

Jahresbericht 2002

Inhaltsverzeichnis

Struktur und Funktion niedermolekularer Lebensmittelinhaltsstoffe

- Aroma und Geschmack (Genusswert) als Qualitätsparameter
 - Wichtige Aromastoffe in der Schalen von Klementinen (Citrus Reticulara Blanco cv. clementine)
 - Veränderungen des Röstkaffeearomas während der Lagerung - Einfluss der Verpackung
 - Schlüsselaromastoffe in gekochten Braunreisvarietäten
 - Vergleich aroma-aktiver Verbindungen in Roggenmehl und daraus hergestellter Sauerteige
 - Charakterisierung wichtiger Aromastoffe in Maillard-Reaktionen von Cysteamin und Isothiaprolin
 - ¹³C-Markierungsstudien zur Klärung der Strukturen und der Bildung der intensiv bitteren Maillardprodukte Quinizolat und Homoquinizolat
 - Studien zum Zusammenhang von Struktur und "kühlender" Aktivität cyclischer α -Ketoenamine
- Physiologische und techno-funktionelle Eigenschaften
 - Nachweis eines "nicht-aromatischen" NIH Shifts während der in vivo Metabolisierung von Carvon beim Menschen
 - Retronasale Geruchswahrnehmung während des Verzehrs: eine physiologisch-analytische Studie

Entwicklung spezieller Analysenverfahren

- Synthesen stabilisotopenmarkierter Folsäurevitamere zum Einsatz als interne Standards in Isotopenverdünnungsanalysen
- Einfache dünn-schichtchromatographische Quantifizierung von Phospholipiden
- Entwicklung einer gelchromatographischen Methode zur Bestimmung von Gliadin und Gluten in Weizenstärke

Arbeiten zu Struktur/Wirkungsbeziehungen bei Biopolymeren

- Optimierung eines Kleber/Stärke-Backversuchs in Bezug auf Wasser- und Gashaltevermögen sowie Krumenbildung
- Charakterisierung von γ -75K-Secalinen aus Roggen - I. Aminosäuresequenzen
- Charakterisierung der γ -75K-Secaline von Roggen - II. Disulfidbindungen
- Untersuchung von transgenem Roggen mit HMW-Untereinheiten des Weizens
- Zöliakiespezifische toxikologische Untersuchung eines immunaktiven Peptids aus α -Gliadinen

- [Untersuchungen über die Zöliakieaktivität von Avenin, der Prolaminfraktion von Hafer](#)

Tabellenwerk zum Nährstoffgehalt von Lebensmitteln

Zusammenfassungen

1. STRUKTUR UND FUNKTION NIEDERMOLEKULARER LEBENSMITTELINHALTSSTOFFE

1.1. Aroma und Geschmack (Genusswert) als Qualitätsparameter

1.1.1. Wichtige Aromastoffe in der Schalen von Klementinen (*Citrus Reticulara Blanco cv. clementine*)

Ausgangslage: Schalenöle von Zitrusfrüchten werden häufig als natürliche Essenz zur Aromatisierung von Lebensmitteln eingesetzt. Bei der Lagerung solcher Produkte werden Aromaveränderungen beobachtet, die z.T. auf die relativ geringe Stabilität der Schalenölinhaltsstoffe zurückgeführt werden können.

Forschungsziel: Klärung der wichtigsten Aromastoffe in frisch extrahiertem Schalenöl von Klementinen als Basis für Stabilitätsuntersuchungen.

Ergebnis: In einem Aromadestillat, das durch Extraktion von Schalen und anschließender Destillation im Hochvakuum erhalten wurde, konnten durch Anwendung der Aromaextraktverdünnungsanalyse 42 geruchsaktive Bereiche gefunden werden, von denen 30 der wichtigsten identifiziert werden konnten. Die Identifizierungsexperimente in Kombination mit den erhaltenen Flavor Dilution (FD) Faktoren als relatives Mass für die Aromabeteiligung einer Einzelkomponente zeigte das blumig riechende Linalool, das fettig riechende (E,E)-2,4-Decadienal sowie das süß riechende Weinlacton als wichtigste Aromastoffe auf. Unter den 30 identifizierten Verbindungen wurden 11 Komponenten erstmals im Schalenöl von Klementinen identifiziert.

Index

1.1.2. Veränderungen des Röstkaffeearomas während der Lagerung - Einfluss der Verpackung

Ausgangslage: Das Aroma von frisch geröstetem Kaffee ist nicht stabil und ändert sich innerhalb kurzer Zeit sehr stark. Obwohl ein Verpacken den Alterungsprozess (staling) verlangsamt, treten bei verpacktem Röstkaffee während einer längeren Lagerung Fehl aromen auf. Aufgrund der Kenntnisse über diejenigen Verbindungen, die wesentlich zum Kaffee aroma beitragen, lässt sich vermuten, dass Verpackungsmaterialien eine Änderung in der Zusammensetzung an Schlüssel aromastoffen während der Lagerung bewirken.

Forschungsziel: Untersuchung des Einflusses von Verpackungen auf das Röstkaffee aroma und die Zusammensetzung der dafür verantwortlichen Aromastoffe während der Lagerung.

Ergebnis: Durch sensorische Untersuchungen an Röstkaffee, der in einem Inertbehälter (Weissblechdose) und einer handelsüblichen Weichpackung abgefüllt wurde, wurden bereits nach 12 Wochen Lagerung signifikante Unterschiede in den Gesamtaromen festgestellt, wobei der "Weichpackungskaffee" ein Fehleroma aufwies. Durch vergleichende Aromaextrakt-Verdünnungsanalysen und Headspace-Verdünnungsanalysen wurden in diesem Kaffee deutlich geringere Intensitäten an 8 Aromastoffen (darunter 2-Furfurylthiol, 3-Methylbutanal, 2,3-Butandion) detektiert. Quantifizierung über Stabilisotopen-Verdünnungsanalysen belegten, dass diese Verbindungen, die im Fehleromakaffee in signifikant geringeren Mengen vorlagen, für das Fehleroma verantwortlich waren. In Modellversuchen, in denen Röstkaffee unter verschiedenen Bedingungen gelagert wurde, wurde der Einfluss von Sauerstoff als wesentliche Ursache für die Alterung von Kaffee abgeklärt.

[Index](#)

1.1.3. Schlüsselaromastoffe in gekochten Braunreisvarietäten

Ausgangslage: Beim Kochen asiatischer Braunreissorten, die sich beim Verbraucher zunehmender Beliebtheit erfreuen, entsteht eine intensiv röstige-popkornartige Geruchsnote. Für diesen als "Basmati-Aroma" bezeichneten Geruch wird in der Literatur im Wesentlichen das 2-Acetyl-1-pyrrolin (ACPY) verantwortlich gemacht. ACPY konnte von uns, wie in früheren Berichten dargestellt, auch als wesentlicher Geruchsstoff in Weissbrotkruste sowie frischem Popcorn identifiziert werden.

Forschungsziel: Klärung der Bedeutung von 2-Acetyl-1-pyrrolin im Aroma verschiedener Braunreissorten. Identifizierung weiterer Reisaromastoffe.

Ergebnis: In Aromaextrakten der vier Reissorten Improved Malagkit Sungsong (IMS), Basmati 370 (B370), Khaskani (KK) und Indica (Probe aus deutschem Supermarkt) konnten insgesamt 41 geruchsaktive Verbindungen durch GC-Olfaktometrie detektiert werden. Die durch die Anwendung von Aromaextraktverdünnungsanalysen erhaltenen FD-Faktoren zeigten in Kombination mit den Identifizierungsexperimenten, dass das bisher in Reis nicht beschriebene 4-Aminoacetophenon (medizinisch) in allen vier Sorten den höchsten FD-Faktor aufwies. 2-Acetyl-1-pyrrolin wurde als weiterer wichtiger Aromastoff in IMS, B370 und KK bestätigt, trat aber bei Indica nicht auf. Unterschiede in den FD-Faktoren wurden u.a. für die ebenfalls erstmals in Reis beschriebene Verbindung 3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon (Sotolon) ermittelt, die in B370 einen höheren FD-Faktor aufwies als in IMS und KK. Weiterhin zeigte eine bisher unbekannte Verbindung mit würzig, maggiartiger Note insbesondere im IMS den höchsten FD-Faktor. Die grössten Unterschiede in den Aromastoffen zeigte Indica im Vergleich zu den drei asiatischen Sorten.

[Index](#)

1.1.4. Vergleich aroma-aktiver Verbindungen in Roggenmehl und daraus hergestellter Sauerteige

Ausgangslage: Zur traditionellen Herstellung von Roggenbrot wird eine dreistufige Sauerteigfermentation durchgeführt, die zum einen insbesondere für die Krumenstruktur des Brotes zum anderen für das charakteristische Aromaprofil als entscheidend angesehen wird. Im Bericht 2000 hatten wir durch Anwendung sensorisch-instrumenteller Konzepte die wichtigsten Aromastoffe der Krume aus sauersteigeführtem Roggenbrot identifizieren

können. Auf der Basis dieser Daten sollte nun das Konzept "Aromastofftransfer oder -bildung: Vom Rohstoff zum Produkt" auf die Brotherstellung angewendet werden.

Forschungsziel: Dazu sollten die wichtigsten, im Roggenmehl vorliegenden Aromastoffe identifiziert und ihre quantitativen Veränderungen bei der Sauerteigfermentation untersucht werden.

Ergebnis: Durch Anwendung der GC/Olfaktometrie sowie des Aromawertkonzeptes konnten Methional (nach gek. Kartoffel), (E)-2-Nonenal (grün, talgig) und Hexanal (grün) als wichtigste Aromastoffe in einem Roggenmehl Type 1150 charakterisiert werden. In einem dreistufig geführten Sauerteig, der unter Verwendung des gleichen Mehls sowie einer kommerziellen Starterkultur hergestellt worden war, zeigten neben Methional auch 3-Methylbutanal, Vanillin, 3-Methylbuttersäure, (E,E)-2,4-Decadienal und Essigsäure hohe Aromawerte über 100. Durch Vergleich der Konzentrationen von 20 Aromastoffen im Mehl sowie dem daraus hergestellten Sauerteig konnte klar gezeigt werden, dass das Mehl neben der Teigfermentation eine wichtige Quelle für Aromastoffe der Roggenbrotkrume ist. So nahmen zwar 3-Methylbutanal, 2,3-Butandion, Essigsäure oder 2-Phenylethanol insbesondere durch biochemische Reaktionen bei der Fermentation um Faktoren von 10-200 zu, allerdings blieben andere Aromastoffe, z.B. Phenylacetaldehyd, Vanillin oder (E,E)-2,4-Decadienal auf dem im Mehl vorhandenen Niveau erhalten. Andere Komponenten, die im Mehl dominieren, z.B. Hexanal oder Methional nahmen aber bei der Fermentation ab. Generell lagen wiederum alle betrachteten Aromastoffe bereits im Mehl in deutlich messbaren Mengen vor.

Index

1.1.5. Charakterisierung wichtiger Aromastoffe in Maillard-Reaktionen von Cysteamin und Isothiaprolin

Ausgangslage: Der thermisch induzierte Abbau von Aminosäuren in Gegenwart reduzierender Kohlenhydrate gehört zu den wichtigsten Aromabildungsreaktionen bei der Lebensmittelverarbeitung. Wie in den vergangenen Berichten dargestellt, haben sich aufgrund der Komplexität der Reaktionen einfache Modellstudien zur Charakterisierung von potenten Aromastoffen und zur Klärung von Reaktionsabläufen sehr bewährt.

Forschungsziel: Die Rolle von Cysteamin, das bei der sog. Strecker-Reaktion aus der Aminosäure Cystein entsteht, sowie der "synthetischen" Aminosäure Isothiaprolin als transiente Vorstufen zur Bildung schwefelhaltiger Aromastoffe sollte beleuchtet werden.

Ergebnis: Ein Gemisch aus Fructose und Cysteamin wurde zum einen in wässrigem Puffer (Modell A; pH 7.0; 145°C) zum anderen unter wasserarmen Bedingungen erhitzt (Modell B; 10 min; 150°C; Kieselgel). In A zeigten das kürzlich von uns erstmals in Maillard-Systemen identifizierte 5-Acetyl-3,4-dihydro-2H-1,5-thiazin (ADT; röstig), 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon (karamellartig) und 2-Acetyl-2-thiazolin (popkornartig) die höchsten FD-Faktoren. Daneben konnte als bisher in der Literatur nicht beschriebener Aromastoff das N-(2-Mercaptoethyl)-1,3-thiazolidin (NMTD) identifiziert werden, das bei einer intensiv röstigen Geruchsnote die extrem niedrige Geruchsschwelle von 0,005 ng/L aufwies. Im Modell B waren mit Ausnahme des 1,3-Thiazolidins, das nicht gebildet wurde, die genannten Verbindungen ebenfalls von herausragender Bedeutung für das Aroma. Ein ähnliches Spektrum an Aromastoffen konnte auch generiert werden, wenn Cysteamin durch die "synthetische" Aminosäure Isothiaprolin ersetzt wurde, allerdings waren die Ausbeuten auch in Abhängigkeit von den Reaktionsbedingungen sehr unterschiedlich.

Quantitative Studien ergaben im wässrigen System eine signifikante Abhängigkeit der Aromastoffbildung vom pH Wert. So entstanden sowohl ADT und AT sowie auch das NMTD bei pH-Werten >5 nicht. NMTD zeigte ein deutliches Maximum bei pH 8; ADT bei pH 7.

Index

1.1.6. ¹³C-Markierungsstudien zur Klärung der Strukturen und der Bildung der intensiv bitteren Maillardprodukte Quinizolat und Homoquinizolat

Ausgangslage: Kürzlich gelang es erstmals durch Anwendung der Geschmacksverdünnungsanalyse auf erhitzte Kohlenhydrat/Aminosäure-Lösungen die beiden Verbindungen Quinizolat und Homoquinizolat als ursächlich am Bittergeschmack dieser Lösungen beteiligten Substanzen zu identifizieren. Allein auf der Basis von NMR-Experimenten war eine eindeutige Sicherung ihrer chemischen Strukturen jedoch nicht möglich. Deshalb sollten nun ¹³C-Markierungsexperimente folgen, um eine eindeutige Strukturklärung von Quinizolat und Homoquinizolat zu ermöglichen und deren Bildungswege aus Kohlenhydraten offen zu legen.

Forschungsziel: Es sollen geeignete ¹³C-Markierungsexperimente entwickelt werden, die eine eindeutige Strukturaufklärung der beiden Bitterstoffe ermöglichen und Einblicke in deren Bildungsabläufe erlauben.

Ergebnis: Die Anwendung der Geschmacksverdünnungsanalyse auf erhitzte Xylose/ Alanin-Lösungen hat kürzlich die Isolierung zweier Bitterstoffe ermöglicht, die mit Schwellenwerten von 0.00025 und 0.001 mmol/kg (Wasser) zu den bislang bittersten, beschriebenen Verbindungen zählen. Auf der Basis von LC/MS und NMR-Experimenten wurde vermutet, dass diesen Verbindungen, dem sog. Quinizolat und dem Homoquinizolat, 1-Oxo-1H,4H-chinolizinium-7-olat-Strukturen zugrunde liegen. ¹³C-Markierungsexperimente unter Verwendung von Mischungen mehrfach markierter und unmarkierter Pentose haben es nun ermöglicht sichtbar zu machen, wie einzelne Fragmente des Zuckerabbaus en bloc in die Bitterstoffe eingebaut werden. Das LC/MS-detektierte "Carbon Modul Labeling"-Experiment, sowie das ¹³C NMR-detektierte "Bond Labeling"-Experiment ergaben die Strukturen von Quinizolat und Homoquinizolat als die bislang nicht beschriebenen (E)-2-[(2-furyl)methyliden]-7-[(2-furyl)-methyl]-3-hydroxymethyl- und (E)-2-[(2-furyl)-methyliden]-7-[(2-furyl)-methyl]-3,8-bis-(hydroxymethyl)-1-oxo-1H,2H,3H-indolizinium-6-olat. Zudem konnten aus dem Markierungsmuster der Verbindungen erstmals eindeutige Hinweise über die Bildung der beiden Bitterstoffe erhalten werden.

Index

1.1.7. Studien zum Zusammenhang von Struktur und "kühlender" Aktivität cyclischer α -Ketoenamine

Ausgangslage: Kürzlich gelang es erstmals zwei Maillard-Verbindungen mit cyclischer α -Ketoenamin-Struktur in Röstmalz zu identifizieren, die sowohl im Mund als auch auf der Haut einen intensiven Kühleffekt hervorrufen. Bislang ist jedoch unklar welche strukturellen Voraussetzungen dieser Substanzklasse für deren Kühlaktivität verantwortlich sind.

Forschungsziel: Anhand systematischer Struktur/Aktivitäts-Untersuchungen sollen erste Einblicke erhalten werden, welche strukturellen Voraussetzungen für die Kühlaktivität von α -Ketoenaminen essentiell sind.

Ergebnis: Ausgehend vom 3-Methyl-2-(1-pyrrolidinyl)-2-cyclopenten-1-on wurden in synthetischen Arbeiten zunächst 26 cyclische α -Ketoenamine synthetisiert und deren physiologische Kühlaktivitäten ermittelt. Jede Veränderung der Aminofunktion, der Ringgröße sowie die Einführung weiterer Methylgruppen führte zu einem drastischen Anstieg der Schwellenwertkonzentration. Die Einführung eines Sauerstoffatoms in den 2-Cyclopenten-1-on-Ring resultierte hingegen in einer deutlichen Senkung der Schwellenwertkonzentration; so war der Schwellenwert des 5-Methyl-4-(1-pyrrolidinyl)-3(2H)-furanons um Faktor 16 unterhalb der Schwelle des 3-Methyl-2-(1-pyrrolidinyl)-2-cyclopenten-1-ons. Einführung des Sauerstoffs an der 5-Position des Cyclopentenon-Rings hatte einen noch drastischeren Einfluss auf die Kühlaktivität; so wies das 4-Methyl-3-(1-pyrrolidinyl)-2(5H)-furanon die höchste Kühlaktivität bei einer Schwellenwertkonzentration von nur 0.02-0.06 mmol/L auf. Im Vergleich zum einzig riechenden (-)-Menthol waren die meisten der synthetisierten α -Ketoenamine geruchlos, wiesen jedoch eine hohe Kühlaktivität auf.

[Index](#)

1.2. Physiologische und techno-funktionelle Eigenschaften

1.2.1. Nachweis eines "nicht-aromatischen" NIH Shifts während der in vivo Metabolisierung von Carvon beim Menschen

Ausgangslage: In Vorarbeiten (siehe Jahresbericht 2001) wurden die in vivo Metabolite von Carvon beim Menschen unter nahrungsrelevanten Bedingungen aufgeklärt. über die Bildungswege dieser Metabolite und mechanistische Aspekte ihrer Bildung ist bisher nichts bekannt.

Forschungsziel: Aufklärung der Bildungswege der Metabolite von Carvon durch Einsatz von markiertem Carvon in den Metabolisierungsexperimenten.

Ergebnis: Nach oraler Aufnahme von 9,9-Dideutero- and 9-¹³C-Carvon durch eine Testperson wurde mittels hochauflösender Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie bzw. hochauflösender Massenspektrometrie die Position und der Gehalt der Markierung in den Metaboliten, namentlich in α -Dimethyl-5-oxo-3-cyclohexen-1-essigsäure (Dihydrocarvonsäure), α -Methylene-4-methyl-5-oxo-3-cyclohexen-1-essigsäure (Carvonsäure) and 5-(1,2-Dihydroxy-1-methylethyl)-2-methyl-2-cyclohexen-1-on (Uroterpenolon) bestimmt. Aus den Ergebnissen des Markierungsexperiments konnte abgeleitet werden, dass Carvonsäure durch Oxidation des Methyl-Kohlenstoffs der Isopropenylseitenkette gebildet wird während Dihydrocarvonsäure durch Oxidation des Methylen-Kohlenstoffs hervorging wobei Carvonepoxid höchstwahrscheinlich als Zwischenstufe durchlaufen wird. Ein "nicht-aromatischer" NIH Shift wurde anhand der Wanderung eines Deuteriumatoms bei der Umwandlung der hypothetischen Epoxidvorstufe zu Dihydrocarvonsäure nachgewiesen. Zusätzlich wurden geringe Mengen beider Säuren mit entgegengesetzter Position des markierten Kohlenstoffs aufgefunden welche durch Hydrierung von Carvonsäure bzw. durch Dehydrierung von Dihydrocarvonsäure gebildet werden. Uroterpenolon wird anhand seiner Markierung durch Oxidation des Methylen-Kohlenstoffs gebildet und daher höchstwahrscheinlich durch Hydrolyse von Carvon Epoxid.

[Index](#)

1.2.2. Retronasale Geruchswahrnehmung während des Verzehr: eine physiologisch-analytische Studie

Ausgangslage: Wie im Bericht 2001 dargestellt, spielen zahlreiche physiologische Parameter eine wichtige Rolle bei der Freisetzung von Aromastoffen aus Lebensmitteln während des Verzehrprozesses. Diskutiert wurden u.a. die Adsorption von Aromastoffen an die Mundschleimhaut, sowie die Biokonversion durch Speichelenzyme. Der Einfluss velopharyngealer Prozesse in Hinblick auf eine mechanische Barrierebildung spielte hierbei ebenfalls eine zentrale Rolle, wobei Untersuchungen mit Hilfe der neu entwickelten EXOM-Technik erste Einblicke in die Effektivität derartiger "Abschlüsse" erlaubten. Eine tatsächliche Visualisierung der relevanten Prozesse in vivo konnte bislang jedoch nicht erreicht werden.

Forschungsziel: Ziel war es, die Abfolge der velopharyngealen Vorgänge während des Verzehrprozesses in vivo zu untersuchen. Auf diese Weise sollte geklärt werden, zu welchem Zeitpunkt ein Transfer aus dem Mund- in den Nasenraum und somit zum olfaktorischen Epithel physiologisch möglich ist. Darüberhinaus sollte geklärt werden, inwieweit eine Adsorption von Aromastoffen an die Mundschleimhaut möglich ist.

Ergebnis: Der Verzehr flüssiger und fester Lebensmittel wurde im Menschen mit Hilfe einer dynamischen Röntgentechnik, der sogenannten Videofluoroskopie, sowie der Kernspintomographie in Echtzeit visualisiert. Auf diese Weise konnte die chronologische Abfolge der am Verzehrprozess beteiligten Organe (in erster Linie der Zunge, des Pharynx und des weichen Gaumens) beobachtet werden. Es wurde gezeigt, dass effektive physiologische Barrieren existieren, die nur zu bestimmten Zeiten einen ungehinderten Zugang von Aromastoffen aus der Mundhöhle in den Nasenraum erlauben. Das Ausmass dieser Barrierebildung hängt zum einen von der Lebensmittelkonsistenz, aber auch von der Menge an Lebensmittel im Mund ab, so dass von diesen Parametern die retronasale Aromawahrnehmung direkt beeinflusst wird. Neben dem genauen zeitlichen Ablauf des Aromatransfers zum olfaktorischen Epithel wurde durch gleichzeitigen Einsatz der SOOM (spit-off odorant measurement)-Technik auch das Phänomen der Adsorption von Aromastoffen an die Mundschleimhaut untersucht, wodurch sich ein neues Bild der retronasalen Aromawahrnehmung während des Verzehr ergab.

[Index](#)

2. ENTWICKLUNG SPEZIELLER ANALYSENVERFAHREN

2.1. Synthesen stabilisotopenmarkierter Folsäurevitamere zum Einsatz als interne Standards in Isotopenverdünnungsanalysen

Ausgangslage: Die häufig vorkommende Unterversorgung mit Vitaminen der Folsäuregruppe wird mit Neuralrohrdefekten, Arteriosklerose und Krebs in Verbindung gebracht. Die Datenlage zu Gehalten in Lebensmitteln muss aber als unsicher betrachtet werden, da alle bisher eingesetzten Methoden Mängel aufweisen. Während die mikrobiologische Methode keine Differenzierung der einzelnen Folatvitamere erlaubt, wird die Bestimmung mittels HPLC-Fluoreszenzdetektion durch deren unterschiedliche Stabilitäten erschwert.

Forschungsziel: Die wichtigsten in Lebensmitteln vorkommenden Derivate der Folsäure sollen stabilisotopenmarkiert synthetisiert werden, um sie als interne Standards in Isotopenverdünnungsanalysen einsetzen zu können.

Ergebnis: Durch Deuterierung von 4-Aminobenzoessäure und deren Kopplung mit Glutaminsäure und 6-Formylpterin wurde [2H₄]-Folsäure synthetisiert. Die markierte Folsäure diente schliesslich als Ausgangspunkt für die Herstellung der markierten Vitamere Tetrahydrofolat, 5-Formyltetrahydrofolat, 5-Methyltetrahydrofolat and 10-Formylfolat, die alle spezifisch mittels LC-MS nachweisbar sind und sich somit für den Einsatz in Stabilisotopenverdünnungsanalysen eignen.

Index

2.2. Einfache dünnschichtchromatographische Quantifizierung von Phospholipiden

Ausgangslage: Phospholipide können aufgrund gemeinsamer Strukturmerkmale als Emulgatoren wirken und das Backverhalten von Weizenteigen beeinflussen. Daher werden polare Lipide, wie z.B. Lecithin, die in industriellem Massstab aus pflanzlichen Rohstoffen (z.B. Soja, Raps) gewonnen werden, in Backmitteln zur Herstellung von Brot und Kleingebäck eingesetzt. Lecithin des Handels enthält als wichtigste Bestandteile Phosphatidylcholin, Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylinosit und Glycolipide, die ihrerseits wieder aus verschiedenen Einzelkomponenten zusammengesetzt sind. Daneben kommen noch neutrale Lipide, freie Fettsäuren, evtl. Kohlenhydrate und Wasser vor.

Forschungsziel: Ziel der Arbeit war die quantitative Bestimmung der einzelnen Phospholipidklassen in kommerziellen Lecithinpräparaten mit einfachen Mitteln.

Ergebnis: Es wurde eine mit einfachen Mitteln durchzuführende, dünnschichtchromatographische Methode zur quantitativen Bestimmung von Phospholipidkomponenten und unpolaren Lipiden in Lecithinpräparaten entwickelt. Die Methode beinhaltet die Auftrennung der Proben mittels Dünnschichtchromatographie, Detektion der getrennten Substanzen mit einem Kupfersulfat/o-Phosphorsäure-Sprühreagenz, Dokumentation der Trennung mit einem Scanner, Umwandlung der erhaltenen Grafik in ein x/y-Chromatogramm, Bestimmung der Peakflächen und Berechnung der Gehalte. Die Bestimmung kann mit Standard-Laborausrüstung, einem PC, einem konventionellen Flachbettscanner und mit kostenlos erhältlicher Auswertesoftware durchgeführt werden. In acht kommerziellen Lecithinpräparaten wurden neun verschiedene Phospholipidklassen sowie weitere polare und unpolare Lipide quantitativ bestimmt. Die Ergebnisse waren mit den Angaben des Herstellers über die Zusammensetzung der Präparate vergleichbar, die Nachweisgrenzen lagen je nach Komponente zwischen 200 und 1400 ng, der Variationskoeffizient betrug bei den Hauptkomponenten 2-9 %.

Index

2.3. Entwicklung einer gelchromatographischen Methode zur Bestimmung von Gliadin und Gluten in Weizenstärke

Ausgangslage: Zölkiakiekranken dürfen ein Leben lang nur glutenfreie Kost zu sich nehmen. Weizenstärke ist als Bestandteil diätetischer glutenfreier Lebensmittel erwünscht, da sie ihre Qualität erhöht, aber nur dann erlaubt ist, wenn ihr Gliadinegehalt unter 100 ppm bzw. ihr Glutengehalt unter 200 ppm liegt. Eine zuverlässige Quantifizierung von Gliadin bzw. Gluten in Weizenstärke ist jedoch nicht möglich, da die dafür in Frage kommenden immunochemischen Methoden zu unempfindlich, ungenau oder unspezifisch sind.

Forschungsziel: Entwicklung einer relativ einfachen nicht-immunchemischen Methode auf der Basis der Gelchromatographie, die die quantitative Bestimmung kleiner Mengen Gliadin und Gluten in Weizenstärke erlaubt.

Ergebnis: Als Methode wurde die Gelchromatographie (GP-HPLC) gewählt, da sie sich in früheren Untersuchungen an HMW-Gliadinen und am europäischen (PWG-) Gliadinstandard bereits bewährt hat. Sie ermöglicht die Abtrennung niedermolekularer Begleitstoffe wie Albumine und Globuline und die Quantifizierung über UV-Detektion, die mit der Proteinmenge sehr hoch korreliert ist. Soll allerdings eine Nachweisgrenze <25 ppm Gliadin erreicht werden, muss der zu untersuchende Gliadinextrakt konzentriert werden. Als Trennsäule wurde Superdex 200 (Trennbereich 10.000-600.000) unter folgenden Bedingungen eingesetzt: 1,5 % SDS + 62,5 mmol/L Tris-HCl (pH 7,0) als Elutionsmittel, 0,6 mL/min Durchfluss und 206 nm Detektionswellenlänge. Die Kalibriergerade für PWG-Gliadin war im Bereich 0-30 µg streng linear, die Nachweisgrenze lag bei ca. 0,5 µg. In Vorversuchen an Weizenstärke wurden Extraktion, Konzentrierung und Filtration auf Tauglichkeit getestet bzw. optimiert. Folgendes Verfahren erwies sich am geeignetsten: Extraktion von 1 g Stärke mit 10 mL 60 %igem Ethanol unter Verwendung eines Schüttlers, Zentrifugation, Trocknung von 4 mL überstand durch Vakuumzentrifugation, Wiederaufnahme in 500 µL Elutionsmittel, Filtration an einer 0,45 µm-Membran, HPLC-Analyse von 100 µL. Die Nachweisgrenze bei diesem Verfahren liegt im Bereich von etwa 10 ppm Gliadin. Neben Gliadin kann auch Gesamtgluten (Gliadin + Gluten) bestimmt werden; dazu wird dem Extraktionsmittel ein Reduktionsmittel zugesetzt und auf 60°C erwärmt. Unter Anwendung der entwickelten Methode wurden 23 Stärkeproben verschiedener Hersteller auf ihren Gliadin- und teilweise auch auf ihren Glutengehalt analysiert. Unter Einbeziehung einer Kalibriergeraden für PWG-Gliadin wurden Gliadinkonzentrationen von 15-544 ppm ermittelt. Der durchschnittliche Variationskoeffizient der Doppelbestimmung lag bei (2,6 %. Die Bestimmung von Gesamtgluten ergab, dass das Mengenverhältnis Gluten/Gliadin in den Stärken sehr unterschiedlich war. Die ermittelten Werte zeigten ausserdem, dass der Rohproteingehalt (N x 5,7) keine zuverlässige Abschätzung des Gliadin- bzw. Glutengehaltes erlaubt. Mit der entwickelten Methode können auch andere für die Herstellung glutenfreier Lebensmittel eingesetzte Rohstoffe wie Apfelfaser, Buchweizengrütze, Gewürztrieb, Hirse-, Kastanien- und Reismehl untersucht werden, nicht jedoch Maismehl und Magermilchpulver.

[Index](#)

3. ARBEITEN ZU STRUKTUR/WIRKUNGSBEZIEHUNGEN BEI BIOPOLYMEREN

3.1. Optimierung eines Kleber/Stärke-Backversuchs in Bezug auf Wasser- und Gashaltevermögen sowie Krumenbildung

Ausgangslage: Mikrobackversuche mit Remixteigen sind unentbehrlich um die funktionellen Eigenschaften einzelner Teigkomponenten in Bezug auf Gebäckvolumen und Teigverarbeitungseigenschaften zu untersuchen. Bisher ist es jedoch noch nicht gelungen, eine weizenbrotähnliche Krume zu erzeugen. Die Bestimmung von Porengrösse, Krumenfestigkeit und Krumenalterung sind aber Voraussetzung um z.B. Stärke, Pentosane oder Backmittel zu untersuchen, die die Krume und damit den Verzehrsgenuss entscheidend beeinflussen.

Forschungsziel: Der aus Kleber, Stärke und Gelatine bestehenden Remixbackversuch soll so geändert werden, dass die Krume sensorisch und optisch der von Weizenbrot entspricht. Hierzu müssen das Wasser- und Gashaltevermögen der Teige untersucht und verbessert

werden und Methoden zur Qualitätssicherung der Ausgangsmaterialien entwickelt und erprobt werden.

Ergebnis: Es wird erstmalig gezeigt, dass das Gashaltevermögen von Teig insbesondere in der Ofenphase nicht nur durch die Kleberproteine erfolgt, sondern vor allem durch Substanzen, die in dem zwischen den Stärkekörnern kapillar gebundenen Wasser gelöst sind. Sie dichten die Krumenporenwände ab und erschweren so die Gasdiffusion, wenn der Druck beim Erwärmen steigt. Gelöste Gelatine ist geeignet in Remixteigen die Rolle der löslichen Mehlinhaltstoffe zu übernehmen. Auch Amylose und Amylopektin können einen Beitrag zur Gashaltung liefern. Zellulosefasern erleichtern die Verarbeitung der Teige und ermöglichen höhere Wasserzugaben ohne die Teigfestigkeit in der Ofenphase zu erhöhen. Messungen im Stressrheometer zeigen zwischen 40°C und 90°C Wechselwirkungen von Gelatine und Fasern mit Teig, Kleber und Stärke. Aufgrund dieser Wechselwirkungen unterscheiden sich die viskoelastischen Eigenschaften eines Remixteiges während der Stärkeverkleisterung und Kleberdenaturierung deutlich von denen eines Weizenteiges. Dennoch wird das Backergebnis durch die beiden Zusätze in Bezug auf die Krumeneigenschaften der Remixbrote verbessert und für Weizenbrot typischer. Diese Krumeneigenschaften werden in Abhängigkeit von der Lagerung mit einem überarbeiteten Mikrokompressionstest bestimmt.

[Index](#)

3.2. Charakterisierung von γ -75K-Secalinen aus Roggen - I. Aminosäuresequenzen

Ausgangslage: Die Speicherproteine vom Typ der γ -75k-Secaline sind für Roggen charakteristisch und machen mehr als 30 % der Mehlproteine aus. Im Gegensatz zu den Kleberproteinen des Weizens gibt es jedoch für die γ -75k-Secaline nur wenige Informationen über Aminosäuresequenzen.

Forschungsziel: Möglichst weitgehende Aufklärung der Aminosäuresequenzen von γ -75k-Secalinen aus Roggenmehl und Vergleich mit bekannten Sequenzen eines γ -75k-Secalins aus einer Weizen-Translokationslinie und von γ -Gliadinen.

Ergebnis: Aus Mehl der Roggensorte "Danko" wurde über eine modifizierte Osborne-Fraktionierung die Prolaminfraktion isoliert, da sie den grössten Teil der γ -75k-Secaline enthielt. Die extrahierten Proteine wurden reduziert, mit 4-Vinylpyridin derivatisiert und durch präparative RP-HPLC aufgetrennt. Die zwei Hauptkomponenten P1 und P2 wurden in getrennten Ansätzen jeweils mit α -Chymotrypsin, Trypsin und Thermolysin partiell hydrolysiert und die daraus resultierenden Peptidgemische durch zweistufige RP-HPLC präparativ getrennt. Die isolierten Peptide wurden durch Edman-Abbau auf ihre Aminosäuresequenzen und durch Massenspektrometrie teilweise auf ihre Molekulargewichte analysiert. Anhand überlappender Sequenzen und bekannter Sequenzen eines γ -75k-Secalins (gSec2A) einer Weizen-Translokationslinie und von γ -Gliadinen konnte die Primärstruktur der C-terminalen Domäne von P1 nahezu vollständig aufgeklärt werden; lediglich eine Position innerhalb der 148 Aminosäurereste blieb unklar. Zwei Peptidpaare liessen erkennen, dass das untersuchte Protein nicht einheitlich war und mindestens aus zwei Komponenten bestand, die allerdings sehr nah verwandt waren. Der Vergleich mit der C-terminalen Domäne von gSec2A zeigte eine weitgehende Übereinstimmung und mit der C-terminalen Domäne von γ -Gliadinen eine ausgeprägte Homologie (ca. 80 %). Alle acht in dieser Domäne vorkommenden Cysteinreste von P1 und den γ -Gliadinen hatten homologe Positionen. Für P2 wurden nur etwa 70 % der Sequenzen innerhalb der C-terminalen Domäne aufgeklärt; Abweichungen von P1 waren auf einige wenige Positionen beschränkt. Die N-terminale

Domäne von P1 wurde durch tryptische Partialhydrolyse sowie RP-HPLC gewonnen; ihr durch Massenspektrometrie bestimmtes Molekulargewicht (36.000) lag im Vergleich zu den N-terminalen Domänen von γ -Gliadinen etwa doppelt so hoch. Die N-terminale Domäne wurde mit Thermolysin in kleinere Peptide fragmentiert, die durch RP-HPLC aufgetrennt und sequenziert wurden. Inklusive der Peptide aus dem Gesamtprotein lagen fast 50 Partialsequenzen aus der N-terminalen Domäne von P1 vor; sie liessen sich aufgrund der sehr ähnlichen wiederkehrenden Sequenzen nicht zu einer Gesamtsequenz zusammensetzen. Die längsten zusammenhängenden Sequenzen waren 60 bzw. 31 Aminosäurereste lang. Mit Hilfe der Gesamtsequenz von gSec2A konnten die ermittelten Partialsequenzen zugeordnet werden; es wurden damit 73 % der gSec2A-Sequenz abgedeckt. Bei den wenigen Abweichungen handelte es sich um 4 Substitutionen und 3 Insertionen. Der Vergleich mit den bekannten Sequenzen von γ -Gliadinen zeigte, dass die glutamin- und prolinreichen wiederkehrenden Sequenzen zwar sehr ähnlich, bei P1 aber häufiger modifiziert waren. Im Gegensatz zu den γ -Gliadinen hatte P1 in Position 12 einen Cysteinrest, der das Aggregationsverhalten der γ -75k-Secaline erklärt. P2 zeigte in den Partialsequenzen mit P1 eine weitgehende Übereinstimmung, allerdings wurde in der N-terminalen Domäne ein zweiter Cysteinrest gefunden, der in P1 nicht vorkam. Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass γ -75k-Secaline in der C-terminalen Domäne zu den γ -Gliadinen homolog sind, die N-terminale Domäne jedoch durch ihre doppelte Länge und durch das Vorkommen von Cysteinresten entscheidend abweicht.

[Index](#)

3.3. Charakterisierung der γ -75K-Secaline von Roggen - II. Disulfidbindungen

Ausgangslage: γ -75k-Secaline, die Hauptkomponenten des Speicherproteins von Roggen, sind zu den γ -Gliadinen von Weizen teilweise homolog, treten jedoch nicht monomer auf, sondern kommen nur in aggregiertem Zustand vor. Es wird angenommen, dass γ -75k-Secaline im Gegensatz zu γ -Gliadinen auch intermolekulare Disulfidbindungen eingehen, doch fehlen hierfür die Beweise.

Forschungsziel: Aufklärung der Art und Positionen von Disulfidbindungen in γ -75k-Secalinen.

Ergebnis: Als Ausgangsmaterial wurde aus dem Mehl der Roggensorte "Danko" die Prolaminfraktion isoliert, da sie den überwiegenden Teil der im Mehl aggregiert vorkommenden γ -75k-Secaline enthält. Die Anreicherung der aggregierten γ -75k-Secaline erfolgte durch präparative RP-HPLC der unreduzierten Prolaminfraktion. Die Proteine wurden mit Thermolysin partiell hydrolysiert, und das entstandene Peptidgemisch wurde durch Gelchromatographie in acht Fraktionen (G1-G8) vorgetrennt. Diese wurden durch Differenzchromatographie mittels RP-HPLC (HPLC vor und nach Reduktion der Disulfidbindungen) auf Cystinpeptide untersucht. Aus den Fraktionen G3-G7 wurden zahlreiche potentielle Cystinpeptide isoliert, sequenziert und teilweise mittels Massenspektrometrie analysiert. Die Ergebnisse zeigen, dass bis auf eine Ausnahme (Cb vom γ -75-k-Secalin P2) alle Cysteinreste von γ -75k-Secalinen erfasst worden sind; sie sind in gleicher Weise verknüpft wie in γ -Gliadinen. So wurden die Disulfidbindungen Cc/Cf1, Cf2/Cy sowie Cw/Cz in fünf und Cd/Ce in drei Cystinpeptiden nachgewiesen. Allerdings stammte bei zwei Peptiden (G15-13e, G6-25a), die in sehr kleinen Mengen vorkamen, der Cysteinrest Cz nicht aus γ -75k-, sondern aus γ -40k-Secalinen. Auch der für γ -75k-Secaline typische Cysteinrest Ca bildet Disulfidbindungen aus, was durch drei Cystinpeptiden gezeigt werden konnte. Da bei der Sequenzierung dieser Cystinpeptide keine zweite Sequenz identifiziert wurde, die entsprechenden HPLC-Peaks jedoch nach Reduktion der

Disulfidbindung verschwanden, ist anzunehmen, dass dieser Cysteinrest mit dem gleichen Rest eines zweiten γ -75k-Secalins eine intermolekulare Bindung eingeht. Der in der N-terminalen Domäne von P2 vorkommende Cysteinrest Cb konnte hingegen nicht in Form eines Cystinpeptides wiedergefunden werden, ebensowenig Cysteinreste aus HMW-Secalinen. Für diesen Nachweis waren ihre Mengen offensichtlich zu gering. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass sich die C-terminale Domäne von γ -75k-Secalinen durch eine stark ausgeprägte Homologie zu den γ -Gliadinen (vier homologe Disulfidbindungen) und zu den LMW-Untereinheiten (drei homologe Disulfidbindungen) auszeichnet. Ein entscheidender Unterschied zwischen dem γ -75k-Typ von Roggen und dem LMW-Typ vom Weizen, die beide nicht monomer, sondern nur aggregiert auftreten, besteht darin, dass diejenigen Cysteinreste, die intermolekulare Disulfidbindungen eingehen (Ca, Cb), beim γ -75k-Typ nur in der N-terminalen Domäne existieren und damit als Terminatoren für die Polymerisation der Gluteline fungieren können.

Index

3.4. Untersuchung von transgenem Roggen mit HMW-Untereinheiten des Weizens

Ausgangslage: Die hochmolekularen Untereinheiten (HMW-UE) von Glutenin haben für die Teig-, Kleber- und Backeigenschaften von Weizen eine herausragende Bedeutung. Auch Roggen enthält HMW-UE (HMW-Secaline), dennoch bildet Roggenmehl beim Anteigen mit Wasser keinen Kleber aus. Dafür werden unter anderem strukturelle und quantitative Unterschiede zwischen den HMW-Secalinen und den HMW-UE von Weizen verantwortlich gemacht. Durch gentechnische Massnahmen wurden daher diejenigen HMW-UE des Weizens in Roggen eingeführt, die in engem Zusammenhang mit der Weizenqualität stehen.

Forschungsziel: Charakterisierung der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung der Speicherproteine von transgenen Roggenlinien, die HMW-UE des Weizens enthalten, im Vergleich zum nicht-transgenen Roggen.

Ergebnis: Zwei transgene Roggenlinien mit der HMW-UE 10 (L26) bzw. den HMW-UE 5+10 (L8) von Weizen wurden mit der entsprechenden nicht-transgenen Roggenlinie (L22) verglichen. Mit Hilfe einer modifizierten Osborne-Fraktionierung wurden aus den drei Mehlen die Albumin/Globulin-, Prolamin- und Glutelinfraktionen gewonnen. Ein Teil der Prolaminfraktionen wurde wie die Glutelinfraktionen reduziert. Zur Charakterisierung und Quantifizierung einzelner Proteingruppen und -typen wurden die Fraktionen durch RP-HPLC an C8-Kieselgel und teilweise durch GP-HPLC an Superdex 200 analysiert. Die Ergebnisse zeigen, dass der Gesamtproteingehalt der Mehle und die Menge an extrahierbarem Protein nur wenig und die Menge an Albuminen und Globulinen von den gentechnischen Massnahmen überhaupt nicht beeinflusst werden. Bei den Prolamin- und Glutelinfraktionen kommt es hingegen zu gravierenden Veränderungen. Die HMW-UE des Weizens, die 6,0 % (UE 10) bzw. 17,1 % (UE 5+10) des extrahierbaren Mehlproteins ausmachen, werden neben den γ -75k-Secalinen und γ -40k-Secalinen zu Hauptkomponenten der Speicherproteine. Bei der nicht-transgenen Linie L22 überwiegt die Prolaminfraktion (64,0 % des extrahierbaren Mehlproteins); dieser Anteil nimmt bei L26 signifikant ab (51,8 %) und erreicht bei L8 nur mehr 26,5 %. Dadurch erhöht sich bei L8 der Anteil der Glutelinfraktion (56,4 %) gegenüber L22 (18,5 %) um mehr als das Dreifache. Die Prolaminfraktion von L22 hat einen sehr viel höheren Anteil an Oligomeren (39,8 % vom Gesamtprolamin) als diejenigen von L26 (28,6 %) und L8 (16,1 %). Bezüglich einzelner Secalintypen ist festzustellen, dass die Einführung der HMW-UE von Weizen eine teilweise drastische Verlagerung der HMW- und γ -75k-Secaline von der Prolamin- in die Glutelinfraktion bewirkt. Dies deutet darauf hin, dass die

HMW-UE von Weizen die aggregierbaren Secaline zu hochmolekularen Aggregaten vernetzen, die in wässrigem Alkohol nicht mehr löslich sind. Da im Falle von L8 auch die γ -40k-Secaline von dieser Verlagerung stark betroffen sind, kann angenommen werden, dass vor allem die HMW-UE 5 von Weizen auch eine Umstrukturierung intramolekularer Disulfidbindungen verursacht.

Index

3.5. Zöliakiespezifische toxikologische Untersuchung eines immunaktiven Peptids aus α -Gliadinen

Ausgangslage: Jüngste Untersuchungen haben gezeigt, dass Peptide aus den Sequenzabschnitten 57-68 und 62-75 von α -Gliadinen eine starke stimulierende Wirkung auf isolierte T-Lymphozyten von Zöliakiepatienten haben. Es wurde jedoch nicht nachgewiesen, dass diese Peptide in-vivo tatsächlich eine zöliakiespezifische Schädigung der Darmschleimhaut hervorrufen.

Forschungsziel: Klärung der Frage, ob von jenem Sequenzabschnitt von α -Gliadinen, der auf T-Zellen von Zöliakiepatienten stimulierend wirkt, nach Instillation in den Dünndarm eine in-vivo-Toxizität ausgeht.

Ergebnis: Für die Untersuchungen wurden eine Positivkontrolle (peptisch-tryptisches Gliadinhydrolysat PTG), das immunaktive Peptid P8 (Sequenzabschnitt 56-76 von α -Gliadinen) und eine Negativkontrolle (Peptid C1 aus dem Sequenzabschnitt 53-72 von β -Casein) hergestellt. Die beiden synthetischen Peptide wurden durch zweistufige RP-HPLC bis zur chromatographischen Reinheit von $>99\%$ gereinigt. Die Ergebnisse der Molmassenbestimmung mittels Massenspektrometrie stimmten mit den theoretischen Werten überein. Die in-vivo-Toxizitätsprüfung wurde an vier erwachsenen freiwilligen Patienten vorgenommen, die sich über Jahre hinweg glutenfrei ernährt hatten und demnach eine intakte Schleimhaut aufwiesen. Die zu untersuchenden Substanzen wurden in Wasser gelöst und in das Duodenum instilliert. Davor und 2, 4 und 6 h nach Instillationsbeginn wurden Gewebeproben entnommen und mikroskopisch sowie immunchemisch untersucht. Als Mass für die zöliakiespezifische Toxizität dienten Veränderungen der Enterozytenhöhe, des Verhältnisses Villushöhe/Kryptentiefe und der Anzahl intraepitheler Lymphozyten. Die Positivkontrolle PTG (1 g) zeigte bereits nach 4 h in allen gemessenen Parametern eine meist hochsignifikante Wirkung. Nach mehrwöchiger Regenerierung wurde dann dem ersten Patienten das Gliadinpeptid G8 in einer Dosis von 100 mg instilliert, wobei nach 4 h generell eine starke Wirkung beobachtet werden konnte. Da der Patient anschliessend an starkem Durchfall litt, wurde die Dosis bei den übrigen Patienten auf 20 mg reduziert. Auch hierbei zeigte sich durchweg eine signifikante Wirkung. Mit dem Caseinpeptid C1, das allen vier Patienten in einer Dosis von 20 mg verabreicht wurde, trat hingegen in keinem Fall ein signifikanter Effekt auf. Damit war die zöliakiespezifische toxische Wirkung des Gliadinpeptids G8 sichergestellt.

Index

3.6. Untersuchungen über die Zöliakieaktivität von Avenin, der Prolaminfraktion von Hafer

Ausgangslage: Die Zöliakietoxizität von Hafer war lange Zeit umstritten, zwei neuere in-vivo-Langzeitstudien kamen zu dem Schluss, dass Hafer zöliakieverträglich sei. Dem

widersprachen in-vitro-Versuche mit einem Aveninhydrolysat, das zu ähnlichen Immunreaktionen im Darmgewebe von Zöliakiepatienten führte wie ein Gliadinhydrolysat.

Forschungsziel: Mit in-vitro-Untersuchungen eines Aveninhydrolysats soll ein weiterer Beitrag zur Klärung der Frage geleistet werden, ob Hafer zöliakietoxisch ist.

Ergebnis: Die vier als Ausgangsmaterial zur Verfügung stehenden Haferproben (Flocken) wurden zunächst mit Hilfe eines Extraktions/HPLC-Verfahrens auf ihren Aveningehalt und mittels PCR auf Weizenverunreinigung geprüft. Das entfettete Mehl der weizenfreien Flocken mit dem höchsten Aveningehalt wurde nacheinander mit einer Salzlösung und 60 %igem Ethanol extrahiert. Aus dem Alkoholextrakt wurde Avenin isoliert, mit trägergebundenem Pepsin und Trypsin partiell hydrolysiert und im Vergleich zu einem Gliadinhydrolysat auf zöliakiespezifische Immunaktivität untersucht. Dafür stand Darmgewebe von 17 Zöliakiepatienten unter glutenfreier Kost und 16 Kontrollpersonen zur Verfügung. Es wurde in einem Nährmedium ohne Zusatz und mit Zusatz von Avenin- bzw. Gliadinhydrolysat inkubiert. Als Marker für die Immunaktivität wurden im Medium die Proteinmengen der Zytokine γ -Interferon und Interleukin-2 und im Gewebe deren RNA-Menge bestimmt. Die Ergebnisse zeigten, dass im Gewebe der Zöliakiepatienten die Mengen an Protein und RNA der Zytokine nach Inkubation mit dem Gliadinhydrolysat signifikant erhöht waren, während beim Aveninhydrolysat keine Wirkung zu beobachten war. Im Gewebe der Kontrollpersonen fanden auch beim Zusatz des Gliadinhydrolysats keine signifikanten Veränderungen statt. In Übereinstimmung mit den neuesten in-vivo-Langzeitstudien kann aus den Ergebnissen geschlossen werden, dass Hafer ohne Bedenken von Zöliakiekranken verzehrt werden kann, wenn keine Verunreinigungen durch Weizen, Roggen und Gerste vorliegen.

[Index](#)

4. TABELLENWERK ZUM NÄHRSTOFFGEHALT VON LEBENSMITTELN

Ausgangslage: Dem jeweiligen Wissensstand entsprechende Tabellen über die Zusammensetzung von Lebensmitteln sind für die Administration, Ernährungsberatung, Wirtschaft und Wissenschaft unentbehrlich.

Forschungsziel: Das von Souci, Fachmann und Kraut begründete Tabellenwerk ist durch Erfassung der gesamten einschlägigen Literatur mit Hilfe der PC-Datenbank SFKDB ständig auf dem aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstand zu halten. Dies gilt auch für die davon abgeleitete kleine Lebensmitteltabelle. Das Spektrum der Inhaltsstoffe soll sich weiterhin verstärkt nach präventiv-medizinischen Gesichtspunkten ausrichten.

Ergebnis: Die Vorbereitungen zur Veröffentlichung der 3. Auflage der kleinen Lebensmitteltabelle sind in der Abschlussphase, die Publikation ist für den Herbst diesen Jahres geplant.

Die Arbeit an der 7. Auflage wurde fortgesetzt, insbesondere die Aminosäuredaten wurden erneuert sowie einhergehend mit der Diskussion um die Gruppe der Functional Foods und speziell der bioaktiven Substanzen wurde der Datenbestand dieser Verbindungsklasse erweitert. Ältere Daten sollen im Zuge der fortschreitenden Methodenentwicklung aktualisiert werden (z. B. Daten für Iod und Folsäure).

Um die Datenqualität der SFK-Datenbank zu dokumentieren und um den Benutzer der Online-Datenbank einen Einblick in den wissenschaftlichen Hintergrund der Daten zu

ermöglichen, wird für das nächste Update der Online-Version eine Veröffentlichung der Parameter Literaturquelle, Analysenmethode und Probenzahl für jeden einzelnen Datenpunkt erstellt.

[Index](#)