

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungs- und Symbolverzeichnis	V
1 Grundlagen und Kenntnisstand.....	1
1.1 Sekundäre Pflanzenstoffe: Polyphenole	1
1.1.1 Biosynthese der Polyphenole	6
1.2 Rooibos (<i>Aspalathus linearis</i>).....	8
1.2.1 Anbau, Kultivierung und Technologie.....	9
1.2.2 Inhaltsstoffe und Zusammensetzung.....	10
1.2.2.1 Polyphenolische Bestandteile	11
1.2.3 Fermentation.....	12
1.2.4 Physiologische Effekte	13
1.3 Metabolismus und Nutrikinetik	15
1.3.1 Metabolismus von Flavonoiden	18
1.3.1.1 Metabolismus von Flavonolen	18
1.3.1.2 Metabolismus von Flavonen	25
1.4 Countercurrent Chromatography (CCC).....	26
1.4.1 High-Speed Countercurrent Chromatography (HSCCC).....	28
1.5 Zielsetzung und Problemstellung.....	29
2 Ergebnisse und Diskussion	31
2.1 Analyse von Rooibos (<i>Aspalathus linearis</i>)	31
2.1.1 Methanolische Extraktion	31
2.1.1.1 Quantifizierung der Hauptflavonoide	35
2.1.1.2 Gesamtpolyphenolgehalt und antioxidatives Potential.....	37
2.1.1.3 Anreicherung von Polyphenolen durch Polyamid-Säulenchromatographie.....	40
2.1.1.4 Bestimmung von Flavan-3-olen (Catechinen)	43
2.1.1.5 Bestimmung von Hydroxyzimtsäurederivaten (Chlorogensäuren)	44
2.1.2 Bestimmung von Proanthocyanidinen	45
2.1.3 Bestimmung von Spaltprodukten nach Phloroglucinolyse	48
2.1.4 Bestimmung der Lagerstabilität von Rooibosflavonoiden.....	51

2.1.4.1	Fertiggetränke	51
2.1.4.2	Inkubation von Aspalathin und Nothofagin.....	53
2.2	1. Humanstudie: Rooibostee & aktive Fraktion.....	57
2.2.1	Bioverfügbarkeitsstudien mit Rooibos.....	57
2.2.2	Studiendesign	57
2.2.3	Isolierung der aktiven Fraktion	59
2.2.4	Quantifizierung der Prüfprodukte	64
2.2.4.1	Rooibostee.....	64
2.2.4.2	Aktive Fraktion	65
2.2.5	Grundlagen zur Plasma- und Urinaufarbeitung	66
2.2.5.1	Entwicklung einer Methode zur Plasmaaufarbeitung.....	68
2.2.5.2	Entwicklung einer Methode zur Urinaufarbeitung	74
2.2.6	Synthese wichtiger Metabolite des Aspalathins.....	78
2.2.6.1	Methylierung von Aspalathin	78
2.2.6.2	Glucuronidierung von Aspalathin.....	79
2.2.6.3	Sulfatierung von Aspalathin	79
2.2.7	Qualitative Analyse der Urin- und Plasmaproben.....	82
2.2.7.1	Urin	82
2.2.7.2	Plasma	95
2.2.8	Quantitative Analyse der Urin- und Plasmaproben.....	100
2.2.8.1	Urin	100
2.2.8.2	Plasma	110
2.2.9	Antioxidatives Potential der Plasmaproben (ORAC).....	116
2.3	2. Humanstudie: frisches & gelagertes Fertiggetränk.....	119
2.3.1	Quantifizierung der Prüfprodukte	119
2.3.2	Qualitative Analyse der Urin- und Plasmaproben.....	120
2.3.2.1	Urin	120
2.3.2.2	Plasma	122
2.3.3	Quantitative Analyse der Urin- und Plasmaproben.....	123
2.3.3.1	Urin	123
2.3.3.2	Plasma	129
3	Zusammenfassung.....	135
4	Material und Methoden	139
4.1	Pflanzenmaterial	139
4.2	Chemikalien und Lösungsmittel	139
4.3	Geräte und Parameter.....	141
4.3.1	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC).....	141
4.3.1.1	Fließmittel, Gradienten und Säulen für die HPLC und LC-MS/MS	142

4.3.2	Massenspektrometrie (LC-MS).....	145
4.3.3	High Speed Countercurrent Chromatography (HSCCC).....	146
4.3.3.1	Fließmittelsysteme und Parameter für die HSCCC	146
4.3.4	NMR-Spektroskopie.....	146
4.4	Standardmethoden.....	147
4.4.1	Extrahierbare Feststoffe (TSS).....	147
4.4.2	Antioxidatives Potential (TEAC).....	147
4.4.3	Gesamtpolyphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu).....	148
4.4.4	Verteilungsversuche für die HSCCC	149
4.4.5	Arbeitsschritte am Institut für Lebensmittelwissenschaft und Humanernährung (Universität Hannover).....	150
4.4.5.1	Herstellung der Prüfprodukte.....	150
4.4.5.2	Gewinnung der Plasmaproben	150
4.4.5.3	Stabilisierung der Urinproben.....	150
4.5	Analytische und präparative Methoden	150
4.5.1	Flavonoidbestimmung nach methanolischer Extraktion	150
4.5.2	Flavonoidbestimmung nach wässriger Extraktion	152
4.5.3	Polyphenolanreicherung durch Polyamid-Säulenchromatographie	152
4.5.4	Bestimmung der Flavan-3-ole (Catechine)	154
4.5.5	Bestimmung der Hydroxyzimtsäurederivate.....	154
4.5.6	Bestimmung der Proanthocyanidine	156
4.5.7	Bestimmung der Spaltprodukte nach Phloroglucinolyse	157
4.5.8	Analyse der Lagerproben	158
4.5.9	Inkubation von Aspalathin und Nothofagin	159
4.5.10	Isolierung der aktiven Fraktion	160
4.5.11	Quantifizierung der Prüfprodukte	161
4.5.11.1	Aktive Fraktion.....	161
4.5.11.2	Rooibostee	162
4.5.11.3	Fertigetränke.....	162
4.5.12	Entwicklung einer Methode zur Plasma- und Urinaufarbeitung.....	162
4.5.12.1	Plasmaaufarbeitung	163
4.5.12.2	Urinaufarbeitung	164
4.5.12.3	Berechnung der Fläche unterhalb der Konzentrations-Zeit-Kurve	166
4.5.13	Synthese von Aspalathinderivaten	167
4.5.13.1	Methylierung von Aspalathin.....	167
4.5.13.2	Sulfatierung von Aspalathin.....	167
4.5.13.3	Glucuronidierung von Aspalathin	167
5	Literatur.....	169
6	Anhang	183

6.1	Ein- und Ausschlusskriterien zur Teilnahme an den Humanstudien	183
6.2	Während des Studienzeitraums zu meidende flavonoidreiche Lebens- und Genussmittel	184
6.3	Standardisierte und energieadjustierte Kost während der Untersuchungstage	185
6.4	Flavonoidgehalte der Rooibosformulierungen	186
6.4.1	Rooibostee	186
6.4.2	Aktive Fraktion	186
6.4.3	Frisches und gelagertes Fertiggetränk	187