kapazität entsprechender phenol- und carotinoidhaltiger Blattextrakte durch diese UV-Belichtung entwickelt.

2 Material

2.1 Pflanzenmaterial, Kultursubstrat und Dünger

Die Anzucht von *Spinacia oleracea* L. wird mit Saatgut der Firma Juliwa (Julius Wagner GmbH), Sorte 'Poncho', Artikelnummer 8390, durchgeführt. Als Substrat für die Aussaat dient im ersten Anbaujahr „TKS 1“ der Firma Eufloer GmbH. Das Topfsubstrat ist „Floragard“ der Firma Floragard Vertriebs GmbH für Gartenbau, mit 10% Perliteanteil.

Im zweiten Anbaujahr kommen hierfür, wegen Lieferschwierigkeiten der obigen Topfsubstrate, das Aussaatsubstrat „Potground“ der Firma Klasmann-Deilmann GmbH und das Topfsubstrat „Cultural F“ der Firma Eufloer GmbH, mit einem Anteil von 10% Perlite, zum Einsatz.

Für die Belichtungsversuche mit *Gynura bicolor* (Willd.) DC. werden Kopfstecklinge von am Lehrstuhl kultivierten Mutterpflanzen geschnitten und bewurzelt. Das verwendete Substrat zur Stecklingsanzucht und der anschließenden Topfkultur ist in beiden Anbaujahren „Cultural F“ der Firma Eufloer GmbH.

Als Dünger wird für beide Gemüsearten „Flory 9 hydro“ (Eufloer GmbH) verwendet.

2.2 Reagenzien und Chemikalien

Tab. 1: Verwendete Chemikalien bei durchgeführten Versuchen

Verbindung	Abkürzung/Formel	M [g/mol]	Firma	Artikelnummer
Aceton	C ₃ H ₆ O	58,08	Fisher Scientific	A/0606/17
Acetonitril	CH ₃ CN	41,05	Fisher Scientific	A-0627/ 17
1-Aminocyclopropan-1-carboxylsäure	ACC	101,1	Sigma	A-3903
Ammoniumacetat	CH ₃ COONH ₄	77,08	Fluka	17836
β-Apo-8'-carotenal	C ₃₀ H ₄₀ O	416,65	Fluka	10810

Verbindung	Abkürzung/Formel	M [g/mol]	Firma	Artikelnummer
p-Aminobenzol-sulfonamid (Sulfanylamid)	C ₆ H ₈ N ₂ O ₂ S	172,2	Sigma	S-9251
2,2'-Azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonsäure)	C ₁₈ H ₁₈ N ₄ O ₆ S ₄ *(NH ₃) (ABTS)	548,7	Merck	A-1888
tert-Butylhydroxytoluol	C ₁₅ H ₂₄ O (BHT)	220,36	Merck	822021
β-Carotin	C ₄₀ H ₅₆	536,87	Fluka	22040
Chlorogensäure	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354,31	ACROS	109240010
Chlorophyll a	C ₅₅ H ₇₂ MgN ₄ O ₅	893,52	Sigma	C5753-5MG
Chlorophyll b	C ₅₅ H ₇₀ MgN ₄ O ₆	907,51	Sigma	C5878-5MG
Dichlormethan	CH ₂ Cl ₂	84,93	Merck	106050
Di-Natriumhydrogen-phosphat	Na ₂ HPO ₄	141,96	ACROS	424375000
Ethanol	C ₂ H ₆ O (EtOH)	46,07	Merck	818760
Ethen-Prüfgas			Messer	
Ethylacetat	CH ₃ COOC ₂ H ₅	88,11	Merck	109623
Essigsäure (Eisessig)	CH ₃ COOH	60,1	Fisher Scientific	A/0400/PB15
Folin-Ciocalteu-Reagenz			Merck	3264
Gallussäure	C ₇ H ₆ O ₅	170	ACROS	41086
Hexan	C ₆ H ₁₄	86,18	Merck	1.04374
Hydroxylamin	NH ₂ OH*HCl	69,49	Sigma	H-9876
Kaffeensäure	C ₉ H ₈ O ₄	180,16	ACROS	114930050
Kaliumcarbonat	K ₂ CO ₃	138,21	Merck	A755828
α-Keto-γ-methiol-buttersäure	C ₅ H ₇ O ₃ SNa KMB	170,2	Sigma	K-6000
Luteolin	C ₄₀ H ₅₆ O ₂	568,9	Phytoflan	4205.90
Methanol	CH ₄ O MeOH	32,04	Roth	4627.5

Verbindung	Abkürzung/Formel	M [g/mol]	Firma	Artikelnummer
Myoglobin		18800	Sigma	M-0630
(±) -Naringenin	$C_{15}H_{12}O_5$	272,3	Sigma	N-5893
Natriumcarbonat	Na_2CO_3	58,44	ACROS	2078
Natriumchlorid	NaCl	58,44	ACROS	207790010
Natriumdihydrogenphosphat Dihydrat	$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$	177,99	Merck	106.580
Natriumhydroxid	NaOH	40,01	Roth	6771.2
Natriumhypochlorit	NaOCl	74,44	Sigma	23,930-5
N-(1-Naphtyl)-ethylendiamin-dihydrochlorid	$C_{12}H_{14}N_2 \cdot 2HCl$ NED	259,18	Roth	4342.1
Phosphorsäure	H_3PO_4	98	Merck	565
Salzsäure	HCl	36,5	Merck	100.317
Triethylamin	$C_6H_{15}N$	101,19	Riedel	16.304
Tetrahydrofuran	C_4H_8O (THF)	72,11	Roth	7344.1
Wasserstoffperoxid-Lösung (30%)	H_2O_2	34,01	Merck	1.07209
Xanthin	$C_5H_4N_4O_2$	152,11	Fluka	95490
Xanthinoxidase	XOD	[20 u/ml]	Roche	92411725

2.3 Puffer und andere Lösungen

Soweit nicht anders angegeben, werden alle Lösungen mit H_2O_{bidest} hergestellt.

- Phosphatpuffer (0,2 M) für das ABTS- und XOD-Testsystem:

Lösung A: 0,2 M NaH_2PO_4 (27,9 g/l)

Lösung B: 0,2 M Na_2HPO_4 (35,6 g/l)

Der pH-Wert von 7,4 wird am pH-Meter mit Lösung A und Lösung B eingestellt.

2.4 Geräte und Leuchten

2.4.1 Geräte

Gaschromatograph

Fractovap 4200 (Carlo Erba)

Ofentemperatur 80 °C

Injektortemperatur 125 °C

Detektortemperatur 125 °C

Integrator SP 4290 (Spectra Physics)

Elektrometer Modell 180 (Carlo Erba)

Säule: Aluminiumoxidsäule, Länge 2 m, 1/8"

Trärgas: Stickstoff 5.0 (Linde), Flussrate 35 ml/min

Brenngase: Wasserstoff 5.0 (Linde), Flussrate 60 ml/min

Prüfgas: Ethen (Messer)

Gefriertrocknung:

VirTis SQ 25 LE-6, Genesis

VirTis 12 LL, Genesis

High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Apparatur I:

Pumpe: High Precision Pump, Modell 480, Gynkotec

Autosampler: GINA 160, Gynkotec

Degasser: DG 503, Gynkotec

Säulenofen: Gynkotec

Detektor: Spectra Physics SP 8450, Gynkotec

Säule: Synergy 4µm Hydro RP, 250 mm x 4,6 mm, Phenomenex

Vorsäule: C18 ODS, 4 mm L x 3 mm ID, Phenomenex

Software: Chromeleon 6.01, Dionex

Apparatur II:

Pumpe: Dionex P 580

Autosampler: Dionex GINA 50

Säulenofen: STH 585 Column Oven, Dionex

Detektor:	UVD 340S PDA Detektor, Dionex
Säule:	Synergy 4µm Hydro RP, 250 mm x 4,6 mm, Phenomenex
Vorsäule:	C18 ODS, 4 mm L x 3 mm ID, Phenomenex
Software:	Chromeleon 6.01, Dionex

Apparatur III:

Pumpe:	L-6200 A Intelligent Pump, Merck Hitachi
Säulenofen:	L-5025 Thermostat, Merck
Detektor:	UV/VIS Spectromonitor, Thermo Separation Products
Säule:	RP Aqueous Develosil, C 30,5 µm, 250 mm x 4,6 mm
Vorsäule:	C18 ODS, 4 mm L x 3 mm ID, Phenomenex
Software:	Omega, Perkin Elmer

Apparatur IV:

Pumpe:	L-6200 A Intelligent Pump, Merck Hitachi
Autosampler:	AS-2000 A, Merck Hitachi
Interface:	D-6000, Merck Hitachi
Säulenofen:	L-5025 Thermostat, Merck
Detektor:	UV-VIS-Detektor L-4250, Merck Hitachi
Säule:	RPDevelosil Aqueous, C 30,5 µm, 250 mm x 4,6 mm
Vorsäule:	C18 ODS, 4 mm L x 3 mm ID, Phenomenex
Software:	D-7000 HPLC System Manager 4.1, Merck Hitachi

Mühle

Planetenschnellmühle, Retsch
Achatgefäße, Mahlzeit 10 min

pH-Meter

pH-Meter Set Qph 70, VWR International

Quantensensor

LI-COR Modell LI-189

Trockenschrank

Modell 800, Memmert

Ultraschallbad

Transsonic Digital Elma
Sonorex Super 10 P Bandelin

UV-Vis-Spektrophotometer

Pharmacia LKB Biochrom 4060

Vakuumpkonzentrator

Concentrator 5301, Eppendorf

Vortexer

Heidolph REAX top
Heidolph REAX 2000
Eurolab Merck

Waagen

Elektrische Halb-Mikro- und Analysewaage RC 210, Sartorius
Elektrische Analysewaage 1702 MP 8, Sartorius

Wasserbad

Typ 1092, Gesellschaft für Labortechnik mbH

Zentrifuge

Laborzentrifuge 2-15, Sigma

2.4.2 Leuchten

a) Pflanzenleuchten (PAR):

Leuchte: Modell HSTM 423, Hortilux Schröder

Lampe: Hochdruck-Natrium-Dampf lampen „SON-T AGRO“, 400 W, Phillips

Abb. 1 zeigt das Strahlungsspektrum dieser PAR-Lampen.

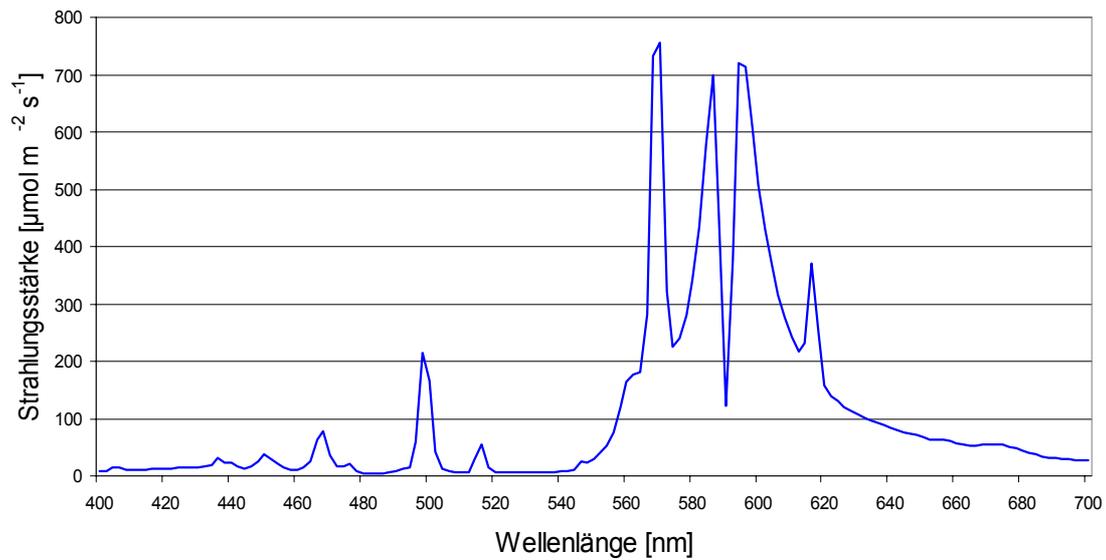


Abb. 1: Strahlungsspektrum der eingesetzten PAR-Lampen; Messung mit Lampe in Leuchte bei 50 cm Abstand unter Lampenmitte

b) Pflanzenleuchten (UV)

Leuchte: SGR 200, Phillips

Lampe: Hochdruck-Metallhalogendampflampe „MHL 400/E 40“, 400 W, BLV Licht- und Vakuumtechnik GmbH

Abb. 2 stellt das Strahlungsspektrum der verwendeten UV-Lampen dar.

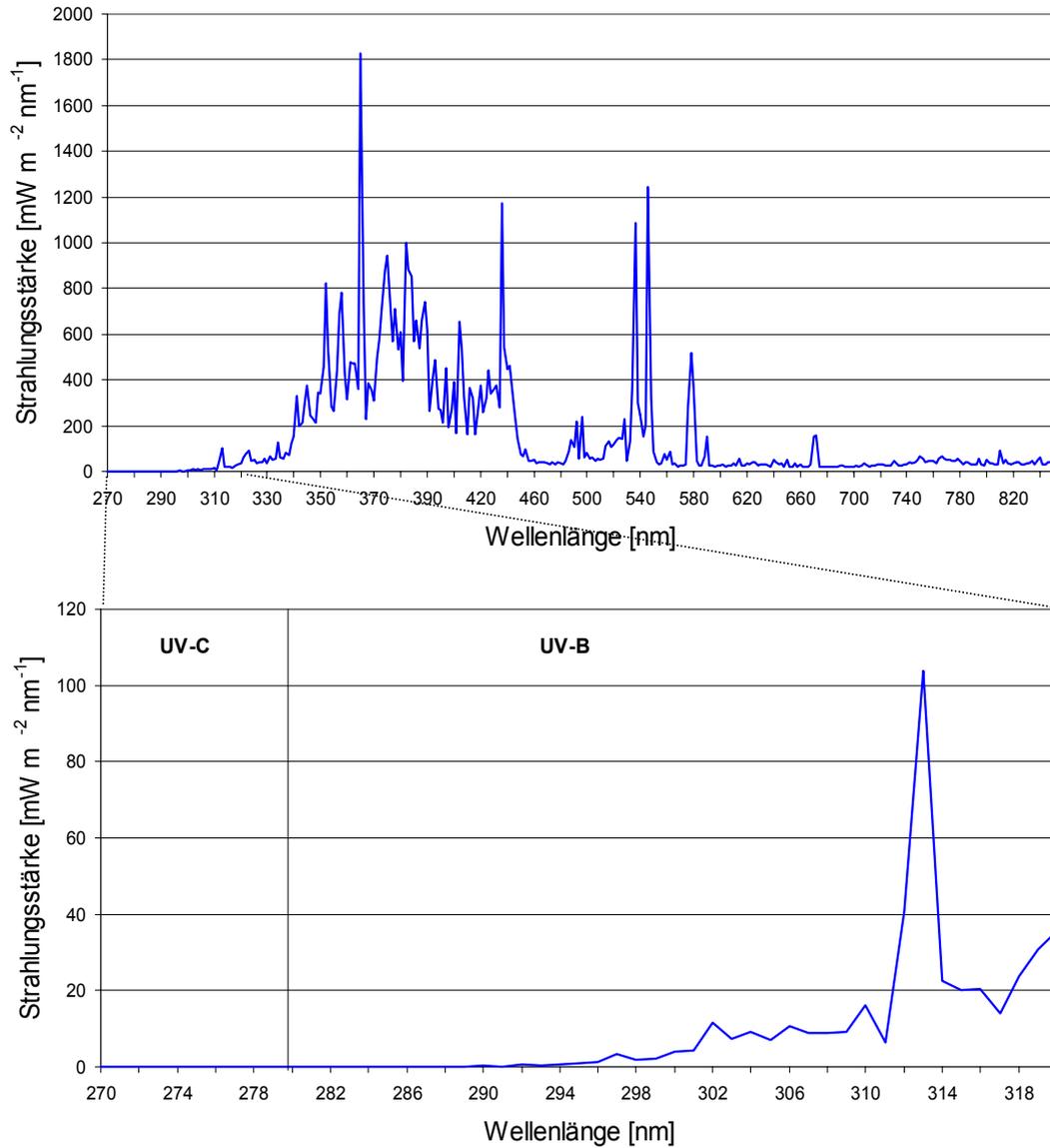


Abb. 2: Strahlungsspektrum der UV-Lampen; Messung mit Lampe in Leuchte bei 50 cm Abstand unter Lampenmitte

3 Methoden

3.1 Versuchsaufbau, PAR- und UV-Belichtung

Es werden die Wirkungen unterschiedlicher UV-Belichtungsvarianten auf Gehalt, Zusammensetzung und AK phenolischer Pflanzeninhaltsstoffe und von Carotinoiden untersucht. Während des ersten Anbaujahres werden Spinat und Gynura für 14 Tage belichtet. Im zweiten Anbaujahr wird die Wirkung von zwei unterschiedlich langen Belichtungszeiträumen erforscht. Zum einen werden die Pflanzen wiederum für 14 Tage belichtet (Langzeitbelichtung). Zum anderen werden ausgewählte Pflanzen der Praxiskontrolle (ohne Zusatzlicht) nach dieser 14-tägigen Versuchsdauer direkt anschließend für weitere drei Tage im selben Versuchsaufbau mit einer UV-Belichtung weiterbehandelt (Kurzzeitbelichtung). Die Versuchsvarianten sind:

- a) Praxiskontrolle (SGP): ohne Zusatzbelichtung
- b) PAR-Kontrolle (PAR): Belichtung mit PAR-Lampen
- c) UV-Freiland (FGC): PAR + 1 kJ/m²d UV-B_{BE}
- d) UV-Intensiv (INT): PAR + 2 kJ/m²d UV-B_{BE}
- e) UV-Permanent (PER): PAR + 6 kJ/m²d UV-B_{BE}

Die belichteten Versuchsvarianten werden rundum mit schwarzer Folie abgeschirmt. Die unterschiedlichen Lichtsummen der Belichtungsvarianten ergeben sich aus verschiedenen Belichtungszeiten und Aufhängungshöhen der Leuchten und aufgrund der Leuchtenanzahl innerhalb der Versuchvarianten. Aus Tab. 2 gehen die Aufhängungshöhen und die täglichen Belichtungszeiten der SON-T- und UV-Lampen hervor.

Tab. 2: Aufhängungshöhen und tägliche Belichtungszeiten der SONT-T- und UV-Lampen

Variante	SONT-T		UV-Lampe	
	Höhe [cm]	Zeit	Höhe [cm]	Zeit
PAR	60	7 – 17 Uhr	-	-
FGC	50	7 – 17 Uhr	50	10 – 14 Uhr
INT	53	7 – 17 Uhr	50	8 – 16 Uhr
PER	110	7 – 17 Uhr	50	0 – 24 Uhr

Die Aufhängungshöhe in cm bezieht sich auf die Pflanzenreferenzebene, d.h. auf das Hauptblätterdach. Der Abstand zwischen den Lampen beträgt von Lampenmitte zu Lampenmitte:

PAR: 67 cm zwischen den PAR-Lampen

UV-Varianten: 57 cm zwischen PAR- und UV-Lampen

Die Unterschiede der Strahlungsquellen bezüglich der Strahlungsintensitäten und Lichtsummen werden in Tab. 3 dargestellt.

Tab. 3: Strahlungsintensitäten und Lichtsummen der unterschiedlichen Strahlungsquellen der belichteten Varianten

Variante	SONT-T : PAR		UV-Lampe: PAR		UV-Lampe : UV-B _{BE}	
	Strahlungsstärke [$\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$]	Lichtsumme [$\text{mol}/\text{m}^2\text{d}$]	Strahlungsstärke [$\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$]	Lichtsumme [$\text{mol}/\text{m}^2\text{d}$]	Strahlungsstärke [W/m^2]	Lichtsumme [$\text{J}/\text{m}^2\text{d}$]
PAR	414	14,89	0	0	0	0
FGC	360	12,96	134	1,93	0,0693	998
INT	306	11,03	134	3,86	0,0693	1996
PER	90	3,3	134	11,58	0,0693	5988

Die Angaben zur UV-Belichtung beziehen sich auf den Messpunkt 50 cm senkrecht unter der Leuchte. Die Angaben zur PAR-Strahlung sind die Werte der Fläche auf Pflanzenreferenzebene (Hauptblätterdach).

In der ersten Anbauphase werden die Gemüsepflanzen auf einer Fläche von ca. 40 x 60 cm unterhalb der UV-Lampen im Verbund aufgestellt. So wird gewährleistet, dass die oben beschriebene UV-B_{BE}-Strahlungsstärke von ca. 0,0693 W/m² erreicht wird. Abb. 3 zeigt die Verteilung der UV-B_{BE}-Strahlung unterhalb der UV-Leuchten. Die Messung wurde bei der GSF in Neuherberg durchgeführt.

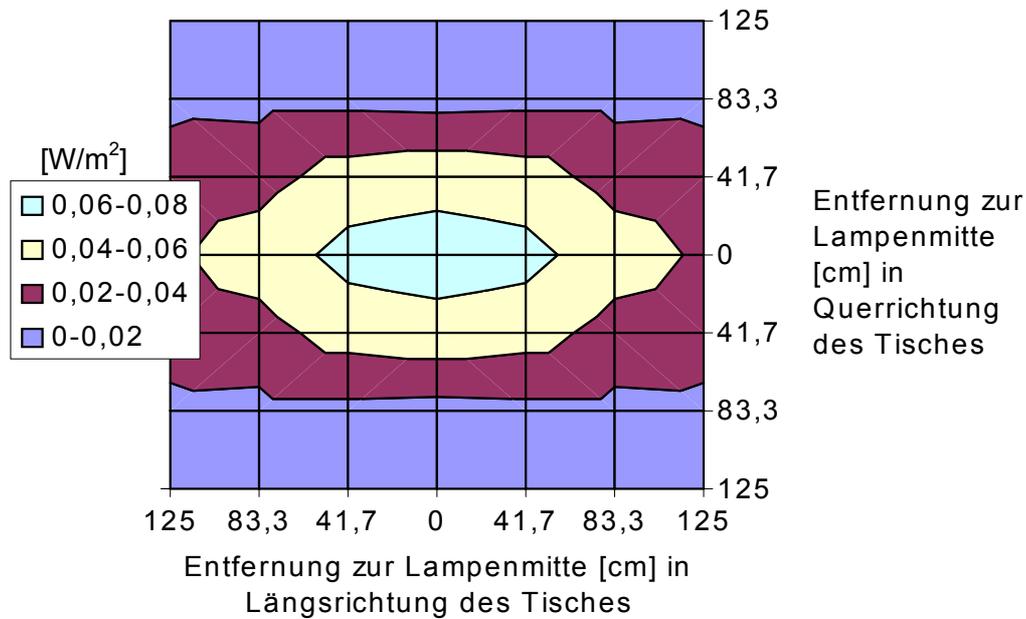


Abb. 3: Verteilung der UV-B_{BE}-Strahlungsstärke in W/m² unter einer einzelnen UV-Leuchte

Die theoretische Berechnung ergibt nach Addition der PAR-Summen aus den SON-T- und UV-Lampen für alle Pflanzen eine PAR-Gesamtlichtsumme von 14,89 mol/m²d (siehe Tab. 2). Da aber aufgrund ihrer Größe nicht alle Pflanzen im Bereich direkt unter den Lampenmitten stehen können, sind sie im ersten Versuchsjahr auch auf Bereiche verteilt, die über oder unter diesem Wert liegen. Abb. 4 zeigt diese, mit einem Quantensensor ausgemessenen Bereiche, am Beispiel der permanent UV-belichteten Variante (PER).

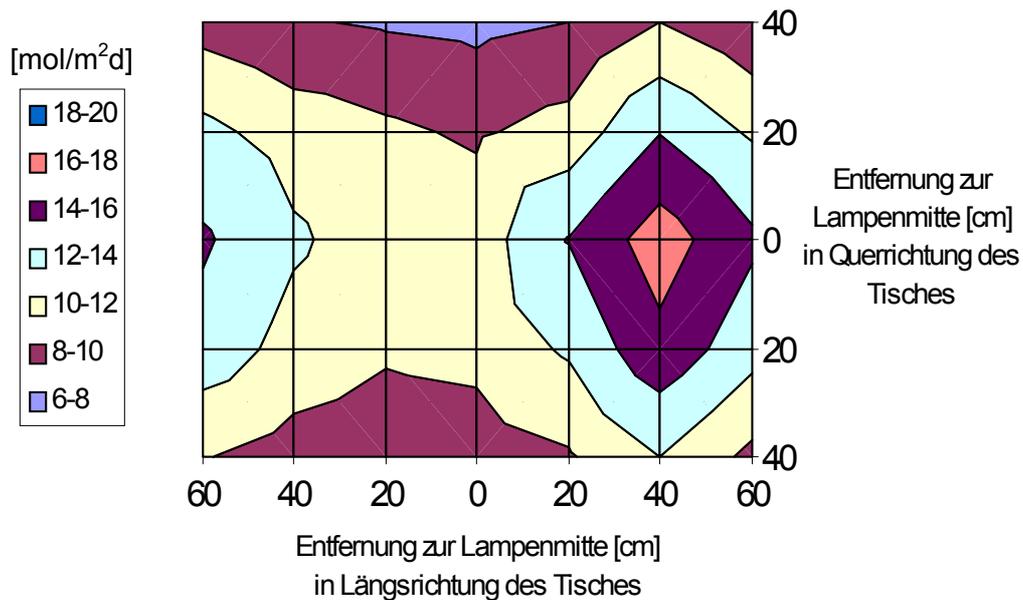


Abb. 4: PAR-Lichtsummen in mol/m²d am Beispiel PER

Um eine einheitliche PAR-Summe für alle untersuchten Varianten zu erreichen, werden im zweiten Anbaujahr alle Pflanzen nur noch im Bereich von 10-12 mol/m²d aufgestellt. Abb. 5 zeigt eine Versuchsaufstellung des zweiten Anbaujahres am Beispiel von PER (Gynura).



Abb. 5: Versuchsaufstellung des zweiten Anbaujahres (Gynura), Variante PER nur im 10-12 mol/m²d Bereich

3.2 Anbau und Ernte

Die An- und Aufzucht beider Gemüsepflanzen findet im Gewächshaus 1, Abteil 1 des Lehrstuhls für Gemüsebau der Technischen Universität München, Versuchsanlage Dürnast statt. Die gesamten Belichtungsversuche werden im Haus 2, Abteil 2 durchgeführt.

Spinacia oleracea L.

Die Aussaat des Spinats für das erste Anbaujahr erfolgt am 03.09.2002 in Erdpresstöpfe mit jeweils zwei Korn. Die Temperatur im Gewächshaus beträgt 22/20 °C (Tag/Nacht). Am 23.10.2002 werden die Pflanzen mit je zwei Einzelpflanzen in 12er Töpfe gepflanzt. Start des Belichtungsversuches ist der 08.11.2002 und die Pflanzen werden im Verbund in der jeweiligen Versuchsvariante aufgestellt. Die Temperatur im Gewächshaus beträgt 17/15 °C. Ab dem 12.11.2002 ist die Temperaturführung 17/14 °C. Die Anstaubewässerung startet je nach Bedarf (Saugspannung ca. 100-120 hPa) mit einer Nährlösung aus Leitungswasser (EC-Wert 2,0 mS/cm), wobei die Anstauhöhe 2 cm und die Anstaudauer 20 min beträgt. Am 22.11.2002 endet der Versuch und die Spinatpflanzen werden nach der 14-tägigen Versuchs- und Belichtungsphase kurz über dem Topfrand mit einer Schere abgeschnitten.

Der Aussaattermin für den zweiten Anbauversuch ist der 17.12.2003. Die Temperatur im Gewächshaus beträgt 22/20 °C. Getopft wird der Spinat mit je zwei Einzelpflanzen in 12er Töpfe am 19.01.2004. Der Belichtungsversuch startet mit der Aufstellung der Pflanzen innerhalb der Versuchsbereiche am 06.02.2004. Die Gewächshautemperatur beträgt jetzt über die gesamte Versuchsdauer 18/16 °C. Die Anstaubewässerung startet je nach Bedarf mit einer Saugspannung von ca. 100-120 hPa. Geflutet wird mit einer Nährlösung aus Umkehrosmosewasser (EC-Wert 2,0 mS/cm), wobei die Anstauhöhe 2 cm und die Anstaudauer 10 min beträgt.

Die Pflanzen der Langzeitbelichtung werden am 20.02.2004 und die der Kurzzeitbelichtung entsprechend am 23.02.2004 geerntet (siehe oben).

Gynura bicolor (Willd.) DC.

Am 30.05.2003 werden aus der laufenden Stecklingsproduktion Kopfstecklinge für den ersten Versuch willkürlich ausgewählt, gesteckt und bewurzelt (22/20 °C). Start des Belichtungsversuches ist der 30.06.2003 und die Pflanzen werden im Verbund in der jeweiligen Versuchsvariante aufgestellt. Die Temperatur im Gewächshaus beträgt 18/16 °C. Die Anstaubewässerung startet je nach Bedarf (Saugspannung ca. 100-120 hPa) mit einer Nährlösung aus Umkehrosmosewasser (EC-Wert 2,0 mS/cm), wobei die Anstauhöhe 2 cm und die Anstaudauer 10 min beträgt. Am 14.07.2003 endet der Versuch und von den *Gynura* werden die Terminalen mit den obersten zwei bis drei Blättern von Hand geerntet. Der Rest der Pflanze wird nicht verwertet.

Der Beginn der Stecklingsproduktion für den zweiten Versuch ist der 30.04.2004 mit einer Gewächshautemperatur von 22/20 °C. Die *Gynura*pflanzen werden am 01.06.2004 auf ca. 5-7 verbleibende Blätter von Hand zurückgestutzt. Der Belichtungsversuch beginnt am 17.06.2004 mit der Aufstellung der Pflanzen im jeweiligen Versuchsbereich. Die Gewächshautemperatur beträgt jetzt über die gesamte Versuchsdauer 18/16 °C. Die Anstaubewässerung startet je nach Bedarf (Saugspannung ca. 100-120 hPa) mit einer Nährlösung aus Umkehrosmosewasser (EC-Wert 2,0 mS/cm), wobei die Anstauhöhe 2 cm und die Anstaudauer 5 min beträgt.

Die Pflanzen der Langzeitbelichtung werden am 01.07.2004 und die der Kurzzeitbelichtung entsprechend am 04.07.2004 beerntet (siehe oben).

Alle geernteten Pflanzenteile jeder Variante werden sofort nach der Ernte innerhalb einer Versuchsvariante zu einer Mischprobe verarbeitet, vakuumverpackt und bei -20 °C tiefgefroren. Zur weiteren Analyse und Messung der AK müssen die Pflanzen unter dreitägiger Temperaturstaffelung (-5, +7 und + 14 °C) gefriergetrocknet und anschließend gemahlen werden. Das so gewonnene Pflanzenpulver wird dann bis zur weiteren Verwendung bei -20 °C gelagert.

3.3 Probenaufbereitung

3.3.1 Bestimmung der Trockensubstanz

Direkt nach der Pflanzenernte von Spinat und Gynura wird die Trockensubstanz (TS) der einzelnen Varianten bestimmt. Hierzu werden von jeder Versuchsvariante drei Wiederholungen mit ca. 15-25 g Frischsubstanz (FS) in Bechergläser eingewogen und durch dreitägige Temperaturstaffelung (60, 90 und 105 °C) unter Frischluftzufuhr im Trockenschrank getrocknet. Im Anschluss wird die verbleibende TS rückgewogen und unter Bildung eines Mittelwertes der TS-Gehalt aus dem Verhältnis TS/FS bestimmt.

3.3.2 Extraktion verschiedener sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe (SPI)

3.3.2.1 Polyphenole

Als erster Schritt für die Extraktion phenolischer Stoffe werden 0,4 g gefriergetrocknetes, gemahlene Probenpulver in ein Plastikreagenzglas eingewogen. Diese Probe wird anschließend in Anlehnung nach Tura und Robards (2002) mit 4 ml Methanol (80%) versetzt. Kommt für HPLC-Analysen ein Interner Standard (IS) hinzu, werden anstelle der 4 ml nur 3 ml Methanol (80%) und zusätzlich 1 ml Naringenin-Lösung (1 mM in 80% Methanol) verwendet.

Die so hergestellten Proben werden eine Minute gevortext und dann für 30 Minuten, bei ca. 10 °C ins Ultraschallbad gestellt. Danach werden die Proben 10 Minuten bei 10000 U/min zentrifugiert. Aus dem so erhaltenen Überstand werden 2 ml abgezogen und in ein 2 ml Reagiergefäß filtriert (0,45 µm).

Rohextrakt: Von diesem Filtrat werden 250 µl in Reagiergefäße (2 ml) pipettiert und im Vakuumkonzentrator bis zur Trocknung eingedampft.

Phenolhaltige Extrakte: 1,2 ml des Filtrats werden in Rundboden-Zentrifugenröhrchen (10 ml) überführt, mit 1,8 ml H₂O und 2,5 ml Ethylacetat (EA) versetzt. Die Röhrchen werden verschlossen und für eine Minute gevortext. Anschließend wird das Gemisch für 3 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Nun können 1,8 ml der EA-Phase (obere Phase) in 15 ml Spitzboden-Zentrifugenröhrchen abgezogen werden. Nach der anschließenden Zugabe von 1,8 ml reinem EA zum vorhandenen Methanol/EA-Gemisch wiederholt sich der oben beschriebene Vorgang (vortexen,

abziehen und zugeben) 5mal, bis sich nach insgesamt 6-maligem Abziehen 10,8 ml der EA-Phase in den 15 ml Spitzboden-Zentrifugenröhrchen befinden.

Anthocyanhaltige Extrakte: Nach der Extraktion der phenolhaltigen Extrakte wird die noch vorhandene EA-Phase mit einer Pipette durchstochen und 500 µl der unteren Methanol/H₂O-Phase in 2 ml Reagiergefäße abgezogen.

Die gewonnenen Extrakte werden im Vakuumkonzentrator bis zur Trocknung eingedampft und bei – 20 °C bis zur weiteren Verwendung tiefgefroren.

Werden phenol- oder anthocyanhaltige Extrakte für den Einsatz in den Testsystemen, der HPLC-Analyse oder im Folin-Ciocalteu-Test angelöst geschieht dies für alle genannten Extrakte auf die gleiche Weise:

Der Extrakt wird mit 2 ml 10%igem CH₃CN versetzt und anschließend für 1 min gevortext. Danach wird das 15 ml Spitzboden-Zentrifugenröhrchen bei ca. 10 °C für 15 min ins Ultraschallbad gestellt. Nach dieser Zeit können mit Hilfe von Plastikrührspateln Extraktionsrückstände vom Rand des Gefäßes gelöst werden. Der Spatel verbleibt im Reagiergefäß. Nun wird die Probe nochmals bei 10 °C für 15 min ins Ultraschallbad gestellt. Anschließend wird das Zentrifugenröhrchen für 30 Sekunden gevortext und danach der Spatel entfernt. Da sich in dem verwendeten Lösungsmittel nicht alle im Extrakt vorhandenen Inhaltsstoffe lösen können, 10%iges CH₃CN aber für alle die hier verwendeten Testsysteme optimal ist, wird der Extrakt in 2 ml Reagiergefäße gefiltert (0,45 µm). Der so gewonnene Extrakt kann nun für die oben genannten Zwecke weiter verwendet werden.

Wird Rohextrakt im Folin-Ciocalteu-Test eingesetzt, kann dieser in 2 ml 100% EtOH (Spinat) oder in 80% MeOH (Gynura) gelöst werden.

Phenolhaltige Extrakte werden aus 1,2 ml des Rohextraktes gewonnen. Zur Konservierung des Rohextrakts selbst werden aus versuchstechnischen Gründen zur Begrenzung der Abdampfzeit nur 250 µl verwendet (siehe oben). Bei einem Vergleich der Rohextrakte und der phenolhaltigen Extrakte im Folin-Ciocalteu-Test ist deren unterschiedliches Extraktionsvolumen zu beachten. Da der Rohextrakt in diesem Test im gleichen Volumen (2 ml) wie der phenolhaltige Extrakt aufgenommen wird, entsteht ein Verdünnungsfaktor von 4,8. In den Tabellen zum Phenolgehalt der Rohextrakte der verwendeten Gemüsearten (Tab. 9 und Tab. 10) sind die Ursprungswerte mit diesem Faktor multipliziert. So lassen sich die beiden Extraktarten direkt miteinander vergleichen.

3.3.2.2 Carotinoide

Bei dieser Extraktion (in Anlehnung an Hart und Scott, 1995), werden 0,1 g des lyophilisierten und gemahlene Pflanzenpulvers in 2 ml ReagiergefäÙe eingewogen. Anschließend werden in einem weiteren Schritt 0,01 g Kaliumcarbonat dazugegeben. Für die Extrakterstellung zur Analyse mittels HPLC wird das Pulver mit 0,18 ml β -Apo-8'-carotenal-Lösung (IS) (0,5 mM in Tetrahydrofuran/Methanol 1:1) und 0,72 ml Tetrahydrofuran/Methanol (1:1) angelöst. Die Proben werden eine Minute gevortext und drei Minuten ins Ultraschallbad gestellt. Anschließend werden 0,5 ml Hexan mit 0,1% BHT und 0,5 ml 10%ige Natriumchlorid-Lösung zupipettiert. Jetzt werden die Proben erneut 15 Sekunden gevortext und nochmals für 3 Minuten ins Ultraschallbad gestellt. Danach werden sie 3 Minuten bei 4000 U/min zentrifugiert. Anschließend können 500 μ l der oberen Phase (Hexan/THF) abgezogen und in 15 ml Spitzboden-Zentrifugenröhrchen überführt werden. Es folgt die Zugabe von 0,5 ml Hexan/BHT(0,1%) in das 2 ml ReagiergefäÙ. Dieses wird wieder 15 Sekunden gevortext und kommt für drei Minuten ins Ultraschallbad, bevor es 3 Minuten bei 4000 U/min abzentrifugiert wird. Ab hier können immer 600 μ l der oberen Phase abgezogen und auch 600 μ l Hexan/BHT (0,1%) wieder zugegeben werden. Das Abziehen und Überführen in 15 ml Spitzboden-Zentrifugenröhrchen erfolgt insgesamt 5-mal.

Für Extrakte zum Einsatz in die Testsysteme werden diese zu Beginn mit 0,9 ml Methanol/THF (1:1) versetzt. In allen weiteren Schritten wird anstelle des Gemisches Hexan/BHT(0,1%) reines Hexan verwendet. Die Anzahl der Arbeitsschritte und die Maßangaben sind identisch.

Die in 15 ml Spitzboden-Zentrifugenröhrchen überführten Extrakte werden nach Abschluss der Extraktion bis zur Trocknung im Vakuumkonzentrator eingeeengt und bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ tiefgefroren.

Die carotinoidhaltigen Extrakte für die HPLC-Analysen werden in 2 ml 90%igem Aceton angelöst und für 30 Sekunden gevortext. Anschließend werden die Extrakte für 5 Minuten ins Ultraschallbad gestellt, danach werden sie nochmals für 30 Sekunden gevortext und in 2 ml PlastikreagiergefäÙe gefiltert (0,45 μ m). Im ABTS-Testsystem ist das verwendete Lösungsmittel EtOH. Der Vorgang des AnlöSENS ist wie oben beschrieben.

dieses Testsystem sensitiv Radikalfängereigenschaften der eingesetzten Extrakte gegenüber Superoxidradikalen nach.

Testansatz:

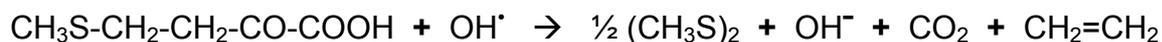
	Konzentration i. A.:
Phosphatpuffer, pH 7,4	0,1 M
NH ₂ OH	1 mM
Xanthin	0,5 mM
Extrakt	div. Konz.
XOD	0,04 U/ml
H ₂ O	ad 1 ml

Die Reaktion wird mit Zugabe von XOD gestartet und dann für 30 min im Wasserrüttelbad bei 37 °C inkubiert. Ist die Inkubation abgeschlossen, werden dem Ansatz 300 µl entnommen und diese zu 300 µl Sulfanylsäure (1% Sulfanylamid in 8% Salzsäure) gegeben. Die Azokupplung wird mit anschließender Zugabe von 300 µl 0,02% Naphtylethylendiamin gestartet. Nach 15 min Reaktionszeit kann der entstandene Azofarbstoff im Photometer bei $\lambda = 540$ nm analysiert werden.

Reagiert das eingesetzte Antioxidans mit dem O₂^{•-} oder wird die O₂^{•-}-Bildung gehemmt, entsteht weniger Nitrit (Elstner und Heupel, 1976). Somit kann im Vergleich zur Kontrolle (= 100% Färbereaktion) eine antioxidative Wirkung anhand der Farbstoffbildung im Photometer abgelesen werden.

3.4.1.2 Oxidation von α -Keto- γ -S-Methyl-Buttersäure (KMB) zu Ethylen

α -Keto- γ -S-Methyl-Buttersäure (KMB) zerfällt nach dem Angriff verschiedener ROS, z.B. OH[•], unter Freisetzung von Ethylen (Halliwell und Gutteridge, 1999):



Die Reaktion findet in gasdicht verschlossenen Reagenzgläsern statt. So kann das entstandene Gas nach Abschluss der Inkubationszeit mit Insulinspritzen aus dem Gasraum abgezogen und gaschromatographisch quantifiziert werden. Für die Quantifizierung des entstandenen Ethylens wird die Head-Space-Technik verwendet: Die Reaktion findet in gasdicht verschlossenen Reagenzgläsern mit einem mittleren Volumen von 13 ml statt. Nach einer Inkubationszeit von 30 min, bei 37 °C im

Rüttelbad, wird mit einer Insulinspritze 1 ml Gas aus dem Reagenzglas abgezogen. Die in diesem Milliliter enthaltene Ethylenmenge kann nun gaschromatographisch quantifiziert werden. Die im Ansatz (i. A.) enthaltene Ethylenmenge berechnet sich wie folgt:

$$\frac{\text{Area} * (\text{Gesamtvolumen [ml]} - \text{Probenvolumen [ml]})}{\text{Eichfaktor [ml/pmol]}} = \text{Ethylen [pmol]}$$

Der Eichfaktor wird täglich mit Hilfe von Prüfgas neu ermittelt.

Je weniger Ethylen in einem Ansatz vorhanden ist, desto besser wirken die eingesetzten Extrakte der Oxidation von KMB entgegen.

Testansatz:

	Konzentration i. A.:
Phosphatpuffer, pH 7,4	0,1 M
KMB	1 mM
Xanthin	0,5 mM
Extrakte	div. Konz.
XOD	0,04 U/ml
H ₂ O	ad 2 ml

Die Reaktion wird mit der Zugabe von XOD gestartet. Anschließend werden die Ansätze für 30 min bei 37°C im Wasserbad inkubiert.

3.4.1.3 Harnsäurebestimmung im XOD-Testsystem

Die enzymatische Aktivität der XOD kann durch verschiedene Substanzen, z.B. phenolische Verbindungen, allosterisch oder kompetitiv gehemmt werden (Cotelle, 2001). Dadurch entstehen weniger ROS. Die Nachweisreaktionen des XOD-Systems erkennen dies als eine antioxidative Kapazität. Ob eine vorhandene AK der eingesetzten Extrakte auf einem Abfangen der Radikale oder einer Hemmung der XOD beruht, wird durch folgendes Untersuchungsprinzip festgestellt:

Die Xanthinoxidase setzt Xanthin zu Harnsäure, H_2O_2 und $\text{O}_2^{\bullet-}$ um. Der Einfluss eines Extraktes auf die XOD-Aktivität kann folglich über die Bildung des Produkts Harnsäure gemessen werden.

Um einen Einfluss auf die Enzym-Aktivität zu untersuchen, wird folgender Reaktionsansatz verwendet.

Testansatz:

	Konzentration i. A.:
Phosphatpuffer, pH 7,4	0,1 M
Xanthin	500 μM
Extrakte	div. Konz.
XOD	0,04 U/ml i.A.
H_2O	ad 1 ml

Der Ansatz wird für 10 min bei 37 °C im Wasserrüttelbad inkubiert und die Reaktion anschließend mit 50 μl 10 M HCl (36%) abgestoppt. In der HPLC ($\lambda = 285 \text{ nm}$) wird das Verhältnis von produzierter Harnsäure zu eingesetztem Xanthin untersucht. Bleibt dieses im Vergleich zu der Kontrolle ohne Extrakt stabil, kann davon ausgegangen werden, daß der Extrakt mit dem $\text{O}_2^{\bullet-}$ abreagiert und die XOD-Aktivität nicht beeinflusst. Kommt es zu einer Stimulation der Reaktion, sind die eingesetzten Substanzen in der Lage die XOD selbst oder die Harnsäure vor Oxidation zu schützen. Es kann aber auch sein, dass die Phenole ein zusätzliches Substrat für die XOD sind und so mehr Harnsäure entsteht (Pritsos, 2000).

Die Laufbedingungen der HPLC-Analyse (Apparatur I) sind:

Flussrate:	1 ml/min
Laufmittel (A):	0,5% Essigsäure in H_2O
Laufbedingungen:	0 min –12 min 100% A
Injektionsvolumen:	100 μl
Säulentemperatur:	25 °C
Detektion:	$\lambda = 285 \text{ nm}$

Die Quantifizierung der Harnsäure und des Xanthins in der HPLC erfolgt über käufliche Standards.

Die Regressionsgleichung für Xanthin lautet:

$$\text{Peakfläche [mV*min]} = 0,329 [\text{mV*min*}\mu\text{M}] * \text{Xanthin } [\mu\text{M}]$$

$$R = 0,99; \text{sd} = 7,75; n = 5; p < 0,0001$$

Die Regressionsgleichung für Harnsäure lautet:

$$\text{Peakfläche [mV*min]} = 0,914 [\text{mV*min*}\mu\text{M}] * \text{Harnsäure } [\mu\text{M}]$$

$$R = 0,99; \text{sd} = 27,03; n = 5; p < 0,0001$$

3.4.2 2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure) (ABTS)-Testsystem

Das ABTS-Testsystem stellt ein *in vitro* Modell zum oxidativen Stress und der Wirkung antioxidativer Substanzen dar (Miller et al., 1993). ABTS-Moleküle werden durch Myoglobin und H_2O_2 zum intensiv grün gefärbten ABTS-Radikalkation oxidiert, das sein Absorptionsmaximum bei 734 nm aufweist (Abb. 7).

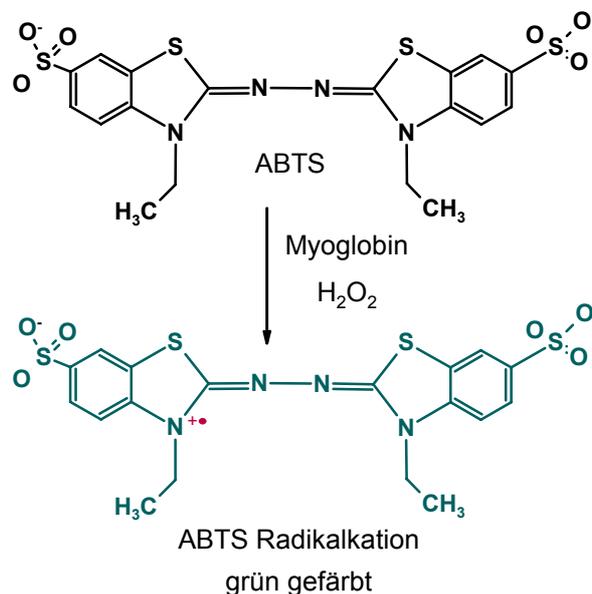


Abb. 7: ABTS-Oxidation zum ABTS-Radikalkation

Antioxidantien sind unterschiedlich gut in der Lage die Radikalentstehung zu reduzieren. Je geringer die Färbung des Reaktionsansatzes, desto höher ist die AK der in das Testsystem eingesetzten Extrakte. Eine Änderung der Absorption über die Zeit wird spektrophotometrisch nachgewiesen (Yu und Ong, 1999).

Testansatz:

	Konzentration i. A.:
Phosphatpuffer, pH 7,4	0,1 M
ABTS	0,15 mM
Myoglobin	2,5 μ M
H ₂ O ₂	0,1 mM
Extrakte	div. Konz.
H ₂ O	ad 2 ml

Alle Substanzen, außer H₂O₂, werden in einer Küvette vorgelegt. Im Photometer wird die Reaktion dann durch Zugabe von H₂O₂ gestartet. Die Messung erfolgt bei $\lambda = 734$ nm über einen Zeitraum von 15 Minuten und einem Messintervall von 20 Sekunden.

Da ABTS und Myoglobin in Lösung eine Eigenfärbung aufweisen, werden die Ansätze gegen eine Referenz ohne H₂O₂ und Extrakt gemessen. Der 100%-Wert ergibt sich aus einem Ansatz, in dem anstelle des Extraktes nur dessen Lösungsmittel (z.B. 10% CH₃CN) hinzugefügt wird und somit die Reaktion ungehindert ablaufen kann.

3.5 Folin-Ciocalteu-Test

Der Folin-Ciocalteu-Test dient in dieser Arbeit zur Quantifizierung des Phenolgehaltes der eingesetzten Extrakte. Durch reduzierende Verbindungen (z.B. Phenole) wird die Folin-Ciocalteu-Lösung zu blauem Farbstoff umgesetzt. Der entstehende Farbstoffkomplex wird photometrisch bei 720 nm quantifiziert (Singleton et al., 1998).

Verwendete Lösungen:

- Folin-Ciocalteu-Lösung (10%)
- Na₂CO₃ (7%)
- Extrakt (div. Konz.)

Die phenol- und anthocyanhaltigen Extrakte werden zur Bestimmung ihres Phenolgehaltes in 2 ml 10%igem Acetonitril gelöst. Der Rohextrakt aus Spinat ist in

der gleichen Menge 100%igem Ethanol, der Gynuraroheextrakt in 80% Methanol gelöst.

Anschließend werden 150 µl des entsprechenden Extraktes in eine Küvette vorgelegt. Es werden nun 1 ml des Folinreagenz hinzu pipettiert und diese Mischung wird für 2 Minuten inkubiert. Danach folgt die Zugabe von 1 ml Na₂CO₃ mit einer folgenden Inkubationszeit von einer Stunde. Die Messung am Photometer erfolgt bei 720 nm.

Die Phenolgehalte der eingesetzten Extrakte können anhand einer mit Gallussäure erstellten Kalibrationsgeraden bestimmt und anschließend in Gallussäureäquivalente (GAE) [mM] umgerechnet werden. Die resultierende Regressionsgleichung lautet:

$$\text{Absorption [720 nm]} = 1,353 \text{ Absorptionseinheiten [720 nm]} * \text{Gallussäure [mM]}$$

$$R = 0,99; \text{sd} = 0,05; n = 6; p < 0,0001$$

3.6 Inhaltsstoffanalytik der Pflanzenextrakte

Die in den Extrakten enthaltenen Inhaltsstoffe werden mit Hilfe der High Performance Liquid Chromatographie (HPLC) aufgetrennt.

3.6.1 Polyphenole

Die hier verwendete Analysemethode ist in Anlehnung an Schieber et al. (2003) leicht modifiziert.

Phenol- und Anthocyanhaltige Extrakte

Die zu analysierenden Proben werden in 2 ml Acetonitril (10%) angelöst, für 60 Sekunden gevortext und bei ca. 10 °C für 30 Minuten ins Ultraschall gestellt. Anschließend werden sie noch einmal gevortext (30 Sekunden), filtriert (0,45 µm) und an der HPLC analysiert.

Die Laufbedingungen für die HPLC- Analyse (Apparatur I und II) sind:

Flussrate:	0,6 ml/min
Laufmittel A:	2,0% Essigsäure in H ₂ O
Laufmittel B:	0,5% Essigsäure in H ₂ O/CH ₃ CN (1:1)
Gradient:	0 min 75% A
	0 min – 5 min 75% A
	5 min – 50 min 55% A

50 min – 90 min	0% A
90 min – 95 min	75% A
95 min – 112 min	75% A

Injektionsvolumen: 100 µl

Säulentemperatur: 25 °C

Detektion: $\lambda = 285$ und 530 nm

Hydrolyse der Rohextrakte:

Die Analyse der hydrolysierten Rohextrakte wird mit der selben HPLC-Methode und Apparatur II durchgeführt.

Vor dem Start der Analyse werden die Extrakte in 1 ml, bestehend aus zwei Teilen Ethanol und 8 Teilen CH₃CN (10%), aufgenommen und für 60 Sekunden gevortext. Danach werden sie filtriert (0,45 µm) und 600 µl dieses Überstandes werden mit 75 µl einer 37%igen Salzsäure vereint. Anschließend wird die Probe für zwei Stunden bei 80 °C in ein Wasserrüttelbad gestellt. Nach dieser Inkubationszeit werden auf den hydrolysierten Extrakt 75 µl Natronlauge (5 M) pipettiert und das Gemisch für 15 Sekunden gevortext. Zum Schluss wird der so entstandene Extrakt nochmals in HPLC-Vials gefiltert (0,45 µm) und an der HPLC analysiert.

Als interner Standard wird Naringenin (0,5 mM) eingesetzt. Die resultierende Gleichung der Regression lautet:

$$\text{Peakfläche [mV*min]} = 1923,933 [\text{mV*min*}\mu\text{M}] * \text{Naringenin [mM]}$$

$$R = 0,99; \text{sd} = 48,93; n = 6; p < 0,0001$$

3.6.2 Carotinoide

Für die HPLC-Analyse der carotinoidhaltigen Extrakte werden diese in 2 ml Aceton (90%) angelöst, eine Minute gevortext und für 5 Minuten Ultraschall behandelt. Danach werden sie nochmals für 30 Sekunden gevortext, gefiltert (0,45 µm) und an der HPLC analysiert.

Die Laufbedingungen für Apparatur III und IV sind:

Flussrate: 1 ml/min

Laufmittel A: Methanol + 0,05% Triethylamin

Laufmittel B: Aceton

Laufmittel C:	H ₂ O + 0,05 M Ammoniumacetat		
Gradient:	0 min	10% B	4% C
	0 min – 25 min	30% B	4% C
	25 min – 45 min	60% B	4% C
	45 min – 70 min	90% B	4% C
	70 min – 75 min	100% B	0% C
	75 min – 85 min	100% B	0% C
	85 min – 90 min	10% B	4% C
	90 min – 105 min	10% B	4% C
Säulentemperatur:	30 °C		
Injektionsvolumen:	20 µl		
Wellenlänge:	450 nm		

Als interner Standard wird β -Apo-8'-carotenal eingesetzt. Die Gleichungen der Regression für zwei Chargen des IS lauten:

Charge 1: $\text{Area [mV*min]} = 7718 [\text{mV*min*}\mu\text{M}] * \beta\text{-Apo-8'-carotenal [mM]}$

Charge 2: $\text{Area [mV*min]} = 36580 [\text{mV*min*}\mu\text{M}] * \beta\text{-Apo-8'-carotenal [mM]}$

Zur Identifizierung und Quantifizierung kommen im ersten Jahr der Untersuchungen (Apparatur III) zusätzlich Chlorophyll a und b, β -Carotin und Lutein zum Einsatz.

Chlorophyll a:

$Y = 19143 x$; bei $R^2 = 0,98$

Chlorophyll b:

$Y = 96234 x$; bei $R^2 = 0,99$

β -Carotin:

$Y = 186245 x$; bei $R = 0,99$

Lutein:

$Y = 185028 x$; bei $R^2 = 0,99$

Im zweiten Jahr der Untersuchungen (Apparatur IV) werden nur noch β -Carotin und Lutein als externe Referenzsubstanzen eingesetzt:

β-Carotin:

$Y = 51466 x$; bei $R^2 = 0,98$

Lutein:

$Y = 49013 x$; bei $R^2 = 0,98$

3.7 Statistische Auswertung der Messergebnisse

Alle Versuche werden mit jeweils drei Parallelen an zwei verschiedenen Tagen durchgeführt. Bei eindeutigen Ergebnissen werden die Wiederholungen, wenn im Ergebnisteil nicht anders angeführt, nicht verrechnet. Die Messwerte stellen also Mittelwerte aus mindestens drei Parallelen mit dazugehöriger Standardabweichung dar. Die Berechnung der Standardabweichung erfolgt nach der Formel:

$$\sigma_{n-1} = \sqrt{\frac{\sum x^2 - (\sum x)^2 / n}{n-1}}$$

Die Auswertung und graphische Darstellung der Messergebnisse erfolgt computergestützt mit folgender Software: Microsoft Word 2000, Microsoft Excel 2000, Microsoft Origin 4.1 und Microsoft Origin 5.0.

4 Ergebnisse

4.1 Pflanzenhabitus vor und nach der Belichtung mit UV-B

Spinacia oleracea L. 'Poncho' und *Gynura bicolor* (Willd.) DC. werden im Gewächshaus mit unterschiedlichen UV-B-Belichtungsvariationen angebaut. Die hier dargestellten Pflanzen zeigen den Habitus von Spinat und Gynura unmittelbar vor Start des Belichtungsversuches und zum Erntezeitpunkt.

Spinacia oleracea L.

Abb. 8 zeigt exemplarisch einen Spinatbestand vor Beginn eines Belichtungsversuches.



Abb. 8: Spinat vor Beginn des Belichtungsversuches (2. Anbaujahr)

Aus Abb. 8 geht hervor, dass der Pflanzenbestand sowohl in Gestalt und Größe als auch in der Blattfarbe und -form sehr homogen ist.

In Abb. 9 werden nun die Unterschiede der Pflanzenhabitus nach 14-tägiger Belichtung verdeutlicht (erstes Anbaujahr). Von links nach rechts ist SGP, PAR, FGC, INT und PER abgebildet.



Abb. 9: Spinat nach 14-tägiger Belichtung; von links nach rechts: SGP, PAR, FGC, INT und PER (1. Anbaujahr)

Hinsichtlich der Pflanzengröße ist zwischen SGP, PAR, FGC und INT kein deutlicher Unterschied zu sehen. PER hingegen hebt sich durch die Ausbildung eines Blütenstandes deutlich von den anderen Varianten ab. In den UV-B-Varianten nimmt mit Stärke der Belichtung die Anzahl der hellgrün-gelblichen Blätter zu. PER zeigt die hellste Blattfarbe, die Blattform war kleiner und rundlicher.

Im zweiten Anbaujahr werden Spinatpflanzen wiederum einer zweiwöchigen Belichtungsphase unterzogen (im Folgenden als Langzeitbelichtung bezeichnet). Ausgewählte Pflanzen der unbelichteten Variante (SGP) kommen nach Abschluss der 14-tägigen Versuchsperiode in die Belichtungskammern und der Versuch wird für weitere 3 Tage fortgesetzt. Diese Pflanzen sind im Folgenden mit Kurzzeitbelichtung bezeichnet.

Abb. 10 stellt Spinatvarianten aus dem zweiten Anbaujahr nach Langzeitbelichtung dar.



Abb. 10: Spinat nach Langzeitbelichtung; von links nach rechts: PER, INT, FGC, PAR und SGP (2. Versuchsjahr)

Im Gegensatz zum ersten Anbaujahr zeigt diese Abbildung, dass PAR und SGP kleiner als die anderen Varianten sind. PER weist die größte Wuchshöhe auf, produziert die stärksten Blattstiele und zeigt als einzige Variante an den Blättern stark eingerollte Ränder. Die Blätter der UV-belichteten Pflanzen sind im Vergleich zu SGP etwas heller, fester und etwas verdickt. PAR ist am kompaktesten und hat die grünen Blätter. SGP besitzt den am wenigsten verzweigten Wuchs.

Abb. 11 hält den Habitus der Kurzzeit belichteten Spinatpflanzen fest.



Abb. 11: Spinat nach Kurzzeitbelichtung; von links nach rechts: PER, INT, FGC, PAR und SGP (2. Anbaujahr)

In Abb. 11 sind kaum Unterschiede im Habitus der Varianten zu erkennen, weder in der Stiel- oder Blattdicke noch in der Ausfärbung der Blätter. Lediglich PER zeigt wieder eingerollte Blattränder. Dieses Kennzeichen permanent UV-B-belichteter Spinatpflanzen aus Lang- und Kurzzeitbelichtung ist in Abb. 12 dargestellt.



Abb. 12: Spinat (PER) nach Kurzzeitbelichtung (2. Anbaujahr)

Gynura bicolor (Willd.) DC.

Abb. 13 zeigt *Gynura* aus dem ersten Anbaujahr vor Beginn der Belichtung.



Abb. 13: *Gynura* vor Beginn des Belichtungsversuches (1. Anbaujahr)

Aus Abb. 13 geht die Homogenität des gesamten Pflanzenbestandes hinsichtlich Habitus und Alter hervor.

Nach einer Belichtungsdauer von 14 Tagen sind folgende Unterschiede zwischen den Varianten zu erkennen (Abb. 14).



Abb. 14: *Gynura* nach 14-tägiger Belichtung; von links nach rechts: SGP, PAR, FGC, INT und PER (1. Anbaujahr)

Hinsichtlich der Wuchshöhen gilt es festzuhalten, dass PER am gedrungeusten ist, gefolgt von INT. PER und INT bilden häufig keine echte Terminale aus, sondern doppelte und dreifache Triebspitzen. Hinzu kommen verkürzte Internodien und verdickte Blattstiele. Die Blätter dieser Varianten sind auch deutlich grüner als die der anderen Pflanzen. Zwischen FGC, PAR und SGP gibt es keine wesentlichen Unterschiede.

Abb. 15 dokumentiert den Ausgangszustand der Gynurapflanzen vor Start der Belichtung im zweiten Jahr der Untersuchungen.



Abb. 15: Gynura vor Beginn des Belichtungsversuches (2. Anbaujahr)

Der Habitus des hier dargestellten Pflanzenbestandes ist sehr homogen. Die Pflanzen sind jedoch aufgrund technischer Probleme beim Versuchsaufbau 16 Tage älter als die des ersten Jahres und wurden eine Woche vor Versuchsbeginn gestutzt. Abb. 16 zeigt Gynura aus der zweiten Versuchsperiode nach einer Belichtung von 14 Tagen (Langzeitbelichtung).



Abb. 16: Gynura nach Langzeitbelichtung; von links nach rechts: SGP, PAR, FGC, INT und PER (2. Anbaujahr)

In Abb. 16 ist zu sehen, dass im zweiten Versuchsjahr kein deutlicher Unterschied bezüglich der Pflanzengröße, Blattfarbe und -form der einzelnen Varianten feststellbar ist. Auch das Phänomen der Ausbildung von doppelten oder dreifachen Triebspitzen, wie im ersten Jahr beobachtet, tritt nicht auf. Die Festigkeit des Pflanzengerüsts ist jedoch bei INT und PER erhöht, was sich in einem aufrechterem Wuchs widerspiegelt. PER zeigt zusätzlich Ansätze dickerer Stiele und Blätter. Eine Kurzzeitbelichtung ausgewählt homogener Pflanzen aus SGP führte zu keiner Veränderung des Habitus.

4.2 Trockensubstanzgehalte

Direkt nach der Pflanzenernte von Spinat und Gynura wird die Trockensubstanz (TS) der einzelnen Varianten bestimmt.

Spinacia oleracea L.

In Tab. 4 werden die TS-Gehalte aller Anbauvarianten von Spinat dargestellt (TS in % \pm Standardabweichung).

Tab. 4: Trockensubstanzgehalte von Spinat

	TS in %		
	1. Jahr Langzeit	2. Jahr Langzeit	2. Jahr Kurzzeit
SGP	6,25 ± 0,29	9,35 ± 0,47	9,24 ± 0,19
PAR	7,22 ± 0,65	10,31 ± 0,20	10,69 ± 0,44
FGC	7,96 ± 0,43	10,12 ± 0,11	10,91 ± 0,15
INT	7,69 ± 0,12	10,29 ± 0,18	10,84 ± 0,91
PER	5,90 ± 0,21	7,14 ± 0,13	10,32 ± 0,51

Es ist zu erkennen (Tab. 4), dass sich der TS-Gehalt der Pflanzen durch die Belichtung verändert. PER kommt im ersten Jahr mit 5,90% auf den geringsten TS-Anteil, gefolgt von SGP mit 6,25%. Für PAR (7,22%), INT (7,69%) und FGC (7,96%) werden höhere TS-Gehalte festgestellt.

Beim TS-Gehalt des Langzeit belichteten Spinats (zweites Anbaujahr) kann kein eindeutiger Unterschied zwischen PAR (10,31%), FGC (10,12%) und INT (10,29%) festgehalten werden. SGP liegt mit einem TS-Gehalt von 9,35% unter diesen drei Belichtungsvarianten. PER besitzt mit 7,14% den geringsten TS-Wert.

Durch eine Kurzzeitbelichtung entsteht keine wesentliche Differenz zwischen den belichteten Varianten. Die Werte dieser Varianten (PAR 10,69%, FGC 10,91%, INT 10,84% und PER 10,32%) liegen sehr dicht zusammen. Nur SGP weist mit 9,24% einen geringeren TS-Gehalt auf. Der Gehalt an TS nimmt hier also mit Belichtung zu. Alle Werte liegen über denen des ersten Jahres.

Gynura bicolor (Willd.) DC.

Im weiteren Verlauf werden die TS-Gehalte (%) von *Gynura* aus dem ersten und zweiten Anbaujahr dargestellt (Tab. 5). Die TS-Gehalte von *Gynura* aus Kurzzeitbelichtung konnten durch die versuchsbedingt begrenzte Pflanzenanzahl nicht bestimmt werden.

Tab. 5: Trockensubstanzgehalte von Gynura

	TS in %	
	1. Jahr Langzeit	2. Jahr Langzeit
SGP	8,51 ± 0,24	5,93 ± 0,36
PAR	7,96 ± 0,05	5,96 ± 0,10
FGC	7,47 ± 0,36	5,91 ± 0,18
INT	8,04 ± 0,13	6,02 ± 0,27
PER	7,60 ± 0,20	6,06 ± 0,90

Tab. 5 zeigt im Vergleich mit SGP, dass im ersten Jahr der Untersuchung durch eine Belichtung der TS-Gehalt der Gynura-Varianten abnimmt. So weist SGP einen TS-Gehalt von 8,51% auf. INT (8,04%) und PAR (7,96%) liegen ebenso wie PER (7,60%) und FGC (7,47%) unter diesem Wert.

Es ist deutlich zu erkennen, dass sich der Gehalt an TS von Gynura im zweiten Anbaujahr durch eine Langzeitbelichtung nicht verändert. Alle Varianten kommen auf einen TS-Gehalt von ca. 6% und liegen unter den Werten des ersten Jahres.

4.3 Testsysteme zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität (AK)

4.3.1 Xanthinoxidase (XOD) -Testsystem

Das XOD-System ist ein Modell für schädigende Prozesse bei ischämischen Zuständen und der folgenden Reperfusion. Während der Ischämie wird die Xanthindehydrogenase zur XOD umgewandelt und die Oxidation von Harnsäure läuft unter Produktion schädlicher Nebenprodukte wie H_2O_2 und $\text{O}_2^{\bullet-}$ ab. Weiterhin kann über die Haber-Weiss-Reaktion das sehr reaktive OH^{\bullet} gebildet werden.

Superoxid-katalysierte Oxidation von Hydroxylamin (NH_2OH) zu Nitrit

$\text{O}_2^{\bullet-}$ katalysiert die Oxidation von Hydroxylamin zu Nitrit, das nach Azokupplung (Griess-Reaktion) photometrisch bei 540 nm nachgewiesen werden kann. Es wird untersucht, inwieweit die Reaktion durch die eingesetzten Extrakte gehemmt wird. Hemmt das eingesetzte Antioxidans die XOD oder reagiert es mit dem $\text{O}_2^{\bullet-}$ entsteht

weniger Nitrit. Somit kann im Vergleich zur Kontrolle (=100% Färbereaktion) die antioxidative Kapazität anhand der Farbintensität im Photometer abgelesen werden.

Spinacia oleracea L.

Abb. 17 zeigt die Wirkung phenolhaltiger Extrakte aus Spinat des ersten Anbaujahres.

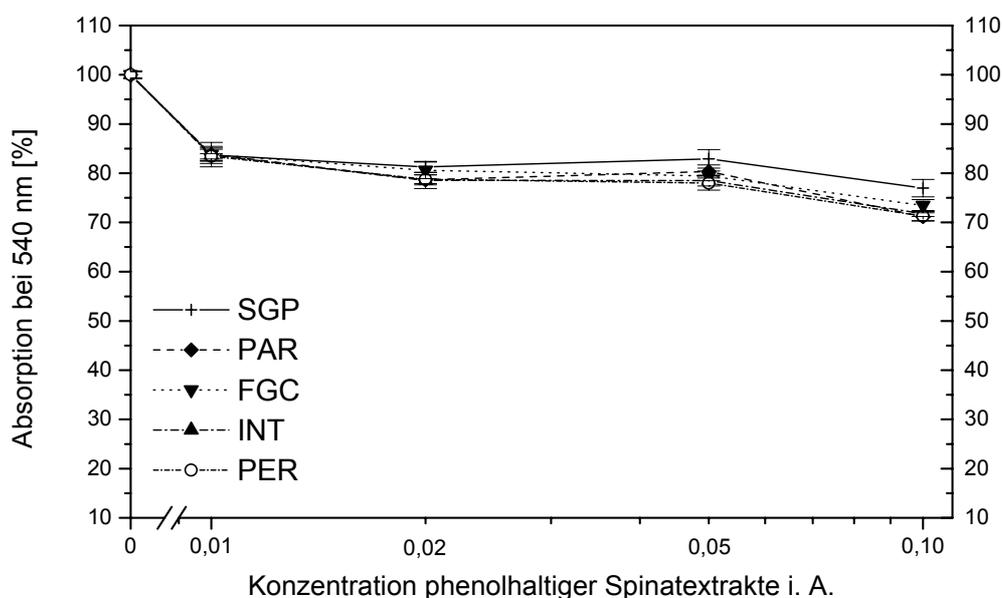


Abb. 17: Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte des 1. Anbaujahres auf die NH_2OH -Oxidation

In Abb. 17 ist zu sehen, dass alle Extrakte bei einer Konzentration i. A. von 1/100 die Reaktion nur zu 16-17% hemmen. Eine Erhöhung der Extraktkonzentrationen auf 1/50 ergibt für SGP und FGC 19%, PAR, INT und PER kommen auf 21%. Die zweitniedrigste Stufe von 1/20 i. A. erbringt bei SGP eine Wirkung von 17%. PAR (20%), FGC (21%), INT und PER (22%) führen zu keiner eindeutigen Verbesserung. Die niedrigste Verdünnungsstufe (1/10) erreicht bei den Belichtungsvarianten PAR, FGC, INT und PER nun eine Hemmung von 27-29%. SGP bewegt sich mit 23% leicht darunter.

Aus Abb. 18 und Abb. 19 ist der Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte aus Lang- und Kurzzeitbelichtung des zweiten Jahres zu entnehmen.

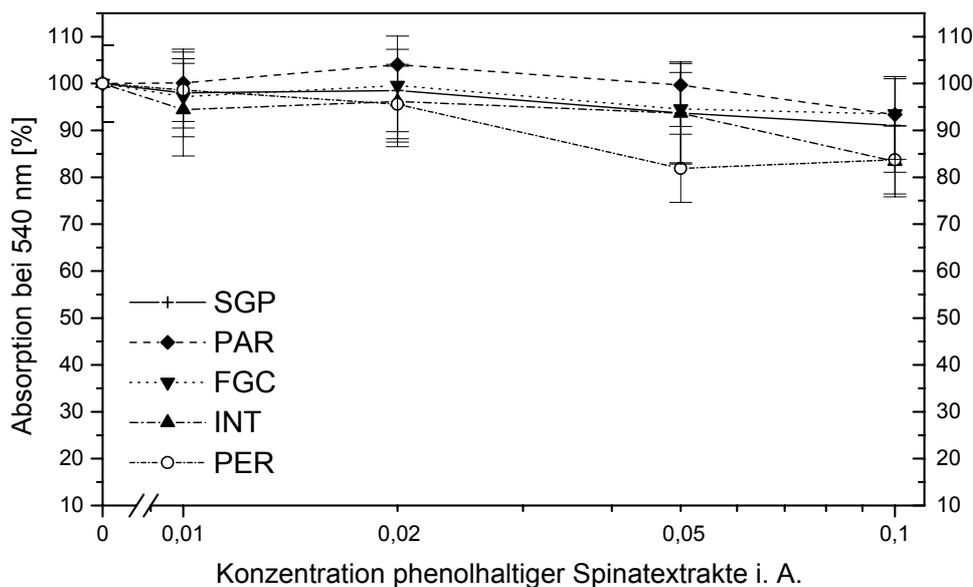


Abb. 18: Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die NH_2OH -Oxidation

Aus Abb. 18 kann keine eindeutige konzentrationsabhängige Wirkung für die eingesetzten Phenolextrakte abgeleitet werden. Bei einer Konzentration von 1/100 im Ansatz zeigen die Extrakte keinen deutlichen Einfluss (PAR 0%, PER 1%, SGP 2%, FGC 3% und INT 6%). Dies wird in der Konzentration i. A. von 1/50 mit PAR (leichte Stimulation mit + 4%), FGC (0%), SGP (2%), INT und PER (4%) bestätigt. Erst ab 1/20 i. A. wird die Hemmwirkung etwas besser. PAR beeinflusst hier die Reaktion nicht (0%). SGP, FGC und INT sind mit 6% Hemmung schlechter als PER (18%). Für 1/10 i. A. kann dieses Maximum nicht mehr erreicht werden (PER 16% und INT 17%). SGP hat einen Hemmwert von 9%. PAR und FGC kommen nur auf 7%. PER erreicht hier im Rahmen der Standardabweichungen den Bereich der höchsten Hemmwirkung.

Auch die Werte in Abb. 19 können für phenolhaltige Extrakte aus Kurzzeitbelichtung keine starke Wirkung auf die NH_2OH -Oxidation belegen. Fast alle Hemmwirkungen der in das Testsystem eingesetzten Extraktkonzentrationen bewegen sich innerhalb der Schwankungsbreite des Systems.

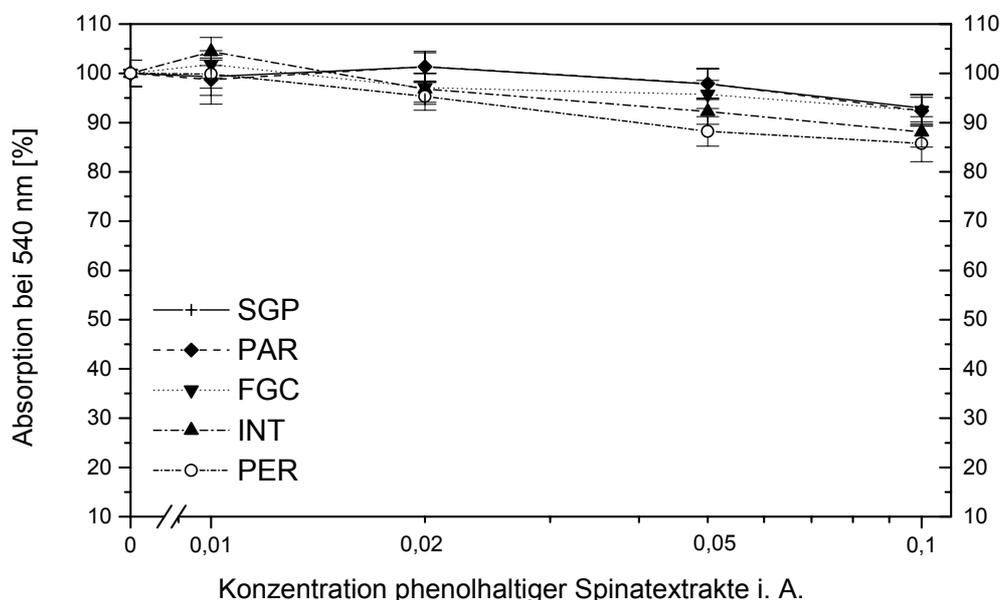


Abb. 19: Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die NH_2OH -Oxidation

In der höchsten Verdünnung von 1/100 tritt eine leichte Stimulation durch FGC (+2%) und INT (+4%) auf. PER (0%), SGP und PAR (1%) beeinflussen die Reaktion nicht. Bei 1/50 i. A. haben SGP und PAR mit +1% den geringsten Einfluss. FGC und INT verringern die Absorption um 3%, PER um 5%. 12% (PER) ist bei 1/20 i. A. die beste Hemmwirkung. Es folgen INT (8%), FGC (4%) und SGP und PAR mit 2%. PER (1/10) entfaltet mit 14% die höchste Hemmwirkung im Testsystem. INT (12%), PAR und FGC (8%) sowie SGP (7%) bewegen sich in einem niedrigeren Bereich.

Für bei der NH_2OH -Oxidation eingesetzte, phenolhaltige Spinatextrakte gilt es abschließend nur für die erste 14-tägige Anbauphase eine deutliche über 20%ige hemmende Wirkung festzuhalten (Abb. 17).

Gynura bicolor (Willd.) DC.

In den Abbildungen 20 – 23 wird der Einfluss phenol- und anthocyanhaltiger Extrakte aus *Gynura* auf die NH_2OH -Oxidation dargestellt.

Abb. 20 lässt erkennen, dass phenolhaltige *Gynura*extrakte des ersten Versuchsjahres in der Lage waren, die Reaktion konzentrationsabhängig zu hemmen.

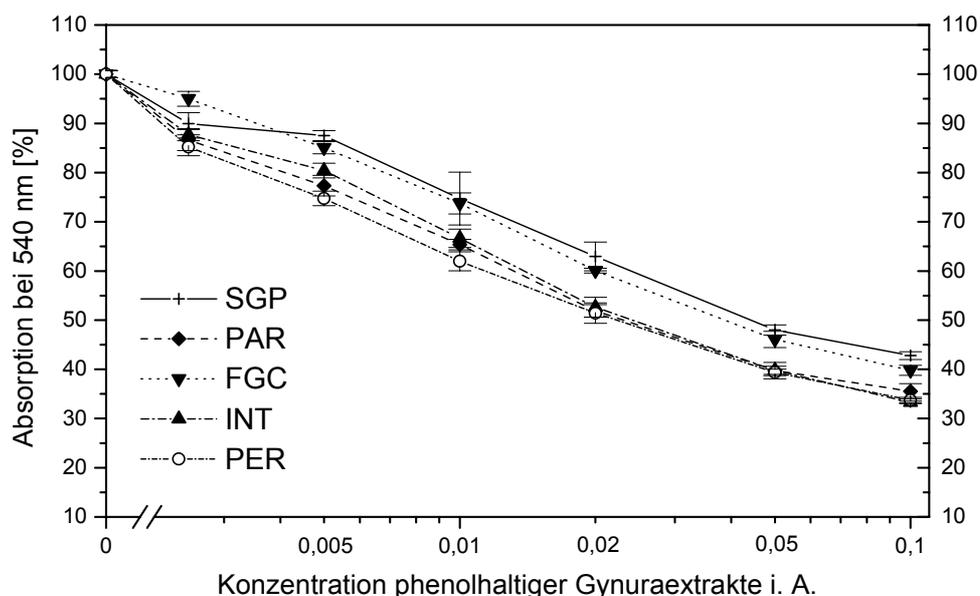


Abb. 20: Einfluss phenolhaltiger *Gynura*extrakte des 1. Anbaujahres auf die NH_2OH -Oxidation

Bei einer Konzentration i. A. von 1/400 ist für FGC nur ein 5%iger Hemmeffekt zu beobachten. SGP (10%) kann diese Leistung bereits verdoppeln. INT (12%), PAR (13%) und PER (15%) steigern diese nochmals leicht. Bei einer Konzentration i. A. von 1/200 beträgt die Hemmung für SGP 13%, wo hingegen FGC (15%), INT (20%), PAR (23%) und PER (25%) besser im System wirken. Eine Verdünnung von 1/100 i. A. liefert folgendes Ergebnis: SGP 25%, FGC 26%, INT 33%, PAR 35% und PER 38%. Für 1/50 i. A. bietet sich bei SGP (37%) als schwächste Variante ein ähnliches Bild. FGC erzielt eine 40%ige Hemmung. INT (47%), PAR (48%) und PER (49%) hemmen die NH_2OH -Oxidation stärker. Bei 1/20 i. A. pendeln sich SGP bei 52% und FGC bei 54% ein. PAR und INT kommen auf eine Hemmleistung von 60%. Diese wird nur von PER (61%) tendenziell übertroffen. Die maximale Hemmleistung von 67% erreicht INT bei 1/10 i. A.. PER (66%) und PAR (65%) bewegen sich in einem

ähnlichen Bereich. Mit 60% (FGC) bzw. 57% (SGP) sind auch hier diese beiden Varianten schlechter in ihrer Wirkung. PAR, INT und PER hemmen ab der Verdünnungsstufe 1/200 die Reaktion immer stärker als FGC und SGP.

Abb. 21 zeigt die Wirkung anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des ersten Anbaujahres auf die Oxidation von NH_2OH .

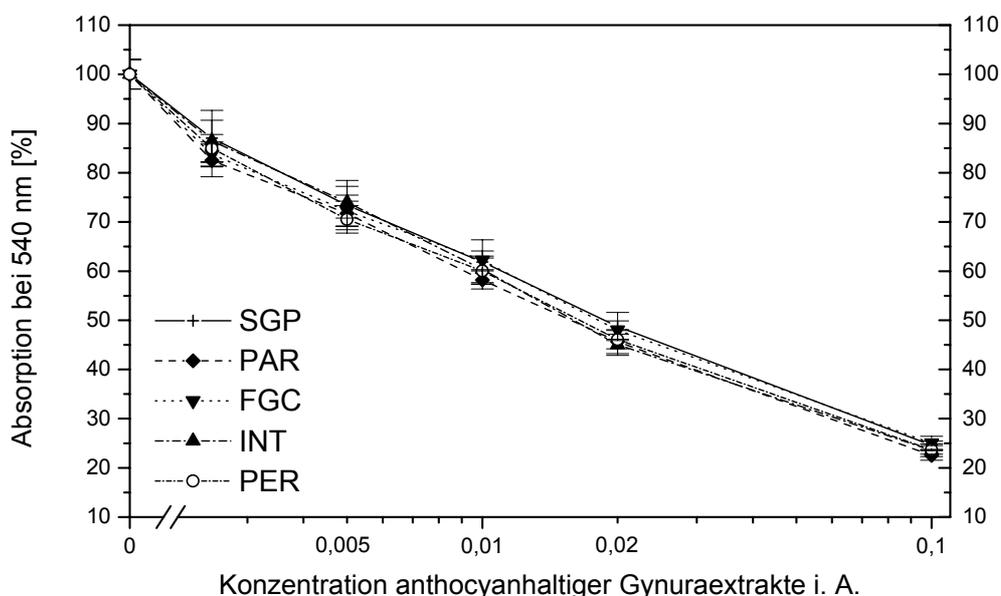


Abb. 21: Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres auf die NH_2OH -Oxidation

Alle eingesetzten anthocyanhaltigen Extrakte führen zu einer konzentrationsabhängigen Hemmung (Abb. 21). Bei einer Konzentration i. A. von 1/400 kann SGP eine Wirkung von 13% entfalten. INT (14%), PER (15%), FGC (16%) und PAR (18%) liegen im gleichen Schwankungsbereich. In der zweithöchsten Stufe (1/200) ist wie in allen weiteren Verdünnungen kein eindeutiger Unterschied bezüglich der Varianten festzustellen. Der Hemmwert (1/200 i. A.) liegt hier für INT bei 26%. SGP hemmt zu 27%, FGC zu 28%, PAR zu 28% und PER zu 30%. Bei 1/100 i. A. liegt die Hemmung zw. 38% (FGC) und 42% (PAR). In der Verdünnungsstufe von 1/50 i. A. kommt SGP auf 51%. FGC (52%), PER/PAR (54%) und INT mit 55% bewegen sich leicht über diesem Wert. Die stärkste Wirkung von 78% wird bei einer Konzentration von 1 zu 10 im Ansatz von PAR entfaltet. FGC und SGP hemmen um 3%, INT und PER um 2% schlechter.

Im Vergleich zwischen obigen Abb. 20 und Abb. 21 gilt, dass die anthocyanhaltigen Gynuraextrakte die Reaktion um ca. 10-15% besser als die phenolischen hemmen. Ein Unterschied zwischen den Varianten, wie er bei den phenolhaltigen Extrakte erkennbar ist, existiert nicht.

Abb. 22 hält den Einfluss phenolhaltiger Extrakte aus Gynura der Langzeitbelichtung des zweiten Anbaujahres fest.

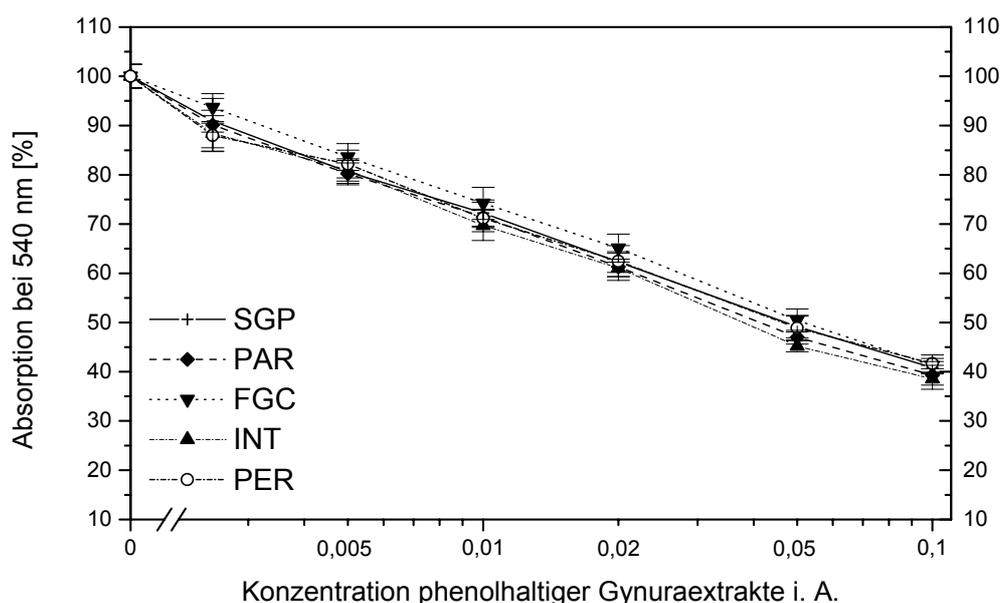


Abb. 22: Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die NH_2OH -Oxidation

In Abb. 22 ist zu sehen, dass die Phenolextrakte auch hier in Abhängigkeit ihrer Konzentration im Testsystem wirken. Konzentrationen i. A. von 1/400 können für FGC eine 6%ige Hemmung bewirken. SGP (9%), PAR (10%), INT und PER (12%) steigern diesen Effekt. Bei 1/200 i. A. erreicht FGC 16%. PER (18%), INT/SGP (19%) und PAR (20%) sind tendenziell etwas besser. Die nächste Stufe (1/100) zeigt in der Reihenfolge ihrer Hemmwirkung folgendes: FGC (26%) < SGP (28%) < PAR/PER (29%) < INT (30%). Für 1/50 i. A. hat wiederum FGC mit 35% Hemmung den geringsten Einfluss. Es folgt SGP/PER mit 38% und PAR/INT mit 39%. In der zweithöchsten Konzentration i. A. (1/20) ist die Hemmleistung von FGC 50%. SGP und PER kommen auf 51%, PAR auf 53% und INT auf 55%. Die größte Inhibition im System erreicht mit 62% (INT) die Verdünnungsstufe von 1/10 i. A.. PAR (61%), SGP

(59%), FGC (59%) und PER (58%) liegen dicht dahinter. Eine eindeutige Differenzierung hinsichtlich der Hemmwirkung der einzelnen Varianten ist in keiner Konzentration möglich.

Abb. 23 verdeutlicht den Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte der Kurzzeit belichteten Versuchsvarianten.

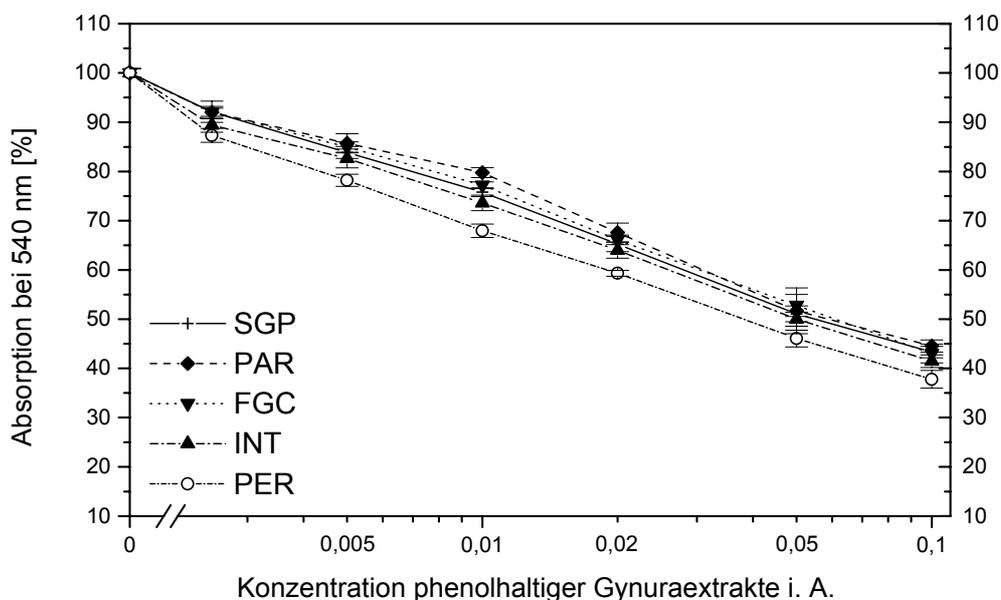


Abb. 23: Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die NH_2OH -Oxidation

In dieser Grafik (Abb. 23) ist zu erkennen, dass alle Extrakte eine deutliche Wirkung im Testsystem zeigen. Die höchste Verdünnungsstufe (1/400) hat mit 8% Hemmeffekt für SGP, PAR und FGC die niedrigste Wirkung im System. INT (11%) und PER (13%) reagieren etwas besser. Die permanente UV-Belichtung (PER) bewirkt ab einer Konzentration i. A. von 1/200 bis zum Ende der Konzentrationsreihe eine bessere Hemmung im Vergleich zu den anderen Varianten. Bei 1/200 i. A. erreicht PER 22%. INT ist mit 17% die nächste Variante. SGP (16%), FGC (15%) und PAR (14%) haben einen etwas größeren Abstand. Dieser vergrößert sich bei 1/100 i. A.: PAR (20%) < FGC (23%) < SGP (24%) < INT (26%) < PER (32%). Für 1/50 i. A. beträgt die Hemmung für PAR 32%. Es folgen FGC (34%), SGP (35%), INT (36%) und PER (41%). Ein Abstand bleibt auch bei 1/20 i. A. erhalten. Hier kommt FGC auf 47% Hemmung. PAR (48%), SGP (49%), INT (50%) und PER (54%) verbessern die Leistung nochmals.

Die absoluten Hemmeffekte der 1/10 Verdünnungen sind mit ca. 56% (PAR) bis 62% (PER) mit dem der Langzeitbelichtung zu vergleichen. SGP/FGC (57%) und INT (59%) liegen zwischen diesen Werten.

Die nächsten beiden Abbildungen beschreiben die Wirkung anthocyanhaltiger Gynuraextrakte der Langzeit- (Abb. 24) und Kurzzeitbelichtung (Abb. 25) des zweiten Anbaujahres auf die NH_2OH -Oxidation.

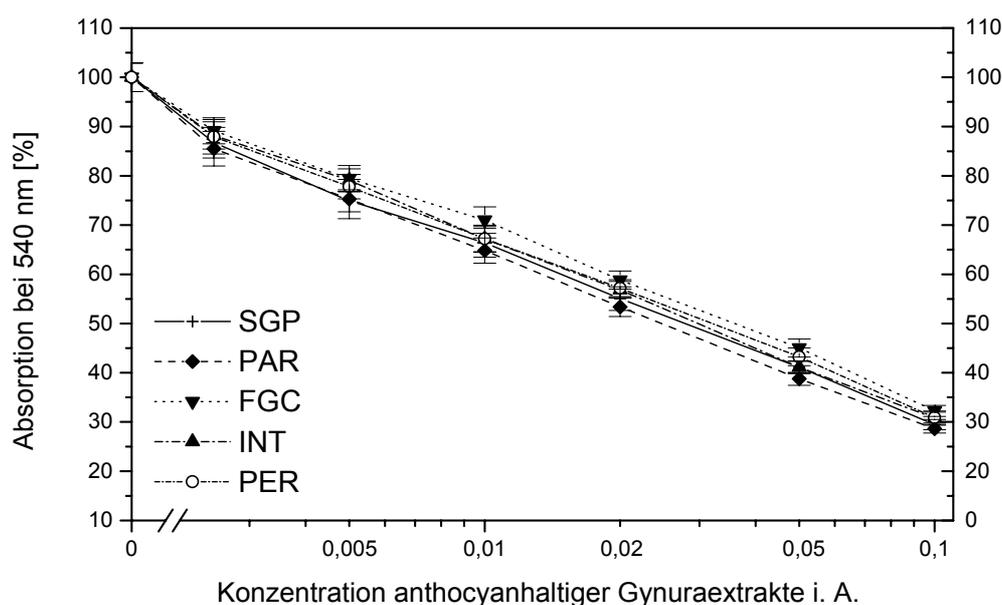


Abb. 24: Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die NH_2OH -Oxidation

Auch anthocyanhaltige Gynuraextrakte der Langzeitbelichtung (Abb. 24) führen zu einer von der Extraktkonzentration abhängigen Wirkungskurve. Je niedriger die Verdünnungsstufe, desto stärker ist die erzielte Hemmung im Testsystem. Bei 1/400 i. A. wird bei FGC eine Hemmung von 11% festgestellt. INT und PER erreichen beide eine Wirkung von 12%. SGP (13%) und PAR (15%) sind leicht besser. In der Verdünnungsstufe 1/200 i. A. kommen FGC und INT auf 21%. PER erzielt 22%, SGP und PAR 25%. Werden die Extrakte in einer Konzentration i. A. von 1/100 in das Testsystem eingesetzt, ergibt sich folgende Reihe: FGC (29%) < INT = PER (33%) < SGP (34%) < PAR (35%). Die drittniedrigste Stufe von 1/50 i. A. stellt für FGC eine 41%ige Hemmung fest. Es folgen PER/INT (43%), SGP (45%) und PAR (47%). Bei 1/20 i. A. kann FGC eine Inhibition von 55% erlangen. PER kommt auf 57%, INT und

SGP auf 59%. Besser ist PAR mit 61% Wirkung. Die höchste Hemmwirkung hat mit 71% PAR/SGP bei einer Konzentration von 1/10 i. A.. INT und PER erreichen hier 69%. FGC liegt mit 68% Hemmung knapp darunter. Zwischen den Varianten gibt es in keiner Verdünnungsstufe einen deutlichen Unterschied. Tendenziell bewegen sich FGC und PAR mit dem größten Abstand zueinander. Die Hemmwerte der anthocyanhaltigen Extrakte liegen um ca. 10% über dem der entsprechenden Phenolextrakte.

Abb. 25 zeigt die Untersuchungsergebnisse der Kurzzeitbelichtung bei anthocyanhaltigen Extrakten.

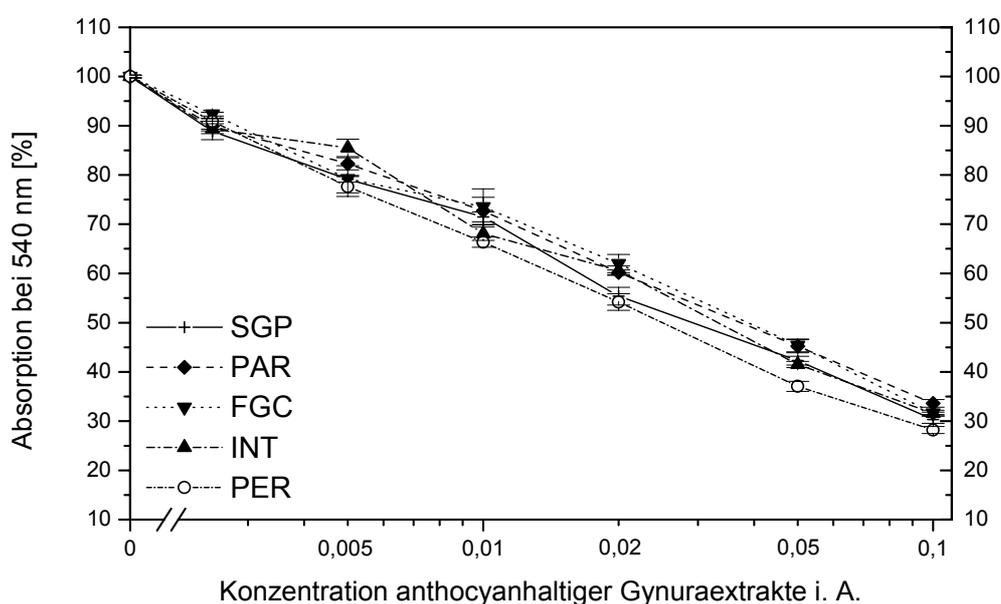


Abb. 25: Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die NH_2OH -Oxidation

Bei einer Verdünnung von 1/400 i. A. liegen alle Werte zwischen 8% (FGC) und 11% (SGP/INT). PAR erreicht 10%, PER 9%. Für die Konzentration von 1/200 erhöht sich die Hemmung: INT (15%), PAR (18%), SGP/FGC (21%) und PER (22%). Für eine Konzentration i. A. von 1/100 sind FGC und PAR (27%) die schlechtesten Varianten. Die anderen (SGP 29%, INT 32% und PER 34%) sind stärker in ihrer Hemmwirkung. Die Werte aller Varianten streuen aber stark, so dass nicht von Unterschieden hinsichtlich der Hemmleistungen ausgegangen werden kann. Erst bei der 1/50 Verdünnung ist ein leichter Unterschied zu beobachten. FGC (38%), INT (39%) und PAR (40%) hemmen die Reaktion weniger als SGP (45%) und PER (46%). Bei 1/20

i. A. hat PER mit 63% den größten Effekt. INT (59%) und SGP (58%) pendeln sich etwas niedriger ein. PAR und FGC liegen mit 55% nochmals darunter. Die höchste Konzentration i. A. (1/10) bewirkt wiederum eine Steigerung der Hemmung auf 72% (PER), die übrigen Varianten (SGP 70%, FGC/INT 68% und PAR 66%) liegen unter diesem Wert.

Oxidation von α -Keto- γ -S-Methyl-Buttersäure (KMB) zu Ethylen

KMB zerfällt nach dem Angriff durch reaktive Sauerstoffspezies (v.a. OH^\bullet) unter Freisetzung von Ethylen. Das durch die Reaktion entstandene Gas wird mittels Headspace-Technik gaschromatographisch nachgewiesen. Die entstandene Menge an Ethylen ist das Maß für die AK der in das Testsystem eingesetzten Extrakte. Je weniger Ethylen entsteht, desto besser wirkt das Antioxidans.

Spinacia oleracea L.

Abb. 26 stellt die Wirkung phenolhaltiger Extrakte aus Spinat des ersten Anbaujahres auf die Oxidation von KMB dar.

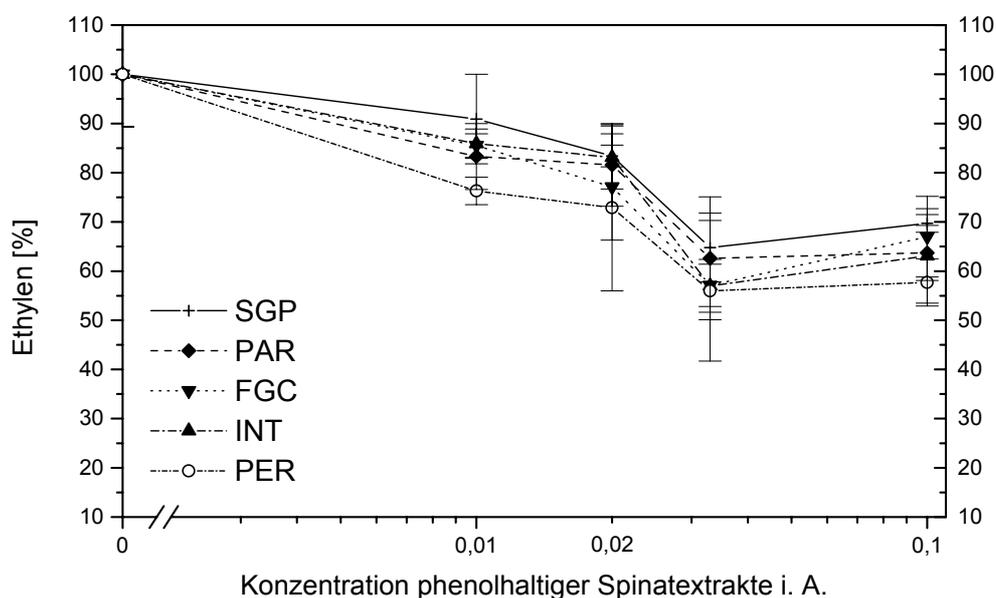


Abb. 26: Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte des 1. Anbaujahres auf die KMB-Oxidation

Die eingesetzten Extrakte sind in der Lage die Reaktion zu hemmen. Die Wirkung der Extrakte variiert bei 1/100 i. A. von 9% (SGP) über 14% (INT), 15% (FGC) und 17% (PAR) bis zu 24% (PER). Eine Extraktkonzentration von 1/50 i. A. bewirkt bei

SGP und INT eine Hemmwirkung von 17%. PAR kommt auf 18% Hemmung. FGC (23%) und PER (27%) können die Wirkung nochmals steigern. Ab einer Konzentration i. A. von 1/30 erreicht die Hemmkurve ein Plateau. Die maximale Hemmleistung wird durch PER (44%) erreicht. Mit 43% liegen FGC und INT dicht dahinter. PAR (37%) und SGP (35%) erreichen diese Werte nicht. Durch eine Erniedrigung der Verdünnung auf 1/10 i. A. lässt sich das Hemmniveau nicht mehr steigern. Die Werte schwanken zwischen 42% (PER) und 30% (SGP) Hemmung. FGC (33%), PAR (36%) und INT (37%) bilden die Mitte.

Abb. 27 hält die Wirkung phenolhaltiger Spinatextrakte der Langzeitbelichtung (zweites Anbaujahr) graphisch fest.

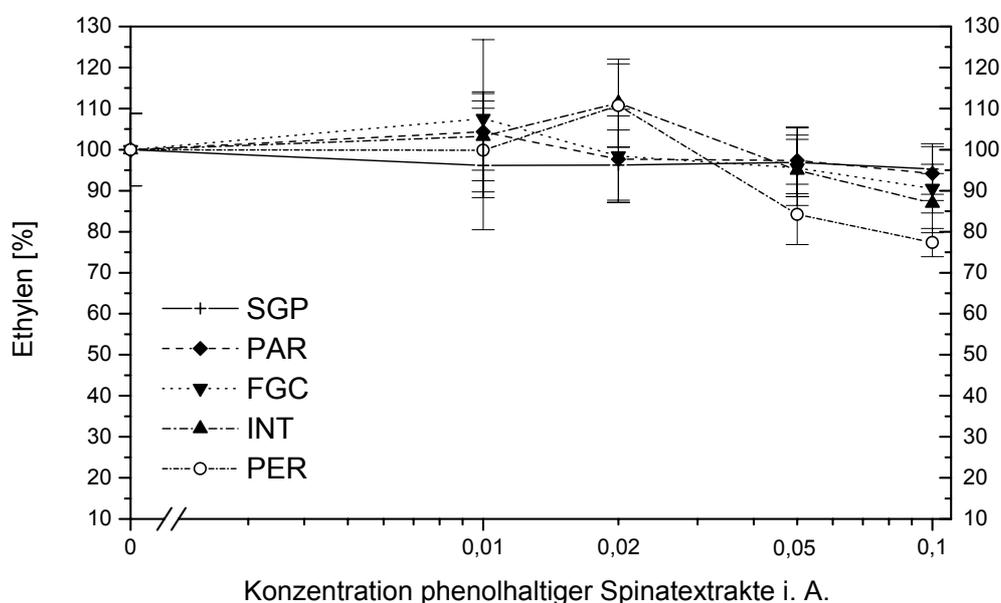


Abb. 27: Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die KMB-Oxidation

Für die Verdünnungsstufen 1/100 und 1/50 kann keine Hemmung im Testsystem beobachtet werden (Abb. 27). Bei einer Konz. i. A. von 1/100 stimulieren FGC (+8%), PAR (+4%) und INT (+3%) die Reaktion leicht. PER (0%) beeinflusst die Reaktion nicht. SGP kommt auf einen Hemmeffekt von 4%. Bei 1/50 i. A. erzielen INT und PER Werte von +11%. FGC hemmt wie PAR die Reaktion zu 2%. SGP zeigt wieder 4% Einfluss. Bei einer Konzentration von 1/20 i. A. bewirkt PER einen 16%igen Hemmeffekt. Alle anderen Varianten (INT 5%, FGC 4% und PAR/SGP 3%) sind

deutlich schlechter in ihrer Wirkung. Der Einfluss von PER erhöht sich bei 1/10 i. A. auf 23%. Die Einflüsse von SGP (5%), PAR (6%), FGC (10%) und INT (13%) bewegen sich hier im Rahmen der Standardabweichungen unterhalb von PER.

Beim Einsatz phenolhaltiger Spinatextrakte der Kurzzeitbelichtung (Abb. 28) erreichen Extrakte in der Verdünnungsstufe 1/100 i. A. keine hemmende Wirkung bei der Oxidation von KMB. SGP (+1%), PAR (+2%) und FGC (+4%) liegen über den 100% der Kontrollreaktion. INT (0%) hat keinen Einfluss und PER nur einen Wert von 1% unterhalb der Kontrolle.

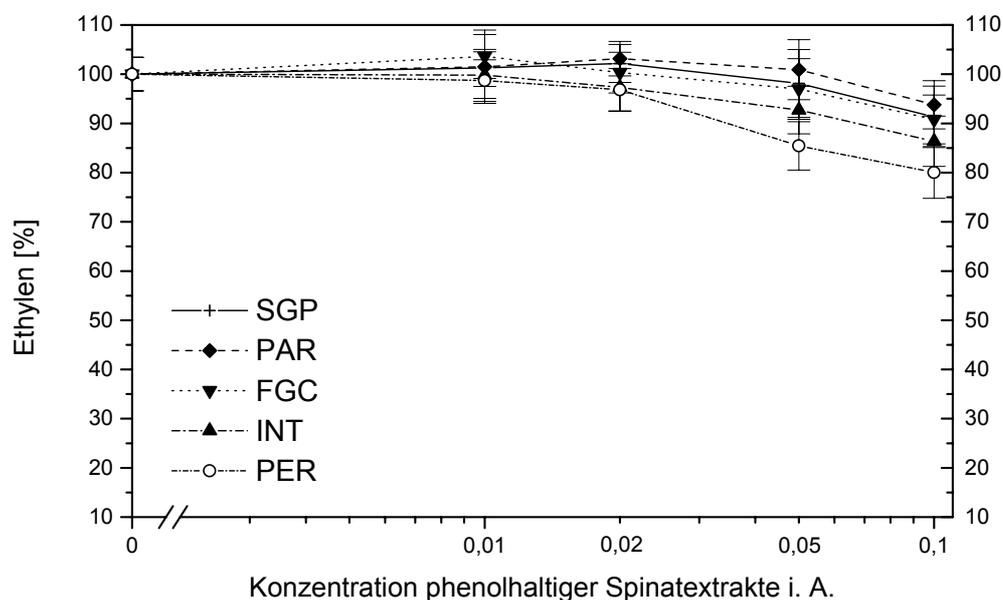


Abb. 28: Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die KMB-Oxidation

Eine lediglich schwache Änderung ergibt eine Verdünnung der Extrakte von 1/50 i. A.. SGP und PAR kommen hier auf +2% bzw. +3% im Vergleich zur Kontrolle. FGC (0%) zeigt keine Reaktion. INT und PER liegen 3% unter dem Anfangswert von 100%. Einen deutlicheren Effekt bewirkt eine Konzentration i. A. von 1/20. Hier erreicht PER eine Hemmung von 15% und INT kommt auf 8%. FGC (3%), SGP (2%) und PAR (+1%) können nur eine leichte Reaktion hervorrufen. In der höchsten eingesetzten Extraktmenge (1/10 i. A.) hemmen PAR (6%) und SGP/FGC (9%) die Ethylenproduktion weniger als INT (14%) und PER (20%). Die Schwankungsbreiten und die Standardabweichungen lassen jedoch keine eindeutige Unterscheidung

zwischen SGP, PAR, FGC und INT zu. PER hemmt die Reaktion in den Verdünnungsstufen 1/20 und 1/10 tendenziell am besten.

Gynura bicolor (Willd.) DC.

Abb. 29 stellt nun den Einfluss phenolhaltiger Extrakte aus *Gynura* des ersten Anbaujahres auf die Oxidation von KMB dar.

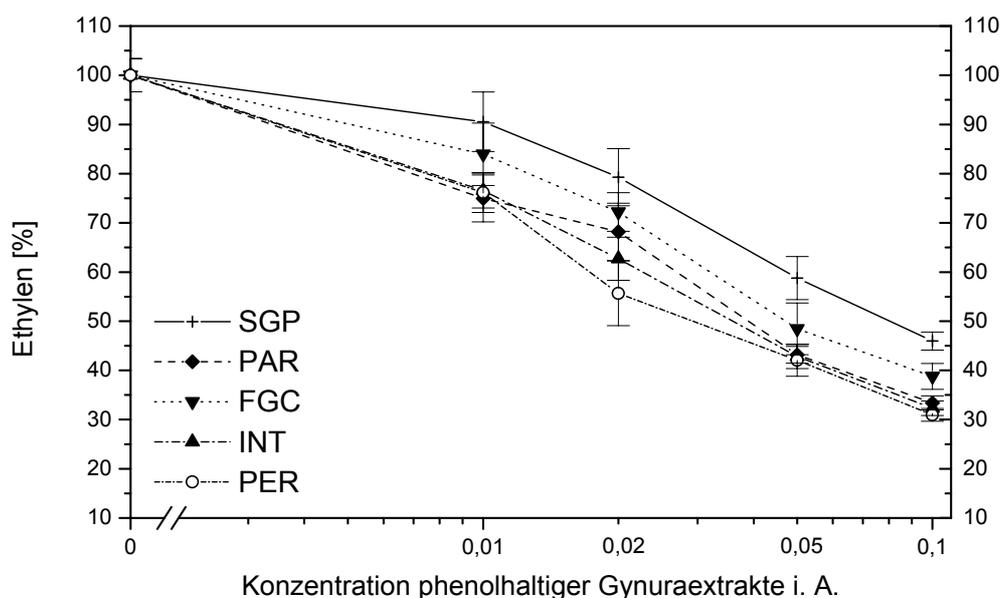


Abb. 29: Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres auf die KMB-Oxidation

Eine konzentrationsabhängige Wirkung der in das Testsystem eingesetzten Gynuraextrakte ist zu erkennen. SGP hemmt mit 9%, 21%, 41% und 54% in allen Verdünnungsstufen (1/100, 1/50, 1/20 und 1/10 i. A.) die Reaktion am geringsten. FGC (16, 28, 52 und 61%) hat im Vergleich zu SGP eine immer um etwa 7-11% bessere Hemmwirkung. Bereits in der Konzentration von 1/100 i. A. können PAR (25%), INT (23%) und PER (24%) eine stärkere Hemmwirkung entfalten. In der Verdünnung 1/50 erhöhen sich die Hemmleistungen dieser Varianten auf PAR (32%), INT (37%) und PER (44%). Bei 1/20 i. A. ist der Abstand zu SGP und FGC am größten. PAR und INT erreichen eine Hemmung von 57% und PER von 58%. In der höchsten Konzentration i. A. von 1/10 kommen PAR, INT und PER auf Hemmwerte von 67%, 68% und 69%. Der Abstand zu SGP und FGC bleibt hier konstant. Eine Ausnahme stellt die 1/50 Verdünnung dar. Hier verringert FGC bei einer Hemmung von 28% seinen Abstand zu SGP und PAR (32%). PER hingegen

vergrößert mit 44% den Abstand leicht. INT bewegt sich mit ca. 37% Hemmung innerhalb der gewohnten Differenz.

In Abb. 30 ist die Wirkung anthocyanhaltiger Gynuraextrakte aus dem ersten Anbaujahr dargestellt.

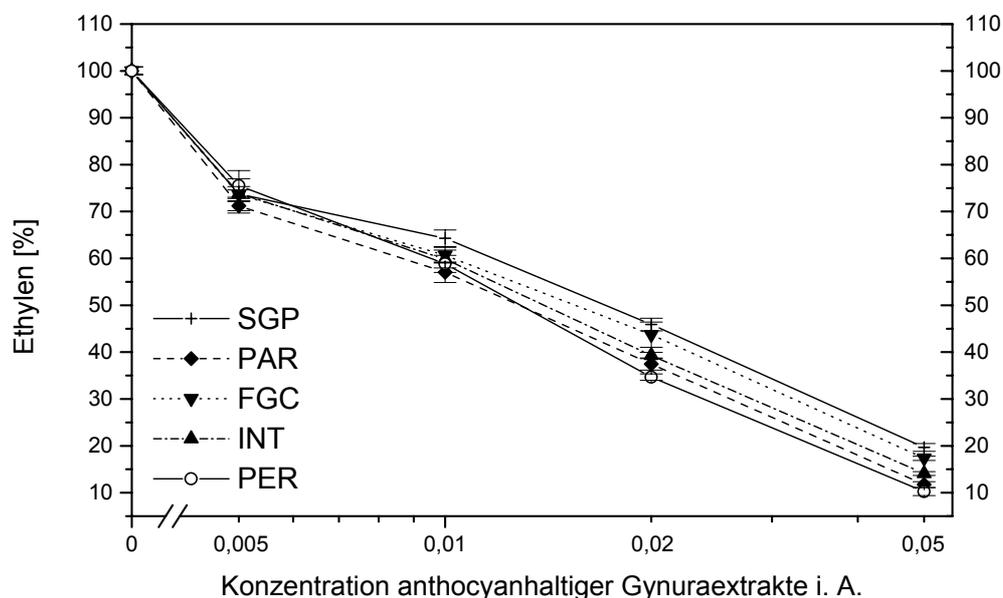


Abb. 30: Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres auf die KMB-Oxidation

In dieser Dosis-Wirkungskurve wird als niedrigste Konzentration i. A. eine Verdünnung von 1/200 eingesetzt. Durch die versuchstechnisch bedingte Eingrenzung auf 4 Konzentrationen wird so die Hemmwirkung anthocyanhaltiger Extrakte besser abgebildet. Alle Extrakte hemmen in dieser Verdünnungsstufe die Reaktion in einem engen Bereich (PER 25%, SGP, FGC und INT 26% sowie PAR 29%). In der Verdünnungsstufe 1/100 i. A. zeigen die belichteten Varianten PAR (43%), PER (41%), INT (40%) und FGC (39%) eine etwas bessere Wirkung als SGP (36%). Ab einer Konzentration i. A. von 1/50 erreichen SGP (54%) und FGC (56%) eine weniger starke Hemmung als INT (61%) und PAR (63%). PER (65%) kann diesen Abstand nochmals vergrößern. PER und PAR erzielen bei 1/20 i. A. eine 90% bzw. 88%ige Hemmwirkung im System. Für INT kann eine 86%ige Hemmung festgehalten werden. Danach kommen FGC mit 83% und SGP mit 80%. Diese beiden Varianten hemmen also in den Verdünnungsstufen 1/100, 1/50 und 1/20 i. A. die Reaktion am geringsten.

Abb. 31 zeigt die Hemmeffekte phenolhaltiger Gynuraextrakte der Langzeitbelichtung des zweiten Anbaujahres während der KMB-Oxidation zu Ethylen.

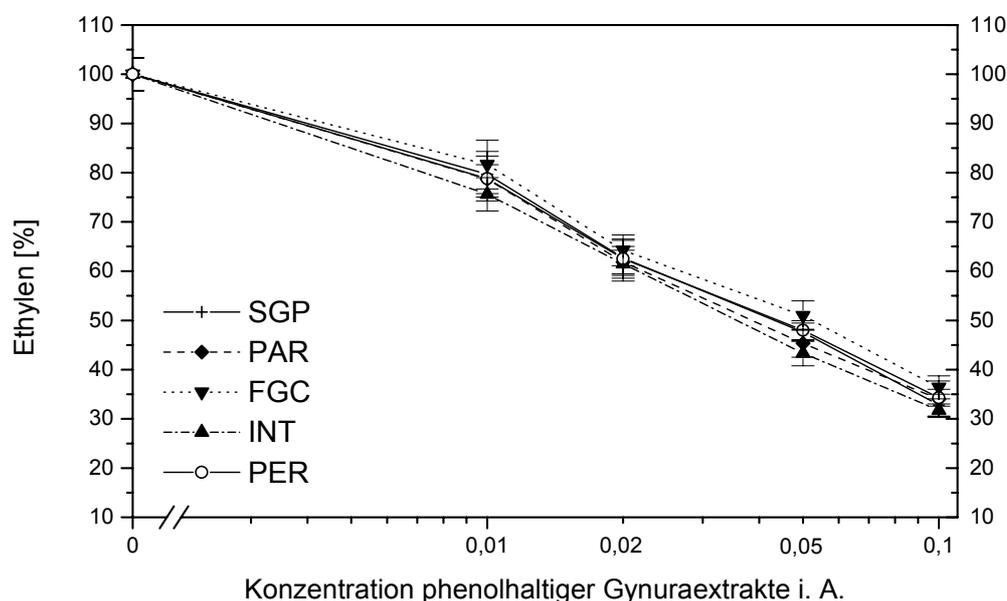


Abb. 31: Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die KMB-Oxidation

Es ist zu sehen, dass alle eingesetzten Extrakte in Abhängigkeit ihrer Dosen in der Lage sind, die Reaktion zu hemmen. In der Verdünnungsstufe 1/100 i. A. zeigen INT und FGC mit 24% und 18% den tendenziell größten Unterschied zueinander. SGP erreicht eine Hemmung von 20%. PAR und PER können die Ethylenbildung um 21% verringern. Bei 1/50 i. A. hat FGC mit 36% den geringsten Einfluss. SGP (37%), PER/PAR (38%) und INT (39%) liegen leicht über diesem Wert. In der zweithöchsten Konzentration i. A. (1/20) erzielen FGC (49%) und SGP/PER (52%) niedrigere Hemmwerte als PAR (55%) und INT (57%). Werden die Extrakte in der Konzentration i. A. von 1/10 in das Testsystem eingesetzt, hat INT (68%) gefolgt von SGP (67%) das beste Hemmergebnis. PAR und PER erreichen eine Hemmung von 66%. FGC erzielt mit 64% das schlechteste Ergebnis. Eine eindeutige Unterscheidung der untersuchten Varianten ist aufgrund der Standardabweichungen jedoch nicht möglich.

Den Sachverhalt für phenolhaltige Extrakte aus Gynura der Kurzzeitbelichtung stellt Abb. 32 dar.

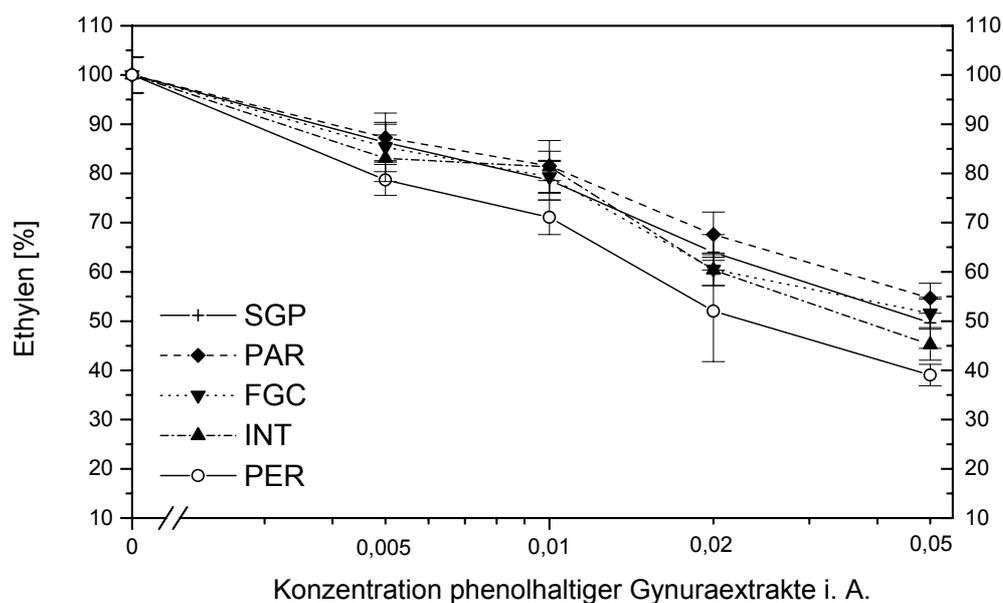


Abb. 32: Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die KMB-Oxidation

In der höchsten Verdünnungsstufe von 1/200 i. A. pendeln sich PAR (13%), SGP (14%) und FGC (15%) auf ähnlichem Niveau ein. INT (17%) und PER (21%) erreichen höhere Werte. Für Extrakte der Konzentrationen 1/100 i. A. bewegen sich INT (19%), PAR (19%), SGP (21%) und FGC (21%) in einem niedrigeren Bereich als PER (29%). Bei 1/50 i. A. liegt PER bei 48%, SGP, FGC und INT sind im Bereich von 36% bis 40%. PAR erzielt nur eine 32%ige Wirkung. Es ist zu erkennen, dass PER tendenziell in allen Verdünnungsstufen die Reaktion am besten hemmt. Der deutlichste Unterschied bezüglich den anderen Varianten ist bei einer Konzentration i. A. von 1/20 festzuhalten. Hier erzielt PER eine Hemmung von 61%. Es folgen INT mit 55%, SGP (50%), FGC (48%) und PAR mit 45%.

Abb. 33 gibt den Einfluss anthocyanhaltiger Extrakte aus Langzeit belichtetem Gynura des zweiten Anbaujahres wider.

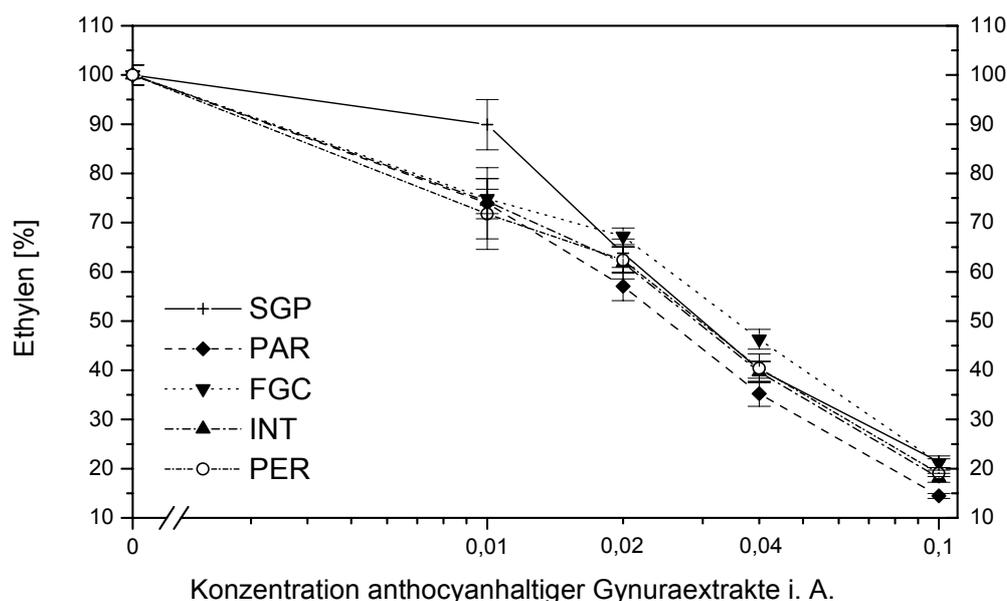


Abb. 33: Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die KMB-Oxidation

In Abb. 33 ist bei einer Konzentration von 1/100 i. A. schon eine 25%ige (FGC), 26%ige (INT und PAR) und 28%ige (PER) Hemmung zu sehen. SGP hat in dieser Verdünnungsstufe nur einen Einfluss auf die Reaktion von 10%. In der nächsten Stufe von 1/50 i. A. erreicht SGP (36%), INT und PER (38%) haben das gleiche Niveau. FGC (33%) und PAR (43%) unterscheiden sich. FGC (54%) bleibt bei 1/25 i. A. der schlechteste Extrakt. SGP, INT und PER bewegen sich weiter auf einer Linie und bewirken eine 60%ige Hemmung. PAR hemmt auch hier mit 65% die Oxidation von KMB am besten. In der höchsten Konzentration i. A. (1/10) ist wiederum PAR mit 86% am effektivsten. Die übrigen Varianten (INT 82%, PER 81%, FGC und SGP 79%) bewegen sich in einem etwas niedrigeren Bereich. Es ist also zu beobachten, dass ab 1/50 i. A. PAR am besten antioxidativ wirkt. Eine deutliche Differenz kann in den Konzentrationen 1/50 und 1/25 i. A. zwischen PAR als beste und FGC als schlechteste Variante festgestellt werden.

Abb. 34 stellt die Hemmwirkung anthocyanhaltiger Gynuraextrakte aus der Kurzzeitbelichtung graphisch dar.

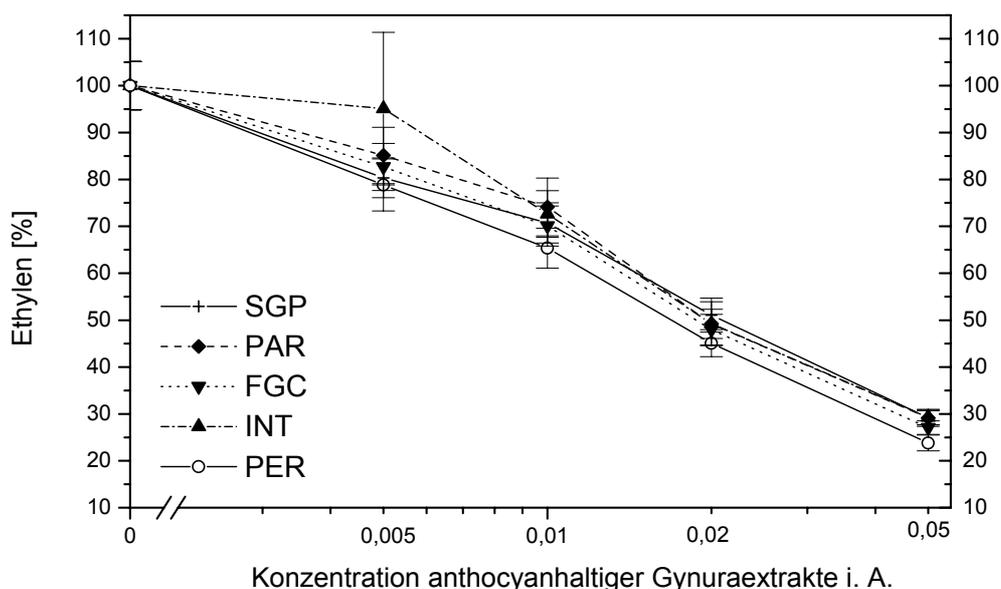


Abb. 34: Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die KMB-Oxidation

Alle Extrakte zeigen einen konzentrationsabhängigen Einfluss auf die Reaktion. Bei der höchsten Verdünnungsstufe (1/200) schwanken die Werte sehr stark um die jeweiligen Standardabweichungen. Somit lässt sich kein Unterschied der Varianten in den Hemmbereichen von 5% (INT), 15% (PAR), 17% (FGC), 20% (SGP) und 22% (PER) feststellen. Eindeutige Differenzen der Varianten untereinander sind bei 1/100 i. A. nicht vorhanden. Sie decken einen Bereich von 26% (PAR), INT (27%) bis SGP (29%) und FGC (30%) ab. PER erreicht mit 35% die beste Hemmwirkung. SGP (49%), PAR/INT (51%), FGC (52%) nähern sich in der nächsten Verdünnung (1/50 i. A.) weiter an. Nur PER kann mit 55% einen etwas deutlicheren Einfluss ausüben. Bei einer Konzentration i. A. von 1/20 bleibt PER mit 76% Hemmung tendenziell weiter besser als die restlichen Varianten (FGC 73%, SGP, PAR und INT 71%).

Harnsäurebestimmung im XOD-Testsystem

Die Xanthinoxidase setzt Xanthin zu Harnsäure und O_2^- um. Der Einfluss eines eingesetzten Extraktes auf die XOD-Aktivität kann folglich über die Bildung des Produkts Harnsäure gemessen werden. In der HPLC wird das Verhältnis von produzierter Harnsäure zu Xanthin untersucht. Bleibt dieses Verhältnis im Vergleich zur Kontrolle ohne Extrakt stabil, kann davon ausgegangen werden, dass der Extrakt die XOD-Aktivität nicht beeinflusst.

Ob sich die Harnsäureproduktion durch den Einsatz ausgewählter phenolhaltiger Gynura- und Spinatextrakte mit einer Konz. i. A. von 10% ändert, ist in Abb. 35 ersichtlich. Für die Harnsäurebestimmung werden aufgrund der versuchsbedingt begrenzten Pflanzenanzahl nur folgende Extrakte des zweiten Anbaujahres (Langzeitbelichtung) verwendet:

A Gy SGP: anthocyanhaltige Gynuraextrakte (SGP)

A Gy PER: anthocyanhaltige Gynuraextrakte (PER)

Ph Gy PER: phenolhaltige Gynuraextrakte (PER)

Ph Sp SGP: phenolhaltige Spinatextrakte (SGP)

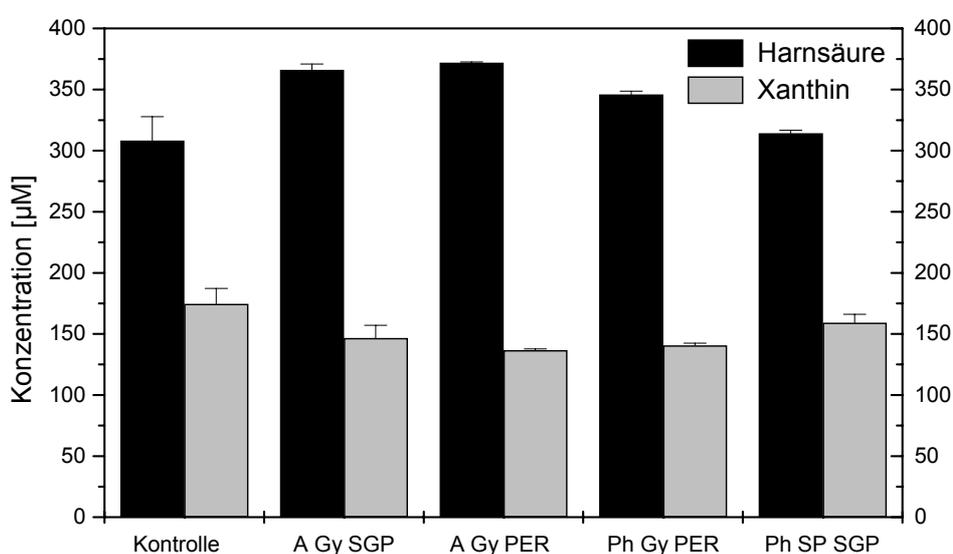


Abb. 35: Harnsäurebestimmung im XOD-System mit Extraktkonzentration i. A. 10%

Es ist zu erkennen, dass die getesteten Extrakte, im Vergleich zur Kontrollreaktion, zu einer Stimulation der Harnsäureproduktion führen. Die Stimulation erreicht bei anthocyanhaltigen Gynuraextrakten (PER) bis zu ca. 21%. SGP-Extrakte dieser Art kommen auf ca. 19%. Phenolhaltige Extrakte aus Gynura (SGP) stimulieren die Reaktion zu ca. 12%. Spinatextrakte (SPG) entwickeln nur einen leicht stimulierenden Einfluss (ca. 1%) auf die Harnsäureproduktion. Die eingesetzten Extrakte führen also nicht zu einer Hemmung der XOD.

4.3.2 2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure) (ABTS)-Testsystem

Das ABTS-Testsystem stellt ein allgemeines *in vitro* Modell zum oxidativen Stress und der Wirkung antioxidativer Substanzen dar. ABTS-Moleküle werden durch Myoglobin und H_2O_2 zum intensiv grün gefärbten ABTS-Radikalkation oxidiert, das sein Absorptionsmaximum bei 734 nm aufweist. Eine Änderung der Absorption über die Zeit wird spektrophotometrisch nachgewiesen. Je geringer die Färbung des Reaktionsansatzes, desto höher ist die AK der in das Testsystem eingesetzten Extrakte. Die absolute Hemmleistung der Extrakte wird im Folgenden immer mit der Absorptionsdifferenz (AD), angegeben in Absorptionseinheiten (AE), im Verhältnis zur Kontrollreaktion ohne Extrakt angezeigt.

In diesem Testsystem werden sowohl phenol- und anthocyanhaltige als auch carotinoidhaltige Extrakte auf ihre AK hin untersucht.

Polyphenolextrakte aus *Gynura bicolor* (Willd.) DC. und *Spinacia oleracea* L.

Spinacia oleracea L.

Abb. 36 zeigt die Wirkung phenolhaltiger Spinatextrakte des ersten Anbaujahres nach einer 14-tägigen Belichtungsperiode (Konzentration i. A.: 1/20).

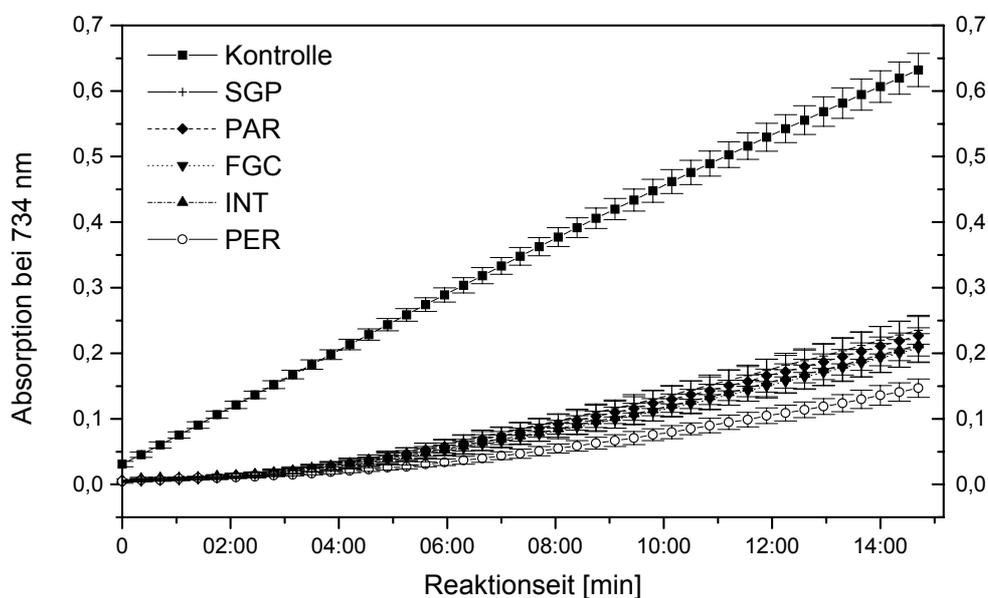


Abb. 36: Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte des 1. Anbaujahres auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/20

PER kann die Färbereaktion im Verlauf der Zeit mit einer absoluten Hemmleistung von 0,49 AE am besten verzögern. Die Varianten SGP (0,40 AE), PAR (0,41 AE), FGC (0,42 AE) und INT (0,42 AE) sind aufgrund ihrer Standardabweichungen nicht eindeutig in ihrer Wirkung zu unterscheiden. Werden die Extrakte mit höheren Verdünnungsstufen (siehe Anhang Tab. 14) in das System eingesetzt, nimmt die Hemmung mit jeder Stufe entsprechend ab. Die AD beträgt bei 1/50 i. A. für PER 0,28 AE. INT; FGC und SGP erreichen eine AD von 0,25 AE. PAR kommt auf 0,23 AE und hat damit den größten Abstand zu PER. Bei einer Konzentration von 1/100 i. A. und durchschnittlich 0,10 AE ist eine Differenzierung der Extrakte untereinander nicht möglich. Bei 1/200 i. A. verringert sich der Abstand zur Kontrollreaktion nochmals.

Abb. 37 verdeutlicht den Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte der Langzeitbelichtung des zweiten Anbaujahres bei einer Konzentration i. A. von 1/20.

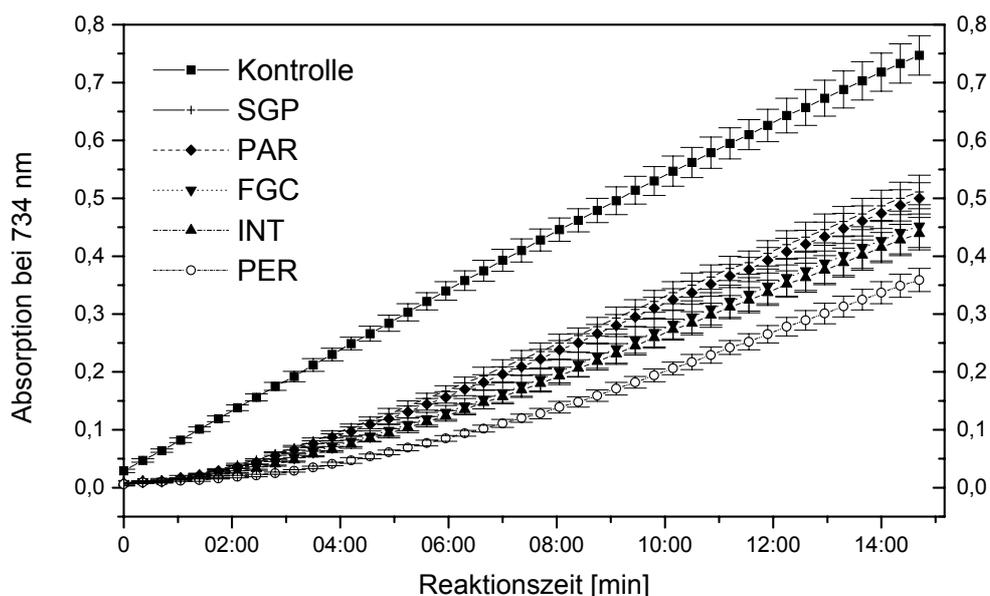


Abb. 37: Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/20

Hier wird die beste absolute Hemmung wiederum von PER mit 0,39 AE erbracht. FGC (0,30 AE) und INT (0,31 AE) liegen sehr dicht zusammen, verzögern die ABTS-Oxidation aber besser als SGP (0,24 AE) und PAR (0,25 AE). Beim Einsatz niedrigerer Verdünnungen (siehe Anhang Tab. 14) verringert sich die Hemmleistung konzentrationsabhängig. Bei 1/50 i. A. erreichen die Varianten folgende Werte: SGP

(0,12 AE), PAR (0,13 AE) und FGC sowie INT (0,15 AE). PER ist mit 0,20 AE am besten in seiner Wirkung. Weitere Konzentrationen konnten aufgrund der begrenzten Probenanzahl nicht untersucht werden.

Abb. 38 stellt die Hemmung phenolhaltiger Spinatextrakte aus Kurzzeit belichtetem Spinat des zweiten Anbaujahres mit einer Konzentration von 1/20 i. A. dar.

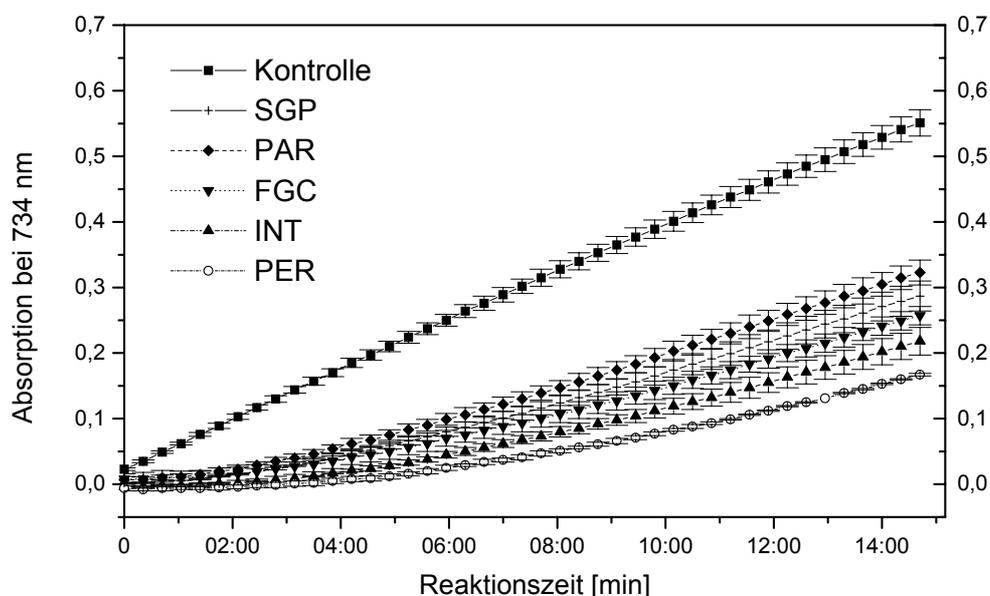


Abb. 38: Einfluss phenolhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/20

In Abb. 38 ist zu sehen, dass die Wirkung der einzelnen Extrakte unterschiedlich stark ist. PAR mit 0,23 AE und SGP (0,26 AE) sind die am wenigsten wirksamen Extrakte. Es folgen FGC mit 0,29 AE und INT mit 0,33 AE. PER zeigt durch eine AD von 0,38 AE die beste Verzögerung der Reaktion und hat den deutlichsten Abstand zu den übrigen Varianten. Eine Konzentration i. A. von 1/50 (PAR und SGP 0,11 AE; FGC 0,13 AE; INT 0,15 AE und PER 0,18 AE) ist entsprechend schwächer in ihrer Wirkung (siehe Anhang Tab. 14). Weitere Konzentrationen konnten aufgrund der begrenzten Probenanzahl nicht untersucht werden.

Gynura bicolor (Willd.) DC.

Phenolhaltige Extrakte aus *Gynura* erzielen im ABTS-Testsystem eine stärkere Hemmwirkung als Spinatextrakte. Alle im Testsystem untersuchten *Gynura*extrakte mit einer Konzentration von 1/20 i. A. führen zu einer 100%igen Hemmung der Reaktion während des 15minütigen Zeitverlaufs. Abb. 39 stellt dies exemplarisch an phenolhaltigen Extrakten aus *Gynura* des ersten Anbaujahres dar.

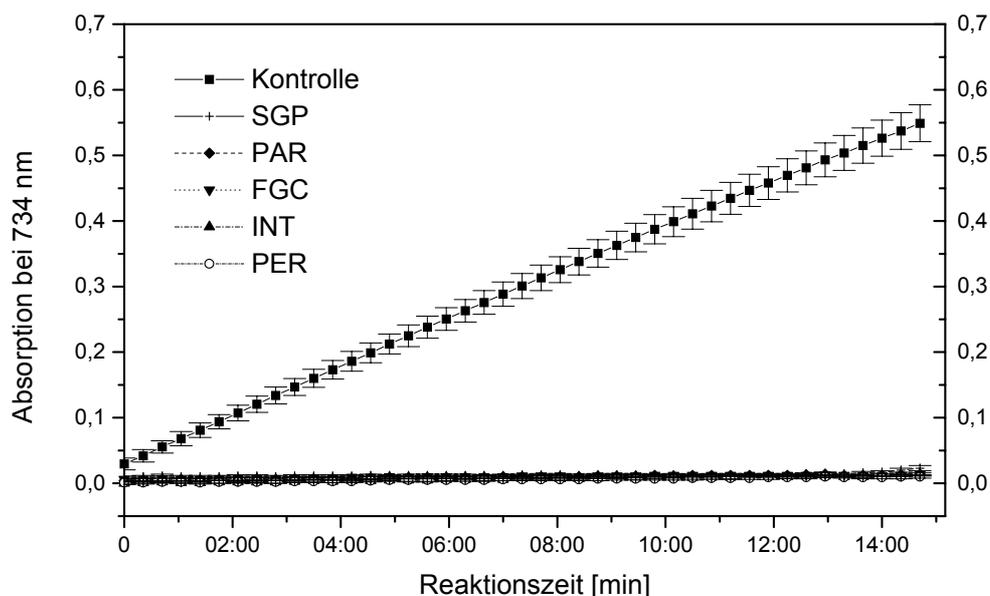


Abb. 39: Einfluss phenolhaltiger *Gynura*extrakte des 1. Anbaujahres auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/20

Jede der eingesetzten Varianten erreicht hier eine AD von $\geq 0,53$ AE (SGP). Im weiteren Verlauf werden nur noch Testansätze mit Verdünnungen über 1/20 i. A. dargestellt. Hierdurch werden Unterschiede zwischen den einzelnen Extrakt- und Anbauvarianten deutlich.

Abb. 40 hält den Einfluss phenolhaltiger *Gynura*extrakte des ersten Anbaujahres mit einer Konzentration i. A. von 1/50 fest.

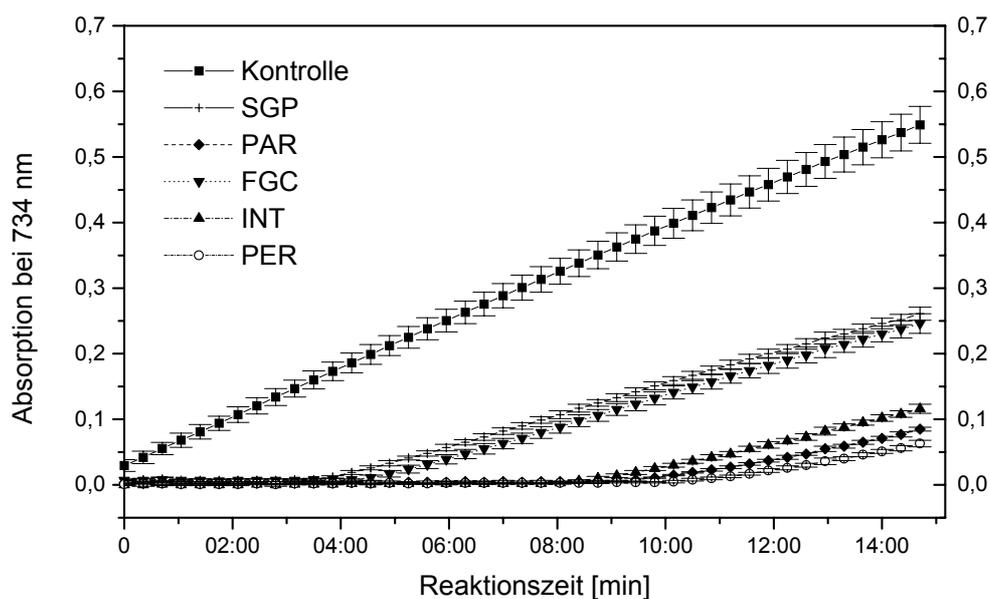


Abb. 40: Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50

SGP und FGC hemmen die Reaktion zu 0,29 AE und 0,30 AE. INT erreicht eine AD von 0,43 AE. Es folgen PAR (0,46 AE) und PER (0,49 AE) die hier am besten hemmen. Extrakte mit 1/100 i. A. (siehe Anhang Tab. 14) führen zu einem ähnlichen Bild, nur dass sich die Hemmleistung entsprechend der Verdünnungsstufe verringert. SGP als schlechteste Variante kommt mit FGC auf 0,16 bzw. 0,17 AE. INT, PAR und PER bewegen sich in einem Bereich von 0,23 über 0,26 bis 0,27 AE. Eine Konzentration i. A. von 1/200 nähert sich von 0,15 AE (PER) bis 0,08 AE (SGP) der Kontrolle an. INT (0,12 AE), PAR (0,14 AE) und FGC (0,09 AE) liegen zwischen diesen Werten.

Abb. 41 stellt den Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des ersten Anbaujahres in der Verdünnungsstufe 1/50 im ABTS-System dar.

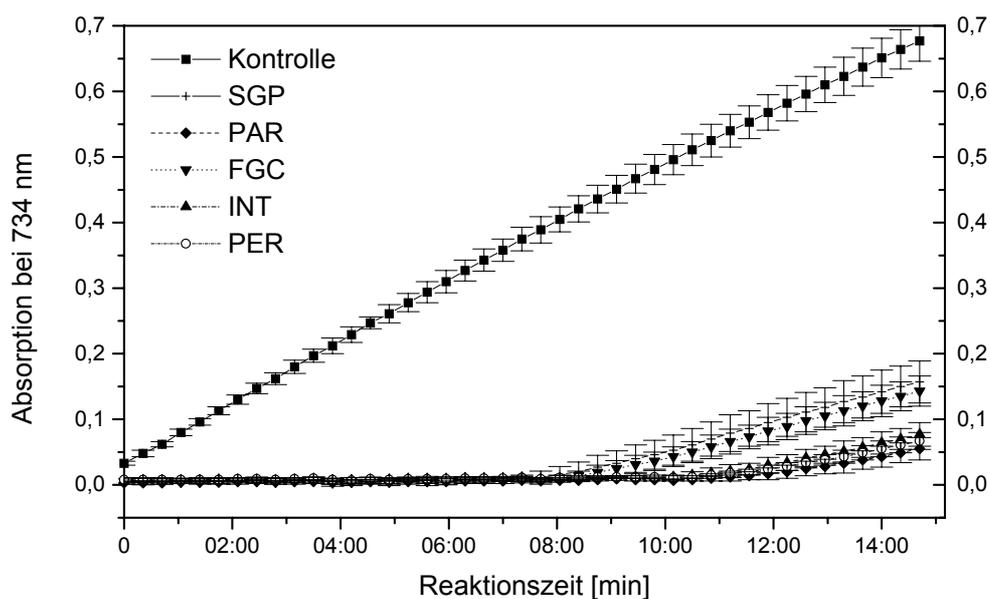


Abb. 41: Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50

Im Vergleich zu phenolhaltigen Extrakten (1. Anbaujahr) (Abb. 40) wird die Hemmwirkung von SGP (0,52 AE) und FGC (0,54 AE) gesteigert. Mit einer AD von 0,60 AE (INT), 0,61 AE (PER) und 0,62 AE (PAR) hemmen diese drei Varianten die Reaktion am stärksten. Bei einer Konzentration von 1/100 i. A. wirken die Extrakte im Bereich von 0,30 AE (FGC), 0,32 AE (SGP) bis 0,34 AE (PER und INT). PAR hebt sich mit einer AD von 0,38 AE leicht ab (siehe Anhang Tab. 14).

Phenolhaltige Gynuraextrakte der Langzeitbelichtung (zweites Anbaujahr) führen bei einer Konzentration von 1/50 i. A. zu folgendem Ergebnis (Abb. 42):

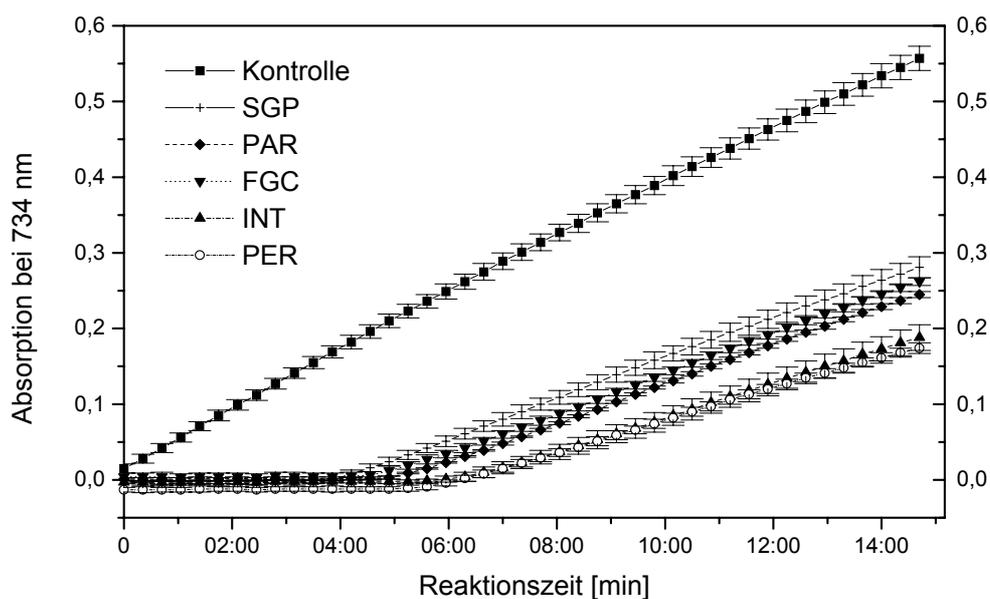


Abb. 42: Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50

Die AD in Abb. 42 beträgt in der Reihenfolge der Hemmwirkung für SGP 0,28 AE, FGC 0,30 AE und PAR 0,31 AE. Mit einem Abstand von 0,06 AE folgt INT (0,37 AE), PER erreicht 0,39 AE und diese beiden Varianten somit die beste Hemmung im Testsystem. Werden die Extrakte mit einer Konzentration von 1/100 getestet, vermindert sich die Hemmleistung und folgende Werte (AE) werden gemessen: SGP 0,14; FGC 0,16; PAR 0,19; INT 0,21 und PER 0,24. Die Hemmleistung verschlechtert sich zwar, aber die Abstände zwischen den einzelnen Varianten sind etwas größer. Der absolute Abstand zw. SGP und PER bleibt mit 0,10 AE im gleichen Bereich (siehe Anhang Tab. 14).

Abb. 43 hat den Einfluss phenolhaltiger Extrakte aus Gynura der Kurzzeitbelichtung (zweites Anbaujahr) zum Inhalt.

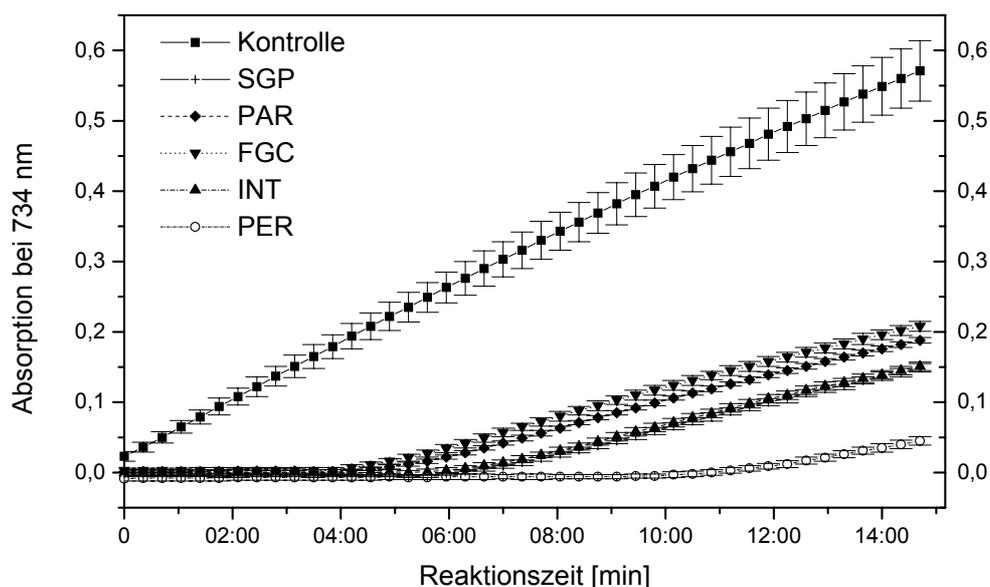


Abb. 43: Einfluss phenolhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50

Es ist hier zu sehen (Abb. 43), dass bei einer Konzentration i. A. von 1/50 FGC mit 0,36 AE die schlechteste Wirkung entfaltet. PAR mit 0,38 AE ist nur unwesentlich besser in seiner Wirkung. Im Mittelfeld bewegt sich SGP und INT mit einer AD von 0,42 AE. PER wirkt mit einem deutlichen Abstand und 0,52 AE am besten. Eine Verdünnung der Extrakte auf 1/100 i. A. (siehe Anhang Tab. 14) hat wiederum eine Verringerung der Hemmwirkung zur Folge. PER bleibt mit 0,36 AE die effektivste Variante. Die übrigen Varianten befinden sich in einem Bereich von 0,27 AE (INT) und 0,26 AE (SGP) bis 0,22 AE (PAR) und 0,21 AE (FGC). Der absolute Abstand zwischen der schlechtesten (FGC) und der besten Variante (PER) verringert sich in dieser Konzentration i. A. nur von 0,16 AE (1/50 i. A.) auf 0,15 AE.

Abb. 44 gibt die Wirkung anthocyanhaltiger Extrakte (1/50 i. A.) der Langzeit belichteten Gynura (zweites Anbaujahr) wider.

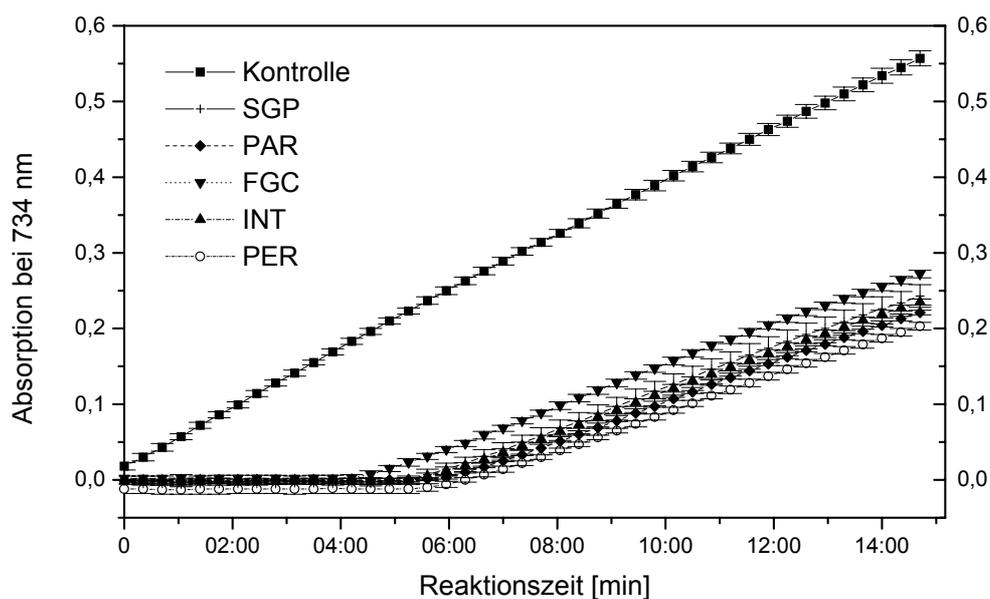


Abb. 44: Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50

Hier (Abb. 44) entfaltet FGC die schlechteste Hemmung. Mit einer AD von 0,29 AE liegt sie um 0,03 AE unter der Hemmung von SGP und INT (0,32 AE). PAR erreicht mit 0,34 AE eine stärkere Inhibition als FGC. PER kann die Oxidation von ABTS mit ca. 0,36 AE am stärksten verzögern. Werden die Extrakte mit einer Verdünnung von 1/100 in das Testsystem eingesetzt, verkleinern sich die Abstände nochmals (siehe Anhang Tab. 14). Die Wirkung der Extrakte (AE) beträgt für FGC und SGP 0,15 AE (PAR und INT 0,18 AE). PER erreicht eine AD von 0,20 AE.

In Abb. 45 ist die Wirkung von anthocyanhaltigen Gynuraextrakten der Kurzzeitbelichtung mit der Konzentration von 1/50 i. A. abgebildet.

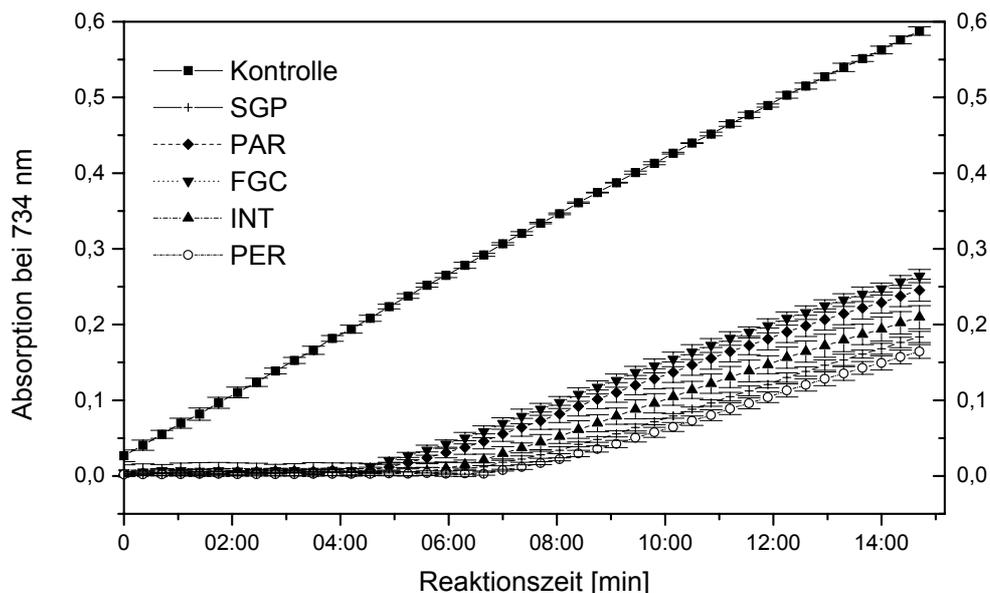


Abb. 45: Einfluss anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50

In Abb. 45 werden FGC mit 0,33 AE und PAR (0,34 AE) als schlechteste Varianten identifiziert. INT erreicht eine Hemmung von 0,38 AE und liegt somit über FGC und PAR aber unter SGP (0,41 AE) und PER (0,43 AE). Extrakte der Verdünnungsstufe von 1/100 i. A. erreichen folgende Hemmwerte: FGC und PAR 0,19 AE; INT 0,22 AE; SGP und PER 0,24 AE (siehe Anhang Tab. 14). Die Abstände zwischen den untersuchten Varianten werden also in dieser Verdünnungsstufe zum Teil egalisiert. Auch die absolute Hemmleistung geht zurück.

Carotinoidhaltige Extrakte aus *Spinacia oleracea* L. und *Gynura bicolor* (Willd.) DC.

Die folgenden Ausführungen stellen die Wirkung carotinoidhaltiger Extrakte aus Spinat und Gynura während der ABTS-Oxidation dar. Extrakte in einer Verdünnungsstufe von 1/20 konnten aufgrund ihrer Eigenabsorption nicht in das System eingesetzt werden.

Spinacia oleracea L.

Abb. 46 zeigt den Einfluss von Spinatextrakten des ersten Anbaujahres in der Konzentration von 1/50 i. A..

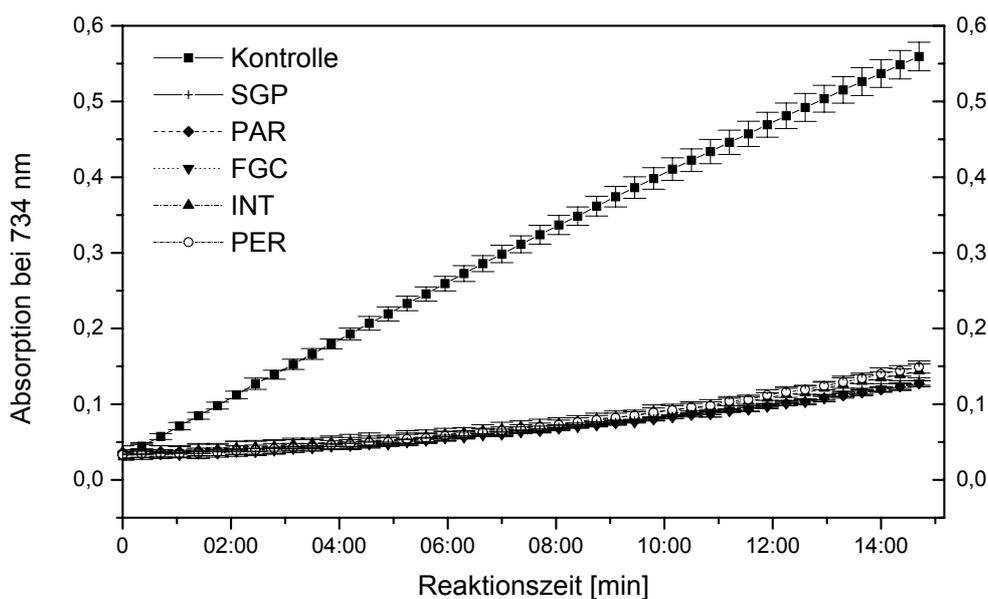


Abb. 46: Einfluss carotinoidhaltiger Spinatextrakte des 1. Anbaujahres auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50

Es ist eine starke Hemmung der Reaktion zu erkennen. Alle eingesetzten Extrakte sind in der Lage, die Farbstoffbildung um 0,41 AE (PER), 0,42 AE (INT) bis 0,43 AE (SGP, PAR und FGC) zu reduzieren. Da sich hier alle Werte innerhalb eines engen Bereichs bewegen, sind die Unterschiede zwischen den Anbauvarianten nicht eindeutig. Ein Einsatz der Extrakte mit einer Konzentration von 1/100 i. A. verschiebt die Hemmleistung auf 0,26 AE für INT. PER und SGP erreichen eine AD von 0,28 AE. FGC und PAR hemmen zu 0,29 AE (siehe Anhang Tab. 14). In einer weiteren Verdünnungsstufe (1/200) wird keine Verbesserung der Differenzierung erreicht. Die Werte bewegen sich zwischen 0,16 AE (PER) und 0,19 AE (PAR).

Carotinoidhaltige Extrakte aus Langzeit belichtetem Spinat des zweiten Anbaujahres (1/100 i. A.) haben folgende Wirkung im Testsystem (Abb. 47) (R. Schauer, Diplomarbeit; unveröffentlicht):

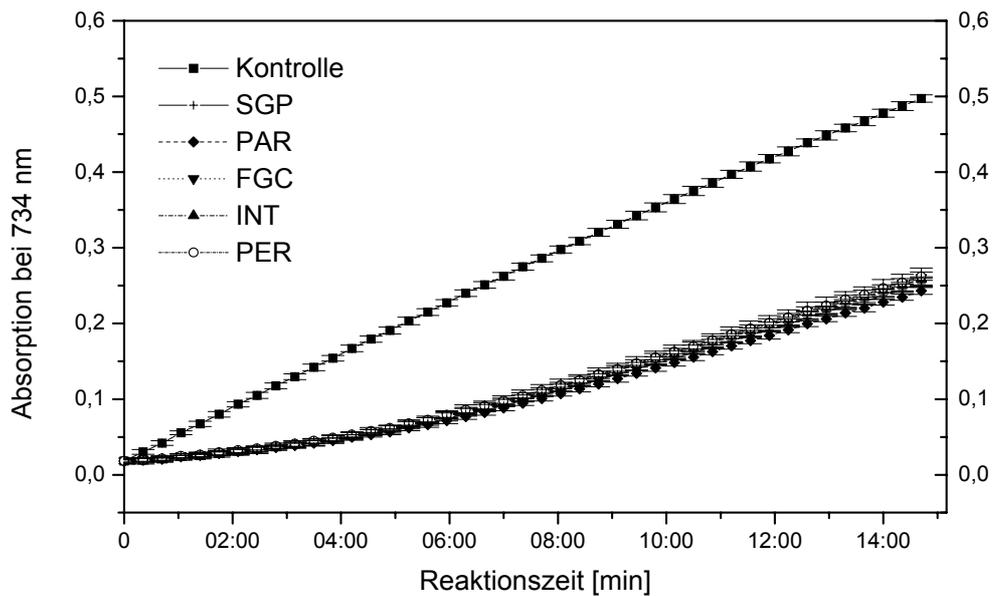


Abb. 47: Einfluss carotinoidhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/100

Eine Unterscheidung der Extrakte untereinander ist hier nicht möglich. Die AD von PER, INT und FGC beträgt mit 0,24 AE nur 0,01 AE weniger als die von SGP und PAR (0,25 AE). Werden die Extrakte mit einer Konzentration i. A. von 1/40 in das Testsystem eingesetzt, erhöht sich die Hemmwirkung für PER und INT auf 0,38 AE. SGP, FGC und PAR erlangen eine Wirkung von 0,39 AE (siehe Anhang Tab. 14).

Abb. 48 stellt die Wirkung carotinoidhaltiger Extrakte der Kurzzeitbelichtung in einer Verdünnung von 1/100 dar.

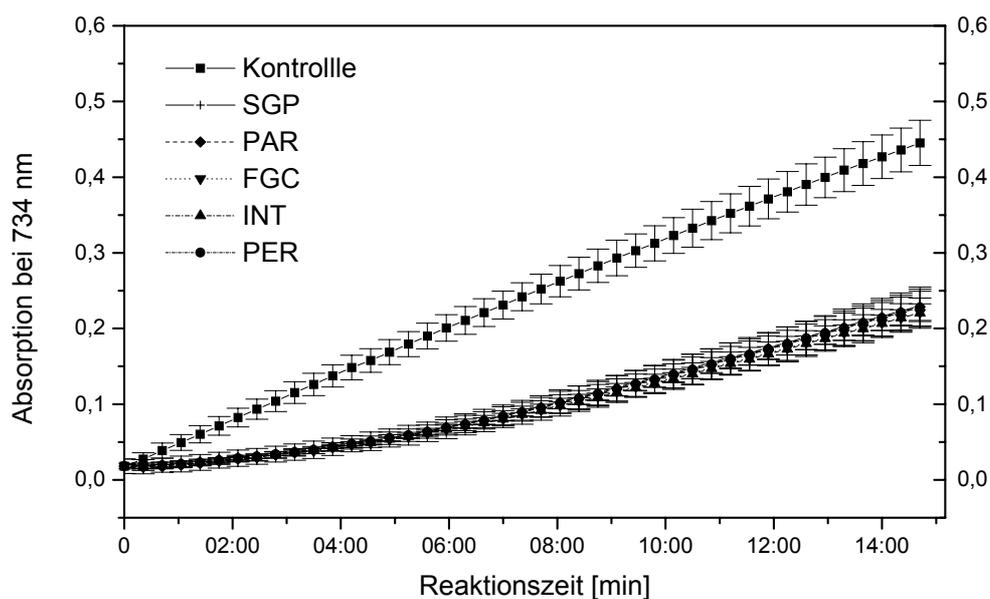


Abb. 48: Einfluss carotinoidhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/100

Die eingesetzten Extrakte hemmen die Bildung des ABTS-Radikalkations um 0,22 AE (PER, PAR und SGP). INT und FGC haben eine AD von 0,23 AE. Für Konzentrationen von 1/40 i. A. wird für alle eingesetzten Extrakte außer PER (0,34 AE) eine AD von 0,35 AE festgestellt (siehe Anhang Tab. 14).

Gynura bicolor (Willd.) DC.

Auch carotinoidhaltige Extrakte aus *Gynura* werden im ABTS-Testsystem auf ihre antioxidative Kapazität getestet. Abb. 49 zeigt die Einflüsse carotinoidhaltiger *Gynura*extrakte des ersten Anbaujahres in einer Konzentration von 1/50 i. A..

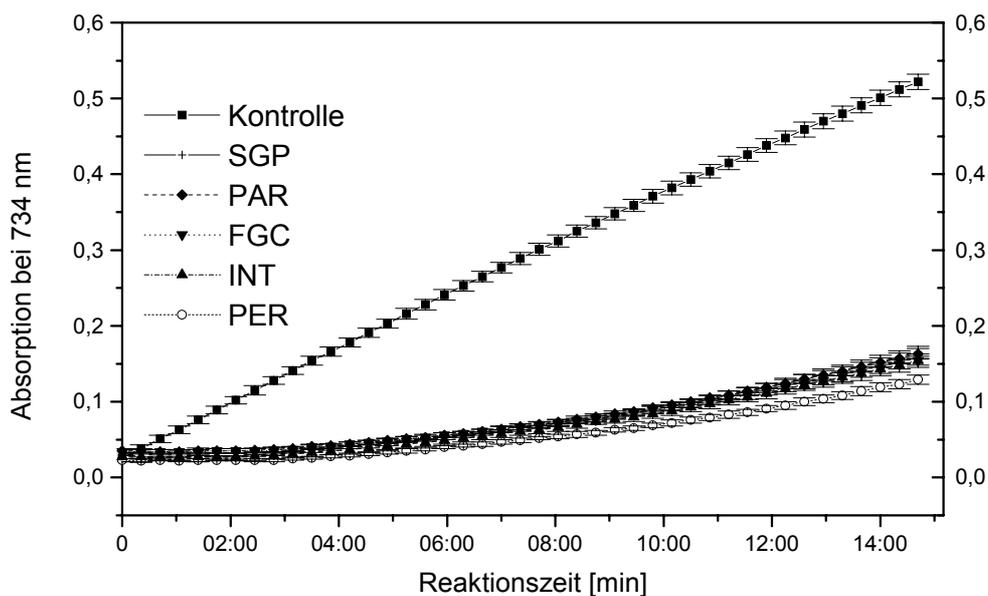


Abb. 49: Einfluss carotinoidhaltiger Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50

Es ist eine deutliche Hemmwirkung zu erkennen. SGP und PAR erreichen in einer Konzentration i. A. von 1/50 eine AD von 0,35 AE, bzw. 0,36 AE. FGC und INT bewegen sich mit 0,37 AE innerhalb des Bereichs der Standardabweichung. Einen etwas größeren Einfluss zeigt PER mit 0,39 AE. In der Verdünnungsstufe von 1/100 (siehe Anhang Tab. 14) ergibt sich folgendes: PAR 0,22 AE, SGP (0,22 AE), INT 0,23 AE, FGC 0,24 AE und PER erreicht 0,25 AE. Der tendenziell größte Abstand wird zwischen PAR und PER erzielt. Selbst eine Verdünnung der Extrakte auf 1/400 weist noch eine AD von ca. 0,06 (SGP) bis 0,09 AE (PER) auf. PAR, FGC und INT (0,08 AE) bewegen sich zwischen SGP und PER.

In Abb. 50 werden die Ergebnisse carotinoidhaltiger Extrakte aus Gynura der Langzeitbelichtung des zweiten Anbaujahres dargestellt.

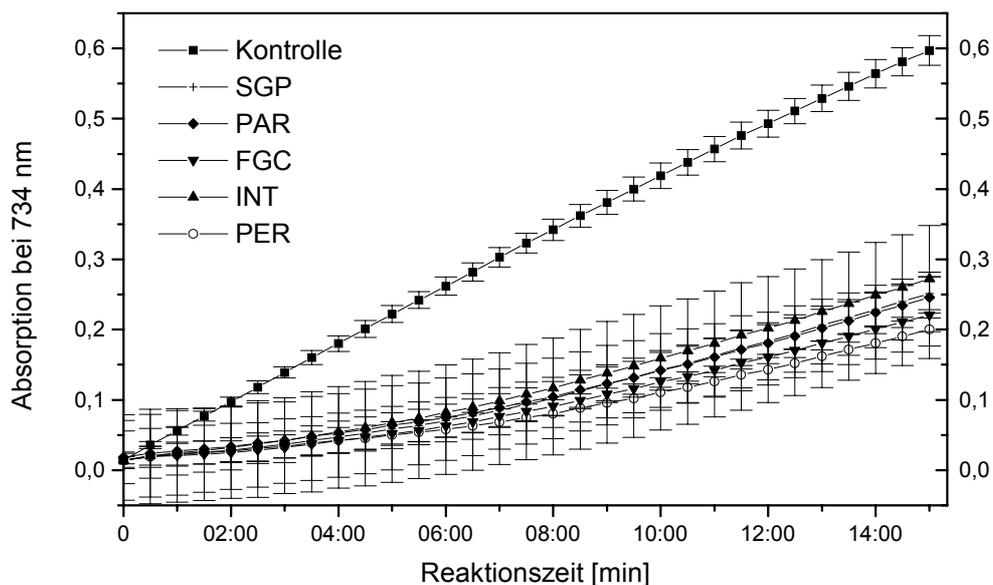


Abb. 50: Einfluss carotinoidhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50

In Abb. 50 kann kein eindeutiger Unterschied zwischen den Versuchsvarianten festgestellt werden. INT erreicht eine AD von 0,33 AE. Die Inhibition durch SGP und PAR beträgt 0,35 AE. FGC kann mit 0,38 AE und PER mit 0,40 AE die Reaktion tendenziell am besten hemmen. Mit einer Konzentration von 1/100 i. A. (siehe Anhang Tab. 14) sind die Differenzen zwischen SGP (0,23 AE), PAR (0,24 AE) und INT (0,23 AE) nicht deutlicher. FGC (0,26 AE) und PER (0,28 AE) beeinflussen die Reaktion etwas deutlicher. Bei einer Konzentration von 1/200 i. A. liegt die Hemmung bei allen Varianten im Bereich von 0,18 AE (PER) bis 0,15 AE (PAR).

Wird Gynura Kurzzeit belichtet, stellt sich der Einfluss seiner carotinoidhaltigen Extrakte in einer Konzentration von 1/50 i. A. wie folgt dar (Abb. 51).

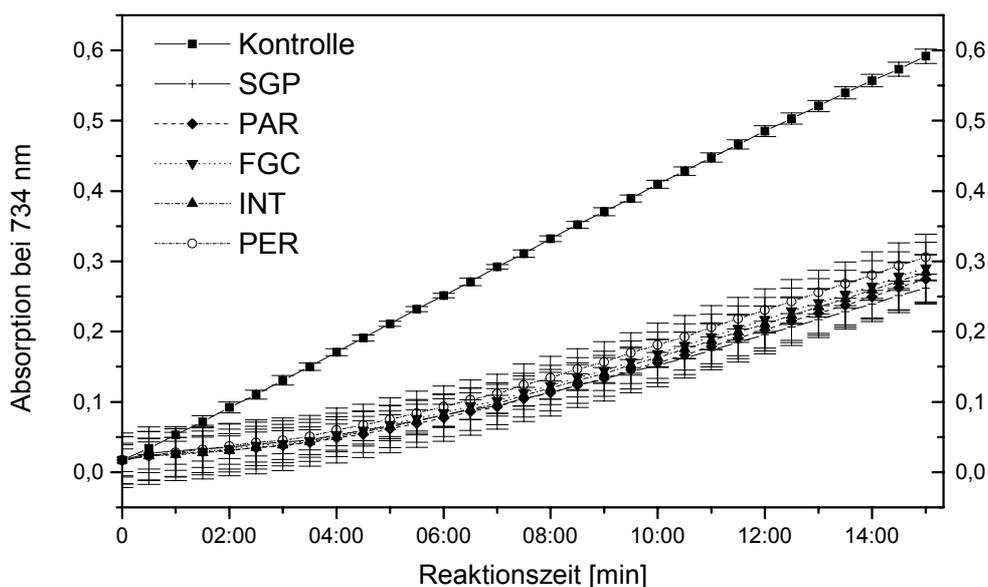


Abb. 51: Einfluss carotinoidhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) auf die ABTS-Oxidation mit Extraktkonzentration i. A. 1/50

Auch hier ist eine Differenzierung der Extrakte hinsichtlich ihrer Hemmwirkung im Testsystem nicht eindeutig. Die Hemmung durch PER beträgt 0,28 AE. FGC liegt mit 0,30 AE in einem ähnlichen Bereich. INT kommt auf eine AD von 0,31 AE und PAR auf 0,32 AE. SGP erreicht mit 0,33 AE den höchsten Wert. Bei 1/100 i. A. liegen PER und FGC mit 0,19 AE direkt aufeinander. INT erreicht 0,18 AE. PAR (0,20 AE) und SGP (0,21 AE) haben etwas bessere Werte. Für Konzentrationen von 1/200 i. A. bewegen sich INT, FGC und PAR in der Region von 0,11 - 0,12 AE. PER (0,10 AE) ist um ca. 0,02 AE schlechter in seiner Hemmwirkung. SGP kann sich mit 0,13 AE am weitesten von PER differenzieren. Doch auch in dieser Verdünnungsstufe überlappen die Standardabweichungen einander stark (siehe Anhang Tab. 14).

4.4 Folin-Ciocalteu-Test

Der Folin-Ciocalteu-Test dient in dieser Arbeit zur Quantifizierung des Phenolgehaltes der eingesetzten Extrakte. Durch reduzierende Verbindungen (z.B. Phenole) wird die Folin-Ciocalteu-Lösung zu blauem Farbstoff umgesetzt. Der entstehende Farbstoffkomplex wird photometrisch bei 720 nm quantifiziert. Die Phenolgehalte der eingesetzten Extrakte können anhand einer mit Gallussäure

geeichten Kalibrationsgeraden bestimmt und anschließend in Gallussäureäquivalente (GAE) [mM] umgerechnet werden.

Der Phenolgehalt für Spinatextrakte des ersten und zweiten Anbaujahres wird in Tab. 6 dargestellt. Im ersten Anbaujahr kann aufgrund des begrenzten Rohmaterials kein unverdünnter Extrakt untersucht werden.

Tab. 6: Folin-Ciocalteu-Test für phenolhaltige Spinatextrakte

	1. Jahr Langzeit	2. Jahr Langzeit	2. Jahr Kurzzeit
Konz. i. A.	1/2,5	unverdünnt	unverdünnt
Variante	GAE [mM]		
SGP	0,17 ± 0,00	0,22 ± 0,01	0,21 ± 0,01
PAR	0,14 ± 0,00	0,23 ± 0,01	0,20 ± 0,01
FGC	0,18 ± 0,01	0,26 ± 0,00	0,23 ± 0,01
INT	0,17 ± 0,00	0,25 ± 0,01	0,26 ± 0,01
PER	0,23 ± 0,01	0,36 ± 0,01	0,32 ± 0,02

Es ist deutlich zu erkennen, dass PER stets die höchsten GAE erreicht. Im ersten Anbaujahr erzielt PER (1/2,5 i. A.) einen Gehalt von 0,23 mM. SGP und INT (0,17 mM) ordnen sich nach FGC (0,18 mM) ein. SGP weist nur 0,14 mM GAE im Test vor. Unverdünnte Extrakte der Langzeitbelichtung geben folgendes Bild wider: SGP liegt mit 0,22 mM nahe an PAR (0,23 mM). Es folgen INT (0,25 mM) und FGC (0,26 mM). Den höchsten Gehalt an GAE hat PER (0,36 mM). Auch Kurzzeit belichteter Spinat kann PER wiederum als gehaltvollsten Extrakt bestätigen (0,32 mM). INT ist mit 0,06 mM Differenz die zweitbeste Variante. Die übrigen Varianten sind in der Reihenfolge FGC (0,23 mM), SGP (0,21 mM) und PAR (0,20 mM) eingeordnet.

In Tab. 7 werden die Phenolgehalte der Gynuraextrakte beider Anbaujahre dargestellt.

Tab. 7: Folin-Ciocalteu-Test für phenolhaltige Gynuraextrakte

	1. Jahr Langzeit	2. Jahr Langzeit	2. Jahr Kurzzeit
Konz. i. A.	unverdünnt		
Variante	GAE [mM]		
SGP	0,38 ± 0,03	0,53 ± 0,03	0,76 ± 0,04
PAR	0,58 ± 0,02	0,53 ± 0,00	0,61 ± 0,02
FGC	0,44 ± 0,02	0,50 ± 0,01	0,66 ± 0,02
INT	0,58 ± 0,02	0,61 ± 0,01	0,72 ± 0,02
PER	0,68 ± 0,01	0,72 ± 0,01	0,91 ± 0,03

Im ersten Jahr erreicht die Belichtungsvariante SGP 0,38 mM GAE. FGC kommt auf einen GAE-Gehalt von 0,44 mM. INT und PAR befinden sich mit 0,58 mM auf gleichem Niveau. PER enthält mit 0,68 mM die höchsten GAE. Aus phenolhaltigen Extrakten von Langzeit belichtetem Gynura sind FGC (0,50 mM) sowie PAR und SGP (0,53 mM) weniger phenolreich als INT (0,61 mM) und PER (0,72 mM). Werden entsprechende Extrakte der Kurzzeitbelichtung untersucht, enthält PAR die wenigsten GAE (0,61 mM). Es folgen FGC (0,66 mM), INT (0,72 mM), SGP (0,76 mM) und PER (0,91 mM). Somit ist PER in allen drei Anbauphasen die Variante mit den höchsten GAE. Extrakte aus Kurzzeit belichteten Gynurapflanzen enthalten mehr GAE als die anderen.

Tab. 8 stellt die GAE für anthocyanhaltige Gynuraextrakte beider Anbaujahre vor.

Tab. 8: Folin-Ciocalteu-Test für anthocyanhaltige Gynuraextrakte

	1. Jahr Langzeit	2. Jahr Langzeit	2. Jahr Kurzzeit
Konz. i. A.	unverdünnt		
Variante	GAE [mM]		
SGP	1,08 ± 0,02	0,65 ± 0,02	0,75 ± 0,01
PAR	1,31 ± 0,02	0,73 ± 0,02	0,58 ± 0,02
FGC	1,16 ± 0,01	0,55 ± 0,01	0,60 ± 0,02
INT	1,21 ± 0,01	0,69 ± 0,01	0,67 ± 0,01
PER	1,31 ± 0,04	0,67 ± 0,01	0,73 ± 0,01

Im ersten Anbaujahr kann mit jeweils 1,31 mM ein hoher Gehalt an GAE für PAR und PER festgestellt werden. INT erreicht 1,21 mM, gefolgt von FGC (1,16 mM) und SGP (1,08 mM). Die Langzeitbelichtung des zweiten Anbaujahres erreicht mit 0,73 mM GAE (PAR) nicht die Gehalte des ersten Jahres. INT (0,69 mM), PER (0,67 mM) und SGP (0,65 mM) sind etwas schlechter in ihrem Gehalt an GAE. FGC kommt nur auf ca. 0,55 mM und ist damit die Variante mit den wenigsten GAE. Bei einer Kurzzeitbelichtung pendeln sich SGP (0,75 mM) und PER (0,73 mM) in einem ähnlichen Bereich ein. Etwas geringere GAE erzielt in diesem Test INT mit 0,67 mM. FGC (0,60 mM) und PAR (0,58 mM) haben noch geringere Werte.

Des weiteren werden Rohextrakte von Spinat mit 100% EtOH sowie Gynura (80% MeOH) eingesetzt und auf ihren Phenolgehalt hin überprüft. Rohextrakte des ersten Anbaujahres konnten aufgrund des nur begrenzt zur Verfügung stehenden Pflanzenmaterials nicht untersucht werden.

Tabellen 9 und 10 zeigen die entsprechenden GAE der im Folin-Ciocalteu-Test untersuchten Varianten. Rohextrakte aus Spinat der Lang- und Kurzzeitbelichtung des zweiten Jahres in 100% EtOH gelöst und in den Folin-Ciocalteu-Test eingesetzt, führen zu folgendem Ergebnis (Tab. 9).

Tab. 9: Folin-Ciocalteu-Test für Rohextrakte aus Spinat gelöst in 100% EtOH

	2. Jahr Langzeit	2. Jahr Kurzzeit
Konz. i. A.	unverdünnt	
Variante	GAE [mM]	
SGP	0,83 ± 0,01	0,87 ± 0,03
PAR	0,89 ± 0,02	0,92 ± 0,02
FGC	0,97 ± 0,03	1,04 ± 0,02
INT	1,00 ± 0,03	1,07 ± 0,02
PER	0,96 ± 0,01	1,10 ± 0,04

SGP stellt sich sowohl bei der Langzeit- als auch der Kurzzeitbelichtung (0,83 mM und 0,87 mM) als schlechtester Extrakt heraus. PAR erreicht mit 0,89 mM und 0,92 mM GAE etwas bessere Werte. Bei Langzeitbelichtung liegen die UV-Varianten FGC (0,97 mM), INT (1,00 mM) und PER (0,96 mM) im gleichen Bereich. Eine Steigerung der Zunahme an GAE durch Belichtung zeigen auch die Kurzzeitvarianten. FGC, INT und PER bewegen sich z. B. von 1,04 über 1,07 bis 1,10 mM GAE. Eine eindeutige Differenzierung ist aber aufgrund der Standardabweichungen nicht möglich.

Aus Tab. 10 lässt sich der GAE-Gehalt von Gynura-Rohextrakten beider Anbaujahre (gelöst in 80% MeOH) entnehmen.

Tab. 10: Folin-Ciocalteu-Test für Rohextrakte aus *Gynura* gelöst in 80% MeOH

	1. Jahr Langzeit	2. Jahr Langzeit	2. Jahr Kurzzeit
Konz. i. A.	unverdünnt		
Variante	GAE [mM]		
SGP	0,85 ± 0,01	0,70 ± 0,01	0,77 ± 0,00
PAR	0,91 ± 0,01	0,73 ± 0,00	0,65 ± 0,00
FGC	0,88 ± 0,03	0,63 ± 0,01	0,65 ± 0,01
INT	0,94 ± 0,01	0,71 ± 0,01	0,72 ± 0,01
PER	1,01 ± 0,00	0,70 ± 0,00	0,80 ± 0,01

Gynura-Rohextrakt des ersten Anbaujahres enthält in ansteigender Reihenfolge folgende GAE [mM]: 0,85 (SGP), 0,88 (FGC), 0,91 (PAR), 0,94 (INT) und 1,01 (PER). In der zweiten Anbauphase erzielt PAR bei Langzeitbelichtung mit 0,73 mM die höchsten GAE. Es folgen INT (0,71 mM), SGP und PER (0,70 mM). FGC kennzeichnet sich durch einen Gehalt an GAE von 0,63 mM. Nach einer Kurzzeitbelichtung erreicht wiederum PER mit 0,80 mM den höchsten Wert. SGP (0,77 mM), INT (0,72 mM) und PAR/FGC (0,65 mM) haben niedrigere GAE.

4.5 Inhaltsstoffanalytik

Die Inhaltsstoffanalyse der Pflanzenextrakte erfolgt sowohl für Phenole als auch Carotinoide mittels HPLC. Zuerst werden alle Extrakte analysiert und anschließend ausgewählte Peaks auf Veränderungen durch die Belichtung untersucht. Durch ein Übereinanderlegen der Chromatogramme sind Unterschiede zwischen den Versuchvarianten gut erkennbar. Ein weiterer Schritt der Untersuchungen ist die Identifizierung einzelner Peaks mit externen Standards.

4.5.1 Phenole

Spinacia oleracea L.

Der größte Teil der Peaks von phenolhaltigen Extrakten aus Spinat kann durch einen Spektrenvergleich der Gruppe der Phenolsäuren zugeordnet werden. Aufgrund fehlender Übereinstimmung der Retentionszeiten der eingesetzten externen

Standards können keine Peaks eindeutig identifiziert werden. Alle im Folgenden dargestellten Werte beziehen sich auf 0,12 g Trockensubstanz (TS).

Aus dem ersten Anbaujahr für Spinat werden folgende, mit Buchstaben gekennzeichnete Peaks ausgewählt (Abb. 52).

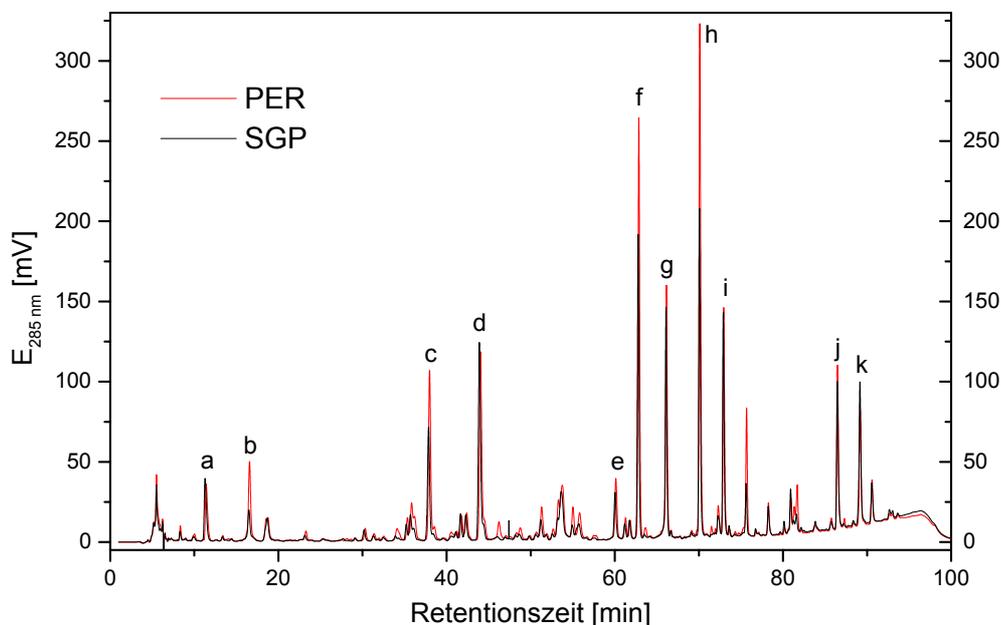


Abb. 52: Chromatogramm phenolhaltiger Spinatextrakte (SGP und PER) (1. Anbaujahr); $\lambda = 285 \text{ nm}$

SGP unterscheidet sich von PER durch Peakhöhen und -flächen. Bei der Auswahl der Peaks a-k wird darauf geachtet, von Anfang bis Ende des Gradienten eine gleichmäßige Verteilung zu erreichen. Auch werden Peaks die sich bezüglich ihrer Peakhöhe unterscheiden bevorzugt. Die detektierten Unterschiede zwischen den Varianten werden in Abb. 53 in einem Peakflächendiagramm dargestellt.

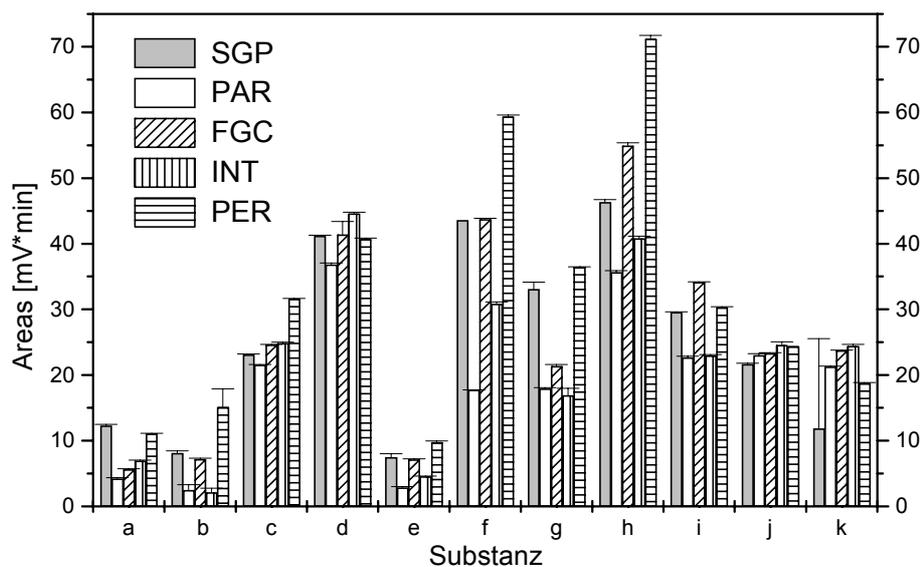


Abb. 53: Diagramm phenolhaltiger Spinatextrakte (1. Anbaujahr); $\lambda = 285 \text{ nm}$

Peak a zeigt durchweg eine Substanzabnahme bei Belichtung. Die stärkste Abnahme hat PAR zu verzeichnen, doch je stärker der UV-Anteil wird, desto schwächer ist die Abnahme. Bei den Peaks b, c, e, f, g und h ist PER stets die Variante mit den größten Peakflächen. Es wird bei den Peaks f und h im Vergleich zur meist schlechtesten Variante (PAR) dieser Peaks (c, e, f und h) eine Verdoppelung bis Verdreifachung erreicht. PAR und INT sind bei Peak b und g nicht deutlich zu unterscheiden. Die Peaks e, f und g haben jedoch schon ohne eine Belichtung mit SGP die zweitgrößte Peakfläche. Bei Peak d wird zwar PAR als kleinste Fläche detektiert, die größte jedoch bei INT. SGP, FGC und PER sind nicht zu unterscheiden. FGC kann bei Peak i als beste Variante detektiert werden. Es folgen geordnet nach der Peakfläche PER, SGP, INT und PAR, wobei die Differenzierung der beiden letzteren nicht eindeutig möglich ist. Für Peak j ist eine tendenzielle Zunahme der Flächen mit einer Belichtung zu erkennen, die sich jedoch im Maximum bei INT und PER einstellt. PAR und FGC können nicht unterschieden werden. Bei Peak k gibt es bei SGP keine eindeutigen Differenzen. Tendenziell steigen mit PAR, FGC und INT die Areas an, um anschließend mit PER wieder abzunehmen. Eine Berechnung der Wiederfindungsrate ist hier ohne den Einsatz eines Internen Standards (IS) nicht möglich.

In Abb. 54 ist nun ein Chromatogramm phenolhaltiger Spinatextrakte des zweiten Anbaujahres der Langzeitbelichtung zu sehen.

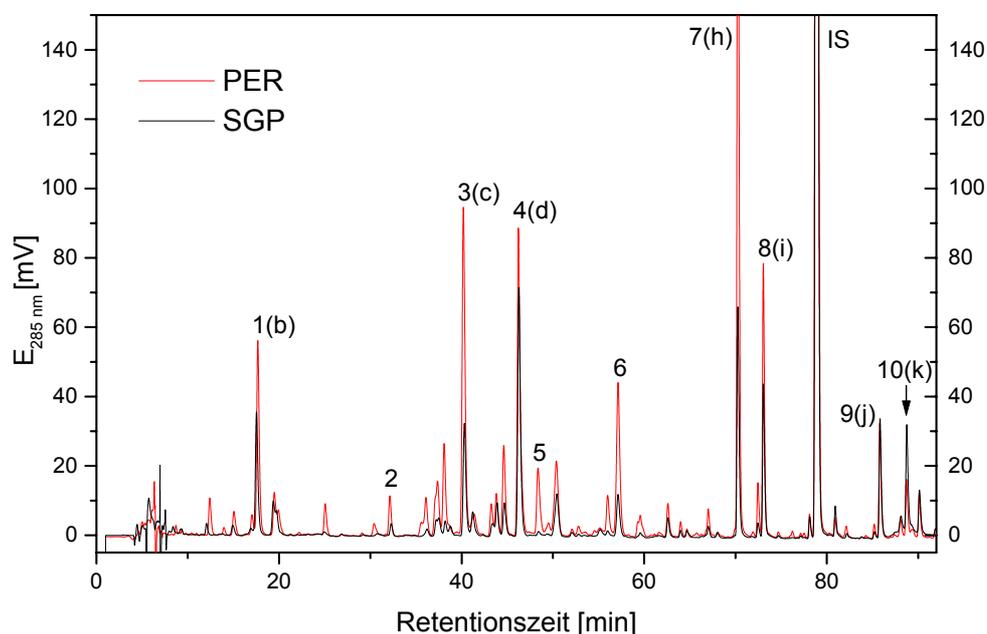


Abb. 54: Chromatogramm phenolhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) (SGP u. PER); $\lambda = 285 \text{ nm}$

SGP und PER haben unterschiedliche Profile. Die HPLC-Chromatogramme des ersten (Abb. 52) und zweiten Jahres (Abb. 54) stimmen nicht zu 100% überein. Nach einem Wechsel der HPLC-Anlage ergibt ein Abgleich der Retentionszeiten Unterschiede bezüglich der Detektion von Peaks des ersten und zweiten Jahres.

Identische Peaks der Lang- und Kurzzeitbelichtung des zweiten Anbaujahres werden mit den Nummern 1-10 bezeichnet. Kann eine Übereinstimmung mit Peaks des ersten Jahres detektiert werden, steht der entsprechende Buchstabe in Klammern. Durch den zusätzlichen Einsatz eines Internen Standards (IS), hier Naringenin ($150 \mu\text{M i. A.}$), ist eine Berechnung der Wiederfindungsrate möglich. Die Bandbreite dieser Rate bewegt sich bei der Langzeitbelichtung phenolhaltiger Spinatextrakte zwischen 68,5 bis 83,6% ($\varnothing 76,3\%$). Weiterhin wird durch die Bildung eines Quotienten $[\text{Areas (Substanz)} / \text{Areas (IS)}]$ ein Maß für die Konzentration der detektierten Komponenten eingeführt. Da erst im zweiten Versuchsjahr bei Lang- und Kurzzeitbelichtung von Spinat der Einsatz eines IS möglich war, müssen die Ergebnisse des ersten Jahres diesbezüglich gesondert betrachtet werden.

Abb. 55 stellt die detektierten Unterschiede ausgewählter Peaks phenolhaltiger Spinatextrakte der Langzeitbelichtung dar.

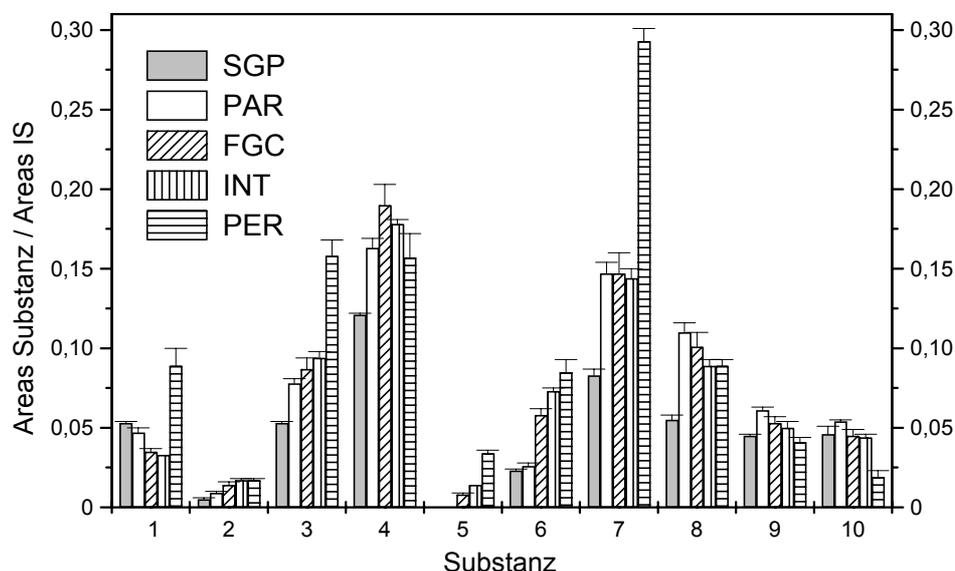


Abb. 55: Diagramm phenolhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung); $\lambda = 285 \text{ nm}$

Mit diesem Diagramm werden deutliche Unterschiede zwischen den Varianten der Langzeitbelichtung und ihren Einzelsubstanzen belegt. Allgemein sind die Gehalte der Substanzen sehr verschieden. Sie variieren von z.T. nicht detektiert bei #5 (SGP und PAR) bis zu einem Quotienten von 0,29 (PER) für #7.

Im Folgenden wird verstärkt auf die Unterschiede der Belichtungsvarianten innerhalb der Einzelkomponenten eingegangen. #1 (b) zeigt als Reaktion im Vergleich zu SGP (0,053) eine Abnahme durch PAR (0,047). Diese verstärkt sich bei FGC (0,035) und INT (0,033). PER (0,089) hingegen vergrößert den Quotienten. Bei #2 ist mit ansteigender Belichtung durchgehend eine Zunahme an Substanz festzustellen (SGP 0,005 < PAR 0,009 < FGC 0,014 < INT = FGC 0,017). Dieser Anstieg kann auch bei #6 sehr gut beobachtet werden. Hier hat FGC (0,058) im Vergleich zu SGP (0,023) eine über 100%ige Zunahme erreicht. Durch PER (0,085) wird ein 3,7facher Wert erreicht. #3 (c) steigert sich im Gehalt mit PER (0,16) im Vergleich zu SGP (0,053) auch um Faktor 3. PAR (0,078), FGC (0,087) und INT (0,094) liegen zwischen SGP und PER. #4 (d) hat durch FGC (0,19) den besten Quotienten und INT (0,18) höhere Werte als PAR (0,16) und PER (0,16). SGP hat mit 0,12 den niedrigsten Quotienten. #5 bildet die Ausnahme. Hier wird durch die UV-Varianten

(FGC 0,008 < INT 0,014 < PER 0,034) eine Substanz gebildet, die bei SGP und PAR nicht detektiert werden kann. Bei #7 ist bei PAR (0,15), FGC (0,15) und INT (0,14) ein ähnlicher Substanzgewinn gegenüber SGP (0,083) zu verzeichnen. PER (0,29) kann den Wert im Vergleich zu SGP mehr als verdreifachen und erzielt den höchsten Quotienten der gesamten Untersuchung. Eine Zunahme durch eine Belichtung wird für #8 (i) beobachtet. PAR (0,11) gefolgt von FGC (0,10) hat ein besseres Verhältnis von Substanz/IS als INT (0,09) und PER (0,09), die sich auf gleichem Niveau bewegen. Für #9 (j) gilt folgendes: SGP (0,045) < INT (0,05) < FGC (0,053) < PAR (0,061). PER (0,041) hat den kleinsten Quotienten. #10 (k) kann keine deutlichen Unterschiede hinsichtlich SGP, PAR, FGC und INT (0,05) aufzeigen. Durch PER (0,019) wird jedoch eine Abnahme der Substanz festgestellt.

Abb. 56 beinhaltet die HPLC-Auswertung von Spinat der Kurzzeitbelichtung des zweiten Anbaujahres.

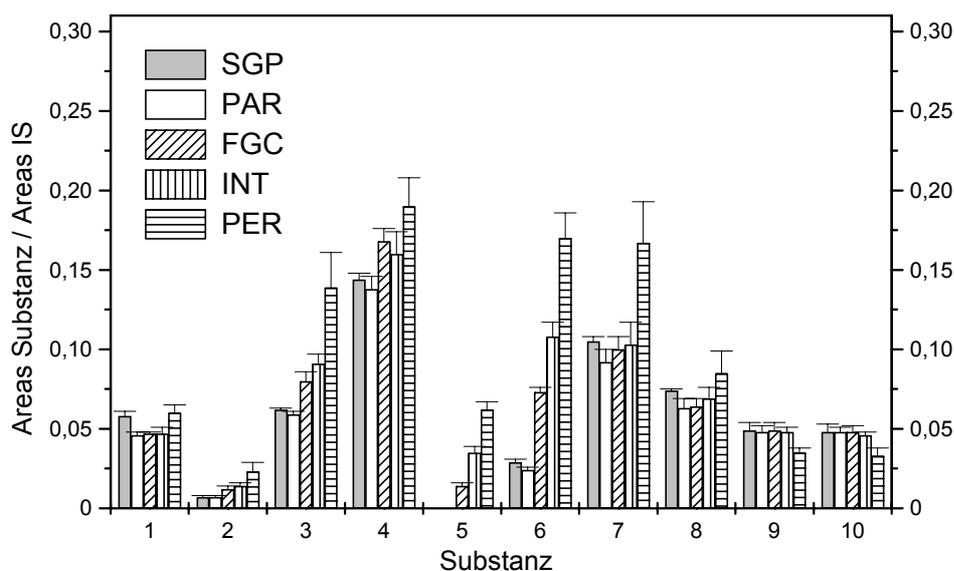


Abb. 56: Diagramm phenolhaltiger Spinatextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung); $\lambda = 285 \text{ nm}$

Abb. 56 zeigt eine deutliche Varianz der Einzelsubstanzen. Die Werte reichen von zum Teil nicht detektiert bei #5 (SGP und PAR) bis zu ca. 0,19 für PER (#4). Der maximale Wert der Langzeitbelichtung bei #7 (PER 0,29) kann bei dieser Belichtungsstrategie nicht erreicht werden. Für #1 wird eine Abnahme durch PAR (0,046), FGC (0,047) und INT (0,047) festgestellt. PER (0,06) erreicht ein ähnliches

Niveau wie SGP (0,058). #2 zeigt mit SGP (0,007), PAR (0,007), FGC (0,012), INT (0,014) und PER (0,023) ähnlich wie in Abb. 55 eine sukzessive Zunahme an Substanz durch eine Belichtung. Die Reihenfolge PAR (0,059) < SGP (0,062) < FGC (0,08) < INT (0,091) < PER (0,14) wird an #3 festgestellt. #4 hat mit PER (0,19) den besten Quotienten erreicht. FGC (0,17) und INT (0,16) befinden sich kurz darunter und SGP/PAR (0,14) folgen auf einem etwas niedrigeren Level. Eine Ausnahme bildet wiederum #5. Hier wird durch die UV-Varianten FGC (0,014) < INT (0,035) < PER (0,062) eine Substanz gebildet, die bei SGP und PAR nicht detektiert werden kann. Eine Abnahme im Vergleich zu SGP (0,029) hat bei #6 PAR (0,024) zur Folge. Doch FGC (0,073), INT (0,11) und PER (0,17) steigern sich um das 3, 4 und 6fache. Dieser Einfluss von PER ist der höchste der gesamten Spinatuntersuchungen. Bei #7 kann die Tendenz, dass PER (0,17) das Verhältnis Substanz/IS am stärksten beeinflusst, bestätigt werden. SGP (0,11), FGC (0,10) und INT (0,10) zeigen keine deutlichen Unterschiede. PAR erzielt einen Wert von 0,09. #8 zeigt zuerst eine Abnahme durch PAR (0,06) und FGC (0,06) bevor INT (0,07) wieder das Ausgangslevel von SGP (0,07) erreicht. Auch hier ist PER (0,09) tendenziell am besten. Die beiden Peaks 9 und 10 stellen eine andere Reaktion dar. Hier ist keine Veränderung zwischen SGP (0,05), PAR (0,05), FGC (0,05) und INT (0,05) festzustellen. Jedoch nimmt der Substanzgehalt durch eine permanente UV-Belichtung (PER 0,03) ab. Die Bandbreite der Wiederfindungsrate für Kurzzeit belichteten Spinat beträgt 68,98 bis 87,28% (\varnothing 78,99%). Eine Identifizierung von Einzelkomponenten ist bei Spinatextrakten weder für die Lang- noch für die Kurzzeitbelichtung möglich.

Gynura bicolor (Willd.) DC.

Auf den nächsten Seiten wird die HPLC-Analyse der eingesetzten Gynuraextrakte dargestellt. Durch den Einsatz des Internen Standards (IS) Naringenin (150 μ M i. A.), ist eine Berechnung der Wiederfindungsraten und die Bildung eines Quotienten Substanz/IS als relatives Maß für die Konzentration der detektierten Komponenten möglich. Eine genaue Identifizierung einzelner Substanzen ist aufgrund fehlender Übereinstimmung der Retentionszeiten von detektierten Peaks und eingesetzten Standards nur für eine Substanz der phenolhaltigen Gynuraextrakte des zweiten Anbaujahres möglich. Diese Substanz wird als Chlorogensäure identifiziert. Eine

Hydrolyse des Rohextraktes (siehe Abb. 61) identifiziert als weitere Substanz Kaffeesäure.

In Abb. 57 ist exemplarisch ein HPLC-Profil von phenolhaltigen Gynuraextrakten (SGP und PER) des ersten Anbaujahres zu sehen.

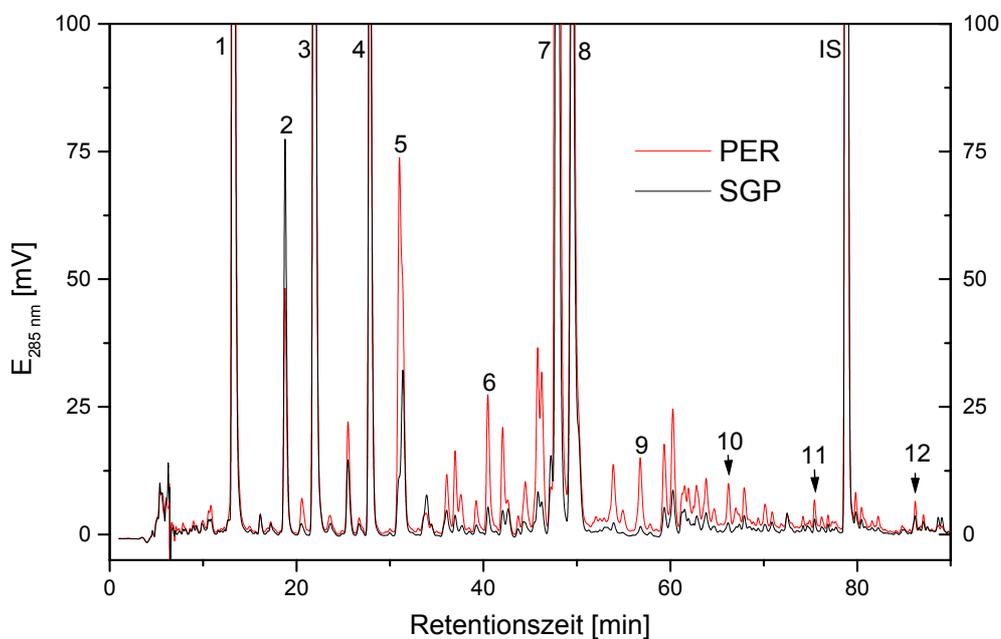


Abb. 57: HPLC-Profil phenolhaltiger Gynuraextrakte SGP u. PER (1. Anbaujahr);
 $\lambda = 285\text{ nm}$

In Abb. 57 sind deutlich die unterschiedlichen Peaks der beiden Chromatogramme (SGP und PER) zu erkennen. Anhand dieser Unterschiede und unter Berücksichtigung einer gleichmäßigen Verteilung der Peaks werden im ersten Jahr der Untersuchung zwölf Peaks gewählt und näher untersucht. Weiterhin kann durch einen Spektren- und Retentionszeitabgleich #1 als Chlorogensäure identifiziert werden.

Abb. 58 stellt den Substanzgehalt der 12 ausgewählten Peaks phenolhaltiger Gynuraextrakte des ersten Anbaujahres anhand des Quotienten Areas Substanz / Areas IS dar.

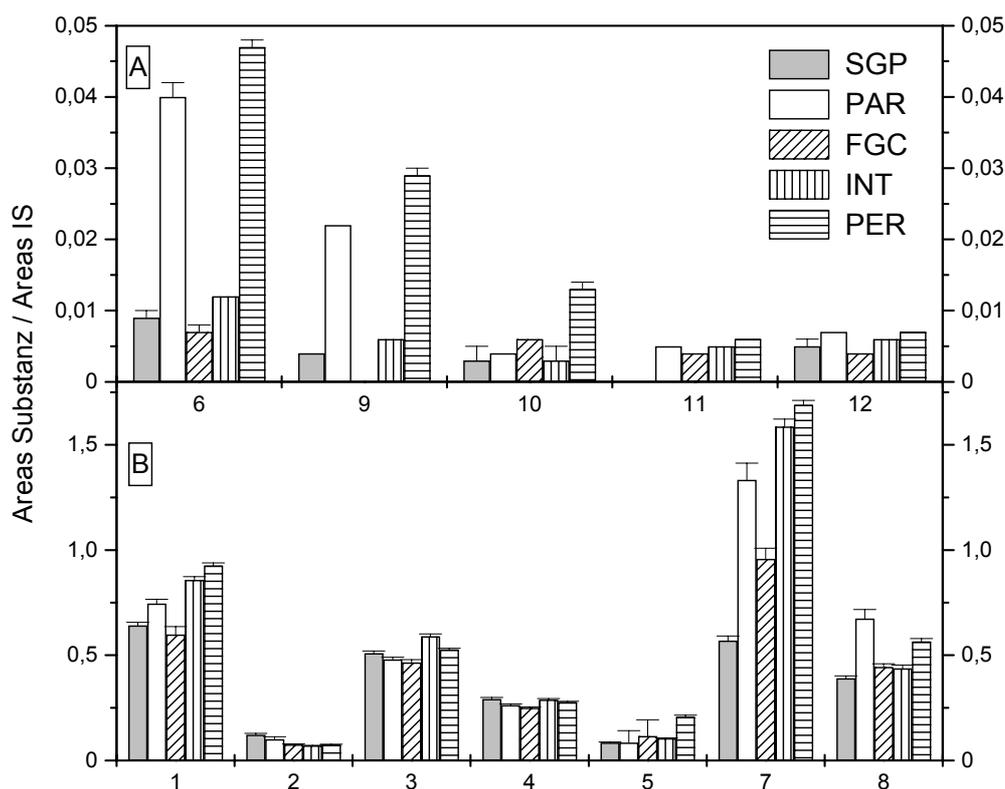


Abb. 58: Phenolhaltige Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres (A: Peaks $< 0,05$; B: Peaks $> 0,05$); $\lambda = 285 \text{ nm}$

In Abb. 58 A sind zum einen Peaks mit einem Quotienten kleiner als 0,05 abgebildet. Abb. 58 B stellt Peaks dar, die den Wert 0,05 überschreiten. #1, identifiziert als Chlorogensäure, zeigt bei PAR mit einem Quotienten von 0,75 im Vergleich zu SGP (0,64) zunächst eine Zunahme, um mit FGC (0,60) im Rahmen der Standardabweichung wieder abzunehmen. INT (0,86) und PER (0,93) führen beide zu einer deutlichen Akkumulation. Bei #2 kommt es durch eine Belichtung zu einem Rückgang (SGP 0,12; FGC 0,076; INT 0,071 und PER 0,074), wobei PAR (0,1) dies noch am geringsten betrifft. In #3 ist INT (0,59) der größte Peak, gefolgt von PER (0,53). Die Quotienten der anderen Varianten (SGP 0,51 $>$ PAR 0,48 $>$ FGC 0,47) liegen etwas niedriger. Auch bei #4 kommt es zuerst durch PAR (0,26) und FGC (0,25) zu einer Abnahme, bevor sich INT (0,29) und PER (0,28) wieder auf das Niveau von SGP (0,29) einpendeln. Eine Zunahme des Quotienten ist bei #5 für PER (0,21) zu beobachten. Eine eindeutige Differenzierung ist aber aufgrund der hohen Standardabweichungen von PAR (0,09) und FGC (0,12) nicht möglich. Peak 7

erreicht die höchsten Werte. Hier steigern sich im Vergleich zu SGP (0,60) alle Varianten. PER (1,69) erzielt kurz vor INT (1,59) den höchsten Wert. PAR (1,33) liegt hier vor FGC (0,96) an dritter Stelle. PAR (0,67) ist bei #8 die Variante mit dem höchsten Quotienten. Es folgt PER (0,57). INT (0,44) und FGC (0,44) liegen auf einem Level über SGP (0,39).

Für Substanzen mit einem Quotienten unter 0,05 hat #6 mit PER (0,047) den höchsten Gehalt. PAR kommt hier auf einen Wert von 0,04. INT (0,012), SGP (0,009) und FGC (0,007) akkumulieren weniger stark. Bei # 9 kann für FGC kein Quotient mehr errechnet werden, da der Peak nicht mehr detektiert wird. SGP ist mit 0,004 der schlechteste Quotient. INT (0,006), PAR (0,022) und PER (0,029) steigern sich jedoch. #10 hat für SGP (0,003), PAR (0,004) und INT (0,003) ähnliche Werte vorzuweisen. FGC (0,006) und PER (0,013) heben sich leicht von den anderen ab. Eine Detektion von SGP bei #11 ist nicht mehr möglich. PAR (0,005), FGC (0,004) und INT (0,005) werden hingegen detektiert. PER (0,006) hat den besten Quotienten. Für #12 kommen im Vergleich zu SGP (0,005), INT (0,006), PAR und PER (0,007) auf etwas höhere Werte. FGC liegt mit 0,004 unter SGP. Die Wiederfindungsrate liegt im ersten Jahr der Untersuchung zwischen 71,57 bis 82,36% ($\bar{\varnothing}$ 76,59%).

Abb. 59 stellt den Gehalt phenolhaltiger Gynuraextrakte der Langzeitbelichtung dar. In dieser Abb. sind die Peaks 2, 6, 9 und 10 in Teil A und die Peaks 1, 3, 4, 5, 7 und 8 in Teil B dargestellt. #11 und #12 werden im Vergleich zum ersten Versuchsjahr nicht mehr detektiert.

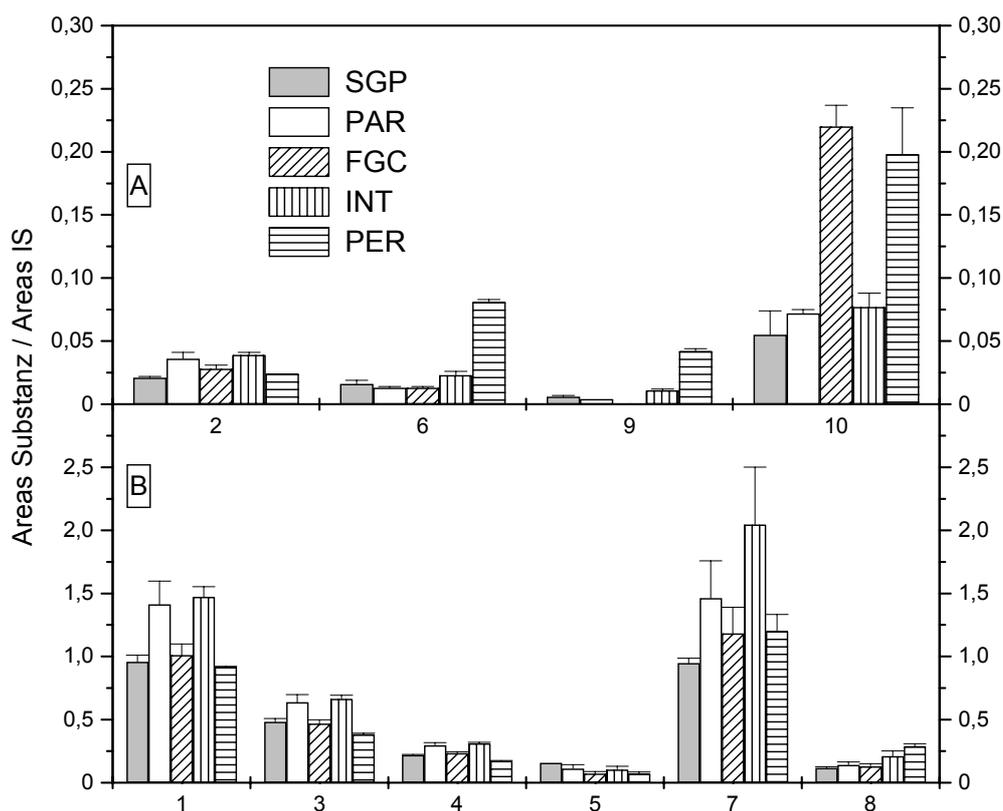


Abb. 59: Diagramm phenolhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) (A: Peaks < 0,25; B: Peaks \leq 2,05); $\lambda = 285$ nm

In Abb. 59 sind zum einen Peaks mit einem Quotienten bis 2,05 abgebildet (B). Der andere Teil des Diagramms (A) stellt Peaks dar, die viel kleinere Quotienten erzielen. Es ist zu erkennen, dass #1 (Chlorogensäure) nach einer Belichtung durch PER (0,92) eher zu einer Abnahme im Vergleich zu SGP (0,96) tendiert. FGC (1,01) führt nicht zu einer deutlichen Zunahme. PAR (1,41) und INT (1,47) können eine Erhöhung des Verhältnisses Chlorogensäure/IS bewirken. # 2 erreicht in ansteigender Reihenfolge diese Werte: SGP (0,021), PER (0,024), FGC (0,028), PAR (0,036) und INT (0,039). SGP (0,48) und FGC (0,47) haben bei #3 die gleiche Höhe. PAR (0,64) und INT (0,67) steigern sich hier im Substanzgehalt. PER (0,38) hat hier den niedrigsten Wert. Bei #4 ergibt sich eine ähnliche Situation. PAR (0,30) und INT (0,31) stimulieren hier besser als FGC (0,23). SGP hat einen Quotienten von 0,22, während es bei PER (0,17) wieder zu einem Rückgang kommt. Im nächsten Fall (#5) sind PER (0,07) und FGC (0,07) gleich. PAR (0,11) und INT (0,10) erreichen immer noch niedrigere Werte als SGP (0,16). #7 kann hier, ähnlich wie im ersten Jahr, die

höchsten Quotienten erreichen (SGP 0,95 < FGC 1,18 < PER 1,2 < PAR 1,46 < INT 2,05). Die Peaks 6, 8 und 9 geben eine Zunahme durch PER wieder. Für #8 kommt PER auf einen Wert von 0,29, SGP hingegen nur auf 0,12. FGC (0,13), PAR (0,14) und INT (0,21) liegen zwischen diesen beiden Varianten. #6 verzeichnet eine 5fache Steigerung durch PER (0,081) im Vergleich zu SGP (0,016). Diese Steigerung ist für INT (0,023) nicht so stark. PAR und FGC (0,13) nehmen an Substanz ab. #9 ist hier wiederum eine Ausnahme. Hier kann für FGC kein Wert mehr detektiert werden. Dies ist analog zum ersten Anbaujahr. PAR (0,004) führt zunächst zu einer Abnahme (SGP 0,006), bevor es bei INT (0,011) und PER (0,042) zu einer Zunahme kommt. Bei Betrachtung von #10 ergeben sich für FGC (0,22) und PER (0,20) ähnliche Tendenzen. PAR (0,072) und INT (0,077) liegen auch noch in einem höheren Bereich als SGP (0,055).

Abb. 60 stellt den Einfluss der Belichtungsvarianten auf phenolhaltige Gynura-extrakte der Kurzzeitbelichtung dar. Auch hier ist das Diagramm aufgeteilt in A mit Peaks < 0,07 und B mit Peaks > 0,07.

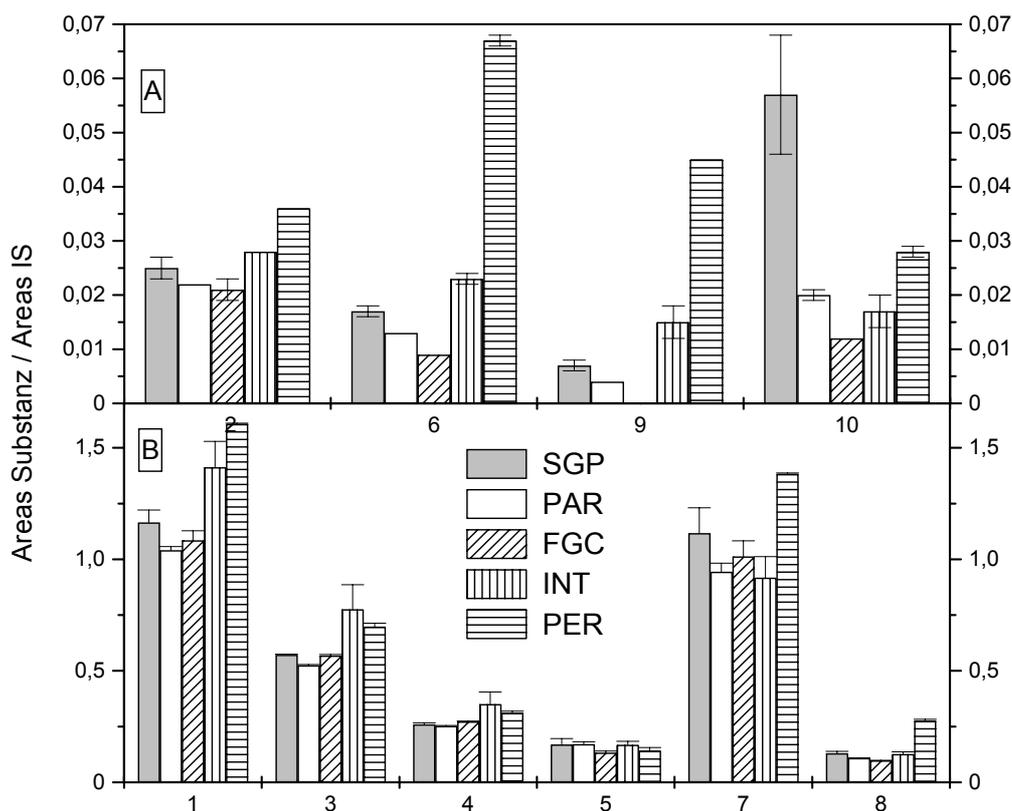


Abb. 60: Diagramm phenolhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Kurzzeitbelichtung) (A: Peaks < 0,07 und B: Peaks > 0,07); $\lambda = 285 \text{ nm}$

Durch eine Kurzzeitbelichtung erreicht #1 (Chlorogensäure) in Abb. 60 durch PER (1,61) den höchsten Quotienten dieser Untersuchung. INT (1,41) ist noch besser als SGP (1,17). Jedoch erzielen FGC (1,09) und PAR (1,04) schlechtere Werte. Bei #3 nimmt durch PAR (0,53) im Vergleich zu SGP (0,57) der Gehalt ab. FGC (0,57) hat den gleichen Level wie SGP. INT (0,78) und PER (0,70) zeichnen sich durch eine Erhöhung des Quotienten aus. #4 hat mit INT (0,35) die stärkste Anreicherung (SGP 0,26). FGC (0,27) ist nur leicht größer. PER (0,31) nähert sich INT an. #5 wird durch FGC (0,13) und PER (0,14) kleiner (SGP 0,17 = PAR = INT). Peak 7 ist im Maximum (PER 1,38) kleiner als #1. FGC (1,01), PAR (0,94) und INT (0,92) sind schlechter als SGP (1,12). PER (0,23) kann im Vergleich zu SGP (0,13) das Verhältnis fast verdoppeln (#8). INT (0,13) bewegt sich auf einer Ebene mit SGP. PAR (0,11) und FGC (0,10) führen zu einer leichten Abnahme.

Peaks mit einem kleineren Quotienten (<0,07), wie z.B. #2, 6 und 9 belegen für PER jeweils das beste Verhältnis für Substanz/IS. So kommt #2 bei PER auf 0,036 und ist

damit besser als SGP (0,025). INT (0,028) hat den zweithöchsten Quotienten. PAR (0,022) und FGC (0,021) liegen unter SGP. #6 erreicht den deutlichsten Zuwachs durch PER (0,067) und vervierfacht den Substanzgehalt im Vergleich zu SGP (0,017). Durch PAR (0,013) und FGC (0,009) kommt es zu einer Abnahme. INT (0,023) führt zu einer Anreicherung. Im Falle des #9 ist FGC nicht im Messbereich. Die anderen Varianten liegen bei 0,004 (PAR) < 0,007 (SGP) < 0,015 (INT) < 0,045 (PER). PER erreicht hier den 6,4fachen Wert von SGP. Bei #10 führt eine Belichtung zu einer Abnahme des Verhältnisses. SGP liegt mit einem Quotienten von 0,057 immer über den anderen Varianten (PER 0,028 > PAR 0,02 > INT 0,017 > FGC 0,012). #11 und #12 können im Gegensatz zum ersten Versuchsjahr nicht mehr detektiert werden.

Die Peakgrößen variieren zusätzlich zur Belichtungsstrategie je nach Anbauphase und Pflanzenalter. Tab. 11 zeigt dies exemplarisch anhand eines Vergleichs von SGP der Lang- und Kurzzeitbelichtung des zweiten Anbaujahres aus phenolhaltigen Gynuraextrakten. Die unbelichteten Kontrollpflanzen (SGP) der Kurzzeitbelichtung sind 3 Tage älter als die Pflanzen der Langzeitbelichtung (SGP).

Tab. 11: Vergleich SGP aus der Kurzzeit- und Langzeitvariante phenolhaltiger Gynuraextrakte des zweiten Anbaujahres; $\lambda = 285 \text{ nm}$

Substanz	Substanz/IS	
	Langzeitbelichtung	Kurzzeitbelichtung
1	0,96 ± 0,05	1,17 ± 0,06
3	0,48 ± 0,03	0,57 ± 0,00
4	0,22 ± 0,01	0,26 ± 0,01
5	0,16 ± 0,00	0,17 ± 0,03
7	0,95 ± 0,04	1,12 ± 0,11
8	0,12 ± 0,01	0,13 ± 0,01
10	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,01

In Tab. 11 ist der Einfluss des Pflanzenalters und somit des Erntezeitpunktes auf die Größe und Zusammensetzung der detektierten Inhaltsstoffe zu sehen. Substanz 1 (Chlorogensäure) erfährt durch die drei Tage länger währende Wachstumsphase eine Anreicherung im Verhältnis Substanz/IS von 0,96 auf 1,17. Weitere Anreicherungen werden z. B. bei #3 (0,48 auf 0,57), #4 (0,22 auf 0,26) und #7 (0,95 auf 1,12) festgestellt. Bezüglich #5, 9 und 10 ist kein Unterschied zwischen einer Kurzzeit- und Langzeitvariante festzustellen. Die Bandbreite der prozentualen Erhöhung bewegt sich hier von 0–17,9% ($\bar{\sigma}$ 9,19%).

Die folgende Abb. 61 gibt nun die Ergebnisse einer Hydrolyse des Rohextraktes aus Langzeit belichtetem Gynura des zweiten Anbaujahres wider.

Hydrolyse des Rohextraktes

Eine Hydrolyse des Rohextraktes (SGP) aus Langzeit belichtetem Gynura führt zu folgendem Profil (Abb. 61).

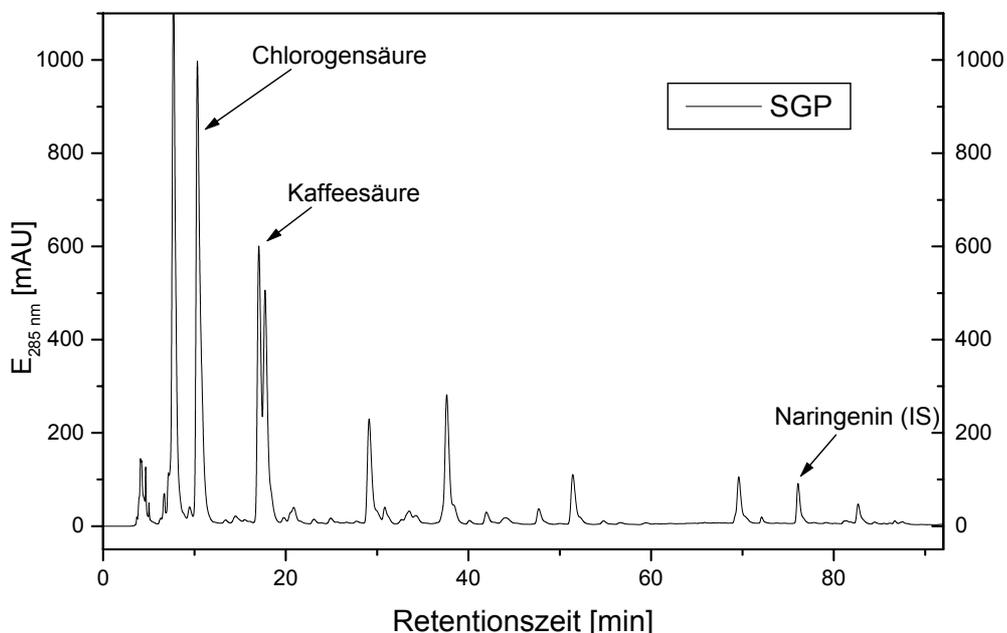


Abb. 61: Chromatogramm eines hydrolysierten Gynura-Rohextraktes im 2. Anbaujahr (Langzeitbelichtung) und SGP-Behandlung; $\lambda = 285\text{ nm}$

Zusätzlich zu Chlorogensäure und Naringenin (IS) kann Kaffeesäure als ein weiterer Bestandteil des hydrolysierten Gynura-Rohextraktes (SGP) identifiziert werden.

Anthocyanhaltige Gynuraextrakte

Auf den nächsten Seiten werden die Einflüsse der unterschiedlichen Anbauvarianten auf die anthocyanhaltigen Extrakte von Gynura dargestellt. Diese Extrakte enthalten sowohl Phenolsäuren als auch Anthocyane. Da die methodische Feststellung der Unterschiede analog zu rein phenolhaltigen Extrakten ist, wird hier auf eine ausführliche graphische Darstellung dieser HPLC-Profile verzichtet. Eine Bildung des Verhältnisses von Substanz/IS ist bei der Untersuchung anthocyanhaltiger Extrakte nicht möglich. Der gewählte IS (Naringenin) bleibt bei Flüssig/Flüssig-Extraktion nicht in der Anthocyanphase. Auch können keine Substanzen identifiziert werden. Alle Werte sind im folgenden auf Areas [$\text{mV} \cdot \text{min}$] bezogen. HPLC-Untersuchungen mit anthocyanhaltigen Gynuraextrakten der Kurzzeitbelichtung werden aufgrund des nur

begrenzt zur Verfügung stehenden Pflanzenmaterials im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt.

Erstes Versuchsjahr (Langzeitbelichtung)

Die folgenden Diagramme sind aufgrund der starken Größenunterschiede der Peakflächen in einen Teil A für kleine und einen Teil B große für Flächen aufgeteilt. Die Einteilung erfolgt je nach Diagramm und Anbauvariante gesondert.

Abb. 62 stellt die Einflüsse der Belichtungsvarianten des ersten Anbaujahres auf anthocyanhaltige Gynuraextrakte dar. Teil A zeigt Peaks die kleiner als 36 Areas sind, Teil B stellt Peaks größer oder gleich 36 Areas dar.

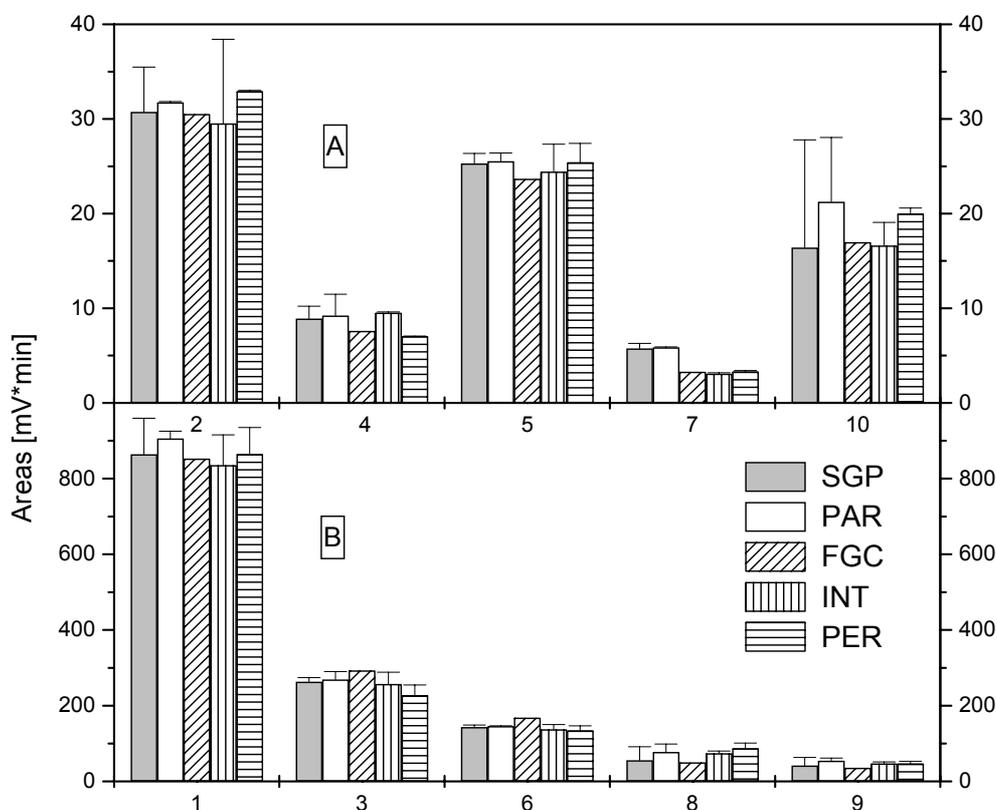


Abb. 62: Diagramm anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres (A: Peaks < 36 Areas und B: Peaks \geq 36 Areas); $\lambda = 285 \text{ nm}$

In Abb. 62 ist für #1 keine Zunahme der Areas ($\text{mV} \cdot \text{min}$) bei PAR (906) gegenüber SGP (864) zu beobachten, da sich sowohl PAR, FGC (853), INT (835) und PER (864) im Bereich der Standardabweichungen bewegen. #3 erreicht mit SGP 263 $\text{mV} \cdot \text{min}$. PAR (269) und INT (257) unterscheiden sich nur leicht. FGC (293) ergibt

die größten Peaks. PER (227) führt wie INT zu einer Abnahme (SGP 263). Das gleiche Profil zeigt sich an #6. SGP (143) liegt hier niedriger als PAR (145). INT (137) und PER (134) können nicht zu SGP aufschließen. FGC erreicht mit 168 mV*min den besten Wert. Jedoch kann FGC (50) bei #8 nicht so stark akkumulieren wie SGP (56). INT (74), PAR (77) und PER (87) liegen über SGP. Bei #9 führt FGC (36) zu einer Abnahme (SGP 42). PER (47), INT (47) und PAR (54) weisen eine leichte Zunahme an Substanz auf. Peak 2 zeigt gegenüber SGP (31) durch PER (33) eine tendenzielle Steigerung, alle Werte (PAR 32, FGC 31 und INT 30) liegen aber innerhalb der Standardabweichungen. Bei #4 hat PER (7) und FGC (8) weniger Areas als SGP (9), PAR (9) und INT (10). #5 zeigt keine deutlichen Unterschiede zwischen den Varianten (FGC 24 = INT < SGP 25 < PAR 26 = PER). #7 ergibt für FGC, INT und PER (3) ein einheitliches Bild. Diese drei Varianten erzielen die Werte von SGP und PAR (6) nicht. Für #10 sind aufgrund der Standardabweichungen nur Tendenzen ablesbar. PAR (21) gefolgt von PER (20) sind höher im Gehalt als FGC (17), INT (17) und SGP (16). Die Betrachtungen für #1, 2, 3, 4, 5, 8, 9 und 10 liefern aufgrund ihrer Standardabweichungen keine eindeutigen Belege für einen Einfluss der Belichtung auf anthocyanhaltige Extrakte. Nur für #7 kann eine deutliche Abnahme an Substanz durch eine UV-Belichtung festgehalten werden. Eine Identifizierung einzelner Peaks ist nicht möglich.

Zweites Versuchsjahr (Langzeitbelichtung)

Im zweiten Jahr der Untersuchung werden nach einem Wechsel der HPLC-Anlage, die nun einen Photodiodenarraydetektor hat, drei Peaks eindeutig bei einer Wellenlänge von 530 nm detektiert. Werden diese Peaks in anthocyanhaltigen Extrakten bei $\lambda = 285$ nm detektiert, wird für diese im folgenden die Beschriftung A1, A2 und A3 verwendet, um sie von den anderen enthaltenen Stoffen zu unterscheiden.

Abb. 63 gibt den Einfluss der Belichtung auf anthocyanhaltige Extrakte der Langzeitbelichtung bei einer Wellenlänge von 285 nm wieder. Teil A zeigt Peaks, die kleiner als 100 Areas sind. Teil B der Abbildung gibt Peaks wieder, die mehr als 100 Areas erreichen.

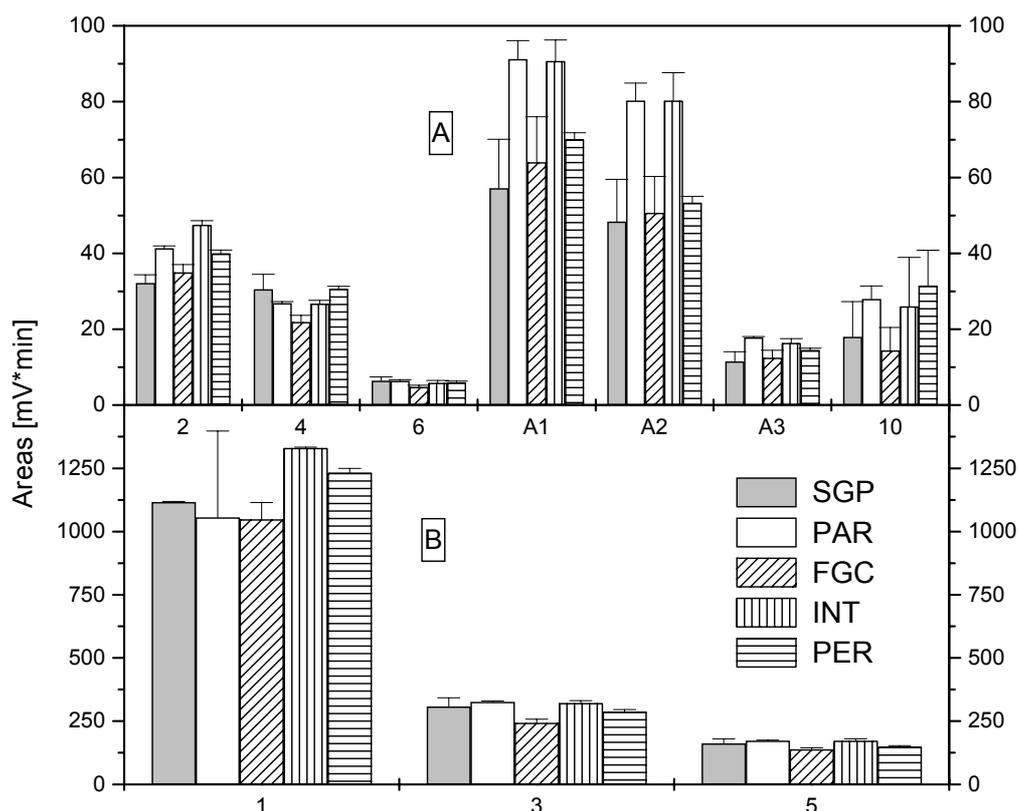


Abb. 63: Diagramm anthocyanhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Langzeitbelichtung) (A: Peaks < 100 Areas und B: Peaks > 100 Areas); $\lambda = 285 \text{ nm}$

In Abb. 63 heben sich #1, 3 und 5 durch ihre hohen Gehalte ab. #1 weist mit INT (1331 mV*min) den höchsten Wert auf. PER kommt auf 1232 mV*min. SGP (1117) ist noch besser als PAR (1056) und FGC (1048). Bei # 3 führen FGC (243) und PER (288) zu einem Rückgang im Vergleich zu SGP (308). INT (321) und PAR (326) sind besser. #5 kann mit FGC (138) und PER (148) nicht den Wert von SGP (161) erreichen. PAR und INT (173) haben das gleiche Niveau. Alle weiteren untersuchten Substanzen erzielen keine Peakflächen über 100 Areas. #2 kommt bei INT mit 48 mV*min auf den höchsten Wert. Es folgen PAR (41) und PER (40). FGC liegt mit 35 mV*min immer noch vor SGP (32). Für #4 können FGC (22) und INT/PAR (27) als niedrigste Werte festgehalten werden. SGP und PER kommen beide auf eine Höhe von 31 mV*min. #6 weist mit SGP = PAR = INT = PER (6) > FGC (5) die niedrigsten Messwerte auf. Bei #A1 kann nicht eindeutig zwischen SGP (57) und FGC (64) unterschieden werden. PER (70) liegt hier innerhalb der Standardabweichung, PAR

und INT (91) liegen höher. #A2 zeigt ein ähnliches Muster (SGP 48, FGC 51 und PER 54). Für PAR und INT (80) ist der Abstand zu SGP am deutlichsten. #A3 hat durch SGP (11) den niedrigsten Gehalt. FGC (12) und PER (14) sind etwas besser. An erster Stelle liegt PAR (18) gefolgt von INT (16). #10 hat stark schwankende Werte (FGC 14, SGP 18, INT 26, PAR 28 und PER 32).

4.5.2 Carotinoide

Aus carotinoidhaltigen Spinat- und Gynuraextrakten werden im ersten Jahr der Untersuchungen sowohl die Carotinoide Lutein und β -Carotin als auch Chlorophyll a und b identifiziert. Im ersten Versuchsjahr können bei Gynura diese Substanzen bei der Bildung eines Quotienten von Areas Substanz / Areas IS auf mg pro 0,1 g FM bezogen werden. Ein Bezug auf FM gelingt bei Spinat erst im zweiten Jahr der Untersuchungen. In carotinoidhaltigen Gynuraextrakten der Lang- und Kurzzeitbelichtung des zweiten Anbaujahres werden aufgrund des begrenzten finanziellen und zeitlichen Rahmens nur Lutein und β -Carotin quantifiziert. Zusätzlich wird in den Extrakten α -Carotin als weiteres Carotinoid identifiziert. Als interner Standard dient in beiden Versuchsjahren β -Apo-8'-carotenal (45 μ M i. A). Die Bandbreite der Wiederfindungsraten für carotinoidhaltige Extrakte liegt für Spinat durch die begrenzte Haltbarkeit des verwendeten IS bei 48,8 bis 83,6% (\emptyset 71,0%) und für Gynura aufgrund eines Defektes der Analysewaage bei 2,28 bis 115,34% (\emptyset 80,1%).

Spinacia oleracea L.

Nachstehende Abb. 64 stellt das Verhältnis Substanz/IS von carotinoidhaltigen Spinatextrakten des ersten Jahres bezogen auf 0,1 g FM dar.

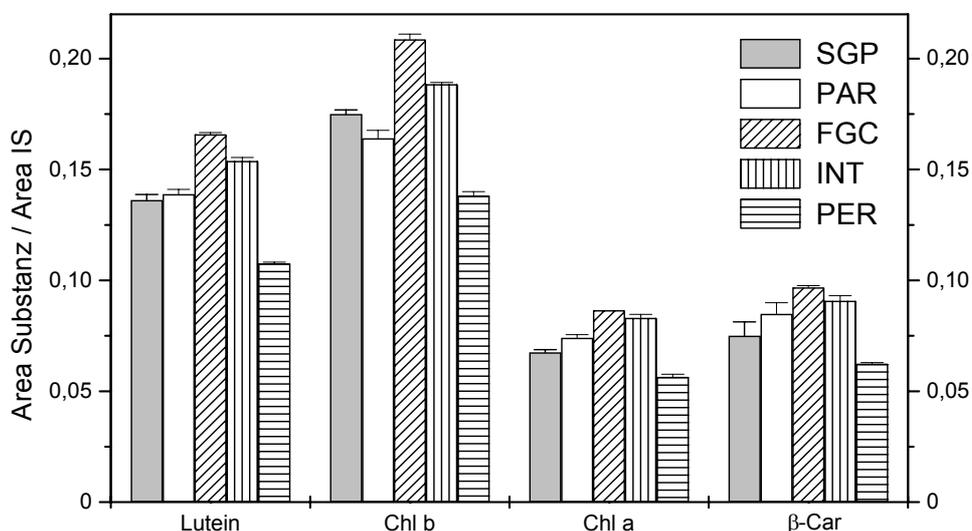


Abb. 64: Diagramm: carotinoidhaltige Spinatextrakte des 1. Anbaujahres;
 $\lambda = 450 \text{ nm}$

Obige Abbildung zeigt, dass FGC bei allen 4 Substanzen das größte Verhältnis von Substanz/IS hat. Für Chl b wird ein Quotient von 0,21 (FGC) erzielt. INT (0,19), SGP (0,18), PAR (0,16) und PER (0,14) können diesen Wert nicht erreichen. Lutein hat bei FGC ein Verhältnis von 0,17. INT (0,15), PAR und SGP (0,14) sind besser als PER (0,11). PER (0,06) kommt auch bei β -Car auf den niedrigsten Quotienten. Es folgen SGP (0,08), PAR/INT mit 0,09 und FGC (0,10). Chl a hat bei FGC (0,09) den höchsten Wert. INT (0,08) kommt vor PAR (0,07). SGP (0,07) weist mehr an Gehalt auf als PER (0,06).

Folgende Abb. 65 gibt die Ergebnisse carotinoidhaltiger Spinatextrakte der Lang- und Kurzzeitbelichtung des zweiten Anbaujahres wieder (R. Schauer, Diplomarbeit; unveröffentlicht).

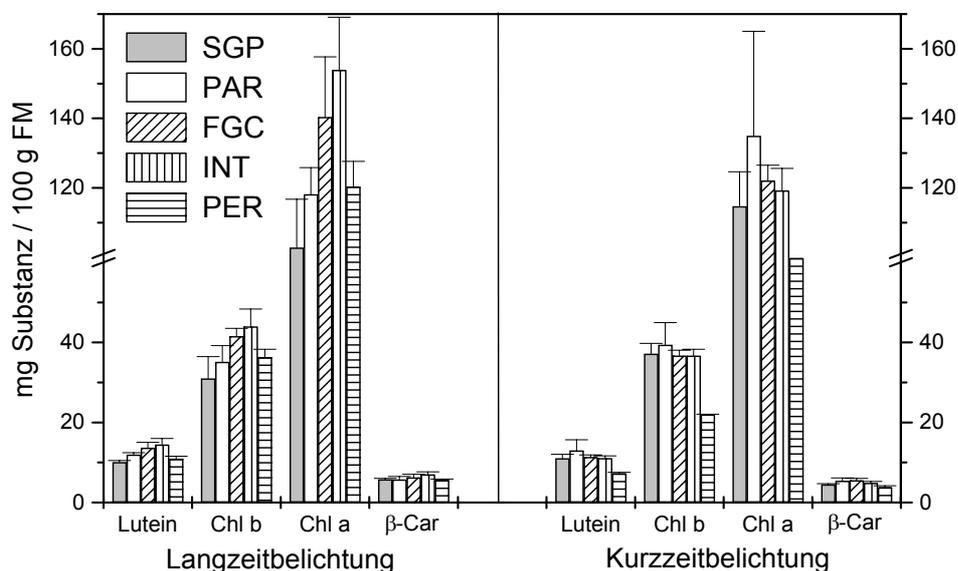


Abb. 65: Diagramm carotinoidhaltiger Spinatextrakte des 1. und 2. Anbaujahres (Lang- und Kurzzeitbelichtung)

Langzeitbelichtung

Chl a hat bei INT (154 mg/100 g FM) den höchsten Gehalt. FGC (140 mg/100 g FM), PER (120 mg/100 g FM) und PAR (118 mg/100 g FM) führen im Vergleich zu SGP (103 mg/100 g FM) wie INT auch zu einer Steigerung. Auch bei Chl b kommt es in der Reihenfolge INT (44 mg/100 g FM), FGC (42 mg/100 g FM), PER (36 mg/100 g FM), PAR (35 mg/100 g FM) zu einer Akkumulation (SGP 31 mg/100 g FM). Bei Lutein hat SGP einen Gehalt von 10 mg/100 g FM erzielt. PER (11 mg/100 g FM), PAR (12 mg/100 g FM), FGC (14 mg/100 g FM) und INT (15 mg/100 g FM) sind im Gehalt leicht erhöht. Gleichbleibende Werte für SGP, PAR, FGC und PER (6 mg/100 g FM) werden bei β-Car festgestellt. Nur INT (7 mg/100 g FM) erhöht den Wert leicht.

Kurzzeitbelichtung

Chl a zeigt auch hier (Abb. 65) die höchsten Gehalte. Im Gegensatz zur Langzeitbelichtung ist PAR (135 mg/100 g FM) tendenziell die beste Variante. FGC (122 mg/100 g FM), INT (119 mg/100 g FM) und SGP (115 mg/100 g FM) sind nicht eindeutig zu unterscheiden. PER (73 mg/100 g FM) führt jedoch im Vergleich mit

SGP zu einer Abnahme. Chl b weist ein ähnliches Muster auf. PAR (39 mg/100 g FM), FGC (37 mg/100 g FM), INT (37 mg/100 g FM) und SGP (37 mg/100 g FM) erreichen ein gleiches Niveau. PER (22 mg/100 g FM) hat den schlechtesten Wert. Für Lutein erreichen SGP, FGC und INT mit jeweils 11 mg/100 g FM den Bereich von PAR (13 mg/100 g FM). Allein für β -Car zeichnet sich ein anderes Bild. SGP (4,5 mg/100 g FM) liegt unter PAR (5,4 mg/100 g FM), FGC (5,5 mg/100 g FM) und INT (4,9 mg/100 g FM). PER (3,8 mg/100 g FM) kann den Wert von SGP nicht erreichen.

Gynura bicolor (Willd.) DC.

Abb. 66 stellt die Ergebnisse carotinoidhaltiger Gynuraextrakte des ersten Anbaujahres dar.

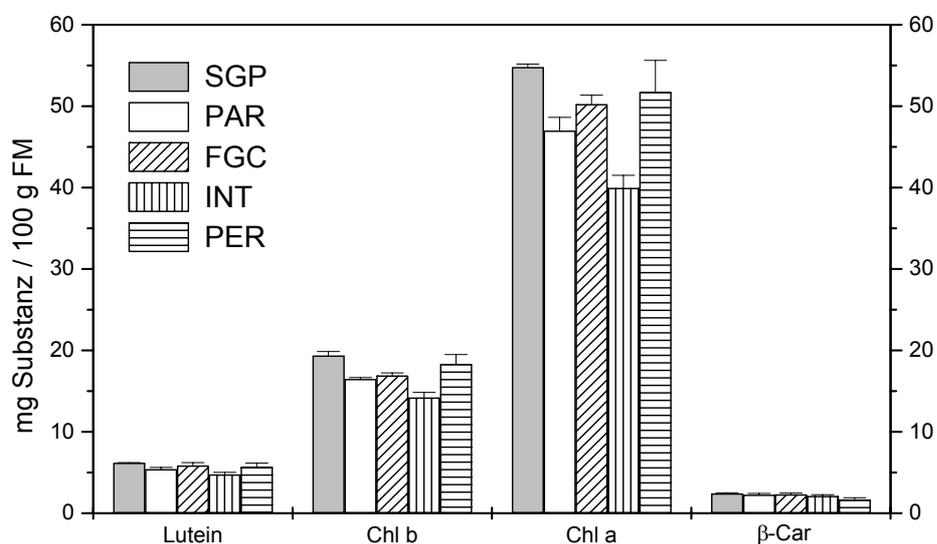


Abb. 66: Diagramm carotinoidhaltiger Gynuraextrakte des 1. Anbaujahres

Wiederum hat Chl a die höchsten Gehalte. Jedoch kommt es durch eine Belichtung im Vergleich mit SGP zu einer Abnahme an Substanz. SGP erzielt 55 mg/100 g FM. Den zweithöchsten Wert mit 52 mg/100 g FM wird PER zugeschrieben. INT erreicht nur 40 mg/100 g FM. FGC (50 mg/100 g FM) und PAR (47 mg/100 g FM) liegen dazwischen. Bei Chl b wird eine ähnliche Reaktion beobachtet. SGP (19 mg/100 g FM) liegt vor PER (18 mg/100 g FM). FGC (17 mg/100 g FM), PAR (17 mg/100 g FM) und INT (14 mg/100 g FS) bestätigen den Abwärtstrend der belichteten Varianten. Bei Lutein kann nicht zwischen SGP, FGC und PER mit jeweils 6 mg/100 g FM unterschieden werden. PAR und INT bewegen sich im Bereich um 5 mg/100 g

FM. β -Carotin weist mit 1,7 mg/100 g FM (PER) den geringsten Wert auf. INT kommt auf 2,1 mg/100 g FM. FGC und PAR (2,3 mg/100 g FM) sowie SGP (2,4 mg/100 g FM) sind leicht höher im Gehalt.

In Abb. 67 werden die Gehalte an Lutein und β -Carotin des Kurz- und Langzeit belichteten Gynura im zweiten Anbaujahr dargestellt.

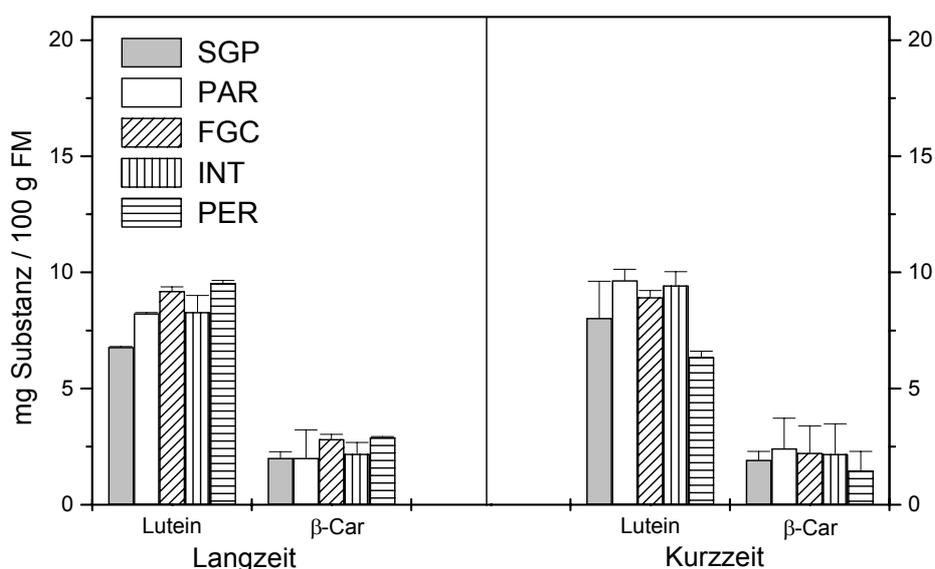


Abb. 67: Diagramm carotinoidhaltiger Gynuraextrakte des 2. Anbaujahres (Lang- und Kurzzeitbelichtung)

Langzeitbelichtung

Es ist bei Langzeit belichtetem Gynura zu erkennen, dass es bei Lutein durch eine Belichtung zu einem Anstieg im Substanzgehalt kommt. SGP mit 6,8 mg/100 g FM hat hier den niedrigsten Gehalt. Eine Belichtung mit PAR und INT führt zu 8,2 bzw. 8,3 mg/100 g FM. Den zweithöchsten Wert mit 9,2 mg/100 g FM erreicht FGC. PER erzielt einen Luteingehalt von 9,5 mg/100 g FM. Bei β -Carotin sind tendenziell SGP und PAR (2,0 mg/100 g FM) am niedrigsten. INT (2,2 mg/100 g FM) liegt über diesen beiden Varianten, aber unter FGC (2,8 mg/100 g FM) und PER (2,9 mg/100 g FM).

Kurzzeitbelichtung

Während einer Kurzzeitbelichtung kommt es bei Lutein durch PER (6,4 mg/100 g FM) im Vergleich zu SGP (8,0 mg/100 g FM) zu einer Abnahme an Substanz. FGC (8,9 mg/100 g FM), INT (9,4 mg/100 g FM) und PAR (9,7 mg/100 g

FM) führen dagegen zu einer Akkumulation. Auch bei β -Carotin kommt es durch PER (1,5 mg/100 g FM) zu einer Abnahme. SGP erreicht einen Gehalt von 1,9 mg/100 g FM. PAR (2,4 mg/100 g FM), FGC und INT (2,2 mg/100 g FM) liegen etwas oberhalb von SGP.

5 Diskussion

Pflanzen leben unter stetigem Einfluss ihrer Umgebung. So hat z.B. das Licht (v.a. UV-B) das Potential in pflanzliche Stoffwechselprozesse einzugreifen (Brosché und Strid, 2003, Jordan, 2002 und Ballaré, 2003). Es werden besonders der Phenylpropanoid- aber auch der Carotinoidstoffwechsel durch UV beeinflusst (Bharti und Khurana, 1996, Reuber et al., 1996, Kovács und Keresztes, 2002, Cuadra et al., 1997 und Giuntini, 2005). In der vorliegenden Arbeit werden *Spinacia oleracea* L. und *Gynura bicolor* (Willd.) DC. unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus angebaut und mit speziellen Wachstumslampen bestrahlt. Diese Lampen emittieren Strahlung sowohl im PAR- und UV-A-, als auch im UV-B-Bereich (siehe Material und Methoden). Gegenstand der Untersuchungen ist, ob sich durch eine Belichtung dieser Pflanzen der Gehalt und die Zusammensetzung an phenolischen Pflanzeninhaltsstoffen und Carotinoiden verändern lässt. Parallel dazu wird überprüft, wie sich die antioxidative Kapazität (AK) entsprechender phenol- und carotinoidhaltiger Blattextrakte durch diese Belichtung entwickelt.

5.1 Pflanzenhabitus und Biomasseproduktion

Durch eine Bestrahlung mit UV-B kann nicht nur das Inhaltsstoffspektrum von Pflanzen beeinflusst werden, sondern auch der Habitus kann Veränderungen erfahren (Brunold, 1996 und Batschauer, 1999).

Bei Spinat verändert sich durch eine Belichtung das äußere Erscheinungsbild der Pflanzen. Mit einem Anstieg der Bestrahlungsstärke nimmt innerhalb der UV-Varianten die Anzahl der hellgrün-gelblichen Bätter zu. Dieser Effekt wird mit einer Änderung im Chlorophyllgehalt in Zusammenhang gebracht. Smith et al. (2000) stellten einen um bis zu 40% reduzierten Chlorophyllgehalt bei UV-B belichtetem Spinat fest. In der ersten Anbauperiode unterscheidet sich PER zusätzlich durch die Ausbildung eines Blütenstandes eindeutig von den anderen Varianten (Abb. 9). Dies ist durch ein mögliches Überschreiten einer Gesamtlichtsumme zu erklären, die für die Tageslängenrelation und somit für die Blüteninduktion bei Spinat als Langtagspflanze eine Rolle spielt (Vogel, 1996). Im zweiten Jahr der Untersuchungen tritt dieses Phänomen nach einer Modifikation im Versuchsaufbau, durch die alle belichteten Pflanzen die gleiche PAR-Summe erreichen, nicht mehr auf. Jedoch sind nun bei einer 14-tägigen Belichtung (Langzeit) Unterschiede in der Wuchshöhe

festzustellen (Abb. 10). PAR und SGP sind kleiner als die übrigen Varianten. PER weist die größte Wuchshöhe auf, hat aber an den Blättern stark eingerollte Ränder. Durch das Einrollen wird die Expositionsfläche verkleinert, die der schädigenden UV-B-Strahlung ausgesetzt ist. Dieser Anpassungsmechanismus, der sowohl bei Kurzzeit- als auch Langzeit belichtetem Spinat auftritt, wird auch von Jansen et al. (1998) beschrieben. Dass PER den höchsten Wuchs erreicht, ist keine allgemein beobachtete Pflanzenreaktion auf eine UV-Bestrahlung (Krizek, 2004), wurde aber bereits bei der kleinblütigen Nachtkerze festgestellt (Cybulski und Peterjohn, 1999). Wie es zu dieser Förderung des Pflanzenwachstums durch UV-B-Bestrahlung kommt, ist bis dato unklar. In unserem Fall kann es sein, dass durch eine permanente Belichtung des Spinats der Prozess des oben beschriebenen Schossens zum Erntezeitpunkt gerade eingeleitet wurde. Spinat der Kurzzeitbelichtung zeigt keine Unterschiede in der Wuchshöhe.

Gynura der ersten Versuchsperiode bekommt durch PER und INT, im Gegensatz zum Spinat, den gedrungesten Wuchs, verkürzte Internodien und verdickte Blattstiele (Abb. 14). UV-B bestrahlte Pflanzen reagieren unterschiedlich sensitiv. Durch die Umleitung von Ressourcen zur Bildung von UV-B-Schutzpigmenten können Zellfunktionen, wie z.B. das Wachstum, vernachlässigt werden (Jordan, 2002). Ein vermindertes Sprosswachstum, eine Verkürzung der Internodien, kürzere Blattstiele und kleinere Blattflächen sind eine weit verbreitete Reaktion (Tevini, 1993 und Brunold, 1996). UV-Licht kann durch eine photolytische Degradation die Konzentration von Indolelessigsäure (IAA) in der Zelle reduzieren und in Verbindung mit einem IAA-Photoprodukt somit das hypokotyle Wachstum negativ beeinflussen (Hollósy, 2002). Dass die Blätter dieser Varianten jedoch auch grüner als die der anderen sind, steht im Gegensatz zu den bei Spinat festgestellten Effekten. Wird jedoch die variable Sensitivität einer Pflanze und die unterschiedliche Dicke der Blätter mit betrachtet, so kann es bezogen auf die Blattfläche durchaus auch zu einer lokalen Zunahme im Chlorophyllgehalt kommen (Tevini, 1993). Gynura des zweiten Anbaujahres (Langzeitbelichtung) zeigt weniger Unterschiede im Habitus. Nur die Festigkeit des Pflanzengerüsts bei INT und PAR, sowie die Stiel- und Blattdicke bei PER ist erhöht, was als Schutzreaktion gegenüber einer Belichtung zu deuten ist (Santos et al., 2004). Bei der Kurzzeit belichteten Gynura ist keine Veränderung im Habitus festzustellen.

Eine Belichtung von Pflanzen mit UV-B-Strahlung kann auch die Biomasseproduktion höherer Pflanzen beeinflussen (Frohnmeier und Staiger, 2003). So kommt es bei Spinat des ersten Versuchsjahres zu einer Abnahme des TS-Gehalts von PER im Vergleich zu SGP. PAR, FGC und INT verzeichnen jedoch eine Zunahme. Das gleiche Ergebnis wird bei einer Langzeitbelichtung erzielt. Bei Kurzzeit belichtetem Spinat kommt es jedoch einheitlich zu einer Erhöhung im TS-Gehalt. Gynura zeigt im ersten Jahr eine durch Belichtung bedingte Abnahme an TS. FGC und PER haben die geringste TS. Gynura des zweiten Anbaujahres kann nach 14-tägiger Belichtung keine Unterschiede aufweisen. Allen et al. (1998) führen als Gründe für Veränderungen eine Beeinflussung der Stomas durch UV-Licht an, die sich auf die Transpirationsrate auswirken kann. Im allgemeinen führt hier eine UV-B-Bestrahlung eher zu einer Abnahme an TS, was sich bei Spinat aber nur bei einer 14-tägigen permanenten UV-Belichtung festhalten lässt. Gynura des ersten Jahres zeigt jedoch bei allen Varianten eine tendenzielle Abnahme an TS. Wirken interaktive Einflüsse, wie eine zusätzliche PAR- und UV-A-Strahlung auf eine Pflanze ein, werden photosynthetische und photomorphogenetische Einflüsse miteinander gekoppelt (Krizek, 2004). Hinzu kommt, dass das Pflanzenalter und der Erntezeitpunkt eine große Rolle spielen, da Pflanzen in der Lage sind innerhalb von kurzer Zeit (Tage oder sogar Stunden) auf einen UV-Einfluss zu reagieren (Smith et al., 2000). Dies wird durch die Unterschiede phenolhaltiger Gynuraextrakte einer Kurz- und Langzeitbelichtung bestätigt (Tab. 11).

TS-Untersuchungen für Gynura der Kurzzeitbelichtung konnten durch die versuchsbedingt begrenzte Pflanzenanzahl nicht durchgeführt werden.

5.2 Testsysteme zur antioxidativen Kapazität (AK)

5.2.1 XOD- und ABTS-Testsystem

5.2.1.1 Wirkung phenolhaltiger Spinatextrakte

Im ersten Anbaujahr erzielen alle phenolhaltigen Spinatextrakte der Belichtungsvarianten bei der Oxidation von NH_2OH zu Nitrit eine etwas bessere absolute Hemmung (27%) als SGP (23%) (Abb. 17). Während der Oxidation von KMB zu Ethylen haben diese Spinatextrakte eine maximale Hemmwirkung von 44% (PER) (Abb. 26). Ein Einsatz der Extrakte ins ABTS-Testsystem bestätigt die Tendenz einer durch UV-B-Belichtung (PER) erhöhten AK von Spinatextrakten des ersten Anbau-

jahres (Abb. 36). PER erreicht hier mit einer Absorptionsdifferenz (AD) von 0,49 Absorptionseinheiten (AE) die stärkste AK. Eine Untersuchung des Phenolgehaltes (Tab. 6) belegt einen höheren Gehalt an GAE von PER im Vergleich zu den anderen Varianten.

Extrakte der Langzeitbelichtung (zweites Anbaujahr) entwickeln während der NH_2OH -Oxidation durch eine schwächere absolute Hemmung und die stark schwankenden Messwerte keine konzentrationsabhängige Reaktion (Abb. 18). Extrakte der Kurzzeitbelichtung verschlechtern sich nochmals in ihrer AK (Abb. 19). PER kann aber innerhalb dieser geringen Hemmbereiche die tendenziell beste Wirkung entfalten. Werden die Extrakte der Lang- und Kurzzeitbelichtung bei der KMB-Oxidation eingesetzt, hebt sich PER mit 20-23% max. Hemmwirkung wiederum von den anderen Varianten ab (Abb. 27 und Abb. 28). Im ABTS-System entfaltet PER sowohl bei einer Lang- als auch bei einer Kurzzeitbelichtung wiederum die beste AK (0,39 bzw. 0,38 AE). Hinzu kommt, dass die UV-B-Varianten sich in ihrer AK positiv von SGP und PAR abheben (Abb. 37 und Abb. 38).

Eine Belichtung mit UV-B führt hier zu einer Erhöhung der AK der eingesetzten Extrakte. Hada et al. (2001) konnten in Spinatblättern einen durch UV-Belichtung bedingten Anstieg UV-absorbierender Substanzen, die spektrophotometrisch bei $\lambda = 325$ nm quantifiziert wurden, dokumentieren. Dass bei einer Schutzreaktion der Pflanze gegenüber UV-Licht phenolische Substanzen in den Blättern eine wichtige Rolle spielen, wird angenommen (Stapleton, 1992, Tevini, 1993 und Jordan, 2002). Eine Beeinflussung von Enzymen des Phenylpropanoidstoffwechsels führt zu einer Änderung in der Synthese und Zusammensetzung von in Pflanzen vorkommenden phenolischen Substanzen (Reuber et al., 1996 und Bharti und Khurana, 1997). Ernst et al. (2004) beobachteten bei *A. thaliana* eine durch UV-B verstärkte Synthese antioxidativer Schutzpigmente, wie z. B. Quercetin. Weiter kann auch der Gehalt an Sinapinsäure und deren Derivate ansteigen (Bieza und Lois, 2001). Ein Anstieg von Jasmin- bzw. Salicylsäure konnten Brosché und Strid (2002) nachweisen. Durch UV-Strahlung kann es zusätzlich zu einer biosynthetischen Konversion von monohydroxylierten zu dihydroxylierten Phenolen kommen. Diese besitzen eine höhere AK 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). Eigene HPLC-Analysen ($\lambda = 285$ nm) von phenolhaltigen Spinatextrakten der ersten Anbauperiode detektieren eine differenzierte

Reaktion auf eine Zusatzbelichtung. So steigt z.B. bei 9 von 11 ausgewählten Peaks der Substanzgehalt durch zumindest eine Art der UV-B-Belichtung an (Abb. 53). Extrakte der Lang- und Kurzzeitbelichtung erreichen durch UV-B-Belichtung bei der Mehrheit der Peaks (8 bzw. 7 von 10) einen Anstieg im Verhältnis von Area der Substanz zu Area des IS (Abb. 55 und Abb. 56). Peak 5 wurde nur bei UV-Belichtung detektiert. Diese Ergebnisse belegen hier einen Anstieg von phenolhaltigen Substanzen in den entsprechenden Extrakten und können somit eine Erklärung für die Erhöhung der AK im Testsystem sein. Auch wird ein Hinweis auf eine eventuelle UV-bedingte Neusynthese einer Substanz (#5) gegeben. Auf eine Konversion phenolischer Verbindungen kann aber kein Rückschluss gezogen werden.

Die Hemmwirkungen in den Testsystemen der Lang- und Kurzzeitbelichtung sind schwächer als die des ersten Jahres. Eine Überprüfung mittels Folin-Ciocalteu-Test führt jedoch bezüglich des Phenolgehaltes zu gegensätzlichen Ergebnissen (Tab. 6). Extrakte der Lang- und Kurzzeitbelichtung des zweiten Anbaujahres erreichen höhere GAE als Extrakte des ersten Anbaujahres. Eine quantitative Erhöhung des Phenolgehaltes ergibt also nicht zwingend eine bessere AK. Es ist nicht nur die Substanzmenge für eine antioxidative Wirkung verantwortlich, sondern es spielt auch die Qualität der Extrakte eine große Rolle (Howard et al., 2002). HPLC-Untersuchungen bestätigen die unterschiedliche Zusammensetzung der eingesetzten Extrakte (Abb. 55). Eine Interpretation hinsichtlich des antioxidativen Charakters der Einzelsubstanzen ist aber ohne eine genaue Identifizierung nicht möglich. Auch kann die unterschiedliche Sensitivität der jeweiligen Indikatormoleküle eine Rolle spielen. Nicht jede Substanz, die im Folin-Ciocalteu-Test reduzierend reagiert, muss in den Testsystemen zwingend eine hohe AK aufweisen. Hinzu kommt, dass auch die Änderung des Versuchsaufbaus und die damit geänderte PAR-Strahlungssumme eine Rolle spielen kann. Es ist z. B. durch die Bildung dickerer Blätter und einer veränderten Blattstellung ein indirekter Einfluss auf die Zusammensetzung von SPI und somit deren AK denkbar (Krizek, 2004 und Cybulski und Peterjohn, 1999).

5.2.1.2 Wirkung phenolhaltiger Gynuraextrakte

Phenolhaltige Extrakte aus Gynura zeigen im Vergleich zu entsprechenden Spinatextrakten eine deutliche Steigerung der AK in den Testsystemen. So erzielen sie im XOD-System eine zwei- bis dreifach stärkere Hemmung als Spinatextrakte. Auch im ABTS-System ist die Hemmung deutlich besser. Die höchste Konzentration i. A.

(1/20) führt zu einer 100%igen Hemmung der Reaktion (Abb. 39). Spinatextrakte erreichen dieses Level nicht.

Im ersten Anbaujahr sind phenolhaltige Gynuraextrakte bei der NH_2OH -Oxidation in der Lage, die Reaktion konzentrationsabhängig um 67% zu hemmen (Abb. 20). Die Hemmwirkung während der KMB-Oxidation beträgt max. 69% (Abb. 29). Hier erfährt die AK der Extrakte einen Einfluss durch die Belichtung. SGP und FGC sind stets weniger antioxidativ wirksam als PAR, INT und PER. Im ABTS-Testsystem erhöht sich die Trennschärfe leicht (Abb. 40). Die höchste AK wird von PER erzielt (0,49 AE). PAR (0,46 AE) und INT (0,43 AE) haben eine etwas niedrigere AK. Dass diese drei Varianten im XOD- und im ABTS-System eng in ihrer Wirkung zusammen liegen, kann zum einen an der Sensitivität der Systeme liegen. Es sind aber auch interaktive Wechselwirkungen der von den Lampen emittierten Strahlungsarten nicht auszuschließen. Die Stärke der PAR-Strahlung beeinflusst die Auswirkungen einer UV-B-Belichtung. Eine Zunahme des PAR-Anteils während einer UV-Belichtung bewirkt eine erhöhte Synthese antioxidativ wirksamer Komponenten (z.B. Quercetin) (Ernst et al., 2004). Nitz et al. (2004) stellten durch PAR alleine einen 30%igen Anstieg von Flavonoiden in Schnittlauch fest.

Auch die Stärke der UV-B-Strahlung wird von Pflanzen unterschiedlich wahrgenommen (Brosché und Strid, 2002). Somit kann erklärt werden, warum FGC anders reagiert und sich nicht deutlich von SGP abhebt. Es besteht die Möglichkeit, dass durch eine wenig intensive Bestrahlung (FGC) die Pflanze eher zur Synthese von UV-Schutzpigmenten tendiert und diese aber nicht zwingend stark in ihrer antioxidativen Wirkung sein müssen. Der Folin-Ciocalteu-Test (Tab. 7) bestätigt, dass FGC und SGP den niedrigsten Gehalt an GAE aufweisen. PER erreicht den höchsten Gehalt an GAE, ist aber im XOD-Testsystem nicht von INT und PAR zu unterscheiden. Dies kann durch die Qualität der eingesetzten Extrakte bedingt sein. HPLC-Untersuchungen belegen Unterschiede in der Zusammensetzung der Versuchsvarianten (Abb. 58). Für 5 Peaks wird eine Substanzzunahme bei PAR, INT und PER detektiert. Da PAR (#8) und INT (#3) nur je einmal den Gehalt von PER überschreiten, aber sonst immer unterhalb von PER angesiedelt sind, können synergistische oder additive Wirkungen detektierter Substanzen angenommen werden (Bergman et al., 2001). In 7 von 12 Fällen haben SGP und FGC den niedrigsten Quotient von Substanz/IS. #9 kann bei FGC und #11 bei SGP nicht mehr detektiert werden. Eine Unterscheidung von SGP und FGC gestaltet sich als

schwierig, da nur in 50% der untersuchten Peaks SGP mehr an Substanz enthält als FGC.

Extrakte der zweiten Anbauperiode (Langzeitbelichtung), eingesetzt bei der NH_2OH -Oxidation, bestätigen mit einer absoluten Hemmung von 62% die hohe AK (Abb. 22). Werden die gleichen Extrakte bei der Oxidation von KMB verwendet, erzielen sie eine Wirkung von max. 68% (Abb. 31). Eine Unterscheidung der einzelnen Varianten ist aber trotz unterschiedlicher Phenolgehalte (Tab. 7) nicht möglich. Während der Oxidation von ABTS erzielen PER (0,38 AE) und INT (0,37 AE) eine bessere Wirkung als SGP (0,28 AE), FGC (0,30 AE) und PAR (0,31 AE). Der Folin-Ciocalteu-Test bestätigt über die Phenolgehalte die Reihenfolge im Testsystem. PER hat zwar mehr GAE als INT, dies spiegelt sich aber nicht deutlich in der AK wider, so dass von einem qualitativen Unterschied dieser Extrakte ausgegangen werden muss. Beide Varianten liegen im Gehalt über SGP, PAR und FGC (Tab. 7). Eine Einzelbetrachtung der Varianten durch HPLC-Analysen belegt die Dominanz der beiden höchsten UV-B-Dosen (Abb. 59). So kann INT bei 5 von 10 ausgewählten Peaks den höchsten Quotienten von Substanz/IS erreichen. Für PER jedoch, die sich antioxidativ im gleichen Bereich bewegt, trifft dies nur bei 3 Substanzen zu. Die Substanzzunahme ist aber bei # 6 und # 9 stärker. In der Summe belegen die beiden Varianten bei 8 von 10 ausgewählten Peaks die höchsten Quotienten.

Werden ausgewählte Pflanzen der Praxiskontrolle (SGP) nach dieser 14-tägigen Wachstumsperiode anschließend für drei Tage belichtet (Kurzzeitbelichtung), so erzielt PER bei der NH_2OH -Oxidation zwar mit einer absoluten Hemmung von 62% die gleiche AK wie Extrakte der Langzeitbelichtung (Abb. 23). PER ist aber in allen Konzentrationen immer besser in seiner antioxidativen Wirkung als die übrigen Varianten. Ein ähnliches Bild ergibt sich, bei einer max. Wirkung von 61%, während der KMB-Oxidation (Abb. 32). Bei der Bildung des ABTS-Radikal-Kations entfaltet PER ebenso die größte Wirkung im Testsystem. Jedoch können SGP und INT, die eine höhere AK haben als PAR und FGC, nicht voneinander unterschieden werden (Abb. 43). Hier zeigt sich wiederum, dass nicht nur die Lichtqualität, sondern auch die Bestrahlungsstärke Auswirkungen auf die Pflanze hat. Brosché und Strid (2002) konnten an *Arabidopsis thaliana* eine Abhängigkeit der Genexpression von Enzymen, z.B. Chalconsynthase (CHS) von der Stärke einer UV-B-Strahlung belegen (ohne Angaben der Belichtungsdauer). Es gibt Gene, die ab einer Strahlungsstärke von $1\text{-}2\text{ kJ/m}^2$ eine Änderung in ihrer Regulierung aufweisen. Es kam durch UV-B

sowohl zu einem Anstieg als auch zu einem Abfall der Genexpression bestimmter Enzyme bzw. Proteine. Weiterhin gibt es Gene mit einer regulierenden Strahlungsstärke von ca. 8 kJ/m^2 . Bei diesen Genen kann zusätzlich eine ROS bedingte Regulation nach einer UV-Induktion erfolgen. PER führt in der vorliegenden Arbeit zu einer Erhöhung der AK und einem Unterschied im Gesamtphenolgehalt von z.B. $0,76 \text{ mM}$ (SGP) zu $0,91 \text{ mM}$ (PER) (Tab. 4). Für PAR und FGC werden die niedrigsten GAE festgehalten. Auch die HPLC-Analyse kann für PER bei 6 von 10 Peaks das größte Verhältnis von Substanz/IS festhalten (Abb. 60). An Peak #10 wird aber eine Substanzabnahme durch eine Belichtung detektiert.

Unterschiede in der AK von Lang- und Kurzzeitbelichtung

Zwischen einer Lang- und Kurzzeitbelichtung bei Spinat gibt es keine Unterschiede hinsichtlich der AK. Als Erklärung kann angeführt werden, dass bei Zellen in der Wachstumsphase der UV-Schutz im Verhältnis zunimmt. Das heißt, ältere, bzw. ausgewachsene Pflanzen haben im Verhältnis mehr Schutzpigmente und adaptieren eventuell nicht so gut an die vorliegenden Umweltbedingungen (Hada et al., 2001). Pflanzen reagieren unterschiedlich sensitiv auf eine UV-Belichtung. So können sogar innerhalb einer Art die Reaktionen differieren (Santos et al., 2004).

Für die Unterschiede im ABTS-System zwischen Lang- und Kurzzeitbelichtung bei Gynura kann der gewählte Belichtungszeitraum verantwortlich sein. Die Reaktion einer Pflanze auf eine UV-B-Belichtung kann sich innerhalb von Stunden vollziehen (Reuber et al., 1997 und Bieza und Lois, 2001). Werden die Umweltbedingungen nachhaltig nicht geändert, kommt es nach einem Anstieg, der sich innerhalb gewisser zeitlicher Grenzen bewegt, zu einem Absinken der Akkumulationsrate, ohne aber auf den Ausgangsstatus zurückzufallen (Seidlitz 2004, mündliche Mitteilung). Wenn dies auf Gynura bezogen wird, kann es durchaus sein, dass jede Belichtung einen Anfangsreiz auslöste, sich die Pflanzen aber nach 14 Tagen auf einen sich ähnelnden Zustand eingependelt hatten. Auch sind Phenole relative instabile Endprodukte. Die Halbwertszeit von z.B. Flavonoiden der Kichererbse beträgt ca. 10 Tage. Anthocyane aus Petalen von Petunien sind nur ca. 24 Stunden stabil (Parr and Powell, 2000).

Extrakte der zweiten Anbauperiode werden in der vorliegenden Arbeit mit einem höheren Phenolgehalt quantifiziert als die des ersten Jahres. Da aber Phenole in

Abhängigkeit ihrer Struktur unterschiedliche antioxidative Wirkungen zeigen, bedingt ein Anstieg des Gesamtphenolgehaltes nicht immer eine höhere AK (Howard et al., 2002). Auch besteht ein Unterschied in der Zusammensetzung der eingesetzten Extrakte. So erzielen Extrakte der zweiten Anbauperiode bei HPLC-Untersuchungen zwar höhere Quotienten von Substanz/IS, aber zwei Substanzen die im ersten Jahr vorhanden waren, werden dafür nicht mehr detektiert (#10 und 11). Ob diese Einzelsubstanzen für die bessere AK der Extrakte des ersten Jahres verantwortlich sind, ist ohne eine Identifizierung nicht zu belegen, aber durchaus möglich.

5.2.1.3 Wirkung anthocyanhaltiger Gynuraextrakte

Anthocyanhaltige Extrakte aus Gynura des ersten Anbaujahres zeigen bei der NH_2OH -Oxidation im Vergleich zu phenolhaltigen Extrakten eine Steigerung der AK auf max. 77% (Abb. 21). Es gibt keine Unterschiede zwischen den Varianten. Werden diese Extrakte bei der KMB-Oxidation eingesetzt, kommen sie auf eine max. Hemmwirkung von 90% (Abb. 30). Innerhalb der Varianten zeichnet sich SGP als schlechteste ab. FGC liegt in seiner Wirkung über SGP aber unter INT, PAR und PER (siehe Abschnitt 5.2.1.2). Bei der ABTS-Oxidation ergibt sich ein vergleichbares Bild (Abb. 41). Der Folin-Ciocalteu-Test zeigt für INT und PAR/PER die höchsten Gehalte an GAE (Tab. 8). Ein Abstand zwischen diesen drei Varianten spiegelt sich aber im KMB-System nicht wider. Dies ist ein Hinweis auf die unterschiedliche, strukturelle Zusammensetzung der Extrakte (Abb. 62). Da aber die Reaktionen auf eine Belichtung hier sehr differenziert ausfallen, liefert eine HPLC- Analyse keine eindeutige Erklärung. Es kommt sowohl zu einem Anstieg als auch zu einem Abfall der Substanzgehalte durch Belichtung. Ohne eine Strukturaufklärung oder Identifizierung der beteiligten Substanzen ist eine differenzierte Aussage bezüglich der AK in den Testsystemen nicht möglich.

Zwischen Extrakten der Lang- und Kurzzeitbelichtung kann bei der Oxidation von NH_2OH hinsichtlich der absoluten Hemmstärke (71-72%) kein Unterschied festgestellt werden (Abb. 24 und Abb. 25). Differenzen der Anbauvarianten treten nur bei einer Kurzzeitbelichtung zu Tage. PER entfaltet hier tendenziell eine bessere Hemmwirkung im Testsystem als die anderen Varianten. Während der KMB-Oxidation kommen anthocyanhaltige Gynuraextrakte der Langzeitbelichtung auf eine max. Hemmung von 86% (Abb. 33). Hierbei zeichnet sich PAR als antioxidativ wirksamste Variante ab. FGC tendiert zur schlechtesten Wirkung im Testsystem. Hier

besteht die Möglichkeit, dass eine Bestrahlung mit UV-B zu einer vermehrten Bildung von ROS und einer darauf folgenden, raschen Produktion von Schutzpigmenten führte (Jordan, 2002). Diese können aber im Kampf gegen die ROS genauso schnell verbraucht als auch gebildet werden. Schutzpigmente müssen nicht zwingend antioxidativ wirken.

Anthocyanhaltige Extrakte der Kurzzeitbelichtung (KMB-Oxidation) erreichen eine max. Hemmung von 76% (Abb. 34). Da diese Reaktion mit einer Konzentration i. A. von 1/20 erzielt wird, liegen sie im Wirkungsbereich der Langzeitbelichtung. Tendenziell ist PER besser in seiner AK als die übrigen Varianten. Bei einem Einsatz dieser Extrakte im ABTS-System wird die schlechte AK von FGC bestätigt. In diesem System ist PER die Variante mit der höchsten Wirkung. Bei einer Kurzzeitbelichtung führen alle anderen Belichtungsvarianten eher zu einer Verschlechterung der AK im Vergleich zu SGP. Der Folin-Ciocalteu-Test ergibt für anthocyanhaltige Extrakte der Kurzzeitbelichtung die höchsten GAE bei SGP (0,75 mM) und PER (0,73 mM). PAR, FGC und INT liegen unter diesen Werten. So hat der auf die Pflanze einwirkende Belichtungsstress tendenziell eher zu einer Abnahme der GAE geführt. Da Anthocyane und andere Phenole, z.B. Flavonoide, in derselben Zelle synthetisiert werden, ist denkbar, dass ein Wettbewerb um die Substrate der Anthocyanbildung stattgefunden hat (Holten und Cornish, 1995). Phenolhaltige Extrakte aus *Gynura* zeigen in der vorliegenden Arbeit meist eine durch Belichtung erhöhte AK. Dass PER tendenziell die höchste AK in den Testsystemen aufweist, ist ohne entsprechende Struktur- aufklärung nicht zu erklären. Eventuell ändert sich durch eine permanente UV-Belichtung der Hydroxylierungsstatus und damit die AK der im Extrakt enthaltenen Inhaltsstoffe (Parr und Bolwell, 2000).

Anthocyanhaltige Extrakte des ersten Anbaujahres enthalten mehr GAE als die der zweiten Versuchsperiode. Die *Gynura*-pflanzen der zweiten Versuchsperiode sind zum Erntezeitpunkt 16 Tage älter, als die der ersten Periode. Da ältere Blätter, bzw. Pflanzen schwächer und langsamer adaptieren als junge (Hada et al., 2001), kann eine starke Akkumulierung von Phenolen durch die Umweltbedingungen nicht in dem in dieser Arbeit gewählten Zeitraum erfolgen. Hinzu kommt, dass die Einstellung eines Gleichgewichtes der PAR-Strahlung auf ein niedrigeres Niveau als im Vorjahr, im Versuchsaufbau des zweiten Anbaujahres die Qualität der Extrakte verändert. Da die hier verwendeten Anthocyanextrakte auch Phenolsäuren enthalten, können quantitative Unterschiede durch die Extraktionsmethode nicht ausgeschlossen

werden. Der Unterschied im Gehalt an GAE verdeutlicht sich hinsichtlich der AK nicht so stark. Der Gesamtphenolgehalt und die AK von Anthocyanen konnte Velioglu et al. (1998) statistisch nicht positiv korrelieren.

5.2.1.4 Wirkung carotinoidhaltiger Extrakte im ABTS-Testsystem

Alle eingesetzten carotinoidhaltigen Spinatextrakte erzielen eine hemmende Wirkung im ABTS-Testsystem (Miller et al., 1996). Belichtungsbedingte Unterschiede in der AK der Spinatextrakte können aber in der vorliegenden Arbeit nicht festgestellt werden (Abb. 46, Abb. 47 und Abb. 48). HPLC-Untersuchungen von Spinatextrakten der ersten Anbauperiode belegen aber für Chlorophyll a, Lutein und β -Carotin Änderungen in der Qualität der Extrakte durch eine Belichtung. So kommt es durch PAR, FGC und INT zu einer Zunahme des Quotienten von Substanz/IS. Werden die Pflanzen permanent UV-B belichtet (PER), so kommt es bei allen Substanzen aber zu einer Abnahme im Substanzgehalt (Abb. 64). Chlorophyll b zeigt durch FGC und INT eine Zunahme, bei PAR und INT nehmen die Gehalte jedoch ab. Für Extrakte der Langzeitbelichtung führt eine Belichtung allgemein eher zu einer Substanzzunahme (Abb. 65). Bei Kurzzeit belichtetem Spinat sind wieder ähnliche Effekte wie im ersten Jahr zu beobachten. So erhöht z.B. PAR den Gehalt, PER aber führt zu einem Rückgang.

Bei carotinoidhaltigen Gynuraextrakten des ersten Anbaujahres ist PER tendenziell die Variante mit der höchsten AK (Abb. 49). Dieses Ergebnis zeigt das vorhandene antioxidative Potential der eingesetzten carotinoidhaltigen Extrakte. Auch Chlorophyll a und b sind in den Extrakten enthalten und wirken im Testsystem. Die Fähigkeit von Carotinoiden mit dem ABTS-Radikalkation zu reagieren, hängt zum einen von der Präsenz funktioneller Gruppen, wie z.B. Carbonyl- oder Hydroxylgruppen an den terminalen Ringen ab. Weiterhin spielt die Anzahl der vorhandenen Doppelbindungen eine Rolle. So sind z.B. Carotine effizienter in der Lage das ABTS-Radikal zu quenchen als Xanthophylle (Miller et al., 1996). Deshalb ist ohne weitere Identifizierungen der betroffenen Inhaltsstoffe keine differenzierte Aussage bezüglich der AK der eingesetzten Extrakte möglich. Bei Chlorophyll a und b spielt der Methylierungsgrad der Seitenketten für die AK eine Rolle (Buratti et al., 2001). Eine in der vorliegenden Arbeit durchgeführte HPLC-Untersuchung kann diese Effekte nicht klären. Bei den Einzelkomponenten Lutein und β -Carotin ist PER nie die Variante mit den höchsten Gehalten (Abb. 66). So kommt es z.B. bei β -Carotin zu

einer Abnahme im Substanzgehalt durch permanente UV-B-Belichtung. Chlorophyll zeigt, wie auch tendenziell die oben genannten Carotinoide, eine Abnahme im Gehalt durch eine Belichtung der Pflanzen. Sind eventuell weitere Substanzen, wie z. B. α -Carotin oder Zeaxanthin in den Extrakten enthalten, kann es zu kooperativen Effekten kommen, die in dieser Arbeit somit nicht mit erfasst werden können.

Im zweiten Anbaujahr wiederholen Gynuraextrakte der Langzeitbelichtung bei der ABTS-Oxidation zwar die Tendenz von PER als beste Variante. Eine große Variabilität in den Standardabweichungen lässt eine 100%ige Aussage aber nicht zu (Abb. 50). Hier bestätigen HPLC-Untersuchungen die eingeschlagene Richtung. PER hat sowohl bei Lutein als auch bei β -Carotin die höchsten Substanzgehalte. Eine 14-tägige Belichtung führt zu einem Einfluss auf die Zusammensetzung und kann die Substanzgehalte erhöhen. Hinsichtlich der AK Kurzzeit belichteten Gynuras sind keine Unterschiede zwischen den Versuchsvarianten vorhanden. HPLC-Untersuchungen können auch hier keine Aufklärung liefern. Eine Belichtung erhöht mit PAR, FGC und INT den Substanzgehalt. PER erzielt die niedrigsten Werte. Es muss sich also trotz quantitativen Unterschieden eine Änderungen in der qualitativen Zusammensetzung der Extrakte ergeben haben. So ist denkbar, dass Substanzen mit größerem antioxidativen Potential synthetisiert wurden, die aber mit den hier verwendeten Methoden nicht erfasst werden. Chlorophyll a und b konnten im zweiten Anbaujahr aufgrund eines Defektes an der HPLC nicht mehr im Rahmen dieser Arbeit quantifiziert werden.

Im zweiten Jahr entwickeln belichtete Varianten zwar höhere Substanzgehalte aber keinen Unterschied in ihrer AK. Bei Untersuchungen des Einflusses einer UV-B-Belichtung auf Tomaten kam es je nach Sorte und Erntezeitpunkt der Frucht zu unterschiedlichen Auswirkungen auf die AK im ABTS-System. So konnte z. B. die unbelichtete Variante der Sorte 'Esperanza' eine höhere AK entfalten als die UV belichtete (Giuntinti et al., 2005). Bei einer Belichtung schützen Carotinoide den Photosyntheseapparat vor oxidativen Schäden. Sie können Singulett-Sauerstoff (1O_2) und Triplett-Chlorophyll quenchen (Watzl und Bub, 2001 und Bolink et al., 2001). Bolink et al. (2001) stellten einen Anstieg der Xanthophyll-Zyklus-Pigmente und Lutein durch eine UV-B-Behandlung von Erbsen fest. Auch die Fähigkeit von Carotinoiden mit Peroxylradikalen abzureagieren, lässt auf ihre potentielle AK schließen (Paiva und Russel, 1999).

5.2.2 Bemerkungen zu den Testsystemen

Durch intraspezifische Schwankungen des XOD-Testsystems (z. B. in der Grundreaktion) sind Aussagen bezüglich der resultierenden Unterschiede bei UV-Belichtung nur vorsichtig zu treffen. Eine tendenziell höhere AK durch eine Belichtung, z.B. durch PER, kann aber durchaus festgehalten werden.

Es ist innerhalb des XOD-Testsystems eine bessere Wirkung, sowohl der Spinat- als auch der Gynuraextrakte, bei der Oxidation von KMB zu Ethylen als bei der NH_2OH -Oxidation zu beobachten. Da KMB als Indikator für Oxidantien des OH^\bullet -Radikaltyps gilt (Kröner et al., 1989), impliziert dies eine bevorzugte Wirkung der vorhandenen Extraktinhaltsstoffe gegenüber dem OH^\bullet . Bei der Entstehung von OH^\bullet spielen aber auch H_2O_2 und $\text{O}_2^{\bullet-}$ eine Rolle (Haber-Weiss-Mechanismus). So kann eine mögliche, kombinierte antioxidative Wirkung der Extrakte mit allen beteiligten ROS die erhöhte Sensibilität des KMB-Testsystems erklären. Anthocyanhaltige Gynuraextrakte haben mit 90% die beste Hemmwirkung bei der KMB-Oxidation. Damit liegen sie bis zu 21% über der Wirkung der phenolhaltigen Extrakte. Anthocyanhaltige Extrakte enthalten z. T. mehr als das doppelte an GAE (Tab. 7 und Tab. 8) als die mit phenolhaltig bezeichneten. Hinzu kommt, dass Anthocyane durch einen höheren Hydroxylierungsstatus und mögliche ortho-di-hydroxy-Gruppen am B-Ring einen zusätzlichen antioxidativen Wirkungsmechanismus aufweisen können (Prior, 2003). Eine 100%ige Hemmung der Reaktionen wurde aber durch anthocyanhaltige Extrakte nie im Testsystem erzielt. Bezüglich der Unterscheidung einzelner Versuchvarianten kann kein deutlicher Unterschied zwischen der NH_2OH - oder KMB-Oxidation festgestellt werden.

Ein hemmender Einfluss der eingesetzten Extrakte auf die XOD-Aktivität kann weitgehend ausgeschlossen werden (Abb. 35), so dass die antioxidativen Wirkungen auf Interaktionen mit den betreffenden ROS zurückzuführen sind. Im allgemeinen entfalten Gynuraextrakte im XOD-Testsystem eine um Faktor 2-3 größere Wirkung als die Spinatextrakte. Dies lässt sich durch einen Vergleich der Gesamtphenolgehalte erklären (Tab. 6 und Tab. 7). Auch die HPLC-Analysen ergeben ein vielfaches Verhältnis von Substanz/IS im Vergleich zu entsprechenden Spinatextrakten.

Im ABTS-Testsystem können die Ergebnisse des XOD-Testsystems weitgehend reflektiert werden, jedoch erhöht das ABTS-System die Trennschärfe für die ein-

gesetzten phenolischen Extrakte. Das ABTS-Modell kann Unterschiede von phenolischen Extrakten besser aufzeigen als das XOD-System. Dies lässt sich durch die Spezifizierung der unterschiedlichen Systeme begründen. Das XOD-System spricht in seiner Wirkungsweise sensibel auf Substanzen an, die durch ihre Struktur mit den betroffenen ROS, z.B. H_2O_2 , $\text{O}_2^{\bullet-}$, OH^{\bullet} oder der XOD reagieren können. Auch eine evtl. Übergangsmetallkomplexierung wird in diesem Testsystem erfasst (Weiss, 1986 und Halliwell und Gutteridge, 1999). Im ABTS-Testsystem wird dagegen spezifisch die AK von Extrakten gegenüber dem ABTS-Radikal-Kation gemessen. 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 (Schempp, mündliche Mitteilung). So können kooperative Effekte der im Extrakt enthaltenen Inhaltsstoffe besser zum tragen kommen. Auch kann die AK im ABTS-Testsystem durch eine Konkurrenz der Phenole um die Pseudoperoxidase überhöht ausgedrückt sein (Arnao et al., 1999). Hinzu kommt, dass der Gesamtphenolgehalt eines Extraktes eng an die resultierende AK gebunden ist (Proteggente et al., 2002) und die Sensitivität des ABTS-Testsystems gegenüber phenolischen Inhaltsstoffen wider spiegelt.

Für carotinoidhaltige Spinatextrakte kann kein deutlicher Einfluss einer UV-Belichtung auf die AK im ABTS-Testsystem festgestellt werden. Bei Gynura der ersten Anbauperiode ist tendenziell PER die Variante mit der besten Wirkung im Testsystem. Eine Lang- und Kurzzeitbelichtung ist aber nicht in der Lage, dies eindeutig zu bestätigen. Auch die Varianz der Substanzgehalte bei den durchgeführten HPLC-Analysen erschwert die eindeutige Interpretation der Ergebnisse. Erst eine weitere Identifizierung und Quantifizierung der im Extrakt enthaltenen Substanzen kann eventuell auftretende Interaktionen der Strahlungsarten, bzw. der Substanzen aufklären. Hinzu kommt, dass eine alleinige Bestimmung der AK im ABTS-Testsystem nicht ausreichend ist. In weiterführenden Untersuchungen ist die Ausweitung der Testsysteme und die Erhöhung der Löslichkeit von Carotinoiden in diesen, ein probates Mittel um den Einfluss einer Belichtung auf den Carotinoidgehalt und dessen AK zu untersuchen.

5.2.3 Folin-Ciocalteu-Test: Vergleich der Rohextrakte mit Extrakten in den Testsystemen

Bei einem Vergleich der Rohextrakte mit den in den Testsystemen eingesetzten phenolischen Extrakten müssen die unterschiedlichen Extraktionsvolumina mit einbezogen werden. Es entsteht ein Berechnungsfaktor der beide Extrakte miteinander in Beziehung setzt (siehe Methoden). Rohextrakte aus Spinat enthalten das 13-16fache, Gynura-Rohextrakte enthalten das 4-7fache an GAE wie entsprechende Extrakte für die Testsysteme. Diese Diskrepanz entsteht aus den Anforderungen der Testsysteme. Methanol kann z.B. im XOD-System nicht als Lösungsmittel zum Einsatz kommen, da Methanol selbst einen nicht unerheblichen Einfluss auf die Nachweismethode hat und die Reaktion hemmt (Coughlan et al., 1969). Ethanol kann durch seine Eigenschaft als klassischer OH[•]-Radikalfänger bei der Oxidation von KMB auch nicht eingesetzt werden (Halliwell und Gutteridge, 1999). Mit Vorversuchen wurde Acetonitril (10%) als das geeignetste Lösungsmittel für die Wiederaufnahme der Extrakte in die Testsysteme identifiziert. Durch den sehr hohen Wasseranteil kommen fast ausschließlich die hydrophilen Inhaltsstoffe in Lösung. Das XOD-Testsystem wird aber in seiner Funktion nicht beeinträchtigt. Da im Folin-Ciocalteu-Test jedoch Phenole quantitativ, und nach ihrer Struktur und der Anzahl der freien OH-Gruppen unterschiedlich intensiv reagieren (Singleton et al., 1998), wird dieser große Unterschied deutlich offen gelegt. Weiterhin ist hieraus zu schließen, dass in Gynuraextrakten von Anfang an mehr wasserlösliche Substanzen enthalten sind als in Spinat. Dies trägt zur besseren Wirkung der Gynuraextrakte in den Testsystemen bei, obwohl Spinat bei der Quantifizierung der Rohextrakte zu höheren GAE kommt (Tab. 9 und Tab. 10). Es entsteht auch ein Unterschied in der Wirkung einer Belichtung. Kann bei 10%igen Spinatextrakten aus CH₃CN PER den höchsten GAE-Gehalt erreichen, ist dies bei Rohextrakten nicht mehr der Fall. Hier ist eine Unterscheidung zwischen allen drei UV-Varianten nicht mehr eindeutig möglich. Dies wirft die Frage auf, ob durch eine Reaktion der Spinatpflanzen auf eine UV-Bestrahlung mehr hydrophile (z.B. durch eine Erhöhung der Anzahl von OH-Gruppen) als hydrophobe Substanzen gebildet werden. Bei Gynura wurde dieser Effekt nicht beobachtet. Ein eindeutiger Rückschluss auf die AK der Extrakte ist aber ohne eine lückenlose, strukturelle Identifizierung der Hauptkomponenten mittels HPLC nicht möglich.

5.2.4 HPLC-Analyse

Durch die Analyse mittels HPLC wird der Einfluss einer UV-Belichtung auf die strukturelle Zusammensetzung der phenol-, anthocyan- und carotinoidhaltigen Extrakte untersucht. Es können sowohl quantitative als auch qualitative Unterschiede detektiert werden.

Bei der Betrachtung phenolhaltiger Extrakte aus Spinat und Gynura ergibt sich bei der Mehrheit der detektierten Peaks eine Zunahme an Substanz durch eine UV-Belichtung, z.B. PER. Zwei Peaks aus Spinat der Lang- und Kurzzeitbelichtung zeigen aber auch eine Substanzabnahme. Für Gynuraextrakte trifft dies bei 3 von allen detektierten Substanzen zu. Peak 5 (Spinat) und Peak 11 von Gynura der ersten Anbauperiode wurden nur bei einer UV-B-Behandlung detektiert. Dies lässt auf eine UV-induzierte Neusynthese dieser Substanz schließen, wie sie auch Parr und Bolwell (2000) diskutieren. Auch ändert sich die qualitative Zusammensetzung der Extrakte. So können z.B. bei Gynura zwei Peaks der ersten Anbauperiode nicht mehr in Extrakten der zweiten wiedergefunden werden. Dies kann an der Egalisierung des PAR-Einflusses und den damit verbundenen interaktiven Wechselwirkungen der Strahlungsarten einer Lampe liegen (Krizek, 2004, Ernst, 2004, Nitz et al., 2004 und Fagerberg und Bornmann, 2005). Hinzu kommt ein Substanzverlust unter die Detektionsgrenze durch FGC bei Peak 9 von Gynura der zweiten Anbauperiode (Abb. 59 und Abb. 60). So ist zusätzlich eine Konversion einzelner phenolischer Verbindungen in andere denkbar, die besser zum Schutz vor UV-Licht beitragen.

Der Gehalt an phenolischen Verbindungen in Spinat weicht von den sonst üblichen, nachweisbaren Substanzen stark ab (Ferrerres et al., 1997, Peterson und Dwyer, 1998, Howard et al., 2002 und Lomnitski et al., 2003). Nuutila et al. (2002) konnten jedoch z.B. Quercetin und Kaempferol als Hauptbestandteile von Spinat identifizieren. Das Gros der in der vorliegenden Arbeit enthaltenen Substanzen wird aber durch eine Spektrenanalyse der Gruppe der Phenol-, bzw. der Hydroxycimtsäuren zugeordnet. So sind z.B. p-Cumarsäure, Ferulasäure und Kaffeesäure ein Bestandteil von Spinat (Bergmann et al., 2001 und Castenmiller et al., 2002). Der Rahmen dieser Arbeit sah aber nicht vor Substanzen genauer zu identifizieren.

HPLC-Analysen phenolhaltiger Gynuraextrakte identifizieren Peak #1 als Chlorogensäure (Abb. 57). Bei einer Hydrolyse des Rohextraktes (SGP), die in Abb.

61 dargestellt ist, wird zusätzlich Kaffeesäure als im Extrakt enthaltene Substanz detektiert. Chu et al. (2000) identifizierten aus *Gynura* ergänzend Myricetin, Quercetin, Kämpferol, Luteolin und Apigenin.

Anthocyanhaltige Extrakte zeigen differenziertere Reaktionen auf eine Belichtung. So kommt es in der ersten Anbauperiode innerhalb der Standardabweichungen sowohl zu einem Anstieg als auch zu einer Abnahme im Substanzgehalt der detektierten Peaks (Abb. 62). Extrakte aus Langzeitbelichtung verzeichnen bei 60% aller Substanzen eine Substanzzunahme durch eine Belichtung mit z.B. bei PER. Die bei einer Wellenlänge von 530 nm detektierten und mit A1 bis A3 bezeichneten Peaks (Abb. 63), reagieren auf eine Belichtung mit einer Erhöhung ihrer Peakfläche. PAR und INT haben den größten Effekt, so dass nicht von einem alleinigen Einfluss einer UV-Belichtung auf diese Substanzen ausgegangen werden kann. Eventuell spielt hier die auf der Pflanze eintreffende Strahlungssumme ebenso eine Rolle wie die Lichtqualität (Brosché und Strid, 2002).

Yoshitama isolierten 1994 aus *Gynura aurantiaca* und *Gynura bicolor* ein stabiles, purpurfarbenes Anthocyan, in dessen Grundstruktur Cyanidin eingebettet liegt. Auch die in dieser Arbeit verwendeten anthocyanhaltigen Extrakte weisen gelöst in 10% CH₃CN eine hohe Stabilität auf. Eine HPLC-Analyse anthocyanreicher Extrakte führt aber nicht zu einer Identifizierung einzelner Substanzen und so ist leider kein Abgleich der Ergebnisse möglich.

Carotinoidhaltige Spinatextrakte zeigen belichtungsbedingte Änderungen in ihrer Substanzzusammensetzung. Hier kehren sich die oben beschriebenen Effekte jedoch zum Teil um. In der ersten Anbauperiode und bei der Kurzzeitbelichtung kann sowohl bei Lutein und β -Carotin, als auch bei Chlorophyll a und b eine Substanzabnahme durch PER beobachtet werden (Abb. 64 und Abb. 65). Ein ähnliches Bild ergibt sich auch bei der Betrachtung entsprechender *Gynura*extrakte (Abb. 66 und Abb. 67). Da Carotinoide den Photosyntheseapparat der Pflanze vor einwirkender Strahlung, z.B. UV-B und damit verbundenen oxidativen Schaden schützen (Bolink et al., 2001), kann die Belichtung zu einem Zustand geführt haben, bei dem der Verbrauch dieser Substanzen höher war als die Synthese. Das bei diesem Prozess betroffene Photosystem II (Brunold, 1996 und Hollósy, 2002), das in Erholungsphasen regeneriert wird, kann sich durch die Unterbrechung des diurnalen Rhythmus nicht erholen und ist ständigen oxidativen Bedingungen ausgesetzt.

Bei einer Langzeitbelichtung (zweite Versuchsperiode) ist jedoch durch die Belichtung eine Zunahme an Substanzen feststellbar. Dies kann durch die Änderung der PAR-Strahlungssumme auf die gleiche Stärke bei allen Belichtungsvarianten bedingt sein. PAR-Strahlung trägt maßgeblich zur Reparaturfähigkeit der Photosysteme bei (Pfundel, 2004). Bei carotinoidhaltigen Spinatextrakten hat eine PAR-Belichtung bezüglich der Substanzzunahme eine stimulierende Wirkung. Eine Belichtung mit FGC und INT stimuliert in 10 von 12 Fällen die Produktion der oben genannten Substanzen. Auch Bolink (2001) konnten einen Anstieg von z.B. Lutein in UV-B behandelten Blattstücken von Erbsen nachweisen. Es existieren in der Literatur bis dato aber noch keine eindeutigen Beweise, dass sich die Synthese von Carotinoiden durch UV-Licht positiv beeinflussen lässt. Bei carotinoidhaltigen Gynuraextrakten des ersten Anbaujahres ist sogar ein durchgehend negativer Einfluss auf die untersuchten Substanzen zu beobachten. Deckmyn (1994) und Smith et al. (2000) belegen eine Abnahme des Chlorophyllgehaltes durch eine UV-B-Strahlung, was sich mit den Ergebnissen von Gynura des ersten Anbaujahres deckt.

5.2.5 Weiterführende Bemerkungen

Beide Gemüsearten (Spinat und Gynura) beweisen in den Testsystemen antioxidative Eigenschaften. Es zeigt sich ein differenzierter Einfluss der unterschiedlichen Belichtungsvarianten. Weiterhin kann ein belichtungsbedingt positiver Einfluss auf die AK der Pflanzenextrakte beobachtet werden. Besonders die permanent UV-belichteten Varianten (PER) zeigen eine erhöhte AK in den einzelnen Testsystemen. Durch die notwendige, an die Testsysteme angepasste Extraktionsmethode, kann aber in dieser Arbeit nicht das komplette Wirkungsspektrum der im Spinat und Gynura enthaltenen phenolischen Inhaltsstoffe hinsichtlich ihrer AK dargestellt werden. Der GAE-Gehalt der Rohextrakte belegt eindrucksvoll das noch zusätzlich vorhandene Potential dieser Nahrungsmittel, so dass in Zukunft weitere Testsysteme zu etablieren sind, die dieses Potential abbilden können. Eine Übertragung der Gesamtphenolgehalte und des antioxidativen Potentials der untersuchten Extrakte in den Testsystemen auf die ernährungsphysiologische Wirkung der Pflanzen, ist aber direkt nicht möglich. Spinat enthält z.B. Nitrat, das nach dem Verzehr teilweise zu Nitrit und dann weiter zu Nitrosaminen umgewandelt werden kann. Dies wird von der Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel (BFLE) als gesundheitlich bedenklich eingestuft (<http://www.bfa-ernaehrung.de>). Der Nitratgehalt und dessen

Veränderung durch eine UV-Belichtung (z. B. durch Hemmung der Nitratreduktase) konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht berücksichtigt werden. Für *Gynura bicolor* existiert eine ähnliche Kontroverse. In der Pflanzenfamilie der Asteraceae sind toxische Inhaltsstoffe, wie z.B. Pyrrolizidin-Alkaloide weit verbreitet. Diese Stoffe können gesundheitsschädliche, kanzerogene Eigenschaften besitzen. Fu et al. (2002) dokumentieren, dass *Gynura bicolor* (Willd.) DC. Retrosin enthält, ein Pyrrolizidin-Alkaloid, das im Tierversuch tumorinduzierend wirkt. Um Aussagen über eine mögliche ernährungsphysiologische Wirkung für den Menschen zu treffen, sind weitere Untersuchungen notwendig. Diese müssen das Inhaltsstoffspektrum der Pflanzen in ihrer Gesamtheit erfassen und so deren Wirkung beurteilen. Erst dann können die additiven, synergistischen und interaktiven Eigenschaften der betroffenen SPI sinnvoll zu einer Steigerung des Gesundheitswertes eingesetzt werden.

6 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit werden *Spinacia oleracea* L. und *Gynura bicolor* (Willd.) DC. unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus angebaut und mit speziellen UV-Wachstumslampen belichtet. Diese Lampen emittieren Strahlung sowohl im PAR- und UV-A- als auch im UV-B-Bereich. Gegenstand der Untersuchungen ist, ob sich durch eine UV-Belichtung dieser Pflanzen der Gehalt und die Zusammensetzung an phenolischen Pflanzeninhaltsstoffen und Carotinoiden gezielt verändern lässt. Parallel dazu wird in unterschiedlichen biochemischen *in vitro* -Testsystemen (Xanthin/Xanthinoxidase- und ABTS-Testsystem) überprüft, wie sich die antioxidative Kapazität entsprechender phenol- und carotinoidhaltiger Blattextrakte durch diese UV-Belichtung entwickelt.

Es wird durch HPLC-Untersuchungen gezeigt, dass sich das Inhaltsstoffspektrum der kultivierten Gemüsearten durch eine Belichtung sowohl quantitativ als auch qualitativ verändert. Bei phenolhaltigen Extrakten ergibt sich durch eine permanente UV-Belichtung (PER) bei der Mehrheit der detektierten Peaks eine Zunahme an Substanz. Auch ist durch einen Substanzverlust von Peaks unter die Detektionsgrenze eine belichtungsbedingte Konversion einzelner phenolischer Verbindungen in andere denkbar, die zum besseren Schutz vor UV-Licht beitragen. Carotinoidhaltige Extrakte zeigen eine unterschiedliche Reaktion. Hier kommt es je nach Belichtungsvariante und Pflanzenart sowohl zu einer Abnahme als auch zu einer Zunahme im Substanzgehalt.

Des Weiteren wird dokumentiert, dass eine UV-Belichtung die antioxidative Kapazität (AK) der in den Testsystemen eingesetzten Extrakte beeinflusst. Es zeigt sich ein differenzierter Einfluss der Belichtungsvarianten. So sind im ABTS-Testsystem phenolhaltige Extrakte beider Pflanzenarten, nach einer dreitägigen, permanenten UV-B-Belichtung in der Lage, die AK im Vergleich zu allen anderen Untersuchungsvarianten zu erhöhen. Für carotinoidhaltige Extrakte kann kein deutlicher Einfluss einer UV-Belichtung auf die AK im ABTS-Testsystem festgestellt werden. Im XOD-Testsystem sind durch intraspezifische Schwankungen, z.B. in der Grundreaktion, Aussagen bezüglich der AK und der resultierenden Unterschiede bei UV-Belichtung nur vorsichtig zu treffen. Eine tendenziell höhere AK durch eine Belichtung, z.B. PER kann aber durchaus festgehalten werden.

7 Anhang

In diesem Anhang werden die Datenblätter zu den entsprechenden Testsystemen und HPLC-Untersuchungen dargestellt.

Tab. 12: Datenblatt zum Xanthin/Xanthinoxidase-Testsystem

	Konz. i. A. [%]	Messwert [%]									
		SGP	σ	PAR	σ	FGC	σ	INT	σ	PER	σ
zu Abb. 17	0,00	100,0	0,7	100,0	0,7	100,0	0,7	100,0	0,7	100,0	0,7
	0,01	83,7	1,7	83,8	1,3	83,8	2,5	83,7	1,1	83,4	0,6
	0,02	81,3	1,1	78,6	1,0	80,6	1,7	78,5	1,7	78,8	0,9
	0,05	82,9	1,9	80,3	1,3	79,5	1,0	78,5	1,1	78,0	1,4
	0,10	77,0	1,8	71,2	0,8	73,4	1,2	71,8	0,6	71,3	1,0
zu Abb. 18	0,00	100,0	8,2	100,0	8,2	100,0	8,2	100,0	8,2	100,0	8,2
	0,01	98,0	9,3	100,1	8,2	97,2	8,1	94,4	9,9	98,6	8,1
	0,02	98,5	8,8	104,0	17,5	99,6	10,6	96,2	7,9	95,6	8,1
	0,05	93,7	10,9	99,7	8,8	94,6	7,8	93,7	10,6	81,9	7,3
	0,10	91,1	10,0	93,4	9,5	93,5	8,0	83,4	7,6	83,7	7,3
zu Abb. 19	0,00	100,0	2,7	100,0	2,7	100,0	2,7	100,0	2,7	100,0	2,7
	0,01	99,3	3,8	98,7	5,0	101,8	2,8	104,4	2,8	99,9	2,9
	0,02	101,3	2,9	101,4	3,1	97,1	3,0	96,8	3,1	95,3	2,8
	0,05	97,9	3,2	97,9	2,9	95,7	2,9	92,3	2,6	88,2	3,0
	0,10	93,0	2,8	92,4	3,2	92,5	2,7	88,1	3,1	85,8	3,7
zu Abb. 20	0,00	100,0	0,7	100,0	0,7	100,0	0,7	100,0	0,7	100,0	0,7
	0,0025	89,9	2,3	86,6	2,2	95,0	1,5	87,7	1,2	85,2	1,8
	0,005	87,5	1,0	77,4	2,1	85,1	1,2	80,4	1,5	74,8	1,5
	0,01	74,7	5,4	65,4	1,1	73,7	2,1	66,7	1,9	62,0	1,9
	0,02	63,0	2,9	51,9	1,3	60,1	0,5	52,6	2,1	51,4	2,1
	0,05	48,0	1,1	39,7	1,7	46,1	1,7	39,8	0,8	39,4	0,7
	0,10	42,8	0,8	35,5	1,5	39,8	1,0	33,3	0,3	33,7	0,5
zu Abb. 21	0,00	100,0	3,0	100,0	3,0	100,0	3,0	100,0	3,0	100,0	3,0
	0,0025	87,0	5,7	82,5	3,3	83,7	2,5	86,4	4,2	85,0	2,8
	0,005	73,4	5,0	71,7	2,5	72,3	3,2	74,0	3,2	70,5	2,8
	0,01	61,9	4,5	58,2	1,8	62,2	1,9	60,4	2,7	60,0	2,7
	0,02	48,7	2,9	45,6	2,4	48,0	1,9	45,0	2,2	46,1	1,9
	0,05	48,7	2,9	45,6	2,4	48,0	1,9	45,0	2,2	46,1	1,9
	0,10	24,6	0,8	22,5	1,0	25,0	1,4	23,6	1,3	23,7	0,9

	Konz. i. A. [%]	Messwert [%]									
		SGP	σ	PAR	σ	FGC	σ	INT	σ	PER	σ
zu Abb. 22	0,00	100,0	2,4	100,0	2,4	100,0	2,4	100,0	2,4	100,0	2,4
	0,0025	90,9	2,2	90,1	5,4	93,7	2,8	88,4	3,6	88,0	2,5
	0,005	80,6	2,3	80,2	2,2	83,6	2,7	81,0	2,3	82,2	2,8
	0,01	72,2	2,7	71,5	3,0	74,2	3,3	69,7	3,1	71,2	1,9
	0,02	62,3	2,1	61,3	2,8	65,1	2,9	61,1	1,8	62,5	3,2
	0,05	49,2	2,3	47,0	1,4	50,4	2,3	45,2	1,1	48,9	2,4
	0,10	40,8	1,3	39,3	2,0	41,2	1,4	38,5	2,1	41,7	1,8
zu Abb. 23	0,00	100,0	0,8	100,0	0,8	100,0	0,8	100,0	0,8	100,0	0,8
	0,0025	92,1	2,2	92,0	0,8	92,0	1,3	89,4	1,4	87,3	1,4
	0,005	83,9	1,2	85,8	2,0	85,0	1,1	82,7	1,9	78,2	1,2
	0,01	75,8	0,9	79,8	1,0	77,2	0,7	73,6	1,6	68,0	1,4
	0,02	65,3	1,5	67,6	1,9	66,1	1,0	64,0	1,6	59,3	0,6
	0,05	51,1	1,6	51,7	4,7	52,8	2,2	50,0	1,4	46,1	1,7
	0,10	43,3	1,2	44,5	1,2	43,0	1,9	41,5	1,3	37,8	1,8
zu Abb. 24	0,00	100,0	2,9	100,0	2,9	100,0	2,9	100,0	2,9	100,0	2,9
	0,0025	86,7	3,1	85,5	3,5	89,2	2,6	88,2	2,8	87,9	3,5
	0,005	74,9	2,2	75,3	4,0	79,5	2,6	79,1	2,3	77,8	2,5
	0,01	66,4	2,9	64,8	2,6	71,0	2,7	67,2	2,6	67,2	2,8
	0,02	55,1	2,4	53,4	1,9	58,8	1,8	56,9	1,7	57,2	1,7
	0,05	41,1	1,2	38,8	1,3	45,0	1,8	41,1	1,3	43,2	1,8
	0,10	29,5	1,0	28,6	0,9	32,2	1,1	30,8	1,5	30,9	1,1
zu Abb. 25	0,00	100,0	0,3	100,0	0,3	100,0	0,3	100,0	0,3	100,0	0,3
	0,0025	88,9	0,5	89,9	1,0	92,4	0,4	89,4	2,2	90,9	0,5
	0,005	79,1	2,8	82,3	1,2	79,2	0,7	85,5	1,8	77,6	2,0
	0,01	71,5	1,0	72,7	2,8	73,5	3,7	68,1	1,4	66,3	1,0
	0,02	55,4	1,8	60,2	0,5	62,0	1,9	60,6	1,0	54,2	1,7
	0,05	42,3	0,9	45,2	1,3	45,4	1,3	41,5	0,6	37,1	1,0
	0,10	30,3	0,8	33,6	0,8	31,6	0,6	31,6	0,3	28,2	0,7
zu Abb. 26	0,00	100,0	10,7	100,0	10,7	100,0	10,7	100,0	10,7	100,0	10,7
	0,01	90,9	9,1	83,3	6,7	85,5	2,4	85,9	3,0	76,3	2,8
	0,02	83,4	2,2	81,6	8,4	77,1	10,8	83,1	6,4	72,9	16,9
	0,033	64,8	7,0	62,6	12,5	57,1	4,3	57,0	5,4	56,0	14,3
	0,10	69,7	1,8	63,7	5,6	67,0	8,2	63,1	9,6	57,7	4,8

	Konz. i. A. [%]	Messwert [%]									
		SGP	σ	PAR	σ	FGC	σ	INT	σ	PER	σ
zu Abb. 27	0,00	100,0	8,8	100,0	8,8	100,0	8,8	100,0	8,8	100,0	8,8
	0,01	96,2	15,7	104,3	9,3	107,6	19,3	103,3	10,8	99,9	10,2
	0,02	96,2	8,5	97,7	10,5	98,5	11,4	111,4	10,7	110,7	10,2
	0,05	96,9	8,4	97,4	8,1	95,6	7,0	95,0	8,6	84,2	7,4
	0,10	95,3	6,2	94,2	6,6	90,5	5,9	87,0	7,2	77,4	3,4
zu Abb. 28	0,00	100,0	3,4	100,0	3,4	100,0	3,4	100,0	3,4	100,0	3,4
	0,01	101,3	3,8	101,5	7,4	103,6	4,5	99,8	4,7	98,7	4,2
	0,02	102,2	3,9	103,2	3,5	100,3	4,1	97,3	4,8	96,8	4,3
	0,05	98,1	6,9	100,9	6,1	97,0	6,2	92,7	4,8	85,4	4,9
	0,10	91,3	6,2	93,8	4,9	90,8	5,0	86,4	5,1	80,0	5,3
zu Abb. 29	0,00	100,0	3,4	100,0	3,4	100,0	3,4	100,0	3,4	100,0	3,4
	0,01	90,6	6,1	75,0	4,8	83,9	6,3	76,6	3,6	76,2	4,0
	0,02	79,3	5,8	68,2	5,8	72,2	3,9	62,7	4,4	55,7	6,6
	0,05	58,8	4,4	43,2	1,7	48,4	5,3	42,8	2,5	42,1	3,3
	0,10	46,0	1,8	33,4	1,4	38,8	2,6	32,3	1,5	30,9	1,3
zu Abb. 30	0,00	100,0	0,8	100,0	0,8	100,0	0,8	100,0	0,8	100,0	0,8
	0,005	73,7	1,6	71,2	1,5	73,6	3,4	73,8	0,8	75,5	3,2
	0,01	64,3	1,8	57,0	2,2	60,7	1,7	59,9	1,9	58,8	1,8
	0,02	45,9	1,3	37,5	1,3	43,7	2,7	39,3	0,7	34,7	0,7
	0,05	19,7	0,8	11,7	0,6	17,4	0,5	14,1	0,4	10,2	0,9
zu Abb. 31	0,00	100,0	3,3	100,0	3,3	100,0	3,3	100,0	3,3	100,0	3,3
	0,01	79,7	4,6	78,7	2,9	81,7	5,0	75,6	3,4	78,8	4,6
	0,02	62,7	3,6	61,8	2,4	64,2	3,1	61,5	3,5	62,5	4,0
	0,05	47,6	1,9	45,4	2,8	51,0	3,0	43,4	2,6	48,0	1,9
	0,10	32,8	2,2	34,0	3,7	36,4	2,3	31,8	1,3	34,3	1,7
zu Abb. 32	0,00	100,0	3,6	100,0	3,6	100,0	3,6	100,0	3,6	100,0	3,6
	0,005	86,3	3,7	87,3	5,0	85,4	5,0	83,1	4,7	78,7	3,2
	0,01	78,6	4,0	81,5	3,0	79,3	3,1	81,3	5,4	71,1	3,5
	0,02	64,0	3,6	67,6	4,6	60,5	3,3	60,4	3,1	52,1	10,3
	0,05	49,7	5,2	54,7	3,0	51,6	2,9	45,2	3,2	39,1	2,2
zu Abb. 33	0,00	100,0	2,0	100,0	2,0	100,0	2,0	100,0	2,0	100,0	2,0
	0,01	89,9	5,1	73,9	7,2	74,9	4,1	74,3	2,5	71,8	7,2
	0,02	63,8	2,9	57,1	2,9	67,2	1,7	61,8	3,3	62,4	2,7
	0,04	40,1	1,7	35,2	2,5	46,3	2,0	39,7	2,0	40,4	2,9
	0,10	21,4	1,2	14,5	0,5	21,1	0,9	18,1	0,9	19,1	0,7

	Konz. i. A. [%]	Messwert [%]									
		SGP	σ	PAR	σ	FGC	σ	INT	σ	PER	σ
zu Abb. 34	0,00	100,0	5,1	100,0	5,1	100,0	5,1	100,0	5,1	100,0	5,1
	0,005	80,3	4,2	85,1	6,0	82,7	5,0	95,1	16,3	78,8	5,6
	0,01	70,7	4,3	74,1	6,2	70,1	4,3	72,6	5,0	65,4	4,3
	0,02	51,1	3,6	49,2	3,1	48,0	3,3	49,2	4,7	45,1	2,9
	0,05	29,2	1,5	29,1	1,8	27,1	1,5	29,3	1,6	23,8	1,7

Tab. 13: Datenblatt zu Abb. 35

	Harnsäure [μ M]	σ	Xanthin [μ M]	σ
Kontrolle	308,2	19,6	173,8	13,3
A Gy SGP	366,1	4,9	146,6	10,5
A Gy PER	372,1	0,7	136,7	1,0
Ph Gy PER	346,0	2,7	140,6	1,7
Ph SP SGP	314,2	2,5	159,2	6,9

Tab. 14: Datenblatt zum ABTS-Testsystem (Endpunktmessung)

	Konz. i. A. [%]	Kontrolle	σ	absolute Hemmung in AE									
				SGP	σ	PAR	σ	FGC	σ	INT	σ	PER	σ
zu Abb. 36	0,05	0,63	0,03	0,24	0,02	0,23	0,03	0,21	0,02	0,21	0,03	0,15	0,01
	0,02	0,63	0,03	0,38	0,03	0,41	0,02	0,39	0,02	0,38	0,03	0,35	0,02
	0,01	0,63	0,03	0,53	0,00	0,54	0,02	0,52	0,02	0,53	0,01	0,51	0,01
	0,005	0,63	0,03	0,56	0,01	0,59	0,03	0,64	0,12	0,60	0,01	0,58	0,03
zu Abb. 37	0,05	0,75	0,03	0,51	0,03	0,50	0,03	0,45	0,04	0,44	0,03	0,36	0,02
	0,02	0,75	0,03	0,62	0,03	0,61	0,02	0,60	0,00	0,59	0,02	0,55	0,01
zu Abb. 38	0,05	0,55	0,02	0,29	0,02	0,32	0,02	0,26	0,01	0,22	0,02	0,17	0,00
	0,02	0,55	0,02	0,44	0,02	0,44	0,01	0,42	0,02	0,40	0,02	0,37	0,03
zu Abb. 39	0,05	0,55	0,03	0,02	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00
zu Abb. 40	0,02	0,55	0,03	0,26	0,01	0,09	0,00	0,25	0,02	0,12	0,01	0,06	0,01
	0,01	0,55	0,03	0,39	0,02	0,29	0,01	0,38	0,02	0,32	0,01	0,28	0,00
	0,005	0,55	0,03	0,47	0,01	0,41	0,01	0,46	0,01	0,43	0,01	0,40	0,01
zu Abb. 41	0,02	0,68	0,03	0,16	0,03	0,06	0,02	0,14	0,02	0,08	0,02	0,07	0,01
	0,01	0,68	0,03	0,36	0,01	0,30	0,01	0,38	0,01	0,34	0,01	0,34	0,01

	Konz. i. A. [%]	Kontrolle	σ	absolute Hemmung in AE									
				SGP	σ	PAR	σ	FGC	σ	INT	σ	PER	σ
zu Abb. 42	0,02	0,56	0,02	0,28	0,01	0,25	0,00	0,26	0,01	0,19	0,02	0,17	0,01
	0,01	0,56	0,02	0,42	0,00	0,37	0,01	0,40	0,01	0,35	0,01	0,32	0,01
zu Abb. 43	0,02	0,57	0,04	0,15	0,01	0,19	0,00	0,21	0,01	0,15	0,01	0,05	0,01
	0,01	0,57	0,04	0,31	0,02	0,35	0,02	0,36	0,01	0,30	0,01	0,21	0,01
zu Abb. 44	0,02	0,56	0,01	0,24	0,02	0,22	0,00	0,27	0,01	0,24	0,00	0,20	0,01
	0,01	0,56	0,01	0,41	0,00	0,38	0,01	0,41	0,01	0,38	0,00	0,36	0,01
zu Abb. 45	0,02	0,59	0,01	0,18	0,01	0,25	0,01	0,26	0,01	0,21	0,02	0,16	0,01
	0,01	0,59	0,01	0,35	0,01	0,40	0,01	0,40	0,01	0,37	0,01	0,35	0,01
zu Abb. 46	0,02	0,56	0,02	0,13	0,00	0,13	0,00	0,13	0,00	0,14	0,01	0,15	0,01
	0,01	0,56	0,02	0,28	0,01	0,27	0,01	0,27	0,01	0,30	0,01	0,28	0,01
	0,005	0,56	0,02	0,38	0,01	0,37	0,01	0,37	0,02	0,39	0,02	0,40	0,02
zu Abb. 47	0,025	0,50	0,00	0,25	0,00	0,24	0,00	0,26	0,00	0,26	0,01	0,26	0,01
	0,01	0,47	0,02	0,08	0,03	0,08	0,01	0,08	0,01	0,09	0,02	0,09	0,02
zu Abb. 48	0,025	0,43	0,03	0,08	0,02	0,08	0,02	0,08	0,02	0,08	0,03	0,09	0,03
	0,01	0,45	0,03	0,23	0,02	0,23	0,03	0,22	0,01	0,22	0,02	0,23	0,02
zu Abb. 49	0,02	0,52	0,01	0,17	0,01	0,16	0,01	0,15	0,01	0,15	0,01	0,13	0,01
	0,01	0,52	0,01	0,30	0,01	0,30	0,00	0,28	0,01	0,29	0,01	0,27	0,01
	0,0025	0,52	0,01	0,46	0,01	0,44	0,01	0,44	0,01	0,44	0,01	0,43	0,01
zu Abb. 50	0,02	0,60	0,02	0,25	0,02	0,25	0,03	0,22	0,06	0,27	0,08	0,20	0,02
	0,01	0,60	0,02	0,37	0,00	0,36	0,02	0,34	0,01	0,37	0,01	0,32	0,01
	0,005	0,60	0,02	0,44	0,00	0,45	0,00	0,44	0,01	0,45	0,01	0,42	0,00
zu Abb. 51	0,02	0,59	0,01	0,26	0,02	0,27	0,04	0,29	0,02	0,28	0,04	0,31	0,03
	0,01	0,59	0,01	0,38	0,02	0,39	0,06	0,40	0,01	0,41	0,01	0,40	0,00
	0,005	0,59	0,01	0,46	0,01	0,48	0,02	0,47	0,04	0,47	0,02	0,49	0,01

Tab. 15: Datenblatt der HPLC-Untersuchungen zu Abb. 53

	Peak #	Areas [mV*min]									
		SGP	σ	PAR	σ	FGC	σ	INT	σ	PER	σ
zu Abb. 53	a	12,3	0,17	4,22	0,14	5,63	0,11	6,96	0,09	11,07	0,06
	b	8,12	0,35	2,5	0,78	7,21	0,12	2,15	0,62	15,1	2,79
	c	23,1	0,1	21,56	0,08	24,64	0,03	24,85	0,19	31,62	0,05
	d	41,19	0,08	36,8	0,25	41,41	1,95	44,61	0,2	40,72	0,12
	e	7,48	0,54	2,87	0,12	7,12	0,14	4,56	0,04	9,75	0,19
	f	43,55	0	17,71	0,03	43,72	0,12	30,84	0,28	59,38	0,23

	Peak #	Areas [mV*min]									
		SGP	σ	PAR	σ	FGC	σ	INT	σ	PER	σ
zu Abb. 53	g	33,08	1,08	17,94	0,15	21,36	0,24	16,9	1,09	36,47	0,03
	h	46,36	0,38	35,63	0,29	54,92	0,45	40,8	0,34	71,22	0,53
	i	29,6	0,03	22,7	0,18	34,14	0,07	22,99	0,13	30,31	0,11
	j	21,68	0,13	23,01	0,24	23,33	0,09	24,6	0,45	24,39	0
	k	11,85	13,69	21,29	0,07	23,73	0,07	24,42	0,24	18,73	0,13

Tab. 16: Datenblatt der HPLC-Untersuchungen zu Abb. 55 – 60

	Peak #	Areas Substanz / Areas IS									
		SGP	σ	PAR	σ	FGC	σ	INT	σ	PER	σ
zu Abb. 55	1	0,053	0,001	0,047	0,003	0,035	0,002	0,033	0,000	0,089	0,011
	2	0,005	0,001	0,009	0,001	0,014	0,002	0,017	0,001	0,017	0,001
	3	0,053	0,001	0,078	0,003	0,087	0,007	0,094	0,004	0,158	0,010
	4	0,121	0,001	0,163	0,006	0,190	0,013	0,178	0,003	0,157	0,015
	5	0,000	0,000	0,000	0,000	0,008	0,001	0,014	0,000	0,034	0,002
	6	0,023	0,001	0,026	0,002	0,058	0,004	0,073	0,002	0,085	0,008
	7	0,083	0,004	0,147	0,007	0,147	0,013	0,144	0,006	0,293	0,008
	8	0,055	0,003	0,110	0,006	0,101	0,009	0,089	0,004	0,089	0,004
	9	0,045	0,001	0,061	0,002	0,053	0,004	0,050	0,004	0,041	0,003
	10	0,046	0,005	0,054	0,001	0,045	0,004	0,044	0,002	0,019	0,004
zu Abb. 56	1	0,058	0,003	0,046	0,002	0,047	0,001	0,047	0,004	0,060	0,005
	2	0,007	0,001	0,007	0,001	0,012	0,002	0,014	0,002	0,023	0,006
	3	0,062	0,001	0,059	0,002	0,080	0,006	0,091	0,006	0,139	0,022
	4	0,144	0,004	0,138	0,008	0,168	0,008	0,160	0,014	0,190	0,018
	5	0,000	0,000	0,000	0,000	0,014	0,002	0,035	0,004	0,062	0,005
	6	0,029	0,002	0,024	0,002	0,073	0,003	0,108	0,009	0,170	0,016
	7	0,105	0,003	0,092	0,008	0,100	0,008	0,103	0,014	0,167	0,026
	8	0,074	0,001	0,063	0,006	0,064	0,005	0,069	0,007	0,085	0,014
	9	0,049	0,005	0,048	0,004	0,049	0,005	0,048	0,003	0,035	0,003
	10	0,048	0,005	0,048	0,003	0,048	0,004	0,046	0,002	0,033	0,005
zu Abb. 58	1	0,641	0,015	0,746	0,020	0,598	0,038	0,858	0,016	0,926	0,013
	2	0,122	0,007	0,101	0,012	0,076	0,003	0,071	0,001	0,074	0,003
	3	0,509	0,011	0,480	0,010	0,465	0,014	0,590	0,011	0,527	0,006
	4	0,292	0,007	0,263	0,006	0,250	0,005	0,289	0,005	0,277	0,004
	5	0,085	0,003	0,085	0,057	0,116	0,077	0,105	0,003	0,207	0,008

	Peak #	Areas Substanz / Areas IS									
		SGP	σ	PAR	σ	FGC	σ	INT	σ	PER	σ
zu Abb. 58	6	0,009	0,001	0,040	0,002	0,007	0,001	0,012	0,000	0,047	0,001
	7	0,569	0,022	1,333	0,080	0,958	0,051	1,586	0,037	1,690	0,021
	8	0,390	0,012	0,674	0,044	0,444	0,015	0,437	0,016	0,565	0,014
	9	0,004	0,000	0,022	0,000	0,000	0,000	0,006	0,000	0,029	0,001
	10	0,003	0,002	0,004	0,000	0,006	0,000	0,003	0,002	0,013	0,001
	11	0,000	0,000	0,005	0,000	0,004	0,000	0,005	0,000	0,006	0,000
	12	0,005	0,001	0,007	0,000	0,004	0,000	0,006	0,000	0,007	0,000
zu Abb. 59	1	0,957	0,054	1,413	0,185	1,010	0,089	1,473	0,081	0,918	0,004
	2	0,021	0,001	0,036	0,005	0,028	0,003	0,039	0,002	0,024	0,000
	3	0,483	0,026	0,638	0,060	0,469	0,030	0,665	0,028	0,383	0,008
	4	0,219	0,005	0,295	0,022	0,234	0,011	0,311	0,008	0,172	0,004
	5	0,157	0,000	0,111	0,032	0,072	0,017	0,104	0,026	0,071	0,014
	6	0,016	0,003	0,013	0,001	0,013	0,001	0,023	0,003	0,081	0,002
	7	0,948	0,039	1,463	0,295	1,182	0,209	2,045	0,456	1,200	0,134
	8	0,116	0,010	0,140	0,024	0,129	0,021	0,210	0,042	0,288	0,020
	9	0,006	0,001	0,004	0,000	0,000	0,000	0,011	0,001	0,042	0,002
	10	0,055	0,019	0,072	0,003	0,220	0,017	0,077	0,011	0,198	0,037
zu Abb. 60	1	1,165	0,056	1,041	0,016	1,085	0,043	1,413	0,116	1,608	0,003
	2	0,025	0,002	0,022	0,000	0,021	0,002	0,028	0,000	0,036	0,000
	3	0,572	0,003	0,525	0,003	0,568	0,005	0,776	0,110	0,698	0,016
	4	0,260	0,007	0,253	0,002	0,273	0,002	0,351	0,054	0,312	0,007
	5	0,170	0,026	0,171	0,011	0,133	0,007	0,168	0,016	0,141	0,015
	6	0,017	0,001	0,013	0,000	0,009	0,000	0,023	0,001	0,067	0,001
	7	1,117	0,114	0,944	0,039	1,013	0,070	0,918	0,094	1,383	0,004
	8	0,130	0,009	0,109	0,001	0,098	0,001	0,127	0,010	0,276	0,007
	9	0,007	0,001	0,004	--	0,000	0,000	0,015	0,003	0,045	0,000
	10	0,057	0,011	0,020	0,001	0,012	0,000	0,017	0,003	0,028	0,001

Tab. 17: Datenblatt der HPLC-Untersuchungen zu Abb. 62 und 63

	Peak #	Areas [mV*min]									
		SGP	σ	PAR	σ	FGC	σ	INT	σ	PER	σ
zu Abb. 62	1	863,95	95,38	905,75	19,20	852,58	--	835,16	80,13	864,26	70,57
	2	30,74	4,75	31,76	0,09	30,51	--	29,52	8,89	32,93	0,10
	3	263,21	10,85	269,26	20,85	292,99	--	257,13	31,37	227,84	26,88
	4	8,89	1,33	9,21	2,27	7,59	--	9,54	0,08	7,04	0,02
	5	25,29	1,06	25,53	0,88	23,68	--	24,44	2,90	25,41	2,01
	6	143,25	5,48	145,81	0,88	168,25	--	137,42	12,54	133,70	12,89
	7	5,75	0,54	5,86	0,05	3,29	--	3,08	0,11	3,30	0,12
	8	55,50	35,66	77,48	21,19	50,30	--	74,15	5,81	87,14	14,09
	9	41,72	21,42	54,14	7,34	35,92	--	47,35	3,88	46,85	6,31
	10	16,41	11,38	21,26	6,78	16,98	--	16,62	2,45	20,00	0,59
zu Abb. 63	1	1116,85	2,21	1056,25	341,04	1048,24	66,41	1330,55	3,48	1232,06	17,85
	2	32,17	2,2	41,34	0,63	34,97	2,07	47,53	1,09	39,95	0,95
	3	307,74	34,74	325,63	4,02	243,25	14,2	321,19	9,9	287,46	8,3
	4	30,54	3,96	26,86	0,42	21,88	1,77	26,72	0,89	30,64	0,67
	5	161,39	17,69	172,65	2,46	138,21	6,53	172,53	7,24	147,48	5,42
	6	6,38	1,04	6,36	0,33	4,75	0,48	5,87	0,63	5,96	0,36
	A1	57,17	12,95	91,21	4,86	64,06	11,96	90,7	5,54	70,08	1,75
	A2	48,4	11,15	80,26	4,61	50,69	9,62	80,26	7,35	53,36	1,67
	A3	11,48	2,57	17,79	0,28	12,47	1,96	16,39	1,12	14,45	0,54
	10	17,98	9,31	27,97	3,44	14,39	6,06	26,04	12,89	31,5	9,35

Tab. 18: Datenblatt der HPLC-Untersuchungen zu Abb. 64-67

		Areas Substanz / Areas IS									
		SGP	σ	PAR	σ	FGC	σ	INT	σ	PER	σ
zu Abb. 64	Lutein	0,136	0,003	0,139	0,002	0,166	0,001	0,154	0,002	0,108	0,001
	Chl b	0,175	0,002	0,164	0,004	0,209	0,002	0,188	0,001	0,138	0,002
	Chl a	0,068	0,001	0,074	0,001	0,087	0,000	0,083	0,002	0,056	0,001
	β -Car	0,075	0,006	0,085	0,005	0,097	0,001	0,091	0,002	0,062	0,001
zu Abb. 65	Lutein	11,050	0,980	12,990	2,700	11,360	0,510	11,090	0,540	7,280	0,250
	Chl b	37,190	2,570	39,400	5,550	36,720	1,340	36,690	1,590	22,010	0,061
	Chl a	114,710	9,910	134,960	30,070	122,110	4,410	119,250	6,370	72,670	3,410
	β -Car	4,500	0,210	5,420	0,740	5,540	0,480	4,910	0,370	3,800	0,390
Langzeit	Lutein	10,080	0,400	11,960	0,470	13,700	1,340	14,470	1,530	10,950	0,620
	Chl b	31,010	5,470	35,150	4,070	41,580	1,930	44,010	4,350	36,340	1,970
	Chl a	102,850	13,890	118,170	7,660	140,380	17,310	153,940	15,160	120,380	7,260
	β -Car	5,790	0,220	5,740	0,760	6,260	0,810	7,010	0,650	5,600	0,270
zu Abb. 66	Lutein	6,200	0,020	5,410	0,210	5,860	0,360	4,760	0,260	5,680	0,480
	Chl b	19,380	0,490	16,500	0,170	16,930	0,310	14,220	0,630	18,330	1,170
	Chl a	54,810	0,360	47,000	1,620	50,260	1,090	39,950	1,560	51,750	3,880
	β -Car	2,430	0,080	2,270	0,160	2,320	0,150	2,110	0,170	1,680	0,220
zu Abb. 67	Lutein	6,790	0,020	8,240	0,030	9,200	0,180	8,290	0,720	9,540	0,110
	β -Car	2,010	0,270	2,010	1,210	2,820	0,210	2,190	0,490	2,900	0,030
Langzeit	Lutein	8,040	1,580	9,660	0,470	8,930	0,290	9,440	0,590	6,350	0,260
	β -Car	1,930	0,360	2,420	1,300	2,230	1,160	2,180	1,300	1,470	0,820

8 Literaturverzeichnis

- Allen, D. J., Nogués, S. and Baker, N. R. (1998): Ozone depletion and increased UV-B radiation: is there a real threat to photosynthesis? *J. Exp. Bot.*, 49 (328), 1775-1788
- Arnao, M. B., Cano, A. and Acosta, M. (2002): Methods to Measure the Antioxidant Activity in Plant Material. A Comparative Discussion. *Free Rad. Res.*, 31, 589-96
- Ballaré, C. L. (2003): Stress Under the Sun: Spotlight on Ultraviolet-B-Responses. *Plant. Phys.* 132, 1725-27
- Barta, C., Kálai, T., Hideg, K., Vass, I. and Hideg, É. (2004): Differences in the ROS-generating efficacy of various ultraviolet wavelengths in detached spinach leaves. *Funct. Plant Biol.*, 31, 23-28
- Batschauer, A. (1999): Light Perception in higher plants. *Cell. Mol. Life Sci.* 55, 153-165
- Bergmann, H., Lippmann, B., Leinhos, V., Tiroke, S. and Machelett, B. (1999): Activation of Stress Resistance in Plants and Consequences for Product Quality., *J. Appl. Bot.*, 73, 153-161
- Bergman, M., Varshavsky, L., Gottlieb, H. E. and Grossman, S. (2001): The antioxidant activity of aqueous spinach extract: chemical identification of active fractions. *Phytochem.* 58, 143-152
- Bharti, A. K. and 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
- Bieza, K. and Lois, R. (2001): An Arabidopsis Mutant Tolerant to Lethal Ultraviolet-B Levels Shows Constitutively Elevated Accumulation of Flavonoids and Other Phenolics. *Plant Phys.* 126, 1105-15
- BFEL (2005): Die Reduktion von Nitrat beim Blanchiervorgang mittels Ionenaustauschern. Datum: 08.08.2005, <http://www.bfa-ernaehrung.de/Bfe-Deutsch/Institute/Ivt/Aufgaben/Ionenaustauschern.htm>
- Bolink, E. M., van Schalkwijk, I., Posthumus, F. and van Hasselt, P. R. (2001): Growth under UV-B radiation increases tolerance to high-light stress in pea and bean plants. *Plant Ec.*, 154, 149-156

- Brosché, M. and Strid A. (2003): Molecular events following perception of ultraviolet-B radiation by plants. *Physiol. Plant.* 117, 1-10.
- Brunold, C. (1996): *Stress bei Pflanzen*, Haupt-Verlag, ISBN/ISSN 3-258-05372-3
- Buratti, S., Pellegrini, N., Brenna, O. V. and Mannino, S. (2001): Rapid Electrochemical Method for the Evaluation of the Antioxidant Power of Some Lipophilic Food Extracts. *J. Agr. Food Chem.*, 49, 5136-41
- Castenmiller, J. J. M., Linssen, J. P. H., Heinonen, I. M., Hopia, A. I., Schwarz, K., Hollmann, P. C. H. and West, C. E. (2002): Antioxidant properties of differently processed spinach products. *Nahrung/Food*, 46, 290-293
- Chu, Y., Chang, C and Hsu, H. (2000): Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *J. Sci. Food Agric.*, 80, 561-566
- Cotelle, N. (2001): Role of Flavonoids in Oxidative Stress. *Curr. Top. Med. Chem.*, 1, 569-590
- Coughlan, M. P., Rajagopalan, K. V. and Handler, P. (1969): The Role of Molybdenum in Xanthine Oxidase and Related Enzymes. *J. Biol. Chem.*, 244 (10), 2658-63
- Cuadra, P. (1997): Increases in Surface Flavanols and Photosynthetic Pigments in *Gnaphalium Luteo-album* in Response to UV-B Radiation. *Phytochem.* 45, 1377-83
- Cybulski III, W. J. and Peterjohn, W. T. (1999): Effects of ambient UV-B radiation on the above-ground biomass of seven temperate-zone plant species. *Plant Ecol.*, 145, 175-181
- Davies, F. G. (1979): The genus *Gynura (Compositae)* in Eastern Asia and the Himalayas. *Kew. Bull.*, 33, 629-640
- Deckmyn, G., Martens, C. and Impens, I. (1994): The importance of the ratio UV-B/photosynthetic active radiation (PAR) during leaf development as determining factor of plant sensitivity to increased UV-B irradiance: effects on growth, gas exchange and pigmentation of bean plants (*Phaseolus vulgaris* cv. Label). *Plant, Cell Env.*, 17, 295-301
- Demming, B. and Adams, W. W. (1996): The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis., *Trends Plant Sc.*, 1 (1), 21-26
- Dixon, R. A. and Paiva, N. L. (1995): Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism. *The Plant Cell*, 7, 1085-97

- Edenharder, R., Keller, G., Platt, K. L. and Unger, K. K. (2001): Isolation and Characterization of Structurally Novel Antimutagenic Flavonoids from Spinach (*Spinacia oleracea*). *J. Agr. Food Chem.*, 49, 2767-2773
- Elstner, E. F. (1993): Sauerstoffabhängige Erkrankungen und Therapien. BI Wissenschaftsverlag, ISBN 3-411-15611-2
- Elstner, E. F. and Heupel, A. (1976): Inhibition of nitrite formation from hydroxylammonium chloride: a simple assay for superoxide dismutase. *Anal. Biochem.* 70, 616-620
- Ernst, D., Götz, M., Heidenreich, B., Heller, W., Krins, A. und Seidlitz, H. K. (2004): Spektrale Abhängigkeit der Regulation von pflanzlichen Schutzpigmenten. In: Rundgespräche der Kommission für Ökologie (27), Dr. Friedrich Pfeil Verlag, ISBN 3-89937-048-1
- Fagerberg, W. R. and Bornmann, J. F. (2005): Modification of leaf cytology and anatomy in *Brassica napus* grown under above ambient levels of supplemental UV-B-radiation. *Photochem. Photobiol.*, 4, 275-279
- Ferreres, F., Castaner, M. and Tomás-Barberán, F. A. (1997): Acylated Flavanol Glycosides From Spinach Leaves (*Spinacia oleracea*). *Phytochem.*, 45 (8), 1701-05
- Frohnmeier H. and Staiger D. (2003): Ultraviolett-B Radiation-Mediated Responses in Plants. Balancing Damage und Protection. *Plant Phys.* 133, 1420-28
- Fu, P. P., Yang, Y., Xia, Q., Chou, M. W., Ciu, Y. Y. and Lin, G. (2002): Pyrrolizidin Alkaloids – Tumorigenic Components in Chinese Herbal Medicines and Dietary Supplements. *J. Food Drug Anal.*, 10 (4), 198-211
- Giuntini, D., Graziani, G., Lercari, B., Fogliano, V., Soldatini, G. F. and 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
- Hada, M., Hino, K and Takeuchi, Y. (2001): Development of UV Defense Mechanisms during Growth of Spinach Seedlings. *Plant Cell Phys.*, 42 (7), 784-787
- Hallacz, J. (2004): Einfluss von UV-B-Licht auf Flavonoidgehalt und antioxidative Kapazität von Spinat. Diplomarbeit an der Technische Universität München, Lehrstuhl für Gemüsebau, Wissenschaftszentrum Weihenstephan; unveröffentlicht

- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (1999): Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press
- Hart, D. J. and 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
- Häder D.-P. and Tevini M. (1987): General Photobiology, Pergamon Press, ISBN 0-8-032028-7
- Heuberger, H., Praeger, U., Georgi, M., Schirmmayer, G., Graßmann, J. and Schnitzler, W. H. (2004): Precision Stressing by UV-B Radiation to improve Quality of Spinach under Protected Cultivation. Acta Hort., 659, 201-206
- Hollósy, F. (2002): Effects of ultraviolet radiation on plant cells. Micron 33, 179-197
- Holten, T. A. and Cornish, E. C. (1995): Genetics and Biochemistry of Anthocyan Biosynthesis. Plant Cell, 7, 1071-83
- Horn, W. (1996): Zierpflanzenbau. Blackwell Wissenschaftsverlag, ISBN 3-8263-3051-X
- 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
- Iskander, M. N., Song, Y., Coupar, I. M. and Jiratchariyakul, W. (2002): Antiinflammatory screening of the medicinal plant *Gynura procumbens*. Plant Food Human Nutr., 57, 233-244
- Jansen, M. A. K., Gaba, V. and Greenberg, B. M. (1998): Higher Plants and UV-B radiation: balancing damage, repair und acclimation. Trends Plant Sc., 3 (4), 131-135
- Jordan, B. R. (2002): Molecular response of plant cells to UV-B-stress. Funct. Plant Biol., 29, 909-916
- Kaur, C. and Kapoor, H. C. (2001): Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium’s health., Int. J. Food Sc. Tech., 36, 703-725
- Kidmose, U., Knuthsen, P., Edelenbos, M., Justesen, U. and Hegelund, E. (2001): Carotenoids und flavonoids in organically grown spinach (*Spinacia oleracea* L) genotypes after deep frozen storage. J. Sci. Food Agric., 81, 918-923 (online 2001), DOI: 10.1002/jsfa.902
- Kolb, C. A., Käser, M. A., Kopecký, J., Zotz, G., Riederer, M. and Pfündel, E. E. (2001): Effects of Natural Intensities of Visible and Ultraviolet Radiation on

- Epidermal Ultraviolet Screening and Photosynthesis in Grape Leaves., *Plant Phys.*, 127, 863-875
- Kolb, C. A., Kopecký, J., Riederer, M. and Pfündel, E. E. (2003): UV screening by phenolics in berries of grape vine (*Vitis vinifera*). *Funct. Plant Biol.*, 30, 1177-86
- Kovács, E. und Keresztes, Á. (2002): Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cells. *Micron* 33, 199-210
- Krizek, D. T. (2004): Influence of PAR and UV-A in Determining Plant Sensitivity and Photomorphogenic Response to UV-B Radiation. *Photochem. Photobiol.*, 73 (4), 307-315
- Kröner, R., Heinisch, H., Hippeli, S. und Elstner, E. F. (1989): Neue biochemische Modelle zur Kataraktforschung. *Fortschr. Ophthalmol.*, 86, 26-31
- Lin, W-Y., Teng, C., Tsai, I. and Chen, I. (2000): Anti-platelet aggregation constituents from *Gynura elliptica*. *Phytochem.*, 53, 833-836
- Lomnitski, L., Bergmann, M., Nyska, A., Ben-Shaul, V. and Grossman, S. (2003): Composition, Efficacy, and Safety of Spinach Extracts. *Nutr. and Cancer*, 46 (2), 222-231
- Mackerness, S. A.-H. (2001): Early signalling components in ultraviolet-B responses: distinct roles for different reactive oxygen species and nitric oxide., *FEBS Letters*, 489, 237-242
- Martens, S., Knott, J., Seitz, C. A., Janvari, L., Yu, S. and Forkmann, G. (2003): Impact of biochemical pre-studies on specific metabolic engineering strategies of flavonoid biosynthesis in plant tissues., *Biochem. Eng. J.*, 14, 227-235
- Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P. M., and Rice-Evans, C. A. (1996): Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters* 384, 240-242
- Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V. and Milner, A. (1993): A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status on premature neonates. *Clin. Sci.*, 84, 407-412
- Nitz, G. (2005): Rossino (*Gynura bicolor*), Arbeitspapier, Technische Universität München Lehrstuhl für Gemüsebau, Wissenschaftszentrum Weihenstephan; unveröffentlicht

- Nitz, G. M., Grubmüller, E. and Schnitzler, W. H. (2004): Differential flavonoid response to PAR and UV-B light in chive (*Allium schoenoprasum* L.). *Acta hort.* 659, 825-830
- Nuutila, A. M., Kammiovirta, K. and Oksman-Caldentey, K. (2002): Comparison of methods for the hydrolysis of flavonoids and phenolic acids from onion und spinach for HPLC analysis. *F. Chem.* 76, 519-525
- Paiva, S. A. R. and Russel, R. M. (1999): β -Carotene and Other Carotenoids as Antioxidants. *J. Am. Coll. Nutr.*, 18 (5), 426-433
- Parr, A. J. and 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
- Petersen, J. and Dwyer, J. (1998): Taxonomic classification helps indentify flavonoid-containing foods on a semiquantitative food frequency questionnaire. *J. Am. Diet. Ass.*, 98, 677-685
- Pfündel, E. (2004): Diskussion zu den Vorträgen Winter, Knoche, Werle und Schween. In: Rundgespräche der Kommission für Ökologie (27), Dr. Friedrich Pfeil Verlag, ISBN 3-89937-048-1
- Pietta, P. G. (2000): Flavonoids as Antioxidants. *J. Nat. Prod.*, 63, 1035-42
- Prior, R. (2003): Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *Am. J. Clin. Nutr.* 78, 570-578
- Pritsos, C. A. (2000): Cellular distribution, metabolism and regulation of the xanthin oxidoreductase enzyme system. *Chem.-Biol. Inter.*, 129, 195-208
- Proteggente, A. R., Pannala, A. S., Paganga, G., van Buren, L., Wagner, E., Wiseman, S., van de Put, F., Dacombe, C. and Rice-Evans, C. A. (2002): The Antioxidant Activity of Regularly Consumed Fruit and Vegetables Reflects their Phenolic and Vitamin C Composition. *Free Rad. Res.*, 36, 217-233
- Reuber, S., Bornman, J. F. and 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. A., Miller, N. J. and Paganga, G. (1996): Structure-Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids. *Free Rad. Biol. Med.*, 20 (7), 933-956

- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. and Paganga, G. (1997): Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.*, 2 (4), 152-159
- Rohnert, U., Schneider, W. and Elsnter, E. F. (1998): Superoxide-Dependent and – Independent Nitrite Formation from Hydroxylamine: Inhibition by Plant Extracts. *Z. Naturforsch.* 53, c, 241-249
- Santos, I., Fidalgo, F., Almeida, J. M. and Salema, R. (2004): Biochemical and ultrastructural changes in leaves of potato plants under supplementary UV-B radiation. *Plant Sci.* 167, 925-935
- Schauer, R. (2005): Einfluss von UV-B-Licht auf Carotinoidgehalt und antioxidative Kapazität von Spinat. Diplomarbeit an der Technische Universität München, Lehrstuhl für Gemüsebau, Wissenschaftszentrum Weißenstephan; unveröffentlicht
- Schieber, A., Berardini, N. and Carle, R. (2003): Identification of Flavonol and Xanthon Glycosides from Mango (*Mangifera indica* L. Cv. "Tommy Atkins") Peels by High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 5006-11
- Schijlen, E. G. W. M., Ric de Vos, C. H., van Tunen, A. J. and Bovy, A. G. (2004): Modification of flavonoid biosynthesis in crop plants., *Phytochem.*, 65, 2631-48
- Schlee, D. (1986): *Ökologische Biochemie*. Springer-Verlag, ISBN/ISSN 0-387-16034-5
- Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventós, R. M. (1998): Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Meth. Enzym.*, 299, 152-178
- Smith, J. L., Burrit, D. J. and 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
- Stapleton, A. E. (1992): Ultraviolet Radiation and Plants: Burning Questions. *The Plant Cell*, 4, 1353-1358
- Strasburger, E. (1983): *Lehrbuch der Botanik*. Gustav Fischer Verlag ISBN 3437-20295-2
- Strasburger, E. (1991): *Lehrbuch der Botanik*. Gustav Fischer Verlag ISBN 3437-20447-5

- Tevini, M. (1993): UV-B Radiation and Ozone Depletion. Effects on Humans, Animals, Plants, Microorganisms, and Materials. Lewis Publishers, ISBN 0-87371-911-5
- Tura, D. and Robards, K. (2002): Sample handling strategies for the determination of biophenols in food and plants. *J. Chrom. A*, 975, 71-93
- Velioglu, Y. S. (1998): Antioxidant Acitivity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *J. Agr. Food. Chem.* 46, 4113-17
- Vogel, G. (1996): Handbuch des speziellen Gemüsebaues. Ulmer-Verlag, ISBN 3-8001-5285-1
- von Kruedener, S., Schempp, H. and Elstner, E.F. (1995): Gas Chromatographic Differentiation between Myeloperoxidase Activity and Fenton-Type Oxidants. *Free Rad. Biol. Med.*, 19 (2), 141-146
- Watzl, B. und Bub, A. (2001): Carotinoide. *Ernährungs-Umschau* 48 (2), 71-74
- Watzl, B. und Rechkemmer, G. (2001): Phenolsäuren. *Ernährungs-Umschau* 48 (10), 413-416
- Weiss, S. J. (1986): Oxygen, ischemia and inflammation. *Acta Physiol. Scand.*, Suppl. 548, 9-37
- Yoshitama, K., Kaneshige, M., Ishikura, N., Araki, F., Yahara, S. and Abe, K. (1994): A Stable Reddish Purple Anthocyanin in the Leaf of *Gynura aurantiaca* cv. 'Purple Passion'. *J. Plant Res.*, 107, 209-214
- Yu, T-W. and Ong, C. N. (1999): Lag-Time Measurement of Antioxidant Capacity Using Myoglobin and 2,2-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid): Rationale, Application, and Limitation. *Anal. Biochem.*, 275, 217-223

9 Danksagung

Am Ende möchte ich mich bei allen, die zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen haben herzlich bedanken. Herrn Prof. W.H. Schnitzler danke ich für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit an seinem Lehrstuhl wirken zu dürfen. Danke für die freundliche Unterstützung dieser Arbeit. Bei Herrn Prof. E.F. Elstner bedanke ich mich für die Zweitkorrektur und für die Motivationshilfe beim ersten Bewerben um mein Stipendium.

Mein besonderer Dank gilt an dieser Stelle meiner stetigen Betreuerin Frau Dr. Johanna Graßmann, die mir sehr viele Stunden mit Rat und Tat zur Seite stand. Auch Dr. Harald Schempp hat mir durch viele „Mensa-Diskussionen“ beim einen oder anderen Problem auf die Sprünge geholfen.

Bedanken möchte ich mich auch bei allen Arbeitskollegen am Lehrstuhl, die meine Motivation stets aufrecht hielten.

Ein sehr großes Dankeschön geht an die Konrad-Adenauer-Stiftung e.V., ohne deren Graduierten-Stipendium die Durchführung dieser Promotion nie möglich gewesen wäre.

Auch besonderen Dank an meine Freundin, Franziska Schulz-Walz, die meine Launen während der gesamten Zeit sehr liebevoll ertragen und mich immer gestützt hat.

Ferner gilt besonderer Dank meinen Eltern, Burkhard und Waltraud Schirrmacher, die mir das Studium und die folgende Promotion erst ermöglichten.

10 Lebenslauf

Angaben zur Person

Name: Georg Albert Schirmmacher
Geburtsdatum: 29.10.1973
Geburtsort: Öhringen/Germany
Nationalität: deutsch
Familienstand: ledig

Akademischer Werdegang

von Dez. 2002 bis Ende 2005:

Doktorand am Lehrstuhl für Gemüsebau der TUM-Weihenstephan (Stipendium im Rahmen der Graduiertenförderung der Konrad-Adenauer-Stiftung e.V.)

WS 1996/97 bis 2002:

Studium der Gartenbauwissenschaften, TU München-Weihenstephan

Diplomarbeitstitel: „Antioxidative Eigenschaften von Apfelsorten als Qualitätsmerkmal“

Lehrstuhl für Phytopathologie

Berufspraxis

1995/1996 Auslandspraktikum, Bayliss Nursery, Neuseeland

1993-1995 Ausbildung zum Gärtner an der Staatl. Versuchsanstalt für Obst- und Gartenbau an der Universität Hohenheim

Ausbildung

1990-93 Agrarwissenschaftliches Gymnasium Öhringen, Schulabschluss:
Allgemeine Hochschulreife

1984-90 Realschule Niedernhall

1980-84 Grundschule Ernsbach