

Artikel

Holunderbeerenhydrolat: Untersuchung des chemischen Profils, Antioxidans Wirksamkeit und Antigenotoxizität für kosmetische Anwendungen

Sara Gonçalves 1,2,3,*, Francisco Peixoto 4, Katja Schoss 5, Nina Kožčevar Glavač 5 und Isabel Gaivão 2,3

¹ Akademisches klinisches Zentrum von Trás-os-Montes und Alto Douro (CACTMAD), Universität von Trás-os-Montes und Alto Douro, 5000-801 Vila

² Real, Portugal Zentrum für Tierwissenschaften und Veterinärstudien (CECAV), Abteilung für Genetik und Biotechnologie, Fakultät für Lebens- und Umweltwissenschaften, Universität Trás-os-Montes und Alto Douro, 5000-801 Vila Real,

³ Portugal; igaivao@utad.pt Assoziiertes Labor für Tier- und Veterinärwissenschaften (AL4AnimalS), Universität Trás-os-Montes und Alto Douro, 5000-801

⁴ Vila Real, Portugal Centro de Química de Vila Real (CQVR), Abteilung für Biologie und Umwelt, Universität von Trás-os-Montes und Alto Douro, 5000-801 Vila Real, Portugal;

⁵ fpeixoto@utad.pt Abteilung für Pharmazeutische Biologie, Fakultät für Pharmazie, Universität

Ljubljana, Aškercjeva 7, 1000 Ljubljana, Slowenien; katja.schoss@ffa.uni-lj.si (KS); nina.kocevar.glavac@ffa.uni-lj.si (NK)

* Korrespondenz: sgoncalves@utad.pt

Zusammenfassung: Das durch Wasserdampfdestillation gewonnene Holunderhydrolat (*Sambucus nigra* L.) ist ein vielversprechender multifunktionaler Inhaltsstoff für Hautpflege- und Kosmetikanwendungen. Diese Studie untersucht die chemische Zusammensetzung und die biologischen Aktivitäten des durch Wasserdampfdestillation gewonnenen Holunderhydrolats. Trotz des wachsenden Interesses an Holunderhydrolat mangelt es an umfassenden Studien, die seine chemische Zusammensetzung und seine potenziellen bioaktiven Bestandteile aufklären. Um diese Lücke zu schließen, haben wir eine detaillierte Analyse der Zusammensetzung, der antioxidativen Aktivität und der Antigenotoxizität des Holunderhydrolats durchgeführt. Zur Bewertung seiner biologischen Eigenschaften wurden genotoxische Bewertungen und antioxidative Tests (ABTS, DPPH) durchgeführt. Durch den Wasserdampfdestillationsprozess haben wir Holunderhydrolat mit einem bemerkenswerten Transfer aromatischer Verbindungen erhalten, was seine Wirksamkeit und Nachhaltigkeit unterstreicht. Die chemische Charakterisierung identifizierte wichtige Verbindungen, darunter Phenylacetaldehyd, 2-Acetylpyrrol und einen nicht identifizierten Hauptbestandteil, die zusammen zu den aromatischen und biologischen Eigenschaften des Hydrolats beitragen. Die genotoxische Bewertung mittels Comet-Test zeigte die schützende Wirkung des Hydrolats gegen durch Wasserstoffperoxid und Der optimale DNA-Schutz wurde bei 10 % (w/v) beobachtet, was auf die antioxidative Aktivität der identifizierten Verbindungen zurückzuführen ist. Das Hydrolat wies ein signifikantes antioxidatives Potenzial auf, zeigte konzentrationsabhängige Reaktionen und korrelierte mit höheren Konzentrationen mit erhöhter antioxidativer Aktivität. Diese Ergebnisse unterstreichen die vielfältigen Eigenschaften von Holunderhydrolat und positionieren es als vielversprechenden natürlichen Inhaltsstoff für Hautpflegeprodukte. Diese Studie unterstützt Holunderhydrolat als wertvolle natürliche und nachhaltige Produktentwicklungsressource.

Schlüsselwörter: Holunderbeerenhydrolat; Wasserdampfdestillation; Antioxidantien; Kosmetika; chemische Charakterisierung



Zitat: Gonçalves, S.; Peixoto, F.; Schoss, K.; Glavač, NK; Gaivão, I. Holunderbeerenhydrolat: Untersuchung des chemischen Profils, der antioxidativen Wirksamkeit und der Antigenotoxizität für kosmetische Anwendungen. *Appl. Sci.* **2024**, *14*, 6338. <https://doi.org/10.3390/app14146338>

Akademische Herausgeber: Antony C. Calokerinos, Charalampos Proestos, Mustafa Bener und Vassilia J. Sinanoglou

Empfangen: 18. Juni 2024

Überarbeitet: 13. Juli 2024

Akzeptiert: 19. Juli 2024

Veröffentlicht: 20. Juli 2024



Copyright: © 2024 bei den Autoren. Lizenznehmer MDPI, Basel, Schweiz.

Dieser Artikel ist ein Open Access-Artikel vertrieben unter den Bedingungen und Bedingungen der Creative Commons

Namensnennungslizenz (CC BY)

(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Einleitung

Aufgrund des gestiegenen Umweltbewusstseins besteht ein wachsendes Interesse an natürlichen Inhaltsstoffen für den Einsatz in Kosmetikprodukten. Um natürliche Inhaltsstoffe zu einer spannenden und wirtschaftlich nachhaltigen Quelle bioaktiver Verbindungen zu machen, ist die Auswahl und Optimierung geeigneter umweltfreundlicher Extraktionstechnologien, die die Rückgewinnung und Nachhaltigkeit der Zielanalysen ermöglichen, unverzichtbar.

Holunder (*Sambucus nigra* L.) ist aufgrund seines hohen Gehalts an Phytochemikalien für seine historischen und zeitgenössischen Anwendungen in der traditionellen Medizin, der Kochkunst und in funktionellen Lebensmitteln weithin anerkannt [1]. Zu den vielfältigen Produkten, die aus Holunder gewonnen werden, ge

Aufgrund ihrer potenziellen gesundheitlichen Vorteile und multifunktionalen Eigenschaften erfreuen sich Holunderbeerenhydrolate zunehmender Aufmerksamkeit [2]. Hydrolate, auch Hydrosole, Blütenwasser oder Destillate genannt, sind wässrige Nebenprodukte, die bei der Extraktion ätherischer Öle entstehen [3]. Diese Nebenprodukte werden wegen ihres aromatischen Profils und ihres Spektrums an bioaktiven Verbindungen geschätzt, die sich von denen der entsprechenden ätherischen Öle unterscheiden [4]. Insbesondere Holunderbeerenhydrolat ist vielversprechend als wertvolle Ressource für verschiedene Anwendungen, einschließlich Kosmetik und Aromatherapie [5,6].

Trotz des wachsenden Interesses an Holunderbeerenhydrolat gibt es noch immer einen Mangel an umfassenden Studien, die seine chemische Zusammensetzung und seine potenziellen bioaktiven Bestandteile aufklären. Solche Untersuchungen sind unerlässlich, um die potenziellen Vorteile und Anwendungen des Hydrolats vollständig zu verstehen. Studien deuten darauf hin, dass Holunderbeeren bedeutende antioxidative und antigenotoxische Eigenschaften besitzen, doch sind detaillierte Untersuchungen erforderlich, um seine potenziellen Vorteile und Anwendungen vollständig zu verstehen [7,8]. Um diese Lücke zu schließen, führt unsere Studie eine eingehende Analyse des chemischen Profils und der biologischen Aktivitäten von Holunderbeerenhydrolat durch, das durch Wasserdampfdestillation gewonnen wird.

Wir verwenden eine Reihe von Methoden, darunter Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) zur chemischen Charakterisierung, Antioxidantien-Tests (ABTS, DPPH) und genotoxische Bewertungen mithilfe des Comet-Tests zur Bewertung der biologischen Eigenschaften. Durch die Aufklärung der antioxidativen Wirksamkeit und Antigenotoxizität von Holunderbeerenhydrolat möchten wir wertvolle Einblicke in seine potenziellen Anwendungen, insbesondere in der Kosmetikindustrie, geben. Unsere Erkenntnisse tragen zum breiteren Kontext der Forschung und Entwicklung von Naturprodukten bei und heben Holunderbeerenhydrolat als vielversprechenden, nachhaltigen und multifunktionalen Inhaltsstoff für Hautpflegeformulierungen hervor. Diese umfassende Untersuchung zielt darauf ab, Licht auf die vielseitige Bioressource zu werfen, die Holunderbeerenhydrolat bietet, und seine Bedeutung als nachhaltiges und wertvolles Gut für die zukünftige Produktentwicklung hervorzuheben.

2. Materialien und Methoden

2.1. Zellen

Von einer gesunden 35-jährigen Freiwilligen wurden periphere Blutproben entnommen. Sie war Nichtraucherin, trank keinen Alkohol, hatte keine gesundheitlichen Probleme und hatte in den sechs Monaten vor der Studie keine Medikamente eingenommen. Diese Forschung wurde mit Genehmigung des Ethikkomitees der Universität Trás-os-Montes und Alto Douro (Doc4-CE-UTAD-2023) und in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki durchgeführt.

2.2. Chemikalien

Das Streptonigrin (CAS 3930–19-6) wurde von Santa Cruz Biotechnology Inc. aus Santa Cruz, TX, USA, bezogen. Das Fpg (Formamidopyrimidin[fapy]-DNA-Glycosylase) wurde von New England BioLabs (Ipswich, MA, USA) bezogen. Das Ethylacetat ACS (Reag. Ph. Eur./USP) und NaCl wurden von Carlo Erba Reagents (Val-de-Reuil, Frankreich) bezogen. Das destillierte Wasser wurde von MedicalShop (Ponte de Lima, Portugal) bezogen.

Die Destillationsapparatur wurde von Agrosprof (Braga, Portugal) erworben. Das n-Hexan -GC-MS (SupraSolv), Phenylacetaldehyd und alle anderen Chemikalien wurden von Merck (Darmstadt, Deutschland) erworben.

2.3. Lyselösung Die

Lyselösung wurde durch Kombinieren von 2,5 M NaCl, 0,1 M Dinatrium-EDTA und 0,01 M Tris-Base und Einstellen des pH-Werts auf 10 hergestellt. Zunächst wurde die Mischung, mit Ausnahme von Triton X-100, in destilliertem Wasser bis knapp unter das Endvolumen gelöst, mit genauen Mengen jeder Verbindung. Der pH-Wert wurde dann mit einer 10 M NaOH-Lösung 1 Stunde lang bei 4 °C auf 10 eingestellt. Schließlich wurde der Lyselösung vor der Verwendung 1 % Triton X-100 hinzugefügt.

2.4. Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS)

Eine PBS-Lösung wurde hergestellt, indem genaue Mengen von 2 mM KH₂PO₄, 10 mM Na₂HPO₄, 2,7 mM KCl und 137 mM NaCl in destilliertem Wasser gelöst wurden, knapp unter der endgültigen erforderlichen

Volumen. Der pH-Wert wurde dann mit einer 1 M HCl-Lösung auf 7,4 eingestellt. Abschließend wurde das restliche Wasser hinzugefügt, um das gewünschte Endvolumen der PBS-Lösung zu erreichen.

2.5. Enzymreaktionspuffer für Fpg Der

Enzymreaktionspuffer, bestehend aus 0,04 M HEPES, 0,10 M KCl, 0,0005 M EDTA und 0,2 mg/ml BSA, wurde in H₂O formuliert. Der pH-Wert der Pufferlösung wurde durch vorsichtige Zugabe einer 6 M KOH-Lösung auf 8,0 eingestellt.

2.6. Elektrophoreselösung Die

Elektrophoreselösung wurde durch Kombination von 0,3 M NaOH und 1 mM EDTA in einen Kolben geben, dann destilliertes Wasser hinzufügen, bis der pH-Wert unter 13 liegt.

2.7. Enzympräparation

Das kommerziell erhältliche, läsionsspezifische Enzym für den Comet-Test, Fpg, wurde aus Bakterien gewonnen und nach der anfänglichen plasmidtechnischen Produktion in Aliquots bei -80 °C gelagert . Das aufgetaute Fpg wurde gemäß den Richtlinien des Herstellers mit einem Fpg-Puffer verdünnt und auf Eis aufbewahrt, bis es während der Experimente den Gelen zugegeben wurde, um die ordnungsgemäße Enzymfunktionalität sicherzustellen.

2.8. Holunderbeerenernte und -zubereitung

Im August 2022 wurden Holunderbeeren von INOV TERRA (Vila Pouca de Salzedes, Portugal) gekauft. Die getrockneten Holunderbeeren wurden bis zur weiteren Analyse in einem hermetisch verschlossenen Glasbehälter aufbewahrt [9]. Für jedes Experiment wurden die Holunderbeeren mit einer Kaffeemühle zu Pulver gemahlen .

2.9. Holunder-Dampfdestillation

Das geeignete Verhältnis von Pflanzenmaterial zu Wasser für die Wasserdampfdestillation kann je nach Faktoren wie Art und Menge des verwendeten Pflanzenmaterials und dem gewünschten Extraktionsergebnis variieren. Eine Standardempfehlung in der Literatur lautet jedoch, ein Verhältnis von 1:3 (1 Teil Pflanzenmaterial zu 3 Teilen Wasser) zu verwenden, um ätherische Öle aus Pflanzenmaterialien zu extrahieren (Tabelle 1). Es ist zu beachten, dass das optimale Verhältnis für die Wasserdampfdestillation auch je nach verwendetem Destillationsgerät variieren kann. In unseren Experimenten wurde ein Kupferdestillierkolben (Alembik) verwendet. Das Verfahren ist in Tabelle 1 beschrieben [10].

Tabelle 1. Formel und Verfahren zur Holunder-Wasserdampfdestillation.

Zutat	G
Destilliertes Wasser	4050
Holunderbeeren	1350
Verfahren	
1. Getrocknete Holunderbeeren wurden zusammen mit dem destillierten Wasser in die Destillationsapparatur gegeben.	
2. Anschließend wurde die Apparatur an einen wassergekühlten Kondensator angeschlossen und über einen Heizmantel beheizt.	
3. Sobald das Wasser im Kolben den Siedepunkt erreicht hat, strömt der erzeugte Dampf durch die Holunderbeeren, Extraktion der ätherischen Ölkompontenten.	
4. Der Dampf kondensierte dann an den Wänden des Kondensators und tropfte in ein Auffanggefäß für 1 Std.	
5. Die gesammelte Flüssigkeit war eine Mischung aus ätherischem Öl und Wasser, die mit einem Trichter getrennt wurde.	
6. Das Hydrolat wurde in einem luftdichten, lichtbeständigen Behälter aufbewahrt und direkter Sonneneinstrahlung und übermäßige Erwärmung wurden vermieden.	

2.10. Berechnung des Verhältnisses von getrockneten Kräutern zu Hydrolaten

In unserer Studie wurde das Verhältnis von getrocknetem Kraut zu Hydrolat als Verhältnis des Gewichts des getrockneten Krauts (Holunderbeeren) zum erhaltenen Hydrolatvolumen berechnet und als Prozentsatz ausgedrückt:

$$\text{Verhältnis getrocknetes Kraut zu Hydrolat (\%)} = \frac{\text{Gewicht der Zutat (g)}}{\text{Volumen des Hydrolats (ml)}} \times 100$$

Dieser Wert gibt quantitativ an, wie viele der flüchtigen Bestandteile der Holunderbeeren erfolgreich in das Hydrolat überführt werden.

2.11. Herstellung von Hydrolatextrakten

Die Extraktion des Hydrolats wurde in Glasbehältern und in dreifacher Ausführung unter Verwendung von Hexan und Ethylacetat als organischen Lösungsmitteln durchgeführt. Das Verhältnis Hydrolat/Hexan betrug 9:1 (v/v), mit 9 ml Hydrolat und 1 ml organischem Lösungsmittel, und das Verhältnis Hydrolat/Ethylacetat betrug 8:2 (v/v), mit 8 ml Hydrolat und 2 ml organischem Lösungsmittel. Die Mischungen wurden über Nacht bei Raumtemperatur geschüttelt. Dann wurden 0,5 ml der oberen (organischen Lösungsmittel-)Fraktion für die GC-MS-Analyse entnommen (Abschnitt 2.12). Nach der Analyse wurden die relativen Standardabweichungen berechnet und die Ergebnisse gemittelt.

2.12. Profil flüchtiger Substanzen, bestimmt durch Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie (GC-MS)

Die unbearbeiteten Hydrolatproben und Hydrolatextrakte wurden mit einem Shimadzu GC-MS-System (GCMS-QP2010 Ultra, São Paulo, Brasilien) analysiert, das mit einem MS-Detektor und einer Rxi-5Sil MS-Kapillarsäule (Restek, Pennsylvania, USA; 30 m × 0,25 mm, Filmdicke 0,25 µm) ausgestattet war. Die Injektor- und Ionenquellentemperaturen wurden auf 250 °C bzw. 200 °C eingestellt. Die Säulentemperatur wurde so programmiert, dass sie mit einer Rate von 3 °C/min von 40 °C auf 220 °C anstieg und die Anfangs- und Endtemperatur jeweils 15 min lang hielt.

Als Trägergas wurde Helium (99,99 %) mit einem Fluss von 1 ml/min verwendet. Hydrolatproben von 0,5 µl und 1,0 µl sowie Extraktproben von 1,0 µl wurden mit einem Autosampler im Split-Modus eingespritzt, mit Split-Verhältnissen von 1:5 und 1:10 für die Hydrolatproben und 1:5 für die Extraktproben. Die MS-Erkennung wurde im Elektronenionisationsmodus mit einer Ionisierungsenergie von 70 eV durchgeführt, und die Temperatur der MS-Transferleitung wurde auf 250 °C eingestellt. Der Masse-zu-Ladung-Bereich (m/z) reichte von 40 bis 400, bei einer Scanfrequenz von 5 Hz.

Die Identifizierung der Verbindungen erfolgte auf Grundlage des Vergleichs ihrer Massenspektren und Retentionsindizes mit denen synthetischer Verbindungen in den Spektralbibliotheken des National Institute of Standards and Technology (NIST11) und der Flavors and Fragrances of Natural and Synthetic Compounds (FFNSC2). Der Phenylacetaldehyd-Peak wurde mithilfe eines Referenzstandards bestätigt. Die linearen Retentionsindizes wurden relativ zu einer homologen Reihe von n-Alkanen (C6-C24) bestimmt. Die relativen Konzentrationen der Komponenten wurden aus den GC-Peaks ohne Korrekturfaktoren berechnet.

2.13. Behandlung mit

Holunderbeerenhydrolat Für den Comet-Test wurden basierend auf früheren Ergebnissen vier Holunderkonzentrationen ausgewählt: 1 %, 5 %, 10 % und 15 % (w/v) [8]. Es wurden zwei Behandlungen vorbereitet: eine mit H₂O₂ und eine andere mit Streptonigrin (SN). Für jede Bedingung wurden zwei unabhängige Experimente im Abstand von 10 Tagen durchgeführt.

Zur Durchführung der H₂O₂-Behandlung wurden 50 µl H₂O₂ mit 0,5 l PBS vermischt. Für das Experiment wurden zehn Coplin-Gläser vorbereitet: Das erste enthielt nur PBS, die zweiten bis fünften enthielten verschiedene Holunderkonzentrationen kombiniert mit PBS, das sechste enthielt die mit H₂O₂ behandelte Lösung und die restlichen vier enthielten verschiedene Holunderkonzentrationen kombiniert mit der H₂O₂-Behandlung. Für jede Bedingung wurden zwei Objektträger vorbereitet. Ein Objektträger in jedem Set folgte dem Standardprotokoll, während der zweite einer enzymatischen Inkubation unterzogen wurde, bevor es weiterging. Abbildung 1 bietet einen schematischen Überblick über diese Schritte und zeigt die aufeinanderfolgenden Phasen des Verfahrens.

enthielt verschiedene Holunderkonzentrationen kombiniert mit PBS, die sechste enthielt die H2O2-behandelte Lösung, und die restlichen vier enthielten verschiedene Holunderkonzentrationen kombiniert mit der H2O2-Behandlung. Für jede Bedingung wurden zwei Objektträger vorbereitet. Ein Objektträger in jedem Set folgte dem Standardprotokoll, während der zweite einer enzymatischen Inkubation unterzogen wurde, bevor es weiterging. Abbildung 1 bietet einen schematischen Überblick über diese Schritte, die Inkubation vor dem Fortfahren. Abbildung 1 bietet einen schematischen Überblick über diese Schritte und zeigt die aufeinanderfolgenden Phasen des Verfahrens.

Darstellung der einzelnen Schritte des Verfahrens.

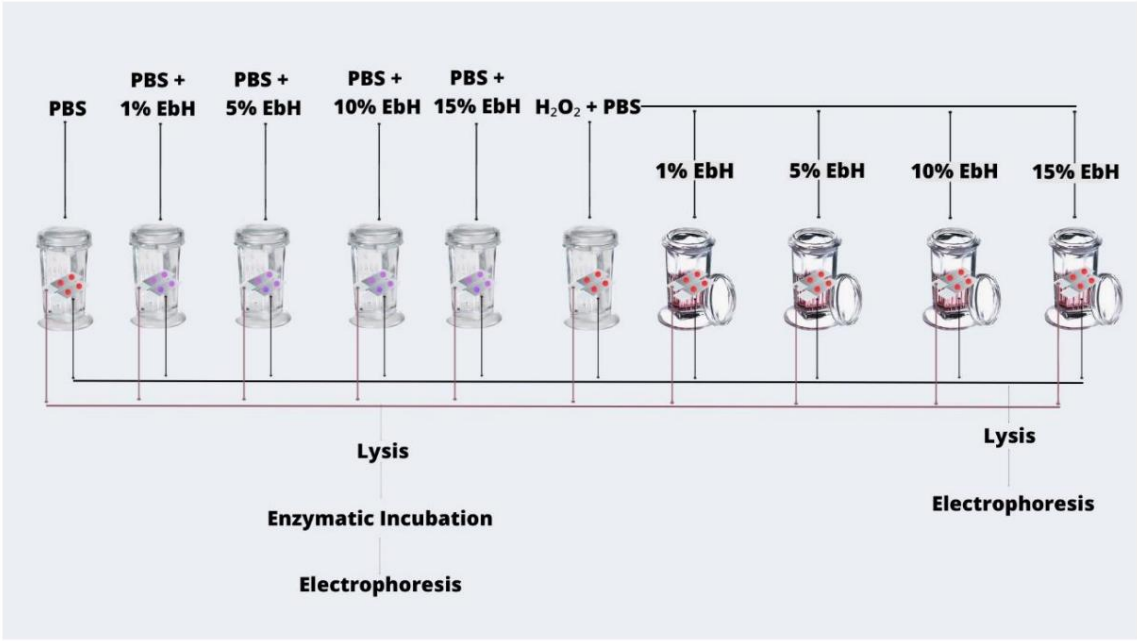


Abbildung 1: Schematische Darstellung des experimentellen Prozesses.

Bei der SN-Behandlung wurde SN in PBS aufgelöst, um eine Endkonzentration von 20 zu erreichen. Bei der SN-Behandlung wurde das Aufschmelzen von SN in PBS, um eine Endkonzentration von 20 µM in einem 5-mL-Volumen zu erreichen, wobei etablierte Methoden angewendet wurden [11]. Eine Dual-Slide-Methode wurde für jede Bedingung unter Einhaltung dieser Parameter verwendet. Ein Objektträger in jedem Satz folgte dem traditionellen Weg, einschließlich der Standardprotokollschritte Lyse und Elektrophorese. Gleichzeitig wurde der entsprechende Objektträger einer ersten enzymatischen Inkubationsphase unterzogen, bevor die nachfolgenden Schritte der Lyse und Elektrophorese durchgeführt wurden. Der detaillierte Arbeitsablauf wird in Abbildung 2 visuell dargestellt.

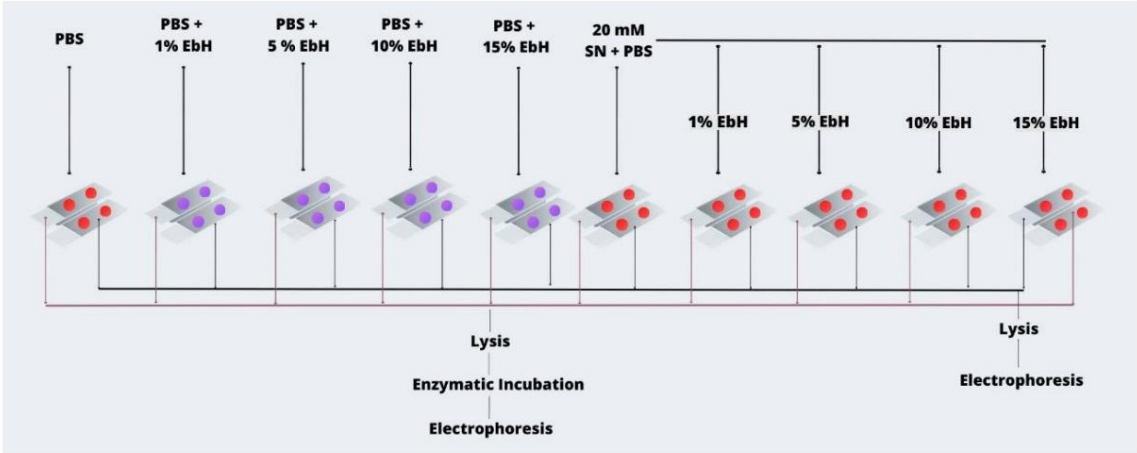


Abbildung 2: Darstellung des SN-Behandlungsprozesses.

2.14. Genotoxizitätsbewertung

Die genotoxischen und antigenotoxischen Effekte von Holunder wurden in vivo untersucht mit der Comet-Test an menschlichen peripheren mononukleären Blutzellen (PBMCs).

2.14.1. Comet-Assay in menschlichen PBMCs unter Verwendung von H2O2

Die Experimente folgten der Methodik, die in [11] beschrieben wurde. Alle Lösungen und Vorab wurden vorbeschichtete Objektträger mit 1 % Agarose mit normalem Schmelzpunkt hergestellt. Die Blutproben wurden durch einen Fingerstich gewonnen und 25 µL jeder Probe wurden gemischt

mit 0,8 % niedrigschmelzender Agarose in PBS. Anschließend wurden zwei 70- µl-Tropfen dieser Mischung auf vorbeschichtete Objektträger gegeben, die jeweils mit einem Deckglas abgedeckt wurden, um die Lösung gleichmäßig zu verteilen. Dieser Vorgang wurde für jede zu untersuchende Konzentration wiederholt. Die Objektträger wurden dann 5 min bei 4 °C gekühlt, damit die Agarose fest werden konnte, bevor die Deckgläser entfernt wurden. Anschließend wurden die Objektträger 1 h lang in Coplin-Gläsern bei 37 °C verschiedenen Behandlungen unterzogen. Nach der Behandlung wurden die Objektträger in eine kalte, frische Lyselösung gelegt. Die Objektträger wurden ohne Zwischenräume in der Elektrophoresekammer angeordnet und 20 min lang in einen kalten Denaturierungs- und Elektrophoresepuffer getaucht. Die Elektrophorese wurde 20 min lang im Dunkeln bei 4 °C mit einer Stromstärke von 300 mA und einer Spannung von 25 V (entspricht 0,8 V/cm) durchgeführt. Nach der Elektrophorese wurden die Objektträger nacheinander in PBS (10 Min. bei 4 °C) und destilliertem Wasser (10 Min. bei 4 °C) gewaschen und an der Luft getrocknet. Jedes Gel wurde mit 40 µl DAPI (4',6-Diamidino-2-phenylindol) (1 µg/ml in dH₂O) gefärbt und zur Untersuchung unter einem Fluoreszenzmikroskop (Leica DMLS, Massachusetts, USA) bei 400-facher Vergrößerung mit einem Deckglas abgedeckt. Es wurden 50 Zellen pro Gel beobachtet, und die Schwanzintensität jeder Zelle wurde von 0 (kein Schwanz) bis 4 (fast die gesamte DNA im Schwanz) bewertet [12]. Der endgültige Wert, ausgedrückt in willkürlichen Einheiten zwischen 0 und 400, wurde mithilfe der Formel für den genetischen Schadensindikator (GDI) berechnet.

Genetischer Schadensindikator

$$\text{(GDI)} = [(\% \text{ Nukleoidklasse 0}) \times 0] + [(\% \text{ Nukleoidklasse 1}) \times 1] + [(\% \text{ Nukleoidklasse 2}) \times 2] + [(\% \text{ Nukleoidklasse 3}) \times 3] + [(\% \text{ Nukleoidklasse 4}) \times 4]$$

Zusätzlich wurde für jede Bedingung ein weiterer Objektträger enzymatisch inkubiert. Nach Waschen mit Puffer B bei 4 °C wurde verdünntes Fpg-Enzym (50 µl) auf jedes Gel aufgetragen und 30 min in einer Feuchterbox bei 37 °C inkubiert. Die Elektrophorese und die nachfolgenden Schritte wurden gemäß Protokoll durchgeführt. Die Verwendung von Agarosegel zum Einbetten der Zellen im Comet-Test dient der Immobilisierung der Zellen und der Wahrung ihrer strukturellen Integrität während nachfolgender Testschritte. Diese Methode wird häufig bei der Analyse anhaftender oder in Monoschichten wachsender Zellen angewendet, da sie ihre Manipulation und Handhabung erleichtert [13]. Das Agarosegel bietet eine stützende Matrix, die die Zellen einkapselt und so ein Lösen oder Zerstören während nachfolgender Testschritte wie Zelllyse und Elektrophorese verhindert. Das Einbetten der Zellen in Agarose gewährleistet ihre gleichmäßige Verteilung auf den Objektträgern und ermöglicht so eine gleichmäßige Analyse [14].

Darüber hinaus erleichtert die poröse Beschaffenheit von Agarose die Diffusion der Lyselösung und anderer Reagenzien, während die Zellintegrität erhalten bleibt. Dadurch werden Zellproteine und Verunreinigungen während der Lyse effektiv entfernt, was die Visualisierung und Analyse der DNA-Schäden verbessert [13,15]. Im Gegensatz dazu erfordern Zellen in Suspension eine Einbettung in Agarose für die Comet-Assay-Analyse. Zellen in Suspension würden sich während der Elektrophorese zerstreuen, was eine genaue Beurteilung des DNA-Schadensniveaus erschwert. Durch das Einbetten dieser Zellen in Agarose werden sie immobilisiert, was eine konsistente und zuverlässige DNA-Schadensanalyse in den nachfolgenden Schritten des Comet-Assays gewährleistet [16,17].

2.14.2. Comet-Assay in menschlichen PBMCs unter

Verwendung von SN Das Protokoll blieb mit früheren Verfahren konsistent, die Behandlung variierte jedoch. In diesem Experiment wurden vier Konzentrationen Holunder in einer Mischung aus SN und PBS gelöst. Ein 50-µL-Tropfen dieser Lösung wurde auf das Agarosegel und die Blutprobe gegeben und dann mit einem Deckglas abgedeckt. Anschließend wurden die Objektträger 1 Stunde lang bei 37 °C inkubiert, bevor sie in Lyselösung getaucht und dem etablierten Protokoll gefolgt wurden.

2.15. Wasserstoffperoxid (H₂O₂) -Test

Die Fähigkeit des Hydrolats, die Dismutation von H₂O₂ zu fördern, wurde mit einer Modifikation der zuvor beschriebenen Methode [18] untersucht. Diese Methode basiert auf der Umwandlung von Homovanillinsäure (HVA) in ihr fluoreszierendes Dimer in Gegenwart von H₂O₂ und Meerrettichperoxidase (HRP). Zur Beurteilung der möglichen Dismutation wurden vier verschiedene Konzentrationen verwendet.

tionskapazität von Holunderbeerenhydrolat (1 %, 5 % und 15 % w/v). Das Holunderbeerenhydrolat wurde in Phosphatpuffer (50 mM, pH 7,4) in Gegenwart von 20 mM H₂O₂, 0,1 mM HVA und 6,4 mg/ml HRP inkubiert. Nach 5 Minuten wurde die Reaktion mit 0,5 ml kaltem Glycinpuffer (pH 12,0) gestoppt. Die Fluoreszenz der Lösung wurde mit einem Varian Eclipse-Spektrofluorometer bei 312 nm für die Anregungswellenlänge und bei 420 nm für die Emissionswellenlänge gemessen. Die Peroxidbildung wurde mithilfe einer H₂O₂-Standardkurve berechnet und die H₂O₂-Werte wurden als nmol H₂O₂-Dismutation/min ausgedrückt.

2.16. Antioxidative

Aktivität 2.16.1. ABTS-Radikalfängeraktivität

Der ABTS-Radikalfängertest wurde nach einer zuvor beschriebenen Methode [19], mit einigen Modifikationen, durchgeführt. Der ABTS-Radikal-Kationen-Entfärbungstest bewertete die Radikalfängeraktivität des Holunderbeerenhydrolats. Um die Bildung des ABTS•⁺-Kationenradikals zu initiieren, wurden 7 mM ABTS mit 2,5 mM Kaliumpersulfat (1:1 w/w) in Wasser gemischt und vor der Verwendung 12–16 Stunden bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert. Die resultierende ABTS•⁺-Lösung wurde mit Methanol verdünnt, bis eine Absorption von 0,700 bei 734 nm erreicht wurde. Nach Zugabe von vier verschiedenen Konzentrationen des Hydrolats (1 %, 5 % und 15 %, w/v) zur verdünnten ABTS•⁺-Lösung wurde die Absorption 30 Minuten nach gründlichem Mischen gemessen. Jeder Test enthielt einen entsprechenden Lösungsmittelblindwert, und alle Messungen wurden dreifach durchgeführt. Die prozentuale Hemmung der Absorption bei 734 nm wurde mithilfe der folgenden Formel berechnet:

$$\text{ABTS}\bullet^+ \text{ Abfangeffekt(\%)} = \times 100 \frac{(AB - AA)}{AB}$$

wobei AB die Absorption des mit Methanol gemischten ABTS-Radikals darstellt. AA stellt die Absorption des mit Holunderbeerenhydrolat oder -standard gemischten ABTS-Radikals dar. Die Trolox-äquivalente antioxidative Kapazität (TEAC) wurde durch Erstellung einer Standard-Trolox-Kurve einer Standard-Trolox-Lösung berechnet.

2.16.2. DPPH-Radikalfänger-Test

Die DPPH-Radikalfängerkapazität der Proben aus dem Holunderbeerenhydrolat wurde nach einer zuvor beschriebenen Methode [20], mit geringfügigen Anpassungen, unter Verwendung des stabilen DPPH-Radikals bewertet, das einen Absorptionsspeak bei 515 nm aufweist. Eine Lösung des DPPH-Radikals wurde durch Auflösen von 2,4 mg DPPH in 100 ml Methanol hergestellt. Zu 3,995 ml methanolischem DPPH wurde eine Testlösung (1 %, 5 % und 15 % w/v) gegeben. Die Mischung wurde kräftig geschüttelt und 30 Minuten lang bei Raumtemperatur im Dunkeln stehen gelassen. Die Absorption der Reaktionsmischung wurde dann mit einem Spektralphotometer bei 515 nm gemessen. Zusätzlich wurde die Absorption des DPPH-Radikals ohne Hydrolat (also die Leerprobe) gemessen. Alle Experimente wurden dreifach durchgeführt. Die Fähigkeit, das DPPH-Radikal zu entfernen, wurde mithilfe der folgenden Gleichung bestimmt:

$$\text{Gereinigtes DPPH (\%)} = \frac{(AB - AA)}{AB} \times 100$$

wobei AB die Absorption des Blindwertes bei t = 0 min darstellt und AA die Absorption des Hydrolats bei t = 30 min. Die Trolox-äquivalente antioxidative Kapazität (TEAC) wurde durch die Erstellung einer Standard-Trolox-Kurve einer Standard-Trolox-Lösung berechnet.

2.17. Statistische

Analyse Die Datenanalyse wurde mit der Software IBM SPSS Statistics, Version 20 (Chicago, IL, USA) durchgeführt. Die statistische Auswertung umfasste eine Varianzanalyse (ANOVA), gefolgt von Post-hoc-Tests mit der Tukey-Methode. Statistische Signifikanz wurde bei p-Werten unter 0,05 festgestellt.

3. Ergebnisse

3.1. Holunder-Dampfdestillation

In dieser Studie wurden 3330 ml Hydrolat gewonnen. Das Verhältnis von getrocknetem Kraut zu Hydrolat betrug wurde mit 40,54 % ermittelt. Diese Kennzahl liefert wertvolle Einblicke in die Effizienz der Wasserdampfdestillationsverfahren, das den Grad der Anreicherung eines Hydrolats mit flüchtigen Verbindungen. Je höher die Masse des getrockneten Krauts, desto höher der Gehalt an flüchtigen Verbindungen im Hydrolat.

Der pH-Wert des erhaltenen Hydrolats wurde mit einem pH-Meter (MP511, Benchtop, Apera Instruments, Columbus, OH, USA) und der pH-Wert wurde mit 3,35 ermittelt.

3.2. Chemische Charakterisierung

Die direkte Hydrolatanalyse, also die Analyse des unverarbeiteten Hydrolats, ergab die Anwesenheit von drei Verbindungen, Phenylacetaldehyd, 2-Acetylpyrrol und einer unbekannten Verbindung (Tabelle 2), die 26,7 %, 13,7 % und 59,7 % der Gesamtzusammensetzung ausmacht entsprechend ihrer relativen Peakintensitäten. Phenylacetaldehyd wurde dann quantifiziert mit Hilfe einer Standardkalibrierungskurve. Bei einem Injektionsvolumen von 1 µL wurde eine Konzentration von $0,063 \pm 0,083$ mg/mL für die Teilung 1:5 und eine Konzentration von $0,068 \pm 0,047$ mg/mL für die Aufteilung 1:10. Mit einem geringeren Injektionsvolumen (0,5 µL) ist eine bessere Die Wiederholgenauigkeit wurde insbesondere bei der Teilung 1:5 erreicht; die Konzentration an Phenylacetaldehyd betrug $0,096 \pm 0,049$ mg/mL.

Tabelle 2. Chemische Charakterisierung.

Unbearbeitete Proben	Bereich %	
	26,7 %	Phenylacetaldehyd
	13,7 %	2-Acetylpyrrol
	59,7 %	MS: 43 (100) 44 (72) 144 (60)
Phenylacetaldehyd-Quantifizierung		
	0,5 µL, geteilt 1:5	$0,096 \pm 0,049$ mg/ml
	0,5 µL, geteilt 1:10	$0,160 \pm 0,074$ mg/ml
	1 µL, geteilt 1:5	$0,063 \pm 0,083$ mg/ml
	1 µL, geteilt 1:10	$0,068 \pm 0,047$ mg/ml
Hexan-Extrakte	Bereich %	
	3,1 %	n-Hexanal
	4,5 %	Furfural
	82,6 %	Phenylacetaldehyd
	2,2 %	(E)-beta-Damascenon
Phenylacetaldehyd-Quantifizierung		
	1 µL, geteilt 1:5	$0,025 \pm 0,001$ mg/ml
Ethylacetat-Extrakte	Phenylacetaldehyd-Quantifizierung	
	1 µL, geteilt 1:5	$0,069 \pm 0,003$ mg/ml

In den Hydrolatextrakten mit Ethylacetat wurde nur Phenylacetaldehyd nachgewiesen in eine durchschnittliche Konzentration von $0,069 \pm 0,003$ mg/mL, was der Konzentration entspricht von 0,009 mg/mL im Hydrolat. In den Hexanextrakten wurden vier Verbindungen nachgewiesen, n-Hexanal, Furfural, Phenylacetaldehyd und (E)-beta-Damascenon mit 3,1 %, 4,5 %, 82,6 % und 2,2 % der Gesamtzusammensetzung entsprechend ihrer relativen Peakintensität. Alle vier Verbindungen wurden bereits als flüchtige Bestandteile von Holunderbeeren beschrieben [21]. Die durchschnittliche Konzentration von Phenylacetaldehyd betrug $0,025 \pm 0,001$ mg/mL,

1 yL, geteilt 1:5 $0,069 \pm 0,003$ mg/mL

was einer Konzentration von 0,003 mg/mL im Hydrolat entspricht. Die Wiederholbarkeit der Hexan- und Ethylacetat-Extraktionen war gut.

Assay: H2O2-Challenge durchgeführt.

Comet-Test zur Untersuchung der Auswirkungen der Behandlung mit unterschiedlichen Konzentrationen von H2O2. In dieser Studie wurde die Bewertung der DNA-Schäden in PBMCs durchgeführt mit

Herausforderungen: Die Ergebnisse zeigten einen bemerkenswerten Anstieg der DNA-Schäden in der Gruppe „C+“ (positive Kontrolle) im Vergleich zu den anderen Gruppen. Dies deutet auf eine mögliche Kontamination oder auf eine unzureichende Kontrolle der H2O2-Konzentrationen hin. Zusätzlich wurde festgestellt, dass die Ergebnisse für die DNA-Schäden in der Gruppe „C+“ mit den Ergebnissen der Comet-Test-Gruppe „C+“ übereinstimmen, was die Validität der Ergebnisse bestätigt.

Die Ergebnisse zeigen, dass die DNA-Schäden in PBMCs mit dem 3.3. Comet-Test zu unterschiedlichen Konzentrationen von H2O2 (0,1%, 0,3%, 0,5%, 0,7%, 0,9%, 1,1%, 1,3%, 1,5%, 1,7%, 1,9%, 2,1%, 2,3%, 2,5%, 2,7%, 2,9%, 3,1%, 3,3%, 3,5%, 3,7%, 3,9%, 4,1%, 4,3%, 4,5%, 4,7%, 4,9%, 5,1%, 5,3%, 5,5%, 5,7%, 5,9%, 6,1%, 6,3%, 6,5%, 6,7%, 6,9%, 7,1%, 7,3%, 7,5%, 7,7%, 7,9%, 8,1%, 8,3%, 8,5%, 8,7%, 8,9%, 9,1%, 9,3%, 9,5%, 9,7%, 9,9%, 10,1%, 10,3%, 10,5%, 10,7%, 10,9%, 11,1%, 11,3%, 11,5%, 11,7%, 11,9%, 12,1%, 12,3%, 12,5%, 12,7%, 12,9%, 13,1%, 13,3%, 13,5%, 13,7%, 13,9%, 14,1%, 14,3%, 14,5%, 14,7%, 14,9%, 15,1%, 15,3%, 15,5%, 15,7%, 15,9%, 16,1%, 16,3%, 16,5%, 16,7%, 16,9%, 17,1%, 17,3%, 17,5%, 17,7%, 17,9%, 18,1%, 18,3%, 18,5%, 18,7%, 18,9%, 19,1%, 19,3%, 19,5%, 19,7%, 19,9%, 20,1%, 20,3%, 20,5%, 20,7%, 20,9%, 21,1%, 21,3%, 21,5%, 21,7%, 21,9%, 22,1%, 22,3%, 22,5%, 22,7%, 22,9%, 23,1%, 23,3%, 23,5%, 23,7%, 23,9%, 24,1%, 24,3%, 24,5%, 24,7%, 24,9%, 25,1%, 25,3%, 25,5%, 25,7%, 25,9%, 26,1%, 26,3%, 26,5%, 26,7%, 26,9%, 27,1%, 27,3%, 27,5%, 27,7%, 27,9%, 28,1%, 28,3%, 28,5%, 28,7%, 28,9%, 29,1%, 29,3%, 29,5%, 29,7%, 29,9%, 30,1%, 30,3%, 30,5%, 30,7%, 30,9%, 31,1%, 31,3%, 31,5%, 31,7%, 31,9%, 32,1%, 32,3%, 32,5%, 32,7%, 32,9%, 33,1%, 33,3%, 33,5%, 33,7%, 33,9%, 34,1%, 34,3%, 34,5%, 34,7%, 34,9%, 35,1%, 35,3%, 35,5%, 35,7%, 35,9%, 36,1%, 36,3%, 36,5%, 36,7%, 36,9%, 37,1%, 37,3%, 37,5%, 37,7%, 37,9%, 38,1%, 38,3%, 38,5%, 38,7%, 38,9%, 39,1%, 39,3%, 39,5%, 39,7%, 39,9%, 40,1%, 40,3%, 40,5%, 40,7%, 40,9%, 41,1%, 41,3%, 41,5%, 41,7%, 41,9%, 42,1%, 42,3%, 42,5%, 42,7%, 42,9%, 43,1%, 43,3%, 43,5%, 43,7%, 43,9%, 44,1%, 44,3%, 44,5%, 44,7%, 44,9%, 45,1%, 45,3%, 45,5%, 45,7%, 45,9%, 46,1%, 46,3%, 46,5%, 46,7%, 46,9%, 47,1%, 47,3%, 47,5%, 47,7%, 47,9%, 48,1%, 48,3%, 48,5%, 48,7%, 48,9%, 49,1%, 49,3%, 49,5%, 49,7%, 49,9%, 50,1%, 50,3%, 50,5%, 50,7%, 50,9%, 51,1%, 51,3%, 51,5%, 51,7%, 51,9%, 52,1%, 52,3%, 52,5%, 52,7%, 52,9%, 53,1%, 53,3%, 53,5%, 53,7%, 53,9%, 54,1%, 54,3%, 54,5%, 54,7%, 54,9%, 55,1%, 55,3%, 55,5%, 55,7%, 55,9%, 56,1%, 56,3%, 56,5%, 56,7%, 56,9%, 57,1%, 57,3%, 57,5%, 57,7%, 57,9%, 58,1%, 58,3%, 58,5%, 58,7%, 58,9%, 59,1%, 59,3%, 59,5%, 59,7%, 59,9%, 60,1%, 60,3%, 60,5%, 60,7%, 60,9%, 61,1%, 61,3%, 61,5%, 61,7%, 61,9%, 62,1%, 62,3%, 62,5%, 62,7%, 62,9%, 63,1%, 63,3%, 63,5%, 63,7%, 63,9%, 64,1%, 64,3%, 64,5%, 64,7%, 64,9%, 65,1%, 65,3%, 65,5%, 65,7%, 65,9%, 66,1%, 66,3%, 66,5%, 66,7%, 66,9%, 67,1%, 67,3%, 67,5%, 67,7%, 67,9%, 68,1%, 68,3%, 68,5%, 68,7%, 68,9%, 69,1%, 69,3%, 69,5%, 69,7%, 69,9%, 70,1%, 70,3%, 70,5%, 70,7%, 70,9%, 71,1%, 71,3%, 71,5%, 71,7%, 71,9%, 72,1%, 72,3%, 72,5%, 72,7%, 72,9%, 73,1%, 73,3%, 73,5%, 73,7%, 73,9%, 74,1%, 74,3%, 74,5%, 74,7%, 74,9%, 75,1%, 75,3%, 75,5%, 75,7%, 75,9%, 76,1%, 76,3%, 76,5%, 76,7%, 76,9%, 77,1%, 77,3%, 77,5%, 77,7%, 77,9%, 78,1%, 78,3%, 78,5%, 78,7%, 78,9%, 79,1%, 79,3%, 79,5%, 79,7%, 79,9%, 80,1%, 80,3%, 80,5%, 80,7%, 80,9%, 81,1%, 81,3%, 81,5%, 81,7%, 81,9%, 82,1%, 82,3%, 82,5%, 82,7%, 82,9%, 83,1%, 83,3%, 83,5%, 83,7%, 83,9%, 84,1%, 84,3%, 84,5%, 84,7%, 84,9%, 85,1%, 85,3%, 85,5%, 85,7%, 85,9%, 86,1%, 86,3%, 86,5%, 86,7%, 86,9%, 87,1%, 87,3%, 87,5%, 87,7%, 87,9%, 88,1%, 88,3%, 88,5%, 88,7%, 88,9%, 89,1%, 89,3%, 89,5%, 89,7%, 89,9%, 90,1%, 90,3%, 90,5%, 90,7%, 90,9%, 91,1%, 91,3%, 91,5%, 91,7%, 91,9%, 92,1%, 92,3%, 92,5%, 92,7%, 92,9%, 93,1%, 93,3%, 93,5%, 93,7%, 93,9%, 94,1%, 94,3%, 94,5%, 94,7%, 94,9%, 95,1%, 95,3%, 95,5%, 95,7%, 95,9%, 96,1%, 96,3%, 96,5%, 96,7%, 96,9%, 97,1%, 97,3%, 97,5%, 97,7%, 97,9%, 98,1%, 98,3%, 98,5%, 98,7%, 98,9%, 99,1%, 99,3%, 99,5%, 99,7%, 99,9%, 100,1%, 100,3%, 100,5%, 100,7%, 100,9%, 101,1%, 101,3%, 101,5%, 101,7%, 101,9%, 102,1%, 102,3%, 102,5%, 102,7%, 102,9%, 103,1%, 103,3%, 103,5%, 103,7%, 103,9%, 104,1%, 104,3%, 104,5%, 104,7%, 104,9%, 105,1%, 105,3%, 105,5%, 105,7%, 105,9%, 106,1%, 106,3%, 106,5%, 106,7%, 106,9%, 107,1%, 107,3%, 107,5%, 107,7%, 107,9%, 108,1%, 108,3%, 108,5%, 108,7%, 108,9%, 109,1%, 109,3%, 109,5%, 109,7%, 109,9%, 110,1%, 110,3%, 110,5%, 110,7%, 110,9%, 111,1%, 111,3%, 111,5%, 111,7%, 111,9%, 112,1%, 112,3%, 112,5%, 112,7%, 112,9%, 113,1%, 113,3%, 113,5%, 113,7%, 113,9%, 114,1%, 114,3%, 114,5%, 114,7%, 114,9%, 115,1%, 115,3%, 115,5%, 115,7%, 115,9%, 116,1%, 116,3%, 116,5%, 116,7%, 116,9%, 117,1%, 117,3%, 117,5%, 117,7%, 117,9%, 118,1%, 118,3%, 118,5%, 118,7%, 118,9%, 119,1%, 119,3%, 119,5%, 119,7%, 119,9%, 120,1%, 120,3%, 120,5%, 120,7%, 120,9%, 121,1%, 121,3%, 121,5%, 121,7%, 121,9%, 122,1%, 122,3%, 122,5%, 122,7%, 122,9%, 123,1%, 123,3%, 123,5%, 123,7%, 123,9%, 124,1%, 124,3%, 124,5%, 124,7%, 124,9%, 125,1%, 125,3%, 125,5%, 125,7%, 125,9%, 126,1%, 126,3%, 126,5%,

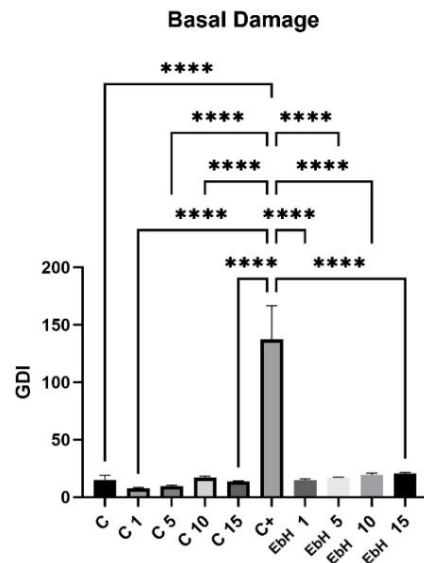


Abbildung 3. Bewertung des genetischen Schadensindikators (GDI) in menschlichen PBMCs. Die Mittelwerte von DNA-Schäden, quantifiziert als wirkliche Einheiten mit dem In-vivo-Comet-Test, wurden bestimmt in unbehandelten als auch in der H2O2-behandelten Gruppe bestimmt. Die Bezeichnung „C“ entspricht der Kontrollgruppe, die ausschließlich mit PBS behandelt wurde. Die Bezeichnungen „C1“, „C5“, „C10“ und „C15“ entsprechen der PBS-Behandlung und der jeweiligen Holunderbeerenhydrol-Konzentration (1:1%, 5:5%, 10:10% und 15:15%). „C+“ bezeichnet die Gruppe, die ausschließlich einer H2O2-Behandlung unterzogen wird. Die getesteten Gruppen zeichnen sich aus durch „C+“ bezeichnet die Gruppe, die ausschließlich einer H2O2-Behandlung unterzogen wurde. Die getesteten Gruppen werden durch Abkürzungen unterschieden, die den Inhaltsstoff (EbH: Holunderbeerenhydrolat) und die jeweilige Holunderbeerenhydrolatkonzentration (1:1%, 5:5%, 10:10% und 15:15%) bezeichnen. Das vierfache Asterisk steht Holunderhydrolatkonzentration (1:1%, 5:5%, 10:10% und 15:15%). Das dreifache Sternchen steht für signifikante Unterschiede zwischen der Kontrollbehandlung und allen EbH-Behandlungen, aber auch zwischen signifikante Unterschiede zwischen der Kontrollbehandlung und allen EbH-Behandlungen, aber auch zwischen „C+“, „C+“ und allen Kontrollbehandlungen ohne die SN-Behandlung. Die Fehlerbalken stellen Standardfehler dar. und alle Kontrollen ohne die SN-Behandlung. Die Fehlerbalken stellen Standardfehler dar.

[illegible]

geringster mittlerer DNA-Schaden unter den mit Holunderbeerenhydrolat behandelten Gruppen. Ähnlich wie in den vorherigen Kategorien wies die Gruppe, die ausschließlich H₂O₂ ausgesetzt war („C+“), deutlich höhere mittlere DNA-Schäden auf, was die erhöhte genotoxische Wirkung unterstreicht. Bei der Analyse der GDI-Daten mit Fpg (Abbildung 4, Oxidative Damage NET) wird deutlich, dass das optimale Ergebnis bei der 1%-Behandlung erzielt wurde, die den geringsten DNA-Schaden unter allen getesteten Konzentrationen aufwies.

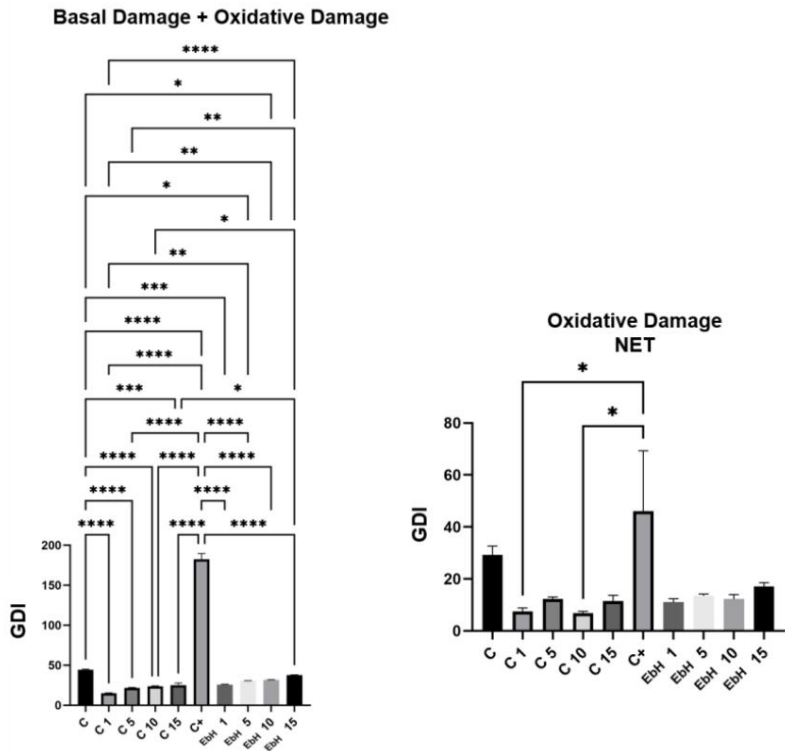


Abbildung 4. Bewertung der oxidativen Purin-DNA-Schäden. Der verbesserte Comet-Test im Menschen. Bewertung der oxidativen Purin-DNA-Schäden. Der verbesserte Comet-Test im Menschen. Bewertung der oxidativen Purin-DNA-Schäden. Der verbesserte Comet-Test im Menschen.

Die Bezeichnung „C“ entspricht der Kontrollgruppe, die ausschließlich mit PBS behandelt wurde. Die des-Bezeichnungen „C1“, „C5“, „C10“ und „C15“ entsprechen der PBS-Behandlung und den jeweiligen Holunderhybriden.

„C+“ bezeichnet die Gruppe, die ausschließlich der Hydrolatkonzentration (1:1%, 5:5%, 10:10% und 15:15%) ausgesetzt war. „C+“ bezeichnet die Gruppe, die ausschließlich der Hydrolatkonzentration (1:1%, 5:5%, 10:10% und 15:15%) ausgesetzt war.

Die getesteten Gruppen werden durch Abkürzungen unterschieden, die den Bestandteil bezeichnen. H₂O₂-Behandlung. Die getesteten Gruppen werden durch Abkürzungen unterschieden, die den Bestandteil bezeichnen.

Inhaltsstoff (EbH: Holunderbeerenhydrolat) und die jeweilige Holunderbeerenhydrolatkonzentration (1:1%, 5:5 %, 10:10 % und 15:15 %). Die Fehlerbalken stellen Standardfehler dar. „Basaler Schaden + Oxidativer Schaden“ stellt den Gesamtschaden unter Verwendung von Fpg dar, und „Oxidativer Schaden NET“ entspricht dem Nettoschaden.

Die Ergebnisse der Basal Damage + Oxidative Damage und Oxidative Schaden NET entsprechen dem Nettoschaden. Die Ergebnisse der Basal Damage + Oxidative Damage und Oxidative Schaden NET entsprechen dem Nettoschaden.

signifikante Unterschiede zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung sowie zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung.

signifikante Unterschiede zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung sowie zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung.

signifikante Unterschiede zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung sowie zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung.

signifikante Unterschiede zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung sowie zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung.

signifikante Unterschiede zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung sowie zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung.

signifikante Unterschiede zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung sowie zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung.

signifikante Unterschiede zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung sowie zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung.

signifikante Unterschiede zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung sowie zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung.

signifikante Unterschiede zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung sowie zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung.

signifikante Unterschiede zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung sowie zwischen der Kontrolle und der 1% und 5% Behandlung.

im Schwanz von 3,75. Die Holunderhydrolat-Behandlungsgruppen zeigten eine erhöhte DNA Schäden bei höheren Konzentrationen. 'EbH 1' hatte den niedrigsten GDI von 14,75 und % DNA in der Schwanz von 3,69. In der kombinierten Bedingung „Basaler Schaden + Oxidativer Schaden“ ist die Kontrollgruppe Gruppe zeigte einen GDI von 44,25 und einen DNA-Anteil im Schwanz von 11,06. Das Holunderhydrolat Behandlungsgruppen zeigten bei höheren Konzentrationen ebenfalls erhöhte DNA-Schäden. Die geringsten DNA-Schäden wurden in 'EbH 1' beobachtet, mit einem GDI von 25,75 und % DNA im Schwanz von 6.44. Diese Ergebnisse zeigen, dass Holunderbeerenhydrolat eine dosisabhängige Erhöhung der DNA-Schäden unter basalen und oxidativen Stressbedingungen, mit der höchsten Konzentration (EbH 15') verursacht den größten Schaden.

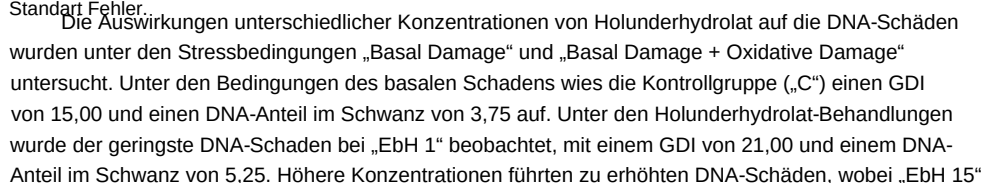
Tabelle 3. Antigenotoxische Effekte von Holunderbeerenhydrolat auf DNA-Schäden im peripheren Blut des Menschen mononukleäre Zellen mit H2O2- Schädigung.

Behandlung	GDI	% DNA im Schwanz
Basaler Schaden		
C	15.00	3,75
C 1	7,50	1,88
C 5	9,50	2.38
C 10	17.00	4,25
C 15	13,50	3.38
C+	137,41	34,35
EbH 1	14,75	3,69
EbH 5	17.00	4,25
EbH 10	19.25	4,81
EbH 15	20,50	5.13
Basaler und oxidativer Schaden		
C	44,25	11.06
C 1	15,00	3,75
C 5	21,75	5.44
C 10	23,75	5,94
C 15	25,25	6.31
C+	182,50	45,63
EbH 1	25,75	6.44
EbH 5	30,50	7,67
EbH 10	31,50	7,88
EbH 15	37,50	9.38

3.4. Comet-Assay: SN-Herausforderung

Die Untersuchung der DNA-Schäden in PBMCs ergab unterschiedliche Ergebnisse über die verschiedenen Behandlungsgruppen hinweg. Innerhalb der Kategorie „Basaler Schaden“, in der die Holunderbeerenkonzentrationen getestet wurden, war die Gruppe, die mit einer 1%igen Holunderbeerenkonzentration behandelt wurde ('EbH1') wies durchweg den geringsten mittleren DNA-Schaden auf, was auf eine mögliche Schutzwirkung gegen genotoxischen Stress. Umgekehrt zeigten die Kontrollgruppen (C', 'C1', 'C10', und 'C15') zeigten unterschiedliche Grade von DNA-Schäden (Abbildung 5). Die Analyse der GDI-Daten ergab wird deutlich, dass das optimale Ergebnis mit der 1%-Behandlung erzielt wurde, was die geringster DNA-Schaden unter allen getesteten Konzentrationen.

Die erweiterte Analyse der DNA-Schäden in PBMCs unter Verwendung verschiedener Behandlungen ergab differenzierte Ergebnisse in den verschiedenen Versuchsgruppen. In der „Basal Damage + Oxidativer Schaden“, wies die Untergruppe 'EbH5' die niedrigste beobachtete DNA Schäden (Abbildung 6, Basaler Schaden + Oxidativer Schaden). Dicht dahinter folgt der EbH1 Untergruppe zeigte relativ geringere DNA-Schäden. Ähnlich verhält es sich mit der Untergruppe „Oxidative Damage NET“, in der Untergruppe „EbH10“ wurden die geringsten DNA-Schäden beobachtet. (Abbildung 6, Oxidative Damage NET). Betrachtet man die GDI-Daten mit Fpg (Abbildung 6, Oxidative Damage NET), wird deutlich, dass das günstigste Ergebnis erzielt wurde mit der 10%-Behandlung, was durch den niedrigsten jemals gemessenen Grad an DNA-Schäden belegt wird.



Die Auswirkungen unterschiedlicher Konzentrationen von Holunderhydrolat auf die DNA-Schäden wurden unter den Belastungen 'Basal Damage' und 'Basal Damage + Oxidative Damage' untersucht Bedingungen. Unter den basalen Schadensbedingungen wies die Kontrollgruppe ('C') einen GDI von 15,00 und % DNA im Schwanz von 3,75. Unter den Holunderhydrolat-Behandlungen Die geringsten DNA-Schäden wurden bei „EbH 1“ beobachtet, mit einem GDI von 21,00 und % DNA im Schwanz von 5,25. Höhere Konzentrationen führten zu vermehrten DNA-Schäden, wobei 'EbH 15' der höchste GDI von 58,75 und der DNA-Anteil im Schwanz von 14,69 (Tabelle 4).

Tabelle 4. Antigenotoxische Effekte von Holunderbeerenhydrolat auf DNA-Schäden im peripheren Blut des Menschen mononukleäre Zellen mit SN-Schädigung.

Behandlung	GDI	% DNA im Schwanz
Basaler Schaden		
C	15.00	3,75
C 1	7,50	1,88
C 5	9,50	2.38
C 10	17.00	4,25
C 15	13,50	3.38
C+	137,41	34,35
EbH 1	21.00	5.25
EbH 5	31,75	7,94
EbH 10	54,00	13,50
EbH 15	58,75	14,69
Basaler und oxidativer Schaden		
C	44,25	11.06
C 1	15,00	3,75
C 5	21,75	5.44
C 10	23,75	5,94
C 15	25,25	6.31
C+	182,50	45,63
EbH 1	62,50	15,63
EbH 5	59,50	14,88
EbH 10	72,50	18.13
EbH 15	87,00	21,75

Im kombinierten Zustand „Basaler Schaden + Oxidativer Schaden“ war die Kontrollgruppe zeigte einen GDI von 44,25 und einen DNA-Anteil im Schwanz von 11,06. Der niedrigste DNA-Schaden unter Die Behandlung mit Holunderhydrolat wurde erneut bei „EbH 1“ beobachtet, mit einem GDI von 62,50 und % DNA im Schwanz von 15,63. Ähnlich wie bei den basalen Bedingungen führten höhere Konzentrationen zu größere DNA-Schäden, wobei 'EbH 15' den höchsten GDI von 87,00 und % DNA in das Ende von 21,75.

Diese Ergebnisse zeigen, dass obwohl Holunderhydrolat-Behandlung bei den niedrigsten Konzentration ('EbH 1') weist die geringsten DNA-Schäden unter den getesteten Konzentrationen auf, Es kommt immer noch zu höheren DNA-Schäden als bei der Kontrollgruppe unter basaler und oxidativer Stressbedingungen.

3.5. Wasserstoffperoxid-Abfangaktivität

Wir untersuchten die Fähigkeit von Holunderbeerenhydrolat, H2O2 zu dismutieren , um zu verstehen ob die beobachtete Schutzwirkung in Bezug auf die Genotoxizität darauf zurückzuführen ist, dass Holunderhydrolat hatte eine direkte Wirkung auf H2O2. Wir stellten jedoch fest, dass das Hydrolat förderte nicht die Dismutation von H2O2. Dieses Ergebnis erlaubt es uns jedoch, eine mögliche direkte Wechselwirkung des Hydrolats mit H2O2, wodurch es in weniger schädliche Formen umgewandelt wird. Daher könnte die beobachtete Wirkung von Hydrolat freie Radikale neutralisieren, die durch die Wirkung von H2O2 in Zellen oder durch die Aktivierung von in Zellen vorhandenen DNA-Reparatursystemen, hilft, durch H2O2 verursachte Schäden zu beheben, bevor sie dauerhaft werden.

Daher ist die beobachtete Schutzwirkung des H2O2- Hydrolats auf die Kombination dieser Mechanismen zurückzuführen , die die durch Wasserstoffperoxid verursachten DNA-Schäden verringert.

Wir konnten eine mögliche direkte Wechselwirkung von Hydrolat mit H₂O₂ ausschließen und es in weniger schädliche Formen umwandeln. Daher könnte die beobachtete Wirkung von Hydrolat freie Radikale neutralisieren, die durch die Wirkung von H₂O₂ in Zellen oder durch die Aktivierung der in Zellen vorhandenen DNA-Reparatursysteme entstehen, und so dazu beitragen, durch H₂O₂ verursachte Schäden zu beheben, bevor sie dauerhaft werden.

Daher ist die beobachtete Schutzwirkung des H₂O₂-Hydrats auf die Kombination dieser Mechanismen zurückzuführen, die die durch Wasserstoffperoxid verursachten DNA-Schäden verringert.

3.6. Antioxidative Aktivität

Die Analyse ergab eine nichtlineare Beziehung zwischen der Konzentration des Hydrolats und der antioxidativen Aktivität. Die antioxidative Aktivität von ABTS, gemessen durch Trolox-Äquivalente (Abbildung 7), mit zunehmender Konzentration von Holunderhydrolat (1:1 %, 5:5 % und 15:15 %) zeigte einen proportionalen Anstieg der Trolox-Äquivalentwerte, was eine entsprechende Steigerung der antioxidativen Kapazität zeigt.

Abbildung 7. Zusammenhang zwischen der Holunderbeerenhydrolatkonzentration und der antioxidativen Aktivität durch ABTS-Hemmung in $\mu\text{mol Trolox}$. Die getesteten Gruppen werden durch Abkürzungen unterschieden, die den Inhaltsstoff (EbH: Holunderbeerenhydrolat) und die jeweilige Holunderbeerenhydrolatkonzentration (1:1 %, 5:5 % und 15:15 %) bezeichnen. Das einzelne Sternchen steht für signifikante Unterschiede zwischen „C+“ und „EbH5“. Das dreifache Sternchen steht für signifikante Unterschiede zwischen „C+“ und „EbH15“.

Die Auswirkungen der unterschiedlichen Hydrolatkonzentrationen auf die antioxidative Aktivität wurden ebenfalls mithilfe des DPPH-Tests untersucht. Die Trolox-Äquivalentwerte wurden bei Konzentrationen von 0 %, 1 %, 5 % und 15 % Hydrolat bestimmt. Wie erwartet zeigt Holunderbeerenhydrolat eine antioxidative Aktivität, da während des Extraktionsprozesses einige der antioxidativen Verbindungen (z. B. Furfural, Phenylacetaldehyd und (E)-beta-Damascenon) aus der Beere freigesetzt und im Wasser gelöst werden. Überraschenderweise zeigten die Ergebnisse eine nichtlineare Beziehung zwischen der Hydrolatkonzentration und der antioxidativen Aktivität. Bei einer Konzentration von 1 % stieg der Trolox-Äquivalentwert im Vergleich zum Ausgangswert deutlich an, was auf einen positiven Einfluss des Hydrolats auf die antioxidativen Eigenschaften hindeutet. In **Abbildung 7** ist jedoch eine Beziehung zwischen der Holunderbeerenhydrolatkonzentration und der antioxidativen Aktivität zu erkennen.

5% und ein Rückgang der Trolox-Äquivalentwerte beobachtet, was auf eine komplexe Kon- durch ABTS-Hemmung in $\mu\text{mol Trolox}$. Die getesteten Gruppen werden durch Abkürzungen unterschieden, die den Inhaltsstoff (EbH: Holunderbeerenhydrolat) und die jeweilige Holunderbeerenhydrolatkonzentration (1:1 %, 5:5 % und 15:15 %) bezeichnen. Das einzelne Sternchen steht für signifikante Unterschiede zwischen „C+“ und „EbH5“. Das dreifache Sternchen steht für signifikante Unterschiede zwischen „C+“ und „EbH15“.

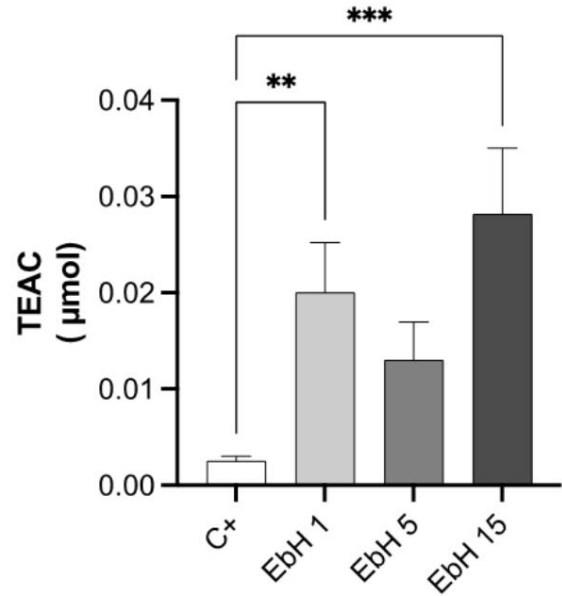


Abbildung 8. Zusammenhang zwischen der Konzentration des Holunderbeerenhydrolats und der antioxidativen Wirkung durch DPPH-Hemmung in $\mu\text{mol Trolox}$. Die getesteten Gruppen werden durch Abkürzungen unterschieden, die den Inhaltsstoff (EbH: Holunderbeerenhydrolat) und das jeweilige Holunderbeerenhydrolat- die Inhaltsstoffkonzentration (1:1 %, 5:5 % und 15:15 %) bezeichnen. Das doppelte Sternchen steht für signifikante Unterschiede zwischen „C+“ und „EbH1“. Das dreifache Sternchen steht für signifikante Unterschiede zwischen „C+“ und „EbH15“.

4. Diskussion

4.1. Holunder-Dampfdistillation

Basierend auf dem berechneten Verhältnis von getrocknetem Kraut zu Hydrolat zeigen die Ergebnisse eine effiziente Übertragung aromatischer, flüchtiger Verbindungen aus Holunderbeeren, was die Leistungsfähigkeit des Extraktionsprozesses und letztlich das Potenzial für therapeutische oder kosmetische Anwendungen demonstriert,

Die Auswirkungen der unterschiedlichen Hydrolatkonzentrationen auf die antioxidative Aktivität wurden ebenfalls mithilfe des DPPH-Tests untersucht. Die Trolox-Äquivalentwerte wurden bei Konzentrationen von 0 %, 1 %, 5 % und 15 % Hydrolat bestimmt. Wie erwartet zeigt Holunderbeerenhydrolat eine antioxidative Aktivität, da während des Extraktionsprozesses einige der antioxidativen Verbindungen (z. B. Furfural, Phenylacetaldehyd und (E)-beta-Damascenon) aus der Beere freigesetzt und im Wasser gelöst werden. Überraschenderweise zeigten die Ergebnisse eine nichtlineare Beziehung zwischen der Hydrolatkonzentration und der antioxidativen Aktivität. Bei einer Konzentration von 1 % stieg der Trolox-Äquivalentwert im Vergleich zum Ausgangswert deutlich an, was auf einen positiven Einfluss des Hydrolats auf die antioxidativen Eigenschaften hindeutet. Bei 5 % wurde jedoch ein Rückgang der Trolox-Äquivalentwerte beobachtet, was auf einen komplexen konzentrationsabhängigen Effekt hindeutet. Bemerkenswerterweise wurde die höchste antioxidative Aktivität bei einer Hydrolatkonzentration von 15 % festgestellt, was das Vorhandensein einer optimalen Konzentration für maximale Wirksamkeit unterstreicht.

4. Diskussion

4.1. Holunder-Dampfdestillation

Die Ergebnisse basieren auf dem berechneten Verhältnis von getrocknetem Kraut zu Hydrolat und zeigen eine effiziente Übertragung der aromatischen, flüchtigen Verbindungen aus den Holunderbeeren. Dies verdeutlicht die Leistungsfähigkeit des Extraktionsprozesses und letztendlich das Potenzial für therapeutische oder kosmetische Anwendungen und unterstreicht die Bedeutung der Wasserdampfdestillation als nachhaltige Extraktionstechnik. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass Schwankungen im Verhältnis von getrocknetem Kraut zu Hydrolat durch Faktoren wie die Eigenschaften des Pflanzenmaterials, Destillationsparameter und Handhabung während der Sammlung und Trennung entstehen können, während diese die Destillationseffizienz erheblich beeinflussen können. Der beobachtete pH-Wert beeinflusst die möglichen Anwendungen und unterstreicht die Notwendigkeit einer präzisen Qualitätskontrolle. Die Anpassung des pH-Werts für bestimmte Anwendungen kann den Nutzen von Holunderbeerenhydrolat in verschiedenen Branchen steigern.

Diese Studie untersucht das Potenzial von Holunderbeeren für die Verwendung in Naturkosmetik und untersucht die Wasserdampfdestillation als zugängliche Methode zur Gewinnung von Holunderbeerenhydrolat. Die Ergebnisse tragen zum Verständnis der Vorteile von Holunderbeeren für die Hautgesundheit bei und betonen die Nachhaltigkeit der Wasserdampfdestillation für die aromatische und therapeutische Extraktion. Darüber hinaus ist dies unseres Wissens nach die erste Studie zur Zusammensetzung und den biologischen Eigenschaften von Holunderbeerenhydrolat *in vitro*.

Diese Studie trägt auch zu einem besseren Verständnis der Charakterisierung der flüchtigen Bestandteile von Holunderbeerenhydrolat bei. Bei der Analyse von Hydrolaten wird üblicherweise eine Flüssig-Flüssig-Extraktion verwendet, um die flüchtigen Verbindungen in ein organisches Lösungsmittel zu extrahieren, da GC-MS als Werkzeug zur Analyse wässriger Proben nur eingeschränkt einsetzbar ist [22]. Als organisches Lösungsmittel wird am häufigsten Hexan verwendet [23], obwohl es kein optimales Extraktionslösungsmittel zur Bestimmung der Zusammensetzung eines Hydrolats ist, da es ein sehr unpolares Lösungsmittel ist ($\log P = 3,90$). Daher verwendeten wir zusätzlich eine Extraktion mit Ethylacetat, das polarer ($\log P = 0,73$) als Hexan ist, sich aber dennoch nicht mit Wasser mischt. In Anbetracht der Tatsache, dass ein Hydrolat eine wässrige Lösung flüchtiger Verbindungen ist und polare flüchtige Verbindungen in höheren Konzentrationen vorhanden sind als weniger polare, erwarteten wir, im Ethylacetatextrakt mehr Verbindungen nachzuweisen. Dies war jedoch nicht der Fall; Wir konnten Phenylacetaldehyd nur im Ethylacetat-Extrakt nachweisen, während (E)-beta-Damascenon, n-Hexanal und Furfural ebenfalls im Hexan-Extrakt nachgewiesen wurden, allerdings in Spuren Mengen.

Im Allgemeinen hängt die Gesamtzahl der in einem Hydrolat nachgewiesenen Verbindungen von der gewählten Methode zur Analyse des Hydrolats ab. Es ist zu erwarten, dass weniger Verbindungen nachgewiesen werden, wenn das Hydrolat direkt auf das GC-MS gegeben wird, d. h. ohne Vorbehandlung oder Vorbereitung der Probe, als wenn es zuvor mit einer organischen Phase wie Hexan oder Ethylacetat extrahiert wird. In Anbetracht dessen kommen wir zu dem Schluss, dass sowohl die direkte GC-MS-Analyse des unverarbeiteten Hydrolats als auch die Analyse von Extrakten erforderlich sind, um möglichst detaillierte Informationen über die Zusammensetzung eines Hydrolats zu erhalten.

Holunderbeeren sind für ihre vielfältigen bioaktiven Inhaltsstoffe bekannt, darunter Antioxidantien, Vitamine und essentielle Fettsäuren [5]. Die antioxidativen Eigenschaften

von Holunderbeeren sind von besonderem Interesse, da sie das Potenzial haben, oxidativem Stress entgegenzuwirken und vorzeitiger Hautalterung vorzubeugen. Dies steht im Einklang mit früheren Studien, die darauf hingewiesen haben, dass Holunderbeeren die Haut vor Schäden durch freie Radikale schützen können [8]. Diese Erkenntnisse unterstreichen auch die entzündungshemmenden und antimikrobiellen Eigenschaften von Holunderbeeren, die zu ihrer Fähigkeit beitragen, gereizte Haut zu beruhigen und vor potenziellen Infektionen zu schützen. Die bei Holunderbeeren berichteten antigenotoxischen Eigenschaften sind von besonderem Interesse, da sie auf einen Zusammenhang zwischen ihrer Verwendung und Anti-Aging-Vorteilen hinweisen. Insgesamt positionieren die vielfältigen Eigenschaften von Holunderbeeren sie als vielversprechenden natürlichen Inhaltsstoff zur Verbesserung der Hautgesundheit und zur Behandlung verschiedener Hautprobleme. Wir glauben, dass die Ergebnisse unserer Studie die Anwendungsmöglichkeiten von Holunderbeeren erweitern, indem sie die getesteten biologischen Wirkungen von Holunderbeerenhydrolat demonstrieren, die auf potenzielle kosmetische oder therapeutische Eigenschaften hinweisen.

Die Bedeutung der Wasserdampfdestillation bei der Extraktion ätherischer Öle und Hydrolate aus Pflanzenmaterialien hat ihre Wurzeln in der traditionellen Medizin und Aromatherapie. Sie minimiert den Abfall und unterstützt umweltfreundliche Praktiken. Die Produktion von Holunderhydrolat entspricht der Nachfrage der Industrie nach natürlichen und nachhaltigen Alternativen.

Die Herstellung von Kosmetika durch Wasserdampfdestillation ermöglicht eine individuelle Anpassung an den Hauttyp und die Vorlieben des Einzelnen und entspricht damit dem Trend zu personalisierten Hautpflegeprogrammen. Während der Studie wurde eine bemerkenswerte Beobachtung gemacht, dass das Vorhandensein ätherischer Öle während der Wasserdampfdestillation zwar optisch wahrgenommen, jedoch nicht aufgefangen wurde. Dies führte zu einer Untersuchung der Einflussfaktoren, wie z. B. Schwankungen im Gehalt ätherischer Öle, der Flüchtigkeit und potenzieller alternativer Verbindungen, die aromatische Eigenschaften verleihen. Fehler oder suboptimale Parameter im Destillationsprozess könnten dazu beigetragen haben, was die Notwendigkeit einer sorgfältigen Neubewertung unterstreicht, um tiefere Einblicke in die Dynamik der Wasserdampfdestillation und die Auswirkungen auf die Extraktion wertvoller aromatischer Verbindungen zu erhalten.

4.2. Genotoxizitätsbewertung

Die beobachteten Schutzeffekte von Holunderbeerenhydrolat gegen genotoxischen Stress, wie sie durch den Comet-Test mit H₂O₂- und SN-Expositionen nachgewiesen wurden, stimmen mit den bekannten Eigenschaften der Holunderbeere überein, insbesondere mit ihrer reichhaltigen phytochemischen Zusammensetzung [24].

Der Anstieg der DNA-Schäden in der „C+“-Gruppe, die ausschließlich H₂O₂ ausgesetzt war, unterstreicht die ausgeprägte genotoxische Wirkung von Wasserstoffperoxid. Im Gegensatz dazu deutet die konzentrationsabhängige Beziehung, die in den mit Holunderhydrolat behandelten Gruppen beobachtet wurde, auf ein nuanciertes Zusammenspiel zwischen den Hydrolatkonzentrationen und dem DNA-Schutz hin. Dies steht im Einklang mit den festgestellten antioxidativen Eigenschaften von Holunderhydrolat, da Antioxidantien dafür bekannt sind, reaktive Sauerstoffspezies abzufangen und so durch oxidativen Stress verursachte Schäden an Zellkomponenten, einschließlich DNA, zu reduzieren.

Das optimale Ergebnis, das mit der Behandlung mit 10 % Holunderbeerenhydrolat im SN-Zustand und der 1 %-Behandlung im H₂O₂-Zustand beobachtet wurde, deutet auf eine mögliche konzentrationspezifische Schutzwirkung hin. Dieses Ergebnis kann auf das optimale Gleichgewicht der bioaktiven Verbindungen bei dieser Konzentration zurückgeführt werden, da höhere Konzentrationen Tendenzen zu erhöhten DNA-Schäden zeigten. Die 1 %- und 10 %-Konzentrationen mit ihren minimalen DNA-Schäden und einer deutlichen Verringerung der Genotoxizität unterstreichen das Potenzial von Holunderbeerenhydrolat, oxidativen Stress zu mildern. Außerdem stärkt das Hydrolat wahrscheinlich die zellulären antioxidativen Abwehrsysteme, einschließlich der Hochregulierung antioxidativer Enzyme oder der direkten Beseitigung freier Radikale.

Darüber hinaus unterstreichen die unterschiedlichen Ergebnisse, die mit den verschiedenen Hydrolatkonzentrationen und den Herausforderungen beobachtet wurden, die Komplexität der Auswirkungen von Holunderbeerenhydrolat auf DNA-Schäden. Die Nuancen in den Ergebnissen können mit Variationen in den Konzentrationen bestimmter Phytochemikalien im Holunderbeerenhydrolat zusammenhängen, die jeweils unterschiedlich zu seiner allgemeinen Schutzkapazität beitragen.

Das Vorhandensein von Phenylacetaldehyd, 2-Acetylpyrrol und der nicht identifizierten Verbindung im Holunderbeerenhydrolat deutet auf eine mögliche Bioaktivität hin, die mit den beobachteten genotoxischen Wirkungen korrelieren könnte. Phenylacetaldehyd, vorherrschend (26,7%) im Hydrolat, wie bei Verwendung der unverarbeiteten Probe bestimmt, sowie in beiden Ethylacetaten (100%; es war das einzige

nachgewiesene Verbindung) und Hexanextrakte (82,6 %), ist eine bekannte Duftstoffverbindung, die verschiedene biologische Aktivitäten gezeigt hat, darunter antimikrobielle und antioxidative Eigenschaften [25–27]. Diese Eigenschaften könnten zu den im Comet-Test beobachteten antigenotoxischen Wirkungen beitragen, da Antioxidantien bekanntermaßen durch oxidativen Stress verursachte DNA-Schäden abschwächen.

Die nicht identifizierte Verbindung, die einen erheblichen Anteil des Hydrolats ausmacht (59,7 %; unverarbeitetes Hydrolat), muss weiter untersucht werden, um ihre Struktur und potenzielle biologische Aktivität aufzuklären. Die genotoxische Bewertung, die eine Verringerung der DNA-Schäden ergab, weist darauf hin, dass die kombinierte Wirkung dieser Verbindungen Schutzeigenschaften gegen genotoxische Stoffe verleihen kann.

Darüber hinaus wurde 2-Acetylpyrrol, eine weitere identifizierte Verbindung, auf ihre potenziellen biologischen Aktivitäten, einschließlich ihrer antioxidativen Eigenschaften, untersucht [28,29]. Diese Verbindung könnte auch bei den beobachteten antigenotoxischen Wirkungen eine Rolle spielen, obwohl ihr genauer Wirkungsmechanismus in diesem Zusammenhang noch weiter

erforscht werden muss. n-Hexanal (3,3 %) und Furfural (4,5 %), die in Hexanextrakten in geringeren Konzentrationen nachgewiesen wurden, besitzen ebenfalls bekannte biologische Aktivitäten, einschließlich antioxidativer. Ihre Anwesenheit ist zwar gering, könnte aber die allgemeine antigenotoxische Wirkung des Hydrolats synergistisch verstärken.

(E)-beta-Damascenon, eine Verbindung, die in Hexanextrakten zu 2,2 % vorhanden ist, trägt ebenfalls zur biologischen Aktivität des Hydrolats bei. Seine antioxidativen Eigenschaften unterstützen zudem die Fähigkeit des Hydrolats, vor DNA-Schäden zu schützen [32].

Darüber hinaus könnte das 2-Acetylpyrrol (13,7 %; unverarbeitetes Hydrolat) im Holunderbeerenhydrolat dessen Schutzwirkung gegen DNA-Schäden verstärken. Die antioxidativen Eigenschaften von 2-Acetylpyrrol könnten die Auswirkungen von oxidativem Stress durch genotoxische Substanzen wie SN und H₂O₂ abschwächen [29]. Diese Schutzwirkung würde mit der beobachteten Verringerung der DNA-Schäden im Comet-Test übereinstimmen.

Die chemische Charakterisierung des Holunderbeerenhydrolats identifiziert wesentliche Verbindungen, die wahrscheinlich zu seiner biologischen Aktivität beitragen. Die genotoxische Bewertung stützt die Hypothese, dass diese Verbindungen, insbesondere Phenylacetaldehyd und möglicherweise die nicht identifizierte Verbindung, ein antigenotoxisches Potenzial haben. Weitere Studien sind erforderlich, um die Mechanismen vollständig zu verstehen, durch die diese Verbindungen ihre schützende Wirkung gegen DNA-Schäden entfalten.

Diese Erkenntnisse unterstreichen das Potenzial von Holunderbeerenhydrolat als wertvolle Ressource für Anwendungen, bei denen antioxidative und antigenotoxische Eigenschaften erforderlich sind, wie beispielsweise in Kosmetika. Um die Mechanismen, durch die diese Verbindungen ihre Schutzwirkung entfalten, vollständig aufzuklären und die Struktur und Aktivität der noch nicht identifizierten Verbindung zu ermitteln, sind weitere Studien erforderlich.

4.3. Wasserstoffperoxid-Abfangaktivität

Das Fehlen einer nachweisbaren H₂O₂-abfangenden Aktivität im Holunderbeerenhydrolat ist auf das Fehlen chemischer Verbindungen zurückzuführen, die den Abbau von H₂O₂ in H₂O und O₂ katalysieren können, sowie auf die Inaktivierung von Enzymen wie Katalase und anderen Peroxidasen während des Wasserdampfdestillationsprozesses. Dies hat erhebliche Auswirkungen auf das Verständnis der potenziellen Schutzfunktion von Holunderbeerenhydrolat gegen DNA-Schäden.

Katalase ist ein wichtiges Enzym, das für die Katalyse des Abbaus von H₂O₂ in Wasser und Sauerstoff verantwortlich ist. Dadurch wird die Ansammlung dieser reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) verhindert und die durch oxidativen Stress verursachten Schäden gemildert [33].

Der Dampfdestillationsprozess bei erhöhten Temperaturen könnte zur Denaturierung oder Inaktivierung der in den Holunderbeeren vorhandenen Peroxidasen geführt haben. Diese Inaktivierung könnte den Mangel an Katalaseaktivität erklären, der im anschließenden Test beobachtet wurde, bei dem das Holunderbeerenhydrolat auf seine Fähigkeit zur Dismutierung von H₂O₂ getestet wurde [34].

Angesichts dieser Erkenntnisse lässt das Fehlen von Katalaseaktivität im Holunderhydrolat darauf schließen, dass andere antioxidative Mechanismen zu seiner potenziellen Schutzwirkung gegen DNA-Schäden beitragen könnten. Die beobachtete konzentrationsabhängige Verringerung der DNA-Schäden, insbesondere unter oxidativen Stressbedingungen, impliziert, dass Holunderhydrolat bioaktive Verbindungen enthalten könnte, die in der Lage sind, freie Radikale abzufangen und zu mildern.

genotoxische Wirkungen. Diese schützende Wirkung auf die DNA kann auf die Anwesenheit anderer Antioxidantien wie Polyphenole oder Flavonoide zurückgeführt werden, die bei der Bekämpfung oxidativer Schäden eine Rolle spielen könnten.

Die Bedeutung von Holunderbeerenhydrolat als Schutzmittel gegen DNA-Schäden, auch ohne antioxidative Enzyme, unterstreicht die komplexe und vielschichtige Natur seiner bioaktiven Bestandteile. Weitere Untersuchungen der spezifischen antioxidativen Verbindungen im Holunderbeerenhydrolat, ihrer Wirkungsmechanismen und ihrer potenziellen synergistischen Effekte werden zu einem umfassenderen Verständnis der Rolle von Holunderbeeren bei der Milderung von oxidativem Stress und der Wahrung der DNA-Integrität beitragen. Diese Erkenntnisse haben vielversprechende Auswirkungen auf die Entwicklung von Naturprodukten mit DNA-schützenden Eigenschaften, die für Hautpflegeanwendungen und andere Branchen geeignet sind.

4.4 Antioxidative Aktivität Die mit

den beiden Methoden zur Bewertung der antioxidativen Aktivität (ABTS und DPPH) erzielten Ergebnisse weisen nachdrücklich darauf hin, dass Holunderbeerenhydrolat ein beträchtliches antioxidatives Potenzial besitzt, wobei höhere Konzentrationen mit einer stärkeren antioxidativen Aktivität korrelieren [35].

Diese Daten unterstreichen die vielversprechende Rolle von Holunderbeerenhydrolat als Quelle natürlicher Antioxidantien und haben potenzielle Auswirkungen auf verschiedene Branchen, die nach natürlichen, antioxidantienreichen Verbindungen für die Produktentwicklung und Gesundheitsanwendungen suchen.

Diese Erkenntnisse werfen Licht auf die nuancierte Beziehung zwischen der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung des Hydrolats und seiner antioxidativen Wirkung und liefern wertvolle Erkenntnisse für die weitere Erforschung der zugrunde liegenden Mechanismen und potenziellen Anwendungen in Kosmetika, funktionellen Lebensmitteln oder Arzneimitteln. Es ist anzumerken, dass die antioxidativen Eigenschaften der im Hydrolat vorhandenen Verbindungen die beobachtete Schutzwirkung bei durch H_2O_2 und SN verursachten DNA-Schäden erklären können. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass einige der Verbindungen die in der Zelle vorhandenen DNA-Reparatursysteme stimulieren.

4.5. Einschränkungen

Obwohl diese Studie wertvolle Erkenntnisse über die potenziellen Vorteile von Holunderbeerenhydrolat für die Hautpflege und andere Anwendungen liefert, müssen einige Einschränkungen berücksichtigt werden. Erstens kann die Stichprobengröße der Studie, die auf Daten eines einzelnen gesunden Freiwilligen beruhte, die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf eine breitere Bevölkerung einschränken. Darüber hinaus kann die Verwendung von Holunderbeeren, die von einem bestimmten Ort und zu einem bestimmten Zeitpunkt bezogen wurden, aufgrund geografischer Unterschiede und saisonaler Schwankungen in der Pflanzensammensetzung zu Variabilität führen. Störvariablen wie Ernährung, Lebensstilfaktoren und Umwelteinflüsse wurden nicht berücksichtigt, was möglicherweise die beobachteten Ergebnisse beeinflusst. Die Beseitigung dieser Einschränkungen durch größere Stichproben, kontrollierte Versuchsdesigns und die Berücksichtigung potenzieller Störfaktoren könnte die Gültigkeit und Generalisierbarkeit künftiger Forschung in diesem Bereich verbessern.

5. Schlussfolgerungen

Diese Studie beleuchtet das Potenzial von Holunderbeeren als natürliche Zutat in Hautpflege- und Schönheitsprodukten. Die Erforschung der Holunder-Dampfdestillation unterstreicht ihre vielfältigen Vorteile für die Hautgesundheit und betont die Zugänglichkeit und Nachhaltigkeit dieser Methode. Da die Nachfrage nach Naturkosmetik und nachhaltigen Praktiken weiter steigt, tragen diese Erkenntnisse zur wachsenden Zahl von Forschungsarbeiten bei, die die Integration natürlicher Ressourcen in moderne Hautpflegeprogramme unterstützen. Indem Holunderbeeren eine Brücke zwischen Tradition und moderner Wissenschaft schlagen, veranschaulichen sie die harmonische Synergie zwischen Natur und persönlichem Wohlbefinden. Diese Studie hebt die vielfältigen Eigenschaften von Holunderbeerenhydrolat hervor und positioniert es als vielversprechende natürliche Zutat zur Verbesserung der Hautgesundheit und zur Behandlung verschiedener Hautprobleme. Das Vorhandensein bioaktiver Verbindungen wie Phenylacetaldehyd und 2-Acetylpyrrol sowie die potenzielle Aktivität der nicht identifizierten Verbindung unterstreichen das Potenzial des Hydrolats in Kosmetika und anderen Anwendungen, die antioxidative und antientoxische Eigenschaften erfordern. Weitere Forschung ist erforderlich, um die Mechanismen vollständig zu verstehen.

durch die diese Verbindungen ihre schützende Wirkung entfalten und die nicht identifizierten Struktur und Aktivität der Verbindung. Diese Erkenntnisse tragen zur wachsenden Zahl von Wissen über die Vorteile von Holunder, unterstützt seine Verwendung als wertvolle natürliche und nachhaltige Ressource für Produktentwicklung.

Autorenbeiträge: SG, FP, KS, NKG und IG: Konzeptualisierung, Schreiben – Überprüfung und Bearbeitung; SG, KS, NKG und FP: Untersuchung, Ressourcen, Methodik, Validierung, Datenkuratierung und Visualisierung; SG: Schreiben eines Originalentwurfs; Projektverwaltung und formale Analyse; FP und IG: Betreuung; IG: Finanzierung. Alle Autoren haben die veröffentlichte Version von das Manuskript.

Finanzierung: Diese Arbeit wurde durch das Projekt UIDB/00772/2020 (<https://doi.org/10.54499/UIDB/00772/2020>), finanziert von der portugiesischen Stiftung für Wissenschaft und Technologie (FCT).

Erklärung des Institutional Review Board: Diese Studie wurde in Übereinstimmung mit der Erklärung durchgeführt von Helsinki und genehmigt vom Institutional Review Board der Universität Trás-os-Montes und Alto Douro (Doc4-CE-UTAD-2023, 27. Januar 2023).

Einverständniserklärung: Die Einverständniserklärung aller an der Studie beteiligten Personen wurde eingeholt. die Studie.

Datenverfügbarkeitserklärung: Daten, die die Ergebnisse und Schlussfolgerungen unterstützen, sind verfügbar auf Anfrage beim korrespondierenden Autor.

Danksagung: Die Autoren danken Dinis Diogo und Guy Gonçalves für die Bereitstellung der Zutaten analysiert und bei der Wasserdampfdestillation unterstützt. Die Autoren danken Tiago Ferreira für Hilfe bei der statistischen Analyse.

Interessenkonflikte: Die Autoren erklären, dass die Forschung ohne kommerzielle oder finanzielle Beziehungen, die als potenzielle Interessenkonflikte ausgelegt werden könnten.

Abkürzungen

Abkürzung	Volle Amtszeit
ABTS	2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure)
C	Mit PBS behandelte Kontrollgruppe
C 1, C 5, C 10, C 15	Kontrollgruppen, die mit PBS und dem jeweiligen Holunderhydrolat behandelt wurden Konzentrationen (1%, 5%, 10%, 15%)
C +	Gruppe, die ausschließlich einer SN-Behandlung unterzogen wurde
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
EbH	Holunderbeerenhydrolat
Fpg	Formamido-Pyrimidin[fapy]-DNA-Glycosylase
GDI	Indikator für genetische Schäden
HRP	Meerrettich-Peroxidase
HVA	Homovanillinsäure
H2O2	Wasserstoffperoxid
PBMCs	Periphere mononukleäre Blutzellen
PBS	Phosphatgepufferte Kochsalzlösung
SN	Streptonigrin
TEAC	Trolox-äquivalente antioxidative Kapazität

Verweise

1. Liu, J.-K. Naturprodukte in der Kosmetik. Nat. Prod. Bioprospect. **2022**, *12*, 40. [\[CrossRef\]](#)
2. Maleš, I.; Pedišić, S.; Zorić, Z.; Elez-Garofulić, I.; Repajić, M.; You, L.; Vladimir-Knežević, S.; Butorac, D.; Dragović-Uzelac, V. Die Arznei- und Aromapflanzen als Zutaten in der Herstellung funktioneller Getränke. J. Funct. Foods **2022**, *96*, 105210. [\[CrossRef\]](#)
3. Price, S.; Price, L. Aromatherapie für medizinisches Fachpersonal, 2. Auflage; Churchill Livingstone: London, UK, 1999.
4. Xu, C.; Li, Q.; Wang, N.; Liu, D.; Guo, C. Identifizierung und Unterscheidung von Aromaattributen und bioaktiven Komponenten von fünf kommerzielle ätherische Öle aus Selleriesamen (*Apium graveolens* L.) mittels E-nose, HS-GC-IMS und GC-MS. LWT **2023**, *184*, 115094. [\[Querverweis\]](#)
5. Gonçalves, S.; Gaivão, I. In der Region Trás-os-Montes (Portugal) übliche natürliche Inhaltsstoffe für die Verwendung in der Kosmetikindustrie: Ein Überblick über chemische Zusammensetzung und antigenotoxische Eigenschaften. Molecules **2021**, *26*, 5255. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

6. Tiralongo, E.; Wee, S.; Lea, R. Holunderbeer-Supplementierung reduziert Erkältungsdauer und -symptome bei Flugreisenden: Eine isierte, doppelblinde, placebokontrollierte klinische Studie. *Nutrients* **2016**, *8*, 182. [\[CrossRef\]](#)
7. Liu, D.; He, X.-Q.; Wu, D.-T.; Li, H.-B.; Feng, Y.-B.; Zou, L.; Gan, RY Holunder (*Sambucus nigra* L.): Bioaktive Verbindungen, Gesundheitsfunktionen und Anwendungen. *J. Agric. Food Chem.* **2022**, *70*, 4202–4220. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
8. Gonçalves, S.; Gaivão, I. Die Schöne und das giftige Biest: Verwendung des Comet-Assays zur Untersuchung der Antigenotoxizität natürlicher Inhaltsstoffe. In *Kosmetikprodukten und -industrie – Neue Fortschritte und Anwendungen*; Ahmad, DU, Akhtar, PJ, Hrsg.; IntechOpen: Rijeka, Kroatien, 2023. [\[Querverweis\]](#)
9. Proença da Cunha, A.; Pereira da Silva, A.; Costa, MdC; Rodrigues Roque, O.; Proença da Cunha, H.; Proença Portugal, M. *Manual de Plantas Mediciniais – Bases Farmacológicas e Clínicas*; Dinalivro: Lissabon, Portugal, 2017.
10. Tisserand, R.; Young, R. *Essential Oil Safety—A Guide for Health Care Professionals*, 2. Auflage; Elsevier: Amsterdam, Niederlande Länder, 2014. [\[CrossRef\]](#)
11. Sierra, LM; Gaivão, I. (Hrsg.) *Genotoxizität und DNA-Reparatur*; Springer: New York, NY, USA, 2014. [\[CrossRef\]](#)
12. Collins, AR Der Comet-Test für DNA-Schäden und -Reparatur: Prinzipien, Anwendungen und Einschränkungen. *Mol. Biotechnol.* **2004**, *26*, 249–261. [\[CrossRef\]](#)
13. Olive, PL; Banáth, JP Der Comet-Test: Eine Methode zur Messung von DNA-Schäden in einzelnen Zellen. *Nat. Protoc.* **2006**, *1*, 23–29. [\[Querverweis\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Benhusein, GM; Mutch, E.; Aburawi, S.; Williams, FM Genotoxische Wirkung durch Wasserstoffperoxid im menschlichen Hepatom Zellen mittels Comet-Assay. *Libyan J. Med.* **2010**, *5*, 4637. [\[CrossRef\]](#)
15. Fairbairn, DW; Olive, PL; O'Neill, KL Der Comet-Test: Eine umfassende Übersicht. *Mutat. Res. Genet. Toxicol.* **1995**, *339*, 37–59. [\[Querverweis\]](#)
16. Hartmann, A. Empfehlungen zur Durchführung des in vivo alkalischen Comet-Tests. *Mutagenesis* **2003**, *18*, 45–51. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
17. Singh, NP; Stephens, RE Mikrogelelektrophorese: Empfindlichkeit, Mechanismen und DNA-Elektrostretching. *Mutat. Res. Repair* **1997**, *383*, 167–175. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
18. Valletta, EA; Berton, G. Desensibilisierung des Sauerstoffmetabolismus von Makrophagen an immobilisierten Liganden: Unterschiedliche Wirkung der immobilisierten Immunglobulin G und Komplement. *J. Immunol.* **1987**, *138*, 4366–4373. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. Park, Y.-S.; Towantakavanit, K.; Kowalska, T.; Jung, S.-T.; Ham, K.-S.; Heo, B.-G.; Cho, J.-Y.; Yun, J.-G.; Kim, H.-J.; Gorinstein, S. Bioaktive Verbindungen und antioxidative und antiproliferative Aktivitäten koreanischer Weißlotus-Sorten. *J. Med. Food* **2009**, *12*, 1057–1064. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
20. Yen, GC; Duh, PD Abfangende Wirkung methanolischer Extrakte aus Erdnussschalen auf freie Radikale und aktiven Sauerstoffspezies. *J. Agric. Food Chem.* **1994**, *42*, 629–632. [\[CrossRef\]](#)
21. Hale, A. Die flüchtigen Verbindungen von Holunderbeeren (*Sambucus nigra* L.). *Nat. Volatiles Essent. Oils* **2014**, *1*, 51–54.
22. Seçilmi, s Canbay, H. Wirksamkeit der Flüssig-Flüssig-Extraktion, Festphasenextraktion und Headspace-Technik zur Bestimmung einiger flüchtiger wasserlöslicher Verbindungen von aromatischem Rosenwasser. *Int. J. Anal. Chem.* **2017**, *2017*, 4870671. [\[CrossRef\]](#)
23. Clough, SR Hexane. In *Encyclopedia of Toxicology*, 3. Aufl.; Wexler, P., Hrsg.; Academic Press: Oxford, UK, 2014; S. 900–904. [\[Querverweis\]](#)
24. Silva, P.; Ferreira, S.; Nunes, FM Holundernebenprodukte (*Sambucus nigra* L.) sind eine Quelle von Anthocyanen und antioxidativen Polyphenolen. *Ind. Crops Prod.* **2017**, *95*, 227–234. [\[CrossRef\]](#)
25. Kobayakawa, T.; Tamamura, H. Kapitel Sieben – Chloralken-Dipeptid-Isostere als Peptidomimetika. In *Methods in Enzymology*; Petersson, EJ, Hrsg.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2021; Band 656, S. 191–239.
26. Pan, H.; Xiao, Y.; Xie, A.; Li, Z.; Ding, H.; Yuan, X.; Sun, R.; Peng, Q. Der antibakterielle Mechanismus der isolierten Phenyllessigsäure von *Bacillus megaterium* L2 gegen *Agrobacterium tumefaciens*. *PeerJ* **2022**, *10*, e14304. [\[CrossRef\]](#)
27. Choi, HS; Kim, S.-L.; Kim, J.-H.; Ko, Y.-C.; Lee, D.-S. Pflanzenflüchtiger Stoff, Phenylacetaldehyd, zielt auf Brustkrebsstammzellen ab durch Induktion von ROS und Regulierung des Stat3-Signals. *Antioxidants* **2020**, *9*, 1119. [\[CrossRef\]](#)
28. Lasekan, O.; Teoh, LS Beitrag von Aromastoffen zu den antioxidativen Eigenschaften der gerösteten weißen Yamswurzel (*Dioscorea rotundata*). *BMC Chem.* **2019**, *13*, 133. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
29. Yanagimoto, K.; Lee, K.-G.; Ochi, H.; Shibamoto, T. Antioxidative Aktivität von heterozyklischen Verbindungen in Kaffee flüchtigen, die durch Maillard-Reaktion entstehen. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 5480–5484. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
30. Elisia, I.; Kitts, DD Quantifizierung von Hexanal als Index der Lipidoxidation in Muttermilch und Zusammenhang mit Antioxidantien Komponenten. *J. Clin. Biochem. Nutr.* **2011**, *49*, 147–152. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
31. Pigatto, PD; Diani, M. Positive Effekte des Antioxidans Furfurylpalmitat in nicht-pharmakologischen Behandlungen (verschreibungspflichtige Emollient Devices, PEDs) bei atopischer Dermatitis und verwandten Hauterkrankungen. *Dermatol. Ther.* **2018**, *8*, 339–347. [\[CrossRef\]](#)
32. Jurišić Grubešić, R.; Nazlić, M.; Miletić, T.; Vuko, E.; Vuletić, N.; Ljubenkov, I.; Dunkić, V. Antioxidative Kapazität freier flüchtiger Verbindungen aus *Olea europaea* L. cv. *Oblica*-Blättern in Abhängigkeit vom Vegetationsstadium. *Antioxidantien* **2021**, *10*, 1832. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Nandi, A.; Yan, L.-J.; Jana, CK; Das, N. Rolle der Katalase bei oxidativem Stress und altersbedingten degenerativen Erkrankungen. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2019**, *2019*, 9613090. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

34. Chanwun, T.; Muhamad, N.; Chirapongsatunkul, N.; Churngchow, N. Hevea brasiliensis Zellsuspensionsperoxidase: Reinigung, Charakterisierung und Anwendung zur Farbstoffentfärbung. *AMB Express* **2013**, *3*, 14. [\[CrossRef\]](#)
35. Lee, KJ; Oh, YC; Cho, WK; Ma, JY Bestimmung der antioxidativen und entzündungshemmenden Wirkung von einhundert Arten reiner chemischer Verbindungen mittels Offline- und Online-Screening-HPLC-Test. *Evidenzbasierte Ergänzung. Altern. Med. ECAM* **2015**, *2015*, 165457. [\[CrossRef\]](#)

Haftungsausschluss/Anmerkung des Herausgebers: Die in allen Veröffentlichungen enthaltenen Aussagen, Meinungen und Daten sind ausschließlich die der einzelnen Autoren und Mitwirkenden und nicht die von MDPI und/oder den Herausgebern. MDPI und/oder die Herausgeber lehnen jegliche Verantwortung für Personen- oder Sachschäden ab, die aus den im Inhalt erwähnten Ideen, Methoden, Anweisungen oder Produkten resultieren.