

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Einfluss der Zubereitung von Obst und Gemüse auf die Carotinoide:
Bedeutung für die Hautalterung**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Saskia Gehse

aus Potsdam

Datum der Promotion: 09.12.2016

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
Abstrakt	6
Abstract	8
1. EINLEITUNG	9
1.1. Der Aufbau der Haut	9
1.1.1. Epidermis	10
1.1.2. Dermis	13
1.1.3. Subcutis	14
1.2. Hautalterung und antioxidatives Potential	14
1.3. Carotinoide	16
1.3.1. β -Carotin	19
1.3.2. Lycopin	19
1.3.3. Enterale Aufnahme der Carotinoide	20
1.4. Methode zur qualitativen und quantitativen Carotinoidmessung - Raman-Resonanzspektroskopie	21
1.5. Freie Radikale	23
1.6. Ultraviolettstrahlung	25
1.7. Ziel der Arbeit	26
2. MATERIAL UND METHODEN	27
2.1. Probandenkollektiv	27
2.2. Früchte	27
2.3. In-vivo Charakterisierung der Hautoberflächenstruktur	28
2.3.1. Aufbau des PRIMOS-3D Messsystems	28
2.3.2. Vorbereitung für die Messung der Hautoberflächenstruktur	29
2.3.3. Messung der Hautoberflächenstruktur	29
2.4. In-vivo Bestimmung der Carotinoide in der Haut	30
2.4.1. Aufbau des Raman-Resonanz Messsystems	30
2.4.2. Durchführung der Messungen	32

2.5. Ermittlung des Carotinoidgehalts verschiedener Früchte	32
2.5.1. Probenvorbereitung	32
2.5.2. Messverfahren	34
3. ERGEBNISSE	36
3.1. Hautoberflächenstruktur und Carotinoidkonzentration	36
3.2. Einfluss des Garvorgangs auf die β-Carotinkonzentration in Gemüse und Obst	40
3.2.1. Karotten	40
3.2.2. Paprika	42
3.2.3. Broccoli	44
3.2.4. Kartoffeln	47
3.2.5. Lagerung von Bauernpflaumen	52
4. DISKUSSION	56
4.1. Hautoberflächenstruktur und antioxidatives Potential	56
4.2. β-Carotin in Gemüse während Garvorgängen	58
4.3. β-Carotin in Bauernpflaumen während der Lagerung	64
5. ZUSAMMENFASSUNG	66
LITERATURVERZEICHNIS	66
LEBENS LAUF	74
EIDESSTÄTTLICHE ERKLÄRUNG	76

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
Tab.	Tabelle
HDL	High density lipoproteins
VLDL	Low density lipoproteins
VLDL	Very low density lipoproteins
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
s	Sekunde
IR	Infrarotstrahlung
VIS	Sichtbares Licht
HPLC	High pressure liquid chromatography
SC	Säulenchromatographie
UV	Ultraviolettstrahlung
min	Minute
h	Stunde

Abstrakt

Die Haut wird oft auch als Spiegel der Seele und der Gesundheit bezeichnet, da sich anhand von Farbveränderungen Rückschlüsse auf mögliche Erkrankungen ziehen lassen (1). Systemische Mangelzustände wie Anämie oder Hauterkrankungen wie die atopische Dermatitis zählen dazu.

Mit einer Fläche von ca. 1,5 bis 2 m² und einem Gewicht von etwa 2 Kilogramm ist die Haut eines der größten Organe des menschlichen Organismus (1, 2).

Das Erscheinungsbild der menschlichen Haut ist sehr variabel mit einer Vielzahl Farben und Oberflächenstrukturen, geprägt durch unterschiedliche Furchen und Falten (3).

Mit fortschreitendem Alter kommt es zu einer vermehrten Faltenbildung durch Kollagenabbau in der Dermis und damit auch zum Verlust an Elastizität (4,5).

Das ist auf das Einwirken verschiedener externer und interner Einflüsse, wie Licht- insbesondere UV-exposition, die Ernährungsweise und genetische Faktoren zurückzuführen (6). Auch Rauchen und der generelle Lebensstil beeinflussen das Erscheinungsbild der Haut (7, 8).

Die meisten dieser makroskopischen Einflussgrößen wirken auf der primären molekularen Ebene, welche Ausgangspunkt für die beschriebenen Veränderung ist, über eine breite Klasse von Substanzen, die ungepaarte Elektronen besitzen und als „freie Radikale“ bezeichnet werden. Eine große Menge dieser freien Radikale, die zerstörerisch anderen Molekülen Elektronen entreißen, um das fehlende Elektron zu ersetzen, sind als „oxidativer Stress“ bekannt. Ungezügelter Wirken dieses oxidativen Stresses führt zu vorzeitiger Hautalterung, zu Photoaging bis hin zu Hautkrebs.

Photoaging heißt dabei, dass lichtinduzierte freie Radikale über eine vielstufige Schadenskaskade zur Zerstörung der extrazellulären Matrix in der Dermis führen (7, 12).

Ein Überschuss an freien Radikalen wird auch für cardio-vasculäre Erkrankungen oder Tumorerkrankungen verantwortlich gemacht (8, 9, 10).

Der menschliche Organismus hat im evolutionären Prozess Abwehrmechanismen gegen diese überschüssigen freien Radikale entwickelt. Dazu zählen auch die nichtenzymatischen Carotinoide β -Carotin und Lycopin, die als Radikalfänger fungieren (10, 11).

Die meisten Antioxidantien können im menschlichen Körper nicht gebildet werden. Deswegen müssen wir sie über die Nahrung zu uns nehmen (11).

In der folgenden Arbeit soll der Zusammenhang zwischen dem Gehalt an auf unterschiedliche Weise behandelten Carotinoiden in der Haut und der Hautalterung aufgezeigt werden. Die Untersuchungen erfolgten mittels in vivo Messungen durch Raman-Resonanzspektroskopie und durch die in vivo Bestimmungen der Hautoberflächenstruktur. Das primäre Ziel war dabei, Unterschiede im antioxidativen Potential von ausgewählten Nahrungsmitteln unter variierenden Zubereitungsbedingungen mit Hilfe der Raman-Resonanzspektroskopie zu bestimmen.

Abstract

The skin is often referred to as the mirror of our soul and skin as color changes might reflect potential diseases (1), which may include systemic deficiencies, e.g., anemia, or dermal diseases, such as atopic dermatitis.

With a size of 1.5 to 2 m² and a weight of approximately 2 kg, the skin is one of the largest organs of the human body (1, 2).

The appearance of the skin shows a wide variance in terms of color shades and surface structures that are characterized by different furrows and wrinkles (3).

With advancing age, dermal collagen is degraded, which leads to increased wrinkling and a loss of elasticity (4,5).

This is due to various external and internal influences such as exposure to light and UV radiation, nutrition and genetic factors (6). In addition, the appearance of the skin is influenced by smoking and the general lifestyle (7, 8).

Most of these macroscopic parameters act on the primary molecular level, triggering the described change via an ample range of substances that carry unpaired electrons and are described as "free radicals". Large quantities of these free radicals, which take up electrons from other molecules to compensate the missing one, are known as „oxidative stress“. The uncontrolled action of such oxidative stress entails premature photoaging and can even induce skin cancer. In photoaging, light-induced free radicals destroy the extracellular matrix in the dermis through a multi-stage cascade of damages (7, 12). Excessive amounts of free radicals are also associated with cardiovascular or tumor diseases (8, 9, 10).

To counteract the excessive free radicals, the human body has developed defense mechanisms in the course of evolution that include the radical scavenging and non-enzymatic carotenoids beta carotene and lycopene (10, 11).

Most antioxidants cannot be produced by the human body and must be ingested via food uptake (11).

The present thesis shall demonstrate the correlation between the amount of dermal carotenoids, which were subjected to different forms of treatment, and skin aging. The investigations were conducted using in vivo Raman resonance spectroscopy and by in vivo analysis of the skin surface structure. The primary objective of this thesis was to determine the differences in the antioxidant potential of selected foodstuffs, which were differently prepared, using Raman resonance spectroscopy.

1. Einleitung

1.1. Aufbau der Haut

Die Haut (Cutis) zeigt in ihrer mikroskopischen Struktur einen mehrschichtigen Aufbau. Die grobe Gliederung zeigt eine obere Schicht, die Epidermis (Oberhaut) und eine darunter liegende Schicht die Dermis (Lederhaut). Epidermis und Dermis sind fest miteinander verzahnt. Unter der Dermis liegt die Subkutis (Unterhaut). Hierbei handelt es sich um ein lockeres Bindegewebe mit einer Vielzahl an Fettzellen (4, 13). Abbildung 1 stellt diesen schichtweisen Aufbau anschaulich dar.

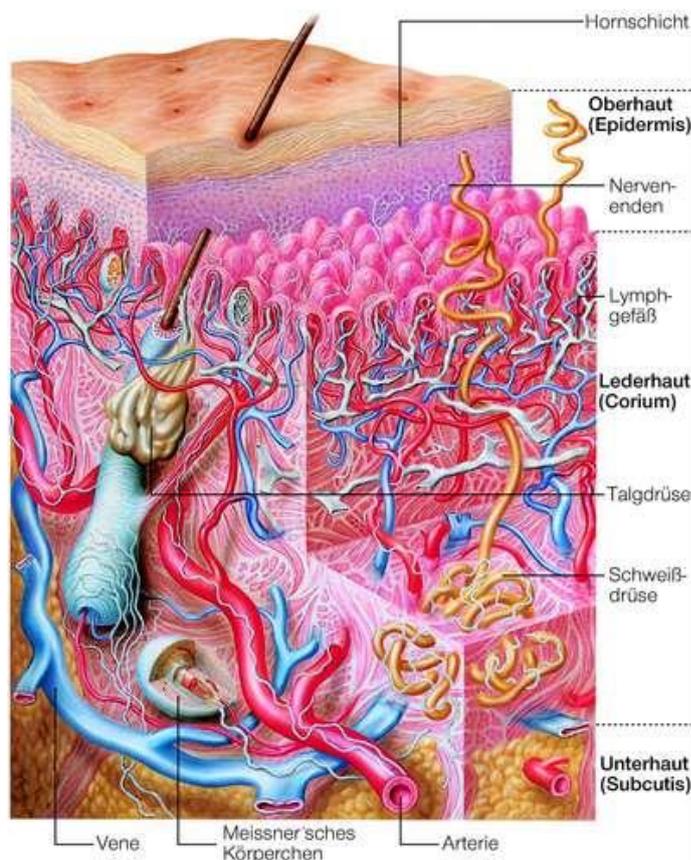


Abb. 1 Schematische Darstellung der Hautschichten (14)

Die Cutis ist an verschiedenen Körperstellen unterschiedlich dick, entsprechend ihrer Aufgabe als mechanische Barriere (13). So hat sie eine größere Dicke im Bereich der Handinnenfläche und der Fußsohle, denn hier unterliegt die Haut einer stärkeren mechanischen Beanspruchung, verglichen beispielsweise mit der Bauchhaut. Die

Bezeichnung „dick“ nimmt Bezug auf die Dicke der Epidermis. Unter „dünn“ wird eine Stärke von 75 – 150 µm verstanden und unter „dick“ etwa 400 – 600 µm.

In der Dermatologie werden zusätzlich zu solcher groben Strukturierung weitere Einteilungsvarianten genutzt. So zum Beispiel die Einordnung der Hauttypen nach Fitzpatrick. Hierbei wird die Haut anhand ihrer Pigmentierung nach Helligkeit, den Haaren und der Augenfarbe in sechs Typen unterschieden. Diese Unterteilung lässt einen annähernden Rückschluss auf die Empfindlichkeit der Haut gegenüber Sonnenbrand und Bräunung zu (15).

1.1.1. Epidermis

Der in der Epidermis vorherrschende Zelltyp sind die Keratinozyten. Diese Zellen sind in Form eines mehrschichtig verhornten Plattenepithels angeordnet. Hinzu kommen Melanozyten, Merkel-Zellen und Langerhans-Zellen mit ihren unterschiedlichen Funktionen.

Die Keratinozyten durchlaufen mehrere terminale Differenzierungsstufen, bis sie als kernlose Zellfragmente die Hautoberfläche erreichen. Histologisch betrachtet zeigt sich eine Aufgliederung der Epidermis in fünf aufeinander folgende, unterschiedliche dicke Schichten mit wechselnder Differenzierung der Keratinozyten. Von zentral nach peripher ergibt sich folgende Schichtung:

Sie beginnt mit dem **Stratum basale**, bestehend aus einem einschichtigen Zellverband, welcher durch kuboide Zellen charakterisiert ist. Die Keratinozyten lagern in einer Schicht aus basophilen Zellen der Basallamina auf. Es zeigen sich hier zwei Zellsubtypen, die Stammzellen und differenzierungsfähigen Keratinozyten. Typisch für beide Zelltypen ist eine häufige Zellteilungsrate. Auf Grund dieses hohen Proliferationsvermögens erneuert sich die Epidermis generell innerhalb von ca. 28 Tagen.

Eine Verbindung der Keratinozyten zur Basallamina ist durch Hemidesmosomen gegeben (4, 16). Mittels Exozytose ist es möglich, Melanin der benachbarten Melanozyten in die Keratinozyten aufzunehmen (16).

Namensgebend für die Keratinozyten sind Keratinfilamente, welche auch als Tonofilamente bezeichnet werden. Bestandteil der Keratinozyten sind zudem die Aktinfilamente. Unter dem Mikroskop erscheinen beide Komponenten als Auffälligkeiten des Zytoskeletts. Verbindung zur Basalmembran nehmen die Aktinfilamente über

Cadherine auf, wohingegen die Keratinfilamente sich über Desmosomen verankern (1). Diese Zellschicht ist somit die Ausgangsschicht weiterer Zelldifferenzierungen.

Über dem Stratum basale befindet sich das **Stratum spinosum**. Hierbei handelt es sich um ein vielschichtiges Epithel, in welchem die Keratinozyten beginnen ihre Formveränderung zu durchlaufen. Die Zellen werden etwas größer und flachen ab. Eine interzelluläre Verbindung besteht aus Desmosomen, in die sich Keratinfilamente verankern. Daraus ergibt sich eine hohe mechanische Festigkeit. In der Regel ist diese Schicht aus 2-5 Zellschichten aufgebaut (4).

Da auch im Stratum spinosum Zellteilungen vorkommen, werden das Stratum basale und Stratum spinosum auch unter dem Begriff Stratum germinativum zusammengefasst (13). Mit weiterer Abflachung der Keratinozyten und Ansammlung von basophilen Keratohyalin granula in ihrem Inneren treten die Zellen in das **Stratum granulosum** über. In dieser Schicht kommt es zur Apoptose, es verlieren sich die Zellkerne und Zellorganellen. Zusätzlich zeigen die Zellen typische Lamellenkörperchen, in denen Proteine und Lipide enthalten sind. Ihr Inhalt wird an den Interzellularraum abgegeben und bildet so eine wasserabweisende Barriere (13, 16).

Im Bereich der Leistenhaut von Hohlhand und Fußsohle lagert sich zwischen das Stratum granulosum und Stratum corneum noch das **Stratum lucidum**. Diese Schicht ist dünn, doppelbrechend und enthält vorwiegend das Material der Keratohyalinkörperchen.

Mit Übergang der Keratinozyten in das **Stratum corneum** haben die Zellen ihre geringste Stärke erreicht und sind zunehmend fest in ihren Zellverband gepackt. In dieser Schicht sind die Keratinozyten zu kernlosen Hornzellen enddifferenziert.

Abbildung 2 stellt den histologischen Aufbau der Epidermis dar.

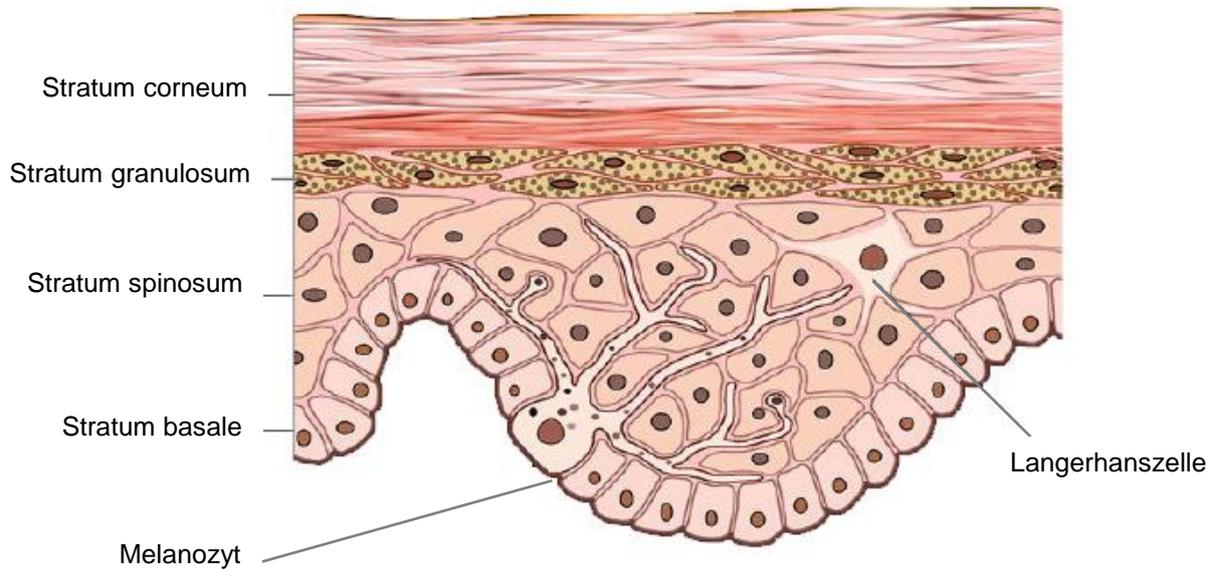


Abb. 2 Schematisch mikroskopische Darstellung der Epidermis (17)

Neben den Keratinozyten, die etwa 90 % der Zellen der Epidermis ausmachen existieren zusätzliche Zelltypen mit unterschiedlichsten Aufgaben (4).

So handelt es sich bei Melanozyten um Zellen, die ursprünglich der Neuralleiste zuzuordnen sind. Sie wandern mit etwa der 12. Entwicklungswoche in die Epidermis ein (1,16). Die Melanozyten befinden sich im Stratum basale und verfügen über Zellfortsätze, mit welchen sie zu ca. 30 Keratinozyten gleichzeitig Kontakt aufnehmen können (16). Diese Verbindungskomplexe werden als epidermale Melanineinheit zusammengefasst. Das Syntheseprodukt Melanin wird in den Melanosomen gespeichert und mittels der Zellfortsätze an die Keratinozyten über Endozytose abgegeben (16).

Melanin ist ein dunkelbraun bis schwarzes Pigment. Das von den Epithelzellen gespeicherte Melanin bestimmt die Hautfarbe. Personen mit dunkler Hautfarbe besitzen jedoch nicht mehr Melanozyten, sondern eine gesteigerte Syntheseaktivität für die Pigmentbildung (1).

Melanin dient dem Zellschutz, indem es sich in Form von Granula über dem Zellkern anordnet und schädliche UV-Strahlen absorbiert und streut (4).

Bei einem weiteren wichtigen Zelltyp, den Langerhans-Zellen, handelt es sich um antigenpräsentierende Zellen, welche mit langen Fortsätzen zwischen den Keratinozyten hervorstechen. Sie sind in der Lage ein Antigen, welches sie über die Haut aufgenommen haben, zu prozessieren und anschließend nach Auswanderung aus der Haut in einem Lymphknoten den nativen T-Zellen zu präsentieren. Damit wird eine spezifische Immunantwort in Gang gesetzt (1, 13, 16).

Vorwiegend sind diese dendritischen Zellen im Stratum spinosum anzutreffen.

Die Merkel-Zellen befinden sich im Stratum basale. Dort dienen sie als Mechanorezeptoren. An ihren Oberflächen liegen sensible Nervenendigungen, die Druckänderungen als Indikator für Tastempfindungen registrieren (16).

1.1.2. Dermis

Bei der Dermis handelt es sich um eine Hautschicht, die vor allem aus Bindegewebe besteht. Sie ist gegliedert in ein Stratum papillare und ein Stratum reticulare.

Synonym verwendete Bezeichnungen für die Dermis sind das „Corium“ oder die „Lederhaut“.

Der bestimmende Zelltyp der Dermis sind die Fibroblasten, die an der Kollagensynthese beteiligt sind (1).

Das **Stratum papillare** schließt sich direkt an die Basalmembran an. Es liegt somit unterhalb der Epidermis. Mit seinen Papillen ragt es senkrecht in Form von Bindegewebszapfen in die Vertiefungen der Epidermis hinein. (1, 13) Dies dient zur Oberflächenvergrößerung und der Ernährung der Epidermis. Das papilläre Corium besteht aus lockerem Bindegewebe, in dem sich dünne Kollagenfasern, elastische Fasern und viele Abwehrzellen (Mastzellen, Makrophagen) befinden (13, 16).

Die Kollagenfasern der Dermis bestehen vornehmlich aus Kollagen Typ I. Diese Fasern verlaufen nicht vollkommen regellos, sondern in unterschiedlicher Ausrichtung (1). Nach Dehnung der Haut bringen die elastischen Fasern die Kollagenflechte wieder zurück in ihre Ausgangsposition. Die Elastizität lässt mit zunehmendem Alter nach (1).

Unterhalb des Stratum papillare schließt sich das Stratum reticulare an.

Dieses ist eine dickere und tiefere Bindegewebsschicht. Sie ist zellärmer als das Stratum papillare, die Kollagenfasern sind jedoch stärker (1). Dadurch erlangt diese Schicht eine hohe Zerreißfestigkeit. Zusätzlich findet man weitere Mechanorezeptoren wie Vater-Paccini-Körperchen und Ruffini-Körperchen (16).

1.1.3. Subcutis

Diese auch als Tela subcutanea bezeichnete Schicht aus lockerem Bindegewebe, schließt sich an die Dermis an. Sie ist das Verbindungsglied zwischen Haut und den unter ihr liegenden Strukturen wie Muskeln und Sehnen. (16)

Zusätzlich dient sie als Verschiebeschicht bei mechanischer Belastung, als Wärmeisolator durch ihren großen Anteil an weißem Fettgewebe und als Fettdepot. (1) Die Fettverteilung ist je nach Lokalisation und Geschlecht sehr variabel.

1.2. Hautalterung und antioxidatives Potential

Bedingt durch interne und externe Einflüsse wie das Alter, die Gesundheit, die Intensität und Dauer der Sonnenexposition ist die Hautalterung ein multimodal beeinflusster Vorgang (18). Mit der Sauerstoffatmung zur Energiegewinnung in den menschlichen Zellen ist die Erzeugung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), auch freie Radikale genannt, unabdingbar. Diesen freien Radikalen schreibt man lebenswichtige Funktionen, zum Beispiel die Signalleitung von Zelle zu Zelle, zu. Im gesamten Organismus hat sich ein Gleichgewicht zwischen der Erzeugung und dem Verbrauch freier Radikale gebildet. Im Rahmen von Stoffwechselfvorgängen, Entzündungssituationen oder beispielsweise durch Lichteinwirkung werden im Organismus jedoch freie Radikale im Überschuss gebildet.

Diese überschüssigen freien Radikale führen zu unerwünschten chemischen Reaktionen mit Molekülen in den Zellen bis zur Zerstörung von Geweben und der Auslösung von Krebs (19, 20).

Zur Aufrechterhaltung der unschädlichen freien Radikalkonzentration hat der menschliche Körper ein vielstufiges Schutzsystem entwickelt (19).

Wenn jedoch der Überschuss an freien Radikalen, erzeugt zum Beispiel durch ultraviolette Strahlung, zu groß wird, erschöpfen sich diese Kompensationsmechanismen und es kommt zu einer komplexen Schadenskaskade. Die vermehrt gebildeten ROS führen im Endeffekt zu einem zusätzlichen Anstieg der Matrix-Metalloproteinase. Diese führt in komplizierten Reaktionen mit anderen Mediatoren und Enzymketten zu strukturellen Veränderungen an den beiden hauptsächlichen Kollagenen I und III der Haut. Am Ende dieses sehr komplexen Vorgangs steht der Verlust der Elastizität der Haut und führt zur Bildung von Falten und Furchen (12, 20, 21).

Typische Zeichen der Hautalterung sind Atrophisierung der Dermis, das Abflachen der papillären Verzahnung der Reteleisten, geringere Schichtung der Epidermislagen und reduzierter Feuchtigkeitsgehalt (22).

Die angesprochenen Kompensationsmechanismen sind auf allen Ebenen der Schadenskaskade aktiv. Zur Neutralisierung der primären Schritte (die Bildung freier Radikale, ROS) nutzen sie Antioxidantien wie Vitamine und Carotinoide. Ein erhöhter Anfall von ROS ist daher immer mit einem deutlichen Anstieg des Verbrauchs von Antioxidantien verbunden.

Antioxidantien bilden Schutzketten in der menschlichen Haut. Damit schützen sie sich gegenseitig vor der zerstörerischen Wirkung der freien Radikale. Kürzlich konnte gezeigt werden, dass die beiden Carotinoide β -Carotin und Lycopin Markersubstanzen für das antioxidative Potential der Haut sind. Sie machen mit etwa 70% den größten Anteil der in der Haut vorkommenden Carotinoide aus (20, 23, 25). Früher konnten Carotinoide nur mit invasiven Analyseverfahren wie der Hochflüssigkeitschromatographie (HPLC) oder Massenspektroskopie nachgewiesen werden, welche eine Entnahme von Gewebeproben erfordern. Darvin et al. zeigte 2009, dass mittels Raman-Spektroskopie die Konzentration von β -Carotin und Lycopin in der Haut bestimmt werden kann. Abbildung 3 zeigt das Absinken der Konzentration beider Carotinoide vor und nach ultravioletter Strahleneinwirkung (20). Die Messungen wurden an den Armen von 12 Probanden durchgeführt.

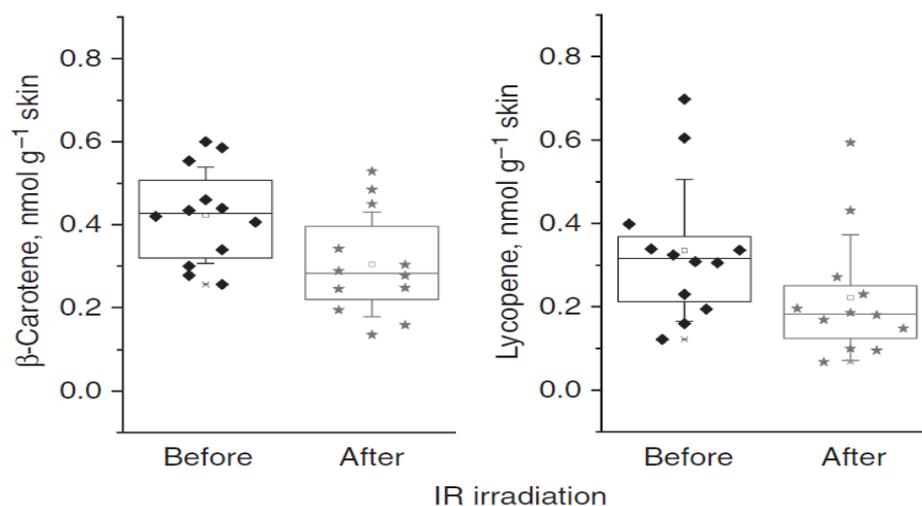


Abb. 3 Hautkonzentration von Lycopin und β -Carotin vor und nach dem Einwirken von Infrarotstrahlung (20)

Bereits 2008 zeigten Darvin et al. anhand von Messungen an 15 Personen über einen Zeitraum von 12 Monaten, dass es eine individuelle Carotinoidkonzentration für jeden Probanden in der Haut gibt (24). Die Messungen wurden mittels der Raman-Spektroskopie vorgenommen. Parallel zu den Experimenten wurden Ess- und Lebensgewohnheiten der Probanden in dem jeweiligen Zeitraum über statistisch auswertbare Fragebögen dokumentiert.

Aus diesen Untersuchungen ergab sich ein Zusammenhang zwischen dem Antioxidantiengehalt der Haut und speziellen Stressfaktoren wie Krankheit oder Rauchen, die einen Abfall des Antioxidantienpotentials bewirken. Vermehrter Obstgenuss war dagegen mit einem Anstieg des Carotinoidgehalts verbunden.

Signifikant und erstmals beschrieben wurde über den Studienzeitraum eine jahreszeitliche Schwankung. Anhand der Fragebögen zeigte sich eine Erhöhung des Antioxidantienspiegels mit stärkerer obst- und gemüsereicher Nahrungsaufnahme in den Sommer- und Herbstmonaten.

Bei geringerem Verzehr an carotinoidhaltiger Kost während der Winter- und Frühjahrsperiode ließ sich hingegen die Verringerung des Haut-Antioxidantienspiegels dokumentieren (24).

Meinke et al. konnten 2010 unter Nutzung dieses Wissens aufzeigen, dass β -Carotin und Lycopin als Leitsubstanzen mit der Gesamtheit der vorhandenen Antioxidantien Schutzketten bilden, die selbst höherem antioxidativem Stress widerstehen (58).

1.3. Carotinoide

Der Begriff der Carotinoide wurde 1831 von Heinrich Wackenroder geprägt, der sie erstmals aus Karotten isolierte (25, 26).

Unter dem Begriff Carotinoid verstehen wir heute eine Vielzahl von natürlichen farbigen Pigmenten, die in der Tier- und Pflanzenwelt weit verbreitet vorkommen (25-29).

Wir unterscheiden ca. 650 verschiedene Carotinoide, von denen jedoch nur etwa 24 in unserer täglichen Nahrung vorkommen (26, 27). Der Nachweis aus dem Blut gelingt derzeit bei etwa 15- 20 Carotinoiden (25).

Chemisch gesehen zählen die Carotinoide zu den polymeren Isoprenederivaten. Als Grundgerüst dienen C_{40} -Einheiten, welche aus 8 Isoprenoideinheiten zusammengesetzt sind. Als allgemeine Strukturformel werden Carotinoide

dargestellt als $C_{40} H_{55} O_n$, wobei n 1-6 Sauerstoffmoleküle sind. Strukturell unterscheidet man zwischen sauerstofffreien Carotinoiden und sauerstoffhaltigen Xanthophyllen (25, 29). Carotinoide besitzen etwa 9 bis 13 Doppelbindungen, woraus sich eine große Isomerenvarianz ergibt.

Abbildung 4. veranschaulicht den strukturellen Aufbau verschiedener Carotinoide.

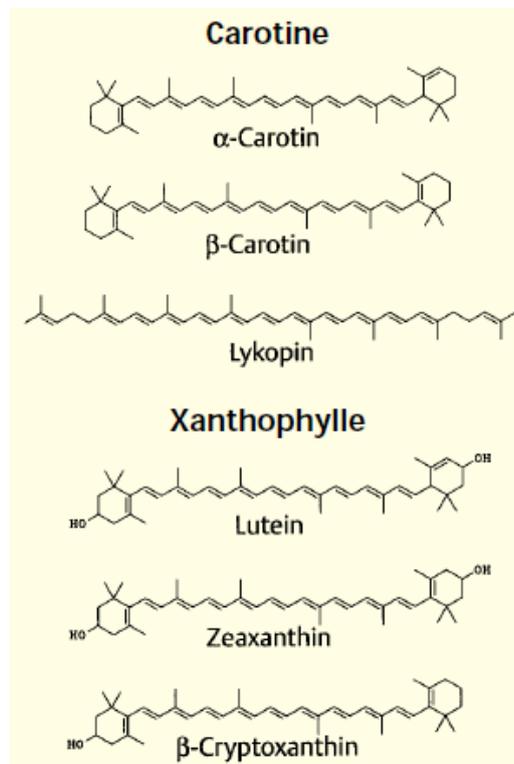


Abb. 4 Strukturelle Darstellung ausgewählter Carotinoide (25)

Die konjugierten Doppelbindungen, die in den Molekülen vorliegen, ermöglichen die Absorption bestimmter Anteile des sichtbaren Lichts, wodurch die Carotinoide in verschiedenen Farben von Rot über Orange bis Gelb und Grün in der Natur in Erscheinung treten (10). Als grobe Orientierung gilt: gelbe Obst- und Gemüsesorten enthalten vermehrt Carotene, Xanthophylle kommen in den grünen Blättern von Pflanzen vor (25).

Die de-novo-Synthese von Carotinoiden ist nur in Pflanzen, Algen, Pilzen und Bakterien möglich (28, 30). Der Mensch kann sie ausschließlich über die Nahrung zuführen. Nahrungsmittel mit einem hohen Gehalt und einer guten Bioverfügbarkeit an Carotinoiden sind Karotten, Tomaten, Paprika und grüner Tee (10, 31).

In Pflanzen wirken die Carotinoide in dualer Weise bei der Photosynthese. Hier sind sie als proteingebundene Pigmente an der Lichtabsorption beteiligt und schützen das Chlorophyll vor dem oxidativen Abbau durch freie Sauerstoffradikale (ROS) (25, 32).

Die Fähigkeit freie Radikale abzufangen, ergibt sich aus dem strukturellen Aufbau der Moleküle über ihre konjugierten Doppelbindungen (11, 32).

Xanthophylle und Carotinoide besitzen eine unterschiedliche Wärmestabilität. Die Carotinoide zeigen hierbei eine deutliche höhere Stabilität, als die Xanthophylle in Abhängigkeit zur Erhitzungsdauer.

Hwang et al. (33) konnten 2012 zeigen, dass Lycopin und β -Carotin einen Anstieg ihrer antioxidativen Aktivität unter Erwärmung bei unterschiedlicher Behandlung von Tomaten während der Zubereitung von Säften, Saucen oder Pasten aufweisen.

Generell steigt bei der thermischen Verarbeitung von carotinoidhaltigen Lebensmitteln die Bioverfügbarkeit von Lycopin an (34). Dies ist begründet in dem leichteren Herauslösen des Lycopins aus dem Zellverband, da durch die thermische Einwirkung Zellwände zerstört und damit die Carotinoide verfügbarer werden. Zusatz von öligen Phasen wie Pflanzenöl führt zu einem weiteren Anstieg der Bioverfügbarkeit. Die fettlöslichen Carotinoide werden dabei in Mizellen aufgenommen und transportiert (35). Erhitzen führt in einigen Fällen auch zu Isomerisierung. Beim Lycopin erfolgt zum Beispiel die Wandlung der vorherrschenden all-trans-Konfiguration durch Wärme zum cis-Isomer.

Eine der wichtigsten Eigenschaften von Carotinoiden ist ihre Aktivität als pro-Vitamin A (35). Pro-Vitamin A bedeutet, dass die jeweiligen Carotinoide in Vitamin A (Retinol) umwandelbar sind (36). Diese Eigenschaft haben etwa 50 der bekannten Carotinoide, nur drei davon werden jedoch über die Nahrung aufgenommen.

Im menschlichen Organismus schützen die Carotinoide vor dem Überschuss an freien Radikalen, die bei oxidativem Stress gebildet werden (21). Freie Radikale entstehen bei vielen metabolischen Prozessen, wie dem Abbau von eingedrungenen Mikroorganismen (37), Einwirken von UV-Strahlung auf den Mechanismus und beim Rauchen (32). Freie Radikale schädigen die DNA und zerstören Proteine und Zellmembranen (27,32). Carotinoide wirken durch die Neutralisierung dieser freien Radikale antikanzerogen (38, 39), haben positiven Einfluss auf das Immunsystem (25, 27), stärken die Gefäßwände (40) und verhindern damit im entscheidenden Maße das vorzeitige Altern der Haut.

1.3.1. β -Carotin

β -Carotin ist ein fettlöslicher Polyenfarbstoff pflanzlicher Herkunft.

Mit der Summenformel $C_{40}H_{56}$ zeichnet es sich strukturell durch ein zentrales System von 11 konjugierten Doppelbindungen mit zwei endständigen β -Ionenringen aus. Diese β -Ionenringe stehen über eine Isoprenoidkette in Verbindung. Aufgrund der großen Anzahl von Doppelbindungen können sehr viele Isomere der Moleküle entstehen. Von β -Carotin gibt es theoretisch 272-Isomervarianten (26). β -Carotin, bezogen auf die Konzentration im menschlichen Blutplasma, stellt die Pro-Vitamin A-Quelle dar.

Mittels Spaltung im Bereich der zentralen Doppelbindung und Anlagerung von Wasser entsteht aus β -Carotin Vitamin A. Daher rührt auch die Bezeichnung „Pro-Vitamin A“ für β -Carotin (28). Hauptreaktionsort für die Umwandlung ist die Darmschleimhaut mit den Enzymen der β -Carotin-15, 15'-Oxygenase und Retinal-Reduktase (28).

1.3.2. Lycopin

Wie β -Carotin gehört auch Lycopin zu den Carotinoiden. Hauptsächlich kommt es in reifem Gemüse, wie in Tomaten sowie in Obst, zum Beispiel in Grapefruits vor. In Körpergeweben kann es vermehrt in den Nebennieren, in der Leber, im Hoden und in der Haut nachgewiesen werden (41).

Aufgrund seiner ausgeprägten Lipophilie kann Lycopin nicht in Wasser gelöst werden. Unter wässrigen Bedingungen kristallisiert es aus. Daher liegt es auch in Tomaten in kristalliner Form vor.

Etwa 85 Prozent der mit der Nahrung aufgenommenen Lycopinmenge gehen auf den Verzehr von Tomaten und darauf beruhender Zubereitungen zurück (30).

In Pflanzen liegt Lycopin bevorzugt (79-91 Prozent) als all-trans-Isomer vor. Im menschlichen Organismus werden bis zu 50 Prozent in seiner cis-Form nachgewiesen (41). Diese Verschiebung lässt sich mittels Isomerisierung über den sauren pH-Wert der Magensäure erklären. In der cis-Isomeren-Form zeigt Lycopin eine bessere Löslichkeit und Transportfähigkeit im Organismus.

Im Gegensatz zu β -Carotin hat Lycopin keine Bedeutung bei der Photosynthese. Es hat jedoch exzellente radikalfangende Eigenschaften (42).

1.3.3. Enterale Aufnahme der Carotinoide

Die Aufnahme von Carotinoiden erfolgt ausschließlich über die Nahrung in Form von Gemüse, Obst und tierischen Produkten (43). Der allgemeine Resorptionsweg der Carotinoide entspricht dem der Nahrungsfette, was eine Abhängigkeit von Fetten und Gallensäuren bedingt (44, 45). Die Bioverfügbarkeit ist stark abhängig von der Art der Nahrungszubereitung. Die Form der mechanischen Zerkleinerung, der Magen-pH-Wert und auch die Zubereitungsform (gekocht oder Rohkost) können eine deutliche höhere bzw. niedrigere intestinale Aufnahme bedingen. Um die Membran der Dünndarmzelle zu überwinden, benötigen die Carotinoide Gallensäuremizellen als Transportmedium, um in das Blutplasma diffundieren zu können. Somit können sich Mangelzustände an Carotinoiden beim Vorliegen von Fettabsorptionsstörungen des Verdauungstraktes ergeben.

Untersuchungen zeigten, dass das all-trans-Isomer des β -Carotins vermehrt in die Lymphe abgegeben wird. In den Dünndarmzellen erfolgt eine Verschiebung der Carotinoide in Chylomikronen, in dieser Form gelangen sie dann endgültig ins Blut und werden mit dem Blutstrom in die Leber transportiert (45, 46). Der Transport von Carotinoiden erfolgt ausschließlich in Lipoproteinen. In den VLDL (Very low density lipoprotein) und LDL (Low density lipoprotein) sind die Carotinoide die vorherrschenden Bestandteile (43). In HDL (High density lipoprotein) liegen die Xanthophylle und Carotinoide im gleichen Verhältnis vor (25).

1.4. Methode zur qualitativen und quantitativen Carotinoidmessung

- Raman-Resonanzspektroskopie

Die Raman-Resonanzspektroskopie, kurz Ramanspektroskopie, hat gegenüber der heute noch häufig genutzten High pressure liquid chromatography (HPLC) zur Carotinoidbestimmung die entscheidenden Vorteile, nicht invasiv zu arbeiten und in vivo Messungen zu erlauben (49).

Grundprinzip ist, dass ein monochromatisch bestrahltes Molekül das einstrahlende Licht streut. Nach Aufspaltung des Streulichts ergeben sich neben der intensiven Spektrallinie der Lichtquelle zusätzliche Spektrallinien, welche gegenüber der Frequenz der Lichtquelle verschoben sind. Diese Linien bezeichnet man als Raman-Linien (50).

Benannt wurde dieses physikalische Phänomen nach dem indischen Physiker Chandrasekhara Venkata Raman, der 1928 der Erstbeschreiber war (50).

Moleküle und Molekülgitter befinden sich stets in Schwingung. Die Wechselwirkung von Licht mit Molekülen oder Molekülgittern kann als Stoßvorgang bezeichnet werden. Aus diesen „Zusammenstößen“ können sich drei Resultate ergeben.

Bei elastischen Anstößen von Photonen bestimmter Energie mit einem Molekül kommt es nicht zu einer Veränderung des Energiezustandes des Moleküls. Auch verändert sich die Frequenz der Streustrahlung bezogen auf die Frequenz der Lichtquelle nicht. Das bezeichnet man als Rayleigh- Streuung.

Der Raman-Effekt ist durch zwei Varianten möglich. Das Molekül besitzt nach dem Anstoß eine höhere Schwingungsenergie. Dabei wird das Streulicht energieärmer und es resultiert daraus eine geringere Frequenz. Die entstehenden Spektrallinien werden Stokes-Linien genannt.

Bei der zweiten Variante weist das Molekül nach dem Stoß eine niedrigere Schwingungsenergie auf. Die Energie dieses Streulichts ist demzufolge größer, mit einer höheren Frequenz. Diese Spektrallinien nennt man Anti-Stokes-Linien. Zu diesem Phänomen kommt es, wenn das Molekül schon vor dem Stoß in einem höheren Energiezustand ist (50).

Die drei Möglichkeiten der Stoßwirkung illustriert die Abbildung 6.

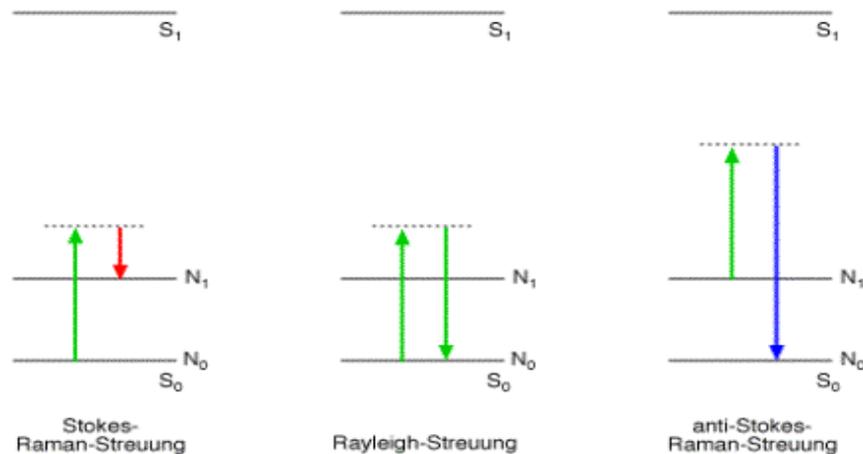


Abb. 6 Schematische Darstellung der Energiezustände bei der Rayleigh- und Raman-Streuung. Bei der Raman-Streuung kann die Wellenlänge des eingestrahlten Lichts (grüner Pfeil) entweder zum langwelligen Spektralbereich (Stokes-Raman-Streuung: roter Pfeil) bzw. zum kurzwelligen Spektralbereich (anti-Stokes-Raman-Streuung: blauer Pfeil) verschoben sein. S_0 , N_0 : elektronischer bzw. Schwingungsgrundzustand; S_1 , N_1 : 1. elektronischer- bzw. schwingungsangeregter Zustand (50).

Diese Effekte erlauben die Nutzung der Ramanstreuung zur Identifizierung und Quantifizierung von Molekülen.

Lichtquanten der monochromatischen Anregungsstrahlung geben einen definierten Teil ihrer Energie an Moleküle der Probe ab und führen zur Anregung von Molekülschwingungen. Die dadurch energieärmeren Lichtquanten werden als Raman-Streustrahlung emittiert und ihre Wellenzahl wird gemessen. Die aus den emittierten Raman-Linien und der einstrahlenden Anregungsstrahlung sich ergebende Wellenzahldifferenz entspricht dann der zur Schwingungsanregung notwendigen Energie. Die Intensität dieser Streustrahlung ist nur gering und entspricht etwa 1 Prozent der Anregungsstrahlung. Im Raman-Spektrum wird diese Wellenzahldifferenz registriert und den angeregten Molekülschwingungen zugeordnet. Die Ramanstrahlung eines jeden Moleküls kann als Art Fingerabdruck gesehen werden, wobei die Intensität des Signals direkt proportional zur Konzentration des Moleküls ist (51).

Im Raman-Spektrometer wird auf Grund der geringen Intensität der Streustrahlung eine starke Lichtquelle benötigt. Die Verfügbarkeit von Lasern als monochromatische

Lichtquelle hat daher der Entwicklung der Ramanspektroskopie entscheidende Impulse gegeben.

Diese Arbeit konnte nur deshalb durchgeführt werden, weil β -Carotin und Lycopin simultan nichtinvasiv und in vivo sowohl an menschlicher Haut als auch an Obst und Gemüse quantitativ bestimmbar waren (52).

1.5. Freie Radikale

Bei freien Radikalen handelt es sich um Moleküle oder Atome, die sich durch ein oder mehrere ungepaarte Elektronen auszeichnen (47).

Aufgrund dieser „fehlenden“ Elektronen haben die Moleküle eine hohe Affinität, um durch die Aufnahme von Elektronen stabile Elektronenpaare zu bilden. Freie Radikale sind somit generell sehr reaktionsfreudig. Ihre Reaktionen sind häufig irreversibel.

Eine „Paarung“ der freien Elektronen zweier Radikale kann über die Bildung einer kovalenten Bindung zwischen den beiden erfolgen (44, 48).

Freie Radikale, die vom molekularen Sauerstoff abgeleitet werden können, haben einen besonderen Stellenwert (12). Jedoch werden häufig auch Verbindungen als Sauerstoffradikale bezeichnet, welche im strengen Sinn keine freien Radikale sind.

Die Bezeichnung reaktive Sauerstoffspezies (ROS) umfasst daher sowohl „freie Radikale“ im Sinne der Definition als auch weitere hochreaktive Spezies wie Singulett-Sauerstoff ($^1\text{O}_2$) oder Wasserstoffperoxid (H_2O_2).

Zu den ROS zählen; das Hydroxylradikal, Superoxidanion, Hydroperoxyldradikal, Singulett-Sauerstoff, und Ozon. Eine Übersicht hierzu stellt Tabelle 1. dar.

Hydroxylradikal	$\text{HO}\cdot$
Singulett-Sauerstoff	$^1\text{O}_2$
Hydroperoxyldradikal	$\text{HO}_2\cdot$
Superoxidanionradikal	$\text{O}_2^{\cdot-}$
Wasserstoffperoxid	H_2O_2

Tab. 1 Darstellung verschiedener freie Radikale (ROS), geordnet nach abnehmender Reaktivität

Je aktiver ein ROS, desto kürzer ist seine Halbwertszeit. Beispielhaft zeigt die Tabelle 2 einige ROS mit entsprechenden Halbwertszeiten (47).

Hydroxylradikal	10^{-9} s
Alkoxyradikal	10^{-6} s
Peroxyradikal	7 s

Tab. 2 Halbwertszeiten ausgewählter freier Radikale (ROS)

Carotinoide sind sehr effektive Fänger des Peroxyradikals, das trotz seiner hohen Stabilität (Halbwertszeit 7 s) eine große Reaktivität aufweist. Es entsteht bei toxischen Reaktionen mit chemischen Giften und Umweltgiften und ist an der Entstehung von Herzerkrankungen, Krebs und dem Alterungsprozess beteiligt (12).

Endogene ROS Quellen sind die mitochondriale Atmungskette, mit den Energiegewinnungsprozessen aus Sauerstoff, der Purinabbau, der Harnsäurezyklus und die Arbeit neutrophiler Granulozyten im Rahmen entzündlicher Prozesse (12). Exogene physikalische Quellen sind das Sonnenlicht mit der UV-Strahlung, mit dem sichtbaren Licht (VIS) und der IR-Strahlung (Infrarotstrahlung). Unter besonderen Umständen (Fukushima 2012) werden auch durch radioaktive Strahlung erzeugte freie Radikale zum Ausgangspunkt von Reaktionen (48). Als chemische Initiatoren für die Erzeugung freier Radikale im Organismus sind Tabakrauch, Alkohol, Pestizide, Industrie- und Verkehrsabgase identifiziert worden (48).

Einigen ROS wie dem Superoxidanion ist es möglich, Zellmembranen zu durchdringen und somit auch an anderen Orten zu reagieren als an ihrem eigentlichen Entstehungsort (48).

Im menschlichen Organismus werden in 7 l Blut bis zu 2×10^{21} ROS pro Minute entgiftet. Jeder der etwa 10^{14} Zellen des durchschnittlichen Menschen erleidet pro Zelle 10^4 oxidative DNA-Schäden pro Tag, die durch das Reparatursystem der Zelle behoben werden müssen (47).

Bei Überwindung des körpereigenen Multilevelschutzsystems gegen einen Überschuss an freien Radikalen läuft eine Kettenreaktion über Oxidation, Kettenverkürzung bis hin zur Kohlenstoffkettenspaltung ab. Durch die Oxidation mehrfach ungesättigter Fettsäuren von Membranen kommt es zu Veränderungen der physiologischen Membranfunktion bis zum vollständigen Funktionsverlust (47).

Während im Rahmen dieser Arbeit vorrangig der durch den „Überschuss“ an freien Radikalen hervorgerufene schädliche Aspekt diskutiert wird, ist aber auch explizit auf den essentiellen Charakter dieser Spezies hinzuweisen. Im Gleichgewicht ist eine bestimmte Anzahl freier Radikale notwendig, um vitale Prozesse in unserem Organismus, wie Zellteilung, Apoptose, Phagozytose und wichtige vasculäre und neuronale Funktionen zu steuern und regulieren (48).

1.6. Ultraviolettstrahlung

UV-Strahlung (Ultraviolettstrahlung) ist das häufigste diskutierte und verbreitetste Kanzerogen in unserer Umwelt (9).

Man unterteilt sie relativ willkürlich in drei verschiedene Bereiche nach ihren Wellenlängen.

UVC-Strahlung wird im Bereich 200-280 nm emittiert, daran schließt sich die UVB-Strahlung mit 280-320 nm an. Der Bereich von 320-400 nm wird als UVA-Strahlung definiert (53). Die UVC-Strahlung erreicht die Erdoberfläche nicht. Sie wird durch die Ozonschicht als natürlicher Filter abgeblockt.

Dagegen führten die UVB- und UVA-Strahlung zu messbaren physiologischen Effekten positiver (Vitamin-D Bildung) wie negativer Art. So kann sie Sonnenbrand hervorrufen, zur Hautkrebsentstehung beitragen als auch die Hautalterung (Photoaging) beschleunigen (9, 12).

UV-Licht im Bereich 280-320 nm führt durch direkte Wechselwirkungen mit der DNA der Zelle zu Zellschäden und produziert als UVB/ UVA-Bereich (280-400nm) etwa 50 Prozent aller ROS (54). Die Bildung freier Radikale in der Haut durch UV-Strahlung gilt als gesichert und ist wegen ihrer Wirkungen gegenwärtig ein sehr schnell wachsendes Feld (3, 5, 9).

Im Bereich des UV-Lichtes trägt die UVB-Strahlung den größten Anteil zum hautirritativen und –zerstörenden Teil bei (9, 12).

1.7. Ziel der Arbeit

Die natürliche Hautalterung führt zu visuell beobachtbaren und messtechnisch quantifizierbaren Veränderungen der Hautoberflächenstruktur, charakterisiert durch Furchen und Falten. Endogene Einflüsse wie die sauerstoffgebundene Energiegewinnung oder inflammatorische Prozesse und exogener Stress, wie intensive Lichtstrahlung (UV, IR), Umweltgifte, Ozon oder Tabakrauch beschleunigen die Alterung merklich, wenn die metabolischen Prozesse in der Haut ins Ungleichgewicht geraten.

Eine primäre Rolle spielen dabei freie Radikale (insbesondere ROS), die, obwohl notwendig für die Steuerung und Regulierung des Metabolismus, im Überschuss erzeugt, eine biomolekulare Schadenskaskade auslösen, an deren Ende zu Beispiel lichtbedingte vorzeitige Hautalterung (Photoaging) oder im schlimmsten Fall Hautkrebs steht.

Zur Verhinderung eines freien Radikalüberschusses besitzt die Haut ein vielseitiges Schutz- und Kompensationssystem, deren Kernkomponenten antioxidative Substanzen sind, die freie Radikale neutralisieren. Carotinoide haben dabei eine Schlüsselfunktion für die Größe des antioxidativen Potentials. Sie dienen als Leitsubstanzen und sind leicht durch ein spezielles Ramanspektroskopieverfahren in vivo bestimmbar.

Ein Ziel dieser Arbeit war es daher zu untersuchen, ob ein und welcher Zusammenhang zwischen der Größe des antioxidativen Potentials der Haut und der Hautrauigkeit als makroskopischer Messgröße für die Hautalterung besteht.

Ein weiteres Ziel bestand darin, die Bioverfügbarkeit der Leitsubstanz β -Carotin und Lycopin bei Variation der Garbedingungen bei Karotten, Paprika, Broccoli und Kartoffeln und bei unterschiedlichen Lagerungsbedingungen (Bauernpflaumen) zu bestimmen und Anwendungsempfehlungen aufzuzeigen.

2. Material und Methoden

2.1. Probandenkollektiv

Die Untersuchungen erfolgten an 20 gesunden Probanden zwischen dem 40 und 50 Lebensjahr. Teilnahmevoraussetzung war, dass sich ihre Lebensgewohnheiten in den vergangenen Jahren nicht stark geändert haben. So führte beispielsweise ein früherer Nikotinkonsum zum Ausschluss. Andere Ausschlusskriterien waren der Konsum von Nahrungsergänzungsmitteln in Form von Antioxidantien oder eine Ernährungsumstellung.

Die Altersgrenze wurde deshalb so gesetzt, weil in diesem Alter bereits gut sicht- und messbar Falten und Furchen vorhanden sind.

Als Untersuchungsareal diente die Stirn der Probanden, eine sehr lichtexponierte Hautregion.

Als Messgröße für die Hautalterung wurde das Hautoberflächenrelief in Form der Rauigkeit über die Furchendichte und Furchentiefe mit dem PRIMOS-3D-Messsystem bestimmt.

An derselben Messstelle wurde auch die Bestimmung des antioxidativen Potentials in-vivo durch Messen der β -Carotin- und Lycopin-Konzentration mittels der Ramanspektroskopie vorgenommen.

Beide in vivo Messmethoden stellen ein nichtinvasives Verfahren dar.

Die Untersuchungen erfolgten mit Genehmigung der Ethikkommission der Charité.

2.2. Früchte

Für die Untersuchungen an verschiedenen Obst- und Gemüsesorten in unterschiedlichen Garungszuständen und Verarbeitungsformen erfolgte die Probenbeschaffung in handelsüblichen Supermärkten. Als Obstvertreter wurden wegen der verschiedenen alltäglichen Lagerungsvarianten die Hauszwetschge (*Prunus*), auch „Bauernpflaume“ genannt, genutzt. Möhren (*Daucus carota*) und Paprika (*Capsicum*) wurden auf Grund ihres hohen Carotinoidgehalts ausgewählt. Beispielhaft für grünes Gemüse wurde der Broccoli gewählt (*Brassica oleracea* convar. *Botrytis*). Als weiteres Gemüse wurde die Kartoffel (*Solanum tuberosum*) in den Sorten „Arkula“, „Adretta“ und „Rosaria“ verwendet, da diese ein sehr häufig verwendetes Grundnahrungsmittel ist. Bei keinem der Produkte handelte es sich um ein Bio-Produkt.

Die Anzahl der vermessenen Vergleichsstücke, an denen entsprechend das antioxidative Potential ermittelt wurde, variierte von Frucht zu Frucht und auch innerhalb des Messdesigns, bedingt durch die natürlichen Formabweichungen.

2.3. In-vivo Charakterisierung der Hautoberflächenstruktur

2.3.1. Aufbau des PRIMOS-3D Messsystems

Zur Messung des Hautoberflächenreliefs und der daraus berechenbaren Rauigkeit wurde das PRIMOS-3D-Messsystem(GF-Messtechnik, Teltow, Germany) genutzt.

Das System hat zwei Hauptkomponenten, bestehend aus einem frei beweglichen Messkopf und einem Analysecomputer.

Im Messkopf befinden sich ein Mikroprojektionsspiegel, eine Projektionsoptik und eine sehr lichtempfindliche Kamera (CCD-Kamera) (57).

Der Messkopf projiziert ein Gitter auf die Hautoberfläche in Form eines Kreises mit 16/24 Streifen und einem zentralen Punkt. Aus der Ablenkung der einzelnen Gitterstreifen durch die Furchen und Falten der Haut errechnet der Computer mittels einer speziellen Software PRIMOS 4.0 (GF-Messtechnik, Teltow, Germany) eine Oberflächentopographie. Die Rauigkeit ergibt sich aus der Tiefe und Dichte der Falten und Furchen.

Die Größe des Messfeldes beträgt 1,8 cm x 1,3 cm. Die Messungen werden im verdunkelten Raum unternommen, um Tageslicht oder künstliche Lichtquellen als mögliche Störfaktoren auszuschalten.

Die Abbildungen 7a und b zeigen den apparativen Aufbau des Primos 3-D-System.



a



b

Abb. 7 Messaufbau des Primos 3-D-Systems (55, 56)

2.3.2. Vorbereitung für die Messung der Hautoberflächenstruktur

Zur Vorbereitung wurde die Stirn mit einem feuchten Tuch gereinigt und anschließend mit einem trockenen Tuch abgetupft. Das Kinn wird auf eine Kopfstütze aufgesetzt, die den Kopf über einen Stirnbügel so fixiert, dass das Messareal reproduziert werden kann. Der zentrale Messpunkt wird in einer verlängerten senkrechten Linie zum Nasenrücken auf der Stirn fixiert.

2.3.3. Messung der Hautoberflächenstruktur

Im Messareal auf der Stirn wurden bei jedem Probanden jeweils drei aufeinanderfolgende Messungen durchgeführt.

Die folgenden Abbildungen 8 a, b, c zeigen die Hautoberflächenstrukturen unterschiedlicher Personen (57) im Bereich der Stirn (a, b, c).

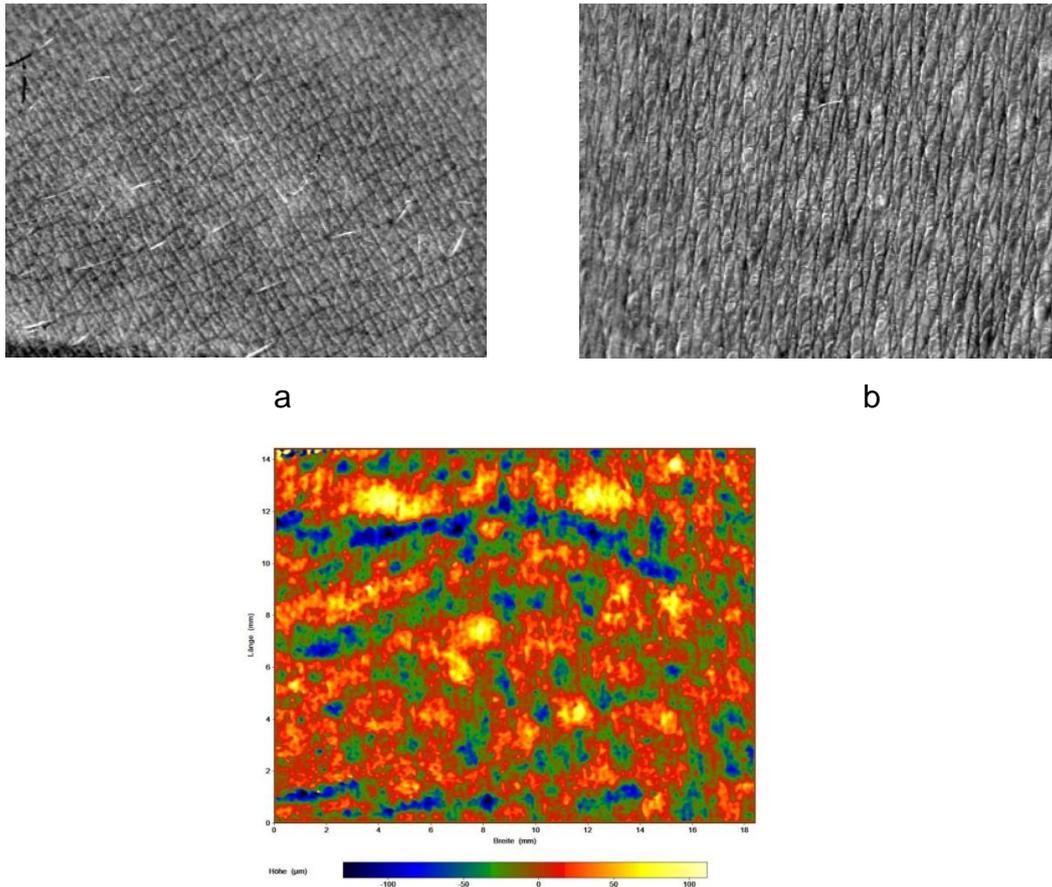


Abb. 8 CCD-Aufnahmen der Hautoberflächenstruktur von drei Personen (57)

Die Ergebnisdarstellung erfolgte mittels der Computerprogramme Primos 4.0, Microsoft Excel® 1997 und SPSS12.0 für Windows.

2.4. in-vivo Bestimmung der Carotinoide in der Haut

2.4.1. Aufbau des verwendeten Raman-Resonanz-Messsystems

Für die Messungen wurde ein spezielles Raman-Resonanzspektroskop zum nichtinvasiven, selektiven Messen des antioxidativen Potentials der Haut genutzt. Dabei werden als Leitsubstanzen die ramanaktiven Carotinoide mit hoher Empfindlichkeit bestimmt.

Als Anregungsquelle dient ein Argonlaser, der bei zwei Wellenlängen simultan emittiert (488 nm und 514,5 nm). Über eine Lichtleitfaser wird die Strahlung des Lasers gebündelt und dem optischen Handstück zugeführt. Dieses Handstück ist auf jeder beliebigen Hautoberfläche positionierbar. In ihm befindet sich das optische Anregungssystem, das

den Laserstrahl fokussiert. Nach Anregung wird das sich ergebende Ramansignal über das optische Aufnahmesystem Lichtleitfasern zugeführt, die mit dem Spektrometer in Verbindung stehen. Die Spektren werden durch eine CCD-Kamera aufgezeichnet und einem Computer zur weiteren Auswertung zugeführt.

Bei der Raman-Resonanzspektroskopie nutzt man die strukturellen Eigenschaften der Carotinoide, welche aus einem Gerüst mehrfacher Kohlenstoffdoppelbindungen bestehen. Diese Doppelbindungen bedingen bei einer Wellenlänge von 488 nm im blauen Spektrum des sichtbaren Lichts, dass hier die größte Absorption erfolgt. Somit können die am häufigsten in der Haut vorhandenen Carotinoide wie β -Carotin, Lutein und Lycopin in ihrer Konzentration direkt nachgewiesen werden. Der besondere strukturelle Aufbau von Lycopin, welches insgesamt 11 Doppelbindungen im Vergleich zu β -Carotin mit 9 hat, macht es möglich, im grünen Lichtspektrum bei 514 nm Lycopin bei seperatem Absorptionsspektrum nachzuweisen.

Aus weiterführenden Untersuchungen zur Minimierung von Messfehlern, die aus der Inhomogenität der Hautpigmentierung resultieren, ergab sich ein optimaler Durchmesser des applizierten Messflecks von 7 mm.

Die Abbildungen 9 a und b zeigen den prinzipiellen Aufbau des Ramanspektroskops. Der mobile Raman-Resonanzspektroskopie-Messplatz ist in Abbildung 10 zu sehen.

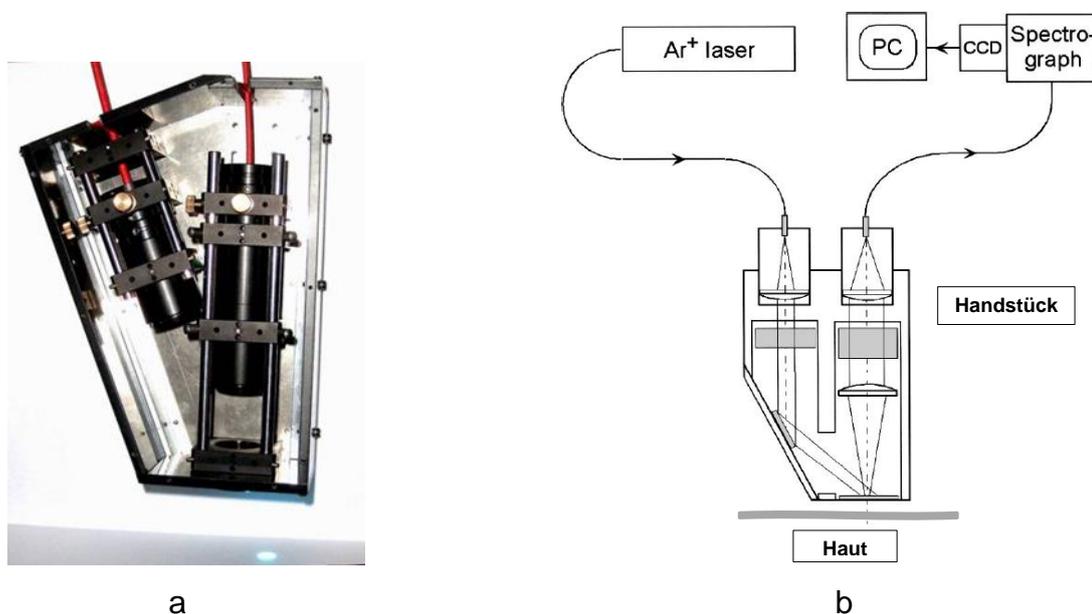


Abb. 9 Aufbau des Raman-Resonanzspektroskops Innenansicht (a) des Handstücks, Schema des Spektroskops (b) (52)



Abb. 10 Raman-Resonanzspektroskop zur nichtinvasiven Bestimmung des β -Carotin- und Lycopingehalts

2.4.2. Durchführung der Messung

Vor dem Aufsetzen des Handstücks wird die Stirn mit einem feuchten Tuch gereinigt und getrocknet.

Das flexible Handstück des Messaufbaus wird auf die Stirnhaut mit leichtem Druck aufgesetzt und der Messvorgang am PC gestartet. Ein Messvorgang benötigt zwischen 10-15 Sekunden. Es werden drei Messungen hintereinander ausgeführt.

Die Ergebnisdarstellung erfolgt mittels der Computerprogramme einer speziell entwickelten Software, Microsoft Excel® 1997 und IBM SPSS 12.0 für Windows.

2.5. Ermittlung des Carotinoidgehalts verschiedener Früchte

2.5.1. Probenvorbereitung

Durch das ramanspektroskopische Verfahren (2.4.1) war insbesondere β -Carotin in den ausgewählten Gemüsesorten und einer Obstsorte selektiv und quantitativ leicht bestimmbar. Daher wurden die Untersuchungen auf β -Carotin konzentriert.

Bei den Gemüsesorten handelt es sich um handelsübliche, in einem Supermarkt erworbene Kartoffeln, Paprika, Karotten und Broccoli, bei denen im Verlauf des Garprozesses in definierten Abständen der Gehalt an Antioxidantien gemessen wurde.

Die Gemüsesorten wurden aus folgenden Gründen für die Experimente genutzt. Die Kartoffel ist ein sehr breit verwendetes Grundnahrungsmittel. Das Interesse ergibt sich aus dem häufigen Verzehr. Bei Paprika und Karotten ist ein hoher Gehalt an Carotinoiden bekannt. Diese nahezu essentiellen Gemüsesorten sind als Vergleichsgruppen gut nutzbar. Als weiteres Gemüse dient Broccoli, da bei grünen Gemüsesorten auf Grund einer anderen Zusammensetzung der Carotinoide auch ein verändertes Verhalten im Garprozess zu erwarten ist.

Als Obstvertreter ausgewählt wurden Pflaumen, die in Alkohol eingelegt oder an der Luft bei 6° C und Raumtemperatur über einen Zeitraum von 96 Stunden gelagert wurden. Anschließend wurde deren Antioxidantiengehalt bestimmt.

Karotten

Nach dem Schälen der Früchte mit dem Sparschäler wurden die Karotten der Länge nach in ca. 2,5 cm lange halbrunde Stifte zerschnitten (insg. 255 g). Hierdurch ist es möglich, die Messungen sowohl an der Außenseite als auch am Innenstrunk vornehmen zu können. Zusätzlich erhielt jedes Stück eine Kerbenmarkierung zur Unterscheidung.

Paprika

Die roten und gelben Paprika wurden primär gesäubert, anschließend geachtelt und an einem Ende mit einer Kerbenmarkierung zur Unterscheidung versehen (je Farbe 250 g).

Broccoli

Der Broccoli wurde nach dem Waschen, vom Hauptstrunk gesehen, in einzelne Rosen zerkleinert und an den Stielen mit Kerbenmarkierungen versehen (300 g).

Kartoffeln

Die Kartoffeln wurden unter fließendem Wasser gewaschen. Davon wurde eine Hälfte der Früchte mit einem Sparschäler von der Schale befreit. Die zweite Hälfte wurde mit Schale belassen und als Ganzes in den Experimenten verwendet. Die insgesamt 475 g Kartoffeln hatten alle einen Durchmesser von ca. 4 cm.

Zur Markierung der einzelnen Stücke wurden die Früchte an einem Ende mit kleinen Kerben in verschiedenen Formen versehen.

Pflaumen

Nach dem Waschen wurden die Pflaumen mit Kerbenmarkierungen verschiedener Formen versehen und eine Hälfte der Früchte in 37,5 %-igen Alkohol eingelegt. Die zweite Hälfte wurde ebenfalls markiert und in Petrischalen gelegt.

Wasser

Für die Versuche, bei denen das Gemüse gekocht wurde, wurden jeweils 1000 ml Leitungswasser abgemessen. Für die Messreihen, die eine Unterscheidung zwischen „mit“ oder „ohne“ Kochsalzzusatz machen, wurden zwei Gefäße gefüllt und in eines der Gefäße 50 g Kochsalz zum Wasser hinzugegeben. Das Wasser wurde über einer Ceran-Kochplatte mit maximaler Heizleistung zum Sieden gebracht. Die durchschnittliche Zeit bis zum Sieden lag bei 7,75 min. Das Gemüse wurde in das frische, kalte Leitungswasser gegeben.

2.5.2. Messverfahren

Zur Ermittlung des Ausgangswerts (Roh) wurde das Handstück auf die rohe Frucht aufgesetzt und danach dreimal aufeinander folgend gemessen. Anschließend wurden die zu garenden Früchte in das kalte Leitungswasser gegeben und mit dem Wasser erwärmt. Es folgten an den Fruchtstücken in definierten Arealen in 5 Minuten Abständen bis zum Erreichen von 20 Minuten erneut jeweils drei unabhängige einzelne Messungen des β -Carotiningehalts. Je nach Frucht wurde die Garzeit gegebenenfalls entsprechend verlängert. Dabei wurde im Durchschnitt nach etwa 7 Minuten die Siedetemperatur erreicht.

Als Kochsalz wurde Bad Reichenhaller MarkenSalz verwendet. Es enthielt keine Beimengungen von Jod.

Für die Bestimmung der Kartoffeln „Mit Schale“, wurde an diesen in einem Bezirk von ca. 0,8 cm die Schale entfernt, um Messfehler durch die Schalenfarbe zu unterbinden und an diesem Punkt die Messungen vorzunehmen.

Bei den Messungen des Antioxidantiengehalts der Pflaumen wurde die eine Hälfte der Pflaumen in 37,5 %-igen Alkohol eingelegt und die zweite Hälfte in eine Petrischale gelegt. Als weiterer Teil des Versuchsaufbaus wurde wiederum jeweils eine Hälfte der frischen Früchte bei 6 °C gekühlt aufbewahrt. Die zweite Hälfte der

Früchte wurde bei Raumtemperatur ($19^{\circ}\text{C} \pm 4^{\circ}\text{C}$) gelagert. In den folgenden 96 Stunden wurden in 24-stündigen Abständen drei Antioxidantienbestimmungen (β -Carotin) vorgenommen.

Die Ergebnisdarstellung erfolgte mittels Microsoft Excel® 2010 und IBM SPSS Statistics 19.0 für Windows.

3. Ergebnisse

3.1. Hautoberflächenstruktur und Carotinoidkonzentration

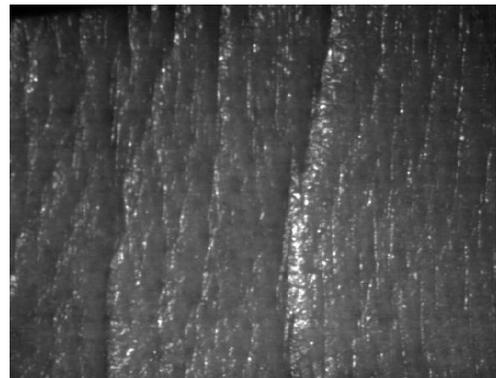
Als Resultat einer Messserie an 20 Probanden konnte ein Zusammenhang zwischen subjektiv jünger aussehenden Menschen und deren chronologischen Alter und der Größe der Carotinoidkonzentration in der Haut nachgewiesen werden (61).

Zur Messung wurde das unter 2.3.1 erläuterte PRIMOS-3D-Messsystem genutzt. Das antioxidative Potential wurde mit Hilfe der Ramanspektroskopie über die Bestimmung der Lycopin- und β -Carotinkonzentration bestimmt. Bei allen Probanden wurden die Daten im Bereich der Stirnhaut, einem dem Sonnenlicht besonders ausgesetztem Areal, erhoben.

Die Abbildung 11 steht beispielhaft für die unterschiedlichen Oberflächenstrukturen, welche bei den Probanden aufgezeichnet wurden.



Proband 1



Proband 2

Abb. 11 Aufnahmen der unterschiedlichen Hautoberflächenstruktur zweier Probanden

Aus der Hautstruktur (Abb. 11) konnte durch Bestimmung der Dichte und Tiefe der Falten ein Profil der Haut berechnet werden.

In der Abbildung 12 sind Hautprofile von zwei Probanden dargestellt.

Deutlich sichtbar sind die individuellen Unterschiede. Proband 2 hat ein deutlich gröberes und rauheres Profil als der gleichaltrige Proband 1.

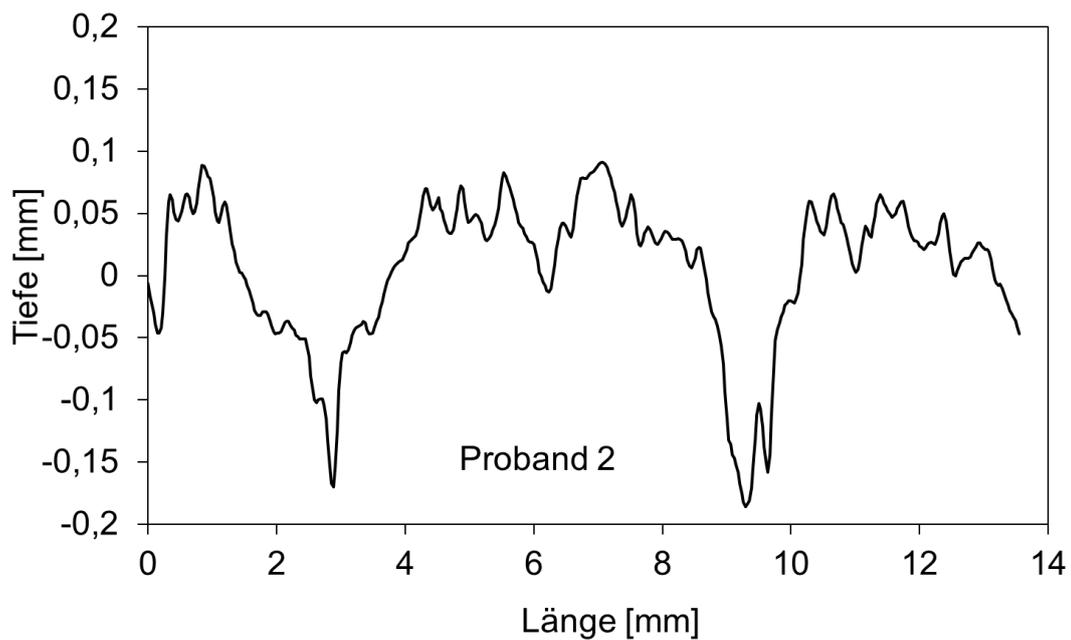
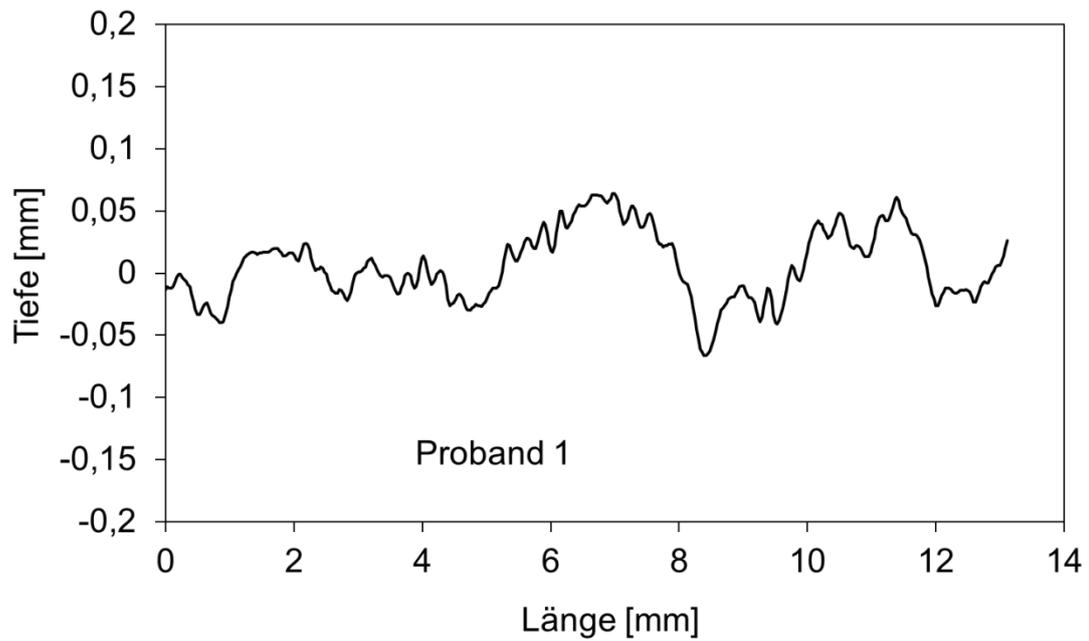


Abb. 12 Unterschiedliche Hautprofile bei zwei gleichaltrigen Probanden (47Jahre)

Als besonderes Ergebnis zeigte sich, dass Person 1 bei einer etwa doppelt so hohen Konzentration an Carotinoiden eine deutlich geringere Rauigkeit aufwies.

Wurde der Rauigkeitswert der Haut mit dem entsprechenden Lebensalter der Probanden korreliert, ergab sich daraus ein Korrelationsfaktor von $R^2=0,01$. Die Abhängigkeit der Rauigkeit vom Probandenalter wird in Abbildung 13 dokumentiert.

Schon visuell besteht kein signifikanter Zusammenhang ($R^2 = 0,01$) zwischen Alter und dem Erscheinungsbild der Haut (hier ausgedrückt als Rauigkeit). Das ist aufgrund des ausgewählten Alterssegments (45 ± 5 Jahren) und der Faltenzahl pro Proband wegen der bekannten individuellen Hautunterschiede auch nicht zu erwarten.

Das Ergebnis bestätigt jedoch, dass im Bereich zwischen 40 und 50 Jahren das reine chronologische Alter mit einer Vielzahl von an der Alterung beteiligter Prozesse unspezifisch zu einem jüngeren oder älteren Hautbild führt.

Eine der wesentlichen Ursachen für die Änderung der Hautstruktur ist aber die schädigende Wirkung freier Radikale. Diese werden durch Antioxidantien neutralisiert. Daher wurde über die Bestimmung des Carotingehalts (Lycopin) nach einer Korrelation zwischen Hautrauigkeit und gutem oder schlechtem Antioxidantienstatus gesucht.

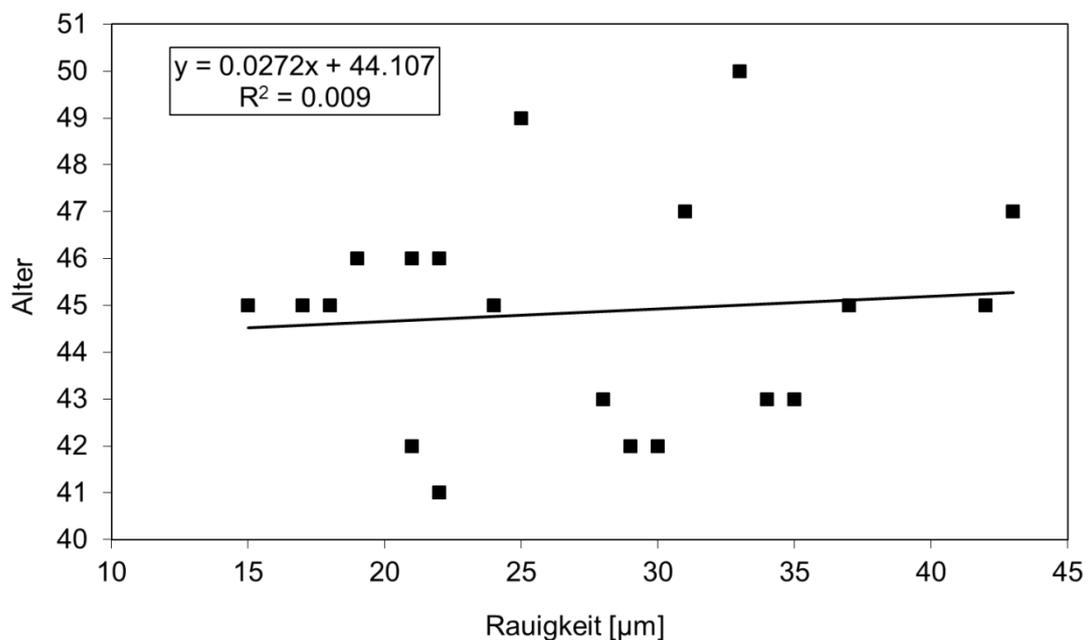


Abb. 13 Abhängigkeit der Hautrauigkeit vom Probandenalter

Im Ergebnis kann erstmalig gezeigt werden (Abb. 14), dass eine eindeutige Korrelation zwischen der Carotinkonzentration und der Hautrauigkeit besteht. Probanden mit einem hohen antioxidativen Potential haben dabei eine Hautstruktur mit geringerer Rauigkeit. Niedriger Antioxidantiengehalt ist mit einem älter erscheinenden Hautbild (größere Rauigkeit) verbunden. Der Korrelationsfaktor für Lycopin konnte mit $R^2 = 0,79$ errechnet werden.

Abbildung 14 stellt diesen Zusammenhang zwischen Hautrauigkeit und dem Gehalt an Lycopin in der Haut dar.

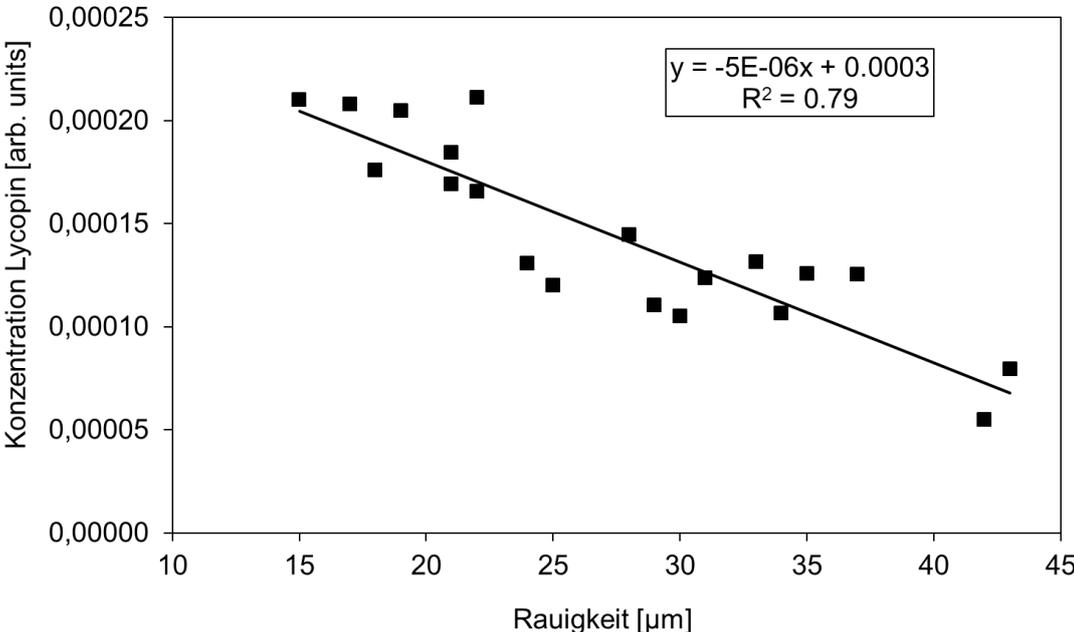


Abb. 14 Abhängigkeit der Hautrauigkeit von der Lycopinkonzentration der Haut

3.2. Einfluss des Garvorgangs auf die β -Carotinkonzentration in Früchten

Wie unter 2.5.2 Seite 33 aufgeführt, wurde mittels Ramanspektroskopie die Änderung der Konzentration der Carotinoide bei unterschiedlichen Garzeiten gemessen. Dabei wurde wegen der besseren Zugänglichkeit (höhere Ausgangskonzentration in den Früchten und Ramanaktivität) β -Carotin als Messobjekt gewählt.

3.2.1. Karotten

Die β -Carotinkonzentration wurde am Äußeren der geschälten Karotten und in der Mitte der Frucht an insgesamt 18 Karottenstücken bestimmt.

Um die im Haushalt übliche Garzeit zwischen 15- 20 Minuten zu simulieren, erfolgte die Datenermittlung im rohen Zustand, nach 5 Minuten, 10 Minuten und 20 Minuten kochen. Die Siedetemperatur des Wassers wurde dabei nach ca. 7 min erreicht. Die Ergebnisse dokumentieren, dass es sowohl in der Mitte der Frucht, als auch Außen zu einem Anstieg der β -Carotinkonzentration kommt. Außen steigt die Konzentration während der ersten 10 Minuten um das 3,88-fache zum Ausgangswert an ($p=0,008$). Nach weiteren 10 Minuten Garzeit bleiben die Werte relativ konstant und ohne signifikanten Anstieg ($p=0,173$).

Für die Mitte der Karotte ergibt sich nach 10 Minuten kochen ein signifikanter Anstieg auf das 3,67-fache verglichen zur rohen Frucht ($p=0,008$). Danach (20 Minuten) scheinen die Messwerte leicht abzufallen, wobei der Abfall der Konzentration mit $p=0,314$ jedoch nicht signifikant ist.

Die β -Carotinkonzentration in der Mitte und an der Außenseite der Karotte ist im rohen Zustand gleich. Obwohl die Messwerte für die Mitte im Trend unter denen der Außenseite liegen, ist das nach 20 Minuten und auch nach 45 Minuten nicht signifikant.

Die Entwicklung der normalisierten β -Carotinkonzentration über den Verlauf der Garzeit ist in der folgenden Abbildung 15 dargestellt. Der Vergleich der Werte zur Zeit 0 Minuten (Roh) und nach einer Garzeit von 10 Minuten zeigt eine signifikante Erhöhung der β -Carotinkonzentration, die bei weiterem Garen konstant bleibt. Deutlich ist eine etwa 4 fache verbesserte Bioverfügbarkeit zu erkennen.

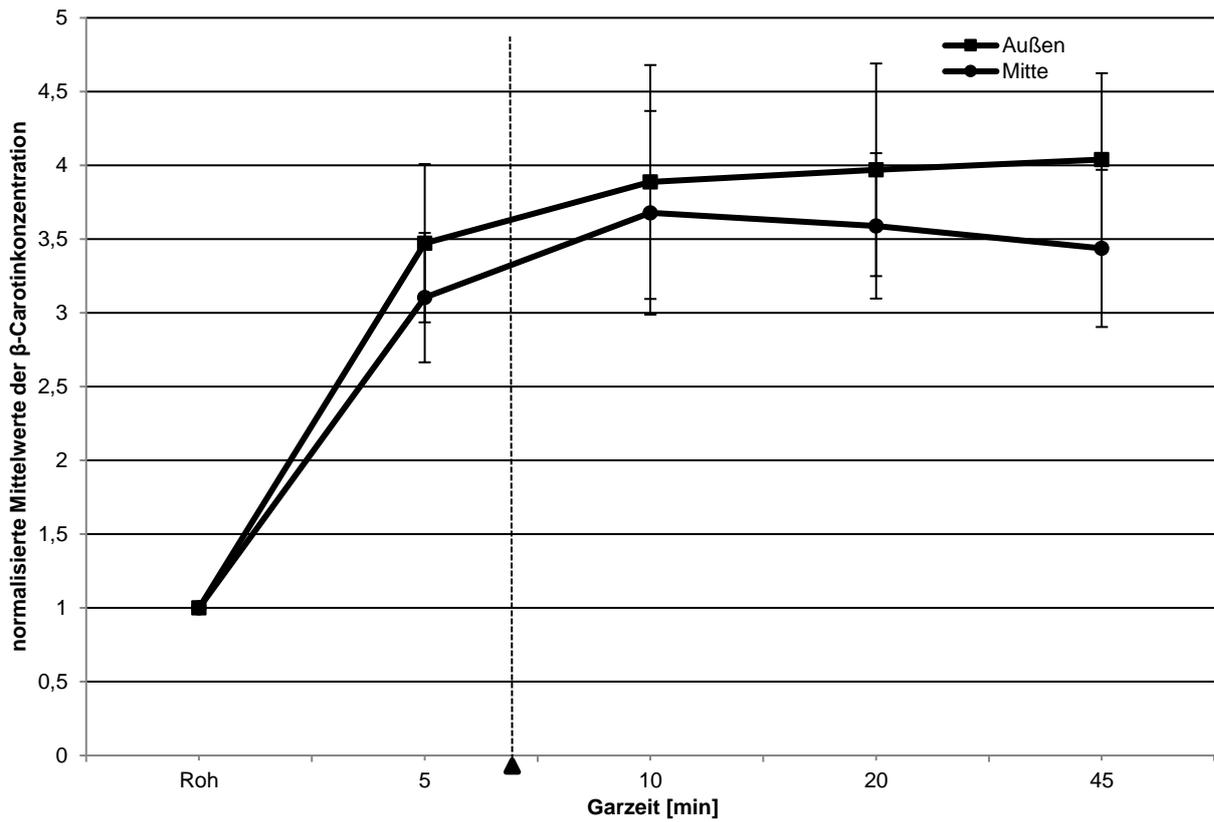


Abb. 15 Zeitlicher Verlauf der β -Carotinkonzentration während des Garvorgangs Karottenmitte (Mitte), Karottenaußenseite (Außen), \blacktriangle Siedebeginn bei ca. 7 Minuten

In Abb. 16 ist dieser Sachverhalt für die Zeit „Roh“ $t=0$ und 10 Minuten Garzeit noch einmal sehr deutlich dargestellt.

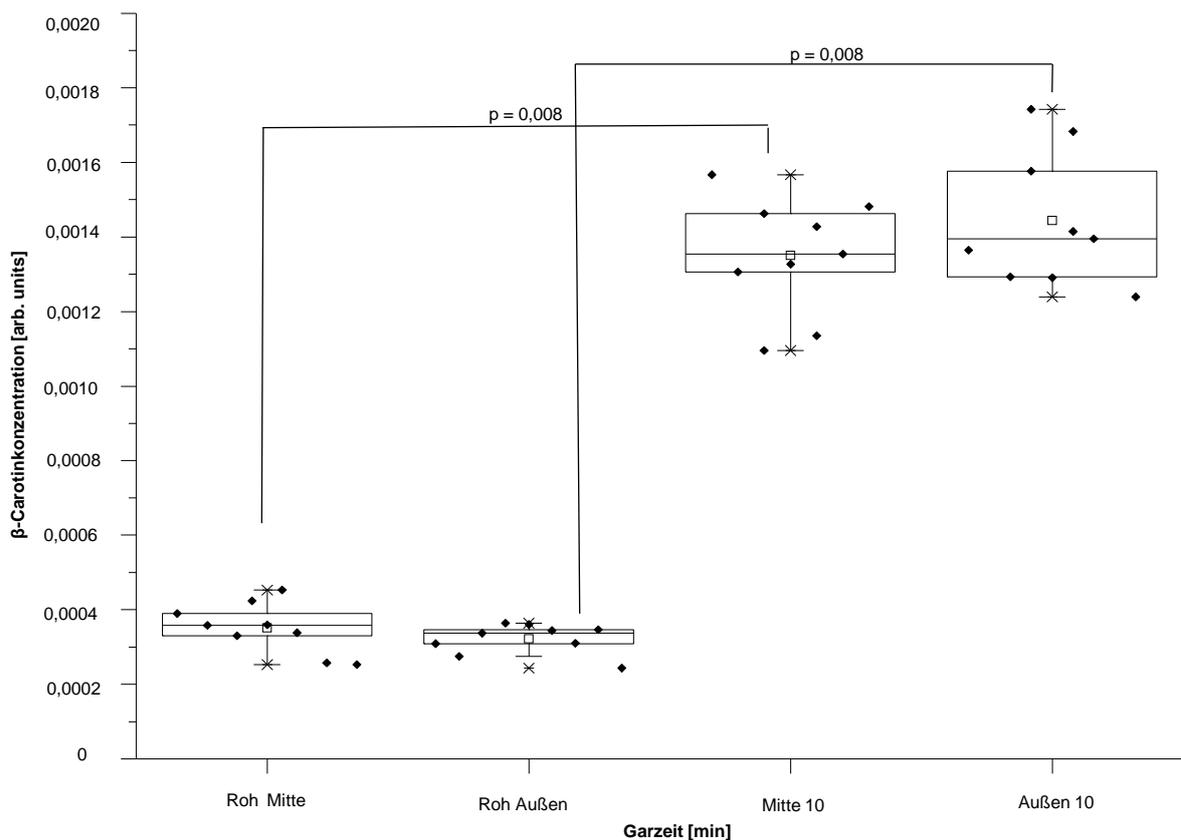


Abb. 16 β -Carotin-Konzentrationswerte für Karottenmitte (Mitte) und Karottenaußenseite (Außen).

3.2.2. Paprika

In diesen Versuchen wurden insgesamt acht rote und acht gelbe Paprikastücke vermessen.

Es ergab sich ein signifikant ($p=0,01$) höherer β -Carotingehalt in den gelben Paprika im Vergleich zu den roten, sowohl im rohen Zustand als auch nach 10 Minuten kochen. Unter thermischer Einwirkung zeigten beide Paprikavarianten gleiches Verhalten mit einem Anstieg der Werte. Die rote Paprika erreichte nach 20 Minuten Garzeit das 2,45-fache ihres Ausgangswertes, wohingegen bei den gelben Früchten nach 15 Minuten ein Maximalwert auf das 1,59-fache des „Roh“-Wertes ermittelt wurde.

Diese Ergebnisse werden in den Abbildungen 17 und 18 dargestellt.

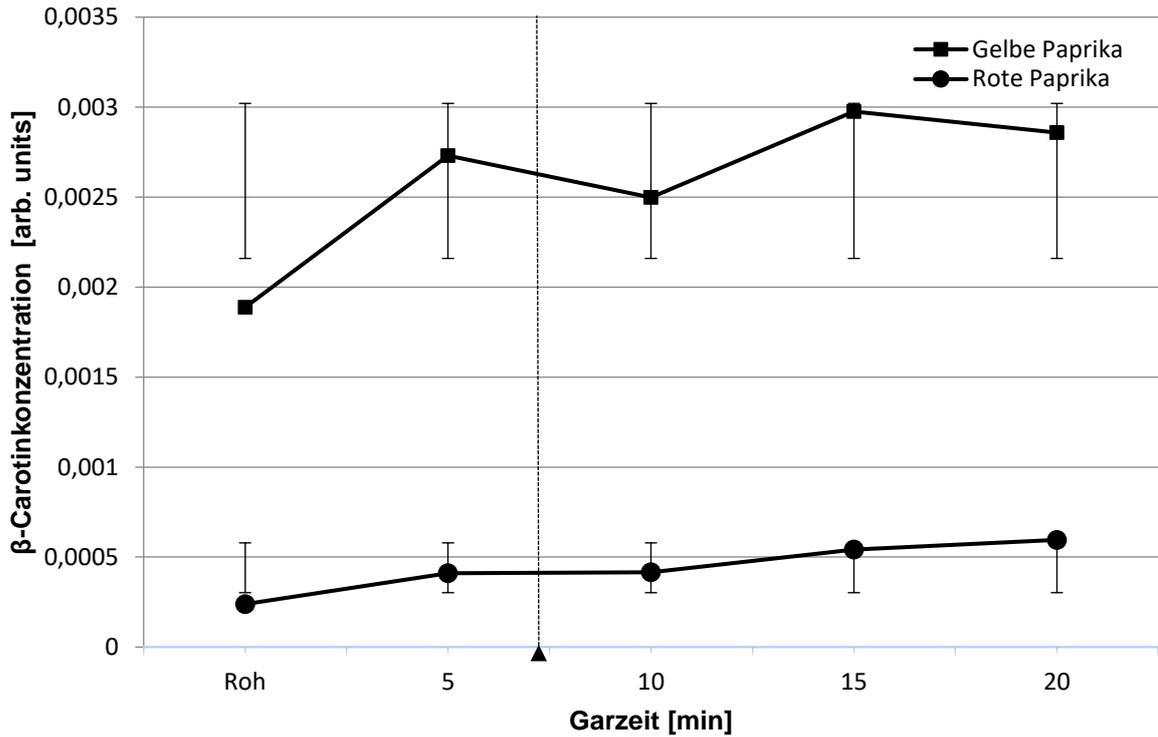


Abb. 17 Änderung der β -Carotinkonzentration von roten und gelben Paprika in Abhängigkeit von der Garzeit, \blacktriangle Siedebeginn 6,5 Minuten

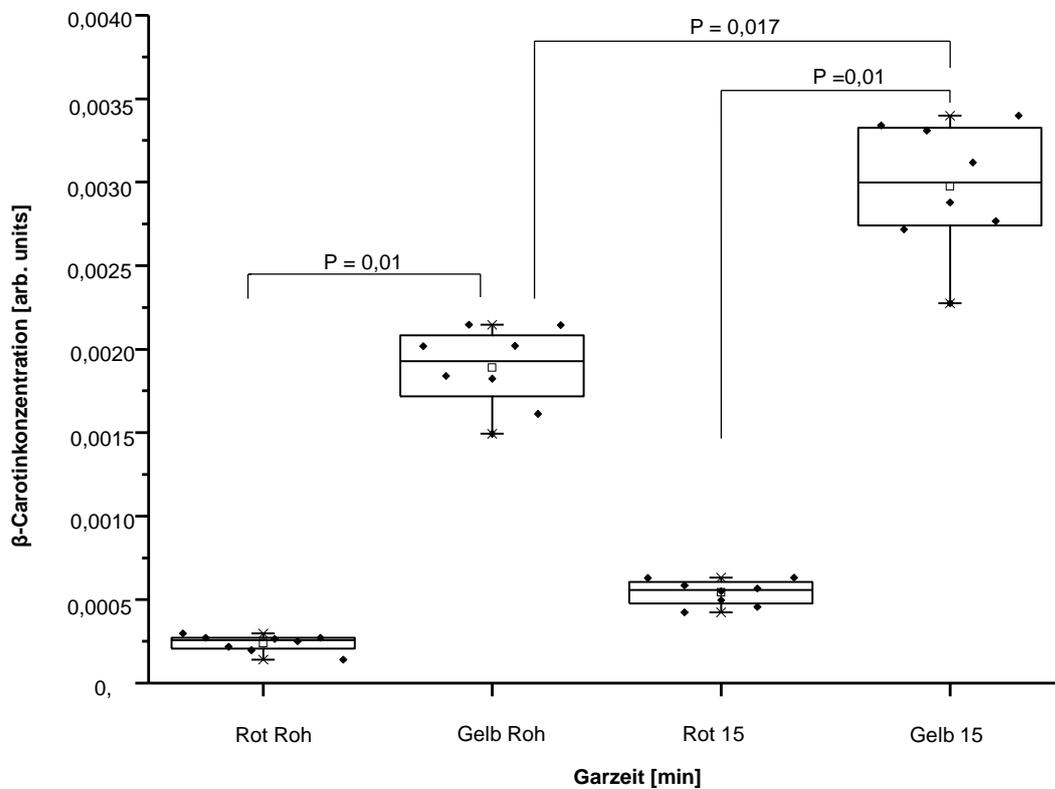


Abb. 18 Mittelwerte der β -Carotinkonzentration bei gelben und roten Paprika in Abhängigkeit von der Garzeit

3.2.3. Broccoli

Broccoli wurde an zwei verschiedenen Messstellen analysiert. Einmal am Hauptstrunk und zusätzlich an den Einzelstielen welche zu den Broccoliröschen führen. Die Messreihen wurden zunächst ohne Zusatz von Kochsalz ausgeführt. Eine zweite Messreihe bei welcher das Gemüse in kochsalzhaltigem Wasser gekocht wurde, sollte den Einfluss des bei der Essenszubereitung fast immer vorhandenen Salzes auf die Bioverfügbarkeit des β -Carotin bestimmen.

Die Werte der ersten Messreihe zeigten, dass der β -Carotingehalt der Broccoliröschen im rohen Zustand (Median: 0,0019 arb. units) deutlich über dem des Hauptstiels (Median 0,0012 arb. units) lag. Hieraus ergab sich ein signifikanter Unterschied mit $p=0,011$.

In Abhängigkeit von der Garzeit erfolgt bei beiden Versuchsvarianten ein kontinuierlicher Abfall der β -Carotinkonzentration. Nach 15 Minuten besitzt das Röschen noch 65 Prozent und der Stiel nur noch 45 Prozent des im rohen Zustand verfügbaren β -Carotins.

Den Abfall der Konzentration des β -Carotins mit zunehmender Garzeit stellt die Abbildung 19 dar.

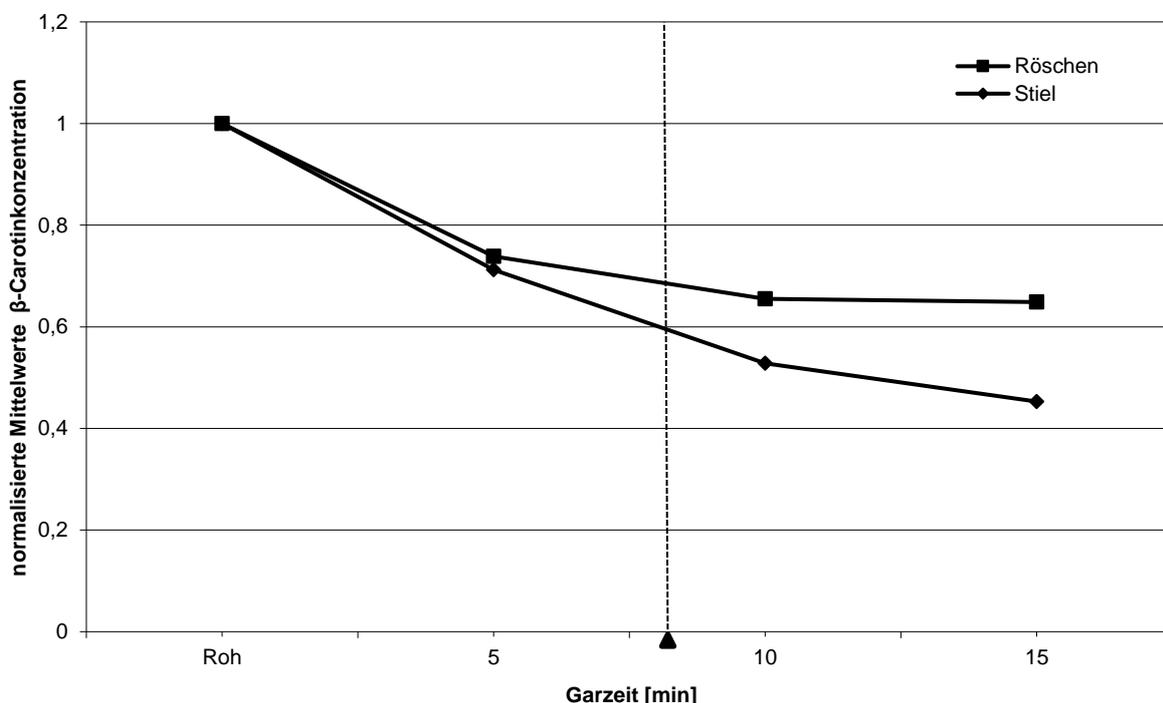


Abb. 19 Normalisierte Mittelwerte der β -Carotinkonzentration bei Broccoli an Stiel und Röschen, ▲ Siedebeginn 8 Minuten

Über die gesamte Garzeit blieb die β -Carotinkonzentration der Röschen über der des Stiels. In der zweiten Messreihe wurde das Wasser (1000ml) in welchem das Gemüse gegart wurde mit Kochsalz versetzt (50g/l).

Wie in Versuch eins lag die β -Carotinkonzentration der Röschen zum Zeitpunkt 0 Minuten im rohen Zustand über der des Stiels.

Während des Kochens fiel die Konzentration in den Röschen weniger stark, als ohne Salzzugabe, in diesem Fall auf 78 Prozent des Ausgangswertes, ab.

In den Stielen kam es über den gesamten Zeitraum zu einem stärkeren, signifikanten Abfall der Konzentration ($p=0,028$).

Abbildung 20 stellt den Verlauf der β -Carotinkonzentration in ihren Mittelwerten dar.

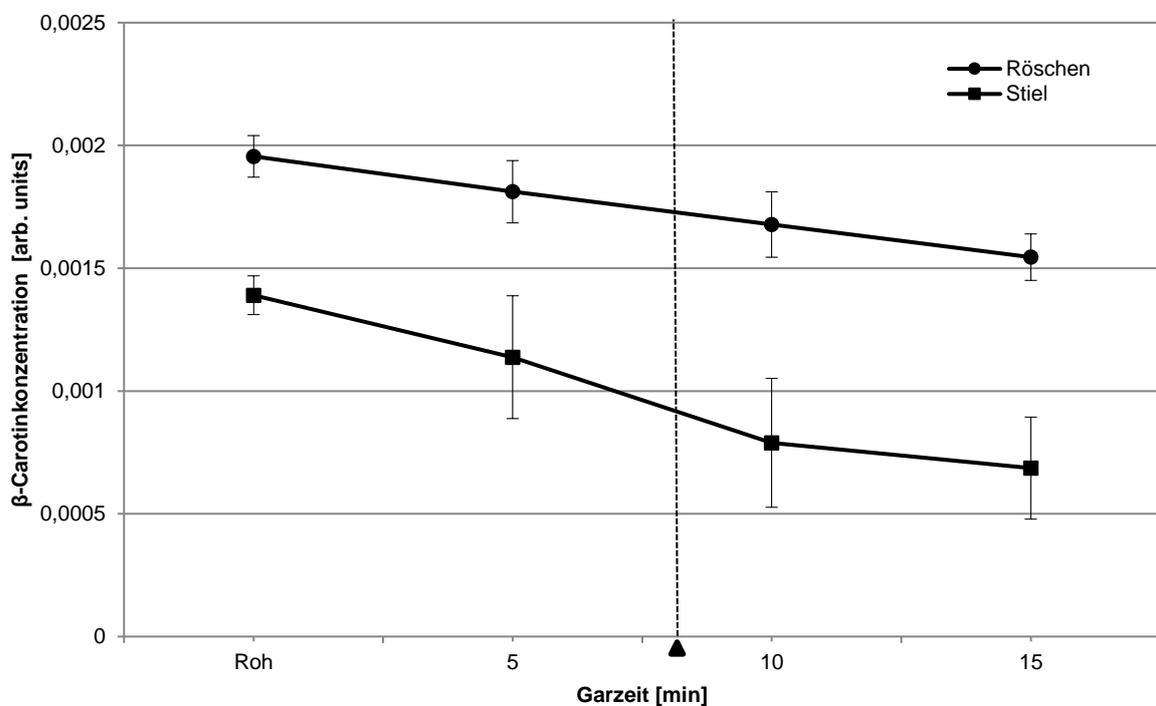


Abb. 20 Mittelwerte der β -Carotinkonzentration bei Broccoli an Stiel und Röschen , Garen mit Kochsalzzusatz (50g/l), ▲ Siedebeginn 7,75 min

Bei beiden Messungen ohne (Abb. 19) und mit Kochsalzzusatz (Abb. 20) ergibt sich für die Röschen und den Stiel ein deutlicher Unterschied zwischen den Ausgangswerten Roh als 0 Minuten und nach 15 Minuten Garzeit.

Dieser Verlauf des Abfalls der β -Carotinkonzentration erlaubt jedoch keinen eindeutigen Unterschied zwischen der Zubereitungsform „mit Salz“ und „ ohne Salz“ nachzuweisen,

obwohl die Werte für Röschen von 65 Prozent (ohne) und 78 Prozent (mit Salz) bei 15 min. Garzeit das andeuten könnten.

Exemplarisch zeigt die Abbildung 21 die geringen Unterschiede der β -Carotinkonzentration für den Broccoli stiel im rohen und gegarten Zustand nach 15 Minuten mit und ohne Salzzugabe.

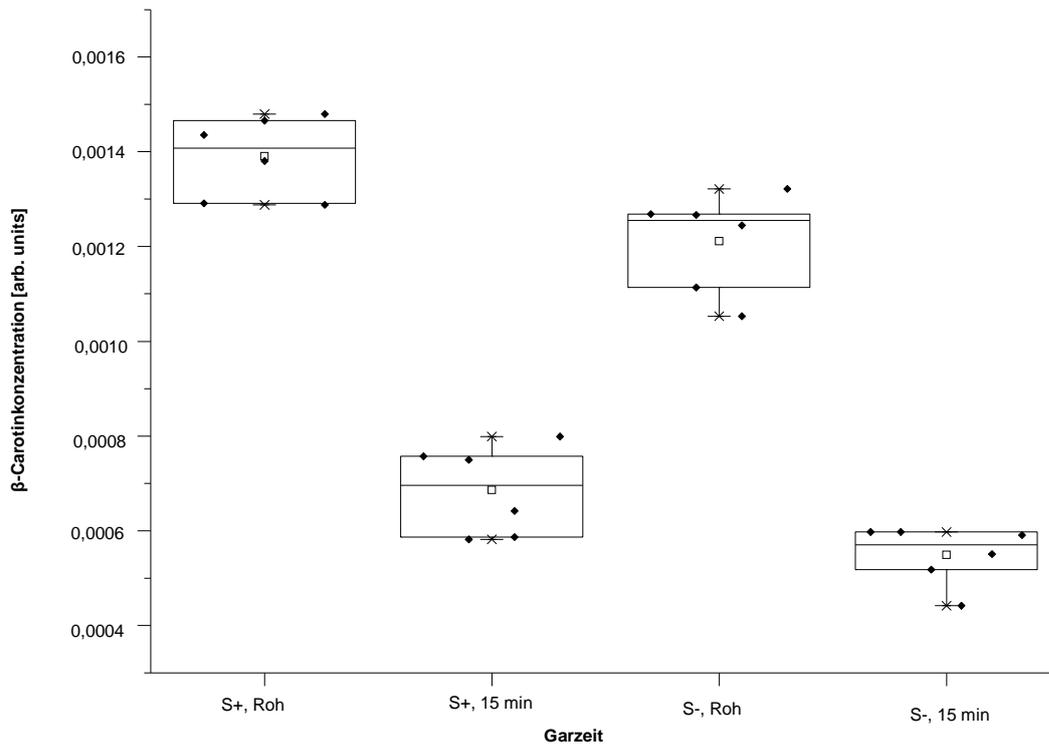


Abb. 21 β -Carotinkonzentration des Broccoli stielis gegart mit Salz (S+), und ohne Salz (S-)

3.2.4. Kartoffeln

Beim Garen von Kartoffeln wurden verschiedene Variablen untersucht, so der Carotinoidgehalt beim Kochen mit und ohne Schale. Weiter wurde der Einfluss von Kochsalz auf die Konzentration von β -Carotin bestimmt und mit den Ergebnissen der Versuche ohne Salzzusatz verglichen.

Die Untersuchungen wurden mit der Kartoffelsorte „Arkula“ an jeweils zwei Kartoffelstücken begonnen. Hier zeigte sich beim Kochen mit Schale und Kochsalzzusatz nach 10 Minuten ein Abfall des β -Carotins auf minimal 70 Prozent des Ausgangswertes. Beim Garen ohne Schale wurde ein Abfall auf 80 Prozent im Vergleich zum Zeitpunkt $t=0$ „Roh“ gefunden.

Abbildung 22 zeigt die Zeitabhängigkeit der β -Carotinkonzentration für „Arkula“ geschält und ungeschält mit Kochsalzzusatz.

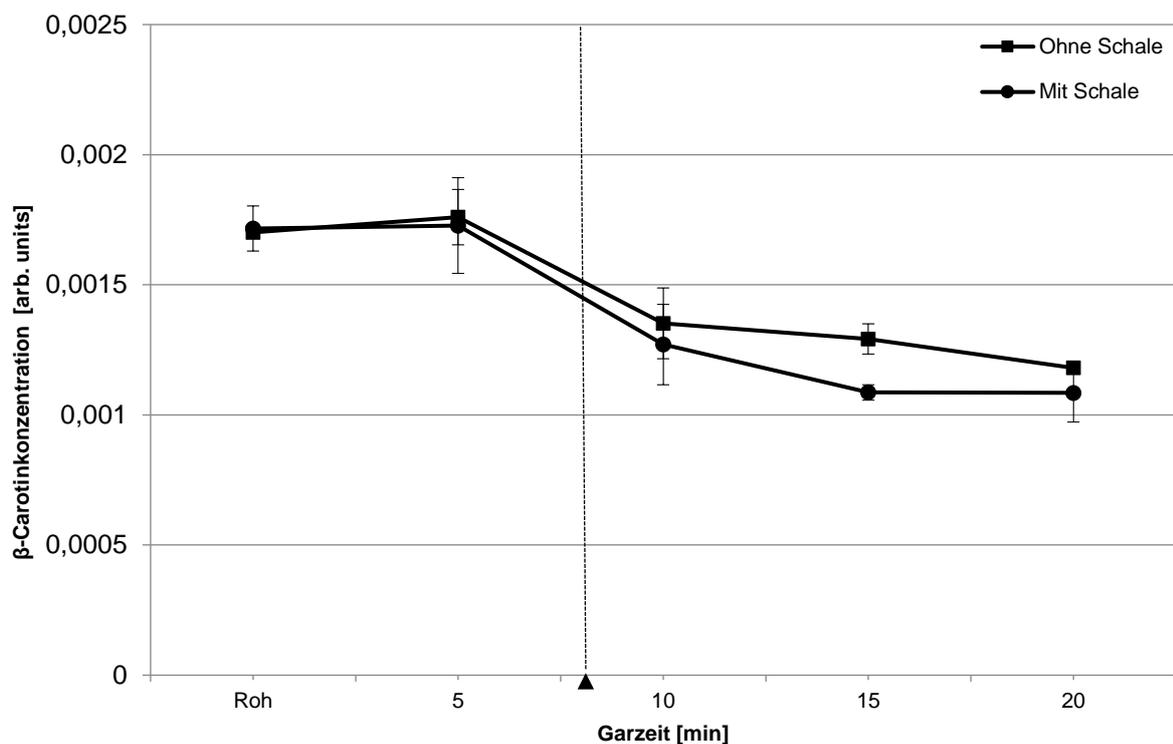


Abb. 22 Mittelwerte der β -Carotinkonzentration der Kartoffelsorte „Arkula“, Kochen mit Kochsalz (50g/l), ▲ Siedebeginn 6,75 Minuten

Die Messung ohne den Zusatz von Kochsalz ergab nach 10 Minuten garen einen Abfall der Konzentration des β -Carotins auf 58 Prozent (Mit Schale) und auf 70 Prozent (Ohne Schale) des Ausgangswertes. Das wird in der Abbildung 23 dargestellt.

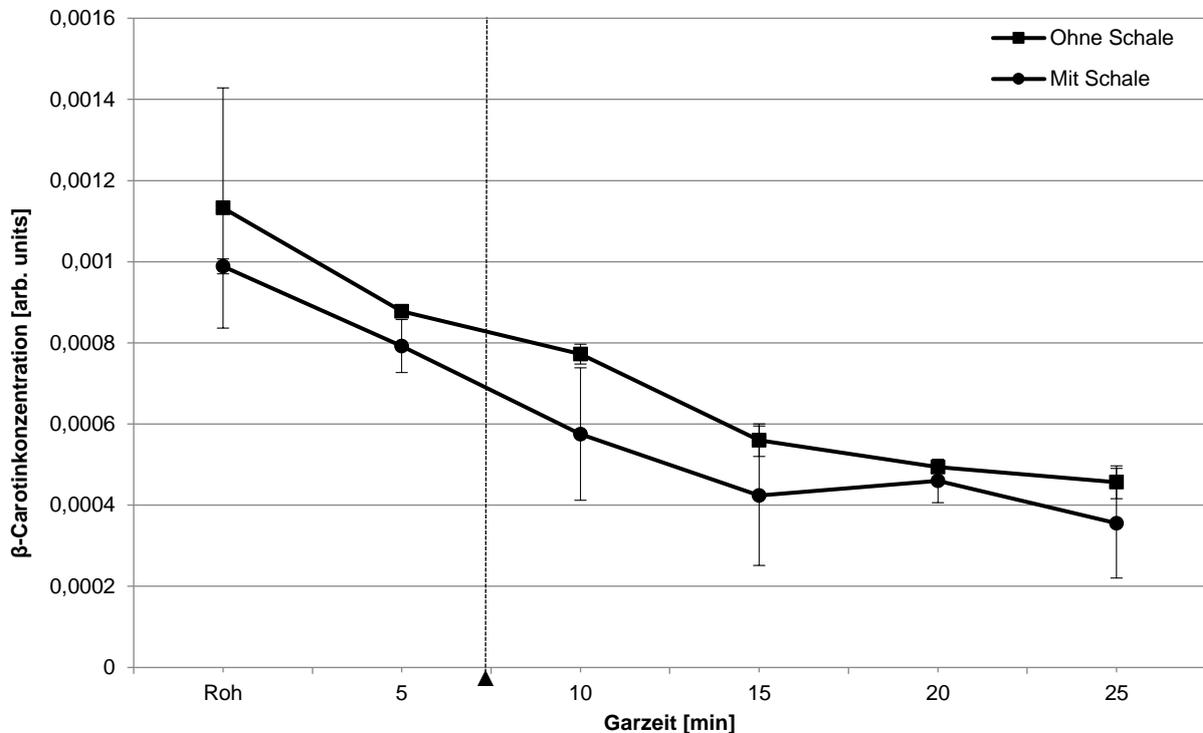


Abb. 23 Mittelwerte der β -Carotinkonzentration der Kartoffelsorte „Arkula“, garen ohne Kochsalz, ▲ Siedebeginn 6,25 Minuten

In einer zweiten Messreihe wurde die Kartoffelsorte „Adretta“ nach gleichem Schema wie „Arkula“ bei einer Anzahl von sechs Messstücken untersucht.

Ohne Zusatz von Kochsalz und ohne Schale blieb innerhalb der ersten 10 Minuten die β -Carotinkonzentration nahezu konstant. Ein gleichartiges Verhalten zeigt die β -Carotinkonzentration, wenn die Schale vorhanden ist.

Nach 20 Minuten Gardauer zeigten beide Varianten einen Abfall mit deutlichem, jedoch nicht signifikantem Unterschied ($p=0,15$).

Die Kartoffelstücke „Ohne Schale“ wiesen einen relativen Abfall auf 68 Prozent auf, wobei beim Garen „Mit Schale“ die Verringerung der Konzentration nur auf 85 Prozent erfolgte. Abbildung 24 stellt das Verhältnis von β -Carotinkonzentration und Garzeit dar.

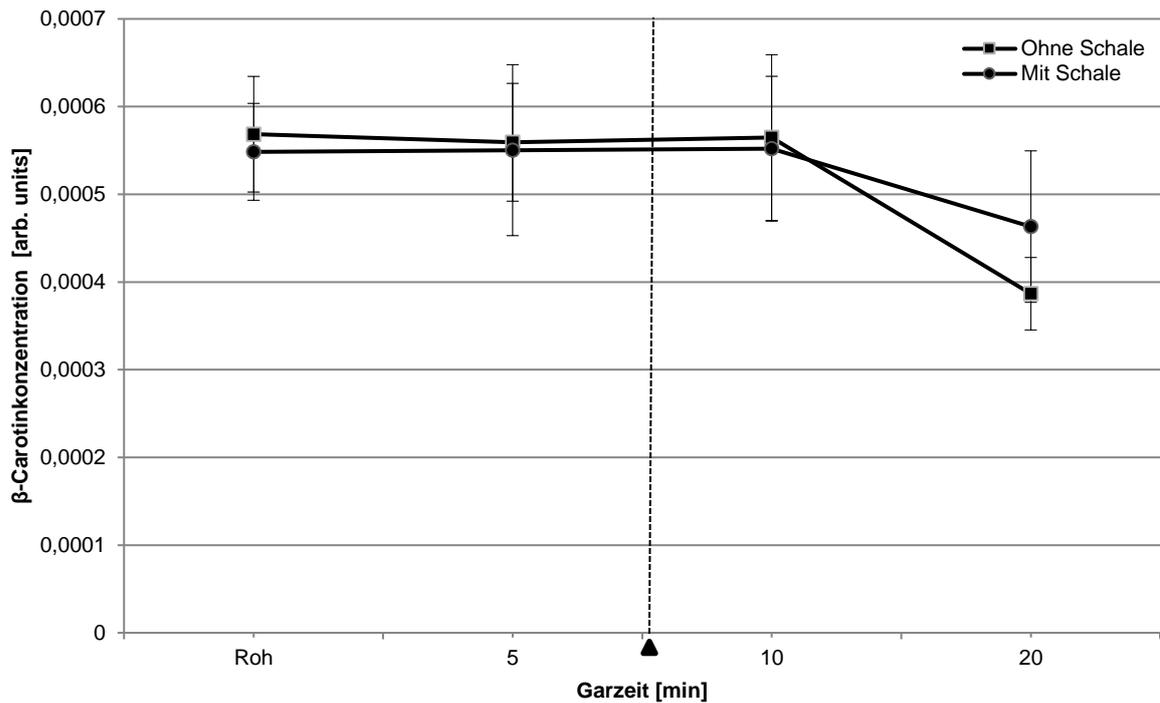


Abb. 24 Mittelwerte der β -Carotinkonzentration der Kartoffelsorte „Adretta“, garen ohne Kochsalz, ▲ Siedebeginn 7,5 Minuten

Bei Zusatz von Kochsalz erfolgte ein schneller Konzentrationsabfall bereits nach fünf Minuten auf 75 Prozent des Ausgangswertes (Ohne Schale) und 85 Prozent (Mit Schale). Weiteres Garen führte nicht zu zusätzlichem Abfall. Der β -Carotingehalt, sowohl bei den Kartoffeln mit und ohne Schale blieb über die weiteren 15 Minuten stabil. Anschaulich macht dies die Abbildung 25.

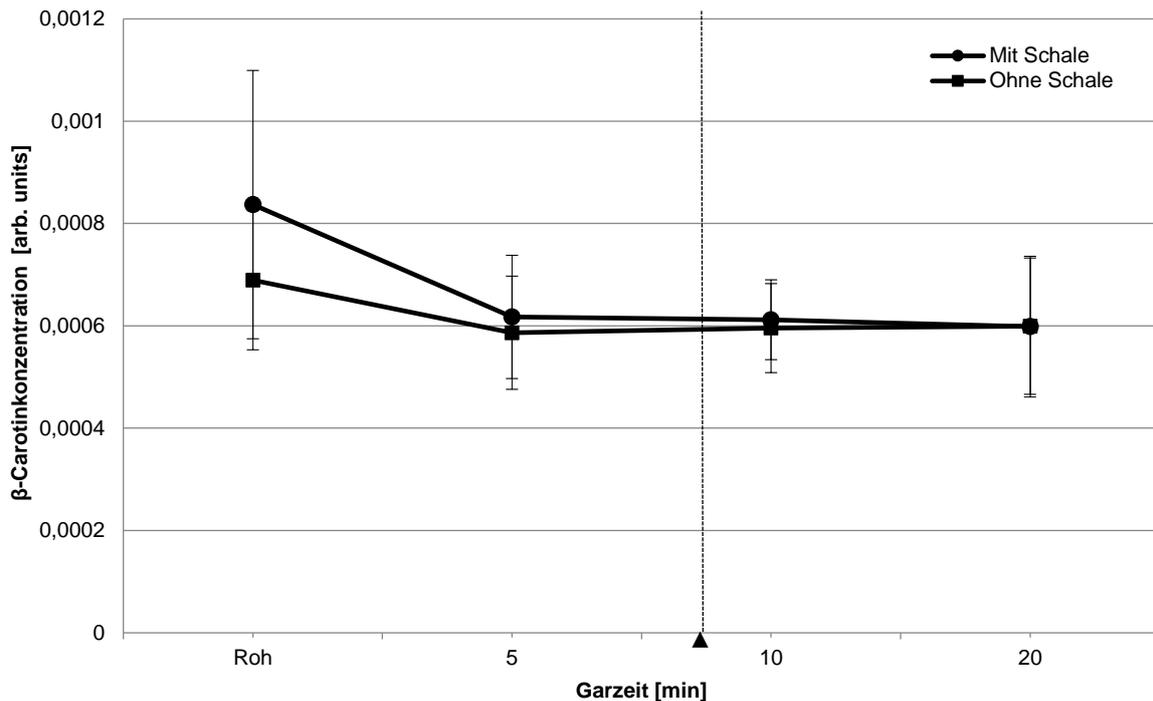


Abb. 25 Mittelwerte der β -Carotinkonzentration der Kartoffelsorte „Adretta“, garen mit Kochsalz (50g/l), ▲ Siedebeginn 8,5 Minuten

Mit der Kartoffelsorte „Rosaria“ wurde die dritte Messserie durchgeführt.

Ohne Zugabe von Kochsalz ergab sich nach 10 Minuten kochen überraschend ein Anstieg der β -Carotinkonzentration zum Ausgangswert auf 118 Prozent Ohne Schale und Mit Schale auf 115 Prozent ($p= 0,047$). Nach 25 Minuten kochen kam es bei beiden Varianten zu dem erwarteten Abfall, wobei die Ausgangswerte Mit Schale 0,0011, Ohne Schale 0,0012 erreicht wurden.

Abbildung 26 illustriert diese Zusammenhänge.

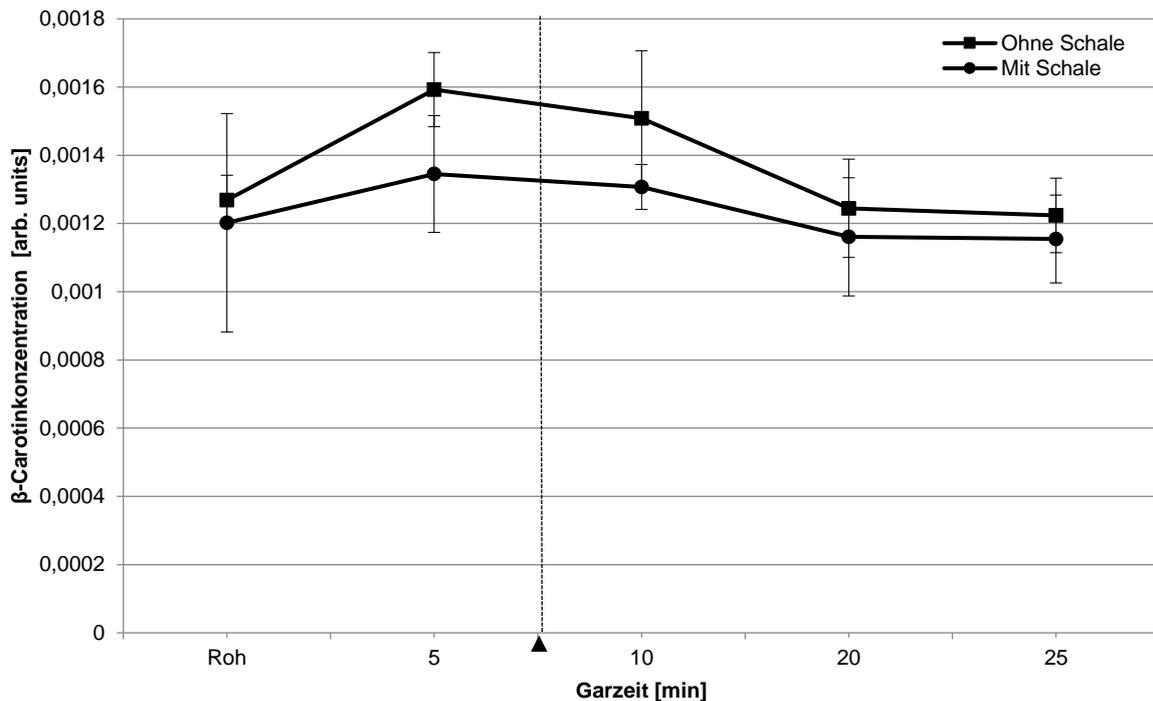


Abb. 26 Mittelwerte der β -Carotinkonzentration der Kartoffelsorte „Rosaria“, garen ohne Kochsalz, ▲ Siedebeginn 7,25 Minuten

Auch bei Zusatz von Kochsalz zu den Kartoffelstücken Ohne Schale stiegen nach 10 Minuten garen die β -Carotinwerte auf 124 Prozent und 122 Prozent Mit Schale an.

Weiteres Garen zeigte bereits nach 20 Minuten einen Rückgang der Werte bis auf die Ausgangswerte, die auch nach 25 Minuten konstant blieben.

Damit unterscheidet sich die Kartoffelsorte „Rosaria“ mit dem Anstieg der β -Carotinkonzentration bei kurzen Garzeiten deutlich von den anderen Früchten.

3.2.5. Lagerung von Bauernpflaumen

Diese Versuchsreihe bestimmt die Veränderungen der Carotinoidkonzentration bei einem häufig verwendeten Kernobst bei unterschiedlichen Temperaturen und Zugabe von Alkohol. Die Ermittlung der β -Carotinkonzentration erfolgte bei den vier verschiedenen Messreihen an jeweils 14 Bauernpflaumen in chronologisch festgelegten Zeitabständen mittels der Ramanspektroskopie.

Zunächst wurden die Bauernpflaumen bei Raumtemperatur ($19 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$) frei im Raum gelagert und nach initialer Messung (Frisch) zum Zeitpunkt $t=0$, folgten jeweils nach 24 Stunden weitere Messungen. Nach 24 Stunden zeigte sich ein Anstieg der β -Carotinkonzentration um 20,9 Prozent zum Ausgangswert. Nach 48h erfolgte ein weiterer Anstieg auf 27,5 Prozent zum Ausgangswert und nach 96 Stunden ein Abfall auf 20,9 Prozent über dem Wert der frischen Früchte. Dies stellt die Abbildung 27 dar.

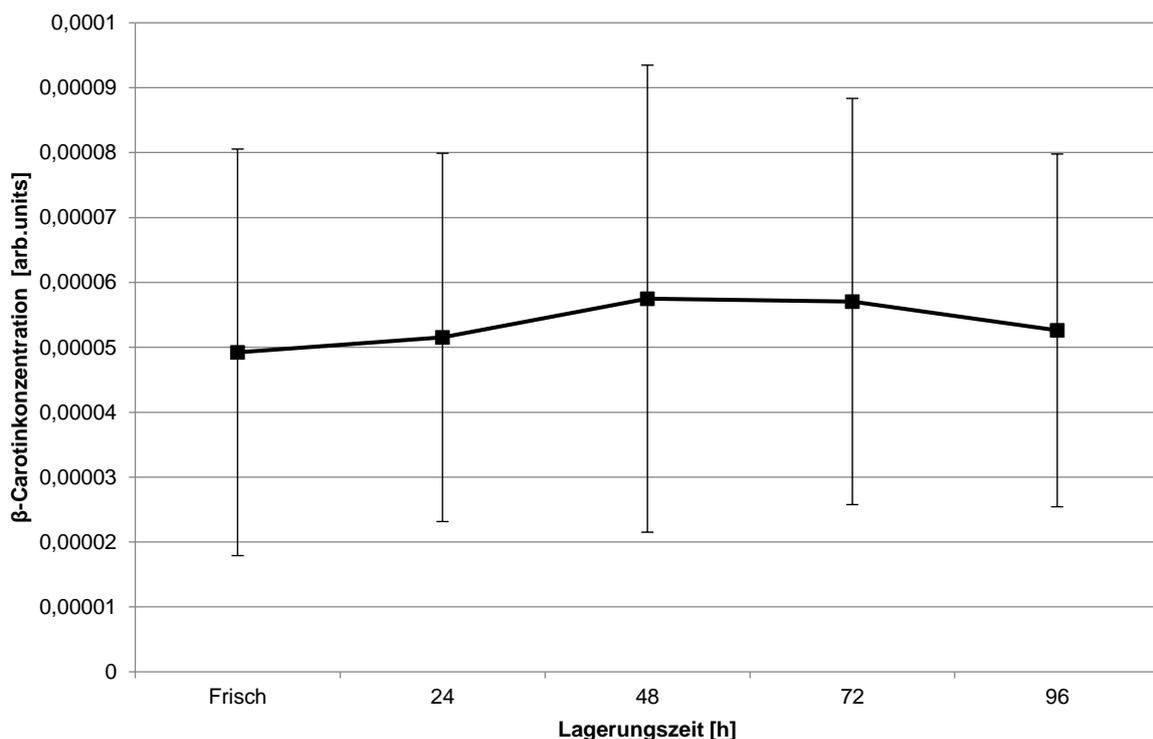


Abb. 27 Verlauf der β -Carotinkonzentration während der Lagerung von Bauernpflaumen bei Raumtemperatur ($19 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$)

In einer zweiten Versuchsreihe wurden bei Raumtemperatur in Alkohol (37,5%) eingelegte Bauernpflaumen über 96 Stunden gelagert.

Ausgehend von frischen Früchten war ein Anstieg der β -Carotinkonzentration innerhalb von 24 Stunden auf 370 Prozent messbar. Nach 72 Stunden betrug der Anstieg 478 Prozent. Nach diesem Zeitpunkt fielen die Werte für die β -Carotinkonzentration auf 303 Prozent über den Ausgangswert ab.

Bei den Mittelwerten die sich nach 72 Stunden ergaben, ist ein signifikanter Unterschied der β -Carotinkonzentrationen ($p= 0,001$) im Vergleich der in Alkohol gelagerten Bauernpflaumen zu den bei Raumtemperatur aufbewahrten Früchten nachweisbar.

Den Verlauf der β -Carotinkonzentration zu unterschiedlichen Messzeitpunkten stellt die Abbildung 28 dar.

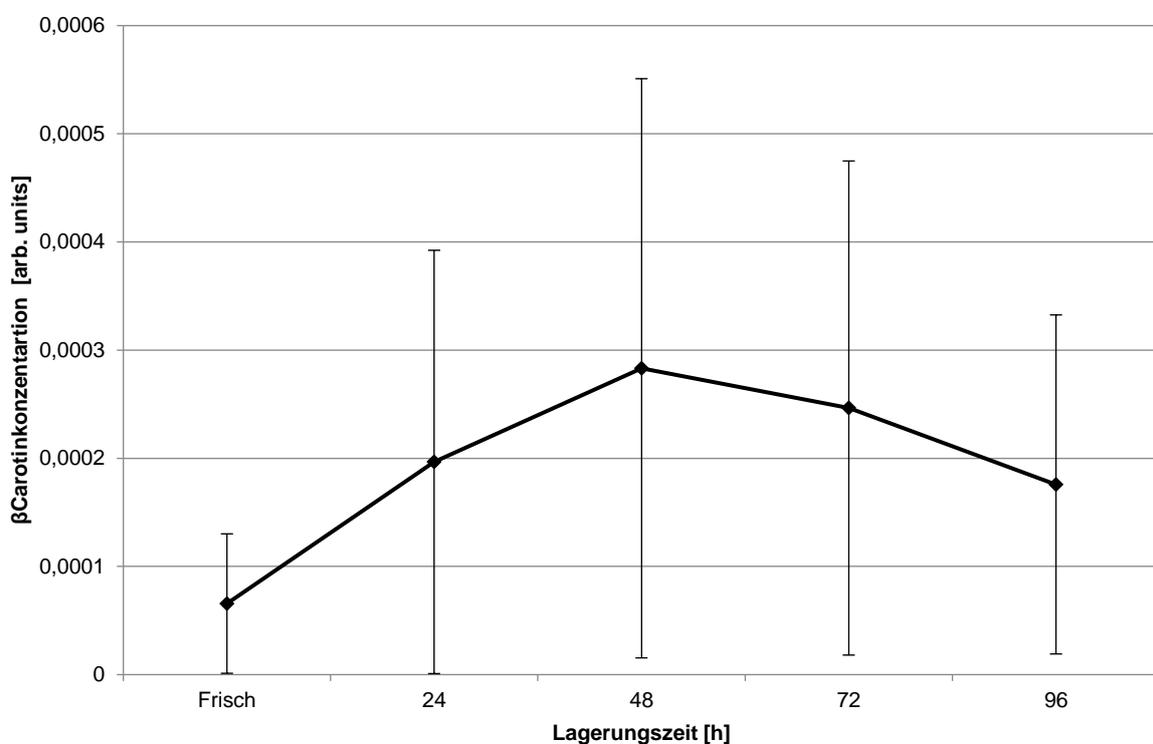


Abb. 28 β -Carotinkonzentration von Bauernpflaumen gelagert bei Raumtemperatur (19 ± 4 °C), Alkoholzusatz (37,5 %)

In der dritten Reihe von Experimenten wurde der β -Carotingehalt von Pflaumen, die bei 6°C im Kühlschrank über 96 Stunden gelagert wurden, ermittelt.

Die Messungen beim Einlagern nach 24 Stunden und 48 Stunden ergaben einen konstanten Mittelwert. Nach 96 Stunden fielen die β -Carotinwerte auf 97 Prozent des Ausgangswertes ab. Abbildung 29 veranschaulicht den Verlauf.

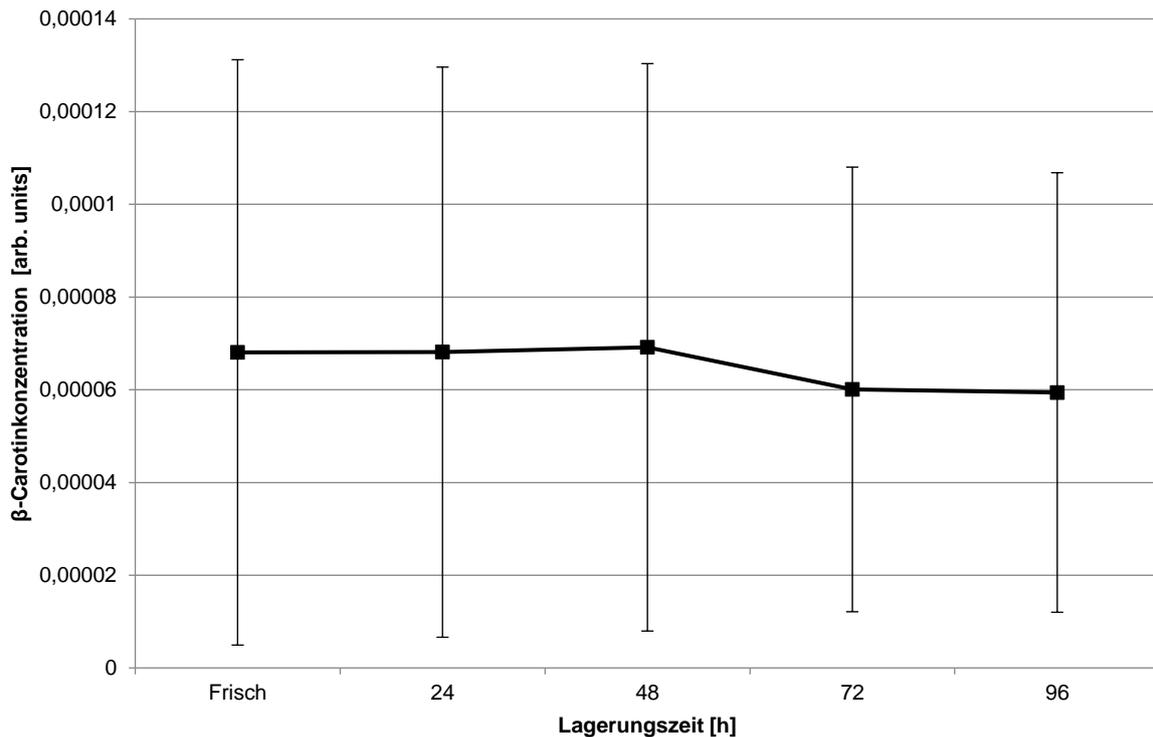


Abb. 29 β-Carotinkonzentration von Bauernpflaumen, Lagerung Kühlschrank 6°C

Abschließend, als vierte Versuchsreihe, wurden die Bauernpflaumen im Kühlschrank bei 6°C und unter Zugabe von 37,5%-igem Alkohol gelagert und in 24-stündigen Abständen wurde die β-Carotinkonzentration bestimmt.

Die Messungen zeigten nach 24 Stunden einen Anstieg um 38 Prozent zum Ausgangswert mit einem tendenziellen Abfall dieses Wertes auf 28 Prozent nach 48 Stunden. Danach zeichnete sich ein Abfall bei 72 Stunden und 96 Stunden mit einem Endwert von 96 Prozent zum Ausgangswert ab.

Dieses Verhalten mit einem stetigen Anstieg der β-Carotinkonzentration unterscheidet sich von den Ergebnissen der bisherigen Versuche. Betrachtet man jedoch die großen Schwankungen um die Mittelwerte (Abb. 30), so sind weitere Messungen nötig, um diesen Trend zu bestätigen.

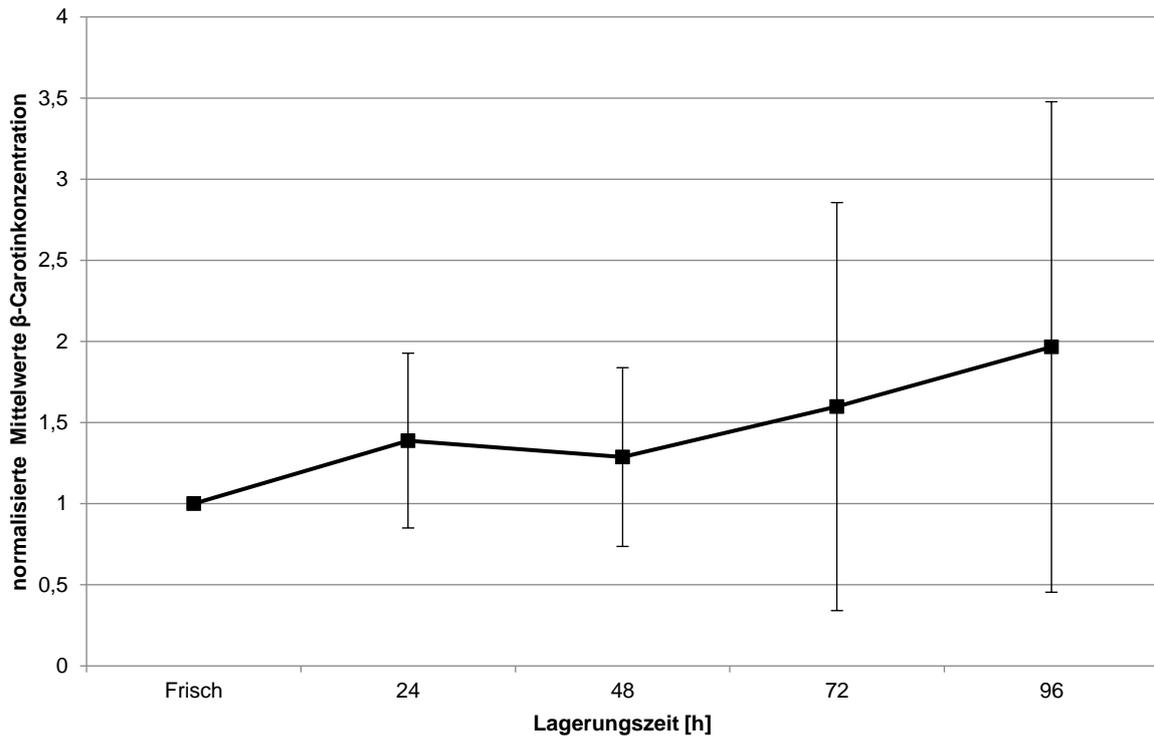


Abb. 30 β -Carotinkonzentration von Bauernpflaumen, Lagerung Kuhlschrank 6 °C, Alkoholzusatz (37,5%).

4. Diskussion

Ein Ziel dieser Arbeit war es nachzuweisen, ob es einen Zusammenhang zwischen Zeichen der Hautalterung, charakterisiert durch ihre Furchen und Falten, und dem antioxidativen Potential der Haut gibt. Bereits in den Arbeiten von Krinsky N., Houghes D. und Stahl W. (11, 27, 45) wurde dargestellt, dass Carotinoide ein antioxidatives Potential besitzen und sie als Radikalfänger im Sinne von Schutzmechanismen der Haut fungieren.

Speziell sollte in der Arbeit gezeigt werden, dass mit den zum aktuellen Zeitpunkt zugänglichen Messverfahren eine subjektiv wahrgenommene und objektiv messbare Hautalterung mit der Konzentration von Antioxidantien in der Haut in Korrelation gebracht werden kann. Mit dieser Thematik beschäftigt sich der erste Teil der Arbeit.

Aus der Literatur ist bekannt, dass systemisch applizierte Antioxidantien (mit der Nahrung aufgenommene Antioxidantien, enthalten in Obst und Gemüse) zu einer Anreicherung in der Haut führen. Im zweiten Teil der Arbeit stand daher im Mittelpunkt, wie sich diese wertvollen Inhaltsstoffe während der Zubereitung bei einigen ausgewählten Gemüsesorten und einer Obstsorte (58, 59) ändern.

4.1. Hautoberflächenstruktur und antioxidatives Potential

Mit Hilfe des PRIMOS-3-D Messsystems wurde an einem definierten Hautareal, hier die Stirn, bei einem Probandenkollektiv von 20 Personen im Alter zwischen 40 und 50 Jahren die Hautoberflächenstruktur bestimmt.

Zu jeder dieser Hautoberflächenstrukturen wurde der Gehalt an Carotinoiden in der Haut des jeweiligen Probanden mit Hilfe der Raman-Resonanzspektroskopie bestimmt.

Ziel war es, zu untersuchen ob Probanden mit einem höheren antioxidativen Potential der Haut objektiv weniger Folgen von oxidativem Stress zum Beispiel in Form von Falten und Furchen aufweisen.

β -Carotin und Lycopin werden dabei als Markersubstanzen für das gesamte antioxidative Potential der Haut angegeben.

Auslöser von oxidativem Stress und damit Gründe für eine vorzeitige Hautalterung sind äußere Umweltfaktoren wie UV-Strahlung, Umweltgifte, interne Faktoren wie Infektsituationen, Krankheit, Umstände der Lebensgestaltung wie Rauchen oder Alkoholkonsum (60).

Erstmalig konnte gezeigt werden, dass Probanden mit einer höheren Hautrauigkeit einen geringeren Carotinoidgehalt aufwiesen (61).

Eine Auswertung der Hautstrukturen im Bezug zum Alter der Probanden zeigte, dass zwischen dem 40sten und 50sten Lebensjahr die Hautrauigkeit unabhängig vom Lebensalter der Probanden ist.

Diese Ergebnisse erlauben somit den Schluss, dass ein höheres antioxidatives Potential der Haut ein ebeneres Erscheinungsbild der Haut zur Folge hat.

Bei der Auswertung der Messungen ergaben sich unterschiedliche Rauigkeitswerte für Lycopin und β -Carotin, wobei Lycopin wirksamer als β -Carotin war. Angenommen werden kann, dass freie Radikale durch Lycopin effektiver neutralisiert werden. Damit ist es sinnvoll eine größere Menge an Lycopin zu sich zu nehmen, um ein entsprechend aktives antioxidatives Potential zum Schutz vor Abbauprozessen in der Haut vorzuhalten. Es ist jedoch zu beachten, dass ein ausgewogenes Verhältnis zwischen der Menge an verschiedenen Radikalfängern notwendig ist (58), um die höchste Effektivität der Schutzwirkungen von Carotinoiden zu erlangen. Eine Supplementation sollte daher immer als Kombination unterschiedlicher Antioxidantien in hautphysiologischen Konzentrationen erfolgen.

Kritisch ist anzumerken, dass es mit dem PRIMOS-3D-System schwierig ist, bei wiederholenden Messungen exakt das gleiche Hautareal einzustellen. Apparative Verbesserungen lassen künftig eine erhöhte Reproduzierbarkeit der Hautstrukturmessungen erwarten. Weitere experimentelle Bestimmungen der Korrelation zwischen der Konzentration der Antioxidantien (Vitamin C, Enzyme etc.) und Hautrauigkeit werden damit zugänglich. Bei Auswahl des Probandenkollektivs wurde darauf geachtet, dass es in den vergangenen 20 Jahren keine abrupten, groben Änderungen der Lebensgewohnheiten gegeben hat. Lebensumstände, wie der Arbeitsort wurden jedoch nicht als Auswahlkriterium einbezogen. Es ist damit eine weiterführende Frage, ob Menschen, die im Freien arbeiten und somit mehr oxidativem Stress durch das Sonnenlicht ausgesetzt sind, bei gleichem antioxidativen Potential eine größere Hautrauigkeit aufweisen, da die Kompensationsmechanismen permanent intensiver beansprucht werden.

Allgemein lässt sich somit der Rückschluss ziehen, dass eine ausgewogene Ernährung mit Obst und Gemüse, durch die entsprechende Aufnahme an Carotinoiden, einen positiven Effekt auf die Haut hat, indem diese der Hautalterung entgegenwirken.

In Kombination mit der Meidung von Stressfaktoren, wie Rauchen, wenig Schlaf oder ungeschützter Sonneneinstrahlung, kann jeder selbst einen entsprechenden Anteil zum Schutz vor Hautalterung beitragen. Kurz formuliert, Obst und Gemüse tun der Haut gut. Diese Ergebnisse, führten zur Überlegung, ob durch schonende oder entsprechend angepasste Zubereitung von Gemüse Carotinoide geschützt werden können, um somit möglichst viele mit der Nahrung aufnehmen zu können und dadurch der Hautalterung zusätzlich entgegen zu wirken.

4.2. β -Carotin in Gemüse während Garvorgängen

Carotinoide sind seit vielen Jahren Gegenstand intensiver Forschung. Es wurde die Bedeutung einer hohen Carotinoidkonzentration für die Verhinderung vorzeitiger Hautalterung im ersten Teil dieser Arbeit gezeigt. Viele Studien zur Verarbeitung von carotinoidhaltigem Gemüse beschäftigen sich in den letzten Jahren vornehmlich mit der Tomate und der Karotte (30,62-64). Dies resultiert im Wesentlichen daraus, dass Tomaten und ihre Verarbeitungsprodukte als Nahrungsmittel einen hohen Anteil an der Ernährung ausmachen.

Eine Vielzahl an Arbeiten erfolgte zur Messung des Lycopin und β -Carotingehalts im Serum und in der Haut (44, 65, 66) nach ihrer Aufnahme über die Nahrung. Dabei kommt der Bioverfügbarkeit der Carotinoide, beeinflusst durch die Zubereitungsbedingungen, eine Schlüsselrolle für die Erreichung einer optimalen Hautkonzentration zu.

Ziel dieses Teils der Arbeit war es daher, die Veränderung der β -Carotinkonzentration während des Garvorgangs zu messen, um optimale Kochbedingungen festzulegen.

Wegen der guten Messbarkeit mittels des Raman-Resonanzspektroskops, der hohen Konzentration und seinem Stellenwert als Markersubstanz für das antioxidative Potential wurde β -Carotin als Indikator für das Verhalten der Carotinoide ausgewählt (siehe auch 37).

Unter den Versuchsbedingungen dieser Arbeit (siehe 3.2.1.) zeigten die Messungen an Karotten, dass es zu einem kontinuierlichen Anstieg der β -Carotinkonzentration kommt, wobei nach 10 Minuten der maximale Wert erreicht wurde. Die Bioverfügbarkeit des Carotinoids steigt mit zunehmender Temperatur an und erreichte nach dem Siedepunkt innerhalb von etwa 2 Minuten das Maximum.

Ein Anstieg der Carotinoide, speziell von Lycopin, während der thermischen Verarbeitung von Tomaten und Karotten wurde auch von Graziani et al. (67) nachgewiesen. Arbeiten zeigten ebenfalls, dass es zu einer chemischen Umstrukturierung während der thermischen Einwirkung durch Isomerisierung kommt (62, 68). Die Messwerte definieren die thermische Stabilität des β -Carotins über einen Zeitraum von 30 Minuten. Mit längerer Dauer des Garprozesses zeigt sich ab 30 Minuten ein langsamer Abfall der β -Carotinkonzentration, welche aber selbst nach 45 Minuten Kochzeit noch deutlich über dem Ausgangswert liegt.

Ähnliche Ergebnisse werden in der Arbeit von Hwang et al. 2012 (33) beschrieben.

Der Abfall der Konzentration an β -Carotin könnte auf thermische Umstrukturierung der Moleküle zurückzuführen sein. Schlussfolgernd gilt für die Karotten, dass eine kurze Garzeit positiv auf die Menge an verfügbaren Antioxidantien wirkt. Zu langes Garen verringert die Bioverfügbarkeit des β -Carotins.

Wie erwartet, existiert nach 45 Minuten Garzeit kein signifikanter Unterschied zwischen den Konzentrationswerten für die Mitte und die äußere Karottenschicht. Unterschiedliche Schichtdicken des Kochguts haben daher keinen Einfluss auf die Freisetzung der Carotinoide und können als Einflussgröße ausgeschlossen werden.

Wie bei der Karotte wurden Daten an gelben und roten Paprikafrüchten ermittelt. Die Ergebnisse dieser Versuche zeigen bereits im rohen Zustand einen deutlich höheren β -Carotingehalt bei gelben gegenüber roten Paprika. Dieser Zusammenhang zwischen der Farbgebung und dem entsprechenden Gehalt an β -Carotin wurde auch durch Khoon et al. (69) in einer Arbeit in 2011 bestätigt.

In der Abhängigkeit der β -Carotinkonzentration von der Garzeit ergab sich bei roter Paprika ein kontinuierlicher Anstieg der Werte bis zum Erreichen eines Plateaus ab 15 Minuten Garzeit. Nach diesem Ergebnis ist β -Carotin bei 100 °C und 20 Minuten Kochzeit thermisch stabil (Abb. 19)

Ergebnis der Messungen ist eine signifikant höhere β -Carotinkonzentration der gelben Paprika im Vergleich zu den roten Paprikafrüchten zu jedem Zeitpunkt des Kochvorgangs. Unter dem Aspekt der Zuführung einer gewünscht höheren Menge β -Carotin sollten daher die gelben Früchte bevorzugt werden. Auch von sensorischen Gesichtspunkten betrachtet, ist eine Garzeit von über 10 Minuten bei Paprikagemüse nicht zu empfehlen, da dieses Bissfestigkeit verliert.

Alle Ergebnisse in dieser Arbeit beziehen sich auf die Gesamtkonzentration von β -Carotin, ermittelt über Raman-Resonanzspektroskopie. Nach diesen Daten ist β -Carotin bei 100°C und 20 Minuten kochen in Wasser thermisch stabil (Abb. 19).

Dahingegen ist in der Arbeit von Khoon et al. 2011(69) und durch andere Arbeitsgruppen zwischen den verschiedenen Isomeren des β -Carotin nach der Verarbeitung unterschieden worden (39, 69, 70). Im Ergebnis wird gefolgert, dass die thermische Stabilität des all-trans- β -Carotin bis etwa 70°C gegeben ist. Diese Temperatur übersteigend, kommt es zu Oxidationsprozessen und Isomerisierung des Moleküls in cis-Isomere.

Um anhand vorliegender Untersuchungen gültige Empfehlungen für die Gemüsezubereitung treffen zu können, wurde in dieser Arbeit jedoch nur die Gesamtkonzentration des β -Carotins betrachtet. Das ist auch deshalb sinnvoll, da sich das antioxidative Potential der einzelnen Isomeren messtechnisch gegenwärtig nicht separat erfassen lässt.

In einer weiteren Versuchsreihe erfolgte die Ermittlung des β -Carotiningehalts an grünem Gemüse in diesem Fall frischem Broccoli. Messpunkte wurden in Bereichen der einzelnen Rosenstiele sowie auch am Hauptstiel der Frucht festgelegt.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe zeigen, dass bereits im rohen Zustand ein signifikanter Unterschied zwischen der β -Carotinkonzentration des Broccoli-Stiels und im Stiel der Broccoli-Röschen besteht. Hier liegt der Wert im Stiel deutlich unter dem im Röschen. Dieses Verhältnis bleibt über den gesamten Garvorgang erhalten. Im Gegensatz zu den Versuchen mit Paprika und Karotten ist bei dieser grünen Frucht ein leichter, kontinuierlicher Abfall der β -Carotinkonzentration zu verzeichnen.

Dieser abfallende Verlauf könnte auf eine andere Zusammensetzung der farbgebenden Pigmente in diesem Gemüse zurückzuführen sein. Wie bereits in der Einleitung erwähnt, bilden die Carotinoide untereinander Schutzketten, um sich gegenseitig zu regenerieren und vor schnellem Verbrauch zu schützen. So ist die bereits äußerlich anhand der grünen Farbe zu vermutende unterschiedliche Carotinoidzusammensetzung möglicherweise verantwortlich für eine geringere Schutzwirkung und Thermostabilität.

In diesen Experimenten sollte auch die Frage beantwortet werden, ob durch Zugabe von Kochsalz bei der Zubereitung die Bioverfügbarkeit des β -Carotins beeinflusst wird.

In der Literatur (25) wird der Zusatz von Öl zu verarbeitendem Gemüse beschrieben. Der Ölzusatz führt danach zu einer besseren Fettlöslichkeit der Carotinoide und zur Bildung von Mizellen auf Grund ihrer chemischen Struktur. Die Bioverfügbarkeit wird deutlich verbessert wird (25).

Unsere experimentellen Daten zeigen, dass kein signifikanter Einfluss aus der Zugabe von Speisesalz resultiert. Ohne Kochsalz kommt es nach 15 Minuten Garzeit zu einem Abfall auf 45,29 Prozent der β -Carotinkonzentration im Vergleich zum rohen Zustand. Beim Garen mit Kochsalz wurde ein Abfall auf 49,18 Prozent am Broccolistiel gemessen. Die Differenz zwischen den Werten beider Messungen ist nicht signifikant.

Kochen mit Salz, wie es ernährungsphysiologisch unverzichtbar ist, hat nach unseren Ergebnissen keinen Effekt auf die Bereitstellung des Antioxidans. Unter der Prämisse „optimale“ β -Carotinbereitstellung resultiert aus unseren Daten die Empfehlung, die Broccoliröschen anstelle des Stiels zu verzehren.

Vergleichende Untersuchungen wurden bei drei Kartoffelsorten durchgeführt. Die Kartoffel, obwohl nicht bekannt als Antioxidantienlieferant, wurde wegen ihrer enormen Verbreitung in der deutschen Küche ausgewählt.

Die Einhaltung identischer Untersuchungsparameter (Vorbehandlung, Garzeit, Messzeitpunkt) erlaubte, die Ergebnisse gegeneinander zu werten.

Als eine im Vergleich zu Karotten und Broccoli neue Variable wurde die Schale der Kartoffel in die Experimente einbezogen.

Ausgangspunkt dazu war die Frage, inwieweit die für die Früchte als mechanischer Schutz dienende Schale auch die Carotinoide schützt.

Die Ergebnisse für die erstuntersuchte Sorte „Arkula“ zeigten eine geringe thermische Stabilität des β -Carotins im Vergleich zur Sorte „Adretta“. Schon nach 10 Minuten Garzeit war die Konzentration auf etwa die Hälfte des Ausgangswertes reduziert. Kein Unterschied wurde zwischen den Werten für die Kartoffelstücke mit oder ohne Schale festgestellt. Zugabe von Kochsalz zum Wasser führte zu keiner prinzipiellen Änderung im Abfall der β -Carotinkonzentration nach Überschreiten des Siedebeginns (~8 Minuten). Auch die Werte der Messungen an Kartoffelstücken mit und ohne Schale zeigten keine signifikanten Differenzen.

Eine hypothetisch mögliche stabilisierende Wirkung des Kochsalz oder der Kartoffelschale auf die β -Carotinkonzentration unter Garbedingungen konnte damit ausgeschlossen werden.

Bei der Sorte „Adretta“ wurden beim Kochen ohne den Zusatz von Kochsalz im Vergleich zu „Arkula“ sehr stabile β -Carotinwerte über die ersten 10 Minuten ermittelt. Nach 20 Minuten Garzeit zeigte sich ein tendenzieller Abfall der Werte.

Im Vergleich dazu erfolgte beim Garvorgang mit Kochsalz schon nach 5 Minuten ein Abfall der Konzentration, auf Werte, die an den Messpunkten 10 und 20 Minuten konstant blieben. Die Unterschiede in der β -Carotinkonzentrationsänderung im Bereich bis zu 10 Minuten Garzeit sind mit Vorsicht zu interpretieren. So ist die Zeit für den Siedebeginn eine nicht eindeutige Einflussgröße. Kochsalz hat nach diesen Ergebnissen keinen Einfluss auf die messbare β -Carotinkonzentration.

Ebenso schließen die sehr nahe beieinanderliegenden Werte für die Kartoffeln mit und ohne Schale (Abb. 24, 25), wie auch bei „Arkula“ einen Einfluss der Schale aus.

Die dritte Sorte „Rosaria“ unterschied sich von den vorherigen durch eine rosa-rote Schale. Mit dieser differenten und intensiveren Färbung verband sich die Erwartung auf einen höheren β -Carotingehalt. Und tatsächlich liegen diese (Abb. 26) im Bereich der β -Carotinwerte von Karotten nach 10 Minuten garen (Abb. 16).

Auch der Verlauf der β -Carotinwerte nach verschiedenen Garzeiten ähnelt dem der Karotten.

Innerhalb der ersten 5 Minuten steigen die Werte (Abb. 26) an. In den folgenden 20 Minuten fällt die Konzentration des β -Carotins bis auf den Ausgangswert ab. Dieses Verhalten von „Rosaria“, gemessen ohne Kochsalzzusatz mit und ohne Schale, findet sich auch bei den Messungen mit Kochsalz wieder.

Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass die Kartoffelsorte „Rosaria“ mit einem β -Carotingehalt in der gleichen Größenordnung wie gekochte Karotte eine Carotinoidzusammensetzung aufweist, deren Bioverfügbarkeit mit der Temperatur ansteigt und eine höhere Thermostabilität aufweist.

Damit wäre „Rosaria“, wenn weitere Untersuchungen die Hypothese bestätigen sollten, eine interessante Antioxidantienquelle.

Folgt man der Hypothese, dass die Carotinoidzusammensetzung einen Anstieg oder Abfall der Bioverfügbarkeit bei Temperaturbehandlung im wässrigen System bedingt, wäre es interessant diese analytisch zu bestimmen.

Dabei zeigt gelbe Paprika, Karotte und die Kartoffelsorte „Rosaria“ mit einer hohen β -Carotinkonzentration einen Anstieg der Bioverfügbarkeit von „Roh“ auf „Gekocht“.

Bei Broccoli, den Kartoffelsorten „Arkula“, „Adretta“ und roter Paprika mit niedrigem β -Carotingehalt fällt die Bioverfügbarkeit bei Temperaturerhöhung ab.

Es ergibt sich die Frage, ob durch die hohe β -Carotin-Konzentration eine hohe Stabilisierung der Produkte folgt. Wohingegen das Kochen als thermische Behandlung mit Radikalproduktion bei geringerer Konzentration eher einen negativen Aspekt beinhaltet. Ziel weiterer wissenschaftlicher Arbeiten sollte es daher sein, dieses unterschiedliche Verhalten aufzuklären.

Aus den Ergebnissen dieses Teils der vorliegenden Arbeit ergibt sich ein anderer, diesmal sehr praxisnaher Aspekt. In Deutschland ist es noch immer sehr verbreitet, viele Lebensmittel vollständig zu kochen. Nach längerer Kochzeit (größer 15 Minuten) ist fast immer ein Abfall des aktiven β -Carotin und damit ein Verlust an antioxidativem Potential der Nahrung zu verzeichnen. Daher wird empfohlen, möglichst kurze Garzeiten einzuhalten, welche je nach Art des Gemüses aber nicht unter 10 Minuten liegen sollte. Dem gegarten Gemüse kann etwas Öl beigemischt werden, das die fettlöslichen Carotinoide über Mizellenbildung noch resorptionsfähiger macht.

Unter dem Eindruck der vorliegenden Resultate wäre es daher außerordentlich wertvoll, Techniken der asiatischen Küche (Dünsten, kurzes Anbraten, Öle) für die Essenzubereitung zu übernehmen.

4.3. β -Carotin in Bauernpflaumen während der Lagerung

Die Bauernpflaume (*Prunus domestica*), eine sehr alte, spätreife Obstsorte, ist bis heute in Deutschland sehr beliebt. Ausgestattet mit einem hohen Flavonoidgehalt (~1g/100g) wird sie häufig als Diät zu Kost bei Rheumatismus und Nierenerkrankungen eingesetzt. Die Bauernpflaume wurde in dieser Arbeit auch deshalb eingesetzt, weil die Messung mit dem Raman-Resonanzspektrometer sehr präzise und reproduzierbar erfolgen konnte. Voraussetzung dazu war die sehr homogene Zusammensetzung des Untersuchungsguts in Bezug auf die Größe, die Farbe (blau-schwarz) der Schale und den Reifegrad der Früchte.

Eine exakte Probenvorbereitung erlaubte trotz der gemessenen niedrigen β -Carotingehalte in den Früchten relevante Aussagen zu deren Veränderungen während der Lagerung.

Bei der Lagerung der frischen Früchte bei Raumtemperatur ($19\pm 4^\circ\text{C}$) wurde beginnend nach 24 Stunden ein Anstieg der β -Carotinkonzentration um 27,5 Prozent festgestellt, bevor bei 96 Stunden ein Abfall auf den Ausgangswert von Tag 1 erfolgte (Abb. 27). Im betrachteten Zeitraum blieb das Versuchsgut bemerkenswert stabil. Dagegen stieg der Wert für die Carotinoidkonzentration bei den in 37,5-prozentigen Alkohol eingelegten Bauernpflaumen und ebenfalls bei Raumtemperatur ($19\pm 4^\circ\text{C}$) gemessen, nach 48 Stunden auf ein Maximum von 47,8 Prozent zum Ausgangswert. Der nachfolgende Abfall lag jedoch bei Versuchsende nach 96 Stunden noch deutlich über dem Startwert.

Offenbar führt der hohe Alkoholgehalt zu einer verstärkten Freisetzung von β -Carotin in der Pflaume. Nach Lagerungszeiten größer als 48 Stunden tritt β -Carotin zunehmend in die alkoholische Phase über und wird damit der Messung an der Frucht entzogen.

Behandlung mit 37,5-prozentigem Alkohol führt damit zu einer deutlichen Erhöhung der Bioverfügbarkeit in der Frucht.

Bei Lagerung der Bauernpflaumen im Kühlschrank (6°C) ohne Alkoholzusatz unterliegt die β -Carotinkonzentration nur geringen Schwankungen (Abb. 29). Es kommt weder zu stärkeren Abfällen noch zu Anstiegen. Daraus folgt, dass diese Form der Lagerung das antioxidative Potential über längere Zeit stabil hält, da durch die Kälte natürliche Gärungs- und Fäulnisprozesse sehr stark verzögert werden. Die Bedingungen unter denen β -Carotin stabil bioverfügbar aufbewahrt werden kann, sind sehr spezifisch von der zu lagernden Frucht abhängig. Kranthi, L. et al. (71) beschäftigten sich 2012 mit der Lagerung von Grapefruits bei unterschiedlichen Erntezeiten. Diese Arbeit zeigte, dass

unter bestimmten Lagerungsbedingungen der Abfall der β -Carotinkonzentration nicht verhindert werden kann.

Andere Arbeiten beschäftigen sich mit der Lagerung von Früchten nach der Ernte (72, 73). Sie bestätigten die Notwendigkeit, für jedes Obst und Gemüse spezifische Lagerungsbedingungen festzulegen, um beim Transport von Übersee nach Deutschland frisch und ohne Nährstoffverlust den Endverbraucher zu erreichen.

Die Modifizierung des Versuchs im Kühlschrank bei 6 °C und durch Einlagerung der Pflaumen in 37,5-prozentigem Alkohol führte im Resultat zu einer Kombination zweier konservierender Maßnahmen. Wie im Falle der Lagerung mit Alkoholzugabe bei Zimmertemperatur (Abb. 28) zeigten die Messwerte einen stetigen Anstieg der β -Carotinkonzentration bis hin zu 96 Stunden. Alkohol führt damit offensichtlich zu einer Freisetzung von β -Carotin im Innern der Früchte. Dieser Prozess scheint streng von der Temperatur abzuhängen. Bei Raumtemperatur ($19\pm 4^\circ\text{C}$) war diese Freisetzung größer und schneller (Vergleich Abb. 28 und Abb. 30) als bei 6°C. So ist auch ableitbar, dass nach 96 Stunden Lagerung im Kühlschrank die Aktivierung des β -Carotins im Fruchttinnern nicht abgeschlossen ist.

5. Zusammenfassung

Eine der aktuellsten, in zahlreichen Arbeitsgruppen und wissenschaftlichen Publikationen diskutierten Fragen, ist die nach der Rolle von freien Radikalen und der ihrer Gegenspieler generell und speziell in der menschlichen Haut.

Diese Arbeit hatte das Ziel zu untersuchen, ob ein und welcher Zusammenhang zwischen dem antioxidativen Zustand der Haut und der Hautrauigkeit als makroskopische Messgröße der Hautalterung besteht.

Als Leitsubstanz für das antioxidative Schutzsystem wurden aus der Gruppe der Carotinoide Lycopin und β -Carotin, ausgewählt. Sie konnten durch Einsatz eines im Bereich Hautphysiologie der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Medizinischen Fakultät Charité-Universitätsmedizin Berlin speziell entwickelten Raman-Resonanzspektroskops nichtinvasiv in vivo und mit hoher Genauigkeit reproduzierbar bestimmt werden. Das ermöglichte, ein zweites Ziel in dieser Arbeit, die Beeinflussung der Bioverfügbarkeit von β -Carotin durch Variation der Garbedingungen bei Karotten, Paprika, Broccoli und Kartoffeln und durch unterschiedliche Lagerungsbedingungen für Bauernpflaumen zu verfolgen.

Die Experimente unter Einbeziehung des PRIMOS-3D-Messsystems führten zum Nachweis, dass in dem eng begrenzten Probandenkollektiv (40-50 Jahre) die Haut eine umso geringere Hautrauigkeit hatte, je höher der Antioxidantiengehalt war.

Diese erstmalig über den Lycopingehalt nachgewiesene Korrelation zeigte klar, welche Bedeutung die optimale Versorgung der Haut mit Carotinoiden für den Alterungsprozess hat und dass eine gesunde Ernährung eine sehr gute Präventionsstrategie gegen Hautalterung darstellt..

Die Bestimmung der Änderung der β -Carotinkonzentration während des Garens erlaubte für Karotten, Paprika, Broccoli und Kartoffeln eine grobe Einteilung in zwei Gruppen. In einer Gruppe steigen die β -Carotingehalte mit zunehmender Garzeit an (Karotte, gelber Paprika, Kartoffelsorte „Rosaria“). Die zweite Gruppe mit Broccoli, roter Paprika und den Kartoffelsorten „Arkula“ und „Adretta“ zeigt einen Abfall an bioverfügbarem β -Carotin. Für dieses Verhalten könnte die unterschiedliche Komposition der gesamten als Schutzkettensystem funktionierenden Antioxidantien in den Früchten verantwortlich sein. Überraschend war der β -Carotingehalt von „Rosaria“, einer rotschaligen Kartoffelsorte, vergleichbar hoch wie der von Karotten oder gelber Paprika.

Unterschiedliche Lagerungsbedingungen für Kernobst (*Prunus domestica*) führten zu starken Änderungen der gemessenen β -Carotinkonzentration. Bei Raumtemperatur steigt mit der Lagerzeit die Bioverfügbarkeit an, bei Aufbewahrung unter Kühlung (6°C) bleibt β -Carotin über 96 Stunden stabil. Zusatz von Alkohol steigert mit zunehmender Zeit die Bioverfügbarkeit des Carotinoids in den Früchten, bis ein Abfall durch Übertritt in die alkoholische Phase zu einem Rückgang an β -Carotin in der Frucht führt.

Diese Arbeit zeigt, dass Antioxidantien eine äußerst wichtige Funktion für den Zustand der Haut haben. Carotinoide wie Lycopin und β -Carotin haben dabei eine Schlüsselfunktion. Um eine optimale Versorgung mit diesen Substanzen zu ermöglichen, erlauben die Resultate der Garungs- und Lagerungsexperimente einen einfachen Ratschlag für die Küche: Gemüse sollte möglichst als Rohkost, nicht aber vollständig gegart gegessen werden. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass Obst und Gemüse nicht nur aus Carotinoiden, sondern auch aus verschiedenen Antioxidantien bestehen, welche sich gegenseitig vor der zerstörerischen Wirkung der freien Radikale schützen.

Ein sehr effektives Antioxidans, wie Vitamin C ist temperaturempfindlich, wird aber durch hohe Carotinoid-Konzentrationen stabilisiert.

Bauernpflaumen genießt man am besten nach 72 Stunden Lagerung in Alkohol. Die geringen Mengen an Alkohol, welche in den Früchten enthalten sind, sollten sich nicht oder nur in geringem Maße auf das antioxidative Schutzsystem der Haut auswirken.

Literaturverzeichnis

1. Schiebler T.H., Anatomie, Haut und Hautanhangsorgane, 9. Auflage 2005; Kap. 5.:154-166
2. http://www.skin-care-forum.basf.com/de/bilder/home_bilder/die-schutzfunktionen-der-haut/2004/02/17?id=e741d3ab-3eb3-42d6-8d2c-ef7149be0581&mode=Detail
3. Darr D, Fridovich I, Free Radicals und cutaneous biology. Journal of Investigative Dermatology. 1994;102: 671–675
4. Junqueira Luiz CU, Carneiro J, Glatzl M. Histologie, 6. Auflage, Springer Kapitel 17: 307-313
5. Meinke MC, Haag SF, Schanzer S, Groth N, Gersonde I, Lademann J. Radical Protection by Sunscreens in the Infrared Spectral Range. Photochemistry and Photobiology,2011;87:452-456
6. Imokawa G. Recent advances in characterizing biological mechanisms underlying UV-induced wrinkles: a pivotal role of fibroblast-derived elastase. Arch Dermatol Res. 2008; 300 (Suppl 1):7–20
7. Lademann J, Schanzer S, Richter H, Pelchrzim RV, Zastrow L, Golz K, Sterry W. Sunscreen application at the beach. Journal of Cosmetic Dermatology 2004; Vol.3: 62–68
8. Olmedilla B, Granado F, Southon S, Wright A J A, Blanco I, Gil-Martinez E, van den Berg H, Corridan B, Roussel A-M, Chopra M, Thurnham DI. Serum concentration of carotenoids and Vitamin A, E und C in control subjects from five European countries. BJN 2001;85:227-238
9. Afaq F, Mukhtar H. Botanical antioxidants in the prevention of photocarcinogenesis and photoaging. Exp. Dermatol. 2006; 15: 678-684
10. Rao AV, Rao LG. Carotenoids and human health. Pharmacological Research 2007; 55: 207–216
11. Krinsky NI. Antioxidant Functions of Carotenoids. Free Radical Biology & Medicine,1989;Vol. 7:617-635
12. Yaar M, Gilchrist BA. Photoageing: mechanism, prevention and therapy. British Journal of Dermatology. 2007;157:874–887
13. Ulfing N. Kurzlehrbuch Histologie. 2. Korrigierte Auflage, Thieme, 2005; Kapitel 12:217-225

14. http://www.skin-care-forum.basf.com/images/47_titelbild/scf_poster.jpg?sfvrsn=0
(überarbeitet)
15. Moll I. Duale Reihe Dermatologie, 6. komplett überarbeitete und erweiterte Auflage, Thieme, 2005; Kapitel 21:534-535
16. Lüllmann-Rauch R. Taschenlehrbuch Histologie, 3. vollständig überarbeitete Auflage. Thieme, 2009; Kapitel 22:526-535
17. <http://www.dermnetz.org/doctors/principles/images/epidermis.jpg> (überarbeitet)
18. Wrona M, Korytowski W, R´O`Zanowska, Sarna T, Truscott TG. Cooperation of antioxidants in Protection against photosensitized oxidation. Free Radical Biology & Medicine 2003; Vol.35, No. 10: 1319-1329
19. Darvin ME, Fluhr JW, Meinke MC, Zastrow L, Sterry W, Lademann J. Topical beta-carotene protects against infra-red-light-induced free radicals. Experimental Dermatol. 2011;20:125-129
20. Darvin ME, Haag SF, Lademann J, Zastrow L, Sterry W, Meinke MC. Formation of Free Radicals in Human Skin during Irradiation with Infrared Light. Journal of Investigative Dermatology. 2010; 130: 629–631
21. Schroeder P, Lademann J, Darvin ME, Stege H, Marks C, Bruhnke S Krutmann J. Infrared Radiation-Induced Matrix Metalloproteinase in Human Skin: Implications for Protection. Journal of Investigative Dermatology. 2008; 128:2491–2497
22. Bayerl C. Topische Externa in der Hautalterung. Der Hautarzt 2005;56:328-339
23. Blume-Peytavi U, Rolland A, Darvin ME, Constable A, Pineau I, Voit C, Zappel K, Schäfer-Hesterberg G, Meinke M, Clavez RL, Sterry W, Lademann J. Cutaneous lycopene and β -carotene levels measured by resonance Raman spectroscopy: High reliability and sensitivity to oral lactycopene deprivation and supplementation. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2009;73:187–194
24. Darvin ME, Patzelt A, Knorret F, Blume-Peytavi U, Sterry W, Lademann J. One-year study on the variation of carotenoid antioxidant substances in living human skin: influence of dietary supplementation and stress factors, Journal of Biomedical Optics. 2008; Vol. 13(4):044028-1-044028-9
25. Watzl B, Bub A. Carotinoide. Ernährungsumschau 2001; 48 (2): 71-74

26. Pfander H, Carotinoids an Overview. *Methods in Enzymology*. 1992; Vol. 213:3-13
27. Hughes DA. Effects of carotenoids on human immune function. *Proceedings of the Nutrition Society* 1999; 58: 713–718
28. Goodwin TW. Metabolism, Nutrition and function of carotenoids. *Ann. Rev.* 1986; 6: 97-273
29. Morton RA, Goodwin TW. Carotenoids and Vitamin A. *Brit. Med. Bull.* 1956; Vol.12 (1):37-43
30. Baranska M, Schütze W, Schulz H. Determination of Lycopene and β -Carotene Content in Tomato Fruits and Related Products: Comparison of FT-Raman, ATR-IR, and NIR Spectroscopy. *Anal. Chem.* 2006; 78 (24): 8456-8461
31. Darvin ME, Schanzer S, Teichmann A, Blume-Peytavi U, Sterry W, Lademann J. Functional Food und Bioverfügbarkeit im Zielorgan Haut. *Hautarzt.* 2006; 57: 286-290
32. Palozza P, Krinsky N. Antioxidant Effects of Carotenoids in Vivo and in Vitro: An Overview. *Methods in Enzymology* 1992; Vol. 213: 403-420
33. Hwang E-S, Stacewicz-Sapuntzakis M, Bowen PE. Effects of Heat Treatment on the Carotenoid and Tocopherol Composition of Tomato. *Journal of Food Science* 2012; Vol. 77 (10): C1109-C1114
34. Stahl W, Sies H. Carotenoids and Flavonoids Contribute to Nutritional Protection against Skin Damage from Sunlight. *Mol. Biotechnol*; 2007;37: 26-30
35. Edge R, McGarvey DJ, Truscott TG. The carotenoids as anti-oxidants-a review. *Journal of Photochemistry and Photobiology B. Biology* 1997; 41:189-200
36. Kasper H. *Ernährungsmedizin und Diätetik*. 11. Auflage, Urban & Fischer, 2009; 37-45
37. Sies H, Stahl W, Sundquist AR. Antioxidant Functions of Vitamins. Vitamins E and C, Beta-Carotene and Other Carotenoids. *Ann N Y Acad Sci.* 1992; 669 (30):7-20.
38. Vainio H, Rautalahti M. An International Evaluation of the Cancer Preventive Potential of Vitamin A. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1999; 8(1):107-109.

39. Meyer-Miebach E, Behnlian D, Regier M, Schuchmann HP. Lycopin und β -Carotinstabilität und –bioverfügbarkeit bei Möhrenprodukten. *Chemie Ingenieur Technik* 2004; 76 (4): 447-449
40. Rissanen T, Voutilainen S, Nyssönen K, Salonen R, Salonen JT. Low Plasma Lycopene Concentration Is Associated With Increased Intima-Media Thickness of the Carotid Artery Wall. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000;20:2677-2681
41. <http://www.vitalstoff-lexikon.de/index>, sekundäre Pflanzenstoffe, Carotinoide
42. Offord EA, Gautier J-C, Avanti O, Scaletta C, Runge F, Krämer K, Applegate LA. Photoprotective potential of Lycopene, β -Carotene, Vitamin E, Vitamin C and carnolic acid in UVA-irradiated human skin fibroblasts. *Free Radical Biology & Medicine* 2002; Vol. 32(12): 1293-1303
43. Chopra M, Thurnham DI. Antioxidants and lipoprotein metabolism. *Proceedings of the Nutrition Society* 1999; 58: 663–671
44. Dimitrov NV, Meyer C, Ullrey DE, Chenoweth W, Michelakis A, Malone W, Boone C, Fink G. Bioavailability of β -Carotene in humans. *Am J. Clin Nutr* 1988; 48:298-304
45. Stahl W, Krutmann J. Systemische Photoprotektion durch Carotinoide. *Hautarzt* 2006;57:281–285
46. Erdmann J, Bierer TL, Gugger ET. Absorption and Transport of Carotenoids. *Ann N Y Acad Sci.* 1993;691(31):76-85
47. Hahn A. Nahrungsergänzungsmittel. Neu überarbeitete Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, Sekundäre Pflanzenstoffe, 2006; Kapitel 10:347-365
48. Maurer N. Säure-Basenhaushalt und Antioxidantien. Säuren - Basen – Schlacken Pro und Contra - eine wissenschaftliche Diskussion. Springer-Verlag, 2007; Kapitel 11: 97-100
49. Ermakov IV, Maia R, Ermakova, Werner Gellermann, Lademann J. Noninvasive selective detection of lycopene and β -carotene in human skin using Raman spectroscopy. *Journal of Biomedical Optics.* 2004; 9(2): 332–338
50. <http://raman.de/htmlDE/basics/basicDe.html>

51. Hata TR, Scholz TA, Ermakov IV, McClane RW, Khachik F, Gellermann W, Pershing LK. Non-Invasive Raman Spectroscopic Detection of Carotenoids in Human Skin. *Journal of investigative dermatology* 2000; Vol.115:441-448
52. Darwin ME, Gersonde I, Albrecht H, Jacobi U, Sterry W, Lademann J. Nicht-invasive Bestimmung von β -Carotin und Lycopin in der menschlichen Haut. *Laborwelt* 2003; 4. Jahrgang, Vol.6:36-37
53. http://www.skin-care-forum.basf.com/de/bilder/home_bilder/spektrum-und-wirkung-des-sonnenlichts/2008/07/19?id=b500e517-d31a-41b8-aa05-942c6a85dbc4&mode=Detail
54. Zastrow L, Groth N, Klein F, Kockott D, Lademann J, Renneberg R, Ferrero L. The Missing Link-Light-induced (280-1,600 nm) Free Radical Formation in Human skin, *Skin Pharmacol Physiol* 2009;22:31–44
55. http://www.gfm3d.com/index.php?option=com_content&view=article&id=202%3Aprimos3d-zubehoer&catid=48&Itemid=83&lang=de
56. <http://www.questar-china.com/lifesci/gfm/primos.htm>
57. Jacobi U, Chen M, Frankowski G, Sinkgraven R, Hund M, Rzany B, Sterry W, Lademann J. In vivo determination of skin surface topography using an optical 3D device. *Skin Research and Technology* 2004; 10: 1–8
58. Meinke MC, Darwin ME, Vollert H, Lademann J. Bioavailability of natural carotenoids in human skin compared to blood, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2010; 76:269–274
59. Darwin ME, Fluhr JW, Schanzer S. Dermal carotenoid level and kinetics after topical and systemic administration of antioxidants: Enrichment strategies in a controlled in vivo study, *Journal of Dermatological Science* 2011; 64:53–58
60. Lademann J, Schanzer S, Meinke M, Sterry W, Darwin ME. Interaction between Carotenoids and Free Radicals in Human Skin, *Skin Pharmacol Physiol* 2011;24:238–244
61. Darwin ME, Patzelt A, Gehse S, Schanzer S, Benderoth C, Sterry W, Lademann J. Cutaneous concentration of lycopene correlates significantly with the roughness of the skin, *Eur J Pharm Biopharm*. 2008;69(3):943-7
62. Colle IJP, Lemmens LM, Tolesa GN, Van Bugghenhout S, De Vleeschouwer K, Van Loey AM, Hendrickx ME. Lycopene Degradation and Isomerization Kinetics during Thermal Processing of an Olive Oil/Tomato Emulsion, *J. Agric. Food Chem*. 2010; 58:12784–12789

63. Aust O, Stahl W, Sies H, Tronnier H, Heinrich U. Supplementation with Tomato-Based Products Increases Lycopene, Phytofluene, and Phytoene Levels in Human Serum and Protects Against UV-light-induced Erythema, *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 2005; 75 (1):54–60
64. Baranska M, Baranski R, Schulz H, Nothnagel T. Tissue-specific accumulation of carotenoids in carrot roots, *Planta.* 2006; 224:1028-1037
65. Alaluf S, Heinrich U, Stahl W, Tronnier H, Wiseman S. Dietary Carotenoids Contribute to Normal Human Skin Color and UV Photosensitivity. *J. Nutr.* 2002; 132 (3): 399-403
66. Stahl W, Heinrich U, Wiseman S, Eichler O, Sies H, Tronnier H. Dietary Tomato Paste Protects against Ultraviolet Light–Induced Erythema in Humans. *J Nutr.* 2001;131(5):1449-51.
67. Graziani G, Pernice R, Lanzuise S, Vitaglione P, Anese M, Fogliano V. Effect of peeling and heating on carotenoid content and antioxidant activity of tomato and tomato-virgin olive oil systems. *Eur Food Res Technol* 2003; 216:116–121
68. Boileau T W-M, Boileau AC, Erdman JW Jr, Bioavailability of all-trans and cis-Isomers of Lycopene, *Experimental Biology and Medicine* 2002; 227:914-919.
69. Khoo H-E, Prasad KN, Kong K-W. Carotenoids and Their Isomers: Color Pigments in Fruits and Vegetables. *Molecules* 2011; 16: 1710-1738
70. Knockaert G, Pulissey SK, Lemmens L, Van Buggenhout S, Hendrickx M, Van Loey A. Carrot β -Carotene Degradation and Isomerization Kinetics during Thermal Processing in the Presence of Oil, *J. Agric. Food Chem.* 2012; 60: 10312–10319
71. Chebrolu KK, Jayaprakasha GK, Jifon J, Patil BS. Production System and Storage Temperature Influence Grapefruit, Vitamin C, Limonoids, and Carotenoids, *J. Agric. Food Chem.* 2012; 60: 7096–7103
72. Rivera-Pastrana DM, Yahiab EM, Gonzalez-Aguilara GA. Phenolic and carotenoid profiles of papaya fruit (*Carica papaya* L.) and their contents under low temperature storage, *J Sci Food Agric* 2010; 90: 2358–2365
73. Caprioli I, LaFuente MT, Rodrigo MJ, Mencarelli F. Influence of Postharvest Treatments on Quality, Carotenoids and Abscisic Acid Content of Stored “Spring Belle” Peach (*Prunus persica*) Fruit, *J. Agric. Food Chem.* 2009; 57: 7056–7063

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Saskia Gehse, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Einfluss der Zubereitung von Obst und Gemüse auf die Carotinoide: Bedeutung für die Hautalterung“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.

Datum

Unterschrift

Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen

Saskia Gehse hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1:

Maxim Darvin, Alexa Patzelt, Saskia Gehse, Sabine Schanzer, Christian Benderoth, Wolfram Sterry, Juergen Lademann,

Cutaneous concentration of lycopene correlates significantly with the roughness of the skin, Eur J Pharm Biopharm. 2008 Aug;69(3):943-7.

Publikation 2:

S. Gehse, M. E. Darvin, A. Patzelt, S. Schanzer, J. Lademann, β -Carotin während der Zubereitung von Gemüse und Lagerung von Obst, Skin Pharmacology 2016, submitted.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin
