



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Untersuchung qualitätsbestimmender Parameter in
Hafer und anderen Getreidearten

Verfasser

Clemens Horak

angestrebter akademischer Grad

Magister der Naturwissenschaften (Mag.rer.nat.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 474

Studienrichtung lt. Studienblatt: Diplomstudium Ernährungswissenschaften

Betreuer: Ao.Univ.Prof. DI Dr. Helmut Mayer
Universität für Bodenkultur, Wien

Danksagung

Ich möchte mich hiermit bei allen Personen bedanken, die zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben.

In erster Linie danke ich Herrn Ao. Univ. Prof. DI Dr. Helmut Mayer für die Bereitstellung dieses Themas und für die nette Betreuung.

Dank gebührt auch den Laborkollegen und insbesondere Frau Iris Biedermann für die Hilfeleistung bei der praktischen Durchführung der Arbeit.

Zuguterletzt danke ich auch meinen Eltern und meiner Familie, die mir immer unterstützend zur Seite gestanden sind.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	V
Abkürzungen	VI
1. Einleitung und Fragestellung	1
2. Literaturüberblick	2
2.1. Allgemeines zu Getreide	2
2.1.1. Definition.....	2
2.1.2. Geschichte und Herkunft.....	2
2.2. Getreidearten	3
2.2.1. Weizen und Dinkel.....	3
2.2.2. Roggen und Triticale.....	5
2.2.3. Gerste.....	5
2.2.4. Hafer.....	6
2.2.5. Reis.....	7
2.2.6. Mais.....	7
2.2.7. Hirse.....	8
2.2.8. Pseudocerealien.....	8
2.2.9. Wirtschaftliche Bedeutung.....	9
2.3. Aufbau und Inhaltsstoffe des Getreidekornes	13
2.4. Kohlenhydrate in Getreide	14
2.4.1. Niedermolekulare Kohlenhydrate.....	14
2.4.2. Stärke.....	15
2.4.3. Nicht-Stärke-Polysaccharide.....	16
2.4.4. Ernährungsphysiologische Bedeutung.....	17
2.5. Proteine in Getreide	18
2.5.1. Rohproteingehalt und Aminosäurezusammensetzung.....	18
2.5.2. Osborne-Fractionen.....	20
2.5.3. Speicherproteine.....	20
2.5.3.1. Einteilung und Nomenklatur der Prolamine.....	21
2.5.3.2. Die „Prolamin-Superfamilie“ der Triticeae.....	23
2.5.3.3. Prolamine anderer Getreidearten.....	24
2.5.3.4. Besonderheiten des Gluteneiweißes.....	25
2.5.3.5. Speicherproteine vom Globulin-Typ.....	27
2.5.4. Sonstige Proteine.....	27
2.5.5. Ernährungsphysiologische Bedeutung.....	28
2.6. Lipide und Mikronährstoffe in Getreide	30
2.6.1. Bedeutung der Getreidelipide.....	30
2.6.2. Mineralstoffe und Spurenelemente (Asche).....	31
2.6.3. Vitamine.....	32

2.7. Bestimmung der Getreidequalität	32
2.7.1. Qualitätsbeurteilung	32
2.7.2. Wertbestimmende Parameter in Getreide.....	33
2.7.3. Einfluss von Umweltfaktoren auf die Getreideinhaltsstoffe	34
2.8. Methoden zur Charakterisierung von Getreideproteinen	35
2.8.1. Elektrophorese.....	35
2.8.2. SDS-PAGE	37
3. Material und Methoden	39
3.1. Probenmaterial	39
3.2. Probenaufbereitung	39
3.3. Bestimmung der Trockenmasse	41
3.3.1. Prinzip.....	41
3.3.2. Verwendete Geräte und Materialien	41
3.3.3. Durchführung	41
3.3.4. Auswertung.....	42
3.4. Bestimmung des Aschegehaltes	42
3.4.1. Prinzip.....	42
3.4.2. Verwendete Geräte und Materialien	42
3.4.3. Durchführung	43
3.4.4. Auswertung.....	43
3.5. Bestimmung des Gesamtfettgehaltes	44
3.5.1. Prinzip.....	44
3.5.2. Verwendete Geräte und Hilfsmittel	44
3.5.3. Verwendete Chemikalien.....	45
3.5.4. Herstellen der Lösungen.....	45
3.5.5. Durchführung	45
3.5.6. Auswertung.....	46
3.6. Enzymatische Bestimmung von β-Glucan in Hafer	47
3.6.1. Prinzip.....	47
3.6.2. Verwendete Geräte und Materialien	48
3.6.3. Verwendete Chemikalien und Reagenzien	48
3.6.4. Herstellen der Lösungen.....	49
3.6.5. Durchführung	50
3.6.6. Auswertung.....	51
3.7. Bestimmung des Rohproteingehaltes nach Kjeldahl	52
3.7.1. Prinzip.....	52
3.7.2. Verwendete Geräte und Hilfsmittel	52
3.7.3. Verwendete Chemikalien.....	53
3.7.4. Herstellen der Lösungen.....	53
3.7.5. Durchführung	54
3.7.6. Auswertung.....	55
3.8. SDS-PAGE	56
3.8.1. Prinzip.....	56
3.8.2. Verwendete Geräte und Hilfsmittel	56
3.8.3. Verwendete Chemikalien.....	57

3.8.4. Herstellung der Lösungen	58
3.8.5. Durchführung	60
3.8.6. Auswertung	63
4. Ergebnisse und Diskussion	64
4.1. Trockenmasse	64
4.1.1. Ergebnisse	64
4.1.1.1. Haferproben.....	64
4.1.1.2. Getreide- und Getreidemehlproben	65
4.1.2. Diskussion der Ergebnisse.....	66
4.2. Asche.....	68
4.2.1. Ergebnisse	68
4.2.1.1. Haferproben.....	68
4.2.1.2. Getreide- und Getreidemehlproben	69
4.2.2. Diskussion der Ergebnisse.....	70
4.3. Gesamtfettgehalt.....	72
4.3.1. Ergebnisse	72
4.3.1.1. Haferproben.....	72
4.3.1.2. Getreide- und Getreidemehlproben	73
4.3.2. Diskussion der Ergebnisse.....	74
4.4. β-Glucan in Hafer	75
4.4.1. Ergebnisse	75
4.4.2. Diskussion der Ergebnisse.....	76
4.5. Rohproteingehalt	77
4.5.1. Ergebnisse	77
4.5.1.1. Haferproben.....	77
4.5.1.2. Getreide- und Getreidemehlproben	78
4.5.2. Diskussion der Ergebnisse.....	79
4.6. SDS-PAGE	81
4.6.1. Gelserie der Haferproben.....	81
4.6.2. Gelserie der Getreideproben.....	87
4.6.3. Gelserie Getreide vs. Getreidemehl	93
4.6.4. Allgemeine Bewertung der Gele.....	97
4.6.5. Molekulargewichtsbestimmung und Charakterisierung der Proteine.....	98
4.6.6. Charakterisierung von Hafer	99
4.6.7. Charakterisierung der Triticeae	100
4.6.8. Charakterisierung von Reis, Mais und Hirse	103
4.6.9. Charakterisierung der Pseudocerealien	104
4.6.10. Diskussion und Ausblick.....	105
5. Schlussbetrachtung.....	106
6. Zusammenfassung.....	109
7. Summary.....	111
8. Literaturverzeichnis	113

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1: Phylogenese der Getreidearten und botanische Bezeichnung [Rimbach et al., 2010].....	3
Abbildung 2.2: Weltproduktion von Weizen, Reis und Mais, 1992-2010 [Daten: FAOSTAT, 2012].....	11
Abbildung 2.3: Die Top-5-Produzenten von Weizen, Reis, Mais, Gerste, Hafer und Roggen (mittlere Produktionsmengen von 1992-2010) [Daten: FAOSTAT, 2012].....	12
Abbildung 2.4: Aufbau und Bestandteile eines Getreidekornes [Rimbach et al., 2010].....	13
Abbildung 2.5: Die Gruppen der wichtigsten Speicherproteine in Getreidekörnern [Shewry, 1996].....	22
Abbildung 2.6: Polymorphismen der HMW-Untereinheiten in vier verschiedenen Weizensorten, aufgetrennt mittels SDS-PAGE. Die Banden sind systematisch in verschiedene Zahlenkategorien, in Abhängigkeit von ihrer Mobilität, eingeteilt [Abbildung übernommen aus: Shewry et al., 1999].	38
Abbildung 3.1: Reaktionsschema der enzymatischen β -Glucan-Bestimmung [Megazyme, 2011].....	47
Abbildung 4.1: Trockenmasse der Haferproben, graphische Darstellung	65
Abbildung 4.2: Trockenmasse der Getreide- und Getreidemehlproben, graphische Darstellung.....	66
Abbildung 4.3: Masse in Bezug zur Trocknungsdauer am Beispiel von 4 Stichproben aus dem gleichen Hafer. Ausgehend von $3 \text{ g} \pm 0,01 \text{ g}$ Frischgewicht wird die Masse nach einer Trocknungszeit von 2, 3, 4 Stunden und >12 Stunden gemessen. Gewichtskonstanz stellt sich nach etwa 4 Stunden ein, bei 3 der 4 Stichproben steigt die Masse bei längerer Trocknung sogar wieder an.....	67
Abbildung 4.4: Aschegehalt der Haferproben, graphische Darstellung	68
Abbildung 4.5: Aschegehalt der Getreide- und Getreidemehlproben, graphische Darstellung	69
Abbildung 4.6: Vergleich der Aschebestimmung mit 550°C und 900°C anhand von vier Haferproben. Es zeigen sind bei zwei Proben nahezu identische, bei zwei Proben etwas unterschiedliche Werte.	71
Abbildung 4.7: Fettgehalt der Haferproben, graphische Darstellung.....	72
Abbildung 4.8: Fettgehalt der Getreide- und Getreidemehlproben, graphische Darstellung	73
Abbildung 4.9: β -Glucangehalt in Hafer, graphische Darstellung.....	75
Abbildung 4.10: Rohproteingehalt der Haferproben, graphische Darstellung	77
Abbildung 4.11: Rohproteingehalt der Getreide- und Getreidemehlproben, graphische Darstellung.....	78
Abbildung 4.12: SDS-PAGE (10% T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Hafersorten.....	81
Abbildung 4.13: SDS-PAGE (11% T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Hafersorten.....	82
Abbildung 4.14: SDS-PAGE (12,5% T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Hafersorten.....	83
Abbildung 4.15: SDS-PAGE (13 % T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Hafersorten.....	84
Abbildung 4.16: SDS-PAGE (14 % T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Hafersorten.....	85
Abbildung 4.17: SDS-PAGE (15 % T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Hafersorten.....	86
Abbildung 4.18: SDS-PAGE (10% T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Getreidearten.....	87
Abbildung 4.19: SDS-PAGE (11% T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Getreidearten.....	88
Abbildung 4.20: SDS-PAGE (12,5% T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Getreidearten.....	89
Abbildung 4.21: SDS-PAGE (13% T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Getreidearten.....	90
Abbildung 4.22: SDS-PAGE (14% T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Getreidearten.....	91
Abbildung 4.23: SDS-PAGE (15% T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Getreidearten.....	92
Abbildung 4.24: SDS-PAGE (11% T) der Vergleichsgele Getreide vs. Getreidemehl.....	93
Abbildung 4.25: SDS-PAGE (12,5% T) der Vergleichsgele Getreide vs. Getreidemehl.....	94
Abbildung 4.26: SDS-PAGE (13% T) der Vergleichsgele Getreide vs. Getreidemehl.....	95
Abbildung 4.27: SDS-PAGE (14% T) der Vergleichsgele Getreide vs. Getreidemehl.....	96
Abbildung 4.28: Molekulargewichtsbestimmung und Polymorphismen in Haferprotein	99
Abbildung 4.29: Molekulargewichtsbestimmung und Zuordnung der Proteine der Triticeae.....	101
Abbildung 4.30: Molekulargewichtsbestimmung und Zuordnung der Proteine von Reis, Mais und Hirse.....	103
Abbildung 4.31: Molekulargewichtsbestimmung und Zuordnung der Proteine von Amaranth, Quinoa und Buchweizen.	104

Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1: Produktionsmengen der Getreidearten und bewirtschaftete Flächen im Jahr 2010 [Daten aus FAOSTAT, 2012]	10
Tabelle 2.2: Getreideproduktion und Anbauflächen Österreichs im Jahr 2010 [Daten: FAOSTAT, 2012]..	12
Tabelle 2.3: Verteilung (%) der Kohlenhydrate im Weizen [Belitz et al., 2008]	14
Tabelle 2.4: Amylose und Amylopektinanteile in der Stärke von Getreidearten [Aufhammer, 2003; modifiziert]	15
Tabelle 2.5: Gesamte, lösliche und unlösliche NSP, Cellulose und NCP in Getreiden Werte in g/100 g Trockenmasse [Daten aus: Englyst et al., 1989; zitiert nach Welch, 2011].....	17
Tabelle 2.6: Durchschnittliche Rohproteingehalte (N \times 6,25) verschiedener Getreidearten in g/100 g essbarer Portion [Daten: Souci et al., 2000].....	19
Tabelle 2.7: Proteinverteilung (%) auf die Osborne-Fraktionen [Belitz et al., 2008].....	20
Tabelle 2.8: Die Prolamin-Gruppen in Gerste, Weizen und Roggen [Shewry et al., 1999; modifiziert].....	23
Tabelle 2.9: Klassifizierung und Eigenschaften der Kleberproteine [Belitz et al., 2008; modifiziert]	26
Tabelle 2.10: Biologische Wertigkeit verschiedener Nahrungsproteine [Seibel, 2005]	28
Tabelle 2.11: Fettgehalt und Fettsäurezusammensetzung, Gehalt an Mineralstoffen und Spurenelementen und Gehalt an Vitaminen in einigen Getreidearten [Daten aus: Souci et al., 2000].....	31
Tabelle 2.12: Beispiele für wertgebende Kornguteigenschaften von Getreide und ihre Aussagen [Aufhammer, 2003; modifiziert]	34
Tabelle 3.1: Haferproben	40
Tabelle 3.2: Getreideproben und Getreidemehlproben.....	40
Tabelle 3.3: Pipettierschema für die β -Glucosidase-Reaktion	51
Tabelle 3.4: Herstellung des Trenngels (Mengenangaben für zwei Gele)	61
Tabelle 3.5: Herstellung des Sammelgels (Mengenangaben für zwei Gele)	62
Tabelle 3.6: Elektrophoretische Parameter beim gleichzeitigen Lauf von zwei Gelen	62
Tabelle 4.1: Trockenmasse [%] der Haferproben, angegeben sind jeweils Mittelwerte aus der Doppelbestimmung und Standardabweichung.....	64
Tabelle 4.2: Trockenmasse [%] der Getreide- und Getreidemehlproben, angegeben sind jeweils Mittelwerte aus der Doppelbestimmung und Standardabweichung.....	65
Tabelle 4.3: Aschegehalt [% i. Tr.] der Haferproben, angegeben sind jeweils Mittelwerte aus der Doppelbestimmung und Standardabweichung.....	68
Tabelle 4.4: Aschegehalt [% i. Tr.] der Getreide- und Getreidemehlproben, angegeben sind jeweils Mittelwerte aus der Doppelbestimmung und Standardabweichung.....	69
Tabelle 4.5: Gesamtfettgehalt [% i. Tr.] der Haferproben, angegeben sind jeweils Mittelwerte aus der Doppelbestimmung und Standardabweichung.....	72
Tabelle 4.6: Fettgehalt [% i. Tr.] der Getreide- und Getreidemehlproben, angegeben sind jeweils Mittelwerte aus der Doppelbestimmung und Standardabweichung.....	73
Tabelle 4.7: β -Glucangehalt [% i. Tr.] in Hafer, angegeben sind jeweils Mittelwerte aus der Doppelbestimmung und die Standardabweichung	75
Tabelle 4.8: Rohproteingehalt [% i. Tr.] der Haferproben (berechnet als N \times 6,25); angegeben sind jeweils Mittelwerte aus der Doppelbestimmung und Standardabweichung.....	77
Tabelle 4.9: Rohproteingehalt [% i. Tr.] der Getreide- und Getreidemehlproben (berechnet als N \times 6,25); angegeben sind jeweils Mittelwerte aus der Doppelbestimmung und Standardabweichung	78

Abkürzungen

ca.	circa
DTT	Dithiothreitol
EFSA	European Food Safety Authority
FAO	Food and Agriculture Organization
g	Schwerefeld
GOPOD	Glucoseoxidase/Peroxidase Determination
h	Stunde(n)
H ₂ O dest.	destilliertes Wasser
HCl	Salzsäure
HMW	high molecular weight
HMW-GS	high molecular weight-glutenin subunits
i. Tr.	in der Trockenmasse
IEF	isoelektrische Fokussierung
IgE	Immunglobulin E
kDa	Kilodalton
LDL	low density lipoproteins
LMW	low molecular weight
LMW-GS	low molecular weight-glutenin subunits
mA	Milliampere
min.	Minute(n)
M _r	relative Molekülmasse
NCP	Nicht-Cellulose-Polysaccharide
NSP	Nicht-Stärke-Polysaccharide
PAGE	Polyacrylamid-Gelelektrophorese
PER	Ammoniumpersulfat
p.a.	pro analysi
rpm	rotations per minute (Umdrehungen pro Minute)
SD	Standardabweichung
SDS	Natriumdodecylsulfat
TEMED	N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamin
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
UHQ	Ultra High Quality
V	Volt
v/v	Volumen pro Volumen
w/v	Gewicht pro Volumen

1. Einleitung und Fragestellung

Getreide ist nicht nur ein bedeutendes Grundnahrungsmittel, sondern auch ernährungsphysiologisch von hoher Wertigkeit. Es liefert dem Körper Energie in Form von Kohlenhydraten und Eiweiß, ist aber auch wichtiger Lieferant für Ballaststoffe, Vitamine und Mineralstoffe. Einen besonderen Stellenwert nimmt aus ernährungsphysiologischer Sicht der Hafer ein, der aufgrund seiner Inhaltsstoffe anderen Getreidearten überlegen ist und über einen hohen Gehalt an den gesundheitsfördernden β -Glucanen und ein ausgewogenes Proteinmuster verfügt.

Im Rahmen dieser Diplomarbeit werden verschiedene Getreidearten analysiert. Zur Untersuchung gelangen 13 Haferproben verschiedener Sorten, käuflich erworbene Getreidekornproben von Weizen, Dinkel, Grünkern, Kamut, Roggen, Gerste, Hafer, Reis, Mais und den Pseudocerealien Buchweizen, Quinoa und Amaranth und Mehlproben von Weizen, Dinkel, Roggen, Reis, Mais und Buchweizen.

Im ersten Teil der Arbeit wird die chemische Zusammensetzung anhand der Getreide-Qualitätsparameter Trockenmasse, Asche, Fett- und Rohproteingehalt mit verschiedenen quantitativ-analytischen Methoden bestimmt. Der Gehalt an β -Glucanen in den Haferproben wird mittels eines Enzymkits ermittelt. Die erhaltenen Ergebnisse werden mit den Literaturwerten verglichen.

Im zweiten Teil soll das Gesamtprotein elektrophoretisch aufgetrennt und charakterisiert werden. Dabei wird die Methode der diskontinuierlichen SDS-PAGE angewandt, mit der Proteine nicht nach Ladung, sondern rein nach Molekülmasse aufgetrennt werden können. Durch Auftragen der Proben auf Polyacrylamidgele mit unterschiedlichen Vernetzungsgraden erzielt man unterschiedliche Trennleistungen. Zielsetzung ist es, die charakteristischen Bandenmuster zu bestimmen und zuzuordnen und Polymorphismen zwischen den Hafersorten festzustellen.

2. Literaturüberblick

2.1. Allgemeines zu Getreide

2.1.1. Definition

Unter „Getreide“ versteht man Körnerfrüchte von verschiedenen Grasarten, die für Ernährungszwecke gezüchtet und eingesetzt werden. Man unterscheidet sieben verschiedene Grundgetreidearten: Weizen, Roggen, Gerste, Hafer, Reis, Mais und Hirse [Rimbach et al., 2010].

Weiters wird manchmal auch das stärkereiche Korngut andere Pflanzenarten zu den Getreiden gezählt. Zu nennen sind hier etwa Buchweizen, Quinoa und Amaranth. Sie werden häufig auch mit der Bezeichnung „Pseudogetreidearten“ von den „echten Getreidearten“ abgegrenzt [Aufhammer, 2003].

2.1.2. Geschichte und Herkunft

Die Geschichte des Getreideanbaus begann vermutlich vor ca. 11.000 Jahren, als die Menschheit sesshaft wurde und erstmals Ackerbau betrieb. Als Ursprung gilt das Gebiet des „Fruchtbaren Halbmonds“ in Vorderasien und dem Nahen Osten, wo ab ca. 8.500 v. Chr. mit der Kultivierung von Landflächen begonnen wurde [Aufhammer, 2000].

Die wahrscheinlich erste Getreideart ist die Gerste, die in den Gebieten des „Fruchtbaren Halbmondes“ kultiviert wurde. Neben Gerste waren auch schon früh die alten Wildformen des heutigen Kulturweizens bekannt, Einkorn und Emmer [Belitz et al., 2008].

Reis und Mais werden seit etwa 5000 Jahren kultiviert. Ihren Ursprung haben sie in Südostasien bzw. in Mittel- und Südamerika. Auch Hirse war schon zu dieser Zeit in subtropischen und tropischen Gebieten Afrikas und Asiens bekannt. Roggen und Hafer sind sogenannte sekundäre Kulturpflanzen, die zunächst unerwünschte Begleiter anderer Kulturpflanzen waren und erst viel

später, seit etwa 1000 v. Chr. kultiviert werden. Sie weisen eine höhere Standort- und Klimatoleranz als Weizen und Gerste auf und konnten sich daher vor allem in nördlicheren Klimazonen etablieren [Belitz et al., 2008].

Die Gruppe der Süßgräser (*Poaceae* oder *Gramineae*) umfasst im Gesamten vier Unterfamilien (siehe Abbildung 2.1): die Unterfamilie der *Pooideae*, aus der weiter die Weizengräser (*Triticeae*) und die Hafergräser (*Aveneae*) abstammen, die Unterfamilie der reisähnlichen (*Oryzoideae*) bzw. der hirseähnlichen Gräser (*Panicoideae*) und die Unterfamilie der Bartgrasgewächse (*Andropogonoideae*), aus der Mais abstammt [Rimbach et al., 2010].

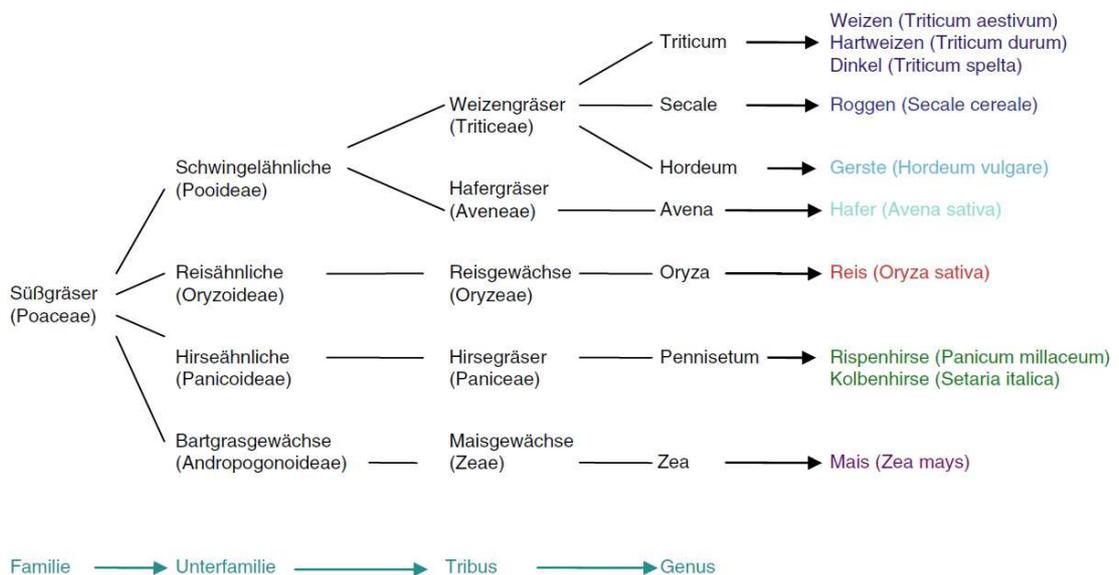


Abbildung 2.1: Phylogenie der Getreidearten und botanische Bezeichnung [Rimbach et al., 2010]

2.2. Getreidearten

2.2.1. Weizen und Dinkel

Die älteste Weizenart ist das Einkorn (*T. monococcum*) mit diploidem Chromosomensatz und dem vermuteten Ursprung in Kleinasien und Vorderasien. Durch Kreuzung von wildem Einkorn mit einer anderen, unbekanntem Grasart, sind die tetraploiden Arten Emmer-Weizen (*T. dicoccon*) und Hartweizen (*T. durum*) entstanden und erst wesentlich später durch weitere

Züchtungen die hexaploiden Arten Dinkel (*T. spelta*) und der Weich-, Saat- oder Brotweizen (*T. aestivum*) [Seibel, 2005].

Der Genus *Triticum* sp. umfasst heute hauptsächlich zwei bewirtschaftete Weizenarten, den Weich- oder Saatweizen und den Hart- oder Durumweizen. Über 90% des Getreideanbaus entfallen auf *T. aestivum*, dem Grundnahrungsmittel für einen großen Prozentsatz der Bevölkerung. Noch bis zum Beginn des 20. Jahrhunderts war Dinkel die vorherrschende Getreideart in Mitteleuropa, wurde aber vom wirtschaftlicheren Saatweizen weitgehend verdrängt [Aufhammer, 2003]. Unter Grünkern versteht man Dinkel, der im Stadium der Milchreife geerntet und anschließend gedarrt wird. Er weist einen besonderen Geschmack auf [Rimbach et al., 2010].

Die sogenannten alten Weizenarten Einkorn und Emmer sind heute wirtschaftlich unbedeutend, werden aber teilweise wieder angebaut und als gesunde Alternativen angepriesen [Aufhammer, 2003]. Eine „spezielle“ Weizenart ist ein als „Khorsan wheat“ bezeichneter alter Vorfahre von *T. durum*. Dieser wurde wiederentdeckt und wird nun von „Kamut International Ltd.“ unter dem geschützten Produktnamen Kamut® angeboten. Kamut hat um zwei bis drei Mal größere Körner und eine bessere Nährstoffzusammensetzung als Weichweizen. Außerdem wird ihm eine bessere Verträglichkeit bei Zöliakie nachgesagt [Quinn, 1999].

Das Korngut des Weizens ist gelblich-weiß bis rotbraun, länglich gedrungen mit einer Furche, in der ein Gefäßbündelstrang verläuft, der das Korn mit Nährstoffen versorgt. Das apikale Ende des Kornes ist behaart. Die Fruchtstände sind in Ähren angeordnet. Moderne Weizensorten enthalten pro Ähre etwa 30-50 (im Mittel 40) Körner, es gibt begrannte und unbegrannte Formen. Durum- und Weichweizen sind freidreschende Weizensorten, während Dinkel und die alten Sorten über Spelzen verfügen [Seibel, 2005].

Weizen besitzt aufgrund seiner Eiweißzusammensetzung gute Backfähigkeit und ist daher Grundlage für die Herstellung von Brot und Backwaren. Außerdem ist er Futtermittel und Rohstoff für die Alkoholherstellung. Hartweizen wird in der Teigwarenindustrie eingesetzt. Auch Dinkel ist sehr gut backfähig.

Nicht jedoch Grünkern, er wird lediglich in Suppen und für Bratlinge verwendet [Rimbach et al., 2010].

2.2.2. Roggen und Triticale

Roggen stammt vermutlich von einer Wildroggenart aus Anatolien ab. Alle Kulturformen des Roggens gehören zum diploiden *Secale cereale* [Rimbach et al., 2010].

Noch bis ins 19. Jahrhundert galt Roggen in Deutschland als das Hauptgetreide, wurde aber sukzessive vom Weizen verdrängt. Roggen ist sehr robust, verträgt auch raue klimatische Verhältnisse und ist resistent gegen Krankheiten. Anfälligkeit besitzt er nur gegen eine Infektion mit dem Mutterkornpilz (*Claviceps purpurea*) [Seibel, 2005].

Das Roggenkorn ist länglich-schmal, an einem Ende abgeplattet und bläulich-grün bis gelblich gefärbt mit einem gering ausgeprägten Spalt. Die Ähren sind begrannt und bilden etwa 50 Körner aus [Seibel, 2005]. Roggen wird vorwiegend als Brotgetreide und als Futterroggen genutzt [Rimbach et al., 2010].

Triticale ist ein Kreuzungsprodukt von Weizen und Roggen. Er soll Robustheit des Roggens gegen Kälte, Krankheiten und schlechte Bodenbeschaffenheit mit Ertrag und Qualität des Weizens vereinigen. Triticale ist zwar backfähig, wird aber kaum für die Herstellung von Backwaren verwendet, sondern zur Viehfütterung und für die Produktion von Bioethanol [Seibel, 2005].

2.2.3. Gerste

Gerste (*Hordeum vulgare*) ist ein sehr altes Getreide, das aus Südasien stammt und gemeinsam mit Emmer zu den ersten in Vorderasien bewirtschafteten Getreidearten zählt [Rimbach et al., 2010]. Gerste ist sehr tolerant und gedeiht in nahezu allen Klimazonen vom Polarkreis bis hin zu den Tropen [Edney, 1996].

Gerste enthält neben Hafer als einziges Getreide größere Mengen des löslichen Ballaststoffes β -Glucan und ist damit ernährungsphysiologisch von großer

Bedeutung. Der regelmäßige Verzehr von β -Glucan geht einher mit einer Senkung des Risikos von Herz-Kreislauf-Erkrankungen [Seibel, 2005].

Das Gerstenkorn ist bespelzt und je nach Sorte hellgelb bis dunkelbraun gefärbt. Die Ähren sind lange begrannt und werden je nach Anordnung der Körner in zwei-, vier- und sechszeilige Gersten eingeteilt [Seibel, 2005].

Der Hauptteil der Gerstenproduktion geht in die Viehfütterung oder wird zur Biererzeugung und in Brennereien benutzt. Während für Tierfutter Gersten mit hohen Proteingehalten erwünscht sind, gilt für die Malzerzeugung das Gegenteil. Ein zu hoher Proteingehalt wirkt sich qualitätsmindernd aus. Nur sehr kleine Mengen Gerste werden direkt für Nahrungszwecke eingesetzt, etwa für Graupen, Grüzen, Flocken, Malzmehl oder als Kaffee-Ersatz [Edney, 1996; Seibel, 2005].

2.2.4. Hafer

Zum Hafer gehören die Rispengräser der Gattung *Avena*. Der hexaploide Saathafer (*Avena sativa*) ist eine von ca. 30 Arten [Rimbach et al., 2010].

Hafer schätzt vergleichsweise feuchtere Wuchsbedingungen und gilt als anspruchslos und ist von seiner ernährungsphysiologischen Zusammensetzung als besonders wertvoll einzuschätzen. Hafer enthält (wie Gerste) β -Glucane mit gesundheitsfördernder Wirkung und höhere Fett- und Proteingehalte als anderen Cerealien. Unter den Getreideproteinen hat das Haferprotein den höchsten Lysingehalt und somit die höchste biologische Wertigkeit. Züchter sind bestrebt, die Gehalte der gesundheitsfördernden Bestandteile des Hafers weiter zu erhöhen [Seibel, 2005].

Blüten- und Fruchtstände des Hafers treten in einer Rispe auf. Je nach Sorte besitzen Haferkörner 20-45% Spelzanteil. Es gibt aber auch unbespelzte Formen, sogenannte Nackthafer. Je nach Spelzenfarbe werden Weiß-, Gelb-, Schwarz- und Braunhafer unterschieden [Seibel, 2005].

Aufgrund des geringen Kleberanteils ist Hafer nicht backfähig, sondern wird vorwiegend zu Getreidenährmitteln wie Flocken, Grieß und Mehl verarbeitet. Ein geringer Teil wird auch zur Alkoholproduktion (Whisky) eingesetzt. Der

Hauptanteil des produzierten Hafers wird heutzutage immer noch als Futterhafer angebaut [Rimbach et al., 2010].

2.2.5. Reis

Reis ist eine wärmebedürftige Sumpfgetreideart, die aus den tropischen Gebieten Ostasiens stammt. Der asiatische Saatreis (*Oryza sativa*) nimmt die führende Rolle ein mit seinen zahlreichen Varietäten [Seibel, 2005].

Der Fruchtstand der Reispflanze bildet wie der Hafer eine Rispe aus. Bei Kulturreis kann eine Pflanze bis zu 30 Halme ausbilden, die 50-160 cm hoch sind und jeweils eine schmale, überhängende Rispe mit 80-100 Reiskörnern tragen können [Seibel, 2005].

Das Reiskorn ist bespelzt. Die Spelzen müssen nach der Trocknung mechanisch entfernt werden. Ganze Reiskörner sind hellbraun bis braun, es gibt allerdings auch rote Sorten. Polierte Reiskörner sind weiß bis gelblich. Die Kornformen sind je nach Sorte sehr unterschiedlich [Seibel, 2005].

Reis gelangt zu 92% direkt in die menschliche Ernährung, nur 4% in die Tierfütterung und 2% in die Industrie. Reis ist für fast die Hälfte der Bevölkerung das Grundnahrungsmittel und deckt in manchen Regionen bis zu 80% der gesamten Nahrungsaufnahme [Seibel, 2005].

2.2.6. Mais

Mais (*Zea mays*) ist eine Kulturgrasart aus den Tropen und Subtropen, die ihre Herkunft auf dem amerikanischen Kontinent im Süden Mexikos hat [Aufhammer, 2003; Seibel, 2005]. Mais ist eine wassersparende, aber nicht trockenresistente C4-Pflanze, die durch Züchtung auch an gemäßigttere Klimazonen angepasst werden konnte [Aufhammer, 2003].

Pro Pflanze bilden sich etwa zwei Kolben aus, die über acht bis 16 Körner-Längsreihen verfügen. Es existieren ungefähr 50.000 verschiedene Sorten mit stark unterschiedlicher Kornbeschaffenheit, z.B. Hart-, Weich-, Zahn-, Spitz-, Wachs- und Zuckermais. Weiters gibt es Züchtungen mit einem erhöhten Gehalt der essentiellen Aminosäuren Lysin und Tryptophan [Rimbach, 2010].

Ganze Maiskolben werden roh, gegrillt oder gekocht verzehrt oder die Körner vom Kolben abgetrennt zu Maisgrieß (Polenta), Cornflakes, Popcorn, Maisstärke u.a. verarbeitet. Zuckermais wird roh als Gemüse gegessen. Außerdem wird Mais als Futtermittel verwendet [Rimbach, 2010].

2.2.7. Hirse

Hirse ist ein Sammelbegriff für verschiedene Grasarten, die aus Afrika stammen. Man unterscheidet sogenannte „Millet-Hirsen“, zu der eine Vielzahl von Arten gehören, wie z.B. die Perlhirse (*Pennisetum glaucum*), Rispenhirse (*Panicum miliaceum*) und die Kolbenhirse (*Setaria italica*) und „Sorghum-Hirse“ (*Sorghum bicolor*), die auch als Mohrenhirse bezeichnet wird. Sorghum ist die wirtschaftlich bedeutendste Hirseart, während die meisten Millet-Hirsen eher regionale Bedeutung in gewissen Regionen Afrikas haben [Aufhammer, 2003].

Die Kornbeschaffenheit der Hirsen ist je nach Sorte sehr unterschiedlich. Während Sorghum großkörniger ist, existieren auch sehr kleinkörnige Arten. Die Kornfarben variieren von weiß über gelb bis rot und rotviolett [Aufhammer, 2003].

Hirse ist sehr hitze- und trockenresistent und eher wenig anspruchsvoll. In Afrika ist Hirse für viele Menschen eines der wichtigsten Grundnahrungsmittel. Außer zu Nahrungszwecken (als ganzes Korn, Mehl, Grieß, Grütze oder Flocken) wird Hirse als Futtermittel und zur Gewinnung von Stärke verwendet [Rimbach et al., 2010]. Hirse kann außerdem zum Bierbrauen verwendet werden [Rooney, 1996].

2.2.8. Pseudocerealien

Als Pseudogetreide oder Pseudocerealien bezeichnet man Körnerfrüchte, die aufgrund ihrer Zusammensetzung viele Ähnlichkeiten mit Getreide haben, aber aus botanischer Sicht nicht zu den Getreiden gezählt werden, weil sie keine Gräser sind [Seibel, 2005]. Die Gruppe der Pseudocerealien umfasst drei Arten: Buchweizen, Quinoa und Amaranth.

Buchweizen (*Fagopyrium esculentum*) ist ein Knöterichgewächs, das stärkereiche 4-6 mm lange Nussfrüchte ausbildet, die von der Form her den Bucheckern ähnlich sind und aus denen Mehl gewonnen werden kann. Bekannt ist Buchweizen in Europa seit dem Mittelalter, seinen Ursprung hat er in Asien, im Amurgebiet. Buchweizen ist ernährungsphysiologisch sehr wertvoll [Seibel, 2005].

Quinoa (*Chenopodium quinoa*), auch Reismelde genannt, gehört zu den Gänsefußgewächsen und stammt aus den Andenhochländern, wo die Pflanze auch noch in großen Seehöhen gedeihen kann. Die Nussfrüchte von Quinoa sind nur etwa 2 mm groß und blass-gelblich [Seibel, 2005]

Amaranth umfasst insgesamt 60 verschiedene Arten, von denen drei Körner produzieren (*Amaranthus hypochondriacus*, *A. cruentus* und *A. caudatus*). Amaranth gehört zu den Fuchsschwanzgewächsen und stammt aus Zentralamerika [Seibel, 2005]. Amaranthsamen sind sehr kleinkörnig und haben ein Tausendkorngewicht von nur 0,6 g (Weichweizen 38 g). Es gibt hell- und dunkelkörnige Arten [Aufhammer, 2000].

Buchweizen, Quinoa und Amaranth kommen mit geringwertigen Bodenverhältnissen zurecht und werden häufig in Lagen angebaut, die für andere Körnerfrüchte nicht geeignet sind. Ihr Ertrag ist daher eher bescheiden. Umso wertvoller sind sie jedoch aus ernährungsphysiologischer Sicht [Aufhammer, 2000].

2.2.9. Wirtschaftliche Bedeutung

Im Jahr 2010 lag laut Daten der FAO die weltweite jährliche Produktionsmenge für alle Getreidearten in Summe bei rund 2,5 Mrd. Tonnen. Dies macht Getreide zur wirtschaftlich bedeutendsten Feldfrucht. Zum Vergleich, die Produktionsmengen für Gemüse lagen im selben Zeitraum bei 965 Mio. Tonnen, für Wurzelknollen (Kartoffel, Maniok u.a.) bei 727 Mio. Tonnen und für Ölsaaten bei 168 Mio. Tonnen [FAOSTAT, 2012].

Allerdings ist auch anzumerken, dass rund 80% der Anbauflächen lediglich auf die drei Getreidearten Weizen, Reis und Mais zurückgehen, während alle

übrigen Getreidearten eine weitaus geringere Bedeutung haben [Aufhammer, 2003].

Betrachtet man die Produktionsmengen, liegt der Mais an erster Stelle. Reis liegt an zweiter Stelle und hat den Weizen knapp auf den dritten Platz verdrängt. Etwas größere Bedeutung hat auch noch die Gerste, die in der Produktion an vierter Stelle liegt. Die übrigen Getreidearten spielen mengenmäßig eine vergleichsweise untergeordnete Rolle und ihre jährlichen Produktionsmengen stagnieren oder sind rückläufig. Bezüglich kultivierter Anbauflächen liegt der Weizen weit vor allen anderen Getreidearten [FAOSTAT, 2012].

Tabelle 2.1 stellt die Produktionsmengen der wichtigsten Getreidesorten und der Pseudocerealien Buchweizen und Quinoa (für Amaranth sind keine Daten verfügbar) den Anbauflächen gegenüber [FAOSTAT, 2012].

Tabelle 2.1: Produktionsmengen der Getreidearten und bewirtschaftete Flächen im Jahr 2010
[Daten: FAOSTAT, 2012]

	Produktion (Mio. Tonnen)	Anbaufläche (Mio. Hektar)
Weizen	650,9	217,2
Triticale	13,2	3,9
Roggen	12,3	5,3
Gerste	123,5	47,6
Hafer	19,6	9,1
Reis	672	159,4
Mais	844,4	161,8
Sorghum	55,7	40,9
Millet	29,3	34,8
Buchweizen	1,5	1,9
Quinoa	0,07	0,10

Der Hafer stand noch vor dem zweiten Weltkrieg auf dem dritten Platz der Weltrangliste, da Hafer als wichtiges Tierfutter für Pferde eingesetzt wurde. Mit der steigenden Motorisierung und dem damit einhergehenden Rückgang der Zugtierbestände ist der Haferanbau in den vergangenen Jahrzehnten kontinuierlich zurückgegangen. Aus ernährungsphysiologischer Sicht wäre eine stärkere Förderung des Hafers, und auch von Gerste und Roggen sinnvoll. Aber auch vom ökologischen Standpunkt her, da Hafer robuster, anspruchs-

loser und weniger krankheitsanfällig ist, als intensiv bewirtschafteter Weizen und weniger Dünger und Biozideinsätze erfordert [Aufhammer, 2003].

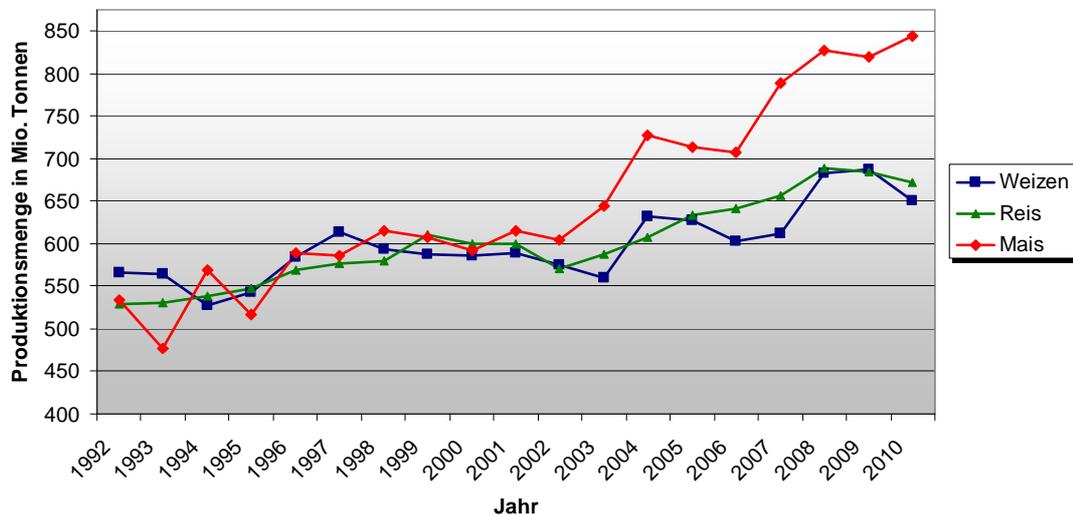


Abbildung 2.2: Weltproduktion von Weizen, Reis und Mais, 1992-2010 [Daten: FAOSTAT, 2012]

Abbildung 2.2 zeigt die Produktionszuwächse von Weizen, Reis und Mais. Speziell die Maisproduktion hat in den vergangenen 20 Jahren enormen Aufschwung erlebt. Aber auch Weizen und Reis werden noch weiter an Bedeutung gewinnen. Die Nachfrage steigt durch den Anstieg der Weltbevölkerung. Außer zu Nahrungszwecken und zur Tierfütterung dient Stärke aus Getreide heute auch vermehrt als wertvoller Rohstoff im „Non-Food-Sektor“ [Aufhammer, 2003].

Abbildung 2.3 zeigt die fünf Hauptproduzenten der Getreidearten Weizen, Reis, Mais, Gerste, Hafer und Roggen. Weizen wird sowohl in Asien, als auch in Amerika und Europa in großen Mengen produziert. Die Reisproduktion hat ihren Schwerpunkt in China, Indien und Südostasien. Über ein Drittel des weltweit produzierten Mais stammt dagegen aus Nordamerika.

Die Produktion von Gerste, Hafer und Roggen findet vorwiegend in den gemäßigteren Klimazonen statt. Unter anderem liegen wichtige Anbaugelände in Mitteleuropa, in Russland und Osteuropa sowie in Kanada und Nordamerika.

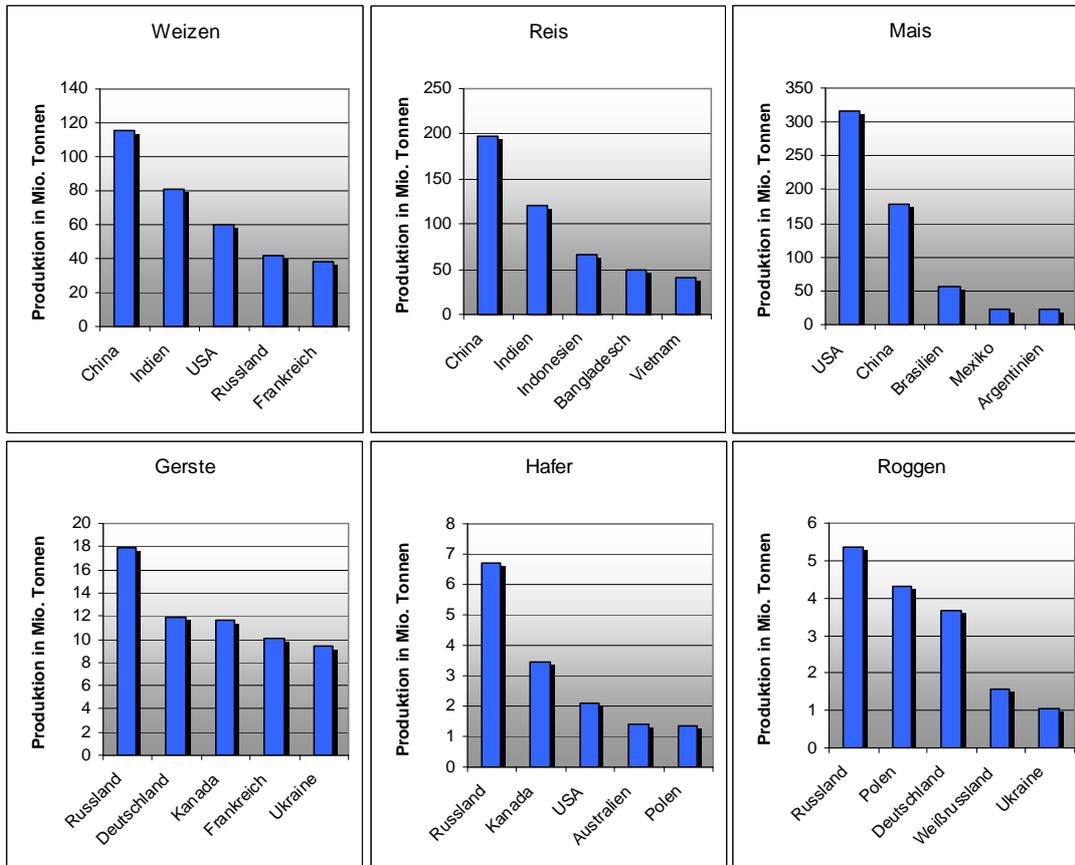


Abbildung 2.3: Die Top-5-Produzenten von Weizen, Reis, Mais, Gerste, Hafer und Roggen (mittlere Produktionsmengen von 1992-2010) [Daten: FAOSTAT, 2012]

Österreichs Getreideproduktion beschränkt sich hauptsächlich auf sechs Getreidearten: Weizen, Gerste, Mais, Triticale, Roggen und Hafer. Österreich besitzt bei Getreide einen hohen Selbstversorgungsgrad. Dieser lag z.B. im Jahr 2010/11 bei 88 Prozent [Statistik Austria, 2012]. Produktion und Anbauflächen im Jahr 2010 können Tabelle 2.2 entnommen werden.

Tabelle 2.2: Getreideproduktion und Anbauflächen Österreichs im Jahr 2010 [Daten: FAOSTAT, 2012]

Getreide:	Produktion (in 1000 Tonnen)	Anbaufläche (in 1000 Hektar)
Weizen	1.518	303
Gerste	778	350
Mais	332	180
Triticale	230	48
Roggen	163	46
Hafer	98	27

2.3. Aufbau und Inhaltsstoffe des Getreidekornes

Obwohl die Körner der einzelnen Getreidearten in Größe und Aussehen sehr unterschiedlich sind, ist ihr morphologischer Aufbau doch sehr ähnlich (Abbildung 2.4).

Die Getreidearten heben sich von Wildgräsern durch die Bildung relativ großer Früchte ab, die man auch als Karyopsen bezeichnet. Die äußerste Schicht des Getreidekorns bildet die Fruchtschale (Perikarp) bestehend aus Längs-, Quer- und Schlauchzellen und einer darunterliegenden Samenschale (Testa). Diese äußeren Schichten umschließen das Nährgewebe (Endosperm) des Kornes, und den Keimling [Belitz et al., 2008].

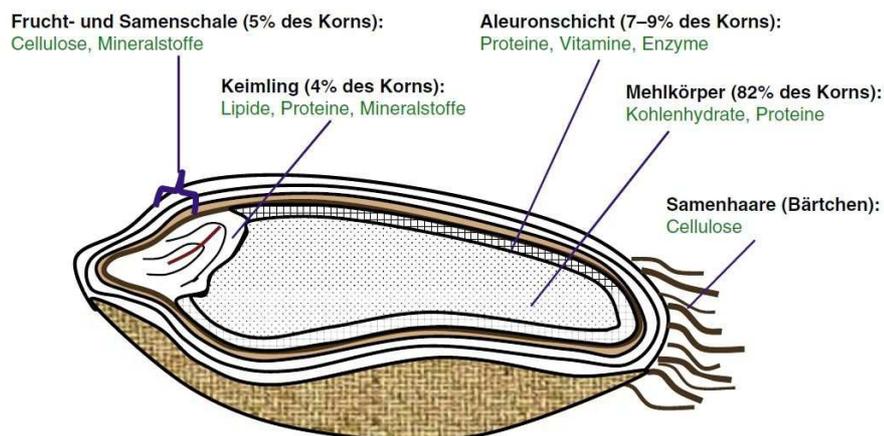


Abbildung 2.4: Aufbau und Bestandteile eines Getreidekornes [Rimbach et al., 2010]

Das Perikarp ist im Reifestadium der Karyopse totes Gewebe, das frei von Cytoplasma ist und vorwiegend aus lignifizierten Zellen besteht. Die Samenschale ist die eigentliche äußerste Hülle des Samens und enthält Farbpigmente [Bechtel et al., 2009].

Das Endosperm ist bei Weizen für über 80% der Kornmasse verantwortlich. Die in der Regel einzellige Aleuronschicht (ausgenommen Gerste, deren Aleuronschicht ist zwei bis vierlagig) bildet die äußere Schicht des Endosperms und umschließt den Mehlkörper und Teile des Keimlings [Bechtel et al., 2009; Seibel, 2005]. Die Aleuronschicht ist reich an Proteinen und enthält außerdem

Fett, Enzyme und Vitamine Der Mehlkörper besteht je nach Getreideart zu ungefähr 70-80 % aus Stärke. Außerdem sind in seinen dünnwandigen Zellen Proteine und verschiedene Nicht-Stärke-Polysaccharide vorhanden. Auch Mineralstoffe und Vitamine sind im Mehlkörper enthalten, deren Konzentration von außen nach innen abnimmt [Belitz et al., 2008; Bechtel et al., 2009].

Der Keimling (oder Embryo) liegt an der unteren dorsalen Seite der Karyopse. Er besteht aus zwei Hauptkomponenten, der embryonalen Achse und dem Schildchen (Scutellum). Das Scutellum ist ein Speicherorgan für Proteine, Phytin und Lipide [Bechtel et al., 2009].

2.4. Kohlenhydrate in Getreide

Der Kohlenhydratanteil nimmt im Getreidekorn anteilmäßig den größten Stellenwert ein. Die Verteilung der einzelnen Kohlenhydrate schwankt in den unterschiedlichen Kornfraktionen erheblich.

Tabelle 2.3: Verteilung (%) der Kohlenhydrate im Weizen [Belitz et al., 2008]

	Mehlkörper	Keim	Kleie
Pentosane und Hemicellulosen	2,4	15,3	43,1
Cellulose	0,3	16,8	35,2
Stärke	95,8	31,5	14,1
Zucker	1,5	36,4	7,6

2.4.1. Niedermolekulare Kohlenhydrate

Freie Mono-, Di- und Oligosaccharide kommen in Cerealien nur in Spuren vor. Ihr Anteil an der Trockenmasse beträgt etwa 3%. Die Einfachzucker D-Glucose und D-Fructose sind minore Komponenten unter den niedermolekularen Kohlenhydraten und machen meist weniger als 0,1% der Trockenmasse aus. Den weitaus größten Anteil nimmt das Disaccharid Saccharose ein, mit einem Gehalt von bis zu 2%. In sehr geringen Mengen können weiters Raffinose, Kestose und Isokestose, Maltose und Melibiose nachgewiesen werden. Niedermolekulare Saccharide spielen eine Rolle bei der Keimung. So können im Gewebe des Keimlings hohe Gehalte an niedermolekularen Zuckern

festgestellt werden (vgl. Tabelle 2.3). Im übrigen Korn sind diese kaum vorhanden [Stone, 1996].

2.4.2. Stärke

Stärke fungiert im Getreidekorn als wichtigstes Speicherpolymer. Sie tritt fast ausschließlich in den Zellen des Mehlkörpers in einer granulären Form auf und fehlt in der Aleuronschicht. Geringere Mengen an Stärke werden außerdem im Keimling festgestellt [Stone, 1996].

Stärke ist das Hauptkohlenhydrat des Kornes. Die Form und Größe der Stärkekörner ist charakteristisch für die einzelnen Getreidearten. Getreidestärken bestehen normalerweise etwa zu 25% aus Amylose und 75% aus Amylopektin. Spezielle Mutationen können auch andere Verhältnisse aufweisen, z.B. Wachsmais, dessen Stärke fast nur Amylopektin enthält [Belitz et al., 2008]. Das „Waxy gene“ in Gerste führt nicht nur zu einem Anstieg des Amylopektins, sondern auch des Gehalts an β -Glucan [Wood et al., 2001]. Übliche Amylose- und Amylopektinanteile in Normal-, Waxy- und Amylo-Typen von Getreiden sind in Tabelle 2.4 angeführt.

Stärke kann durch Erhitzen in wässriger Suspension in Lösung gebracht werden. Die Stärkekörner verlieren dabei ihre Gestalt und verkleistern. Der Temperaturbereich und der Grad der Quellung ist je nach Stärkeart charakteristisch und kann zur Differenzierung von Stärken herangezogen werden. Heterobestandteile der Stärke sind in die Helices der Amylose eingelagerte Lipide und etwa 0,5% Proteine. Die in der Weizenstärke eingeschlossenen Lipide beeinflussen das Backverhalten, indem sie die Quellung verzögern und die Verkleisterungstemperatur erhöhen [Belitz et al., 2008].

Tabelle 2.4: Amylose- und Amylopektinanteile in der Stärke von Getreidearten [Aufhammer, 2003; modifiziert]

	Amylose (%) ¹	Amylopektin (%) ¹
Normal-Typ	18 – 25	75 – 82
Waxy-Typ	0,01 – 2	98 – 99,99
Amylo-Typ	45 – 80	20 – 55

¹ % bezogen auf den Gehalt an Gesamtstärke

2.4.3. Nicht-Stärke-Polysaccharide

Die Gruppe der Nicht-Stärke-Polysaccharide (Abkürzung NSP) umfasst weitere Polysaccharide, die im Mehlkörper in weit geringeren Mengen als Stärke vorhanden sind. Es handelt sich dabei überwiegend um Gerüstsubstanzen der Zellwände, deren Konzentration in den äußeren Partien des Kornes höher sind, als im Inneren. Mit steigendem Ausmahlungsgrad wächst daher ihr Anteil im Mehl [Belitz et al., 2008].

NSP können chemisch nach ihrem Wasserbindungsvermögen in wasserunlösliche und wasserlösliche NSP eingeteilt werden. Ihnen ist gemeinsam, dass sie vom menschlichen Organismus nicht verwertet werden können. Sie werden daher auch als Ballaststoffe („dietary fiber“) bezeichnet [Welch, 2011]. Der Verzehr dieser Substanzen entfaltet im Körper einige ernährungsphysiologisch positive Wirkungen, die in Kapitel 2.4.4 im Detail besprochen werden.

Zu den unlöslichen Ballaststoffen zählt vornehmlich Cellulose, ein lineares Homopolymer, das ausschließlich aus (1→4)-verlinkten β -D-Glucopyranosyl-Resten aufgebaut ist. Die unverzweigte Polymerkette kann aus bis zu etwa 15000 Einheiten zusammengesetzt sein. Cellulose kommt im Pflanzenreich ubiquitär als Gerüstsubstanz der Zellwand vor [Stone, 1996].

Eine wichtige Komponente der löslichen NSP bilden lösliche β -Glucane. Sie sind die Hauptkomponente der löslichen Ballaststofffraktionen von Hafer und Gerste [Welch, 2011]. Das lineare, ausschließlich aus D-Glucose aufgebaute, Polyglucan ist im Gegensatz zu Cellulose verzweigt und enthält (1→3)- und (1→4)-Verknüpfungen in einem ungefähren Verhältnis von 30% zu 70% [Wood, 2011]. Positive Wirkungen der β -Glucane (siehe Kapitel 2.4.4) auf die menschliche Gesundheit sind in zahlreichen Studien bestätigt worden.

Weitere Polysaccharide des Getreidekorns sind die zum Teil wasserlöslichen Pentosane (lineare Arabinoxylane und hochverzweigte Arabinogalactan-peptide). Sie kommen besonders häufig im Roggenmehl vor und ihre Wasserbindungskapazität und Gelbildung ist ausschlaggebend für die Backfähigkeit des Roggens. Fructane kommen in Weizenmehl zu ca. 1% vor. Sie bestehen aus D-Glucose und D-Fructose [Belitz et al., 2008].

In Tabelle 2.5 werden die gesamten, löslichen und unlöslichen NSP von Hafer und verschiedenen anderen Getreidearten festgehalten. Die höchsten Gehalte an NSP finden sich in Roggen, die geringsten in braunem Reis und Maismehl. Hafer (aufgrund der β -Glucane) und Roggen (aufgrund der Pentosane) haben die höchsten Gehalte an löslichen Ballaststoffen, wobei im Hafer der Anteil der löslichen Fraktion sogar über der unlöslichen Fraktion liegt. Reis enthält nicht nur generell sehr wenig Ballaststoffe, sondern auch praktisch keine löslichen NSP [Welch, 2011].

Tabelle 2.5: Gesamte, lösliche und unlösliche NSP, Cellulose und NCP in Getreiden. Werte in g/100 g Trockenmasse [Daten aus: Englyst et al., 1989; zitiert nach Welch, 2011]

	Hafermehl	Weizen (Vollkorn)	Maismehl	brauner Reis	Roggen (Vollkorn)	Rollgerste
NSP total	7,7	10,6	5,6	2,2	13,0	11,7
lösliche NSP	4,5	2,3	0,9	Spuren	4,5	3,9
(% total)	(58)	(22)	(16)	(Spuren)	(35)	(33)
unlösliche NSP	3,2	8,3	4,7	2,2	8,5	7,8
(% total)	(42)	(78)	(84)	(100)	(65)	(67)
Cellulose	0,6	1,7	1,6	0,8	1,3	1,4
(% total)	(8)	(16)	(29)	(37)	(10)	(12)
unlösliche NCP	2,6	6,5	3,1	1,4	7,2	6,4
(% total)	(34)	(62)	(55)	(63)	(55)	(55)

2.4.4. Ernährungsphysiologische Bedeutung

Viele der ernährungsphysiologisch positiven Wirkungen des Getreides beruhen auf ihrem hohen Gehalt an Ballaststoffen.

Ballaststoffe werden definiert als essbare Teile von Pflanzen (oder sonstige Kohlenhydrate), die im Dünndarm der Verdauung und Resorption widerstehen und im Dickdarm komplett oder teilweise durch Fermentation abgebaut werden. In diese Definition fallen sämtliche unverdauliche Polysaccharide, unverdauliche Oligosaccharide, Lignin und andere mit diesen assoziierte Begleitstoffe [DeVries, 2003]. Ballaststoffen werden im menschlichen Körper eine Vielzahl von positiven Effekten zugesprochen. Sie senken nachweislich das Risiko für die Entstehung von koronaren Herzerkrankungen, Schlaganfällen, Bluthoch-

druck, Diabetes, Übergewicht und wirken sich positiv auf Verdauung und die Gesundheit des Gastrointestinaltraktes aus [Anderson et al., 2009].

Ein besonderes Augenmerk wird auf β -Glucan gerichtet, das in nennenswerten Konzentrationen nur im Endosperm von Hafer und Gerste vorkommt, in anderen Getreiden maximal in Spuren. Eine Vielzahl von Tier- und Humanstudien belegen seine ernährungsphysiologischen Vorteile [Behall und Hallfrisch, 2011].

Die positive Wirkung von β -Glucan kann insgesamt drei verschiedenen Faktoren zugeschrieben werden: Senkung der Blutlipidwerte [Liatis et al., 2009; Queenan et al., 2007], Senkung von Bluthochdruck [Maki et al., 2007; Hallfrisch et al., 2003] und Auswirkungen auf den Blutglucosespiegel und die Insulinresistenz [Liatis et al., 2009; Lammert et al., 2008]. Eine tägliche Aufnahme von 3 g β -Glucan mit der Nahrung kann damit effektiv der Entstehung einer Reihe von Folgeerkrankungen, wie Herzkrankheiten, Diabetes mellitus und Schlaganfällen entgegenwirken [Behall und Hallfrisch, 2011]. Aufgrund dieser Datenlage wurden bereits ab 1997 in den USA und 2010 auch in der Europäischen Union „Health Claims“ für Hafer und Haferprodukte eingeführt [FDA, 1997; EFSA, 2010].

2.5. Proteine in Getreide

2.5.1. Rohproteingehalt und Aminosäurezusammensetzung

Der Rohproteingehalt hat von den Hauptnährstoffen den zweitgrößten Anteil an der Getreidetrockenmasse. Die durchschnittlichen Gehalte liegen bei den meisten Arten in einem Bereich von etwa 8-12 % (Tabelle 2.6).

Innerhalb einer Getreideart schwanken die Proteinwerte jedoch teils erheblich. So konnten beispielsweise bei einer Untersuchung von 289 verschiedenen Haferproben Rohproteingehalte zwischen 12,4 und 24,4 % i. Tr. festgestellt werden [Robbins et al., 1971]. Proteingehalt und Proteinzusammensetzung werden nicht nur von der Genetik, sondern auch von äußeren Bedingungen (Klima, Feuchtigkeit, Sonne, Düngung) beeinflusst [Peterson, 2011].

Tabelle 2.6: Durchschnittliche Rohproteingehalte (N×6,25) verschiedener Getreidearten in g/100 g essbarer Portion [Daten: Souci et al., 2000]

	Protein (N × 6,25) g/100 g
Weizen	11,7
Dinkelmehl	14,4
Grünkern	11,6
Gerste	10,6
Roggen	9,51
Reis (braun)	7,78
Mais	9,2
Hafer	12,6
Sorghum	9,07
Millet-Hirse	14,8
Buchweizen	15,8
Quinoa	11,1
Amaranth	10,6

Die Klassifizierung der 20 proteinogenen Aminosäuren erfolgt üblicherweise in essentielle oder nicht-essentielle Aminosäuren. Essentiell sind Aminosäuren, deren Kohlenstoff-Grundgerüst nicht oder nur in unzureichendem Ausmaß vom Körper synthetisiert werden kann und die daher mit der Nahrung aufgenommen werden müssen. Nicht-essentiell sind jene Aminosäuren, die in adäquaten Mengen vom Körper selbst synthetisiert werden können [Wu, 2009]. Die ernährungsphysiologische Qualität eines Proteins wird festgelegt durch die darin enthaltenen Konzentrationen der essentiellen Aminosäuren (Histidin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Threonin, Tryptophan und Valin) im Vergleich zu ihrem Bedarf. Wenn die Konzentration einer Aminosäure in einer Proteinquelle unter dem physiologischen Bedarf liegt, wird diese Aminosäure als „limitierend“ bezeichnet [Welch, 2011].

Die Aminosäurezusammensetzung der verschiedenen Cerealien weist gewisse Gemeinsamkeiten auf. Während die meisten Aminosäuren in ausreichenden Mengen enthalten sind, ist Lysin in allen Getreiden limitierend. Vergleicht man die Zusammensetzung der essentiellen Aminosäuren von Hafer mit einigen anderen Getreidearten, zeigt sich, dass das Haferprotein ein ausgewogeneres Aminosäuremuster hat und mehr Lysin enthält als die Proteine anderer Getreidearten und man außerdem höhere Gehalte der schwefelhaltigen Aminosäuren Cystein und Methionin vorfindet [Welch, 2011].

2.5.2. Osborne-Fraktionen

Zurückgehend auf die Forschungsarbeit von *T. B. Osborne* zu Beginn des 20. Jahrhunderts, werden Getreideproteine basierend auf ihre Löslichkeit in vier verschiedene Gruppen eingeteilt: Albumine (wasserlöslich), Globuline (löslich in wässriger Salzlösung), Prolamine (löslich in wässrigem Alkohol) und Gluteline (löslich in verdünnter Säure oder Lauge) [Belitz et al., 2008; Shewry, 1996]. Man spricht daher auch von den sogenannten Osborne-Fraktionen. Die Proteine der verschiedenen Getreidearten enthalten sehr unterschiedliche Anteile an den Osborne-Fraktionen, wie in Tabelle 2.7 aufgezeigt wird.

Tabelle 2.7: Proteinverteilung (%) auf die Osborne-Fraktionen [Belitz et al., 2008]

Fraktion	Weizen	Roggen	Gerste	Hafer	Reis	Hirse	Mais
Albumine	14,7	44,4	12,1	20,2	10,8	18,2	4,0
Globuline	7,0	10,2	8,4	11,9	9,7	6,1	2,8
Prolamine	32,6	20,9	25,0	14,0	2,2	33,9	47,9
Gluteline	45,7	14,5	54,5	53,9	77,3	41,8	45,3

2.5.3. Speicherproteine

Die Fraktionierung nach Osborne ist eine wichtige Grundlage, liefert aber nicht immer fehlerfreie Resultate. Eine modernere Einteilung der Getreideproteine erfolgt daher nach ihrer Funktion in Speicherproteine (Reservestoffe), Strukturproteine (Gerüstsubstanz in Zellen) sowie Schutz- und Funktionsproteine (Bedeutung im Stoffwechsel). Etwa 50% des Gesamtproteingehalts im reifen Getreidekorn sind Speicherproteine. Bedeutendste Speicherproteine in den meisten Getreidearten, ausgenommen in Hafer und Reis, sind die Prolamine. Ihr Name beruht auf der Tatsache, dass sie besonders reich an den Aminosäuren Prolin und Glutamin sind. Heute weiß man, dass der Anteil dieser beiden Aminosäuren zusammen in den verschiedenen Prolaminen zwischen 30 und 70% schwankt. Außerdem sind nicht alle Prolamine im nativen Zustand löslich in Alkohol [Shewry und Halford, 2002]. Ein Beispiel dafür sind die von Osborne zu den Glutelinen gezählten Weizenproteine. Aufgrund ihrer Disulfidbrücken sind diese nur dann in Alkohol löslich, wenn sie vorher reduziert werden [Shewry und Tatham, 1999]. In Prolaminen sind einige essentielle

Aminosäuren limitierend, insbesondere Lysin, aber (besonders im Mais) auch Threonin und Tryptophan [Shewry und Halford, 2002].

Hafer und Reis bilden unter den Cerealien Ausnahmen, da ihre Speicherproteine mehrheitlich vom Globulin-Typ sind. Die Speicherglobuline vom Typ 11-12S (Sedimentationskoeffizient 11-12) finden sich in stärkehaltigen Teilen des Endosperms. Da Globuline von Reis unlöslich in wässrigen Salzlösungen sind, werden sie nach Osborne zu den Glutelinen gezählt, obwohl sie ebenso zum 11-12S-Typ gehören [Shewry und Halford, 2002].

Die Speicherproteine im Embryo und der Aleuronschicht vieler Getreidearten sind Globuline basierend auf einem Sedimentationskoeffizienten von etwa 7. Diese Globuline vom 7S-Typ sind homolog zu den 7S-Vicilinen in Leguminosen und anderen Dikotyledonen [Shewry und Halford, 2002]. Globuline sind im Gegensatz zu Prolaminen relativ reich an Lysin. Aus diesem Grund weist das Protein von Hafer und Reis eine bessere Aminosäurezusammensetzung auf als das Protein prolaminreicherer Getreidearten [Welch, 2011].

Abbildung 2.5 gibt einen Überblick über die wichtigsten Gruppen von Speicherproteinen in den Getreidearten und deren Einteilung. Viele Speicherproteine (speziell die Prolamine) haben Trivialnamen, die jedoch teilweise keiner Systematik folgen. Die Weizenprolamine werden als Gliadine und Glutenine bezeichnet, die Namen der Prolamine anderer Getreidearten leiten sich von ihren lateinischen Gattungsnamen ab: Hordeine (Gerste), Secaline (Roggen), Zeine (Mais), Avenine (Hafer) [Shewry, 1996].

2.5.3.1. Einteilung und Nomenklatur der Prolamine

Prolamine sind Speicherproteine, die einzigartig in den Gräsern vorkommen und ansonsten bislang in keiner anderen Pflanzenfamilie entdeckt werden konnten. Sie sind eine sehr heterogene Gruppe, deren M_r zwischen 10.000 und 100.000 variiert. So sind die Prolamine der *Triticeae* (Weizen, Gerste, Roggen) und die Prolamine der *Panicoideae* (Mais, Sorghum, Millet) vermutlich von verschiedenem Evolutionsursprung, weshalb man die Prolamine der *Triticeae* einer eigenen „Prolamin-Superfamilie“ zuteilt [Shewry und Halford, 2002].

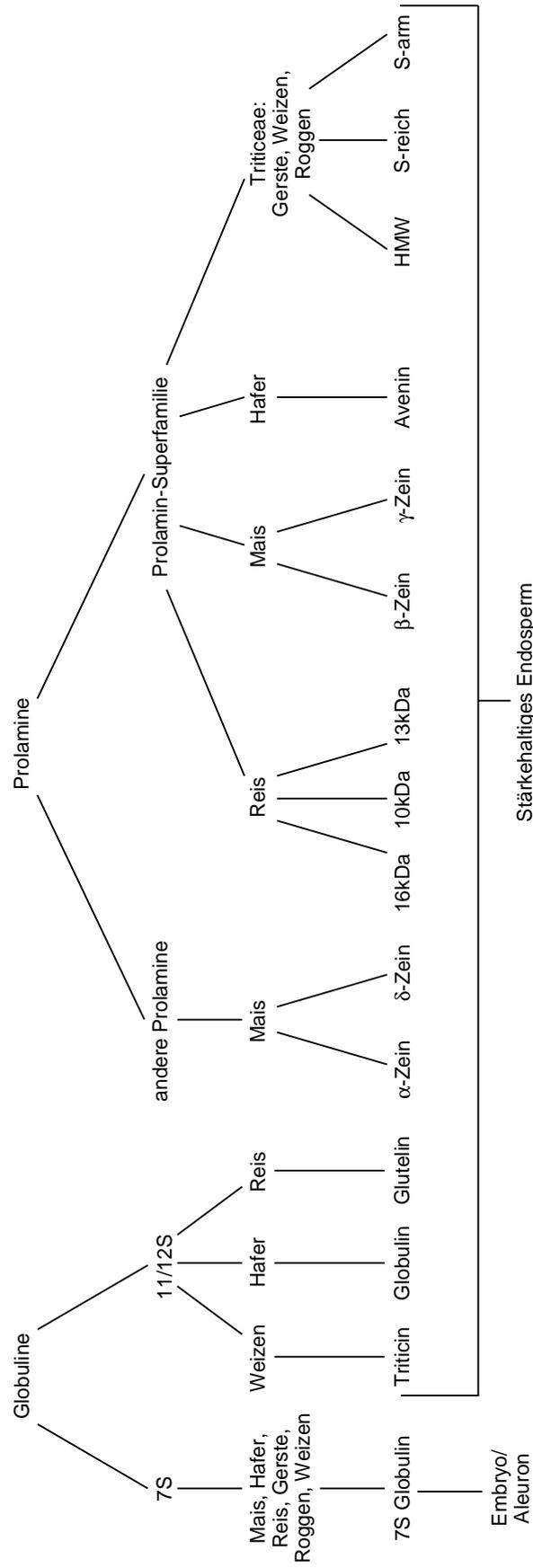


Abbildung 2.5: Die Gruppen der wichtigsten Speicherproteine in Getreidekörnern [Shewry, 1996]

Ungeachtet dieser Unterschiede haben die meisten Prolamine zwei gemeinsame, charakteristische Eigenschaften. Erstens können ihre Sequenzen in zwei oder mehrere separate Domänen eingeteilt werden, die sich jeweils in ihrer Aminosäurezusammensetzung, Sekundärstruktur und Abstammung voneinander unterscheiden. Zweitens besitzt mindestens eine dieser Domänen Peptidmotive mit repetitiven Sequenzen, die hauptsächlich oder komplett aus einer einzigen Aminosäure aufgebaut sind [Shewry, 1996].

2.5.3.2. Die „Prolamin-Superfamilie“ der Triticeae

Die Prolamin-Superfamilie der Triticeae stellt ein komplexes, polymorphes Gemisch dar, das aus 20-30 Komponenten in den diploiden Getreidearten Gerste und Roggen und aus über 50 Komponenten im hexaploiden Weizen besteht. In der SDS-PAGE können eine Vielzahl von Banden mit einer M_r von 30.000 bis über 100.000 identifiziert werden [Shewry, 1996].

Anhand ihrer Sequenz und Aminosäuremuster werden Prolamine in Weizen, Gerste und Roggen nach Shewry et al. (1999) weiter in drei verschiedene Untereinheiten eingeteilt:

- HMW-Untereinheiten
- schwefelreiche Prolamine (S-reich)
- schwefelarme Prolamine (S-arm)

Die Nomenklatur dieser Prolamine ist sehr uneinheitlich. In Tabelle 2.8 wird ein Überblick gegeben.

Tabelle 2.8: Die Prolamin-Gruppen in Gerste, Weizen und Roggen [Shewry et al., 1999; modifiziert]

	Gerste	Weizen	Roggen
HMW-PROLAMINE	D-Hordein	HMW-Untereinheiten von Glutenin	HMW-Secaline
S-ARME PROLAMINE	C-Hordein	ω -Gliadine	ω -Secaline
S-REICHE PROLAMINE			
γ -Typ	γ -Hordein	γ -Gliadine	γ -Secaline
α -Typ		α -Gliadine	
aggregierter Typ	B-Hordein	LMW-Untereinheiten von Glutenin (B-Gruppe)	

Die S-armen Prolamine machen in Gerste ungefähr 10-20%, in Roggen und Weizen etwa 11% der gesamten Prolaminfraktion aus. Sie enthalten praktisch keine schwefelhaltigen Aminosäuren (Cystein und Methionin) und können daher keine Disulfidbrücken bilden und liegen vorwiegend als monomere Proteine mit einer M_r zwischen 30.000 und 80.000 vor. Die S-reichen Prolamine sind in allen Triticeae mit durchschnittlich etwa 70-80% die anteilmäßig überragende Komponente. Sie haben charakteristisch hohe Gehalte an Cystein. Ihre M_r liegt zwischen 33.000 und 55.000 und sie liegen in monomeren und polymeren Formen vor. Die HMW-Prolamine sind eher minore Komponenten. Ihr Anteil liegt bei Weizen bei etwa 10%, bei Gerste bei nur etwa 2-4% und bei Roggen bei etwa 7%. Sie liegen ausschließlich in Polymeren mit hohem Molekulargewicht vor und sind vernetzt durch stabile Disulfidbrücken. Ihre M_r variiert etwa zwischen 65.000 und 90.000 [Shewry et al., 1999].

2.5.3.3. *Prolamine anderer Getreidearten*

Obwohl die Proteinzusammensetzung des Hafers sich von den Triticeae sehr unterscheidet, sind seine Prolamine (Avenine) am ähnlichsten der Prolamin-Superfamilie der Triticeae, was sich dadurch erklärt, dass beide der gleichen botanischen Unterfamilie angehören [Shewry, 1996]. Elektrophoretische Auftrennung unter saurem pH-Wert ergab eine Einteilung in drei verschiedene Gruppen, die als α -, β -, und γ -Avenine bezeichnet werden, wobei die β -Fraktion aber nur in Spuren auftritt [Kim et al., 1978; Peterson, 2011]. Avenine bestehen aus mindestens 20 verschiedenen Komponenten. In der SDS-PAGE zeigen sie zwei verschiedene Gruppen, eine Hauptgruppe bei M_r von 20-30.000 bzw. eine minore Gruppe bei M_r von 30-40.000. Daneben kann auch noch eine niedermolekulare Gruppe vorhanden sein [Shewry, 1999].

Die Prolaminfraktion von Reis ist nicht homolog zu der anderer Getreidearten und ist charakterisiert durch eine geringere Prolin- und Glutamin-Konzentration von lediglich 25% oder weniger, was auf eine nur entfernte Verwandtschaft zur Prolamin-Superfamilie hindeutet. Reisprolamine weisen in der SDS-PAGE drei verschiedene Banden mit einer M_r von 10.000, 13.000 und 16.000 auf. Diese

haben keine Trivialnamen und werden als 10kDa-, 13kDa- bzw. 16kDa-Prolamine bezeichnet [Shewry, 1996].

Die Prolamine von Mais (Zeine) zeigen in der SDS-PAGE Banden bei einer M_r von etwa 10.000, 14.000, 16.000, 19.000, 22.000 und 28.000. Sequenzanalysen haben ergeben, dass diese in vier eigenständige Gruppen eingeteilt werden können, die α -, β -, γ - und δ -Zeine. Die α -Zeine bilden die Hauptgruppe und treten in der SDS-PAGE mit zwei Banden bei 19.000 und 22.000 auf und sind nicht verwandt mit der Prolamin-Superfamilie. Sie stellen eine gesonderte Prolamingruppe dar, gemeinsam mit den Promalinen aus den Hirsen. Im Gegensatz dazu haben β -Zeine (Banden bei M_r 14.000 und 16.000) und γ -Zeine (Bande bei M_r 28.000) klare Verbindung zueinander und zur Prolamin-Superfamilie. Die δ -Zeine sind minore Komponenten mit vermutlich nur entfernter Verwandtschaft zur Prolamin-Superfamilie [Shewry, 1996].

Hirse ist ein Sammelbegriff für *Sorghum bicolor* und die vielen verschiedenen Milletarten. Die Prolamine von Sorghum tragen die Trivialnamen Kafirine. Als Einteilung wurde α -, β - und γ -Kafirin vorgeschlagen, basierend auf dem ähnlichen α -, β - und γ -Zein im Mais. Kafirine zeigen Hauptbanden bei M_r von 25.000 und 23.000 (α -Kafirin), und Nebenbanden bei M_r 20.000, 18.000 und 16.000 (β -Kafirin) und M_r 28.000 (γ -Kafirin) [Shull et al., 1991]. Die Prolamine der Milletarten sind sehr unterschiedlich. Gemeinsame Charakteristik für fast alle Arten ist eine Bande bei M_r 20.000 in der SDS-PAGE [Leite et al., 1999].

2.5.3.4. Besonderheiten des Gluteneiweißes

Weizen ist die einzige Getreideart, dessen Prolaminfraktion (auch Kleber oder Gluten genannt) mit Wasser vermischt einen knetbaren Teig ausbilden kann. Wie bereits erwähnt wurde, ist das Weizeneiweiß aus HMW- und LMW-Einheiten der Glutenine, Untereinheiten der S-armen ω -Gliadine mit mittlerem Molekulargewicht und niedermolekularen Untereinheiten der S-reichen α - und γ -Gliadine aufgebaut. Ein Überblick über Klassifizierung und Eigenschaften wird in Tabelle 2.9 gegeben.

Tabelle 2.9: Klassifizierung und Eigenschaften der Kleberproteine [Belitz et al., 2008; modifiziert]

Gruppe	HMW		MMW		LMW		
	HMW-Untereinheiten		ω-Gliadine		α-Gliadine	γ-Gliadine	LMW-Untereinheiten
	x-Typ	y-Typ	ω5	ω1,2			
M_r × 10⁻³ ^a	104-124	90-102	66-79	55-65	32	38-42	36-44
Aminosäurereste	770-827	627-684	n.a.	n.a.	262-298	272-308	281-333
Anteil an Kleberproteinen	4-9%	3-4%	3-6%	4-7%	28-33%	23-31%	19-25%
Cysteinreste	4	7	0	0	6	8	8
μmol Cys/g Mehl	0,3	0,3	0	0	6,0	6,7	5,0

^a bestimmt mit SDS-PAGE

n.a. = nicht analysiert

Gluten wird definiert als die gummiartige Masse, die zurückbleibt, wenn Stärkekörner und wasserlösliche Substanzen aus dem Weizenteig durch Auswaschen entfernt werden. Dieser Rückstand ist ein Mix aus 75-85% Proteinen und 5-10% Lipiden. In der Praxis bezieht sich der Begriff Gluten aber ausschließlich auf den Proteinanteil bzw. auf seine beiden Fraktionen, die alkohollöslichen Gliadine und die alkoholunlöslichen Glutenine. Beide beeinflussen entscheidend die rheologischen Eigenschaften des Teiges. Gliadine sind verantwortlich für die Viskosität und Dehnbarkeit und Glutenine für seine Elastizität [Wieser, 2007].

Die molekularen Hintergründe dieser Eigenschaften sind nicht restlos erforscht. Sie stützen sich auf verschiedene Modelle und Hypothesen. Klar ist, dass die HMW-Einheiten des Glutenins die zentrale Rolle spielen. Sie haben die Fähigkeit, intermolekulare Disulfidbindungen auszubilden und auf diese Weise ein elastisches Netz aus Polymeren zu bilden [Hamer et al., 2009]. Die Gliadine aggregieren mit den Gluteninen über nicht-kovalente Bindungen, wie Wasserstoffbrücken, Ionenbindungen und hydrophoben Wechselwirkungen [Wieser, 2007].

Für die Kohäsivität und das viskoelastische Verhalten des Teiges sind die Kleberproteine in Verbindung mit den mit ihnen assoziierten Lipiden verantwortlich. Der Teig erhält dadurch das nötige Gashaltvermögen und die Fähigkeit, beim Backen ein poröses, lockeres Gebäck und eine elastische Krume zu liefern [Belitz et al., 2008].

2.5.3.5. *Speicherproteine vom Globulin-Typ*

Wie bereits erwähnt sind Hafer und Reis unter den Cerealien eine Ausnahme, da ihre Proteinfraction hauptsächlich aus Globulinen besteht, die nach Sedimentationskoeffizienten und Lokalisation eingeteilt werden in die im Endosperm vorhandenen 11-12S Globuline vom Legumin-Typ und die im Embryo und der Aleuronschicht gelagerten 7S Globuline vom Vicilin-Typ. Beide sind homolog zu den Globulinen in verschiedenen Leguminosen und Dikotyledonen. Globuline kommen aber auch in anderen Getreidearten vor [Shewry, 1996].

Das 11-12S Haferglobulin ist ein Hexamer (M_r ca. 322.000), aufgebaut aus jeweils sechs Untereinheiten mit einer M_r von etwa 55.000. Jede Untereinheit kann weiter geteilt werden in zwei durch eine Disulfidbindung verknüpfte Polypeptide mit M_r von etwa 32.000 bzw. 23.000. Diese werden auch als α - (oder saure) und β - (oder basische) Untereinheiten bezeichnet [Shotwell, 1999].

Gluteline (11-12S Globuline) in Reis können nur unter denaturierenden Bedingungen in Salzlösungen extrahiert werden. Sie weisen dimere, mit Disulfidbrücken stabilisierte Untereinheiten auf mit M_r im Bereich von 37-39.000 bzw. 22-23.000 [Shewry, 1996].

Globuline vom Legumintyp finden sich auch als minore Bestandteile in Weizen. Diese werden als Triticine bezeichnet. Sie sind aufgebaut aus großen ($M_r \sim 40.000$) und kleinen Subeinheiten (M_r 22-23.000) [Shewry, 1996].

Aleuronschicht und Scutellum weisen wie bereits erwähnt eine eigene Art von Globulinen auf. Globuline vom 7S Vicilin-Typ mit Ähnlichkeiten zu Leguminosen und Baumwollsaat wurden im Embryo von Mais, Hafer und Roggen und im Embryo sowie der Aleuronschicht von Weizen und Gerste identifiziert, die Untereinheiten mit einer M_r von 45-65.000 aufweisen. In Reis wurde eine Reihe von γ -Globulinen unbekannter Herkunft entdeckt [Shewry, 1996].

2.5.4. *Sonstige Proteine*

Neben den Speicherproteinen liegen in Getreidekörnern noch eine Vielzahl anderer Proteine vor. Diese spielen entweder eine strukturelle Rolle (in der Zellwand und den Zellmembranen) oder eine funktionelle Rolle (meist als

Enzyme). Nur ein kleiner Teil dieser Proteine wurde im Detail charakterisiert. Beispiele dafür sind Enzyme des Scutellums und der Aleuronschicht, die Speicherreserven während der Keimung (Proteine, Lipide, Kohlenhydrate) hydrolysieren, Enzyminhibitoren, Proteine in den Stärkekörnern und antimikrobiell wirksame Proteine zur Abwehr von Pflanzenschädlingen [Shewry, 1996].

Manche Getreideenzyme sind auch von lebensmitteltechnologischem Interesse, da sie die Qualität der Getreideprodukte beeinträchtigen und beispielsweise zu Brotfehlern führen können [Belitz et al., 2008].

2.5.5. Ernährungsphysiologische Bedeutung

Obwohl der Rohproteingehalt von Getreide im Durchschnitt bei nur etwa 12% liegt, sind Cerealien dennoch eine wichtige Proteinquelle in der menschlichen Ernährung. In den Industriestaaten werden rund 30% des täglichen Proteinbedarfs durch den Verzehr von Getreideprodukten (v.a. Brot) gedeckt [Belitz et al., 2008].

Die biologische Wertigkeit verschiedener Getreide- und sonstiger Nahrungsproteine wird in Tabelle 2.10 vergleichend dargestellt. Getreideproteine weisen aufgrund der limitierenden Aminosäuren keine allzu hohe Wertigkeit auf. Da Getreide aber üblicherweise nicht die einzige Proteinquelle darstellt, spielt das ernährungsphysiologisch keine allzu große Rolle [Seibel, 2005].

Tabelle 2.10: Biologische Wertigkeit verschiedener Nahrungsproteine [Seibel, 2005]

Nahrungsprotein	Biologische Wertigkeit
Vollei	100
Kuhmilch	91
Rindfleisch	83
Reis	83
Roggenmehl (82% Ausmahlung)	78
Mais	71
Weizen	59
Weizenmehl (82% Ausmahlung)	47

Der Verzehr von Getreideproteinen kann jedoch auch zu Problemen führen. Getreide kann Allergien auslösen. Dabei handelt es sich um IgE-medierte

Immunreaktionen, eine Allergie vom Typ I. Die typischen Allergiesymptome sind unter anderem Asthma, Rhinitis, Hautjucken, Urtikaria und Diarrhoe, sehr selten der anaphylaktische Schock. Beispiele für solche IgE-vermittelten Getreideallergien sind das durch die Inhalation von Mehlstaub ausgelöste „Bäckerasthma“ und die durch verschiedene Getreideproteine, unter anderem Gluten, verursachte Lebensmittelallergie. Letztere ist allerdings relativ selten. Häufiger auftreten können dagegen allergische Reaktionen auf Getreidepollen bei Personen, deren Immunsystem bereits auf Gräser sensibilisiert ist [Shewry et al., 2009].

Zöliakie ist eine (bei genetischer Prädisposition) durch den Verzehr von Gluten ausgelöste abnorme, zellulär medierte Immunantwort, die zu Entzündung im Dünndarm und Schleimhautatrophie führt. Nicht alle Glutenproteine wirken gleichermaßen. Zöliakie scheint besonders durch die α -Gliadine ausgelöst zu werden, was daran liegt, dass α -Gliadine Peptidsequenzen enthalten, die nur unvollständig verdaut werden können und die bei Zöliakiepatienten zur Stimulierung der entzündungsauslösenden T-Zellen führen. Neben Weizen und Dinkel sind auch die enger verwandten Getreidearten Roggen und Gerste Auslöser dieser Krankheit [Shewry et al., 2009].

Umstritten ist die Rolle des Hafers. Nach neueren wissenschaftlichen Erkenntnissen werden moderate oder sogar größere Mengen von Haferprolaminen von vielen Patienten vertragen, unter der Voraussetzung, dass diese frei von Verunreinigungen mit Weizen, Gerste oder Roggen sind [Welch, 2011]. Eine generelle Empfehlung für Hafer kann dennoch nicht ausgesprochen werden, da die Mehrzahl der Haferprodukte mit Weizen oder Gerste kontaminiert ist und außerdem nicht alle Betroffenen unempfindlich auf die Aveninfraktion reagieren [Ellis und Ciclitira, 2008].

Zöliakie ist unheilbar. Symptomfreiheit wird nur durch dauerhafte Elimination der Glutenproteine aus der Nahrung erreicht. Unbehandelte Zöliakie führt zu Schädigung der Dünndarmmukosa und Malabsorption und kann längerfristig zum Auftreten weiterer Autoimmunerkrankungen, wie Typ-1-Diabetes, zu Malignomen und einem erhöhten Sterberisiko führen [Ebock, 2011].

2.6. Lipide und Mikronährstoffe in Getreide

2.6.1. Bedeutung der Getreidelipide

Lipide sind in den Getreidearten minore Bestandteile. Höhere Gehalte an Speicherlipiden finden sich nur im Keimling, der speziell bei Weizen und Mais auch zu Speiseöl verarbeitet wird. Vergleichsweise höhere Fettgehalte (siehe Tabelle 2.11) findet man in Hafer vor, da dieser einen lipidreicheren Mehlkörper aufweist, als andere Getreidearten [Belitz et al., 2008].

Lipide in Getreide werden eingeteilt in Nicht-Stärke-Lipide (vorwiegend unpolare Triacylglyceride) und Stärke-Lipide (Lysophosphatide), wobei die Nicht-Stärke-Lipide etwa 75% ausmachen [Belitz et al., 2008].

Das Fettsäuremuster in allen Getreidearten besteht vorwiegend aus Linolsäure (C18:2, n-6), gefolgt von Ölsäure (C18:1 n-3) und der gesättigten Palmitinsäure (C16:0). Stearinsäure (C18:0) und α -Linolensäure (C18:3, n-9) kommen in Spuren vor (siehe Tabelle 2.11). Aufgrund der Gehalte an essentiellen Fettsäuren gelten Getreidelipide als ernährungsphysiologisch wertvoll [Welch, 2011].

Lipide im Hafer haben einen signifikanten Einfluss auf den Geschmack und das Aroma. Der charakteristische Geschmack nach Hafer entsteht erst als Folge von Lipidperoxidation durch Hitzebehandlung. Frisch geernteter Hafer hat dagegen nur ein sehr schwaches Aroma. Andererseits führt eine hohe Lipaseaktivität in beschädigten oder zu Flocken verarbeiteten Körnern zum Ranzigkeit und der Entstehung eines bitteren Off-Flavors. Deswegen ist es notwendig, die Lipasen durch Dämpfen der Flocken zu inaktivieren [Zhou et al., 1999].

Lipide in Getreide haben auch diverse funktionelle Eigenschaften. In erster Linie zu nennen ist ihr Einfluss auf die Backqualität. Rheologische Eigenschaften des Teiges werden maßgeblich von Nicht-Stärke-Lipiden mitbestimmt, die in der Kleberstruktur fest eingeschlossen sind. Das Gashaltevermögen wird durch polare Lipide positiv beeinflusst, da diese die Gasbläschen stabilisieren und die Poren des Teiges verschließen [Belitz et al., 2008].

Tabelle 2.11: Fettgehalt und Fettsäurezusammensetzung, Gehalt an Mineralstoffen und Spurenelementen und Gehalt an Vitaminen in einigen Getreidearten [Daten aus: Souci et al., 2000]

Fettgehalt und Fettsäurezusammensetzung							
	Weizen	Hafer	Gerste	Roggen	Mais	Reis (braun)	Hirse (Millet)
Gesamtfett (g/100g)	1,83	7,09	2,10	1,70	3,80	2,20	3,90
C16:0 (mg/100g)	283	1280	450	290	470	540	760
C18:0 (mg/100g)	13	110	40	20	90	40	190
C18:1 (mg/100g)	176	2460	230	410	1100	440	930
C18:2 (mg/100g)	762	2760	1150	750	1630	780	1770
C18:3 (mg/100g)	51	120	110	65	40	30	130

Gehalt an Mineralstoffen und Spurenelementen (Asche)							
	Weizen	Hafer	Gerste	Roggen	Mais	Reis (braun)	Hirse (Millet)
Aschegehalt (g/100g)	1,67	2,85	2,25	1,90	1,30	1,20	1,60
Phosphor (mg/100g)	341	342	342	337	213	114	275
Kalium (mg/100g)	381	355	444	510	294	238	173
Magnesium (mg/100g)	97	129	114	91	91	119	123
Calcium (mg/100g)	33	80	38	37	8,3	16	9,5
Mangan (mg/100g)	3,1	3,1	1,5	2,9	0,415	2,1	1,1
Eisen (mg/100g)	3,2	5,8	2,8	2,8	1,5	3,2	6,9
Zink (mg/100g)	2,6	3,2	2,8	2,9	1,7	1,6	2,9
Kupfer (µg/100g)	369	422	419	392	240	288	610

Gehalt an Vitaminen							
	Weizen	Hafer	Gerste	Roggen	Mais	Reis (braun)	Hirse (Millet)
Retinoläqu. (µg/100g)	3,3	–	0,167	–	185	–	–
Vit. E-Aktivität (mg/100g)	1,4	0,841	0,674	2,0	2,0	0,74	0,41
Vitamin B₁ (µg/100g)	462	674	430	358	360	410	433
Vitamin B₂ (µg/100g)	94	170	180	170	200	91	109
Nicotinamid (mg/100g)	5,1	2,4	4,8	1,8	1,5	5,2	1,8
Panthothensr. (mg/100g)	1,2	0,71	0,68	1,5	0,65	1,7	–
Vitamin B₆ (µg/100g)	269	960	560	233	400	275	519
Biotin (µg/100g)	6,0	13	–	5,0	6,0	12	–
Folsäure (µg/100g)	87	33	65	143	26	16	–

2.6.2. Mineralstoffe und Spurenelemente (Asche)

Mineralstoffe vertreten etwa 1,5-2% der Getreidetrockenmasse. Die am häufigsten vorhandenen Mineralstoffe sind Phosphor, Kalium und Magnesium und in niedrigeren Mengen Calcium, Natrium und Eisen. Zu den in Cerealien enthaltenen Spurenelementen zählen Zink, Mangan und Kupfer [Fujino et al., 1996; Welch, 2011]. Die durchschnittlichen Mineralstoffgehalte einiger Getreidearten sind in Tabelle 2.11 angeführt.

Da Mineralstoffe in den äußeren Schichten (Perikarp, Aleuronschicht) vorkommen, kaum aber im Endosperm, hängt der Mineralstoffgehalt von Mehl vom Ausmahlungsgrad ab. Der Aschegehalt dient daher als Kennzahl für den Ausmahlungsgrad eines Mehles. Weizenmehltypen werden anhand der Formel [Mehltype = Aschegehalt (% i. Tr.) × 1000] bestimmt [Seibel, 2005].

2.6.3. Vitamine

Vitamine werden eingeteilt in fettlösliche und wasserlösliche Vitamine. Fettlösliche Vitamine kommen in Getreide als minore Bestandteile der Fettfraktion vor, vornehmlich enthalten sind Carotinoide (Provitamin A) und Tocopherole (Vitamin E). Tocopherole wirken als fettlösliches Antioxidans, vor allem im Embryo. Carotinoide werden eingeteilt in Carotine (α -, β -, γ - und δ -Carotin) und Xanthophylle. Speziell zu nennen sind Lutein und Zeaxanthin, die dem Mais seine gelbe Färbung geben [Fujino et al., 1996].

Getreide enthält signifikante Mengen aller wasserlöslichen Vitamine, außer Vitamin C und Vitamin B₁₂ [Welch, 2011]. Da diese aber hauptsächlich in den äußeren Partien des Kornes enthalten sind, gehen sie bei der Vermahlung und Verarbeitung teilweise verloren. Während Reiskleie reich an den Vitaminen B₁, B₂ und Niacin ist, sind diese beispielsweise in weißem, gekochtem Reis kaum noch vorhanden [Fujino et al., 1996]. Vitamingehalte einiger Getreidearten sind in Tabelle 2.11 zusammengefasst.

2.7. Bestimmung der Getreidequalität

2.7.1. Qualitätsbeurteilung

Der Begriff „Qualität“ ist ein wertfreier Sammelbegriff für die Eigenschaften von Korngut und umfasst äußere und innere Kornguteigenschaften [Aufhammer, 2003].

Zentraler qualitativer Aspekt ist die Korngesundheit. Einerseits wird Getreide weiterverarbeitet zu Lebens- und Futtermittel, andererseits wird es zu Saatgut aufbereitet und stellt damit die Grundlage zur Rohstoffproduktion dar. Giftstoffe aus Stoffwechselprodukten von Schaderregern, die sich im Korngut ausbreiten,

Besatz mit Unkrautsamen und abiotische Substanzen in Form von Schwermetallen oder Rückständen synthetischer Pflanzenschutzmittel beeinträchtigen die Gesundheit des Rohstoffes und in weiterer Folge auch die Gesundheit von Mensch und Tier [Aufhammer, 2003].

Der Qualitätsbegriff ist weiter determiniert durch den speziellen Nutzungszweck. Je nach Nutzungsrichtung spielen viele verschiedene Kriterien eine Rolle und bestimmen verschiedene quantitative Aspekte (Zusammensetzung, Proteingehalt, Stärkebeschaffenheit) die Qualität. So werden etwa von Weizen für die Toastbrotherstellung höhere Proteingehalte gefordert, als für die Herstellung von Keksen. Mälzereien verlangen Braugerste mit einer Keimfähigkeit von 95%, einem Proteingehalt in der Trockenmasse von maximal 11,5% und einem Vollgerstenanteil von 90% [Seibel, 2005].

Weitere Einflussfaktoren auf die Qualität sind die Anbaubedingungen und verschiedene äußere Bedingungen, die auf die Getreidepflanze einwirken [Aufhammer, 2003].

2.7.2. Wertbestimmende Parameter in Geteide

Zu den instrumentell analysierbaren Kornguteigenschaften zählen Analysen zum Kornaufbau (Schalen- und Spelzgehalte), biologische Prüfkriterien (Keimfähigkeit und Enzymaktivitäten), Analysen von wertgebenden Inhaltsstoffen, Untersuchungen von Schadstoffgehalten (Rückständen) und Schaderregerbefall und diverse technologische Kriterien (z.B. Korngewicht, Korngröße, Backfähigkeit). Alle diese Parameter werden durch verschiedene chemische oder physikalische Verfahren ermittelt [Aufhammer, 2003].

Die vorliegende Diplomarbeit konzentriert sich auf die Analyse einiger wertgebender Inhaltsstoffe in Getreide, insbesondere jener mit ernährungsphysiologischem Potential. In Tabelle 2.12 werden einige dieser Qualitätsparameter (es kann nur eine Auswahl getroffen werden) aufgelistet und ihre Bedeutung beschrieben.

Die Gewichtsanteile verschiedener Kornkompartimente innerhalb ein- und derselben Getreideart können sehr stark variieren. Zum einen beeinflussen die

Sorte und ihre Genetik das Potential einer Getreideart. Zum anderen spielen aber auch Umweltbedingungen eine erhebliche Rolle [Aufhammer, 2003].

Tabelle 2.12: Beispiele für wertgebende Kornguteigenschaften von Getreide und ihre Aussagen [Aufhammer, 2003; modifiziert]

Kornguteigenschaften	Aussagen
Wassergehalt (Trockenmasse)	Lagerungsfähigkeit, Verderbnisgefahr, verarbeitbarer Anteil an Inhaltsstoffen
Rohproteingehalt	Ernährungsphysiologische Qualität, Verarbeitungs- und Verwertungseignung
Stärkegehalt	Ernährungsphysiologische und technische Qualität, Hinweis auf Mehl-, Extrakt- und vergärbare Substratausbeute
Gesamtfettgehalt	Ernährungsphysiologische Qualität
Aschegehalt	Ernährungsphysiologische Qualität, technologische Qualität
Gesamtballaststoffgehalt	Gehalt an löslichen und unlöslichen Ballaststoffen, ernährungsphysiologische Qualität
Rohfaserwert	Orientierung zum Gehalt an unverdaulichen Rückständen (Cellulose, Gerüstsubstanz), ernährungsphysiologische Qualität, Futterqualität

2.7.3. Einfluss von Umweltfaktoren auf die Getreideinhaltsstoffe

Umweltfaktoren, die die Getreidequalität beeinflussen können, sind in erster Linie das Klima, aber auch Bodenverhältnisse, Düngung und Pflanzenschutz [Seibel, 2005].

Eine Reihe von Studien hat die Effekte von Umweltfaktoren auf die qualitätsbestimmenden Getreideinhaltsstoffe untersucht. Eine Feldstudie zur Untersuchung von klimatischen Auswirkungen auf den β -Glucan-Gehalt in Hafer wurde z.B. von Andersson und Börjesdotter (2011) durchgeführt. Dabei wurden mehrere Jahre lang vier verschiedene Hafervarietäten, angebaut auf 11 verschiedenen Standorten, untersucht. Signifikante Unterschiede im β -Glucan-Gehalt und Molekulargewicht konnten nicht nur zwischen Varietäten, sondern auch zwischen den Standorten festgestellt werden.

Auch Lipidgehalte und Fettsäurezusammensetzung in Hafer werden durch das Klima beeinflusst. Unabhängig von der Varietät steigen der Fettgehalt und die Konzentration an Öl- und Linolsäure bei niedrigeren Temperaturen signifikant

an. Dies wird erklärt durch eine Stimulation der Fettsäuresynthese bei kälteren Wachstumsbedingungen [Saastamoinen et al., 1989].

Einen bedeutenden Einfluss auf Zusammensetzung und Inhaltsstoffe von Getreidepflanzen hat die Düngung, insbesondere die beiden Nährstoffe Stickstoff und Schwefel. Diverse Wild- und Zuchthaferespecies zeigten geringere Fettgehalte und dafür höhere Gehalte an Trockensubstanz und Protein in Zusammenhang mit der Gabe von Stickstoffdünger [Welch und Leggett, 1997]. Eine Steigerung der Proteinkonzentrationen durch Stickstoffdüngung wurde auch in anderen Studien berichtet [Ohm, 1976; Welch und Yong, 1980].

Die Proteinqualität wird nicht allein vom Stickstoffgehalt, sondern vielmehr vom Verhältnis Stickstoff:Schwefel (N:S) beeinflusst. Bessere Versorgung mit Stickstoff erhöht zwar den Rohproteingehalt, verschlechtert aber insgesamt Aminosäuremuster und Proteinqualität. Weizen, der durch exzessive Stickstoffdüngung sehr hohe Rohproteingehalte erlangt hat, kann aufgrund des veränderten N:S-Verhältnisses dennoch schlechtere Backeigenschaften aufweisen. Schwefelmangel führt zur verminderten Synthese schwefelhaltiger Aminosäuren, die für die Ausbildung von Disulfidbrücken in den Proteinen und damit die Vernetzung des Klebereiweißes notwendig sind. Das Weizenprotein weist dann im Verhältnis höhere Gehalte an den schwefelarmen ω -Gliadinen auf [Timms et al., 1981; Kettlewell, 1996; Zhao et al., 1999].

Ein weiterer determinierender Faktor für den Proteingehalt kann die Wasserverfügbarkeit sein. Wassermangel führt zu schwächerem Ertrag, aber höheren Proteingehalten. Umgekehrt führt Wasserüberschuss durch schwere Regenfälle zu Auswaschung des Nitrats im Boden und somit zu Stickstoffunterversorgung und damit geringerem Proteingehalt [Kettlewell, 1996].

2.8. Methoden zur Charakterisierung von Getreideproteinen

2.8.1. Elektrophorese

Eine relativ einfache, rasche und kostengünstige Möglichkeit zur Auftrennung und Differenzierung komplexer Proteingemische erlauben elektrophoretische

Methoden. Da jede Getreidesorte Unterschiede in ihrem Genom aufweist, kann man auch in den daraus exprimierten Proteinen Unterschiede feststellen. Die am häufigsten für eine elektrophoretische Auftrennung eingesetzten Getreideproteine sind die Speicherproteine, da sie in nahezu allen Arten spezifische Polymorphismen in Größe, Ladung oder in beiden Parametern aufweisen, die sich gut zu einer Differenzierung eignen [Lookhart und Bean, 2000].

Die Elektrophorese ist eine Technik, bei der Proteine beeinflusst von einem elektrischen Feld nach ihrer Wanderungsgeschwindigkeit durch eine Polymermatrix aufgetrennt werden. Eine gängige elektrophoretische Methode ist die PAGE, die als Gelmatrix ein Polymer aus Acrylamid und einem Quervernetzer verwendet [Lookhart und Bean, 2000].

Für die klassische elektrophoretische Auftrennung von Getreideproteinen sind in der Literatur drei hauptsächlich verwendete Methoden beschrieben:

- 1.) SDS-PAGE
- 2.) Saure oder acid PAGE (A-PAGE)
- 3.) Isoelektrische Fokussierung (IEF).

Die SDS-PAGE trennt Proteine nur nach Molekülmasse auf, da diese durch das Detergens SDS einheitlich negative Ladung aufweisen. Bei der A-PAGE erfolgt die Auftrennung basierend auf der Ladungsdichte der Proteinmoleküle unter saurem pH-Wert. Während die SDS-PAGE als Routinemaßnahme für die Auftrennung aller Arten von Getreideproteinen verwendet wird, wird die A-PAGE hauptsächlich zum „Fingerprinting“ von verschiedenen Varietäten eingesetzt [Lookhart und Bean, 2000; Bean und Lookhart, 2000].

Die dritte Methode, die IEF, wird verwendet um Proteine nach ihrem isoelektrischen Punkt zu differenzieren. Durch Setzen von pH-Gradienten wandern die Moleküle bis zu dem Punkt im Gel, wo sie keine Eigenladung mehr aufweisen. Diese Methode wird vor allem dann eingesetzt, wenn andere Methoden nicht leistungsfähig genug sind [Lookhart und Bean, 2000].

Zur besseren Auftrennung können elektrophoretische Methoden auch kombiniert werden, man spricht dann von zweidimensionaler (2D) Elektrophorese.

Traditionell verwendet wird die IEF kombiniert in der zweiten Dimension mit der SDS-PAGE. Proteine werden bei dieser Methode zuerst nach isoelektrischem Punkt und anschließend nach Größe aufgetrennt. Eine andere, neuere Technik ist die Kapillarelektrophorese, wo die Auftrennung nicht auf einem Gel, sondern über kleine Kapillaren aus Quarzglas (Innendurchmesser von 25-100 µm) erfolgt, die eine Verwendung höherer Voltzahlen und somit deutlich raschere Auftrennung ermöglichen. Für die Kapillarelektrophorese existieren wieder verschiedenste Methoden mit unterschiedlichen Trennleistungen. Zur höheren Trennleistung werden auch 2D-Methoden unter Einbeziehung der HPLC beschrieben [Bean und Lookhart, 2000; Lookhart und Bean, 2000].

2.8.2. SDS-PAGE

Die SDS-PAGE ist eine praktikable und direkte Methode um die Molekulargewichte denaturierter Polypeptidketten abzuschätzen. SDS ist ein amphiphiles Molekül, das sowohl mit unpolaren Seitenketten, als auch mit Aminosäureresten in Polypeptiden aller Größen und Formen Komplexe eingeht, ohne dabei die Polypeptidbindungen zu brechen. Pro Gramm Protein werden etwa 1,4 g SDS gebunden und damit die Eigenladung des Polypeptids so effektiv überdeckt, dass Mizellen mit konstantem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis entstehen. Die elektrophoretische Migration kann dadurch proportional zur Molekülmasse des Polypeptids erfolgen [Righetti et al., 2001].

Eine Einsatzmöglichkeit für die SDS-PAGE ist die Sortendifferenzierung einer Getreideart. Anhand der Unterschiede im Bandenmuster kann man z.B. bei Weizen die Backqualität abschätzen, da diese durch Polymorphismen der HMW-Untereinheiten determiniert wird.

Die HMW-Untereinheiten werden über die *Glu-A1*, *Glu-B1* bzw. *Glu-D1* Genloci codiert, die am langen Schenkel der Chromosomen A1, B1 und D1 angeordnet sind. Jeder Locus enthält jeweils zwei Gene, eines zur Codierung des hochmolekularen x-Typs und eines für den niedermolekularen y-Typ. Aufgrund von Silencing werden aber immer nur von jeweils drei bis fünf verschiedenen Genen entsprechende HMW-Untereinheiten exprimiert. Im Detail betrachtet sind dies immer zwei Untereinheiten vom *Glu-D1*-Locus, eine oder zwei vom

Glu-B1-Locus und eine oder keine (Null-Allel) vom *Glu-A1*-Locus. Wird von einem Locus nur eine Untereinheit exprimiert, dann immer eine vom x-Typ [Shewry et al., 2009].

Durch Durchnummerieren der mittels SDS-PAGE aufgetrennten Untereinheiten nach der Reihenfolge ihrer Mobilität, erhält man ein Muster, wie es in Abbildung 2.6 zu sehen. Die Anwesenheit einer Bande der Untereinheit 1 ist (verglichen mit dem Null-Allel) ein Indiz für gute Backqualität. Gleiches gilt für das Allelenpaar 5+10, verglichen mit 2+12 oder 3+12 [Shewry et al., 1999].

Payne et al. (1987) haben auf diese Weise 84 verschiedene Weizensorten nach ihren Backeigenschaften bewertet und ihnen sogenannte *Glu-1*-Qualitätsscores zugeteilt.

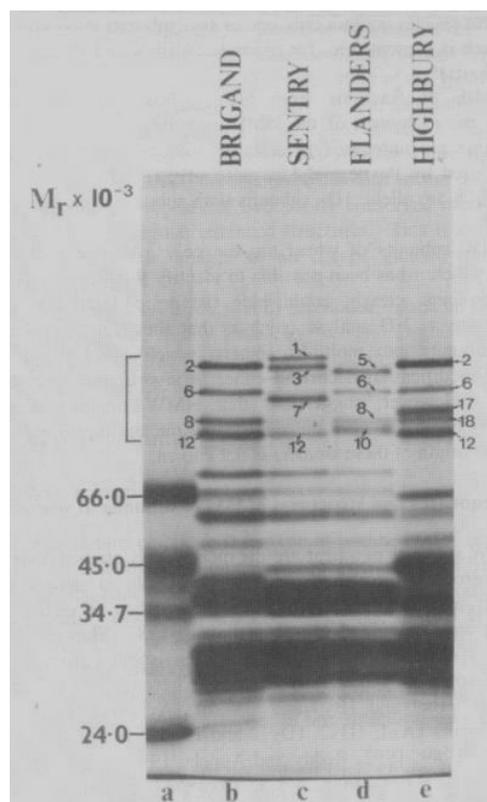


Abbildung 2.6: Polymorphismen der HMW-Untereinheiten in vier verschiedenen Weizensorten, aufgetrennt mittels SDS-PAGE. Die Banden sind systematisch in verschiedene Zahlenkategorien, in Abhängigkeit von ihrer Mobilität, eingeteilt [Abbildung übernommen aus: Shewry et al., 1999].

3. Material und Methoden

3.1. Probenmaterial

Zur Analyse werden 13 Haferproben verschiedener Sorten verwendet. Weiters werden Körner der Getreidearten Hafer, Weizen, Gerste, Roggen, Dinkel, Grünkern, Kamut, Reis, Mais, Hirse, der Pseudogetreidearten Amaranth, Quinoa, Buchweizen sowie sieben Mehlproben von Weizen, Dinkel, Roggen, Reis, Mais und Buchweizen, die aus dem Einzelhandel bezogen wurden, analysiert

Das Probenmaterial ist in Tabelle 3.1 bzw. Tabelle 3.2 aufgelistet.

3.2. Probenaufbereitung

Die Kornproben werden mit einer Labormühle (POLYMIX® PX-MFC 90 D, Kinematica AG) auf eine Korngröße von 0,5 mm vermahlen. Amaranth wird in einer haushaltsüblichen Mohnmühle vermahlen, da dieser aufgrund seiner Kornstruktur das Sieb der Labormühle verklebt.

Die Mahlprodukte werden in Kunststoffgefäßen mit Schraubdeckel bei 4°C gelagert.

Tabelle 3.1: Haferproben

Probe	Art	Herkunft	Anmerkung
1a	Hafer	?	ganzes Korn mit Spelzen
1b	Hafer	?	ganzes Korn mit Spelzen
2a	Hafer	?	ganzes Korn mit Spelzen
2b	Hafer	?	ganzes Korn mit Spelzen
3a	Hafer	?	ganzes Korn mit Spelzen
3b	Hafer	?	ganzes Korn mit Spelzen
4a	Hafer	?	ganzes Korn mit Spelzen
4b	Hafer	?	ganzes Korn mit Spelzen
5a	Hafer	?	ganzes Korn mit Spelzen
5b	Hafer	?	ganzes Korn mit Spelzen
6	Hafer	?	Nackthafer
7	Hafer	?	Nackthafer
8	Hafer	?	Nackthafer

Tabelle 3.2: Getreideproben und Getreidemehlproben

Probe	Art	Herkunft	Anmerkung
W	Weizen	TÜWI Hofladen	biologischer Anbau
G	Gerste	Denn's Biosupermarkt	biologischer Anbau
R	Roggen	Denn's Biosupermarkt	biologischer Anbau
D	Dinkel	Denn's Biosupermarkt	biologischer Anbau
Gr	Grünkern	DM-Drogerie	biologischer Anbau
K	Kamut	DM-Drogerie	biologischer Anbau
Re	Reis	Hofer	Vollkornreis
M	Mais	Denn's Biosupermarkt	biologischer Anbau
Hi	Hirse	DM-Drogerie	Bio-Goldhirse (Millet); geschält
H	Hafer	DM-Drogerie	biologischer Anbau; entspelzt
Q	Quinoa	DM-Drogerie	
B	Buchweizen	DM-Drogerie	
A	Amaranth	DM-Drogerie	
Wm	Weizenmehl	Denn's Biosupermarkt	Vollmehl
WmW	Weizenmehl weiß	Merkurmarkt	"Clever" Weißmehl Typ 480
Dm	Dinkelmehl	Hofer	Vollmehl
Rm	Roggenmehl	Spar natur pur	Vollmehl
Rem	Reismehl	Denn's Biosupermarkt	Vollmehl
Mm	Maismehl	Denn's Biosupermarkt	Vollmehl
Bm	Buchweizenmehl	Denn's Biosupermarkt	Vollmehl

3.3. Bestimmung der Trockenmasse

3.3.1. Prinzip

Unter Trockenmasse eines Lebensmittels versteht man die Summe aller nichtflüchtigen Bestandteile. Dies umfasst im Wesentlichen alle organischen und mineralischen Inhaltsstoffe. Die Trockenmasse wird gravimetrisch nach der Trockenschrankmethode bestimmt, indem die Probe bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und der verbliebene Rückstand ausgewogen wird [Matissek et al., 2010].

3.3.2. Verwendete Geräte und Materialien

- Aluminiumschale
- Glaspistill
- Tiegelzange
- Exsikkator mit Silicagel
- Trockenschrank, Thermo Scientific, Heraeus Oven Typ UT 12
- Analysenwaage, Sartorius, max. 220 g, d = 0,0001 g

3.3.3. Durchführung

Die Analyse wird in Doppelbestimmung durchgeführt.

Leere Aluminiumschalen mit Glaspistill mindestens eine Stunde im Trockenschrank bei 102°C bis zur Gewichtskonstanz vortrocknen, dann 30 min. im Exsikkator auf Raumtemperatur abkühlen lassen und das Tara­gewicht auf 0,1 mg genau ermitteln. 3 g Hafermehl auf 0,1 mg genau in die Schalen einwiegen und vorsichtig mithilfe des Glaspistills gleichmäßig verteilen.

Im Umlufttrockenschrank bei einer Temperatur von 102°C für vier Stunden trocknen, im Exsikkator auf Raumtemperatur abkühlen lassen und die Auswaage bestimmen.

3.3.4. Auswertung

Durch Einsetzen in folgende Formel erhält man die Trockenmasse in Prozent:

$$\text{Trockenmasse [\%]} = \frac{m_2 - m_1}{EW} \cdot 100$$

m_1	Masse der leeren Aluminiumschale mit Glaspistill in g
m_2	Gesamtmasse nach 4 Stunden Trocknungszeit in g
EW	Probeneinwaage in g

3.4. Bestimmung des Aschegehaltes

3.4.1. Prinzip

Unter Asche versteht man die Summe der anorganischen Bestandteile (insbesondere Mineralstoffe) eines Lebensmittels, die nach dem Verbrennen der organischen Substanz als Glührückstand zurückbleiben. Die Probe wird nach einer kurzen Vorveraschung bei 550°C im Muffelofen verascht. Der Glührückstand wird durch Differenzwägung ermittelt [Matissek et al., 2010].

Als alternative Methode ist für Getreidemehl eine Veraschung bei 900°C möglich. Bei der Schnellmethode verkürzt sich die Veraschungsdauer auf eine Stunde [DIN EN ISO 2171:2010].

3.4.2. Verwendete Geräte und Materialien

- Porzellantiegel
- Tiegelzange
- Exsikkator mit Silicagel
- Muffelofen, Heraeus Typ M 110
- Analysenwaage, Sartorius, max. 220 g, d = 0,0001 g
- Infrarotbrenner PowerCube IRB 2, Edmund Bühler GmbH
- Wasserstoffperoxid 30%

3.4.3. Durchführung

Die Analyse wird in Doppelbestimmung durchgeführt.

Veraschung bei 550°C

Leere Porzellantiegel werden mindestens eine Stunde im Muffelofen bei 550°C vorgeglüht und nach Abkühlung im Exsikkator (etwa 30 min.) wird das Taragewicht auf 0,1 mg genau bestimmt. Etwa 3 g Probe werden auf 0,1 mg genau eingewogen und mittels Infrarotbrenner einige Minuten vorverascht, bis alle Verschmelzungsprodukte abgebrannt sind. Die Porzellantiegel werden im Muffelofen bei 550°C für vier Stunden verascht.

Die Asche sollte weiß bis hellgrau gefärbt und gewichtskonstant sein. Sollte dies nicht der Fall sein, ist die Probe mit Wasserstoffperoxid zu behandeln und weiter zu veraschen.

Die Probe wird etwa 10 Minuten an der Luft und 20 Minuten im Exsikkator auf Raumtemperatur abgekühlt und ausgewogen.

Veraschung bei 900°C

Die leeren Porzellantiegel werden ca. 15 Minuten bei 900°C vorgeglüht. Die restliche Durchführung erfolgt wie bei 550°C. Die Veraschungsdauer bei 900°C verkürzt sich in der Regel auf eine Stunde. Die Asche sollte weiß sein und eine glasige Struktur haben.

3.4.4. Auswertung

Durch Einsetzen in folgende Formel erhält man den Aschegehalt in Prozent bezogen auf die Trockenmasse:

$$\text{Aschegehalt [\% i. Tr.]} = \frac{m_2 - m_1}{EW} \cdot 100 \cdot \frac{100}{TM}$$

m_1	Masse des leeren Porzellantiegels in g
m_2	Gesamtmasse nach der Veraschung in g
EW	Probeneinwaage in g
TM	relative Trockenmasse in %

3.5. Bestimmung des Gesamtfettgehaltes

3.5.1. Prinzip

Die Bestimmung des Gesamtfettgehaltes erfolgt nach der Methode von Weibull-Stoldt. Der Fettanteil in Lebensmittel kann durch Direktextraktion nur unzureichend erfasst werden, da Lipide in chemisch oder adsorptiv gebundener Form vorliegen. Aus diesem Grund wird vor der Fettextraktion ein Säureaufschluss durchgeführt und die aufgeschlossene Probe anschließend filtriert und mit heißem Wasser neutral gewaschen. Nach Trocknung des Filterrückstandes wird dieser in der Soxhletapparatur mit einem Lösungsmittel extrahiert und der getrocknete Extraktionsrückstand ausgewogen [Matissek et al., 2010].

3.5.2. Verwendete Geräte und Hilfsmittel

Hydrolyse

- Hydrolysefritten, Büchi
- Aufschlusskolben, Büchi
- Überlaufrohr
- Metallklammern
- Analysenwaage, AND Electronic Balance FX 300, max. 310 g, d = 0,001 g
- Heizblock, Büchi 425 Digestor
- Hydrolyseeinheit, Büchi 428
- Trockenschrank, Thermo Scientific, Haereus
- Exsikkator mit Silicagel
- Wasserbad 60°C, Memmert

Extraktion

- Extraktionsapparatur Soxhlet, Büchi 810
- Extraktionsbecher, Büchi
- Siedesteinchen
- Trockenschrank, Thermo Scientific, Haereus
- Exsikkator mit Silicagel
- Analysenwaage, Sartorius, max. 220 g, d = 0,0001 g

3.5.3. Verwendete Chemikalien

- Salzsäure Rotipuran 32% p.a., Roth
- Seesand, Roth
- Celite, Roth
- H₂O dest.
- Watte fettfrei
- Petroleumbenzin 40-60°C, VWR

3.5.4. Herstellen der Lösungen

Salzsäure ca. 4 M: 600 ml H₂O dest. in einer 1000-ml-Mensur vorlegen und mit 400 ml Salzsäure 32% auffüllen.

3.5.5. Durchführung

Alle Proben werden im Doppelansatz analysiert.

Hydrolyse

Die Hydrolysefritten werden schichtweise mit 10 g Seesand und 5 g Celite befüllt. In die Aufschlusskolben werden 5 g Celite und etwa 5 g Probe eingewogen und in 100 ml 4 M Salzsäure gelöst. Die Aufschlusskolben werden in die Digestoreinheit und die Hydrolysefritten in die Hydrolyseapparatur eingesetzt. Beides wird mittels Verbindungsrohren miteinander verbunden. Die

Proben werden zuerst auf voller Heizstufe zum Sieden gebracht und anschließend 15 min. bei mittlerer Heizleistung aufgeschlossen. Danach wird die Lösung aus den Aufschlusskolben über die Verbindungsrohre durch die Hydrolysefritten abgesaugt und mit jeweils 250 ml auf 50-60°C erhitztem H₂O dest. portionsweise nachgewaschen. Die Hydrolysefritten werden abschließend im Trockenschrank bei 80°C über Nacht getrocknet.

Extraktion

Die Extraktionsbecher werden mit einigen Siedesteinchen etwa 30 Minuten im Trockenschrank bei 105°C zur Gewichtskonstanz vorgetrocknet und im Exsikkator auf Raumtemperatur abgekühlt. Dann wird das Tara-gewicht bestimmt. Die Extraktionsbecher werden daraufhin mit etwa 170 ml Petroleumbenzin (= randvoll) befüllt und in die Heizeinheit der Soxhlet-Apparatur gestellt.

Die getrockneten Hydrolysefritten werden an der oberen Öffnung mit Watte verschlossen und in die Extraktionseinheit eingesetzt. Die Proben werden drei Stunden extrahiert, danach wird das Petroleumbenzin direkt in der Soxhlet-Apparatur abgedampft und die Extraktionsbecher bei 105°C im Trockenschrank etwa 30 min. bis zur Gewichtskonstanz nachgetrocknet.

Die Extraktionsbecher werden im Exsikkator auf Raumtemperatur abgekühlt und ausgewogen.

3.5.6. Auswertung

Der Fettgehalt in Bezug auf die Trockenmasse wird durch Einsetzen in folgende Formel erhalten:

$$\text{Fettgehalt [\% i. Tr.]} = \frac{m_2 - m_1}{\text{EW}} \cdot 100 \cdot \frac{100}{\text{TM}}$$

m_1	Masse des leeren Extraktionsbechers mit Siedesteinchen in g
m_2	Gesamtauswaage in g
EW	Probeneinwaage in g
TM	relative Trockenmasse in %

3.6. Enzymatische Bestimmung von β -Glucan in Hafer

3.6.1. Prinzip

β -Glucan wird in einem Gemisch aus 50%igem Ethanol und Puffer bei 100°C extrahiert und anschließend mit dem Enzym Lichenase inkubiert. Lichenase spaltet spezifisch die β -(1 \rightarrow 3)- und β -(1 \rightarrow 4)-glykosidischen Bindungen. Unlösliche Bestandteile werden durch Filtration oder Zentrifugation entfernt, die wasserlöslichen Oligosaccharidbruchstücke werden mit β -Glucosidase weiter zu D-Glucose hydrolysiert [Megazym, 2011].

Die Reaktionsverläufe sind in Abbildung 3.1 dargestellt.

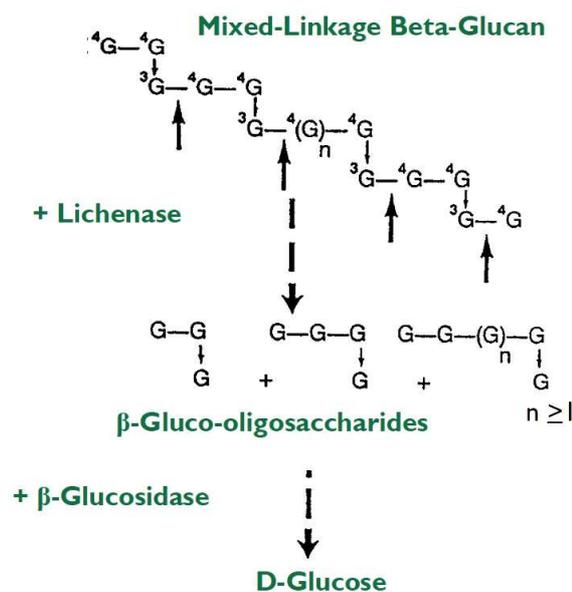


Abbildung 3.1: Reaktionsschema der enzymatischen β -Glucan-Bestimmung [Megazyme, 2011]

Die Konzentration der D-Glucose wird indirekt über zwei verschiedene Redoxreaktionen ermittelt. In der ersten Reaktion wird D-Glucose mit dem Enzym Glucoseoxidase oxidiert, unter Bildung von Wasserstoffperoxid. In einer zweiten Redoxreaktion setzt Peroxidase unter Anwesenheit eines Chromogens das Wasserstoffperoxid zu Wasser um und oxidiert das Chromogen zu einem stabilen Farbstoff, dessen Extinktion photometrisch bestimmt wird.

3.6.2. *Verwendete Geräte und Materialien*

- Analysenwaage, Sartorius, max. 220 g, d = 0,0001 g
- Wasserbad 100°C
- Kolbenhubpipetten
- Zentrifugenröhrchen aus Glas, Pyrex
- Zentrifuge, Haereus Multifuge X3 FX
- Polystyrol Mehrzweckbehälter, 7ml Bijou, Sterilin
- Inkubator mit Schütteleinheit, Heidolph Incubator 1000 / Unimax 1010
- Spectrophotometer U 2000, Hitachi
- Kunststoff-Einmalküvetten, Sastedt Acryl 10 x 4 x 45 mm
- Stoppuhr
- Messkolben
- pH-Meter, Microprocessor pH 211, Hanna Instruments

3.6.3. *Verwendete Chemikalien und Reagenzien*

- „Bottle 1“: Lichenase (*endo*-1,3(4)- β -Glucanase) von *Bacillus subtilis*, 1 ml Suspension, Megazyme, EC-Nummer: 3.2.1.73
- „Bottle 2“: β -Glucosidase von *Aspergillus niger*, 1 ml Suspension, Megazyme, EC-Nummer: 3.2.1.21
- „Bottle 3“: GOPOD Reagent Buffer (48 ml, pH 7,4) mit p-Hydroxybenzoesäure und Natriumazid (0,4 % w/v), Megazyme
- „Bottle 4“: GOPOD Reagent Enzymes, Glucoseoxidase/Peroxidase und 4-Aminoantipyrin, gefriergetrocknetes Pulver, Megazyme
- „Bottle 5“: D-Glucose Standard Solution (5 ml, 1,0 mg/ml) mit 0,2 % (w/v) Benzoesäure, Megazyme
- „Bottle 7“: Standardized Oat Flour Control, β -Glucan-Gehalt 8,0%, Feuchtegehalt 5,2%, Megazyme

- Dinatriumhydrogenorthosphat Dihydrat AnalaR NORMAPUR, VWR
- Essigsäure 100% p.a., VWR
- Ethanol absolut p.a., MERCK
- Natriumazid $\geq 99\%$ reinst, MERCK
- UHQ-Wasser

3.6.4. Herstellen der Lösungen

- Natriumphosphatpuffer (20 mM, pH 6,5): 3,12 g Dinatriumhydrogenorthosphat-Dihydrat in 900 ml UHQ-Wasser lösen und den pH-Wert durch Hinzufügen von ungefähr 50 ml 100 mM Natronlauge auf 6,5 einstellen. Volumen auf 1 l auffüllen und 0,2 g Natriumazid hinzugeben.
- Natriumacetatpuffer (50 mM, pH 4,0): 2,9 ml konzentrierte Essigsäure in 900 ml UHQ-Wasser lösen. Den pH-Wert durch Hinzufügen von 1 M Natronlauge auf 4,0 einstellen. Volumen auf 1 l auffüllen und 0,2 g Natriumazid hinzugeben.
- Natriumacetatpuffer (200 mM, pH 4,0): 11,6 ml konzentrierte Essigsäure in 900 ml UHQ-Wasser lösen. Den pH-Wert durch Hinzufügen von 1 M Natronlauge auf 4,0 einstellen. Volumen auf 1 l auffüllen und 0,2 g Natriumazid hinzugeben.
- Ethanol, 50% wässrige Lösung: Ethanol absolut 1:1 mit UHQ-Wasser verdünnen.
- Lichenase: Die Suspension aus „Bottle 1“ in 20 ml Natriumphosphatpuffer (20 mM, pH 6,5) auflösen, aliquotieren und bei -20°C lagern.
- β -Glucosidase: Die Suspension aus „Bottle 2“ in 20 ml Natriumacetatpuffer (50 mM, pH 4,0) auflösen, aliquotieren und bei -20°C lagern.
- GOPOD-Reagens: Den Inhalt aus „Bottle 3“ mit UHQ-Wasser auf 1 l verdünnen. Der Inhalt aus „Bottle 4“ wird in 20 ml der hergestellten Verdünnung aufgelöst und quantitativ in „Bottle 3“ übergeführt. Entweder lichtgeschützt im Kühlschrank bei $+4^{\circ}\text{C}$ lagern oder in entsprechenden

Aliquoten bei -20°C . Aliquote sollten nur einmal eingefroren bzw. aufgetaut werden.

- Standards: gebrauchsfertig

3.6.5. Durchführung

Die Durchführung erfolgt nach dem Protokoll von McCleary und Codd und wurde aus der dem Megazym-Testkit beiliegenden Arbeitsanleitung entnommen [Megazym, 2011; McCleary und Codd, 1991].

Vorbereitung und Extraktion

80-120 mg Probe in ein Pyrex-Zentrifugenröhrchen einwiegen und die Probe mit 200 μl Ethanol 50% benetzen. Dann 4 ml Natriumphosphatpuffer (20 mM, pH 6,5) hinzufügen und gut vortexen.

60 Sekunden im 100°C Wasserbad inkubieren und kräftig vortexen.

Weitere 2 min. im 100°C Wasserbad inkubieren und noch einmal kräftig vortexen. Die Probe muss homogen und frei von Klumpen sein.

Die Probe 5 Minuten bei 50°C inkubieren, dann 5 Minuten ruhen und abkühlen lassen.

Lichenase-Reaktion

200 μl Lichenase hinzufügen und eine Stunde unter ständigem Schütteln bei 50°C inkubieren.

5 ml Natrium-Acetat-Puffer (200 mM, pH 4,0) hinzufügen und vortexen.

Röhrchen auf Raumtemperatur abkühlen lassen und bei 1000 g, 10 min., 20°C zentrifugieren.

β-Glucosidase-Reaktion

Für die β-Glucosidasereaktion werden Aliquote zu 100 µl in 7-ml Polystyrol Mehrzweckbehältern hergestellt. Die Probenaufbereitung erfolgt nach dem in Tabelle 3.3 dargestellten Schema.

Tabelle 3.3: Pipettierschema für die β-Glucosidase-Reaktion

	Proben- überstand	β-Glucosidase	Natrium- acetatpuffer (50 mM, pH 4,0)	D-Glucose standard solution	UHQ- Wasser
Probe	100 µl	100 µl	-	-	-
Blindwert	100 µl	-	100 µl	-	-
Glucosestandard	-	-	100 µl	100 µl	-
H₂O blank	-	-	100 µl	-	100 µl

Die Proben sollten mindestens in Doppelbestimmung analysiert werden. Weiters sind mindestens ein Glucosestandard und entsprechende Blindwerte vorzusehen.

Alle Röhrchen werden 10 Minuten bei 50°C unter ständigem Schütteln inkubiert.

Glucoseoxidase/Peroxidase-Reaktion

Zu allen Proben, Standards und Blindwerten werden 3 ml GOPOD-Reagens hinzugefügt und 20 Minuten bei 50°C unter ständigem Schütteln inkubiert.

Direkt danach (oder spätestens nach einer Stunde) wird eine photometrische Messung der Proben gegen die Blindwerte bei 510 nm durchgeführt.

3.6.6. Auswertung

Der β-Glucangehalt (bezogen auf 100 g Trockenmasse) wird durch folgende Formel berechnet:

$$\beta - \text{Glucan (\% i. Tr)} = \Delta A \cdot \frac{F}{W} \cdot 8,46$$

ΔA = gemessene Extinktion minus Blindwert

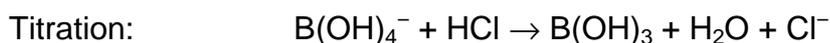
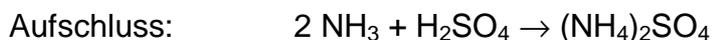
F = 100 / (ΔA Glucosestandard)

W = errechneter Trockenmassegehalt in mg (Probeneinwaage in mg · relative Trockenmasse in %)

3.7. Bestimmung des Rohproteingehaltes nach Kjeldahl

3.7.1. Prinzip

Organisch gebundener Stickstoff wird durch Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure unter Anwesenheit eines Katalysators aufgeschlossen und in Ammoniumsulfat übergeführt. Durch Zugabe eines Überschusses an Natronlauge wird Ammoniak freigesetzt, der durch Destillation in einer Borsäurevorlage aufgefangen und durch Titration bestimmt wird [DIN EN ISO 20483:2007]



3.7.2. Verwendete Geräte und Hilfsmittel

Aufschluss

- Heizblock Heating Digester DK 20 S, VELP Scientifica
- Gaswäscher, SMS Scrubber, VELP Scientifica
- Pumpe JP Recirculating Water Aspitator, VELP Scientifica
- Glasperlen Kalk-Natron-Glas, 10 mm, Roth
- Aufschlusskolben, VELP Scientifica
- Analysenwaage, AND Electronic Balance FX 300, max. 310 g, d = 0,001 g

Destillation

- automatische Destillationseinheit UDK 142, VELP Scientifica
- Tiegelszange
- Auffanggefäß, VELP Scientifica

Titration

- Titrator TitroLine easy, VELP Scientifica
- pH-Glaselektrode, SCHOTT Instruments
- elektrischer Rührer, SCHOTT Instruments

3.7.3. Verwendete Chemikalien

- Kaliumsulfat $\geq 99\%$, Roth
- Kupfer-(II)-sulfat, wasserfrei p.a., Merck
- Schwefelsäure 98% Rotipuran für N-Bestimmung, Roth
- Natriumhydroxid $\geq 99\%$ fest, Roth
- Borsäure $\geq 99,8\%$ p.a. ACS, ISO, Roth
- Salzsäure 4 N Lösung, Maßlösung, Roth
- Kaliumcarbonat $\geq 98\%$, Roth
- Bromthymolblau, Indikator pH 6,0-7,6, p.a. ACS, Roth

3.7.4. Herstellen der Lösungen

- Katalysatorgemisch: 1000 g Kaliumsulfat und 4 g Kupfersulfat zusammenfügen und durchmischen.
- Natronlauge 35%: 700 g Natriumhydroxid in 2000 ml H₂O dest. lösen.
- Borsäure 2%: 20 g Borsäure in Messkolben einwiegen und auf 1000 ml mit H₂O dest. auffüllen, rühren bis zur kompletten Lösung der Borsäure.
- Salzsäure 0,1 mol/l: etwa 500 ml H₂O dest. in 1000-ml-Messkolben vorlegen, 25 ml 4 N Salzsäure dazupipettieren, bis zur Marke mit H₂O dest. auffüllen und mischen.
- Scrubberlösung (Kaliumcarbonat-Lösung 20%): 400 g Kaliumcarbonat in 2000 ml H₂O dest. lösen und einige Körnchen Indikator Bromthymolblau hinzufügen.

3.7.5. Durchführung

Aufschluss

Die leeren Aufschlusskolben mit 7,5 g Katalysatormischung (= ein Messlöffel) und zwei Glasperlen (gegen Siedeverzug) befüllen. Etwa 0,6 - 0,8 g Getreideprobe einwiegen, dann jeweils 15 ml konzentrierte Schwefelsäure hinzufügen und Kolben leicht schwenken.

Proben in den Heizblock stellen und Absaugglocke des Gaswäschers aufsetzen. Der Aufschluss erfolgt automatisiert nach folgendem Temperaturprogramm: 15 min. bei 150°C, 90 min. bei 380°C und 90 min. bei 420°C.

Die Proben nach Beendigung des Aufchlusses aus dem Heizblock entfernen und abkühlen lassen.

Destillation

Kolben in die Destillationsapparatur einsetzen und Programm starten. Die Destillation läuft automatisiert unter folgenden Parametern ab:

- Verdünnungswasser: 50 ml
- Borsäure: 20 ml
- Natronlauge: 50 ml
- Pause: 0 min.
- Dampfreichweite: 60%
- Zeit der Destillation: 3 min.
- Destillationsrückstand absaugen: ja
- Titrationsbeginn: 100% Zeit der Destillation
- Titrationsrückstand absaugen: ja
- Waschen: ja

Titration

Der bei der Destillation in die 20 ml Borsäurevorlage getriebene Ammoniak wird im Anschluss durch Titration mit 0,1 M Salzsäure bestimmt. Die Titration erfolgt mittels automatischem Titrator potentiometrisch bis zum pH-Endpunkt 4,7.

3.7.6. Auswertung

Der Gesamtstickstoff wird durch Einsetzen in folgende Formel erhalten:

$$\text{TN (\%)} = \frac{a \cdot n \cdot 1,4008}{\text{EW}}$$

TN	Gesamtstickstoff
a	Verbrauch HCl
n	Konzentration HCl (0,1 mol/l)
1,4008	Umrechnungsfaktor, 1 ml HCl = 1,4008 mg Stickstoff
EW	Probeneinwaage in g

Der Rohproteingehalt (bezogen auf 100 g Trockenmasse) wird aus dem Gesamtstickstoff durch folgende Multiplikation errechnet:

$$\text{Rohprotein (\% i. Tr.)} = \text{TN} \cdot 6,25 \cdot \frac{100}{\text{TM}}$$

6,25	Faktor zur Errechnung des Rohproteingehaltes
TM	Trockenmasse in %

Neben Proteinen und freien Aminosäuren erfasst die Kjeldahl-Methode auch alle anderen organischen und anorganischen stickstoffhaltigen Substanzen in der Probe. Diese sind aber in der Regel vernachlässigbar gering. Unter der Annahme, dass der Proteinstickstoff 16% der Gesamtmasse ausmacht, wird $\frac{100}{16} = 6,25$ als Multiplikationsfaktor zur Errechnung des Rohproteingehaltes verwendet.

3.8. SDS-PAGE

3.8.1. Prinzip

Proteine werden mit der SDS-PAGE so denaturiert, dass eine elektrophoretische Auftrennung nur nach Molekülgröße erfolgt. Durch Beladung mit dem anionischen Detergenz Natriumdodecylsulfat (SDS) werden Eigenladungen der Proteine überdeckt und Tertiär- und Sekundärstrukturen durch Spaltung der Wasserstoffbrücken und Streckung der Moleküle aufgelöst. Durch Zugabe der reduzierenden Thiolverbindung Dithiothreitol werden Disulfidbrücken gespalten [Westermeier, 1990].

Für eine höhere Bandenschärfe wird die Methode der diskontinuierlichen Elektrophorese eingesetzt. Diese weist eine in zwei Bereiche eingeteilte Gelmatrix (Sammelgel, Trenngel) auf, die sich in Gelstruktur, pH-Wert und Ionenstärke der Puffer unterscheiden [Westermeier, 1990].

3.8.2. Verwendete Geräte und Hilfsmittel

- Analysenwaage, Sartorius, max. 220 g, d = 0,0001 g
- Laborwaage, Sartorius, BP 1200
- pH-Meter, Microprocessor pH 211, Hanna Instruments
- Mikroreaktionsgefäße, 1,5 ml, Eppendorf
- Vortex, IKA, MS 1
- Heizblock 100°C, Techne Dri-Block DB-2D
- Laborzentrifuge, Sigma
- Nadel
- Glasplatten (180 × 160 mm), Hoefer, 80-6178-99
- Kunststoffstege und Platzhalter
- Schraubleisten und Spannschrauben
- Gelgießstand mit Wasserwaage

- Trichter mit Schlauchaufsatz
- Kunststoffspritze mit Nadelaufsatz
- Probenkamm, 15 Probentaschen, Hoefel
- Laborfett, glisseal® HV
- Ultraschallbad, Elmasonic one, Elma
- Bechergläser
- Filterpapier
- obere Pufferkammer, Hoefel Scientific Instruments
- untere Pufferkammer, Hoefel SE 600 Ruby
- Stromversorgung, Consort E455
- Kühlsystem, VWR International
- Magnetrührer, Bibby Sterilin Ltd.
- Kolbenhubpipetten
- Kapillarspitzen 200 µl, Biozym Art.Nr. 729011
- Kunststoffkeil
- Färbe- und Entfärbewanne
- Kunststoffnetz
- Wärmeschrank 50°C, Heraeus Thermo Scientific
- Wasserbad 50°C, Memmert
- Parafilm
- Scanner, EPSON Expression 10000XL
- Folienschweißgerät

3.8.3. Verwendete Chemikalien

- UHQ-H₂O

- H₂O dest.
- Trishydroxymethylaminomethan (Tris), p.a., Roth
- Glycin PUFFERAN® ≥ 99%, p.a, Roth
- Natriumdodecylsulfat ≥ 99%, Roth
- Dithiothreitol ≥ 99,5%, AppliChem
- Salzsäure 32% p.a., Roth
- Acrylamid/Bis 40% AA, 37,5:1, 2,6% C, AppliChem
- 1-Butanol, p.a., Merck
- Ammoniumpersulfat, p.a., Sigma
- N,N,N',N'-Tetramethylethyldiamin (TEMED), Sigma
- Ethanol 70% vergällt, Roth
- Essigsäure 100% p.a., VWR
- Coomassie Färbetabletten, Pharmacia, PhastGel Blue R-350
- Glycerin 87 %, Sigma
- Bromphenolblau (pH 3.0-4.6), Merck
- Perfect Protein™ Marker Stammlösung, 10-225 kDa, Novagen

3.8.4. Herstellung der Lösungen

- Gebrauchslösung (1 % Bromphenolblau-Lösung mit Glycerin): 1,5 mg Bromphenolblau in 150 µl UHQ-H₂O lösen und mit 1500 µl Glycerin mischen.
- DTT-Lösung: 2,6 M, 0,25 g DDT in 500 µl UHQ-H₂O lösen.
- SDS-Lösung 10 %: 5 g SDS in 40 ml UHQ-H₂O vorsichtig lösen und in einem 50-ml-Messkolben bis zur Markierung auffüllen.
- Tris-HCl-Puffer (50 mM Tris): 0,3028 g Tris in 45 ml UHQ-H₂O lösen. Anschließend mit ca. 750 µl 10%iger HCl auf pH 7,2 einstellen.

Quantitativ in einen 50-ml-Messkolben überführen und bis zur Marke auffüllen.

- Probenpuffer: 6 ml Tris-HCl-Puffer und 4 ml SDS-Lösung 10 % mischen.
- Trenngelpuffer-Stammlösung (1,5 M Tris, 0,4 % SDS): 18,15 g Tris und 0,4 g SDS in in 70 ml UHQ-H₂O lösen und mit circa 16 ml 6 M HCl auf pH 8,8 einstellen, quantitativ in einen 100 ml Messkolben überführen und bis zur Marke auffüllen.
- Sammelgelpuffer-Stammlösung (0,5 M Tris, 0,4 % SDS): 3,028 g Tris und 0,2 g SDS in 40 ml UHQ-H₂O lösen und mit circa 11 ml 6 M HCl auf pH 6,8 einstellen, quantitativ in einen 50-ml-Messkolben überführen und bis zur Marke auffüllen.
- Trenngel-Überschichtungspuffer: Trenngelpuffer-Stammlösung 1:4 verdünnen.
- 1-Butanol (H₂O-gesättigt): 50 ml 1-Butanol mit 5 ml UHQ-H₂O mischen.
- Ammoniumpersulfat 10 %: 100 mg PER in 1 ml UHQ-H₂O lösen.
- Elektrodenpuffer (250 mM Tris, 1 % SDS, 1,92 M Glycin): 30,28 g Tris und 144 g Glycin in ein großes Becherglas einwiegen und in etwas H₂O dest. lösen. Quantitativ in den Kanister überführen und mit ca. 8 l H₂O dest. auffüllen. 10 g SDS in ein Becherglas einwiegen und langsam in H₂O dest. lösen, um Überschäumen zu verhindern. Quantitativ in den Kanister überführen und Kanister auf 10 l (bis zur Markierung) auffüllen.
- Färbelösung (für 2 Gele): 10%ige Essigsäurelösung (200 ml Essigsäure 100% und 1800 ml H₂O dest.) im Wasserbad auf 50°C erwärmen, eine Farbstofftablette zerstoßen, dazugeben und lösen.
- Entfärbelösung (für 2 Gele): 10%ige Essigsäurelösung (200 ml Essigsäure und 1800 ml H₂O dest.).
- Novagen-Marker: Markerstammlösung 1:5 mit Marker-Verdünnungspuffer verdünnen (Auftragemenge am Gel 20 µl).

3.8.5. Durchführung

Probenaufbereitung (frische Proben)

Proben in ein Eppendorf-Mikroreaktionsgefäß (1,5 ml) einwiegen, mit 1 ml Probenpuffer und 1% (v/v) DDT-Lösung ($\pm 10 \mu\text{l}$) versetzen und vortexen. Den Deckel mit einer Nadel durchstechen und 10 min. am Heizblock bei 100°C erhitzen. Dann ca. 10 min. auf Handwärme abkühlen lassen, erneut mit 1% (v/v) DDT-Lösung ($\pm 10 \mu\text{l}$) und mit 10% (v/v) Gebrauchslösung ($\pm 110 \mu\text{l}$) versetzen, vortexen und bei 13.500 rpm für 5 min. zentrifugieren. Probe direkt auftragen, oder in Aliquoten zu 50 μl zur Wiederverwendung einfrieren.

Die Probeneinwaage beträgt 40 mg, dies ergibt eine Konzentration von 40 mg/ml. Bei Kamut wurde wegen des höheren Proteingehaltes die Einwaage um ein Drittel auf 27 mg reduziert, da die Banden sonst zu intensiv sind. Bei Roggen und Reis/Reismehl wurden die Einwaagen auf 53 mg bzw. 48 mg erhöht, um intensivere Banden zu erhalten.

Probenaufbereitung (eingefrorene Aliquote)

Probenaliquote aufdauen lassen, Deckel mit einer Nadel durchstechen und 3 min. am Heizblock bei 100°C erhitzen. Proben kurz anzentrifugieren und ca. 10 min. auf Handwärme abkühlen lassen. Mit 1 % (v/v) DDT-Lösung ($\pm 0,5 \mu\text{l}$) versetzen und 5 min. bei 13.500 rpm zentrifugieren.

Zusammensetzen des vertikalen Gelgießstandes (für 2 Gele)

Jeweils zwei mit Ethanol gereinigte Glasplatten werden mittels leicht gefetteter Kunststoffstege, Platzhalter und Schraubleisten zusammengesetzt. Die Glasplatten werden an der Tischunterkante gerade ausgerichtet, in die Apparatur (Dichtgummi leicht eingefettet) eingesetzt und mit Spanschrauben fixiert. Vor dem Gießen der Gele wird die Apparatur durch Befüllen mit UHQ-H₂O auf Dichtheit überprüft.

Gießen der Trenngele

Die in Tabelle 3.4 angegebenen Mengen UHQ-H₂O, Trenngelpuffer-Stammlösung und Acrylamid/Bis-Stammlösung 40 % AA, 37,5:1, 2,6% C werden nacheinander in einem 100-ml-Becherglas vereinigt und 5 min. im Ultraschallbad entgast. Unmittelbar vor dem Gießen des Gels werden TEMED und PER-Lösung 10 % zugegeben und die Lösung vorsichtig mit der Pipettenspitze durchgemischt.

Mittels Trichter mit Schlauchaufsatz wird das Trenngel bis ca. 3 cm unter die Oberkante eingefüllt und mit 1 ml 1-Butanol überschichtet. Nach 30 min. wird die Butanollösung abgegossen, mit UHQ-H₂O nachgewaschen und anhaftende Flüssigkeit mit Filterpapierstreifen getrocknet. Die Gele werden mit 3 ml Überschichtungspuffer beschichtet, mit Parafilm verschlossen und polymerisieren über Nacht (oder mindestens 3h) aus.

Tabelle 3.4: Herstellung des Trenngels (Mengenangaben für zwei Gele)

	Acrylamid %T					
	10%	11%	12,5%	13%	14%	15%
UHQ-H₂O	30 ml	28,5 ml	26,25 ml	25,5 ml	24 ml	22,5 ml
Trenngelpuffer-Stammlösung	15 ml	15 ml	15 ml	15 ml	15 ml	15 ml
Acrylamid/Bis-Stammlösung 40 % AA, 37,5:1, 2,6% C	15 ml	16,5 ml	18,75 ml	19,5 ml	21 ml	22,5 ml
	5 min. entgasen					
TEMED	30 µl	30 µl	30 µl	30 µl	30 µl	30 µl
PER 10%	300 µl	300 µl	300 µl	300 µl	300 µl	300 µl

Gießen der Sammelgele

Die in Tabelle 3.5 angegebenen Mengen UHQ-H₂O, Sammelgelpuffer-Stammlösung und Acrylamid/Bis-Stammlösung 40 % AA, 37,5:1, 2,6 % C nacheinander in einem 50-ml-Becherglas vereinigen und 5 min. im Ultraschallbad entgasen. Unmittelbar vor dem Gießen des Gels werden TEMED und PER-Lösung 10 % zugegeben und die Lösung vorsichtig mit der Pipettenspitze durchgemischt.

Tabelle 3.5: Herstellung des Sammelgels (Mengenangaben für zwei Gele)

UHQ-H₂O	6,5 ml
Sammelgelpuffer-Stammlösung	2,5 ml
Acrylamid/Bis-Stammlösung 40 % AA, 37,5:1,2,6 % C	1 ml
5 min. entgasen	
TEMED	5 µl
PER 10%	50 µl

Überschichtungspuffer abgießen und mit Filterpapierstreifen trocknen. Das Sammelgel bis knapp unter die Oberkante einfüllen und die Probekämme 1,5 cm tief einstecken, und mindestens 30 min. auspolymerisieren lassen. Probekämme herausziehen, die Probenaschen unter Zuhilfenahme der Kunststoffspritze mit Nadelaufsatz erst mit Elektrodenpuffer gründlich ausspülen und danach das Sammelgel mit Elektrodenpuffer überschichten.

Auftragen der Proben und Durchführen der Elektrophorese

Die obere Pufferkammer wird auf die Gele aufgesetzt, mit Spansschrauben links und rechts fixiert und mit Elektrodenpuffer befüllt. Die Probenaschen werden mittels Kolbenhubpipette und Kapillarspitzen befüllt. Die Auftragemenge beträgt 15 µl bzw. 20 µl für den Größenmarker.

Die untere Pufferkammer wird bis zur Markierung mit Elektrodenpuffer befüllt, Magnetrührer und das Kühlsystem (15°C) werden aktiviert und die Elektrophorese nach den in Tabelle 3.6 angeführten Parametern durchgeführt.

Tabelle 3.6: Elektrophoretische Parameter beim gleichzeitigen Lauf von zwei Gelen

	Spannung [V]	Stromstärke [mA]	Zeit [h]
Sammelgel	200	60	~ 1,0
Trenngel	400	120	~ 2,5

Die Elektrophorese wird beendet, wenn die Lauffront ca. 0,5 - 1 cm vor dem unteren Ende des Gels angelangt ist.

Färben und Entfärben des Gels

Nach dem Entnehmen aus der Elektrophoreseapparatur werden Spannschrauben und Schraubleisten geöffnet, die Glasplatten herausgenommen und mittels Kunststoffkeil vom Gel entfernt. Das Sammelgel wird verworfen, das Trenngel auf ein Kunststoffnetz in die Färbelösung eingelegt und über Nacht bei 50°C im Wärmeschrank gefärbt.

Am folgenden Tag wird das Gel in Entfärbelösung bis zur gewünschten Intensität entfärbt. Die übliche Entfärbedauer beträgt 3h, wobei die Lösung einmal zwischendurch gewechselt wird.

3.8.6. Auswertung

Die fertig entfärbten Gele werden direkt auf dem Gelscanner eingescannt und danach zur Aufbewahrung in Kunststoffolie eingeschweißt.

Scannermodell: EPSON Expression 10000XL

Scan-Software: Silverfast® Ai, Professional Scanner Software V 6.5.5r4

Bildtyp: Standard (Tagged Image File Format)

Scantyp: 8-Bit-Graustufen, Durchlicht

Auflösung: 200 dpi

Die Auswertung der Molekulargewichte einzelner Banden erfolgt basierend auf den Standards des Größenmarkers.

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1. Trockenmasse

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der Trockenmassebestimmung dargestellt. Dabei werden jeweils die Hafer und Getreide- und Mehlproben getrennt, sowohl in Tabellenform, als auch in graphischer Darstellung, präsentiert.

Die Trockenmasse ist nicht nur ein Faktor für die Getreidequalität. Sie ist auch als Voruntersuchung anzusehen, da sie eine Grundlage für die weiteren Untersuchungen (Asche, Gesamtfettgehalt, Rohproteingehalt und Hafer- β -Glucan) darstellt, deren Ergebnisse immer auf 100 g der Trockenmasse bezogen werden.

4.1.1. Ergebnisse

4.1.1.1. Haferproben

Tabelle 4.1: Trockenmasse [%] der Haferproben, angegeben sind jeweils Mittelwerte aus der Doppelbestimmung und Standardabweichung

Probe	Trockenmasse	
	[%]	(\pm SD)
1a	87,94	(\pm 0,13)
1b	88,77	(\pm 0,07)
2a	88,40	(\pm 0,24)
2b	88,74	(\pm 0,11)
3a	89,39	(\pm 0,06)
3b	89,08	(\pm 0,06)
4a	88,77	(\pm 0,27)
4b	89,15	(\pm 0,18)
5a	89,31	(\pm 0,08)
5b	89,45	(\pm 0,16)
6	89,25	(\pm 0,08)
7	91,65	(\pm 0,02)
8	92,82	(\pm 0,10)

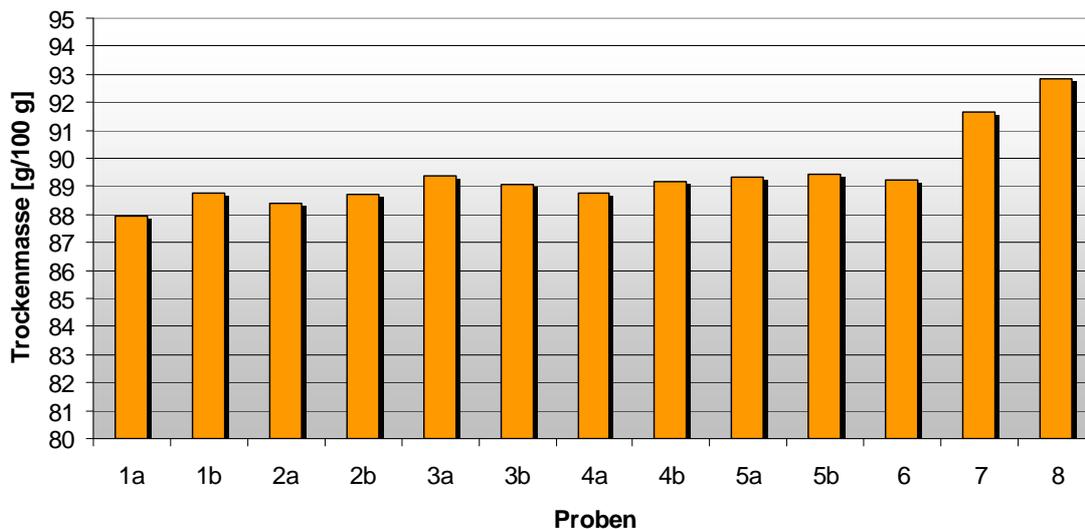


Abbildung 4.1: Trockenmasse der Haferproben, graphische Darstellung

4.1.1.2. Getreide- und Getreidemehlproben

Tabelle 4.2: Trockenmasse [%] der Getreide- und Getreidemehlproben, angegeben sind jeweils Mittelwerte aus der Doppelbestimmung und Standardabweichung

Probe (Korn)	Trockenmasse [%]	(±SD)	Probe (Mehl)	Trockenmasse [%]	(±SD)
W	87,89	(±0,02)	Wm	88,40	(±0,10)
G	90,38	(±0,01)	WmW	87,65	(±0,02)
R	90,75	(±0,02)	Rm	90,59	(±0,01)
D	89,10	(±0,21)	Dm	89,72	(±0,03)
Gr	91,03	(±0,09)	Rem	88,25	(±0,11)
K	91,80	(±0,04)	Mm	88,40	(±0,02)
Re	89,73	(±0,06)	Bm	88,59	(±0,01)
M	91,64	(±0,09)			
Hi	92,15	(±0,07)			
H	89,45	(±0,01)			
Q	90,65	(±0,02)			
B	87,73	(±0,02)			
A	89,44	(±0,02)			

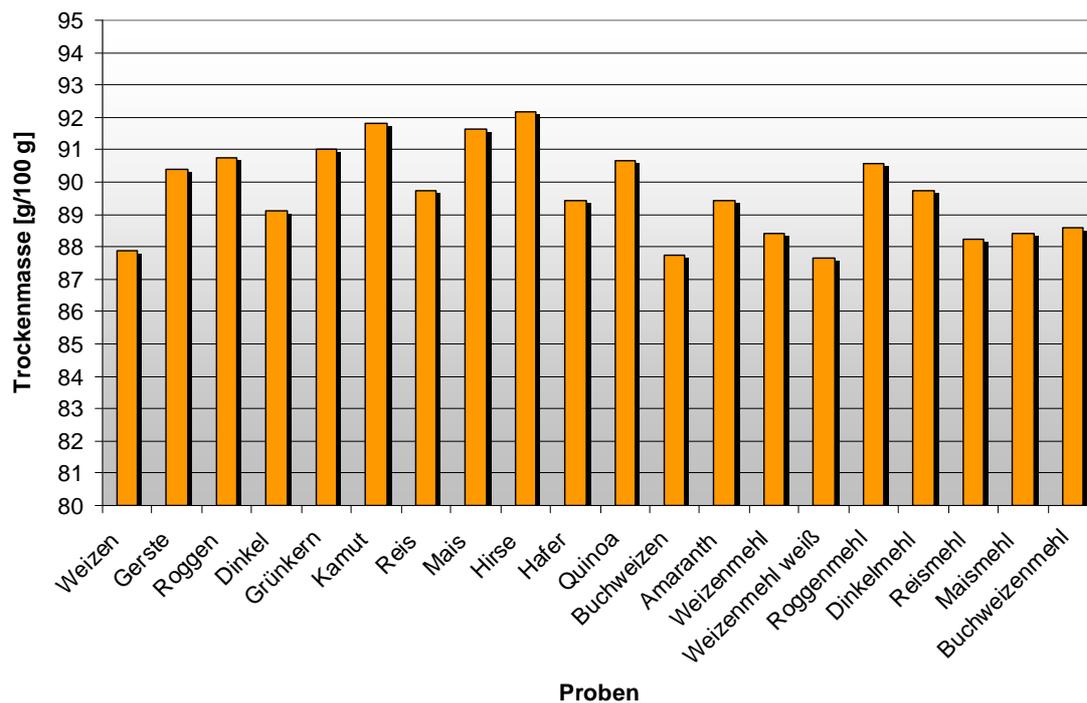


Abbildung 4.2: Trockenmasse der Getreide- und Getreidemehlproben, graphische Darstellung

4.1.2. Diskussion der Ergebnisse

Die ermittelten Trockenmassen für die Haferproben betragen zwischen 87,94% und 92,82% und bei den Getreidekorn- und Getreidemehlproben liegen sie in einem Bereich zwischen 87,65% und 92,15% (vergleiche Tabelle 4.1 und Abbildung 4.1 bzw. Tabelle 4.2 und Abbildung 4.2). Das sind für Getreide und Mehl normale Werte. Laut Seibel (2005) liegt die festgelegte Obergrenze für den Feuchtigkeitsgehalt bei 14,5% für die gängigen Getreidearten.

Nach der Ernte beträgt der Feuchtigkeitsgehalt von Getreide normalerweise etwa 16-18%. Eine effektive Trocknung ist daher vor dem Inverkehrbringen des Getreides essentiell [Seibel, 2005].

Die Trocknungsdauer wurde anhand von Ergebnissen aus Vorversuchen, wofür mehrere Stichproben einer einzigen Haferart verwendet wurden, auf 4 Stunden festgelegt, bei einer Trocknungstemperatur von 102°C. Sowohl zu kurze, als auch zu lange Trocknungszeit führt zur Verfälschung, wie in Abbildung 4.3 zu sehen ist. Ausgehend von einem Frischgewicht von $3 \text{ g} \pm 0,01 \text{ g}$ stellt sich die

größte Gewichtskonstanz offenbar nach etwa nach 4 Stunden ein, während längere Trocknungsdauer durch chemische Umsetzungen im Probenmaterial wieder zu einem Anstieg der Masse und damit zu einer Vortäuschung falscher Trockenmassegehalte führen kann.

Weiters wurde in den Vorversuchen untersucht, ob sich durch eine Verreibung des Probengutes in einigen Gramm Seesand Unterschiede im Ergebnis einstellen. Die Seesandmethode wird normalerweise für die Trocknung pastöser Proben verwendet, zur Vergrößerung der Oberfläche. Bei trockenen, rieselfähigen Proben, wie z.B. gemahlene Getreidekörnern, ergibt sich durch die Verwendung von Seesand weder ein Vorteil, noch ein messbarer Unterschied im Ergebnis.

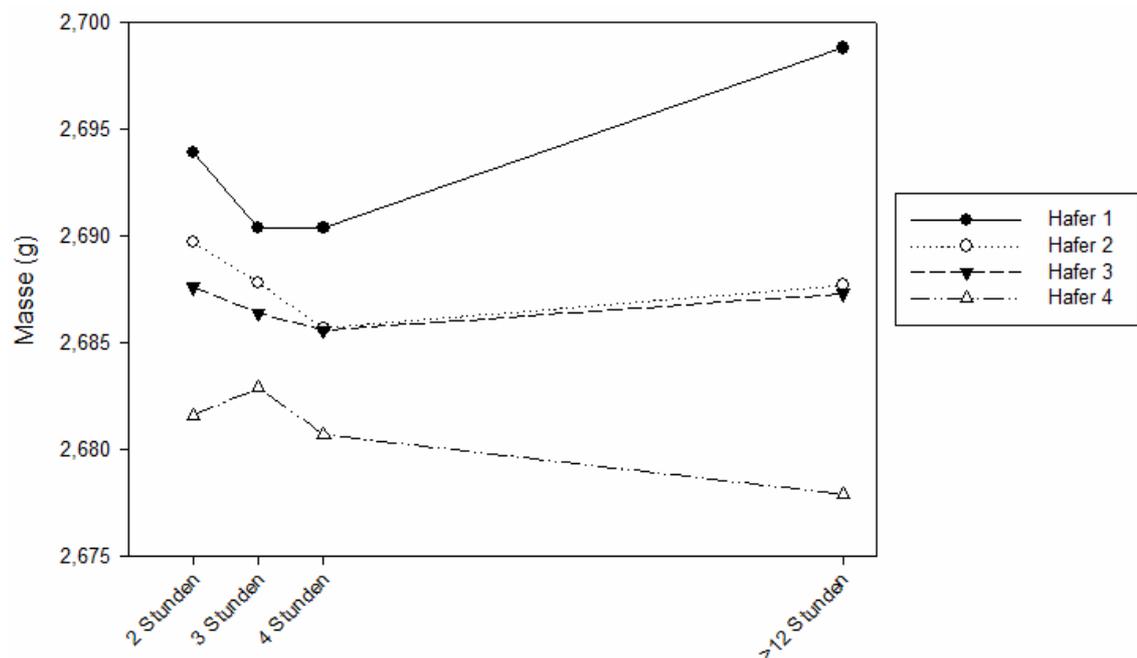


Abbildung 4.3: Masse in Bezug zur Trocknungsdauer am Beispiel von 4 Stichproben aus dem gleichen Hafer. Ausgehend von $3 \text{ g} \pm 0,01 \text{ g}$ Frischgewicht wird die Masse nach einer Trocknungszeit von 2, 3, 4 Stunden und >12 Stunden gemessen. Gewichtskonstanz stellt sich nach etwa 4 Stunden ein, bei 3 der 4 Stichproben steigt die Masse bei längerer Trocknung sogar wieder an.

4.2. Asche

4.2.1. Ergebnisse

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der Aschebestimmung präsentiert.

4.2.1.1. Haferproben

Tabelle 4.3: Aschegehalt [% i. Tr.] der Haferproben, angegeben sind jeweils Mittelwerte aus der Doppelbestimmung und Standardabweichung

Probe	Aschegehalt	
	[%]	(\pm SD)
1a	2,94	(\pm 0,01)
1b	1,94	(\pm 0,16)
2a	2,22	(\pm 0,09)
2b	2,05	(\pm 0,11)
3a	2,81	(\pm 0,12)
3b	2,21	(\pm 0,04)
4a	2,23	(\pm 0,12)
4b	2,02	(\pm 0,05)
5a	2,27	(\pm 0,16)
5b	1,88	(\pm 0,09)
6	2,64	(\pm 0,03)
7	1,68	(\pm 0,20)
8	1,99	(\pm 0,09)

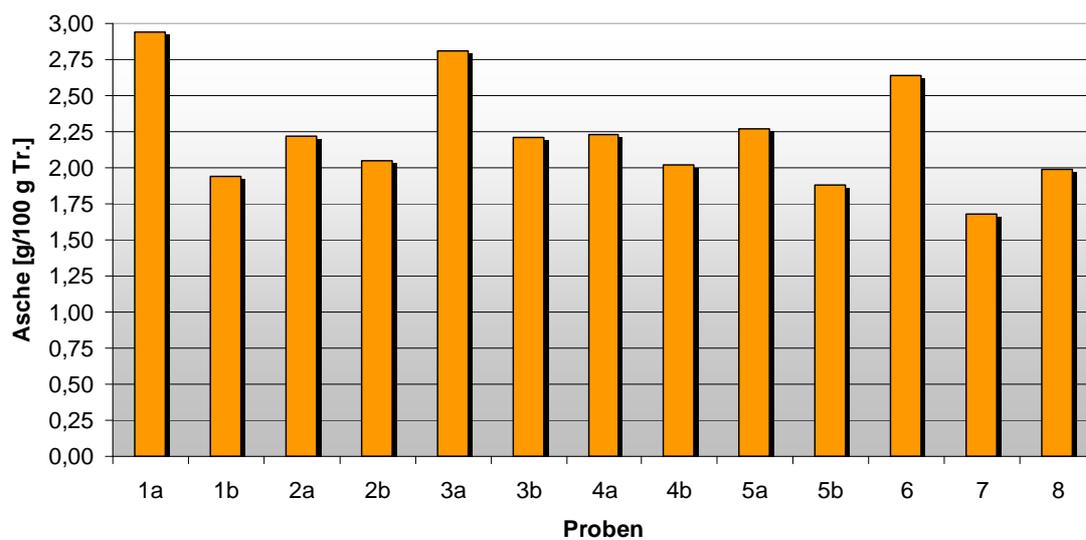


Abbildung 4.4: Aschegehalt der Haferproben, graphische Darstellung

4.2.1.2. Getreide- und Getreidemehlproben

Tabelle 4.4: Aschegehalt [% i. Tr.] der Getreide- und Getreidemehlproben, angegeben sind jeweils Mittelwerte aus der Doppelbestimmung und Standardabweichung

Probe (Korn)	Aschegehalt [%]	(\pm SD)	Probe (Mehl)	Aschegehalt [%]	(\pm SD)
W	1,66	(\pm 0,01)	Wm	1,69	(\pm 0,11)
G	1,63	(\pm 0,02)	WmW	0,57	(\pm 0,00)
R	1,41	(\pm 0,06)	Rm	1,00	(\pm 0,03)
D	1,69	(\pm 0,00)	Dm	1,69	(\pm 0,01)
Gr	2,10	(\pm 0,05)	Rem	1,36	(\pm 0,00)
K	1,67	(\pm 0,02)	Mm	0,68	(\pm 0,00)
Re	2,08	(\pm 0,13)	Bm	1,46	(\pm 0,12)
M	3,00	(\pm 0,02)			
Hi	1,22	(\pm 0,06)			
H	1,62	(\pm 0,02)			
Q	2,65	(\pm 0,07)			
B	3,28	(\pm 0,04)			
A	2,75	(\pm 0,00)			

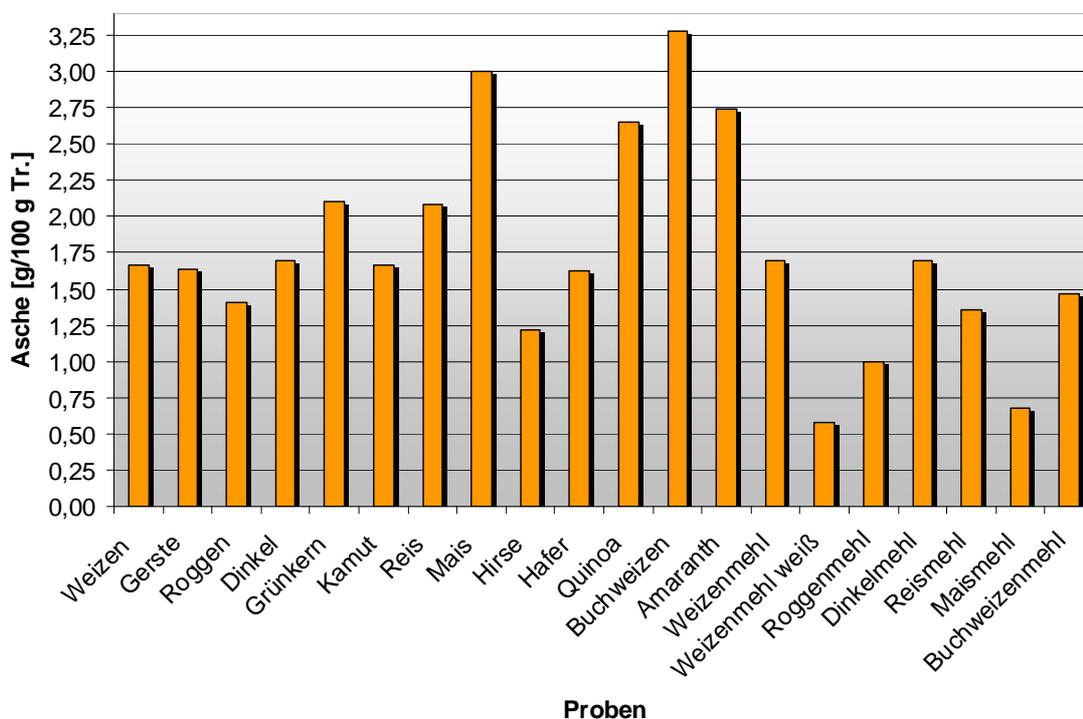


Abbildung 4.5: Aschegehalt der Getreide- und Getreidemehlproben, graphische Darstellung

4.2.2. Diskussion der Ergebnisse

Die Ergebnisse der Aschegehalte schwanken je nach Getreideart, aber auch innerhalb der unterschiedlichen Hafersorten wird eine hohe Variabilität festgestellt (vergleiche Tabelle 4.3, Abbildung 4.4 bzw. Tabelle 4.4, Abbildung 4.5).

Der Ascheanteil der Haferproben liegt in einem Bereich von 1,68 - 2,89% i. Tr., im Vergleich dazu liegt der Aschegehalt der Probe aus dem Einzelhandel bei 1,62% i. Tr. Unterschiede im Aschegehalt könnten auch durch Miterfassen von Spelzanteilen entstehen. Die Haferproben 1a-5b sind nicht entspelzt, während die Proben 6, 7 und 8 freidreschende Nachthafervarietäten und die Probe aus dem Einzelhandel entspelzte Haferkörner sind. Allerdings widersprechen die Ergebnisse der Proben 1b, 5b und 6 dieser Theorie, dass Spelzanteile einen Einfluss auf das Ergebnis haben könnten.

Die erhaltenen Aschegehalte in Hafer decken sich teils mit den Literaturangaben, liegen aber bei manchen Proben etwas darunter. Nach Souci et al. (2000) liegt die Schwankungsbreite des Ascheanteils in Hafer bei 2,32- 3,87% (bezogen auf einen Wassergehalt von 13%).

Die Aschegehalte der meisten Getreideproben liegen etwa im erwarteten Bereich (~ 1,5 - 2%). Einzig in der Maisprobe ist ein unerwartet hoher Aschegehalt von 3,00% i. Tr. festgestellt worden, im Vergleich zum Literaturwert von 1,28 - 1,43% i. Tr. [Souci et al., 2000]. Weiters ist ersichtlich, dass die Pseudocerealien in der Regel einen höheren Mineralstoffanteil haben, als die meisten „echten“ Getreidearten, was deren hohe ernährungsphysiologische Wertigkeit bestätigt.

Aschegehalte der Vollmehlproben tendieren erwartungsgemäß eher zu etwas niedrigeren Werten im Vergleich zu den Kornproben. Geringer ist der Wert etwa in Reismehl und wesentlich niedriger in Mais- und Buchweizenmehl, was wohl auf geringere Ausmahlungsgrade hindeutet. Weißes Weizenmehl (Typ 480) enthält 0,57% i. Tr., was etwas über den der Mehltypen entsprechenden 480 mg/kg (0,48%) liegt.

Der Aschegehalt von Getreide kann entweder über das Referenzverfahren (4 Stunden, 550°C) oder über das Schnellverfahren (1 Stunde, 900°C) bestimmt werden. Beide Verfahren liefern im Vergleich ähnliche Ergebnisse (Abbildung 4.6). Das Verfahren bei 900°C ist allerdings deutlich schneller durchführbar und die Doppelbestimmung unterliegt weniger starken Schwankungen. Bei 550°C muss die Asche teilweise mit H₂O₂ nachbehandelt und weiter verglüht werden, um einen hellgrau gefärbten Glührückstand ohne eingelagerte Kohlenstoffpartikel zu erhalten. Die durchschnittliche Veraschungszeit von 4 Stunden kann sich so um viele Stunden erhöhen, denn die Veraschung gilt erst dann als beendet, wenn ein gewichtskonstanter, hellgrauer Ascherückstand zurückgeblieben ist.

Bei 900°C tritt einzig das Problem auf, dass die verwendeten Porzellantiegel die große Hitze nur schlecht vertragen, Sprünge bekommen und teilweise die Glasur am Boden des Tiegels abschmilzt. Die meisten Porzellantiegel sind bereits nach einer Verwendung kaputt. Für die Veraschung bei solchen hohen Temperaturen werden hitzebeständigere Tiegel aus einer Platinlegierung oder aus Quarzglas empfohlen [DIN EN ISO 2171:2010].

Da sich die Probe bei 900°C im Muffelofen sofort in einer Stichflamme entzündet und dann nahezu rauchfrei abbrennt, könnte bei Verwendung so hoher Temperaturen sogar auf eine gesonderte Vorveraschung verzichtet werden. Dies wurde jedoch nicht getestet.

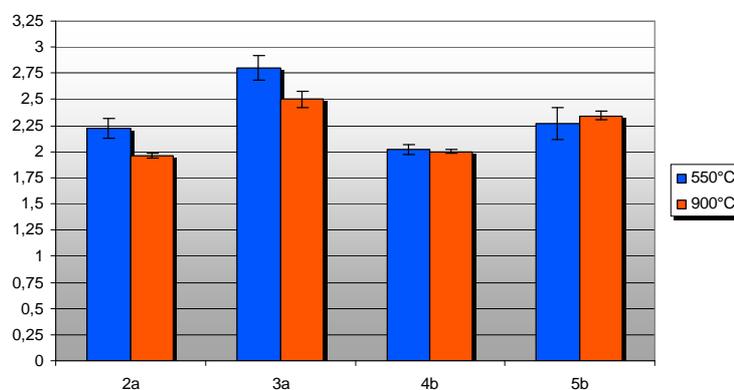


Abbildung 4.6: Vergleich der Aschebestimmung mit 550°C und 900°C anhand von vier Haferproben. Es zeigen sich bei zwei Proben nahezu identische, bei zwei Proben etwas unterschiedliche Werte.

4.3. Gesamtfettgehalt

4.3.1. Ergebnisse

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der Fettbestimmung präsentiert.

4.3.1.1. Haferproben

Tabelle 4.5: Gesamtfettgehalt [% i. Tr.] der Haferproben, angegeben sind jeweils Mittelwerte aus der Doppelbestimmung und Standardabweichung

Probe	Gesamtfett	
	[%]	(\pm SD)
1a	5,12	(\pm 0,01)
1b	5,70	(\pm 0,10)
2a	5,93	(\pm 0,16)
2b	6,16	(\pm 0,06)
3a	7,71	(\pm 0,08)
3b	9,33	(\pm 0,26)
4a	5,88	(\pm 0,17)
4b	6,72	(\pm 0,24)
5a	5,46	(\pm 0,09)
5b	5,11	(\pm 0,01)
6	6,54	(\pm 0,06)
7	9,07	(\pm 0,01)
8	8,45	(\pm 0,16)

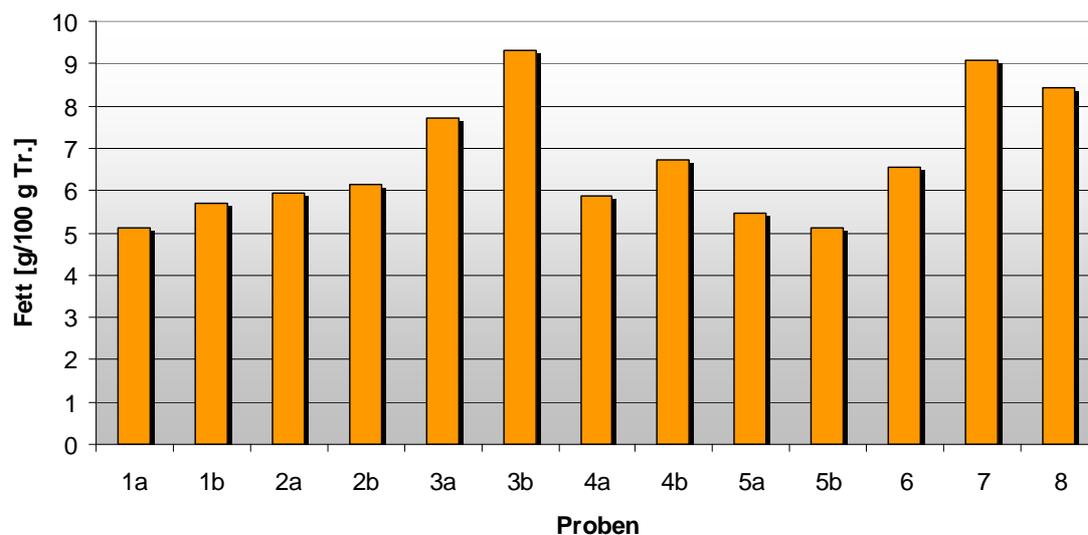


Abbildung 4.7: Fettgehalt der Haferproben, graphische Darstellung

4.3.1.2. Getreide- und Getreidemehlproben

Tabelle 4.6: Fettgehalt [% i. Tr.] der Getreide- und Getreidemehlproben, angegeben sind jeweils Mittelwerte aus der Doppelbestimmung und Standardabweichung

Probe (Korn)	Gesamtfett [%]	(\pm SD)	Probe (Mehl)	Gesamtfett [%]	(\pm SD)
W	2,34	(\pm 0,13)	Wm	2,09	(\pm 0,11)
G	2,83	(\pm 0,16)	WmW	1,84	(\pm 0,01)
R	1,60	(\pm 0,11)	Rm	2,33	(\pm 0,03)
D	2,66	(\pm 0,02)	Dm	2,56	(\pm 0,26)
Gr	3,17	(\pm 0,18)	Rem	2,71	(\pm 0,11)
K	2,27	(\pm 0,15)	Mm	1,98	(\pm 0,08)
Re	3,45	(\pm 0,02)	Bm	2,48	(\pm 0,04)
M	9,26	(\pm 0,04)			
Hi	3,04	(\pm 0,25)			
H	6,46	(\pm 0,02)			
Q	6,85	(\pm 0,17)			
B	5,74	(\pm 0,14)			
A	6,34	(\pm 0,14)			

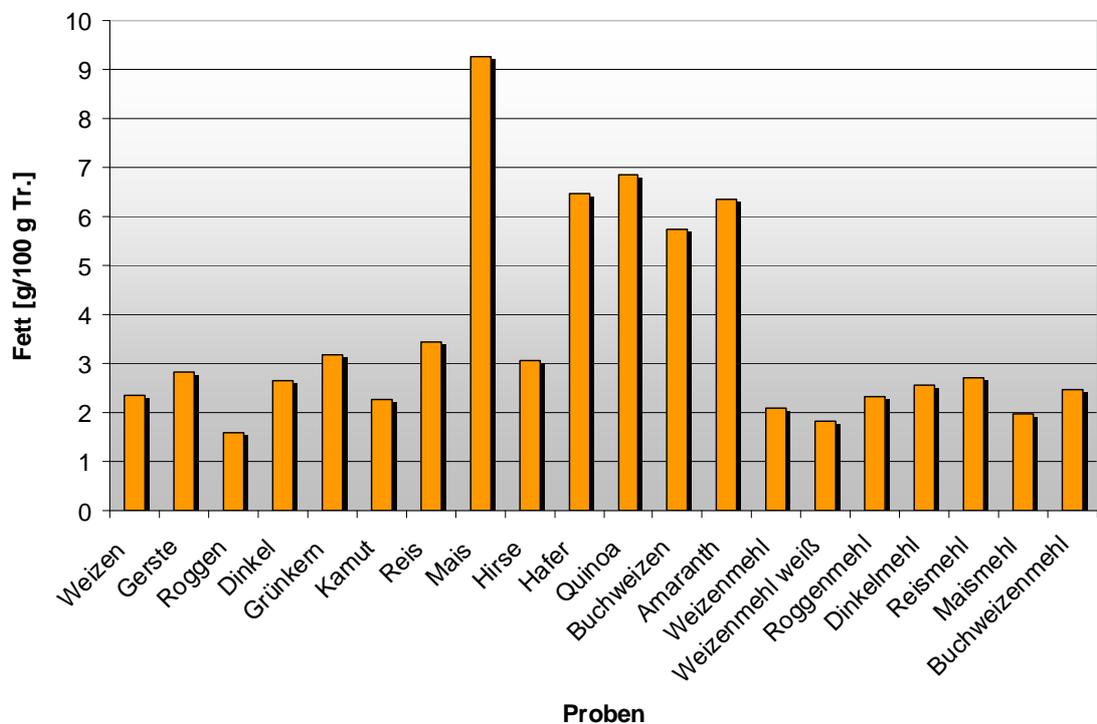


Abbildung 4.8: Fettgehalt der Getreide- und Getreidemehlproben, graphische Darstellung

4.3.2. Diskussion der Ergebnisse

Fett stellt in den meisten Getreidearten eine minore Komponente dar. Höhere Fettgehalte sind enthalten in Hafer, aber auch in Pseudocerealien (vergleiche Tabelle 4.5, Abbildung 4.7, bzw. Tabelle 4.6, Abbildung 4.8).

Der auf die Trockenmasse bezogene Fettgehalt in Hafer schwankt in den untersuchten Proben von 5,11 – 9,07% und liegt damit etwa im Bereich der Literaturwerte. Souci et al. (2000) ermittelten für Hafer Fettgehalte mit einer Schwankungsbreite von 7,83 – 8,59%, Zhou et al. (1999) von 5,6 – 8,8%.

In den meisten anderen Getreidearten können übliche Werte festgestellt werden. Deutliche Ausreißer sind Mais mit 9,81%, Buchweizen mit 5,74% und Amaranth mit 9,91%. Souci et al. (2000) geben für Mais 4,91%, für Buchweizen nur 1,89% und für Amaranth 6,34% an (alle Prozentwerte sind bezogen auf Trockenmasse). Die Mehlproben liegen in ihrem Fettgehalt durchwegs etwas niedriger, als die entsprechenden Getreideproben.

Die Bestimmung des Gesamtfetts aus Getreide kann nicht direkt erfolgen, sondern nur nach vorheriger Hydrolyse in Säure, da ein großer Teil im Getreidekorn in gebundener Form vorliegt. Dies konnte in Vorversuchen bestätigt werden. Wird Getreide(mehl) direkt mittels Filterhülsen in Petrolether extrahiert, erhält man Fettausbeuten, die zum einen sehr stark schwanken und zum anderen deutlich zu niedrig sind. Nach der Methode von Weibull-Stoldt dauert die Hydrolyse je nach Zusammensetzung der Probe 15 – 60 min. Eine Hydrolysedauer von 15 min. oder sogar nur 7,5 min., ab Zeitpunkt des Siedens der Probe, hat sich für Getreide als völlig ausreichend erwiesen. In dem für diese Diplomarbeit erstellten Protokoll zur Fettbestimmung wurde als Standard eine 15-minütige Hydrolysedauer gewählt.

4.4. β -Glucan in Hafer

4.4.1. Ergebnisse

Die Untersuchungen zum β -Glucan-Gehalt werden im folgenden Kapitel dargestellt.

Tabelle 4.7: β -Glucangehalt [% i. Tr.] in Hafer, angegeben sind jeweils Mittelwerte aus der Doppelbestimmung und die Standardabweichung

Probe	β -Glucan	
	[%]	(\pm SD)
1a	4,14	(\pm 0,03)
1b	3,95	(\pm 0,04)
2a	3,07	(\pm 0,05)
2b	3,66	(\pm 0,04)
3a	3,08	(\pm 0,10)
3b	3,71	(\pm 0,04)
4a	2,11	(\pm 0,02)
4b	3,22	(\pm 0,13)
5a	3,13	(\pm 0,02)
5b	2,01	(\pm 0,02)
6	3,59	(\pm 0,04)
7	3,83	(\pm 0,09)
8	4,82	(\pm 0,03)
Hafer	3,60	(\pm 0,04)

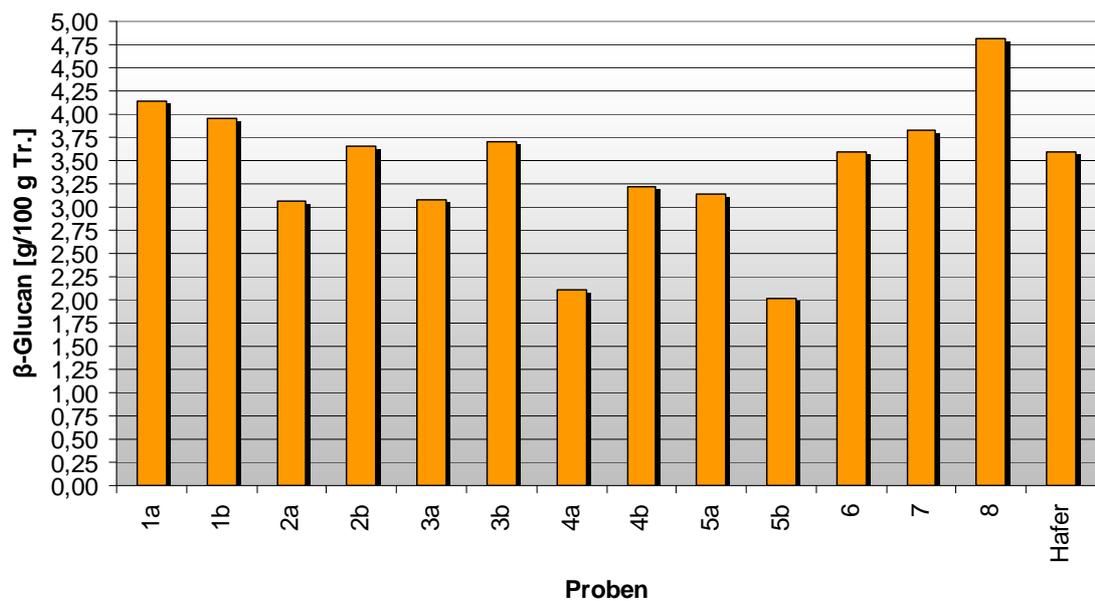


Abbildung 4.9: β -Glucangehalt in Hafer, graphische Darstellung

4.4.2. Diskussion der Ergebnisse

Der Gehalt an dem löslichen Ballaststoff β -Glucan in Hafer ist in erster Linie von ernährungsphysiologischer Relevanz. Wie aus zahlreichen Studien bekannt ist, sind Ballaststoffe wichtig für die menschliche Ernährung und haben eine Reihe von gesundheitsfördernden Wirkungen. Es ist daher ein dezidiertes Ziel, Hafer durch züchterische und agronomische Maßnahmen dahingehend zu modifizieren, dass dieser möglichst hohe Gehalte an β -Glucan enthält.

Wie bereits in Kapitel 2.7.3 erläutert wurde, sind die β -Glucan-Gehalte größeren Schwankungen unterworfen, die jedoch nicht ausschließlich auf eine sortenspezifische Genetik zurückzuführen sind, sondern auch maßgeblich durch äußere Einflüsse (Klimaverhältnisse) beeinträchtigt werden können.

Auch bei den hier untersuchten Haferproben sind, wie in Tabelle 4.7 und Abbildung 4.9 zu sehen ist, größere Schwankungen festzustellen. Der Gehalt an β -Glucan schwankt zwischen 2,01 und 4,82% i. Tr. Die meisten Proben weisen jedoch mittlere Gehalte um die 3 – 4% i. Tr. auf. In den Nährwerttabellen von Souci et al. (2000) ist β -Glucan nicht gesondert angeführt, sondern nur allgemein die wasserlösliche Ballaststofffraktion, die bei Hafer mit 4760 mg/100 g (4,76%) angegeben wird. Andersson und Börjesdotter (2011) fanden mittlere β -Glucan-Gehalte zwischen 2,5 und 3,1% in den von ihnen analysierten Haferproben.

Zur Analyse wurde die enzymatische Referenzmethode nach McCleary verwendet, die zur β -Glucan-Untersuchung etabliert ist. Als kritischster Schritt bei der Aufarbeitung ist zu Beginn die Erhitzung der Probe auf 100°C. Hier ist es wichtig, darauf zu achten, dass keine Klumpenbildung erfolgt und die Probe ausreichend gevortext wird. Weiteres neigen manche Haferproben dazu, aufschwimmende Trübstoffe (möglicherweise handelt es sich dabei um Fett) auszubilden. Diese können die photometrische Auswertung verfälschen. Es ist daher genau darauf zu achten, bei den Pipettierschritten keine dieser trüben Bestandteile mit aufzusaugen.

4.5. Rohproteingehalt

4.5.1. Ergebnisse

Das folgende Kapitel widmet sich den Analysen zum Rohproteingehalt.

4.5.1.1. Haferproben

Tabelle 4.8: Rohproteingehalt [% i. Tr.] der Haferproben (berechnet als $N \times 6,25$); angegeben sind jeweils Mittelwerte aus der Doppelbestimmung und Standardabweichung

Probe	Rohprotein	
	[%]	(\pm SD)
1a	13,29	($\pm 0,16$)
1b	13,36	($\pm 0,10$)
2a	11,11	($\pm 0,03$)
2b	11,51	($\pm 0,01$)
3a	16,10	($\pm 0,12$)
3b	12,81	($\pm 0,13$)
4a	11,38	($\pm 0,10$)
4b	12,62	($\pm 0,09$)
5a	11,08	($\pm 0,05$)
5b	11,48	($\pm 0,02$)
6	18,26	($\pm 0,01$)
7	10,74	($\pm 0,10$)
8	14,75	($\pm 0,14$)

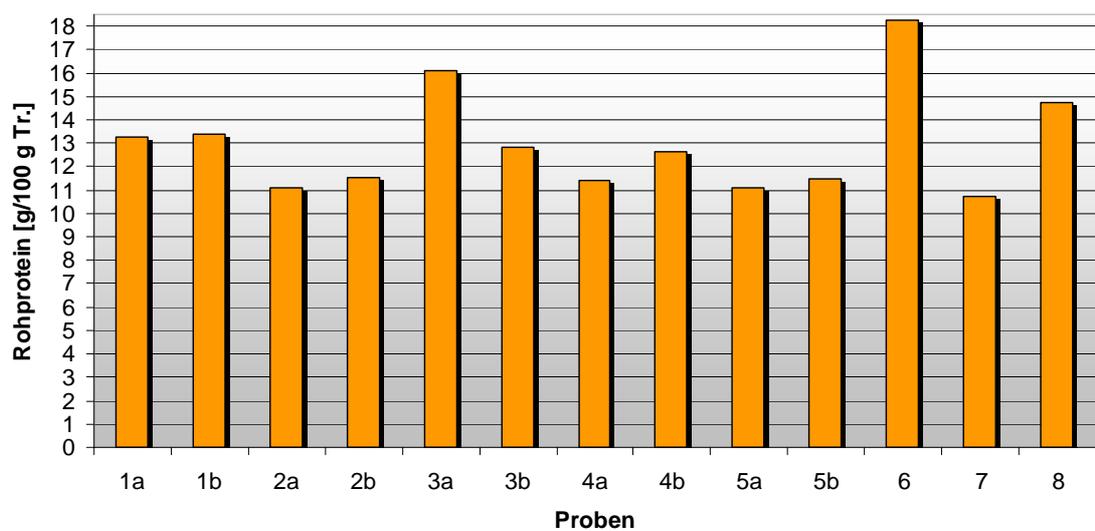


Abbildung 4.10: Rohproteingehalt der Haferproben, graphische Darstellung

4.5.1.2. Getreide- und Getreidemehlproben

Tabelle 4.9: Rohproteingehalt [% i. Tr.] der Getreide- und Getreidemehlproben (berechnet als $N \times 6,25$); angegeben sind jeweils Mittelwerte aus der Doppelbestimmung und Standardabweichung

Probe (Korn)	Rohprotein [%]	($\pm SD$)	Probe (Mehl)	Rohprotein [%]	($\pm SD$)
W	14,07	($\pm 0,01$)	Wm	15,34	($\pm 0,07$)
G	10,06	($\pm 0,17$)	WmW	14,32	($\pm 0,02$)
R	9,16	($\pm 0,00$)	Rm	8,77	($\pm 0,01$)
D	12,81	($\pm 0,07$)	Dm	14,11	($\pm 0,04$)
Gr	14,33	($\pm 0,04$)	Rem	8,04	($\pm 0,02$)
K	18,03	($\pm 0,02$)	Mm	6,53	($\pm 0,03$)
Re	7,46	($\pm 0,08$)	Bm	11,31	($\pm 0,14$)
M	10,97	($\pm 0,13$)			
Hi	13,68	($\pm 0,11$)			
H	12,49	($\pm 0,04$)			
Q	11,49	($\pm 0,20$)			
B	11,46	($\pm 0,06$)			
A	15,83	($\pm 0,06$)			

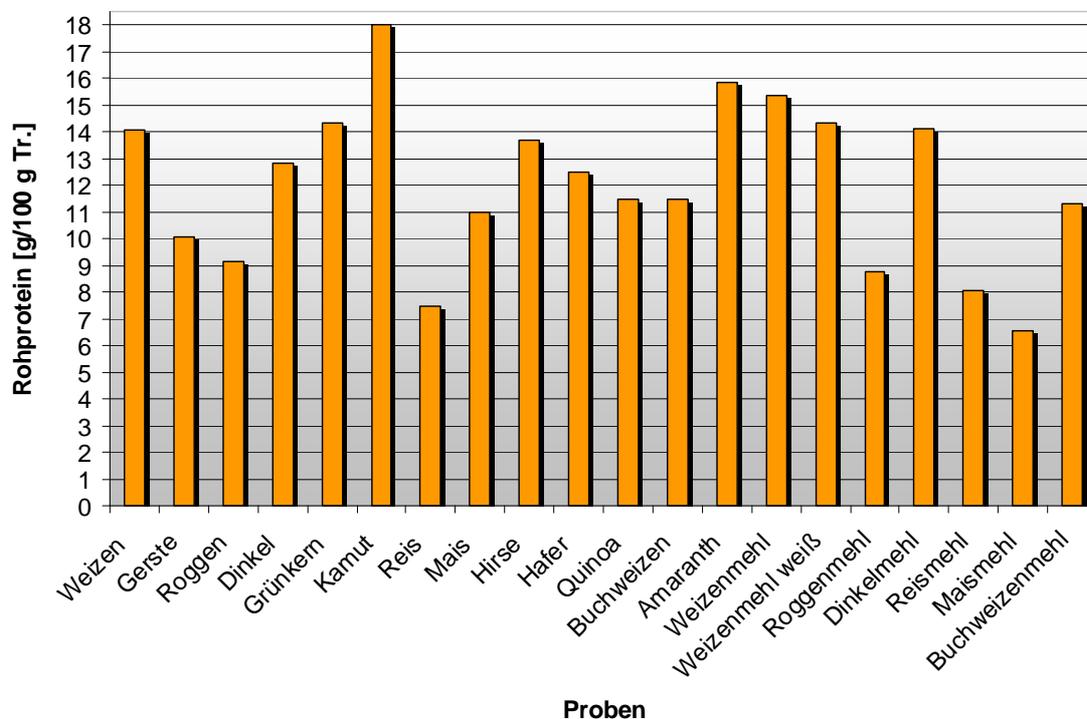


Abbildung 4.11: Rohproteingehalt der Getreide- und Getreidemehlproben, graphische Darstellung

4.5.2. Diskussion der Ergebnisse

Die Proteinfraction spielt in Getreide eine besonders wichtige Rolle, da sie sehr großen Einfluss auf die Verarbeitungsqualität hat. Eine der bekanntesten Methoden zur Bestimmung des Rohproteingehaltes ist die nasschemische Methode nach Kjeldahl. Dabei wird eigentlich der Gesamtstickstoffgehalt bestimmt und der tatsächliche Rohproteingehalt erst durch Multiplikation mit einem Faktor ($N \times 6,25$) abgeschätzt.

Der Rohproteingehalt von Getreide ist der größten Schwankungsbreite unterworfen. Dies wird deutlich bei den verschiedenen Haferproben, die Proteingehalte in einem Bereich von 10,74 – 18,26% i. Tr. aufweisen. Im Mittel liegt der Rohproteingehalt von Hafer in den analysierten Proben bei rund 13% i. Tr. In der Literatur werden ähnliche Schwankungsbreiten beschrieben. Typischerweise werden in Hafer Rohproteingehalte von 12,4 – 24,4% i. Tr. gefunden [Robbins et al., 1971]. Souci et al. (2000) geben für Hafer einen Gehalt ($N \times 6,25$) von 14,5% i. Tr. an.

Der Rohproteingehalt von Weizen ist wegen seiner zentralen Bedeutung für die Backqualität eine wichtige Basis für die Bewertung der Weizenqualität. Der geforderte Mindestproteingehalt liegt in der Europäischen Union bei 10,5% i. Tr. [Seibel, 2005].

Als Anhaltspunkt für die Beurteilung des Proteingehaltes von Weizen lassen sich nach Seibel (2005) folgende Werte nennen:

hoch	über 14% i. Tr.
mittel	12 – 13% i. Tr.
niedrig	unter 10,5% i. Tr.

Die Werte in den analysierten Weizenproben liegen alle im hohen Bereich, die Weizenkornprobe bei 14,07%, das Weizenvollmehl bei 15,34% und das Weizenweißmehl bei 14,32% (jeweils in Bezug zur Trockenmasse).

Anders verhält es sich beim Roggen. In Roggen hängt die Backqualität nicht von der Eiweißzusammensetzung, sondern vom hohen Gehalt an den schleimbildenden Pentosanen ab. Ein Rohproteingehalt von über 11% i. Tr. wirkt sich

jedoch negativ auf das Mahlverhalten und die Mehlausbeute aus und wird daher als Grenzwert angesehen [Seibel, 2005].

Sowohl die Roggenkornprobe (9,81% i. Tr.), als auch das Roggenmehl (8,77% i. Tr.) unterschreiten den Wert von 11% i. Tr. deutlich.

Unter den übrigen Getreidearten stechen Kamut mit 18,03% i. Tr. und Amaranth mit 15,83% i. Tr. besonders heraus. Kamut wird als ernährungsphysiologisch besonders wertvolle, alte Weizenart propagiert. Laut einer von Kamut® International herausgegebenen Nährwerttabelle, liegt der mittlere Rohproteingehalt von Kamut bei etwa 16,6% i. Tr. [Kamut® International, o.J.]. Amaranth ist ebenfalls bekannt für seinen außerordentlich hohen Rohproteingehalt. Nach Souci et al. (2000) liegt dieser bei 17,7% i. Tr.

Die niedrigsten Proteingehalte von unter 10% findet man erwartungsgemäß in Reis und Reismehl, aber auch in Maismehl vor. Bei den anderen Getreidearten liegt der Rohproteingehalt im Bezug zur Trockenmasse meistens in einem Bereich von etwa 10 – 14%.

4.6. SDS-PAGE

4.6.1. Gelserie der Haferproben

Die Serie der Elektropherogramme der 13 Haferproben (10%, 11%, 12,5%, 13%, 14% und 15% T) ist in den folgenden Abbildungen dargestellt.

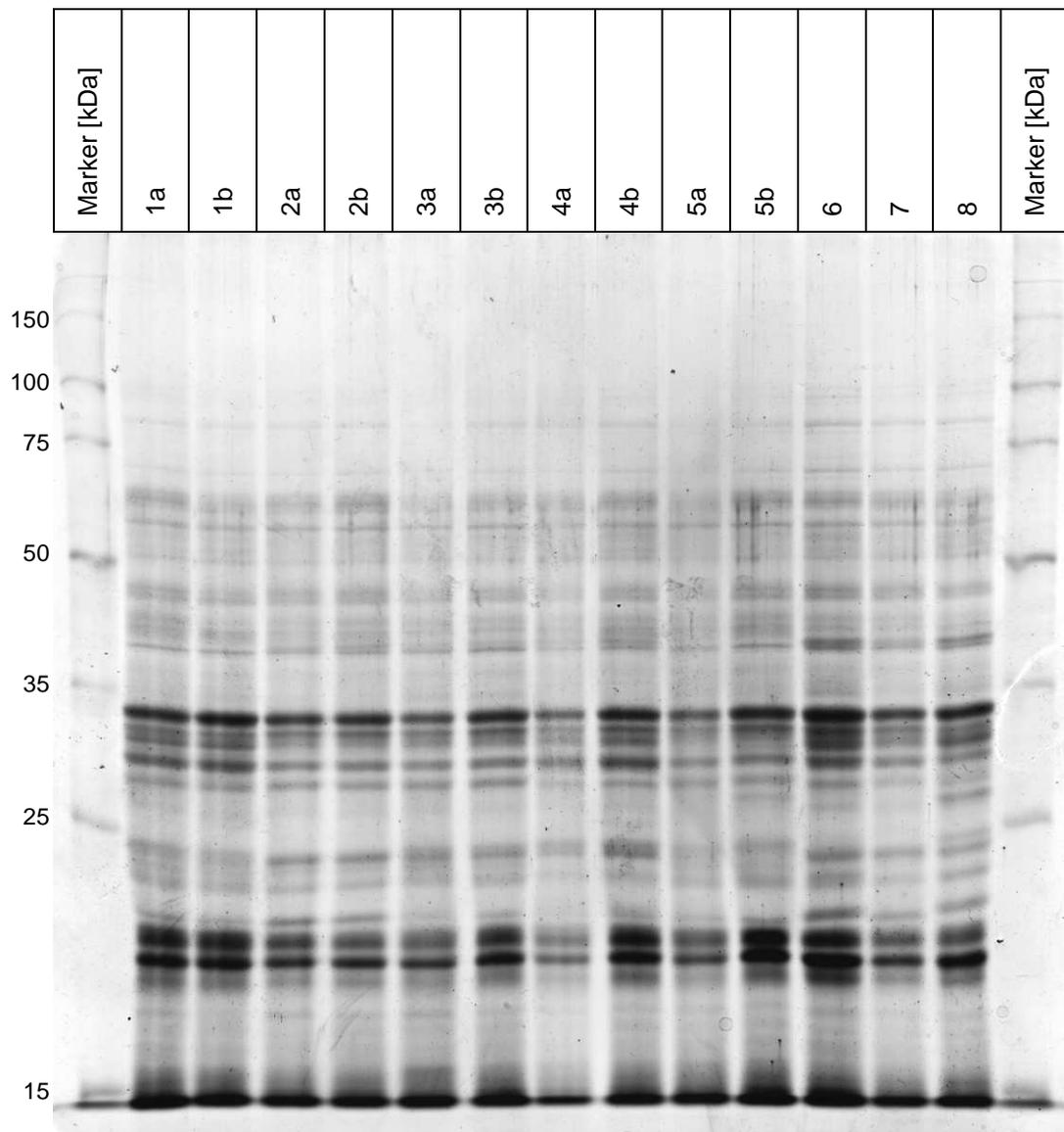


Abbildung 4.12: SDS-PAGE (10% T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Hafersorten

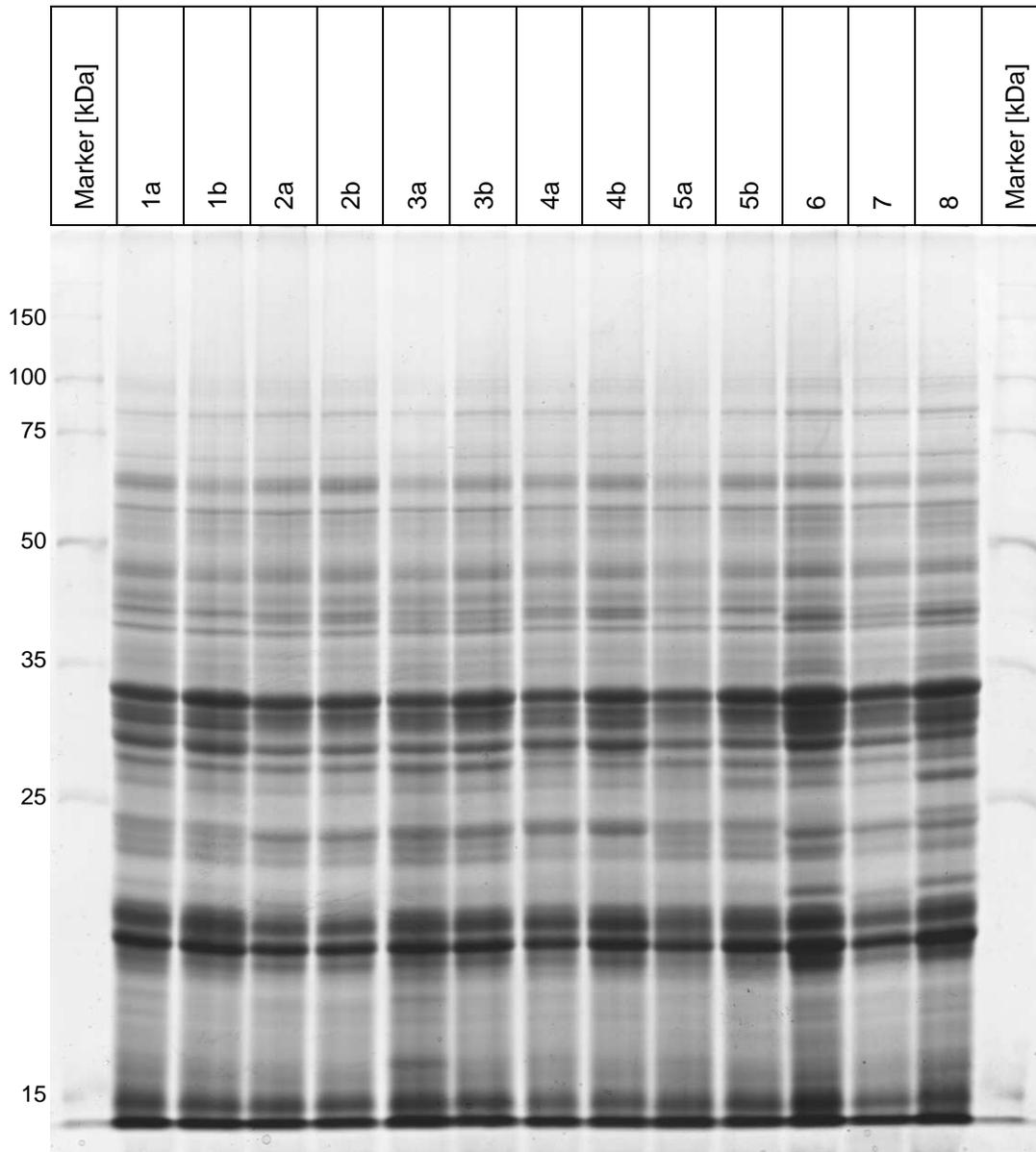


Abbildung 4.13: SDS-PAGE (11% T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Hafersorten

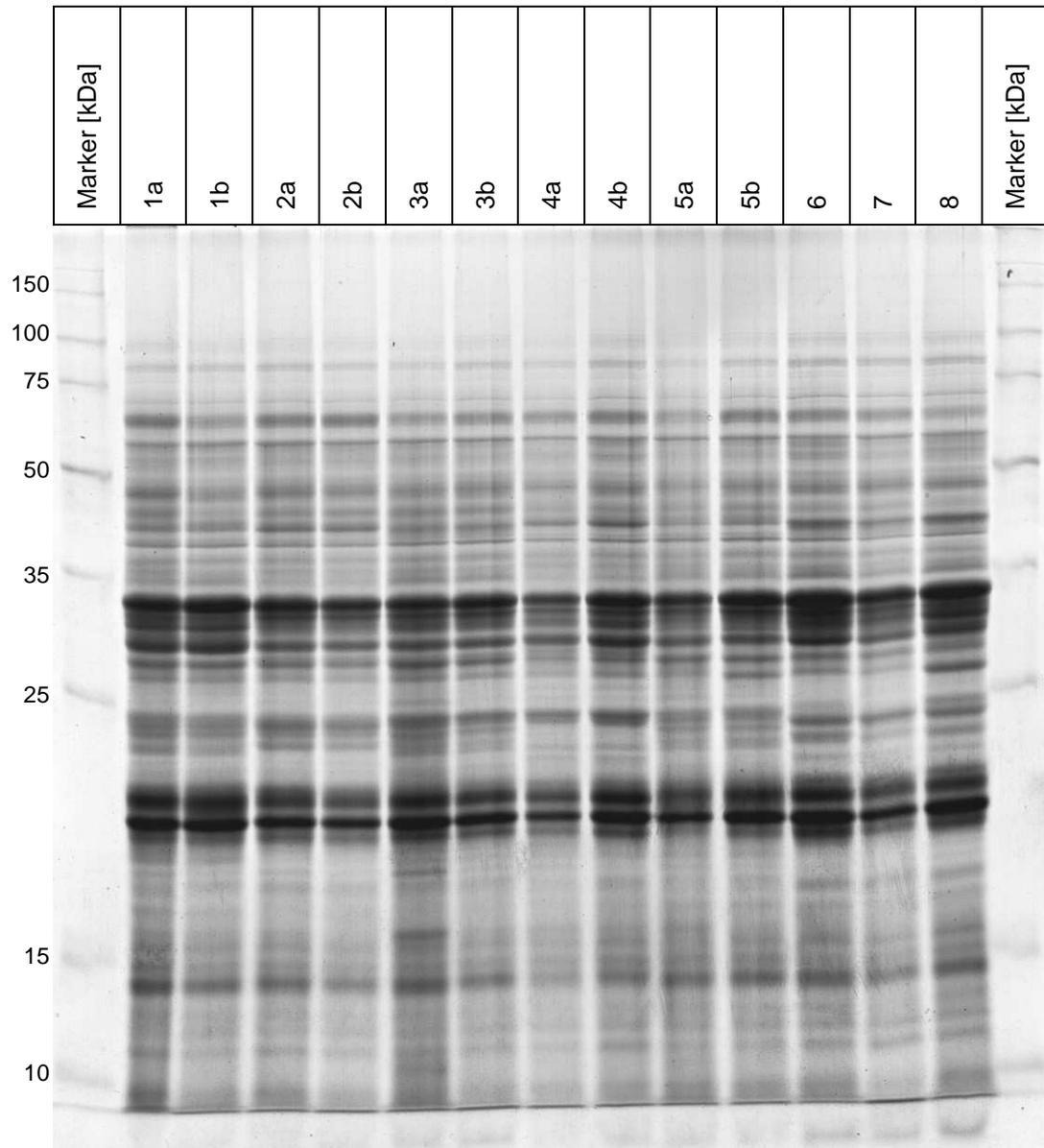


Abbildung 4.14: SDS-PAGE (12,5% T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Hafersorten

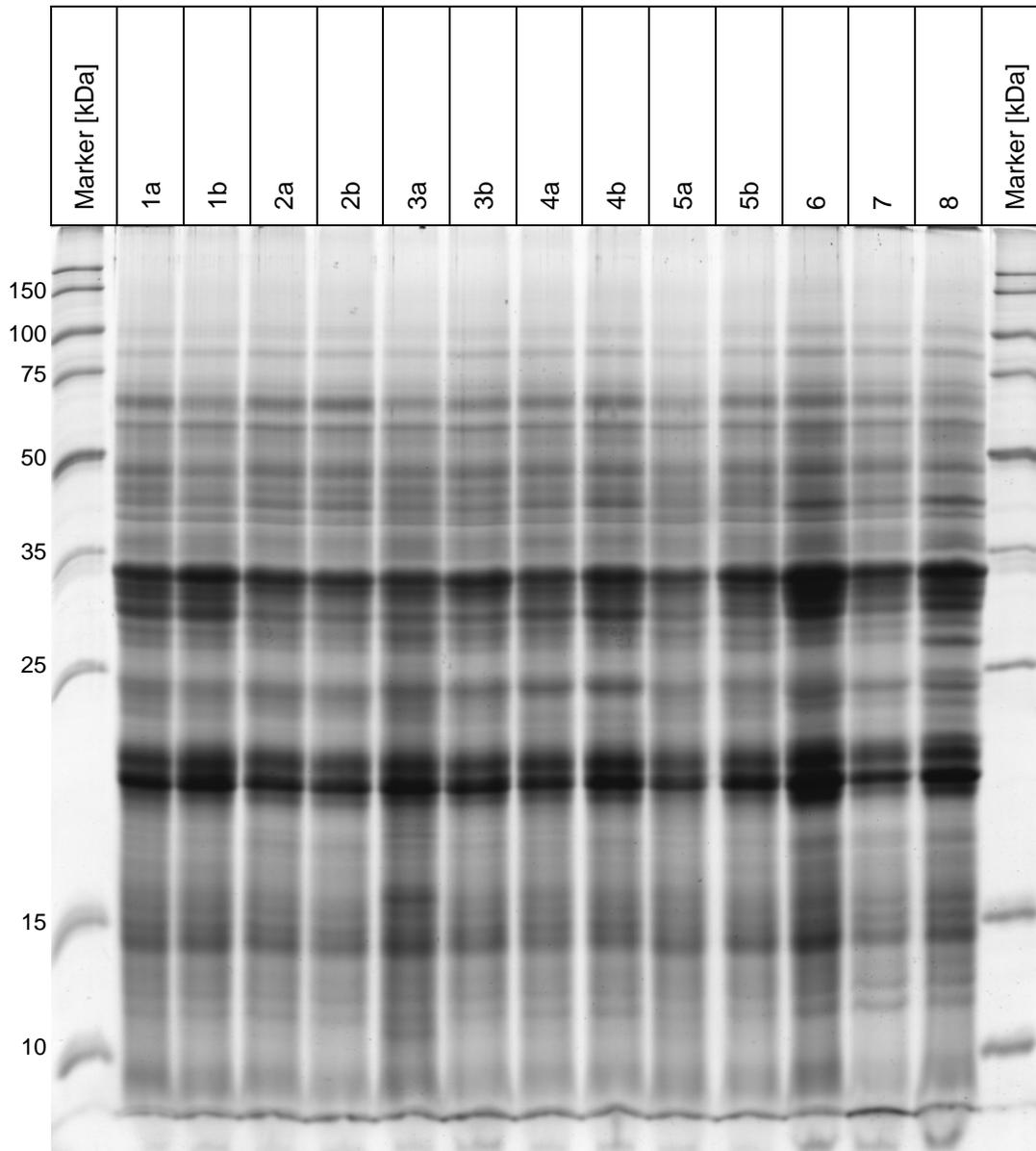


Abbildung 4.15: SDS-PAGE (13 % T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Hafersorten

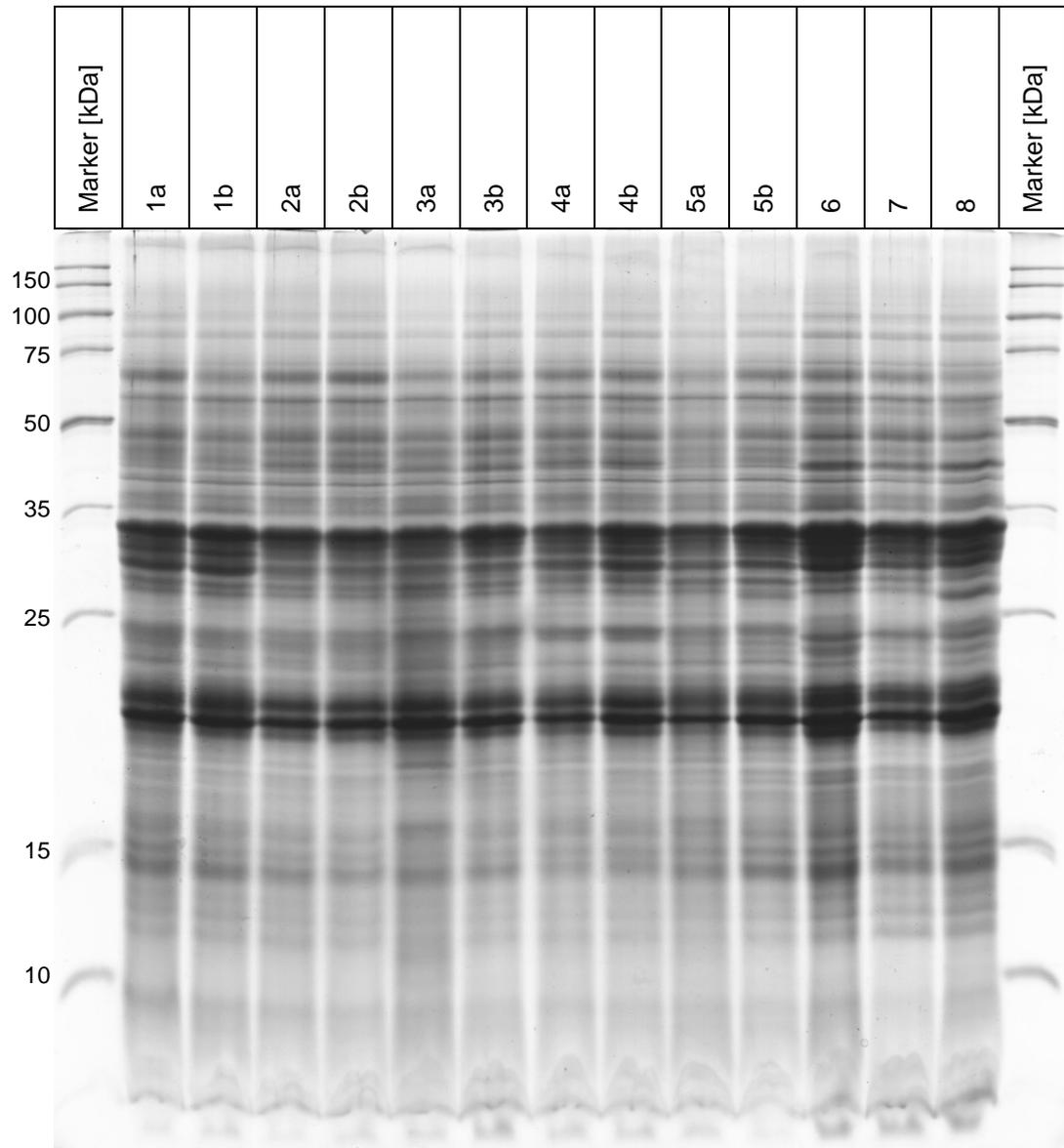


Abbildung 4.16: SDS-PAGE (14 % T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Hafersorten

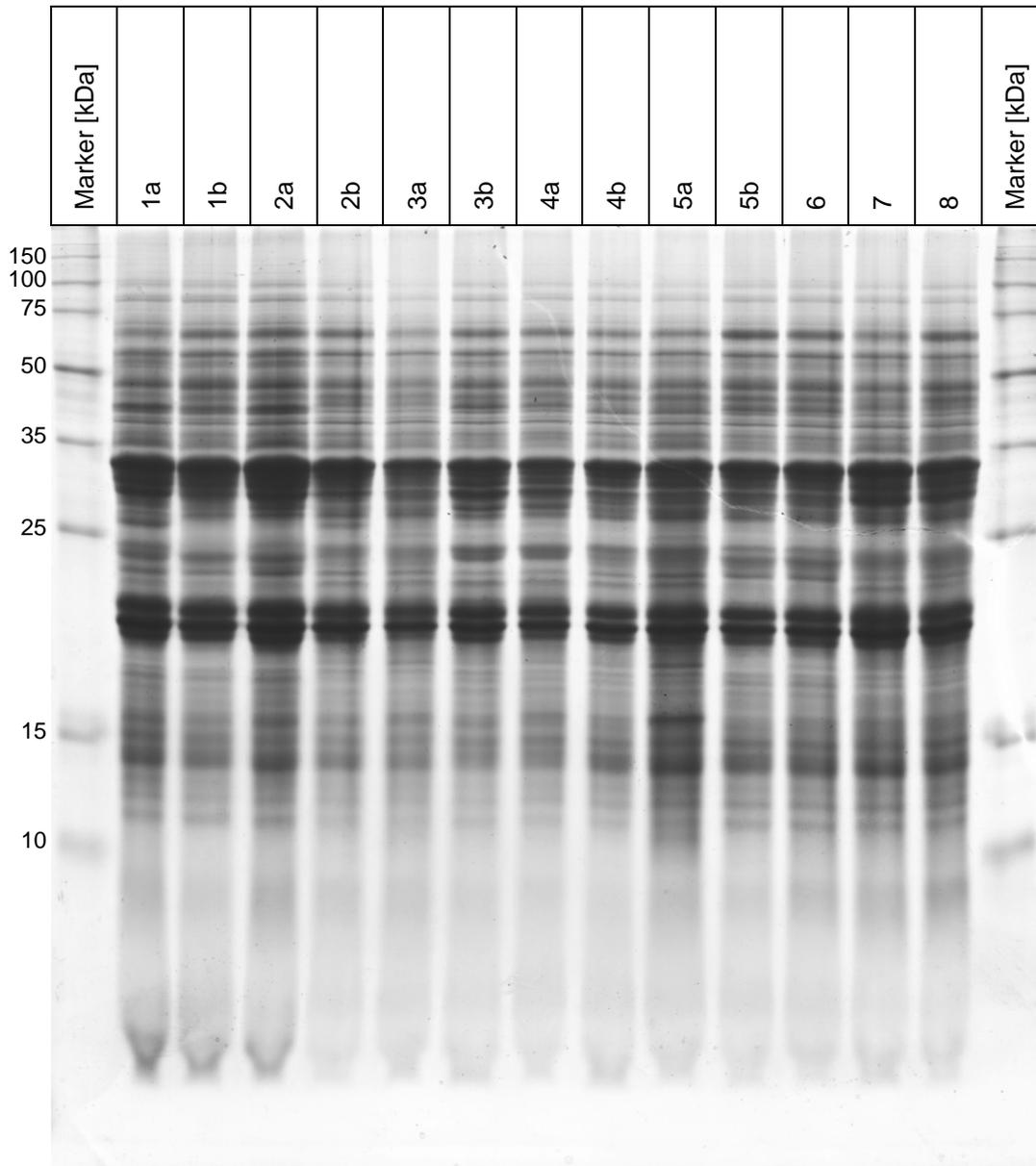


Abbildung 4.17: SDS-PAGE (15 % T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Hafersorten

4.6.2. Gelserie der Getreideproben

In den folgenden Abbildungen wird die Gelserie der Getreideproben gezeigt.

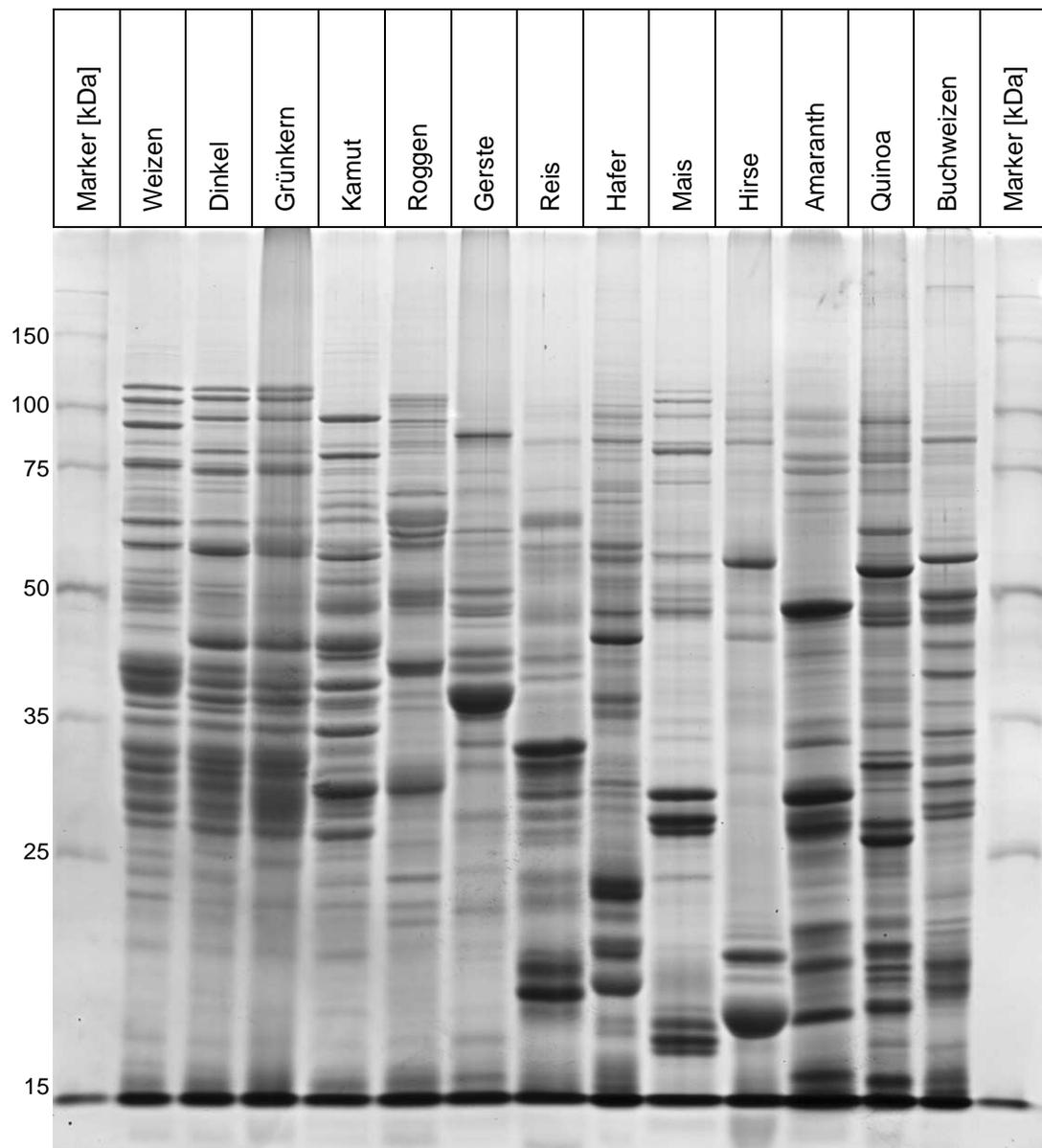


Abbildung 4.18: SDS-PAGE (10% T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Getreidearten

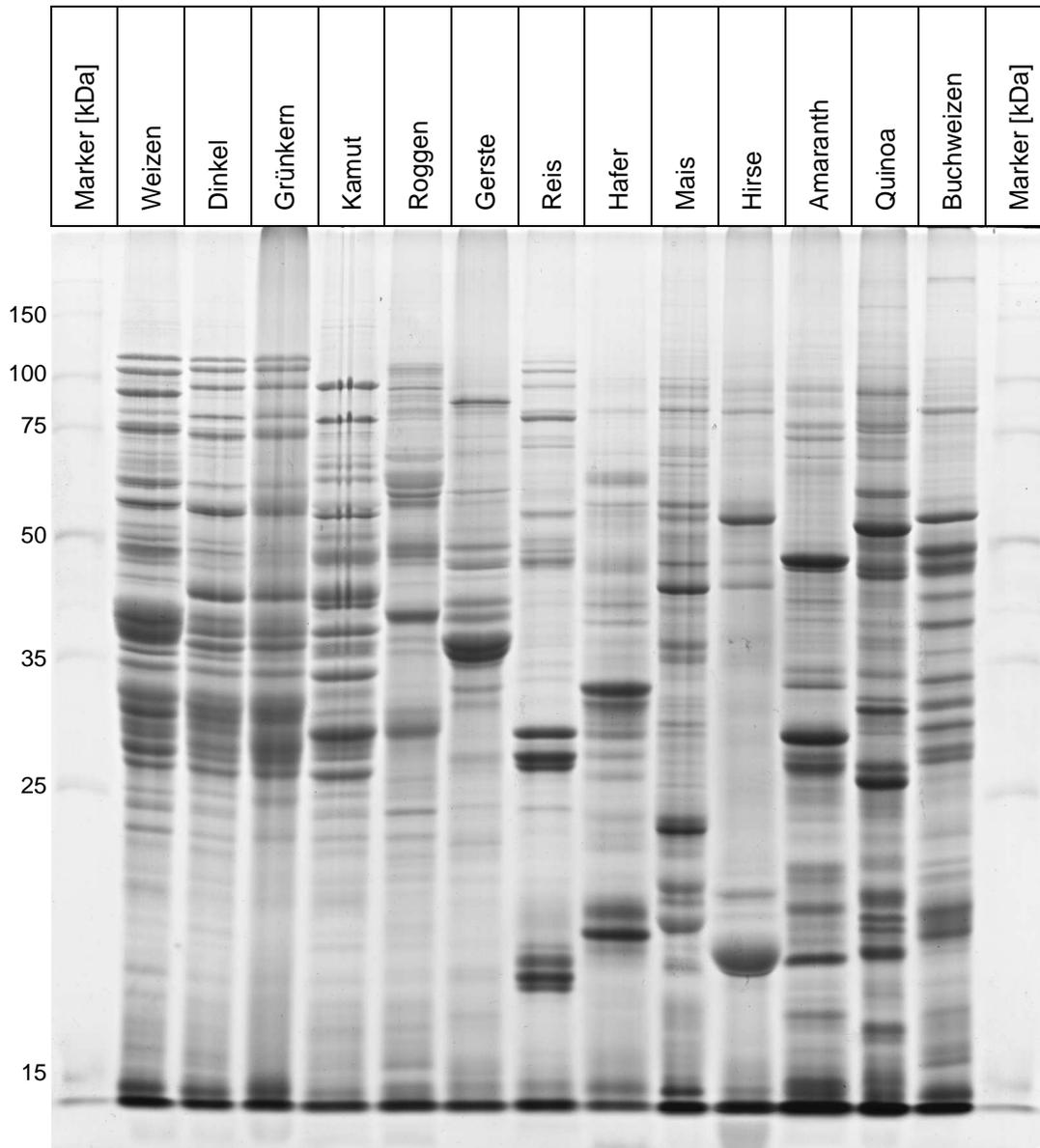


Abbildung 4.19: SDS-PAGE (11% T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Getreidearten

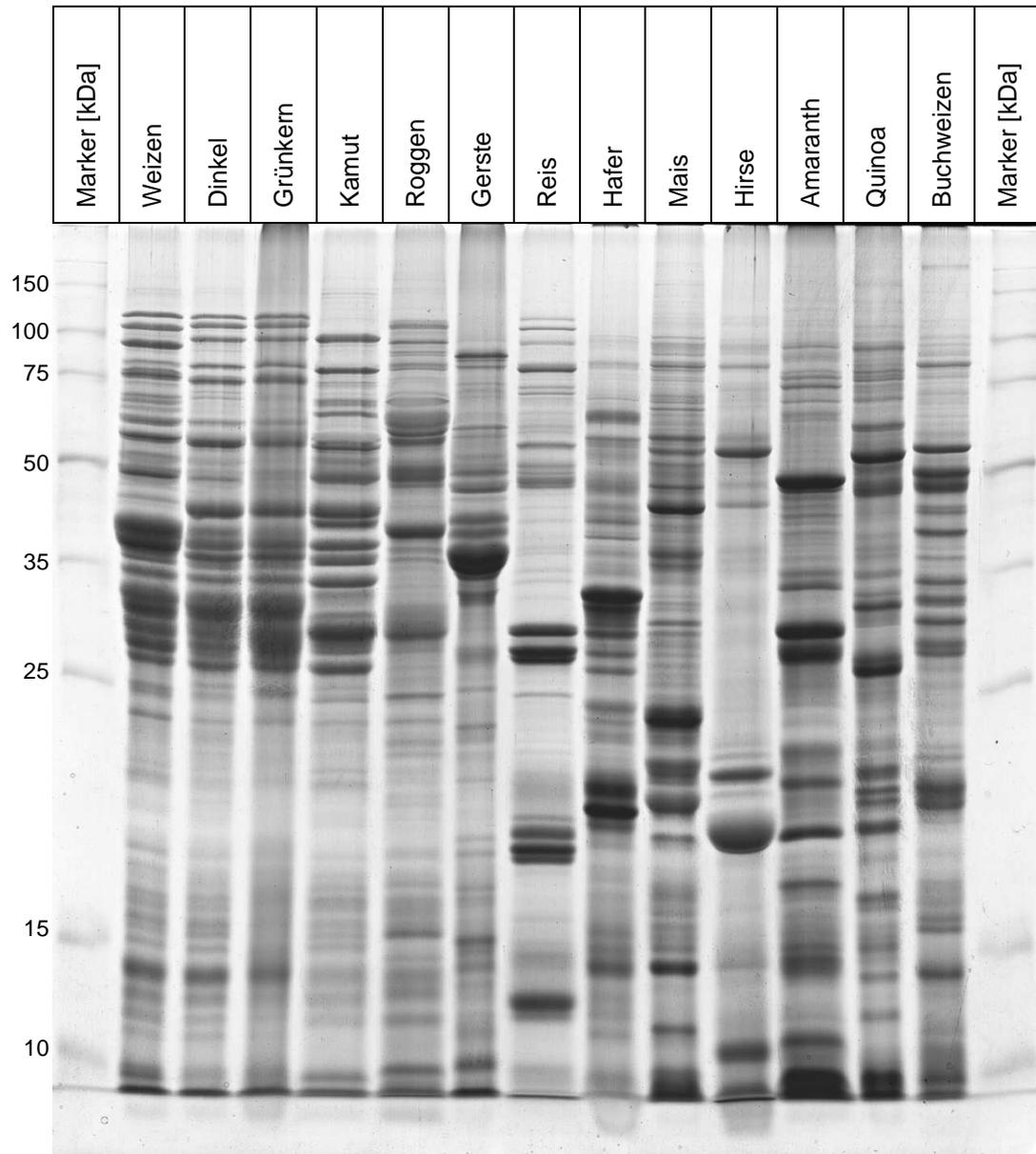


Abbildung 4.20: SDS-PAGE (12,5% T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Getreidearten

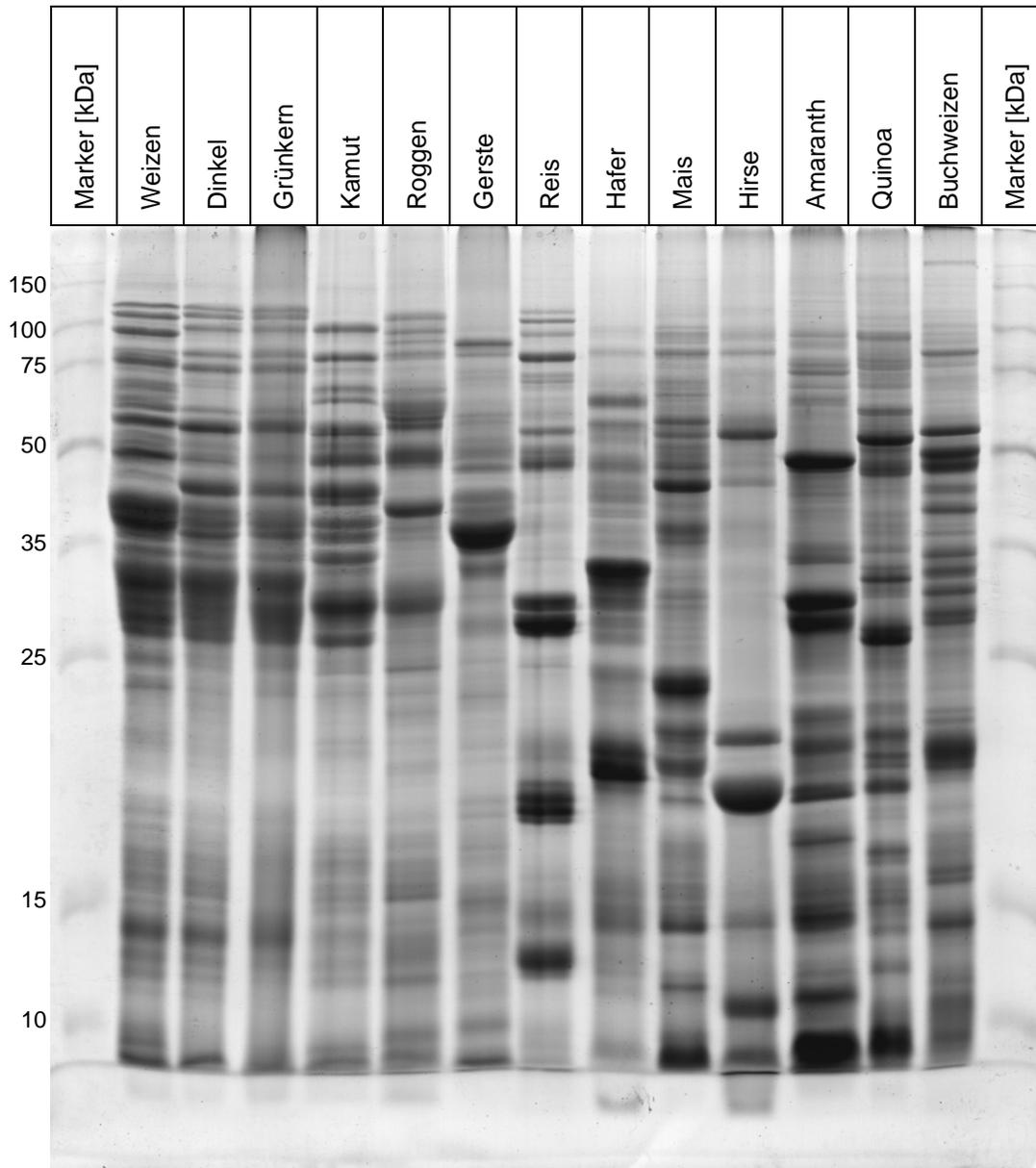


Abbildung 4.21: SDS-PAGE (13% T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Getreidearten

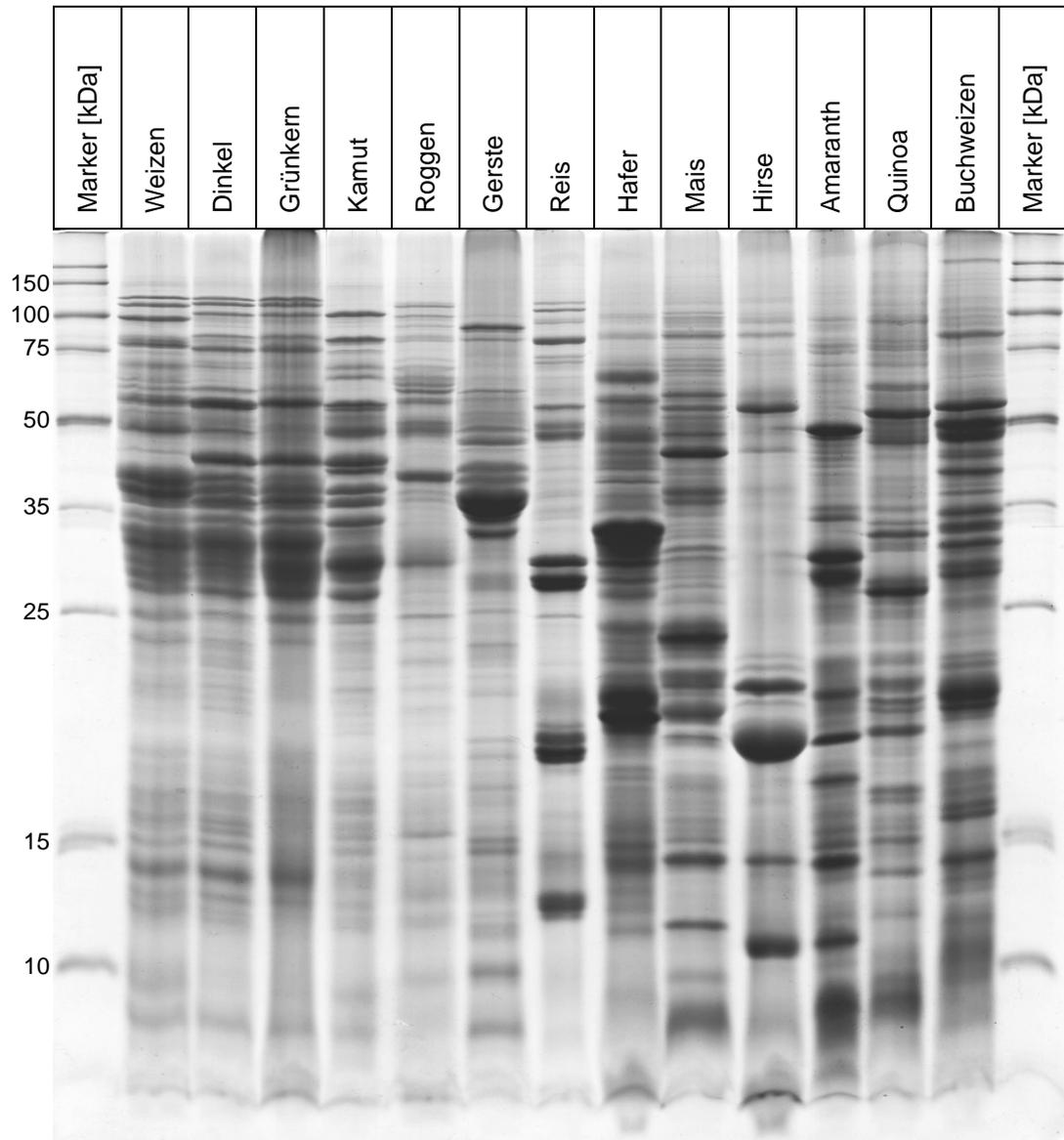


Abbildung 4.22: SDS-PAGE (14% T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Getreidearten

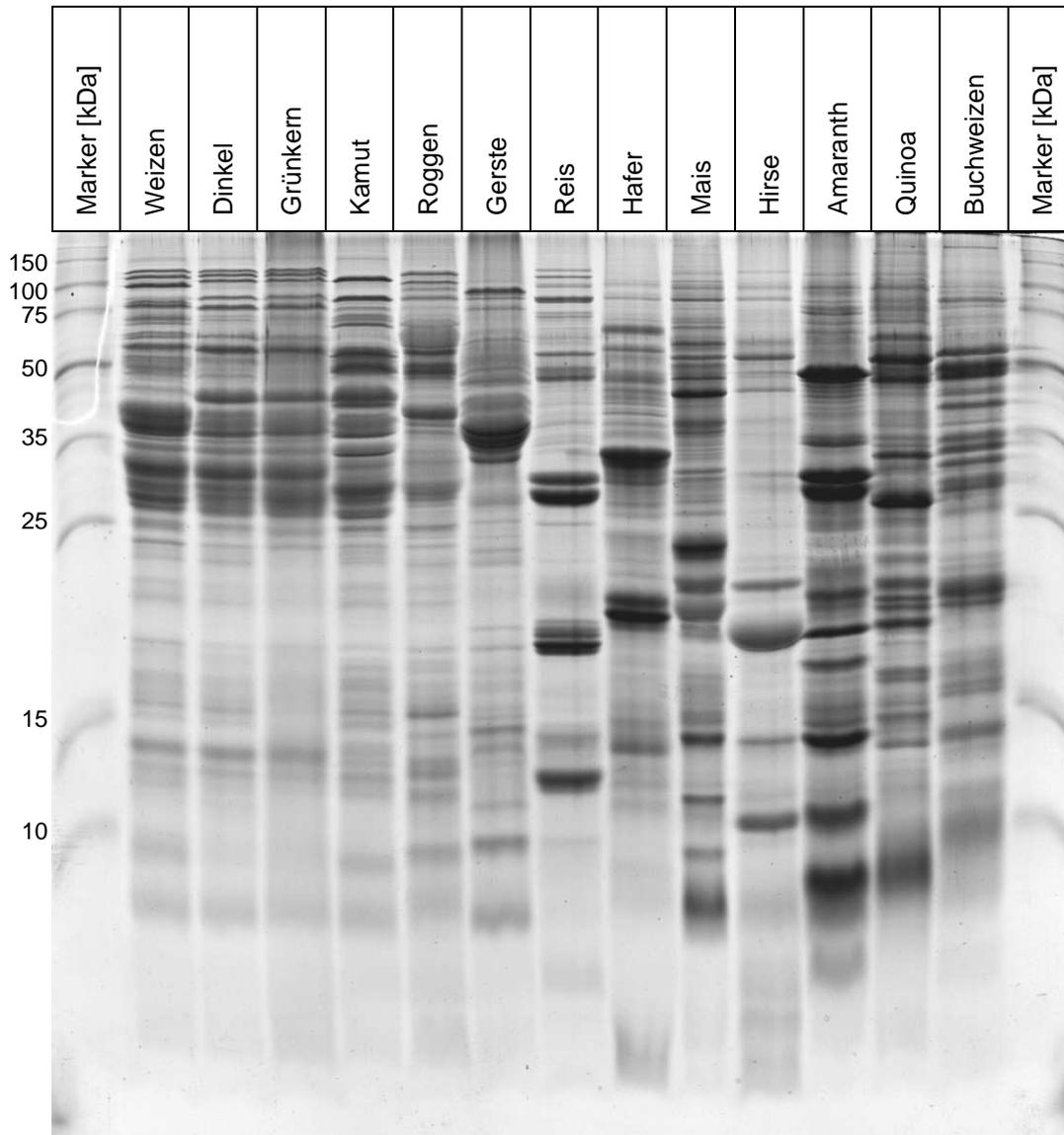


Abbildung 4.23: SDS-PAGE (15% T) der Gesamtproteinfraktion verschiedener Getreidearten

4.6.3. Gelserie Getreide vs. Getreidemehl

Die folgenden Abbildungen zeigen die Vergleichsgele Getreidekorn mit Getreidemehl.

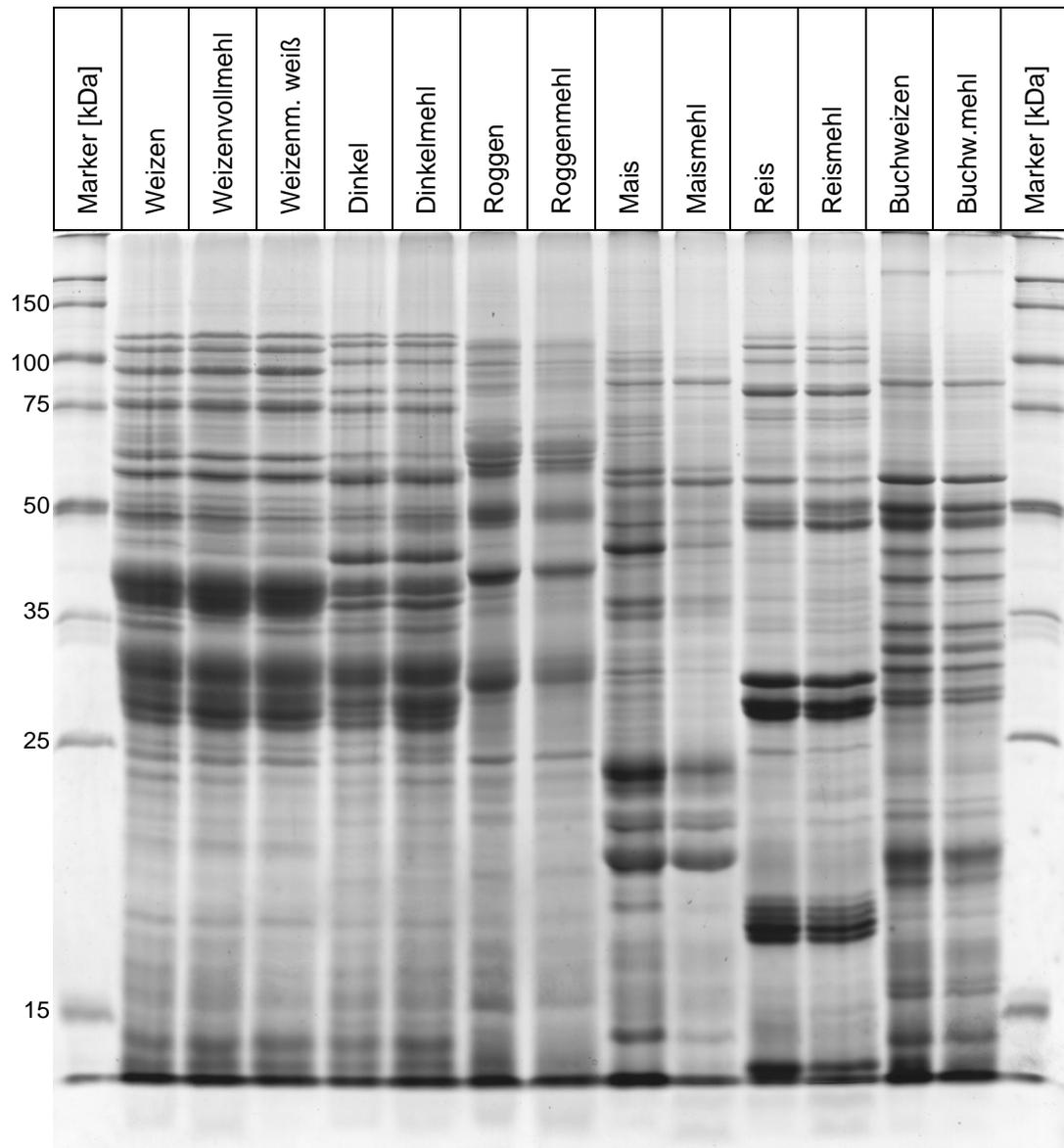


Abbildung 4.24: SDS-PAGE (11% T) der Vergleichsgele Getreide vs. Getreidemehl

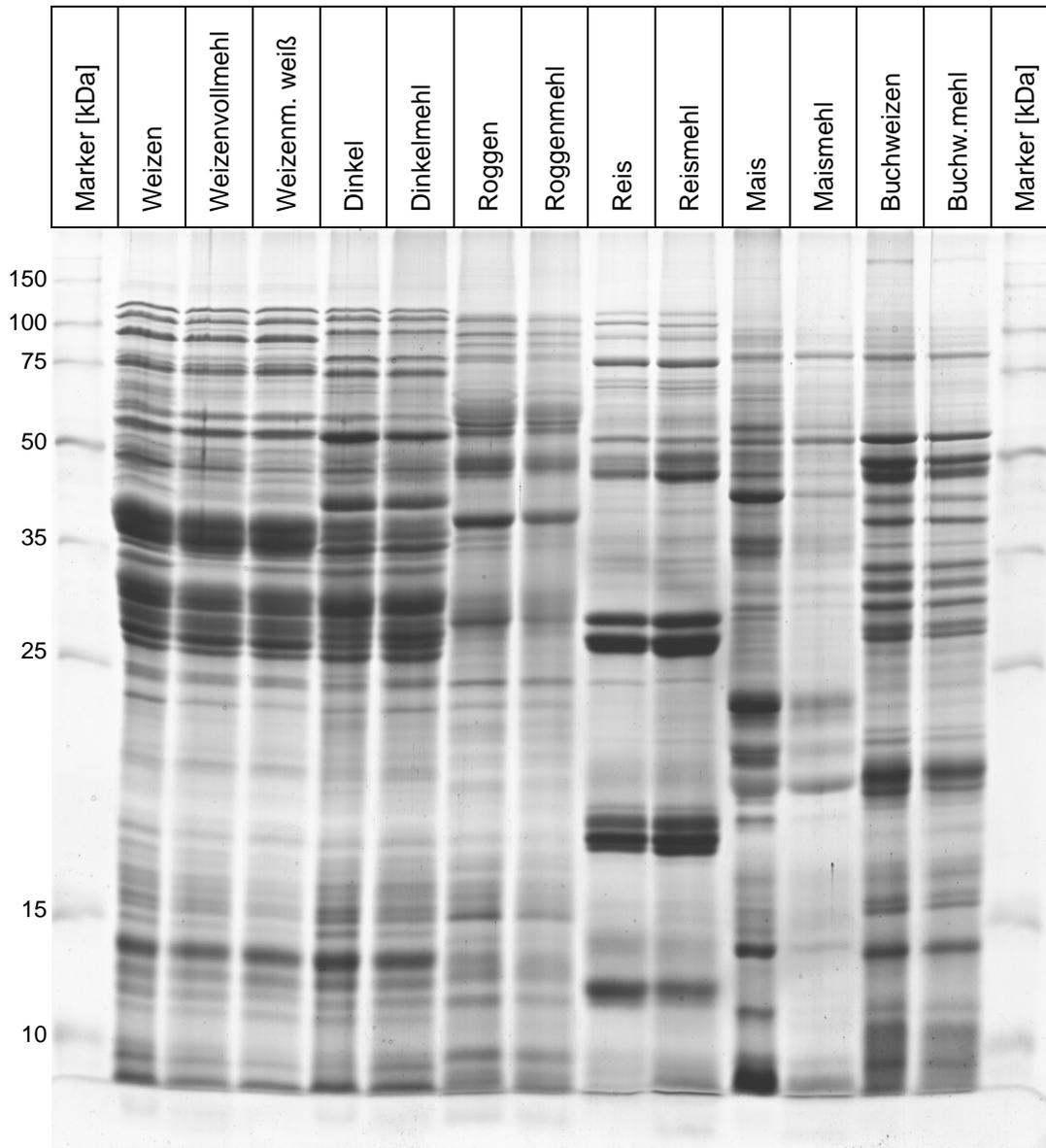


Abbildung 4.25: SDS-PAGE (12,5% T) der Vergleichsgele Getreide vs. Getreidemehl

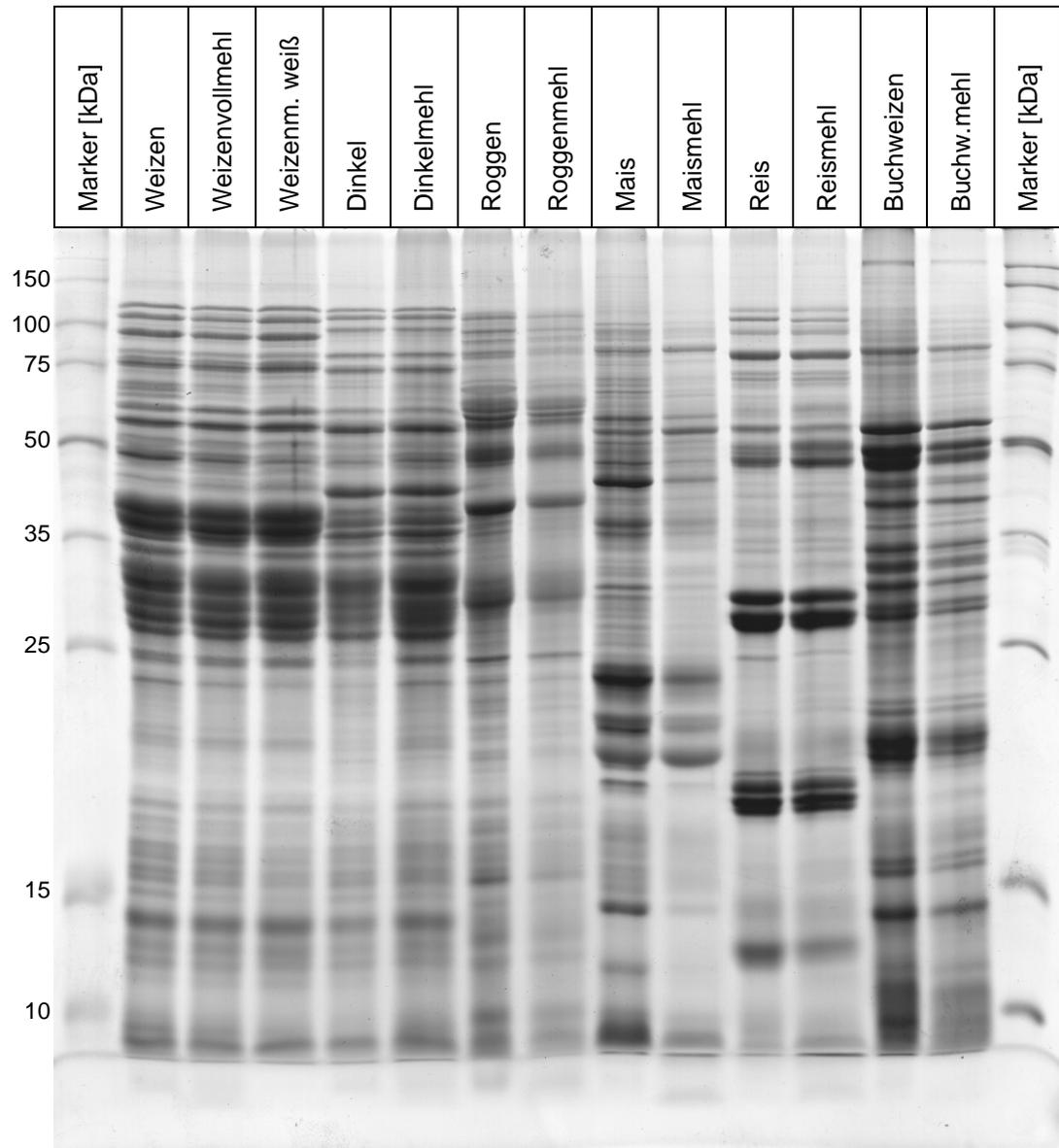


Abbildung 4.26: SDS-PAGE (13% T) der Vergleichsgele Getreide vs. Getreidemehl

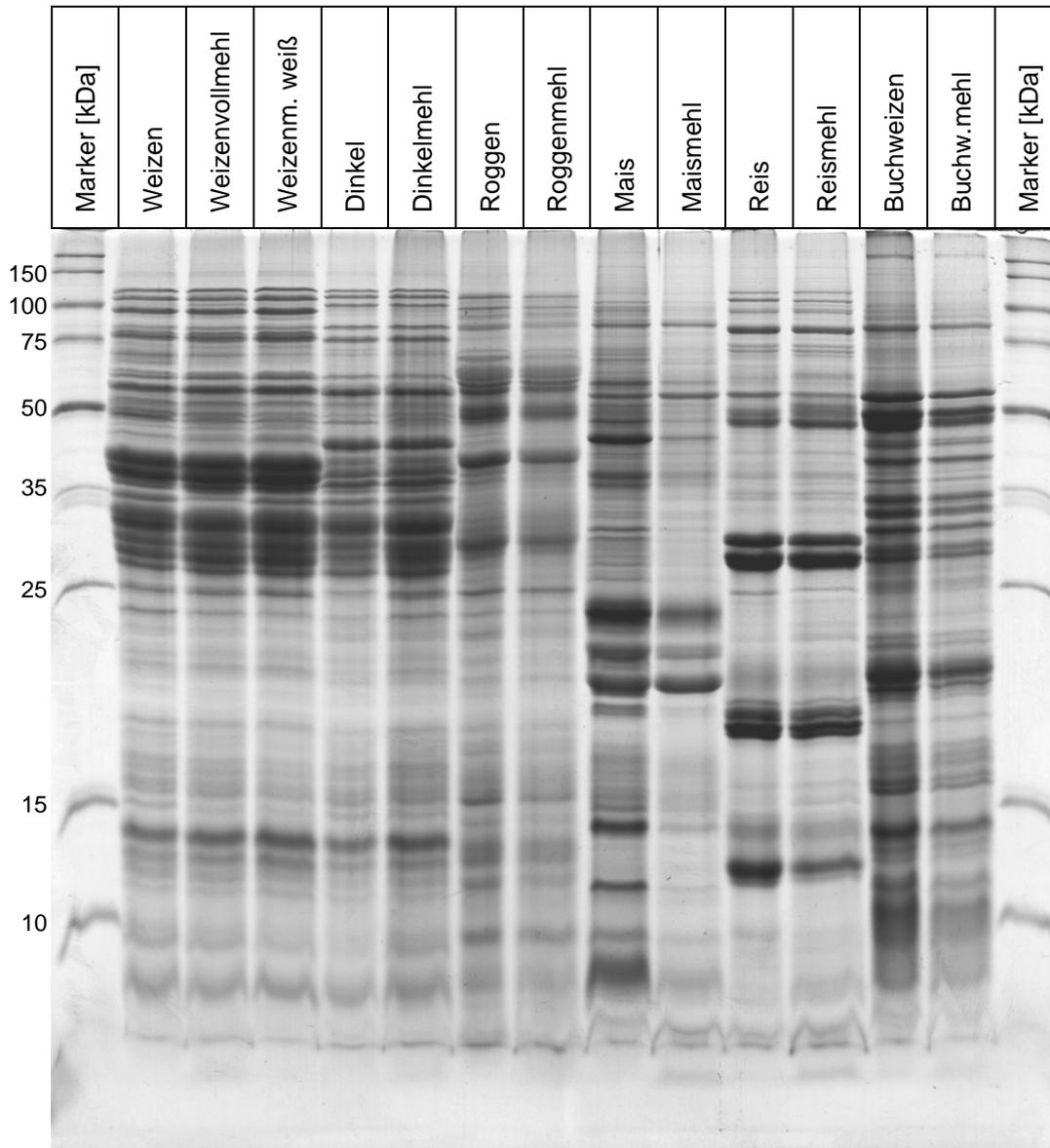


Abbildung 4.27: SDS-PAGE (14% T) der Vergleichsgele Getreide vs. Getreidemehl

4.6.4. Allgemeine Bewertung der Gele

Anhand der Gelserien mit verschiedenen Acrylamidkonzentrationen (vgl. Abbildungen in den letzten Kapiteln) wird ersichtlich, dass die verschiedenen Gele zu unterschiedlich dichten Molekularsieben vernetzt sind und damit zu sehr unterschiedlichen Trennleistungen führen. Hochprozentigere Gele eignen sich grundsätzlich besser zur Auftrennung von Proteinen mit niedrigerer M_r , während damit viele hochmolekulare Banden, etwa von Weizen, nur unzureichend aufgetrennt werden können und „aneinanderkleben“ bzw. sich fallweise sogar überlagern. Niederprozentige Gele sind gut geeignet zur Auftrennung des hochmolekularen Bereiches und sind daher speziell für die HMW-Banden der *Triticeae* sehr effektiv, sie grenzen aber dafür niedermolekulare Proteineinheiten komplett aus. Ein Kompromiss kann durch die Verwendung von Gelen mit mittlerem Prozentgehalt (z.B. 12,5% T) eingegangen werden. Allerdings variieren abhängig von der Getreideart die Zusammensetzung und Molekulargewichte der Proteinuntereinheiten stark, sodass kein allgemeingültiger Schluss über die optimalen Gelparameter getroffen werden kann und dies individuell für jede Getreideart anzupassen ist.

Die verschiedenen Haferproben werden auf eigene Gelserien aufgetragen, um die Bandenmuster miteinander zu vergleichen. Leider treten bei einigen Gelen Unschärfefeffekten und leicht verwaschene Banden auf. Was jedoch sichtbar ist, sind Polymorphismen bei einigen Banden, die man zur Sortencharakterisierung heranziehen könnte. Da alle Proben mit der gleichen standardisierten Einwaage von 40 mg aufbereitet wurden, lässt sich zum Teil auch eine Korrelation zwischen Bandenintensität und Rohproteingehalt (vgl. Kapitel 4.5) erahnen. Da die meisten Haferproteine von niedrigem bis mittlerem Molekulargewicht sind und hochmolekulare Untereinheiten im Hafer fehlen, sind für deren Auftrennung eher die mittelprozentigen Gele von Vorteil.

Die Getreidegele zeigen erwartungsgemäß sehr unterschiedliche Bandenmuster zwischen den einzelnen Arten, aber auch die engere botanische Verwandtschaft zwischen Weizen und Dinkel und etwas entfernter zu Roggen und Gerste, die Homologien in ihren Prolaminfraktionen aufweisen. Nur wenige

Banden und diese vorwiegend im niedermolekularen Bereich, weist dagegen die Hirse auf. Charakteristische niedermolekulare Banden zeigen auch die Getreidearten Reis und Mais.

In der dritten Gelserie werden die Getreidekorn- mit den Getreidemehlproben verglichen. Dabei zeigen sich zwischen Korn und Mehl keine nennenswerten Unterschiede im Bandenmuster. Die Banden von Maismehl sind nur schwach ausgeprägt. Hier hätte aufgrund des geringeren Rohproteingehaltes die Probeneinwaage angepasst, und anstatt der üblichen 40 mg etwas mehr Probenmaterial eingesetzt werden müssen.

4.6.5. Molekulargewichtsbestimmung und Charakterisierung der Proteine

Die Bestimmung der M_r erfolgt anhand der Banden des Größenmarkers. Dabei wird die relative Wanderstrecke (Quotient aus Wanderstrecke des Proteins und Wanderstrecke der Lauffront) gegen die Logarithmen der M_r der verschiedenen Markerbanden in einem Diagramm aufgetragen und eine lineare Regression erstellt. Über die daraus erhaltene Regressionsgleichung können die M_r der Proteinbanden, durch Einsetzen ihrer relativen Wanderstrecken, berechnet werden. Zu beachten ist dabei allerdings, dass die Regression je nach %T nur in bestimmten M_r -Bereichen annähernd linear verläuft. Aus diesem Grund wurden mehrere Regressionsgleichungen erstellt, um sowohl hochmolekulare, als auch niedermolekulare Proteineinheiten auswerten zu können. Die Auswertung von Banden zwischen ~10 und 30 kDa erfolgt anhand von Gelen mit $T = 15\%$, zwischen ~30 und 50 kDa mit $T = 12,5\%$ und zwischen ~50 und 100 kDa mit $T = 10\%$.

In den nun folgenden Kapiteln werden Molekulargewichte einiger charakteristischer Banden in den Getreidearten durch Größenberechnungen ermittelt und durch Vergleichen mit Angaben aus der Literatur den einzelnen Untereinheiten und Proteinfractionen zugeordnet und diskutiert.

4.6.6. Charakterisierung von Hafer

Die Charakterisierung der mittels SDS-PAGE aufgetrennten Haferproteine ist in Abbildung 4.28 ersichtlich.

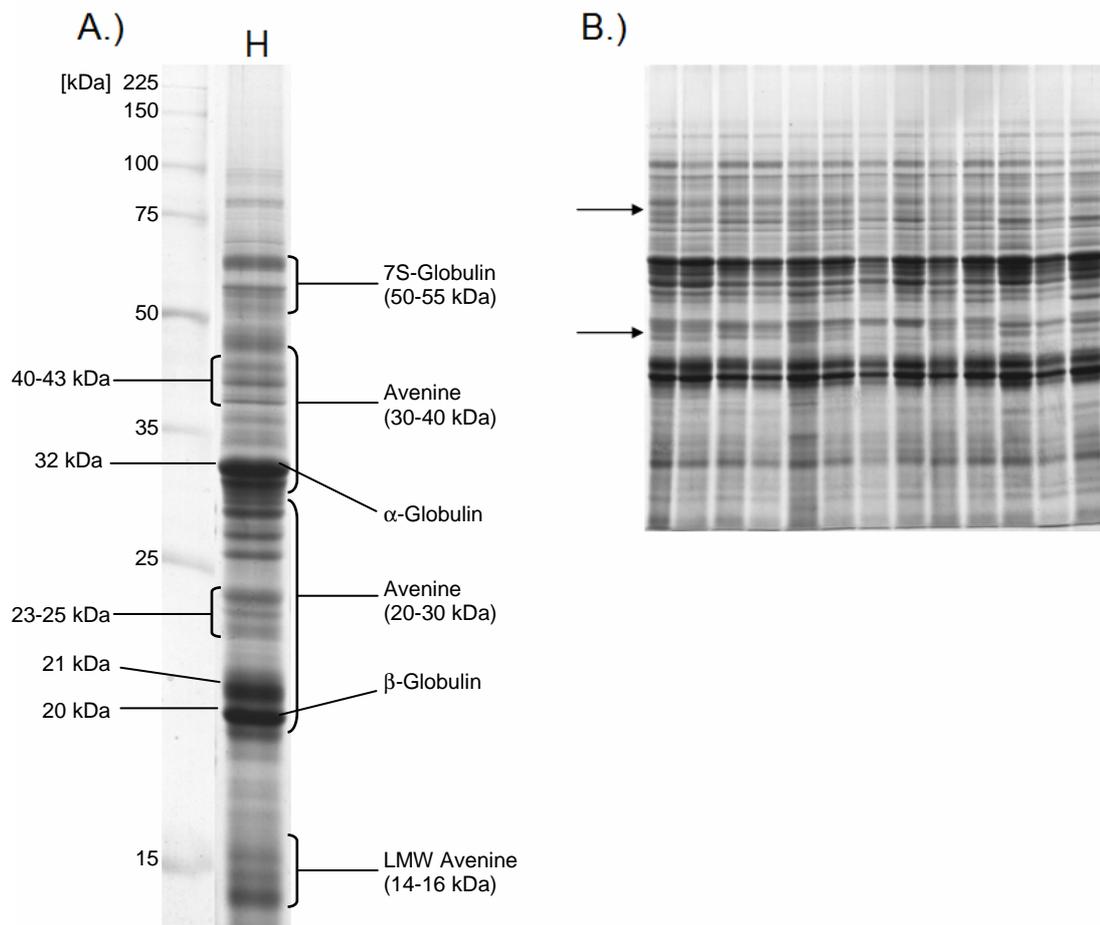


Abbildung 4.28: Molekulargewichtsbestimmung und Polymorphismen in Haferprotein

- A.) Molekulargewichtsbestimmung und Zuordnung der Proteine.
 B.) Polymorphismen im Bandenmuster treten besonders in den beiden mit Pfeilen markierten Regionen (Aveningruppen) auf.
 Die Ausschnitte wurden dem Gel mit 12,5%T entnommen

Die Speicherproteine von Hafer sind hauptsächlich zusammengesetzt aus Globulinen und (in geringerem Ausmaß) Prolaminen. Die Bandenzuordnung gestaltet sich teilweise schwierig, weil Avenine und Globuline ähnliche M_r aufweisen und folglich sich Banden in der Gesamtproteinfraktion am Gel überlagern können.

Das Proteinmuster von Hafer weist am SDS-Gel insgesamt 6 Bereiche mit charakteristischen Banden auf.

Bei den beiden dunklen Hauptbanden handelt es sich wahrscheinlich um die sauren (α -) und basischen (β -) Globulin-Untereinheiten, die laut Shewry (1996) bei 32 bzw. 23 kDa liegen, wobei jedoch am vorliegenden Gel die 23 kDa-Bande etwas tiefer, bei ungefähr 19-20 kDa liegt. Eine weitere, etwas schwächere Bande liegt bei 21 kDa vor.

Die beiden weniger intensiven Bereiche bei 23-25 kDa bzw. 40-43 kDa könnten zu den Haferprolaminen, den Aveninen, gehören. Laut Literaturangaben haben die Avenine Banden bei 20-30 kDa bzw. bei 30-40 kDa [Shewry, 1996]. Diese beiden Bereiche sind auch jene, die viele Polymorphismen (vergleiche Bild B aus Abbildung 4.28) zeigen, was ein weiteres Indiz dafür wäre, dass es sich um Prolamine handeln könnte. Weitere Avenin-Banden findet man auch im niedermolekularen Bereich bei 14-16 kDa.

Im höhermolekularen Bereich liegen weiters Banden vor, die den 7S-Globulinen zugeschrieben werden können. Laut Kriz (1999) weisen die 7S-Globuline von Hafer eine Masse von etwa 50-55 kDa auf.

Da es bei Hafer so viele sich überlagernde Bereiche gibt, ist es teilweise schwierig, alleine aus einem Elektropherogramm des Gesamtproteins genaue Bandenzuordnungen zu treffen. Ein Teil der Banden im Bereich 20-40 kDa ist daher nicht eindeutig einer bestimmten Proteinfraktion zuzuordnen. Um detailliertere Informationen zu den beiden wichtigen Speicherproteinfractionen Prolamine und Globuline zu erhalten, wäre es notwendig, jeweils Extrakte der alkohollöslichen Avenine und der salzlöslichen Globuline auf das Gel aufzutragen. Dies wäre auch ein entscheidender Aspekt im Hinblick auf die Untersuchung von Polymorphismen.

4.6.7. Charakterisierung der Triticeae

Die Gruppe der Triticeae umfasst, neben Weizen und Dinkel, die Getreidearten Roggen und Gerste. Besonders zwischen Weizen und Dinkel ist die enge Verwandtschaft deutlich zu sehen. Charakteristisch für die Triticeae sind ihre

hochmolekularen Proteinuntereinheiten mit relativen Molekülmassen von teilweise über 100 kDa. Beim Weizen handelt es sich dabei um die HMW-Glutenin-Untereinheiten (HMW-GS) die ein entscheidendes Qualitätskriterium für die Backeigenschaften des Weizens sind [Payne et al., 1987].

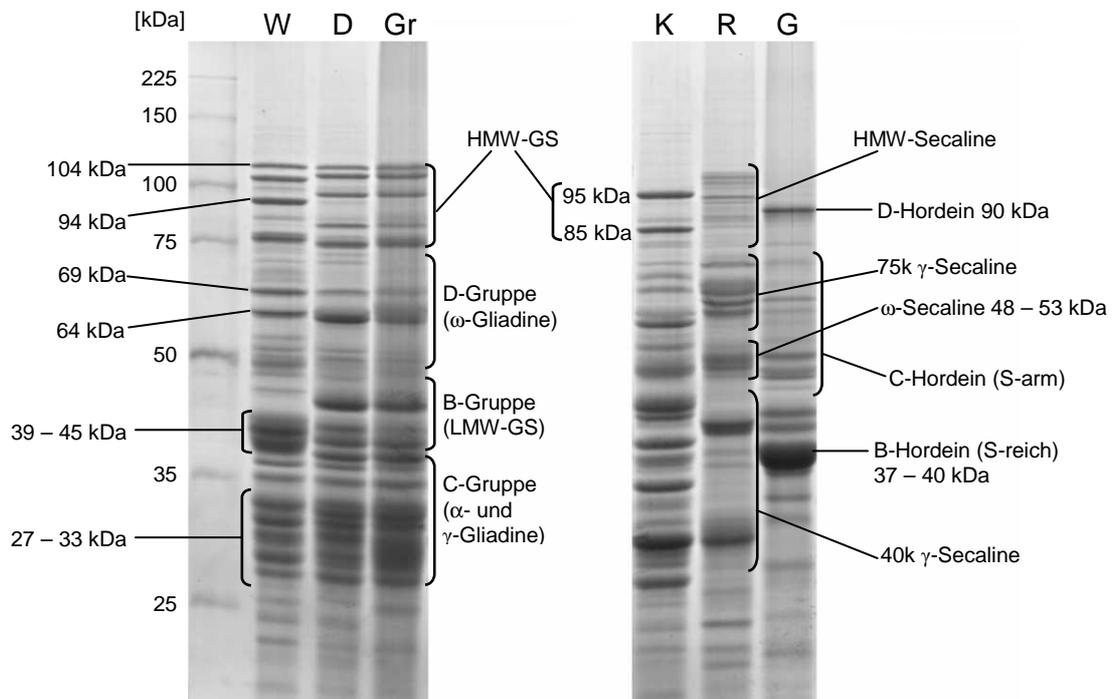


Abbildung 4.29: Molekulargewichtsbestimmung und Zuordnung der Proteine der Triticeae
von links nach rechts: Weizen, Dinkel, Grünkern, Kamut, Roggen, Gerste;
Ausschnitte aus dem Gel mit 10%T

Die Proteine der Gruppe der Triticeae werden in Abbildung 4.29 charakterisiert.

Die HMW-Untereinheiten können am SDS-Gel sehr deutlich charakterisiert werden. Die HMW-GS von Weizen weisen vier, die von Dinkel fünf typische, dicke Banden im Bereich von ~100-70 kDa auf, die höchste Bande wurde in der vorliegenden Weizenprobe mit einer Masse von 104 kDa gemessen. HMW-GS weisen Polymorphismen auf, die zur Differenzierung von Weizensorten und zur Bewertung der Backqualität herangezogen werden können [Payne et al., 1987].

Die S-reichen und S-armen Prolaminfraktionen von Weizen werden in drei Gruppen eingeteilt. Im mittlere Molekularbereich (D-Gruppe) folgen bei Weizen die ω -Gliadine, die zu den schwefelarmen Gliadin-Untereinheiten gehören. In

der vorliegenden Weizenprobe liegen in jenem Bereich zwei Banden bei 65 bzw. 69 kDa vor, die vermutlich den ω -Gliadinen zuzuordnen sind.

Problematisch ist die genauere Zuordnung der LMW-Untereinheiten und der S-reichen Gliadin-Fraktion, der α - und γ -Gliadine, da in diesem Bereich sehr viele Banden knapp aneinander liegen. Bedeutende Bereiche mit einer besonders großen Bandendichte liegen auf dem vorliegenden Gel etwa bei 39-45 kDa (zugehörig zur B-Gruppe, LMW-GS) und bei 27-33 kDa (zugehörig zur C-Gruppe, α - und γ -Gliadine). Zur genaueren Identifikation wäre hier wiederum die Anwendung eines Extraktionsverfahrens sinnvoll, das eine Trennung von Gluteninen und Gliadinen ermöglicht.

Die Banden von Kamut unterscheiden sich merklich von Weizen und Dinkel. Augenscheinlichster Unterschied zu Weizen und Dinkel ist das teilweise Fehlen der dicken HMW-Banden. Lediglich zwei dickere Banden im HMW-Bereich sind bei 95 bzw. 85 kDa vorhanden. LMW-GS und Gliadine müssten in Kamut allerdings in ähnlicher Form vorhanden sein.

Gut einordnen lassen sich die Roggenprolamine, auch Secaline genannt. Diese sind in vier Untergruppierungen eingeteilt. Ähnlich wie beim Weizen, liegen im Roggen HMW-Secaline ungefähr bei 100-70 kDa vor. Diese weisen allerdings dünnere und schwächere Banden auf, als die HMW-GS. Die schwefelarmen ω -Secaline liegen etwa bei 50 kDa. Eine Besonderheit des Roggens sind seine Secaline vom γ -Typ. Diese liegen sowohl in einer monomeren Form bei etwa 40 kDa (40k γ -Secaline), als auch in polymerer Form bei etwa 75 kDa (75k γ -Secaline) vor [Shewry, 1996].

Das Proteinmuster der Gerste weicht etwas mehr vom Weizen ab. Generell weist die diploide Gerste naturgemäß weniger Polymorphismen auf, als der hexaploide Weizen. Die HMW-Untereinheiten der Gerste (D-Hordein) liegen nur als eine einzige, sehr dicke Bande vor, die am vorliegenden Gel eine Masse von etwa 90 kDa hat. Darunter folgt ein relativ unspezifischer Bereich mit nur wenigen, hellen Banden, die den schwefelarmen Untereinheiten (C-Hordeinen) zuzuordnen sind, die jedoch nur schwächer ausgeprägt sind. Im Bereich um

37-40 kDa liegt eine dicke B-Hordein-Bande, die homolog zur B-Gruppe von Weizen ist [Shewry, 1996].

4.6.8. Charakterisierung von Reis, Mais und Hirse

In Abbildung 4.30 werden die Proteine von Reis, Mais und Hirse charakterisiert.

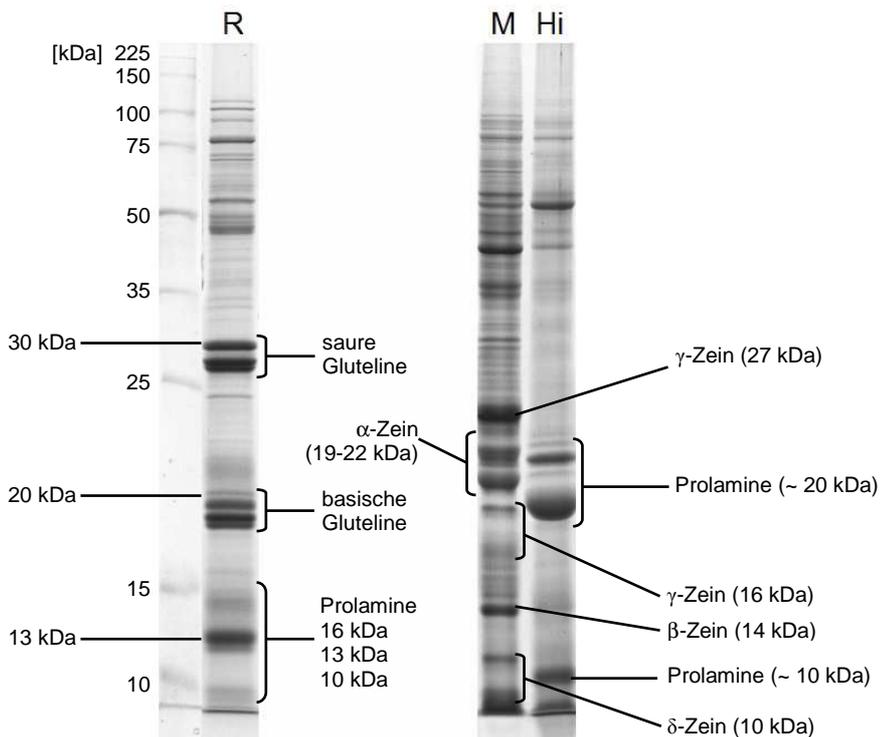


Abbildung 4.30: Molekulargewichtsbestimmung und Zuordnung der Proteine von Reis, Mais und Hirse
Ausschnitte aus dem Gel mit 10%T

In Reis spielen, wie beim Hafer, die Globuline eine wichtige Rolle als Speicherproteine. Diese werden wegen ihres abweichenden Löslichkeitsverhaltens in der Osborne-Fraktionierung (Salzlöslichkeit nur nach Denaturierung) als Gluteline bezeichnet. In der SDS-PAGE treten die Gluteline durch zwei charakteristische Gruppen in Erscheinung, die man, analog zum Hafer, in große oder saure Untereinheiten und kleine oder basische Untereinheiten aufteilt. Weiters charakteristisch für Reis sind seine niedermolekularen Prolamine, die eine Masse von etwa 10, 13 und 16 kDa haben.

Sehr gut charakterisierbar sind die Zeine mit ihren verschiedenen Untereinheiten im Bereich von 10 bis 27 kDa.

Hirseprolamine sind entfernter mit den Zeinen verwandt. In der vorliegenden Milletart treten jedoch nur sehr wenige charakteristische Banden auf. Leite et al. (1999) beschreibt die Prolamine mit zwei Bereichen bei ~10kDa und ~20 kDa.

4.6.9. Charakterisierung der Pseudocerealien

In Abbildung 4.31 werden die Proteine der Pseudocerealien charakterisiert.

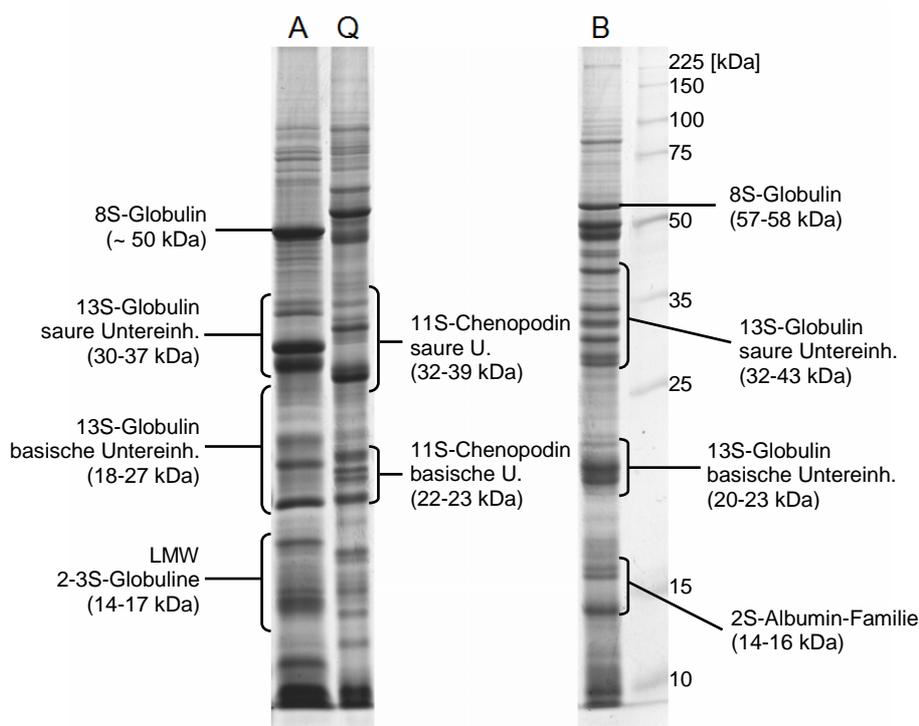


Abbildung 4.31: Molekulargewichtsbestimmung und Zuordnung der Proteine von Amaranth, Quinoa und Buchweizen.

Ausschnitte aus dem Gel mit 12,5% T

Die Pseudocerealien enthalten als Speicherproteine hauptsächlich Globuline und (im Falle von Buchweizen) Albumine, aber keine Prolamine, da sie botanisch nicht zu den Gräsern gehören. Zwischen den Arten Amaranth, Quinoa und Buchweizen besteht zwar keine engere botanische Verwandtschaft, was sich auch durch unterschiedliche Bandenmuster zeigt. Das Vorhandensein homologer Speicherproteine vom Globulintyp haben sie dennoch gemeinsam.

Amaranth weist nach Sedimentationskoeffizienten drei verschiedene Gruppen von Globulinen auf. Eine Gruppe niedermolekularer 2-3S-Globuline bei etwa 14-17 kDa, eine Gruppe höhermolekularer 8S-Globuline, die homolog zu den 7S-Globulinen von Leguminosen und vielen Getreidearten sind und zwei Gruppen von 13S-Globulinen mit Homologie zu den 11S-Globulinen der Getreide, die, wie auch Hafer und Reis, jeweils eine saure und eine basische Untereinheit aufweisen [Segura-Nieto et al., 1999].

Homologe Globuline findet man auch in Quinoa (11S-Chenopodin) und Buchweizen (13S-Globuline, 8S-Globuline) vor. Buchweizen enthält außerdem etwa 10% Speicherproteine vom Albumintyp, die auf dem Elektropherogramm im Bereich von 14-16 kDa zu finden sind [Segura-Nieto et al., 1999].

4.6.10. Diskussion und Ausblick

Die SDS-PAGE ist eine praktikable Methode zur Charakterisierung und Identifizierung von Getreideproteinen. Charakteristische Bandenmuster der Getreidearten ermöglichen deren klare Unterscheidung. Polymorphismen in den Proteinfractionen erlauben des weiteren eine Unterscheidung zwischen verschiedenen Sorten und eine Qualitätsbeurteilung und Selektion, z.B. bei Weizen hinsichtlich seiner Backqualität.

Optimierungspotential wäre gegeben durch die Verwendung von Prolamin- oder Globulinextrakten anstelle der hier verwendeten Gesamtproteinfractionen. Damit könnte man bei einigen Getreidearten durch die Vermeidung von Überlagerungen verschiedener Proteinfractionen mit ähnlicher M_r eine bessere Trennleistung und mehr Sicherheit bei Zuordnung der Banden erzielen.

Weiterer Möglichkeiten zur Charakterisierung der Getreidespeicherproteine stellen außerdem noch einige andere elektrophoretische Methoden dar. In der Literatur werden zur Differenzierung von Getreideproteinen mittels Elektrophorese insbesondere die saure PAGE (A-PAGE) und die IEF erwähnt.

5. Schlussbetrachtung

Getreide ist für die Menschheit eines der bedeutendsten Grundnahrungsmittel. Aber auch aus ernährungsphysiologischer Sicht ist Getreide von hoher Wertigkeit, ist es doch Lieferant für eine Reihe wichtiger Nährstoffe und vor allem eine gute Quelle für gesundheitsfördernde Ballaststoffe.

Den größten Stellenwert nehmen in der Ernährung des Menschen die drei Hauptgetreidearten Weizen, Reis und Mais ein. Der Weizen verdankt den großen Stellenwert seiner besonderen Proteinzusammensetzung, die es ermöglicht, einen viskoelastischen und zu Backwaren verarbeitbaren Teig herzustellen. Reis ist traditionell die Grundlage in der asiatischen Küche und Mais ein traditionelles Grundnahrungsmittel in Mittelamerika. Obwohl wirtschaftlich eine Getreideart von minderer Bedeutung, nimmt aus ernährungsphysiologischer Sicht der Hafer einen besonderen Stellenwert ein. Seine Nährstoffzusammensetzung ist der anderer Getreidearten überlegen, was sich speziell durch höhere Lysinwerte und den Gehalt an den gesundheitsfördernden β -Glucanen zeigt und Hafer zu einem wertvollen Lebensmittel macht.

Getreidequalität wird determiniert durch eine Vielzahl äußerer und innerer Faktoren. Einen wichtigen Anteil an der Qualitätsbeurteilung von Getreide hat die Analyse seiner wertgebenden Inhaltsstoffe. Diese beeinflussen nicht nur maßgeblich die ernährungsphysiologische Qualität, sondern können auch die Verarbeitungsqualität determinieren und sind demnach auch technologisch von Bedeutung.

In der vorliegenden Arbeit werden jeweils die Qualitätsparameter Trockenmasse, Aschegehalt, Fettgehalt und Rohproteingehalt in 13 Haferarten, 13 weiteren Kornproben verschiedener Getreide- und Pseudogetreidearten und 7 Mehlproben ermittelt. In Hafer wird weiters auch der β -Glucan-Gehalt untersucht. Die Trockenmasse (bzw. der Wassergehalt) ist ein

Parameter für die Lagerungs- und Handelsfähigkeit von Getreide, der Fettgehalt ein Parameter für ernährungsphysiologische Qualität, der Mineralstoffgehalt (Asche) beurteilt den Ausmahlungsgrad von Weizen- und Roggenmehl. Ballaststoffgehalte sind sowohl ernährungsphysiologisch interessant, können aber auch von technologischer Bedeutung sein. Eine besonders wichtige Rolle nimmt der Rohproteingehalt ein, da er bei Weizen z.B. maßgeblich für die Backqualität verantwortlich ist. Der Gehalt dieser wertgebenden Inhaltsstoffe ist nicht nur zwischen den verschiedenen Getreidearten großen Schwankungen unterworfen, sondern schwankt auch innerhalb einer Getreideart erheblich. Deutliche Unterschiede in der Zusammensetzung können daher bei den verschiedenen Hafervarietäten sowohl bei Asche-, Fett- und Rohproteingehalt, wie auch beim Gehalt an β -Glucan gezeigt werden. Der Gehalt an diesen Inhaltsstoffen im Getreidekorn wird, neben den genetischen Voraussetzungen, vor allem durch diverse Umweltfaktoren entscheidend mitbestimmt.

Elektrophoretische Methoden werden eingesetzt, um Proteine nach Ladung oder Größe in ihre Untereinheiten aufzutrennen. Die SDS-PAGE trennt Proteine nicht nach Ladung, sondern nur nach ihrer tatsächlichen Größe auf. Durch Auftragen der Gesamtproteinfraktion können auf SDS-Gelen in sämtlichen der untersuchten Getreidearten eine Reihe von charakteristischen Speicherproteinen festgestellt und anhand von Vergleichswerten aus der Literatur auch zugeordnet werden. Gut einzuordnen sind etwa die HMW-Untereinheiten aller Triticeae, während die niedermolekularen Weizenprolamine die genaue Zuordnung schwieriger machen. Durch Auftragen der Gesamtproteinfraktion, die nur in SDS-Probenpuffer gelöst und denaturiert wird, entsteht in einigen Fällen der Nachteil, dass die Banden verschiedener Speicherproteine mit ähnlicher Masse sich am Gel gegenseitig überlagern und daher eine Zuordnung nicht mehr sicher möglich ist. Dies ist etwa bei Hafer der Fall, wo sowohl Prolamine, als auch Globuline wegen ihrer ähnlichen Molekülmassen am Gel in einem gemeinsamen Bereich auftreten.

Durch Auswahl geeigneter Extraktionsverfahren könnten hier vermutlich deutlich bessere Ergebnisse erzielt werden. Dabei nutzt man die besondere

Eigenschaft aus, dass Prolamine nur in Alkohol löslich sind, während die Proteinfractionen der meisten Globuline nur in wässrigen Salzlösungen extrahiert werden können.

Ein weiteres Gebiet der Elektrophorese ist die Untersuchung von Polymorphismen. Da jede Getreidesorte Unterschiede in ihrem Genom aufweist, treten auch am Bandenmuster der SDS-PAGE Bereiche auf, die unterschiedlich sind. Diese Methode wird in erster Linie für Weizen angewandt, da man damit relativ günstig die Backqualität abschätzen kann. Anhand der untersuchten Haferproben lassen sich ebenso Polymorphismen erkennen, die typischerweise vor allem die Prolaminfraktionen (Avenine) betreffen. Jedoch ist auch hierfür die Benutzung eines vorhergehenden Extraktionsverfahrens ein entscheidender Aspekt.

6. Zusammenfassung

Getreide ist eines der wichtigsten Grundnahrungsmittel des Menschen. Die Getreidequalität wird maßgeblich bestimmt von wertgebenden Inhaltsstoffen, aber auch Qualitätsparametern, wie der Proteinzusammensetzung.

Untersucht wurden im Rahmen dieser Arbeit 13 Haferkornproben von verschiedenen Sorten, sowie weitere Korn- und Mehlproben der Getreidearten Hafer, Weizen, Gerste, Roggen, Dinkel, Grünkern, Kamut, Mais, Reis, Hirse (Millet) und der Pseudogetreidearten Buchweizen, Quinoa und Amaranth.

Der erste Teil der Arbeit war der quantitativen Bestimmung der wertgebenden Inhaltsstoffe Trockenmasse, Mineralstoffgehalt (Asche), Gesamtfett und Rohprotein in allen Getreideproben gewidmet. Die Kornproben wurden zuerst auf eine Größe von 0,5 mm vermahlen. Die Trockenmasse der Proben wurde mittels Trockenschrankmethode bei 102°C für vier Stunden und der Aschegehalt mittels Verglühen im Muffelofen, jeweils bei 550°C für vier Stunden, oder bei 900°C für eine Stunde, bestimmt. Gesamtfett wurde ermittelt durch Soxhlet-Extraktion nach vorheriger Hydrolyse in 4 M Salzsäure. Der Rohproteingehalt wurde nach der Kjeldahl-Methode bestimmt. Außerdem wurde in den Haferproben der Gehalt an dem löslichen Ballaststoff β -Glucan, der für viele der ernährungsphysiologisch positiven Wirkungen des Hafers verantwortlich ist, mithilfe des enzymatischen Testkits K-BGLU 07/11 (McCleary-Methode) von Megazyme ermittelt.

Die Trockenmasse lag zwischen 87,65% und 92,82%, was für Getreide und Getreidemehl übliche Werte sind. Der Aschegehalt bewegte sich in einem Bereich von 1,68-2,89% in Hafer und in einem Bereich von 1,22-3,00% in den anderen Getreidekornproben, jeweils auf Trockenmasse bezogen. Der Fettgehalt war höher in Hafer (5,11-9,07% i. Tr.) als in den meisten anderen Getreidearten. Allerdings wurden außergewöhnlich hohe Fettgehalte in Mais und einigen Pseudocerealien entdeckt. Der Rohproteingehalt war 10,74-18,26% i. Tr. in Hafer und 6,53-18,03% i. Tr. in den Getreidekorn- und

Getreidemehlproben. Die niedrigsten Werte wurden in Reis und die höchsten in Amaranth und Kamut festgestellt. Der β -Glucan-Gehalt in den Haferproben war 2,01-4,82% i. Tr.

Im zweiten Teil der Arbeit sollten die Getreideproteine durch elektrophoretische Auftrennung charakterisiert werden. Verwendet wurde die Methode der diskontinuierlichen Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese (SDS-PAGE), die eine reine Größentrennung der Polypeptide erlaubt. Das Gesamtprotein wurde unter denaturierenden Bedingungen nach einer Standardmethode extrahiert und auf eine Serie von Gelen mit verschiedenen Acrylamidkonzentrationen aufgetragen.

Unterschiedliche Bandenmuster waren für alle Getreidearten erkennbar und auch Polymorphismen zwischen den Banden der Hafersorten konnten festgestellt werden. Allerdings sollten anstelle der Gesamtproteinfraktion in SDS-Probenpuffer, Proteinextrakte auf Basis des Löslichkeitsverhaltens zur Elektrophorese eingesetzt werden. Dies würde eine bessere Differenzierung der alkohollöslichen Prolamine und der salzlöslichen Globuline ermöglichen.

7. Summary

Cereals are a major staple food for mankind and cereal grain quality is substantially determined by nutrient-providing elements as well as quality parameters as for example protein composition.

In this thesis, 13 whole-grain oat varieties and different whole-grain and meal samples of oats, wheat, barley, rye, spelt, unripe spelt grain, kamut, maize, rice, millet, and pseudocereals buckwheat, quinoa, and amaranth were analyzed.

The first part was devoted to quantitative determination of the chemical and nutritional components dry matter, mineral matter (ash content), crude fat, and crude protein in all samples. Grains were first ground in a laboratory mill to pass a 0.5-mm sieve. Dry matter was then determined by oven method at 102°C for four hours, ash content was achieved by incineration in a muffle furnace for four hours at 550°C or for one hour at 900°C, respectively. Crude fat was assessed by soxhlet extraction with prior hydrolysis in 4 M hydrochloric acid. Crude protein was determined by Kjeldahl method. Furthermore, the content of soluble dietary fiber β -glucan, which accounts for much of the nutritional quality, was measured in oat samples by means of enzymatic testkit K-BGLU 07/11 (McCleary method) provided by Megazyme.

Dry matter ranged between 87.65% and 92.82% which is usual for cereal grains and meals. The ash content was in a range of 1.68-2.89% for oats and in a range of 1.22-3.00% for cereals, on a dry matter basis, respectively. The crude fat was higher in oats (5.11-9.07% on a dry matter basis) than in most other cereals. However, extraordinary high fat content was determined in maize and in some pseudocereals. Crude protein was 10.74-18.26% on a dry matter basis in oats, and 6.53-18.03% on a dry matter basis in other cereals and cereal meals. The lowest amounts were found in rice and the highest in amaranth and kamut, respectively. The β -glucan content of the oat varieties was 2.01-4.82% on a dry matter basis.

In the second part, cereal grain protein composition was investigated electrophoretically by means of discontinuous sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), which allows for separation of polypeptides according to their apparent sizes. Total protein was extracted under denaturing conditions by a standard method and applied to a series of gels with different acrylamide concentrations.

Distinct patterns were detectable for all cereal grain species and some polymorphisms could be seen among the oat varieties. However, instead of using total protein in SDS sample buffer, protein extraction on the basis of solubility should be applied to electrophoresis. This would provide a better differentiation of the alcohol-soluble prolamins, and the salt-soluble globulins, respectively.

8. Literaturverzeichnis

- Anderson JW, Baird P, Davis RH, Ferreri S, Knudtson M, Ashraf K, Waters V, Williams CL (2009): Health benefits of dietary fiber, *Nutr Rev* 76(4):188-205.
- Andersson AM, Börjesdotter D (2011): Effect of environment and variety on content and molecular weight of β -glucan in oats, *J Cereal Sci* 54:122-128.
- Aufhammer W (2000): Pseudogetreidearten, Buchweizen, Reismelde und Amarant, Eugen Ulmer, Stuttgart (Hohenheim).
- Aufhammer W (2003): Rohstoff Getreide, Eugen Ulmer, Stuttgart (Hohenheim).
- Bean SR, Lookhart GL (2000): Electrophoresis of cereal storage proteins, *J Chromatogr A* 881:23-36.
- Bechtel DB, Abecassis J, Shewry PR, Evers AD (2009): Development, structure, and mechanical properties of the wheat grain, in: *Wheat - Chemistry and Technology* 4th ed. (Khan K, Shewry PR, Hrsg.), AACC International, St. Paul, MN, pp. 51-95.
- Behall KM, Hallfrisch J (2011): Oats as a functional food for health, in: *Oats - Chemistry and Technology* 2nd ed. (Webster FH, Wood PJ, Hrsg.), AACC International, St. Paul, MN, pp. 255-273.
- Belitz H-D, Schieberle W, Grosch P (2008): *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*, 6. Auflage, Springer, Berlin-Heidelberg.
- DeVries JW (2003): On defining dietary fibre, *Proc Nutr Soc* 62:37-43.
- DIN EN ISO 20483:2007: Bestimmung des Stickstoffgehaltes und Berechnung des Rohproteingehaltes von Getreide und Hülsenfrüchten.
- DIN EN ISO 2171:2010: Bestimmung des Aschegehaltes in Getreide, Hülsenfrüchten und Nebenprodukten durch Verbrennung.
- EFSA (2010): Scientific opinion on the substantiation of a health claim related to oat beta-glucan and lowering blood cholesterol and reduced risk of (coronary)

- heart disease pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA Journal 8(12), 1885.
- Ebock A (2011): Zöliakie – Grundlagen, Diagnostik, Ernährungstherapie, Ernährungs Umschau 4/2011:202-210.
- Edney MJ (1996): Barley, in: Cereal Grain Quality (Henry RJ, Kettlewell PS, Hrsg.), Chapman&Hall, London, pp. 113-151.
- Ellis HJ, Ciclitira PJ (2008): Should coeliac sufferers be allowed their oats? Eur J Gastroenterol Hepatol 20:492-493.
- Englyst HN, Bingham SA, Runswick SA, Collinson E, Cummings JH (1989): Dietary fibre (non-starch polysaccharides) in cereal products. J Hum Nutr Diet 2(4):253–271.
- FAOSTAT (2012): Food and Agriculture Organization of the United Nations, Internet: <http://faostat.fao.org> (abgerufen am: 07.06.2012).
- FDA (1997): U.S. Food and Drug Administration final rule for federal labeling: health claims; oats and coronary heart disease. Fed Reg 62:3584-3681.
- Fujino Y, Kuwata J, Mano Y, Ohnishi M (1996): Other grain components, in: Cereal Grain Quality (Henry RJ, Kettlewell PS, Hrsg.), Chapman&Hall, London, pp. 289-317.
- Hallfrisch J, Schollfield DJ, Behall KM (2003): Blood pressure reduced by whole grain diet containing barley or whole wheat and brown rice in moderately hypercholesterolemic men, Nutr Res 23:1631-1642.
- Hamer RJ, MacRitchie F, Weegels PL (2009): Structure and functional properties of gluten, in: Wheat - Chemistry and Technology 4th ed. (Khan K, Shewry PR, Hrsg.), AACC International, St. Paul, MN, pp. 153-178.
- Kamut® International (o.J.): Nutritional Values, Internet: <http://www.kamut.com/userfiles/Nutritional%20Values%281%29.pdf> (abgerufen am: 23.07.2012).
- Kim SI, Charbonnier L, Mossé J (1978): Heterogeneity of avenin, the oat prolamins: fractionation, molecular weight and amino acid composition, BBA - Protein Structure 537(1):22-30.

- Kettlewell PS (1996): Agronomy and cereal quality, in: Cereal Grain Quality (Henry RJ, Kettlewell PS, Hrsg.), Chapman&Hall, London, pp. 408-437.
- Kriz AL (1999): 7S Globulins of cereals, in: Seed Proteins (Shewry PR, Casey R, Hrsg.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 477-498.
- Lammert A, Kratzsch J, Selhorst J, Humpert PM, Bierhaus A, Birck R, Kusterer K, Hammes HP. (2008): Clinical benefit of a short term dietary oatmeal intervention in patients with type 2 diabetes and severe insulin resistance: a pilot study, *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 116:132-134.
- Leite A, Neto GC, Vettore LA, Yunes JA, Arruda A (1999): The prolamins of sorghum, coix and millets, in: Seed Proteins (Shewry PR, Casey R, Hrsg.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 141-157.
- Liatis S, Tsapogas P, Chala E, Dimosthenopoulos C, Kyriakopoulos K, Kapantais E, Katsilambros N (2009): The consumption of bread enriched with betaglucan reduces LDL-cholesterol and improves insulin resistance in patients with type 2 diabetes, *Diabetes Metab* 35(2):115-120.
- Lookhart G, Bean S (2000): Cereal proteins: composition of their major fractions and methods for identification, in: Handbook of Cereal Science and Technology, Second edition (Kulp K, Ponte JG, Hrsg.), Marcel Dekker Inc., New York, Basel, pp. 363-383.
- Maki KC, Galant R, Samuel P, Tesser J, Witchger MS, Ribaya-Mercado JD, Blumberg JB, Geohas J (2007): Effects of consuming foods containing oat beta-glucan on blood pressure, carbohydrate metabolism and biomarkers of oxidative stress in men and women with elevated blood pressure, *Eur J Clin Nutr* 61:786-795.
- Matissek R, Steiner G, Fischer M (2010): Lebensmittelanalytik, 4. Auflage, Springer, Berlin-Heidelberg.
- McCleary BV, Codd R (1991): Measurement of (1-3)(1-4)- β -D-glucan in barley and oats: a streamlined enzymic procedure, *J Sci Food Agric* 55:303-312.
- Megazyme (2011): Mixed-linkage Beta-Glucan, Assay Procedure (McCleary Method), K-BGLU 07/11, Megazyme International Ireland Ltd., Bray.

- Ohm HW (1976): Response of 21 oat cultivars to nitrogen fertilization, *Agron J* 68(5):773-775.
- Payne PI, Nightingale MA, Krattiger AF, Holt LM (1987): The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties, *J Sci Food Agric* 40:51-65.
- Peterson DM (2011): Storage proteins, in: *Oats - Chemistry and Technology* 2nd ed. (Webster FH, Wood PJ, Hrsg.), AACC International, St. Paul, MN, pp. 123-142.
- Queenan KM, Stewart ML, Smith KN, Thomas W, Fulcher RG (2007): Concentrated oat β -glucan, a fermentable fiber, lowers serum cholesterol in hypercholesterolemic adults in a randomized controlled trial, *Nutr J* 6:6.
- Quinn, RM (1999): Kamut®: Ancient grain, new cereal, in: *Perspectives on new crops and new uses* (Janick J, Hrsg.), ASHS Press, Alexandria, VA, 182-183.
- Righetti PG, Stoyanov AV, Zhukov MY (2001): Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), Chapter 13 in: *Journal of Chromatography Library*, Vol. 63, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, 217-274.
- Rimbach G, Möhring J, Erbersdobler HF (2010): *Lebensmittel-Warenkunde für Einsteiger*, Springer, Heidelberg-Dordrecht-London-New York, 121-146.
- Robbins GS, Pomeranz Y, Briggles LW (1971): Amino acid composition of oat groats, *J Agr Food Chem* 19(3):536-539.
- Rooney LW (1996): Sorghum and millets, in: *Cereal Grain Quality* (Henry RJ, Kettlewell PS, Hrsg.), Chapman&Hall, London, pp. 153-177Pa.
- Saastamoinen M, Kumpulainen J, Numella S (1989): Genetic and environmental variation in oil content and fatty acid composition of oats, *Cereal Chem* 66:296-300.
- Segura-Nieto M, Shewry PR, Paredes-López O (1999): Globulins of the pseudocereals: amaranth, quinoa, and buckwheat, in: *Seed Proteins* (Shewry PR, Casey R, Hrsg.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 453-475.

- Seibel W (2005): Warenkunde Getreide. Inhaltsstoffe, Analytik, Reinigung, Trocknung, Lagerung, Vermarktung, Verarbeitung. 1. Auflage, Agrimedia, Clenze.
- Shewry PR (1996): Cereal grain proteins, in: Cereal Grain Quality (Henry RJ, Kettlewell PS, Hrsg.), Chapman&Hall, London, pp. 227-250.
- Shewry PR (1999): Avenins: The prolamins of oats, in: Seed Proteins (Shewry PR, Casey R, Hrsg.), Kluwer Academic Publishers, Dodrecht, pp. 79-92.
- Shewry PR, Tatham AS (1999): The characteristics, structures and evolutionary relationship of prolamins, in: Seed Proteins (Shewry PR, Casey R, Hrsg.), Kluwer Academic Publishers, Dodrecht, pp. 11-33.
- Shewry PR, Tatham AS, Halford NG (1999): The prolamins of the Triticeae, in: Seed Proteins (Shewry PR, Casey R, Hrsg.), Kluwer Academic Publishers, Dodrecht, pp. 35-78.
- Shewry PR, Halford NG (2002): Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization, J Exp Bot 53:947-958.
- Shewry PR, D'Ovido R, Lafiandra D, Jenkins JA, Mills ENC, Békés F (2009): Wheat grain proteins, in: Wheat - Chemistry and Technology 4th ed. (Khan K, Shewry PR, Hrsg.), AACC International, St. Paul, MN, pp. 223-298.
- Shotwell MA (1999): Oat globulins, in: Seed Proteins (Shewry PR, Casey R, Hrsg.), Kluwer Academic Publishers, Dodrecht, pp. 389-400.
- Shull JM, Watterson JJ, Kirleis AW (1991): Proposed nomenclature for the alcohol-soluble proteins (kafirins) of *Sorghum bicolor* (L. Moench) based on molecular weight, solubility, and structure, J Agric Food Chem 39, 83-87.
- Souci SW, Fachmann W, Kraut H (2000): Die Zusammensetzung der Lebensmittel, Nährwert-Tabellen, 6. Auflage, Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart.
- Statistik Austria (2012): Versorgungsbilanz für Getreide 2005/06 - 2010/11, Internet: http://www.statistik.at/web_de/static/versorgungsbilanz_fuer_getreide_200506_-_201011_022319.pdf (abgerufen am 15.08.2012).

- Stone BA (1996): Cereal carbohydrates, in: Cereal Grain Quality (Henry RJ, Kettlewell PS, Hrsg.), Chapman&Hall, London, pp. 251-288.
- Timms MF, Bottomley RC, Ellis JRS, Schofield JD (1981): The baking quality and protein characteristics of a winter wheat grown at different levels of nitrogen fertilisation, *J Sci Food Agric* 32(7):684-698.
- Welch RW (2011): Nutrient composition and nutritional quality of oats and comparisons with other cereals, in: Oats - Chemistry and Technology 2nd ed. (Webster FH, Wood PJ, Hrsg.), AACC International, St. Paul, MN, pp. 95-107.
- Welch RW, Leggett JM (1997): Nitrogen content, oil content and oil composition of oat cultivars (*A. sativa*) and wild *Avena* species in relation to nitrogen fertility, yield and partitioning of assimilates, *J Cereal Sci* 26:105–120.
- Welch RW, Yong YY (1980): The effects of variety and nitrogen fertiliser on protein production in oats, *J Sci Food Agric* 31(6):541-548.
- Westermeier R (1990): Elektrophorese-Praktikum. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim.
- Wieser H (2007): Chemistry of gluten proteins, *Food Microbiol* 24:115–119.
- Wood PJ (2011): Oat β -Glucan: Properties and Function, in: Oats - Chemistry and Technology 2nd ed. (Webster FH, Wood PJ, Hrsg.), AACC International, St. Paul, MN, pp. 219-254.
- Wood PJ, Newman CW, Newman RK (2001): Beta-glucan structure in waxy and non-waxy barley, AACC Annual Meeting, Charlotte, North Carolina
- Wu G (2009): Amino acids: metabolism, functions, and nutrition, *Amino Acids* 37:1-17.
- Zhao FJ, Hawkesford MJ, McGrath SP (1999): Sulphur assimilation and effects on yield and quality of wheat, *J Cereal Sci* 30(1):1-17.
- Zhou M, Robards K, Glennie-Holmes M, Helliwell S (1999): Oat lipids, *JAACS* 76(2):159-169.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Clemens Horak

geboren am 22. April 1983 in Wien

Ausbildung

1989-1990	Volksschule 1120 Wien, Ruckergasse 42
1990-1993	Volksschule 1230 Wien, Rodaun, Fürst-Liechtenstein-Straße 17
1993-2001	Gymnasium GRG 13, Wenzgasse 7 (neusprachlicher Zweig)
2001	Reifeprüfung
2002	Wehrdienst (8 Monate)
2002-2012	Diplomstudium Ernährungswissenschaften, Universität Wien

Ferialpraktika

Juli 2003	ARC Seibersdorf research GmbH, Bereich Biogenetics und Natural Resources, Abteilung Umweltforschung, verschiedene Labortätigkeiten
August 2004	ARC Seibersdorf research GmbH, Bereich Biogenetics und Natural Resources, Abteilung Umweltforschung verschiedene Labortätigkeiten
August 2005 und Juli/August 2006	ARC Seibersdorf research GmbH, Bereich Biogenetics und Natural Resources, Labor für Isotopenanalytik, Wien Arsenal Vorbereitung, Destillation und Anreicherung von Wein- und Wasserproben für die Tritiumbestimmung

Weitere berufliche Tätigkeit

2003-2008 und Technisches Büro für Ökologie,
2009- Dr. Othmar Horak
 Angestellter für Administratives und EDV

Qualifikationen

Computerkenntnisse: Microsoft Office (Excel, Word, Powerpoint), SPSS
Fremdsprachenkenntnisse: Englisch (sehr gut), Französisch (Grundlagen)