

Einfluss von Fruchtsaftinhaltsstoffen auf Biomarker des Lipidstoffwechsels



Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle(n):	Technische Universität Kaiserslautern Fachbereich Chemie Fachrichtung Lebensmittelchemie und Toxikologie Prof. Dr. Elke Richling Technische Universität Braunschweig Institut für Lebensmittelchemie Prof. Dr. Peter Winterhalter
Industriegruppe(n):	Verband der deutschen Fruchtsaft-Industrie e.V. (VdF), Bonn
Projektkoordinator:	Dr. Volker Herdegen Eckes-Granini Group GmbH, Nieder-Olm
Laufzeit:	2018 – 2022
Zuwendungssumme:	€ 492.380,--

Ausgangssituation

In den letzten Jahren stieg aufgrund eines erhöhten Ernährungsbewusstseins die Nachfrage nach Lebensmitteln mit chemoprotektivem Potential. Früchte enthalten neben Vitaminen einen signifikanten Anteil weiterer bioaktiver Inhaltsstoffe. Ein hoher Frucht- und Gemüsekonsum ist invers korreliert mit zahlreichen Erkrankungen, wie Diabetes mellitus Typ 2 oder kardiovaskulären Erkrankungen.

Das National Cancer Institute (NCI) der USA und die Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (DGE) empfehlen, täglich mindestens fünf Portionen Obst und Gemüse zu verzehren, um dem Körper ausreichende Mengen an protektiven sekundären Pflanzeninhaltsstoffen zuzuführen. Da der durchschnittliche Obst- und Gemüseverzehr in Deutschland derzeit aber unter diesen Werten liegt, stellen Fruchtsäfte prinzipiell eine gute Möglichkeit zur Aufnahme präventiv wirkender sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe dar.

Aus der Gruppe der sekundären Pflanzeninhaltsstoffe sind in den vergangenen Jahren insbesondere die Flavonoide in den Mittelpunkt des wissenschaftlichen Interesses gerückt und in Hinblick auf ihre gesundheitsförderlichen Eigenschaften vorwiegend mittels epidemiologischer, In-vitro-, aber auch In-vivo-Studien untersucht worden. Hinweise aus aktuellen Humanstudien deuten darauf hin, dass durch Fruchtsaftkonsum (Mischfruchtsaft bzw. roter Traubensaft) die Körperfettmasse reduziert werden kann.

Ziel des Forschungsvorhabens war die Identifizierung von Inhaltsstoffen in Fruchtsäften, die maßgeblich Biomarker des Lipidstoffwechsels beeinflussen können. Zuerst sollten Extrakte aus Fruchtsäften und Konzentraten hergestellt werden und in verschiedenen In-vitro-Assays (Phosphodiesterase (PDE)3B-Aktivität, Lipidakkumulation und Lipolyse in 3T3-L1-Zellen) auf ihre biologische Aktivität getestet werden. Zentrale Hypothese war

hierbei, dass sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe von Fruchtsäften (insbesondere von Buntsäften) in der Lage sind, regulierend in den Lipidstoffwechsel einzugreifen. Diese Inhaltsstoffe sollten über eine aktivitätsorientierte Fraktionierung der Saftextrakte identifiziert und strukturell charakterisiert werden. Im Rahmen einer Humanstudie sollte anschließend überprüft werden, ob die zu erwartenden Effekte im Menschen verifizierbar sind. Dazu wurde im zweiten Projektabschnitt eine In-vivo-Studie zur Beeinflussung des Lipidstoffwechsels von gesunden Personen angestrebt, die einen roten Fruchtsaft gegen ein Placebogetränk über acht Wochen konsumierten. Dabei waren eine Beeinflussung der Körperzusammensetzung (Fettmasse und fettfreie Masse) sowie eine Beeinflussung des Fettstoffwechsels (PDE-Aktivität in Thrombozyten sowie Gesamtcholesterin, HDL-, LDL-Cholesterin, Triglyceride und Lipase) das Ziel.

Forschungsergebnis

Im ersten Projektabschnitt wurden aus 20 Fruchtsäften und Saftkonzentraten aus neun verschiedenen Obstsorten (Aronia, Cranberry, Granatapfel, Heidelbeere, Holunderbeere, Orange, rote Traube, Sauerkirsche und schwarze Johannisbeere) Extrakte durch säulenchromatographische Extraktion zur Anreicherung der phenolischen Verbindungen mittels des Adsorbermaterials XAD7 hergestellt. Diese Extrakte wurden in drei verschiedenen In-vitro-Assays des Lipidstoffwechsels (PDE3B-Aktivität, Lipidakkumulation und Lipolyse) getestet. Charakterisiert wurden die Extrakte mittels HPLC-ESI-MS/MS, dem Gesamtpolyphenolgehalt mittels Folin-Ciocalteu und der antioxidativen Aktivität mit dem TEAC-Assay. Dabei zeigten die Extrakte aus Säften bzw. Konzentraten von Granatapfel, Aronia, Schwarzer Johannisbeere und Roter Traube die höchsten Gesamtpolyphenolgehalte und antioxidative Kapazität, die Orangenextrakte die geringsten. Die Extrakte unterschieden sich auch in ihren phenolischen Inhaltsstoffen – es wurden Stoffklassen der Phenolsäuren, Flavonoiden, hydrolysierbaren Tanninen und Anthocyanen identifiziert. Im Screening der verschiedenen Extrakte aus roten Fruchtsäften und Konzentraten zeigte sich, dass alle Extrakte potente Inhibitoren des Enzymes PDE3B sind. Sie reduzieren die Lipidakkumulation und können auch die Lipolyse in 3T3-L1-Zellen induzieren. Extrakte aus Säften bzw. Konzentraten von Aronia, Cranberry und Granatapfel zeigten tendenziell eine stärkere Wirkung in vitro, während bei Extrakten aus Säften bzw. Konzentraten von roter Traube, Sauerkirsche und Holunderbeere eine geringere biologische Aktivität beobachtet wurde.

Die aktivitätsorientierte Fraktionierung erfolgte mit den drei potentesten Extrakten aus Aronia-, Cranberry- und Granatapfelsaftkonzentrat. Mittels membran chromatographischer Trennung wurden die Anthocyane von den restlichen polyphenolischen Bestandteilen (Copigmenten) getrennt. Die Extrakte aus Aroniasaftkonzentrat wiesen einen leicht erhöhten Anthocyananteil auf, wobei die Extrakte aus Cranberry- und Granatapfelsaftkonzentrat einen deutlich höheren Copigmentanteil zeigten. Strukturell setzte sich die Aronia-Anthocyanfraktion aus verschiedenen Cyanidin-Glykosiden und die Aronia-Copigmentfraktion aus Chlorogensäuren und Quercetin-Glykosiden zusammen. Bei den Cranberryextrakten handelte es sich bei den Anthocyanen hauptsächlich um verschiedene Cyanidin- und Peonidin-Glykoside und bei den Copigmenten um Phenolsäuren, Kaffeesäure, Cumarsäure und Chlorogensäuren sowie um Flavonoide, wie Myricetin-, Quercetin- und Syringetin-Glykoside. Die Granatapfel-Anthocyane enthielten Delphinidin- und Cyanidin-Monoglucoside sowie -Diglucoside, die Copigmente enthielten hauptsächlich hydrolysierbare Tannine, wie Punicalin und Punicalagin. Zur Anreicherung der polymeren Bestandteile aus den Extrakten wurde die bedingte Löslichkeit der höhermolekularen Verbindungen in unpolaren Lösungsmitteln ausgenutzt und die Polymere mittels Hexan ausgefällt. Nach Testung der Fraktionen (Anthocyane, Copigmente, Polymere) in den In-vitro-Assays wurden die beiden potentesten Fraktionen (Cranberry- und Granatapfel-Copigmente) mittels High-Performance-Counter-Current-Chromatographie (HPCCC) bzw. Centrifugal-Partition-Chromatographie (CPC) weiter aufgetrennt (subfraktioniert). Dadurch konnten Subfraktionen mit unterschiedlicher stofflicher Zusammensetzung erhalten werden, deren Verbindungen mittels HPLC-ESI-MS/MS identifiziert wurden. Durch die Copigment-Subfraktionen, die u.a. Phenolsäuren, Flavonoide oder hydrolysierbare Tannine enthielten, konnte sowohl eine Inhibierung der PDE3B-Aktivität als auch eine Reduzierung der Lipidakkumulation in 3T3-L1-Zellen in vitro beobachtet werden.

Wesentliche Erkenntnisse der aktivitätsgeleiteten Fraktionierungen sind, dass neben den Anthocyanen, wie z.B. Cyanidin-3-Glucosid, insbesondere auch verschiedene in den Copigmentfraktionen enthaltene

Inhaltsstoffe den Lipidstoffwechsel beeinflussen können. So gibt es erste Hinweise darauf, dass hier Zimtsäurederivate (Chlorogensäuren), Flavonoide (Quercetin und Quercetinderivate) sowie hydrolysierbare Tannine (Ellagsäurederivate, Punicalagin) wichtige Beiträge leisten.

Inwieweit die in vitro erhaltenen Ergebnisse auf die In-vivo-Situation im Menschen übertragbar sind, sollte durch eine humane Interventionsstudie geklärt werden, bei der die Wirksamkeit eines Testgetränkes im Vergleich zu einem Placebogetränk untersucht wurde. Das Testgetränk wurde aus Säften der roten Früchte Aro- nia, Cranberry und Granatapfel hergestellt, welche in den In-vitro-Assays die potentesten Wirkungen gezeigt hatten.

Nach einer einwöchigen Wash-out-Phase konsumierten die Probanden acht Wochen lang täglich 750 mL des Testgetränkes oder des Placebogetränkes. Nach der Wash-out-Phase sowie nach vier und acht Wochen Intervention wurden Blutproben entnommen, um Biomarker des Lipidstoffwechsels, wie Blutlipide und PDE-Aktivität in Thrombozyten, zu analysieren. Darüber hinaus wurden die Auswirkungen auf das Körpergewicht und die Körperzusammensetzung sowie auf die Nahrungsaufnahme untersucht. Die erzielten Ergebnisse deuten darauf hin, dass Fruchtsaftinhaltsstoffe regulierend in den Lipidstoffwechsel des Menschen eingreifen und diesen positiv beeinflussen können. Im Rahmen des Fruchtsaftkonsums wurde bei der Testgruppe eine Reduzierung der Energie- und Fettaufnahme, eine signifikante Erhöhung der fettfreien Masse, eine Abnahme der Triglyceridwerte und der PDE-Aktivität nach vierwöchiger Interventionszeit des Testgetränkes beobachtet. Allerdings wurden in der Kontrollgruppe bei den meisten erfassten Biomarkern ähnliche Wirkungen beobachtet, wobei in der Testgruppe die Effekte stärker ausgeprägt waren.

Abschließend wurde die Lagerstabilität des Testgetränkes über sechs Monate unter verschiedenen Bedingungen (Kühlschrank, dunkler Schrank bei Raumtemperatur und auf der Fensterbank) untersucht. Bei der Untersuchung der Lagerstabilität des Testgetränkes zeigte sich, dass eine lichtgeschützte und kühle Lagerung für den Erhalt der bioaktiven Schlüsselkomponenten zu bevorzugen ist.

Wirtschaftliche Bedeutung

Die deutsche Fruchtsaftindustrie ist mit ihren 172 Unternehmen mittelständisch strukturiert. Der Gesamtumsatz der Branche belief sich im Geschäftsjahr 2020 auf ca. 3,17 Mrd. €.

Auf Basis der Ergebnisse können Fruchtsaftproduzenten neue Produkte (Fruchtsäfte, Smoothies, Shots, Fruchtextrakte und -zubereitungen) mit gesundheitlichen Wirkungen bzw. optimierter Funktionalität herstellen. Der Produktbereich funktionelle Lebensmittel mit höheren Deckungsbeiträgen bietet insbesondere kleinen und mittleren Unternehmen (KMU) eine Chance, ihre Wettbewerbsfähigkeit zu erhöhen.

Die gewonnenen Erkenntnisse können zudem als Basis für darauf aufbauende Bemühungen um Health Claims dienen. Die Health-Claims-Verordnung zwingt die Hersteller zur Erfassung sehr aufwändiger Wirkungsnachweise, die KMU mangels eigener Forschungsressourcen alleine nicht tragen können. Die Ergebnisse bieten Unternehmen die Chance, diesbezügliche Wirkungsstudien zielführender und ökonomisch effizienter anzulegen oder die Ergebnisse zumindest werbewirksam einzusetzen.

Das Wissen um die gesundheitsfördernden Inhaltsstoffe von Früchten/Fruchtsäften sowie der Beleg ihrer Wirksamkeit (z. B. einer lipidregulierenden Wirkung) sind insbesondere in Hinblick auf die oftmals negative Berichterstattung in den Medien wichtig. Letztere bezieht sich oftmals allein auf zu hohe Zuckergehalte, ohne die positiven Inhaltsstoffe von Fruchtsäften, wie z. B. sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe (Polyphenole, Carotinoide), zu berücksichtigen, was zur Verunsicherung der Verbraucher beiträgt. Im Jahr 2020 lag der Pro-Kopf-Verbrauch an Fruchtsäften und -nektaren in Deutschland nur noch bei ca. 30 L p.a; der Rekordwert von ca. 42 L p.a. wurde in 2003 erzielt.

Publikationen (Auswahl)

1. FEI-Schlussbericht 2022.
2. Niesen, S., Göttel, C., Becker, H., Bakuradze, T., Winterhalter, P. & Richling, E.: Fractionation of Extracts from Black Chokeberry, Cranberry, and Pomegranate to Identify Compounds That Influence Lipid Metabolism. *Foods* 11, 570–596 (2022). DOI: 10.3390/foods11040570.
3. Göttel, C., Becker, H., Niesen, S., Bakuradze, T., Winterhalter, P. & Richling, E.: Einfluss anthocyanreicher Extrakte aus Fruchtsaftkonzentraten und deren Fraktionen auf den Lipidstoffwechsel in vitro. *Lebensmittelchem.* 75, S1-087–S1-088 (2021). DOI: 10.1002/lemi.202155010.
4. Göttel, C., Niesen, S., Daub, V., Werle, T., Bakuradze, T., Winterhalter, P. & Richling, E.: In Vitro Inhibition of Phosphodiesterase 3B (PDE 3B) by Anthocyanin-Rich Fruit Juice Extracts and Selected Anthocyanins. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 6934–6952 (2020). DOI: 10.3390/ijms21186934.

Weiteres Informationsmaterial

Technische Universität Kaiserslautern
Fachbereich Chemie
Fachrichtung Lebensmittelchemie und Toxikologie
Erwin-Schrödinger-Straße 52, 67663 Kaiserslautern
Tel.: +49 631 205-4061
Fax: +49 631 205-3085
E-Mail: richling@chemie.uni-kl.de

Technische Universität Braunschweig
Institut für Lebensmittelchemie
Schleinitzstraße 20, 38106 Braunschweig
Tel.: +49 531 391-7202
Fax: +49 531 391-7230
E-Mail: p.winterhalter@tu-bs.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 125, 53175 Bonn
Tel.: +49 228 3079699-0
Fax: +49 228 3079699-9
E-Mail: fei@fei-bonn.de

Förderhinweis

... ein Projekt der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)

Gefördert durch:



Das o. g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wird/wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.