

## **Unterscheiden sich Winterweizen (*Triticum aestivum* L.) Öko-Sorten von Sorten die unter den Bedingungen des konventionellen Landbaus gezüchtet wurden, hinsichtlich des Gehaltes an sekundären Pflanzenstoffen unter ökologischen Anbaubedingungen?**

**Is there any difference regarding content of phytochemicals between organically bred wheat (*Triticum aestivum* L.) versus varieties bred under conventional farming?**

**FKZ: 11OE046**

**Projektnehmer:**

Forschungsring für Biologisch-Dynamische Wirtschaftsweise e. V.

Brandschneise 5, 64295 Darmstadt

Tel.: +49 6155 8421-0

Fax: +49 6155 8421-25

E-Mail: [geier@forschungsring.de](mailto:geier@forschungsring.de)

Internet: <http://www.forschungsring.de>

**Autoren:**

Oltmanns, Meike

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft.

Die inhaltliche Verantwortung für den vorliegenden Abschlussbericht inkl. aller erarbeiteten Ergebnisse und der daraus abgeleiteten Schlussfolgerungen liegt beim Autor / der Autorin / dem Autorenteam. Bis zum formellen Abschluss des Projektes in der Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft können sich noch Änderungen ergeben.

**Abschlussbericht  
zum Projekt 2811OE046**

**Unterscheiden sich Winterweizen (*Triticum aestivum* L.) Öko-Sorten von Sorten die unter den Bedingungen des konventionellen Landbaus gezüchtet wurden, hinsichtlich des Gehaltes an sekundären Pflanzenstoffen?**

**Zuwendungsempfänger:** **Forschungsring für Biologisch-Dynamische  
Wirtschaftsweise e. V.**  
Brandschneise 5  
64295 Darmstadt  
Tel: 06155-8421-13  
email: oltmanns@forschungsring.de

**Laufzeit:** 01.08.2011 bis 30.06.2013  
**Berichtszeitraum:** 01.08.2011 bis 30.06.2013

**Projektleiter:** Dr. Uwe Geier  
**Bearbeitung und Bericht:** Dipl.-Ing. agr. (FH) Meike Oltmanns

**Kooperationspartner:** PD Dr. habil. Volker Böhm  
Institut für Ernährungswissenschaften  
Friedrich-Schiller-Universität Jena

# BÖLN

---

Bundesprogramm Ökologischer Landbau  
und andere Formen nachhaltiger  
Landwirtschaft

Gefördert aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau (BÖLN)

## Kurzfassung

Sekundäre Pflanzenstoffe besitzen eine Reihe positiver Wirkungen auf die menschliche Gesundheit. Für die Züchtung, Beratung und für die Praxis werden die sekundären Pflanzenstoffe in der Zukunft ein wichtiges Sortencharakteristikum darstellen.

Das Forschungsvorhaben hatte folgende Ziele: Lassen sich Unterschiede zwischen ökologisch und konventionell gezüchteten Winterweizensorten in der Zusammensetzung und im Gehalt der sekundären Pflanzenstoffen aufzeigen; wie reagieren die unterschiedlich gezüchteten Sorten auf regionale Unterschiede von Klima und Bodenbeschaffenheit im Hinblick auf die sekundären Pflanzenstoffe?

Es wurden Winterweizenproben aus dem BÖL-Projekt 2809OE 009 – Verbesserung der Vergleichbarkeit der Öko-Landessortenversuche Winterweizen untersucht.

Für die Untersuchungen sind die Sorten Wiwa, Butaro und Scaro die unter ökologischen Bedingungen gezüchtet wurden und die aktuell im ökologischen Landbau verbreiteten konventionellen Sorten Naturastar, Akteur, Arnold, Capo ausgewählt worden.

Proben von drei Standorten und drei Jahren wurden auf verschiedene Phenolsäuren, Xanthophylle und Tocochromanole untersucht.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sich in den hier untersuchten sieben Winterweizensorten die Ökosorten im Gehalt an den untersuchten sekundären Pflanzenstoffen nicht von den konventionellen Sorten unterscheiden. Die Untersuchung machte deutlich, dass der Jahres- und der Standorteinfluss sehr hoch war.

## Abstract

### **Is there any difference regarding content of phytochemicals between organically bred wheat (*Triticum aestivum* L.) versus varieties bred under conventional farming?**

Phytochemicals do have a number of positive effects on human health. Because of that they present an important proof of quality to the consumer. For breeding and for organic farming phytochemicals will present an important characteristic for wheat varieties in the future.

In organic grain breeding there is a focus on stable yields and high quality, and even more there has to be strengthening overall plant resistance, broad field tolerance against pests and diseases. Therefore is postulated that organically bred wheat activate more plant specific defence mechanisms (=phytochemicals).

The objective of this study is to examine whether organically bred cultivars are different in content and in composition of phytochemicals from conventionally bred cultivars under conditions of organic farming. Therefore seven wheat varieties from the regional organic farming trials with winter wheat (Öko-Landessortenversuche, german governmental funded project BÖL-Projekt 2809OE 009 ) will be analyzed. To indicate the importance of the factors location and year, varieties are studied from three sites over three years.



## INHALTSVERZEICHNIS

1.	ZIELE UND AUFGABENSTELLUNG DES PROJEKTS.....	6
1.1	PLANUNG UND ABLAUF DES PROJEKTES.....	6
2.	STAND DES WISSENS UND DER TECHNIK .....	7
3.	MATERIAL UND METHODEN .....	8
3.1	STANDORTE .....	8
3.2	VARIANTEN .....	8
3.3	ANALYTIK .....	9
4.	ERGEBNISSE UND DISKUSSION .....	10
4.1	ERTRÄGE .....	10
4.2	PHENOLSÄUREN.....	11
4.3	TOCOCHROMANOLE .....	12
4.4	CAROTINOIDE .....	15
5.	VORAUSSICHTLICHER NUTZEN UND VERWERTBARKEIT DER ERGEBNISSE.....	19
6.	GEGENÜBERSTELLUNG DER URSPRÜNGLICH GEPLANTEN ZU DEN TATSÄCHLICH ERREICHTEN ZIELEN; HINWEISE AUF WEITERFÜHRENDE FRAGESTELLUNGEN .....	19
7.	ZUSAMMENFASSUNG.....	19
8.	LITERATUR.....	20
9.	ANHANG .....	22

## 1. Ziele und Aufgabenstellung des Projekts

Sekundäre Pflanzenstoffe besitzen eine Reihe positiver Wirkungen auf die menschliche Gesundheit. Damit stellen sie für den Konsumenten einen wichtigen Qualitätsbeweis dar. Für die Züchtung und für die Praxis werden die sekundären Pflanzenstoffe in der Zukunft ein wichtiges Sortencharakteristikum darstellen.

In der ökologischen Getreidezüchtung wird neben stabilen Erträgen und einer guten Qualität besonders auf eine hohe Widerstandsfähigkeit, Resistenz und Toleranz gegenüber Schädlingen und Krankheiten selektiert. Daher wird postuliert, dass Öko-Sorten mehr pflanzeigene Abwehrmechanismen (=sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe) aktivieren.

Für Möhren konnten Roose et al. (2010) zeigen, dass Sorten einen stärkeren Effekt auf den Gehalt an sekundären Inhaltsstoffen aufweisen, als die Anbaumethode. Hildermann et al. (2009) kamen bei einer Auswertung der Ergebnisse des DOK-Versuchs im Hinblick auf die Einflüsse von Sorte und Anbaumethode zu dem Ergebnis, dass die Backqualitätsparameter v.a. durch die Sorte und nicht durch den Anbau verändert wurden. Untersuchungen an traditionellen und modernen Weichweizen in Italien zeigen Vorteile der traditionellen Sorten bei sekundären Inhaltsstoffen (Dinelli et al. 2008). Die Untersuchung von Dinelli legt einen Einfluss der Züchtungsart nahe. Ein systematischer Vergleich der sekundären Inhaltsstoffe von Weizensorten wurde bisher nicht vorgenommen.

**Gesamtziel** des Forschungsvorhabens war es, zu untersuchen ob sich Öko-Sorten (Winterweizensorten die unter den Bedingungen des Ökolandbaus gezüchtet wurden) gegenüber Winterweizensorten die konventionell gezüchtet und ökologisch vermehrt werden in ihrem Gehalt und in der Zusammensetzung der sekundären Pflanzenstoffe unter ökologischen Anbaubedingungen unterscheiden.

Sollten sich systematische Sortenunterschiede an sekundären Inhaltsstoffen auffinden lassen, könnte die Züchtung, die Beratung und die Praxis in Zukunft ein ernährungsphysiologisches Merkmal zur Differenzierung von Sorten gewinnen.

Es sollten folgende Fragestellung beantwortet werden:

- lassen sich Unterschiede zwischen ökologisch und konventionell gezüchteten Winterweizensorten in der Zusammensetzung und im Gehalt der sekundären Pflanzenstoffen aufzeigen;
- wie reagieren die unterschiedlich gezüchteten Sorten auf regionale Unterschiede von Klima und Bodenbeschaffenheit im Hinblick auf die sekundären Pflanzenstoffe;

Die durchgeführten Untersuchungen entsprachen der Zielsetzung des Bundesprogramms, da sie die Rahmenbedingungen für eine Ausbreitung des Ökologischen Landbaus verbessern, indem sie eine Datengrundlage zum einen für die Züchtung von Öko-Sorten, sowie ein ernährungsphysiologisches Merkmal zur Differenzierung von Sorten für die Beratung und Praxis liefern.

### 1.1 Planung und Ablauf des Projektes

Es wurden Winterweizenproben aus dem **BÖL-Projekt 2809OE 009** – Verbesserung der Vergleichbarkeit der Öko-Landessortenversuche Winterweizen untersucht.

Im Jahr 2010 gab es laut Bundessortenamt 11 Winterweizensorten die unter Bedingungen des Ökolandbaus gezüchtet wurden. Für die Untersuchungen sind die Sorten Wiwa, Butaro, und Scaro die unter ökologischen Bedingungen gezüchtet wurden und die aktuell im

ökologischen Landbau verbreiteten konventionellen Sorten Akteur, Arnold, Capo und Naturastar ausgewählt. Diese Sorten wurden gewählt da sie zum orthogonal geprüften Vergleichs- und Verrechnungssortiment der Öko-Landessortenversuche gehören (BÖL-Projekt 2809OE 009). Alle anderen Sorten werden nicht auf jedem Standort oder in jedem Jahr geprüft, somit gibt es keine Orthogonalität in den Versuchsjahren und -orten und die statistische Auswertung und die Versuchsaussage würde stark eingeschränkt werden.

## **2. Stand des Wissens und der Technik**

Im Laufe ihrer Evolution haben Pflanzen eine große Zahl von Strategien zur Vermeidung oder Tolerierung von Umweltstress entwickelt. Eine dieser Strategien besteht in der Biosynthese von sekundären Pflanzenstoffe, wie beispielsweise Bitterstoffe, um Fraßfeinde abzuwehren, Pigmente als Schutzschilde bei extremer Sonneneinstrahlung oder Substanzen, die das Wachstum von bakteriellen oder pilzlichen Schädlingen hemmen. Viele dieser sekundären Pflanzenstoffe wird eine bedeutende Rolle für die Gesundheitserhaltung des Menschen zugesprochen (Watzl & Leitzmann 2005). Im Weizenvollkorn sind eine Vielzahl bioaktiver Substanzen enthalten, u.a. Phenolsäuren, Lignane, Carotinoide, Tocole und Sterole. Von Phenolsäuren, wie z.B. der Ferulasäure im Weizen, ist bekannt, dass sie eine antioxidative Wirkung besitzen und dadurch die Bildung karzinogener Substanzen und Radikale inhibieren (Watzl & Leitzmann, 2005). Die im Weizen vorkommenden Carotinoide, Lutein und Zeaxanthin, spielen eine bedeutende Rolle bei der Risikominderung der Maculadegenerations- und grauer Star-Erkrankung (Stracke et al., 2009). Des Weiteren weisen diese Substanzen auch antikarzinogene Eigenschaften auf (Watzl & Leitzmann 2005). Tocopherole und Tocotrienole haben eine stark antioxidative Wirkung, sie schützen bspw. vor oxidativem Stress durch Peroxid-Radikale. Dabei ist Getreide die wichtigste Tocotrienol-Aufnahmequelle in der menschlichen Ernährung (Lampi et al., 2010).

Die Gehalte an sekundären Pflanzenstoffen im Weizen sind insgesamt wesentlich mehr von der Sortenwahl, den Standortbedingungen und den klimatischen Gegebenheiten abhängig (Ward et al. 2008; Shewry et al. 2010; Heimler et al. 2010) als von anbauspezifischen Parametern (konventionell versus ökologisch) (Stracke et al. 2009).

Hildermann et al. (2009) kamen bei einer Auswertung der Ergebnisse des DOK-Versuchs im Hinblick auf die Einflüsse von Sorte und Anbaumethode zu dem Ergebnis, dass die Backqualitätsparameter v.a. durch die Sorte und nicht durch den Anbau verändert wurden.

Heimler et al. (2010) und Stracke et al. (2009) beschreiben, dass zwar der Jahreseinfluss eine größere Relevanz hat als der Sorteneinfluss, dennoch einige Genotypen stärker empfindlich auf Umwelteinflüsse reagieren als andere. Lampi et al. (2010) bestätigen im Bezug auf den Gehalt von Tocopherole und Tocotrienole das einige Genotypen weniger stark auf Umwelteinflüsse reagieren.

Untersuchungen an traditionellen und modernen Weichweizen in Italien zeigen Vorteile der traditionellen Sorten bei sekundären Inhaltsstoffen (Dinelli et al. 2008).

Für Möhren konnten Roose et al. (2010) zeigen, dass Sorten einen stärkeren Effekt auf den Gehalt an sekundären Inhaltsstoffen aufweisen, als die Anbaumethode.

Bei bisherigen Vergleichen von konventionell versus ökologisch angebauten Weizen wurden immer Sorten verglichen, die für den konventionellen Landbau gezüchtet wurden. In der ökologischen Getreidezüchtung wird aber neben stabilen Erträgen und einer guten Qualität besonders auf eine hohe Widerstandsfähigkeit, Resistenz und Toleranz gegenüber Schädlingen und Krankheiten selektiert. Daher wird postuliert das die Öko-Sorten mehr pflanzeigene Abwehrmechanismen (=sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe) aktivieren. In der



konventionellen Getreidezüchtung ist dies weniger wichtig da chemische Dünge- und Pflanzenschutzmittel eingesetzt werden können.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1 Standorte

Es wurden unterschiedliche Standorte hinsichtlich Ertragserwartung und klimatischen Bedingungen und Bodenbeschaffenheit gewählt. Alle Versuchsstandorte befinden sich auf zertifizierten ökologisch wirtschaftenden Betrieben. Um die Bedeutung der Faktoren Standort und Jahr für die zu vergleichenden Sorten angeben zu können, wurden die Sorten von drei Standorten aus dem Jahr 2010, 2011 und 2012 untersucht. Für eine ausreichend abgesicherte Bewertung müssen mindestens drei Anbaujahre einbezogen werden, da Jahreseffekte unter den derzeitigen Bedingungen eines Klimawandels starke Schwankungen der Ergebnisse mit sich bringen können. Durch die Kahlfröste des Winters 2011/2012 ist der Öko-Landessortenversuch in Alsfeld ausgewintert. Somit können von diesem Standort nur 2 Jahre ausgewertet werden.

**Tabelle 1:** Standortdaten (Meyercordt et al. 2013)

Anbauggebiet	3 (Lehmige Standorte West)			6 (Ackerbaugebiete Süd/Höhenlagen Süd-West)			7 (Tertiäres Hügelland / Bayerischer Gau)			
Standort	Alsfeld Liederbach			Grötzingen			Viehhausen			
Jahr	2010	2011	2012	2010	2011	2012	2010	2011	2012	
Bodenart		sL	ausgewintert	uL	sL	sL	sL	sL	sL	
Ackerzahl		52		55	60	60	63	60	55	
Höhenlage (m)	290			120			480			
Temperatur °C (langj.)	7.8			10.1			7,8			
NS (mm) (langj. Mittel)	610			750			730			
Vorfrucht	?	Luzerne		Klee gras	Legumin.	A-Bohne	Klee gras	Klee gras	Klee gras	
Vorvorfrucht	?	Luzerne			Körnermais			Hafer	Triticale	Triticale
Aussaattermin	1.10.09	6.10.10		20.10.09	12.10.10	17.10.11	5.10.09	12.10.10	17.10.11	
Erntetermin	21.8.10	3.8.11		20.7.10	19.7.11	19.7.12	10.8.10	27.7.11	31.7.12	

#### 3.2 Varianten

Die Winterweizenproben für die Untersuchungen stammen aus dem BÖL-Projekt 2809OE 009 – Verbesserung der Vergleichbarkeit der Öko-Landessortenversuche Winterweizen.

Für die Untersuchungen sind die Sorten Wiwa, Butaro und Scaro, die unter ökologischen Bedingungen gezüchtet wurden und die aktuell im ökologischen Landbau verbreiteten konventionellen Sorten Naturstar, Akteur, Arnold und Capo ausgewählt worden. Diese Sorten wurden gewählt da sie zum orthogonal geprüften Vergleichs- und Verrechnungssortiment der Öko-Landessortenversuche gehören (BÖL-Projekt 2809OE 009).

### 3.3 Analytik

Die Untersuchungen wurden vom Kooperationspartner PD Dr. habil. Volker Böhm, am Institut für Ernährungswissenschaften der Friedrich-Schiller-Universität Jena mittels HPLC durchgeführt. Es wurden folgende Parameter untersucht:

Phenolsäuren:	Carotinoide:	Tocochromanole:
Vanillinsäure	Lutein	α-Tocopherol
Syringasäure	Zeaxanthin	β-Tocopherol
Kaffeesäure		α-Tocotrienol
Sinapinsäure		β-Tocotrienol
Ferulasäure		
p-Cumarsäure		

Untersuchung von Lebensmitteln (Getreide) auf Phenolsäuren für HPLC-DAD mit Hydrolyse:  
Zur Methode existiert eine Standard-Arbeitsanweisung im Anhang 1.

Probenaufbereitung: für kombinierte Messung von Vitamin E und Carotinoiden:  
Zur Methode existiert eine Standard-Arbeitsanweisung im Anhang 2.

### 3.4 Statistik

Aufgrund der Auswinterung des kompletten Winterweizenversuchs am Standort Alsfeld fehlte eine Jahr\*Ort-Kombination komplett. Um wieder ein orthogonales Modell bilden zu können, wurden Jahr und Ort zu Umwelt kombiniert.

Die Daten wurden mittels Varianzanalyse (ANOVA) auf Mittelwertunterschiede hin untersucht, dazu wurde das Programm SAS und die Methode PROC GLM eingesetzt. Multiple Mittelwertvergleiche wurden mit dem Tukey-HSD-Test durchgeführt.

Korrelationsmaße ( $r_s$ ), die bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ( $p < 0,05$ ) signifikant sind, werden mit (\*), die bei 1% ( $p < 0,01$ ) signifikant sind mit (\*\*) und die bei 0,1 % ( $p < 0,001$ ) signifikant sind mit (\*\*\*) gekennzeichnet.

Die Ergebnisdarstellung erfolgt in Form von „Box-Whisker-Plots“. Auf diese Weise können wesentliche Eckpunkte der Verteilungsfunktion der beschriebenen Merkmale in einem Diagramm abgebildet werden. Neben dem Mittelwert (gekennzeichnet durch eine Raute) und dem Median (gekennzeichnet durch eine breite Linie) wird das untere und das obere Quartil durch die Box beschrieben. Die Boxlänge, der sogenannte Interquartilabstand, umfasst somit 50% der Daten und gilt als Streuungsmaß. Das Maximum bzw. das Minimum des Wertebereiches wird durch die „Whiskers“ abgebildet, falls diese nicht mehr als das 1,5-fache des Interquartilabstandes vom Median abweichen. Werte, die dieses Kriterium überschreiten, gelten als Ausreißer und werden als einzelne Datenpunkte gekennzeichnet.

## 4. Ergebnisse und Diskussion

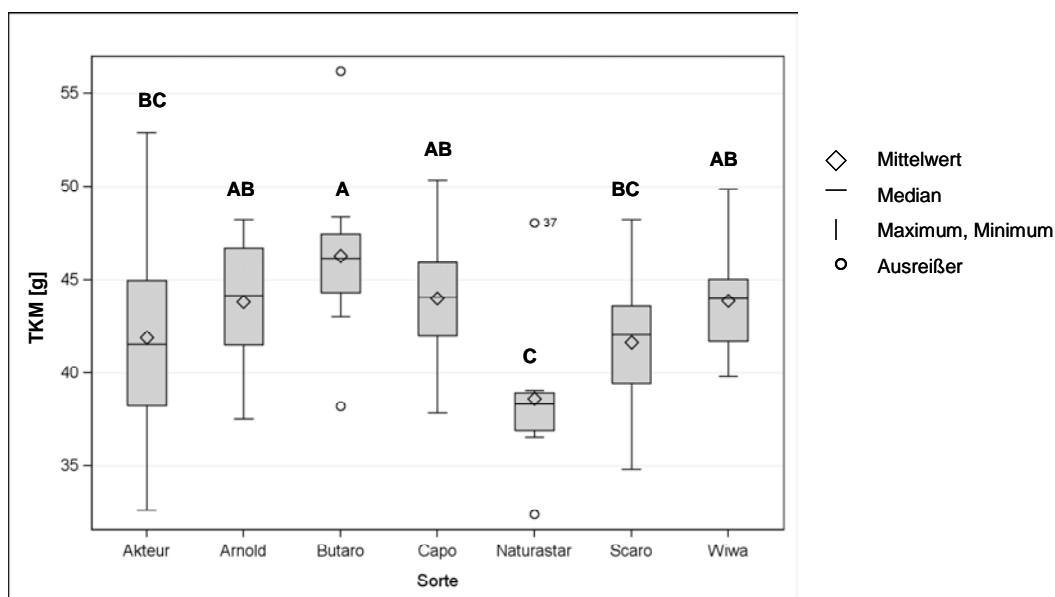
### 4.1 Erträge

In der Tabelle 2 sind die Kornerträge der einzelnen Jahre und Standorte abgebildet. Das Ertragsniveau der Standorte Viehhausen und Alsfeld war im Jahr 2010 mit 60,1 und 57,1 dt ha<sup>-1</sup> rund ein Viertel geringer als in Karlsruhe (KA)-Grötzingen mit 77,6 dt ha<sup>-1</sup>. Im folgenden Anbaujahr 2011 lag das Ertragsniveau im Mittel der Sorten in Viehhausen 10 dt ha<sup>-1</sup> niedriger, in KA-Grötzingen 20 dt ha<sup>-1</sup>. In Alsfeld dagegen lag das Ertragsniveau um 14,2 dt ha<sup>-1</sup> höher. Im Jahr 2012 wurde der Standort Alsfeld im Frühjahr umgebrochen, da der Winterweizen durch Kahlfröste ausgewintert war. In KA-Grötzingen lag das Ertragsniveau 2012 wie im Vorjahr bei 57,1 dt ha<sup>-1</sup>, in Viehhausen konnten Erträge wie im Jahr 2010 erreicht werden.

**Tabelle 2:** Kornertrag [dt ha<sup>-1</sup>] von Winterweizensorten der Jahre 2010-2012 (vgl. Öko-Landessortenversuche 2010-2012)

Standort	Viehhausen			KA-Grötzingen			Alsfeld L.		
	2010	2011	2012	2010	2011	2012	2010	2011	2012
Wiwa	60.1	49.5	58	78.7	57.9	57.3	56	65.8	ausgewintert!
Butaro	57.4	44.4	56.2	64.5	47.7	47.7	54.8	62.9	
Scaro	59.3	49.5	60.5	79.5	55.6	53.9	59.6	69.8	
Naturastar	65.8	53.2	60.2	81.5	47.9	50.1	58.4	74.6	
Akteur	61.2	55.7	61.3	78.4	58	44.5	58	78.1	
Arnold	55.5	49	55.8	73.6	69.1	72.1	52.4	73.8	
Capo	61.1	49.5	63.9	87.1	66	74.4	60.8	74.1	
MW (eigene Berechnung)	60.1	50.1	59.4	77.6	57.5	57.1	57.1	71.3	

Die Tausendkornmasse (TKM) der 7 Sorten lag bei durchschnittlich 43 g. Butaro hatte mit 46,3 g die höchste TKM, dagegen hatte Naturastar mit 38,6 g die niedrigste TKM. Die Fläche der Boxen zeigt die Sensitivität (Varianz) der Genotypen (Abb. 1). Der empfindlichste Genotyp hat die größte Box, während die mehr anpassungsfähigen Genotypen kleinere



**Abbildung 1:** Tausendkornmasse (g). Unterschiedliche Großbuchstaben kennzeichnen Sorten mit signifikantem Unterschied (Tukey's HSD test),  $p < 0.05$ .

Boxen aufweisen. Somit reagierte Naturstar kaum auf die unterschiedlichen Standorte und die Jahreswitterung (Umwelten) mit dem Parameter TKM. Dagegen erwies sich die Sorte Akteur als relativ instabil und reagierte bei der Ausprägung des Merkmales TKM unterschiedlich auf sich verändernde Umweltbedingungen.

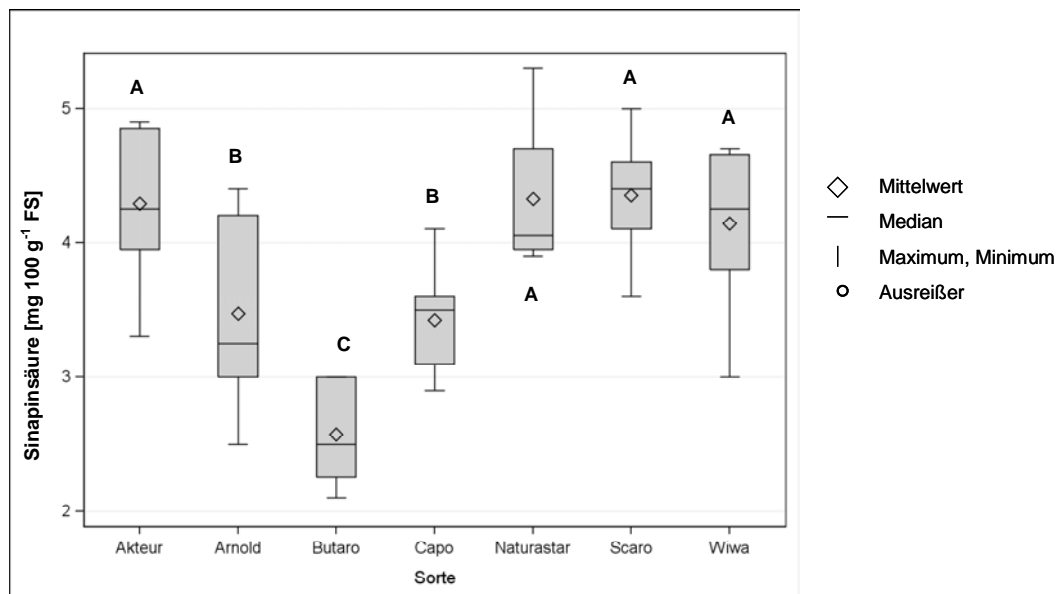
#### 4.2 Phenolsäuren

Die meisten phenolischen Verbindungen sind in den Zellwänden gebunden und kommen vor allem in der Kleie und im Keimling vor ( Zhou et al., 2004, Adom et al., 2005). Adom et al. (2005) fanden rund 80 % der phenolischen Verbindungen in der Kleie und im Keimling, der Rest befand sich im Endosperm. Das Entfernen äußerer Randschichten, führt somit zu einer Verringerung des Phenolsäuregehaltes.

Die Phenolsäuren Vanillinsäure, Syringasäure, Kaffeesäure und p-Cumarsäure lagen unter der Nachweisgrenze:

Vanilinsäure:  $< 2,0 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$   
Syringasäure:  $< 0,6 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$   
Kaffeesäure:  $< 0,5 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ .

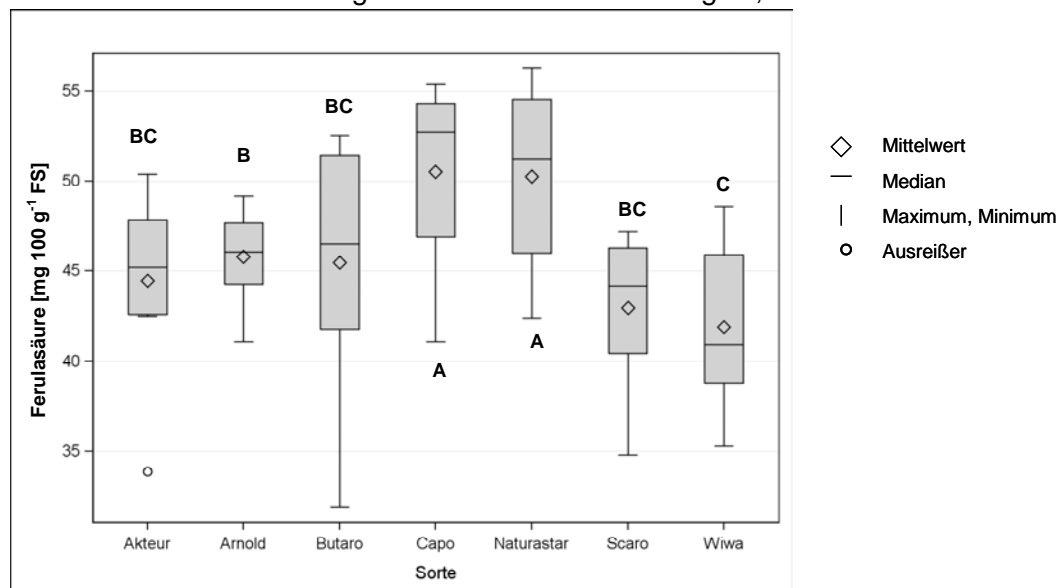
Die p-Cumarsäure hatte eine Nachweisgrenze von  $< 0,6 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ , die Bestimmungsgrenze des Labores lag jedoch über  $1,7 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ . Da die Werte in allen Jahren unter  $1,7 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$  lagen, können für p-Cumarsäure keine Gehalte dargestellt werden.



**Abbildung 2:** Sinapinsäure in  $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$  FS über 8 Umwelten. Unterschiedliche Großbuchstaben kennzeichnen Sorten mit signifikantem Unterschied (Tukey's HSD test),  $p < 0.05$ .

Die Konzentrationen der Sinapinsäure lagen zwischen  $25,75$  und  $43,50 \text{ mg kg}^{-1}$  FS und damit in dem Bereich, wie sie auch in Untersuchungen von Zuchowski et al. (2011) ermittelt wurden. In einer anderen Studie wurden 130 konventionelle Winterweizensorten untersucht. Dort werden Konzentrationen von  $80 \text{ mg kg}^{-1}$  TM angegeben (Li et al. 2008). Weitere Literaturangaben zur Sinapinsäure konnten nicht gefunden werden. Die Sorten Akteur, Naturstar, Scaro und Wiwa unterschieden sich nicht in der Konzentration der Sinapinsäure (Abb. 2). Butaro hatte mit einem Mittel von  $25,75 \text{ mg kg}^{-1}$  FS die geringste Konzentration und unterschied sich signifikant von allen Sorten. Arnold und Capo bildeten eine Gruppe und

lagen signifikant zwischen Butaro und den anderen Sorten. Es konnten keine Unterschiede zwischen ökologisch gezüchteten Sorten und konventionellen Sorten gefunden werden. Im Weizenvollkornmehl ist die Ferulasäure die am stärksten vertretene Phenolsäure. Capo und Naturastar unterschieden sich mit den höchsten Werten von 505,38 und 502,75 mg kg<sup>-1</sup> FS signifikant in der Konzentration der Ferulasäure, von den anderen Sorten. Li et al. (2008) untersuchten 130 Winterweichweizensorten und fanden im Mittel 39,5 ± 0,11 mg 100 g<sup>-1</sup> TM, wobei die Werte im Bereich von 18,1 –74,2 mg 100 g<sup>-1</sup> TM lagen. Zuchowski et al (2011) fanden Werte für 4 Winterweizensorten aus ökologischen Anbau (495,03 mg kg<sup>-1</sup> TM), die den Werten dieser Untersuchung sehr ähnlich sind. Auffällig ist, dass die Sorte Butaro



**Abbildung 3:** Ferulasäure in mg 100 g<sup>-1</sup> FS über 8 Umwelten. Unterschiedliche Großbuchstaben kennzeichnen Sorten mit signifikantem Unterschied (Tukey's HSD test), p < 0.05.

am sensibelsten auf die unterschiedlichen Umwelten reagierte. Es konnten keine Unterschiede zwischen ökologisch gezüchteten Sorten und konventionellen Sorten gefunden werden.

#### 4.3 Tocochromanole

Vitamin E ist ein Sammelbegriff für die antioxidativ wirkende Gruppe der Tocochromanole, welche aus acht Substanzen besteht. Man unterscheidet dabei die beiden Untergruppen Tocopherole und Tocotrienole. Sie werden nur von Pflanzen und anderen photosynthetischen Organismen synthetisiert. Beide kommen in der Natur in 4 Derivaten vor,  $\alpha$ -Tocopherol,  $\alpha$ -Tocotrienol,  $\beta$ -Tocopherol,  $\beta$ -Tocotrienol  $\gamma$ -Tocopherol,  $\gamma$ -Tocotrienol,  $\delta$ -Tocopherol,  $\delta$ -Tocotrienol. Die beiden Gruppen kommen in verschiedenen Geweben der Pflanzen unterschiedlich verteilt vor.

Die Tocochromanolkonzentrationen der Weizensorten lagen im Bereich von 38,5 bis 51,9 mg kg<sup>-1</sup> FS. Ähnliche Konzentrationbereiche von 30,8 bis 87,9 mg kg<sup>-1</sup> TM wurden in einer Studie von Lampi et al. (2010) gefunden.

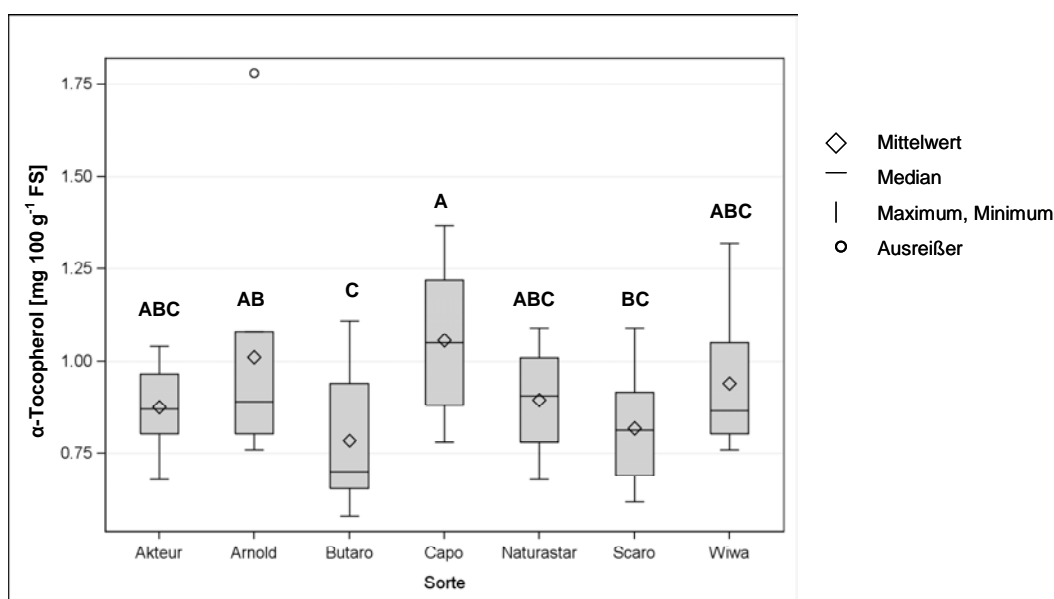
Im Mittel der Umwelten kam das  $\beta$ -Tocotrienol als Hauptderivat der Tocochromanole in den 7 Sorten vor, der Mittelwert lag bei 27,64 mg kg<sup>-1</sup> FM. Dass  $\beta$ -Tocotrienol den Hauptanteil der Tocochromanole in Winterweizen bildet, stimmt mit Literaturangaben überein (Lampi et al. 2010, Hussain et al. 2012). Das Derivat  $\alpha$ -Tocopherol lag im Mittel der Umwelten bei 9,12 mg kg<sup>-1</sup> FM, und bildete somit die zweitstärkste Fraktion aus, gefolgt von  $\beta$ -Tocopherol und  $\alpha$ -Tocotrienol. Betrachtet man die Variationskoeffizienten der Tocochromanole, zeigt sich, dass  $\beta$ -Tocotrienol am stabilsten war. Dies widerspricht den Ergebnissen von Lampi et al.

(2010), die für  $\alpha$ -Tocopherol die niedrigste Variation über 6 Umwelten gefunden haben und bei  $\beta$ -Tocotrienol die höchste. Die Tocotrienole in den 7 Weizensorten hatten einen Anteil von 69,1 % an den Tocochromanolen. Dies bestätigt Untersuchungen von Hussain et al. (2012), sie fanden bei Winterweizen einen Anteil von 67,75 %.

**Tabelle 3:** Variation der Tocochromanole über die 8 Umwelten in  $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$  FM.

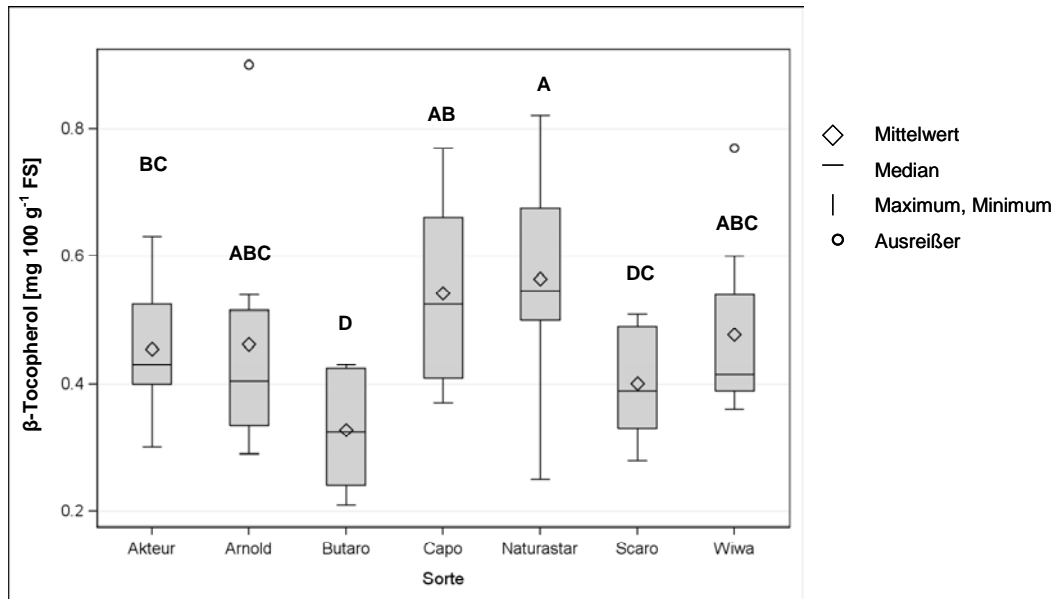
	Mittelwert	CV
$\alpha$ -Tocopherol	0.91160714	14.12
$\beta$ -Tocopherol	0.46125	15.11
$\alpha$ -Tocotrienol	0.33214286	13.00
$\beta$ -Tocotrienol	2.76357143	10.44

Bei den Tocochromanolen lag der Gehalt an  $\alpha$ -Tocopherol bei der Sorte Capo am höchsten, im Mittel bei  $10,56 \text{ mg kg}^{-1}$  FS, jedoch zeigte Capo den höchsten Schwankungsbereich. Damit unterschied sich Capo signifikant von Butaro, der mit  $7,85 \text{ mg kg}^{-1}$  FS einen signifikant niedrigeren Gehalt aufwies. Die anderen Sorten lagen mit ihren  $\alpha$ -Tocopherolgehalten dazwischen. Die Sorte Akteur war die stabilste in den untersuchten Umwelten. Die Ökosorten und die konventionellen Sorten unterschieden sich nicht.



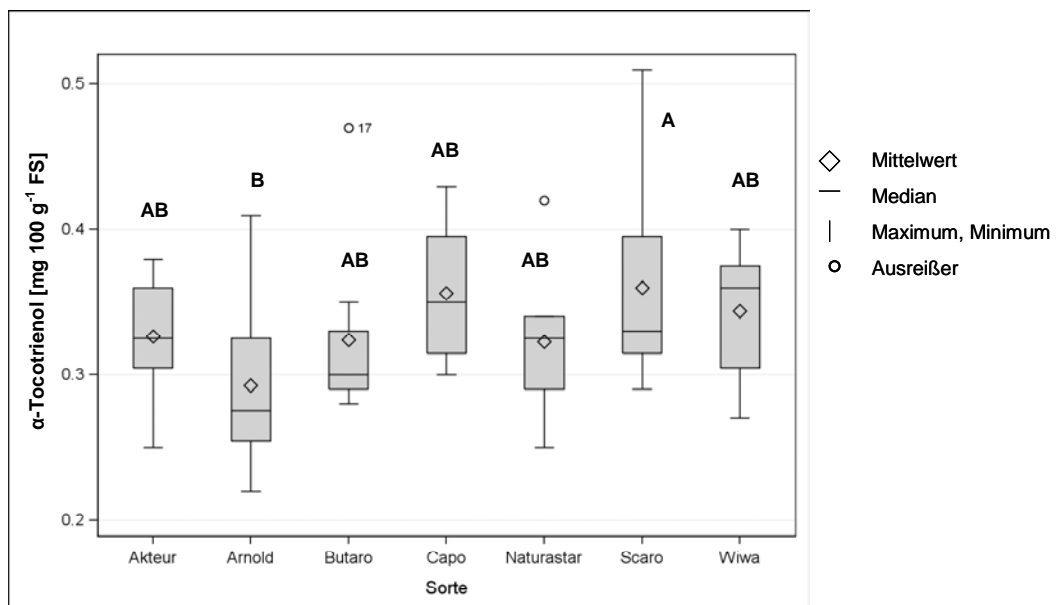
**Abbildung 4:**  $\alpha$ -Tocopherol in  $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$  FS über 8 Umwelten. Unterschiedliche Großbuchstaben kennzeichnen Sorten mit signifikantem Unterschied (Tukey's HSD test),  $p < 0.05$ .

Auch hinsichtlich der  $\beta$ -Tocopherol-Gehalte gab es keine Unterschiede zwischen den Ökosorten und den konventionellen Sorten. Der höchste Gehalt wurde bei der Sorte Naturastar mit  $5,64 \text{ mg kg}^{-1}$  FM gefunden, jedoch reagierte Naturastar auf die unterschiedlichen Umwelten am instabilsten. Im Gegensatz dazu hatte die Sorte Butaro einen signifikant niedrigeren Gehalt um 42 %.

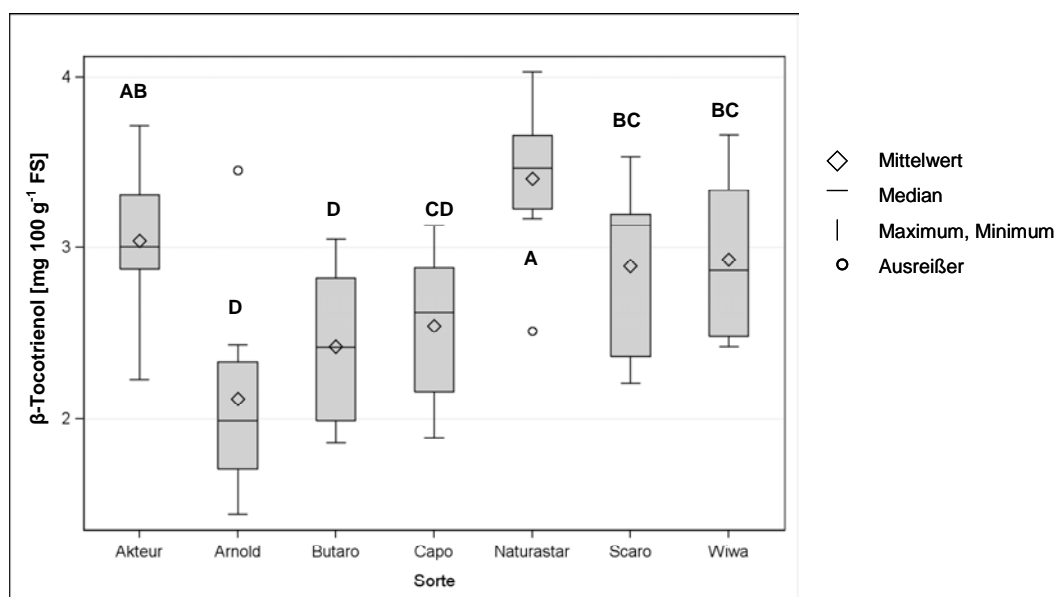


**Abbildung 5:**  $\beta$ -Tocopherol in mg 100 g<sup>-1</sup> FS über 8 Umwelten. Unterschiedliche Großbuchstaben kennzeichnen Sorten mit signifikantem Unterschied (Tukey's HSD test),  $p < 0.05$ .

In der  $\alpha$ -Tocotrienol-Konzentration unterschieden sich die Sorten kaum. Nur die Sorte Arnold hatte mit 2,93 mg kg<sup>-1</sup> FM eine signifikant niedrigere Konzentration als Scaro, die eine Konzentration von 3,60 mg kg<sup>-1</sup> FM aufwies. Die anderen Sorten lagen dazwischen. Auch hier zeigten sich keine Unterschiede zwischen Ökosorten und konventionellen Sorten.



**Abbildung 6:**  $\alpha$ -Tocotrienol in mg 100 g<sup>-1</sup> FS über 8 Umwelten. Unterschiedliche Großbuchstaben kennzeichnen Sorten mit signifikantem Unterschied (Tukey's HSD test),  $p < 0.05$ .



**Abbildung 7:**  $\beta$ -Tocotrienol in  $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ FS}$  über 8 Umwelten. Unterschiedliche Großbuchstaben kennzeichnen Sorten mit signifikantem Unterschied (Tukey's HSD test),  $p < 0.05$ .

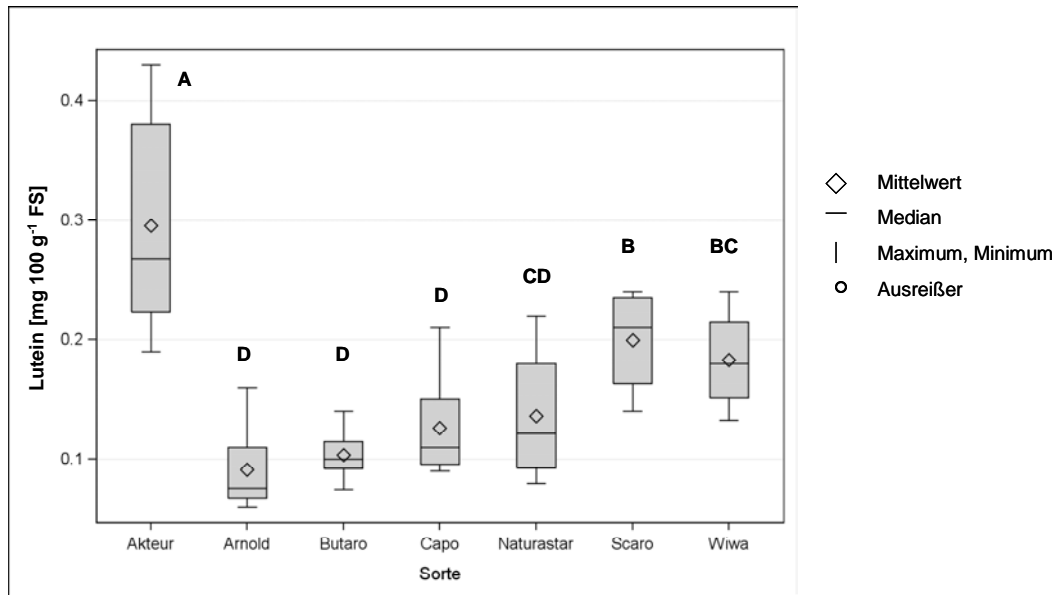
Den höchsten Gehalt an  $\beta$ -Tocotrienol hatte die Sorte Naturastar mit  $34,04 \text{ mg kg}^{-1} \text{ FM}$ , sie unterschied sich signifikant von allen anderen Weizensorten mit Ausnahme von Akteur, die einen Gehalt von  $30,39 \text{ mg kg}^{-1} \text{ FM}$  aufwies. Auch bei diesem Parameter war keine Differenzierung zwischen Ökosorten und konventionellen Sorten möglich.

#### 4.4 Carotinoide

Die Carotinoide lassen sich aufgrund ihrer Struktur in sauerstofffreie (Carotine) und sauerstoffhaltige (Xanthophylle) Substanzen einteilen. Die Hauptkomponente der Substanzklasse Carotinoide ist im Weizen das Lutein (Okarter et al. 2010; Abdel-Aal und Rabalski 2008; Moore et al. 2005). Lutein ist im Gegensatz zu den Phenolsäuren und dem Vitamin E gleichmäßig im Korn verteilt, so fanden Adom et al. (2005) in der Fraktion Kleie/Keimling 51 % des Luteins, den Rest im Endosperm.

Die Luteinkonzentrationen von 6 Hart- und Weichweizen, die in den USA angebaut wurden (Okarter et al. 2010), wird mit Werten von  $1,48$  bis  $2,71 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TM}$  angegeben. In einer polnischen Studie (Konopka et al. 2006) wird als Mittelwert von 6 Winterweizensorten  $2,42 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TM}$  Lutein angegeben (Wertebereiche von  $1,64 - 3,59 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TM}$ ). Roose et al. (2009) geben Konzentrationen von  $1,0-4,4 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TM}$  an. Die bestimmten Luteinkonzentrationen in dieser Studie lagen zwischen  $0,3$  und  $4,3 \text{ mg kg}^{-1} \text{ FM}$  und stimmen somit mit den Literaturangaben überein. Die Sorte Akteur zeigte im Mittel der Umwelten  $2,95 \text{ mg kg}^{-1} \text{ FM}$  Lutein und somit die signifikant höchste Konzentration. Die Sorte Scaro hatte mit  $2,00 \text{ mg kg}^{-1} \text{ FM}$  die zweithöchste Konzentration. Die niedrigsten Konzentrationen wiesen die Sorten Arnold, Butaro und Capo auf. Auch im Luteingehalt konnten die Ökosorten von den konventionellen Sorten nicht getrennt werden.





**Abbildung 8:** Lutein in mg 100 g<sup>-1</sup> FS über 8 Umwelten. Unterschiedliche Großbuchstaben kennzeichnen Sorten mit signifikantem Unterschied (Tukey's HSD test), p < 0.05.

Das Zeaxanthin konnte nicht in den Proben nachgewiesen werden, die Nachweisgrenze der Methode lag bei 0,005 mg 100 g<sup>-1</sup>.

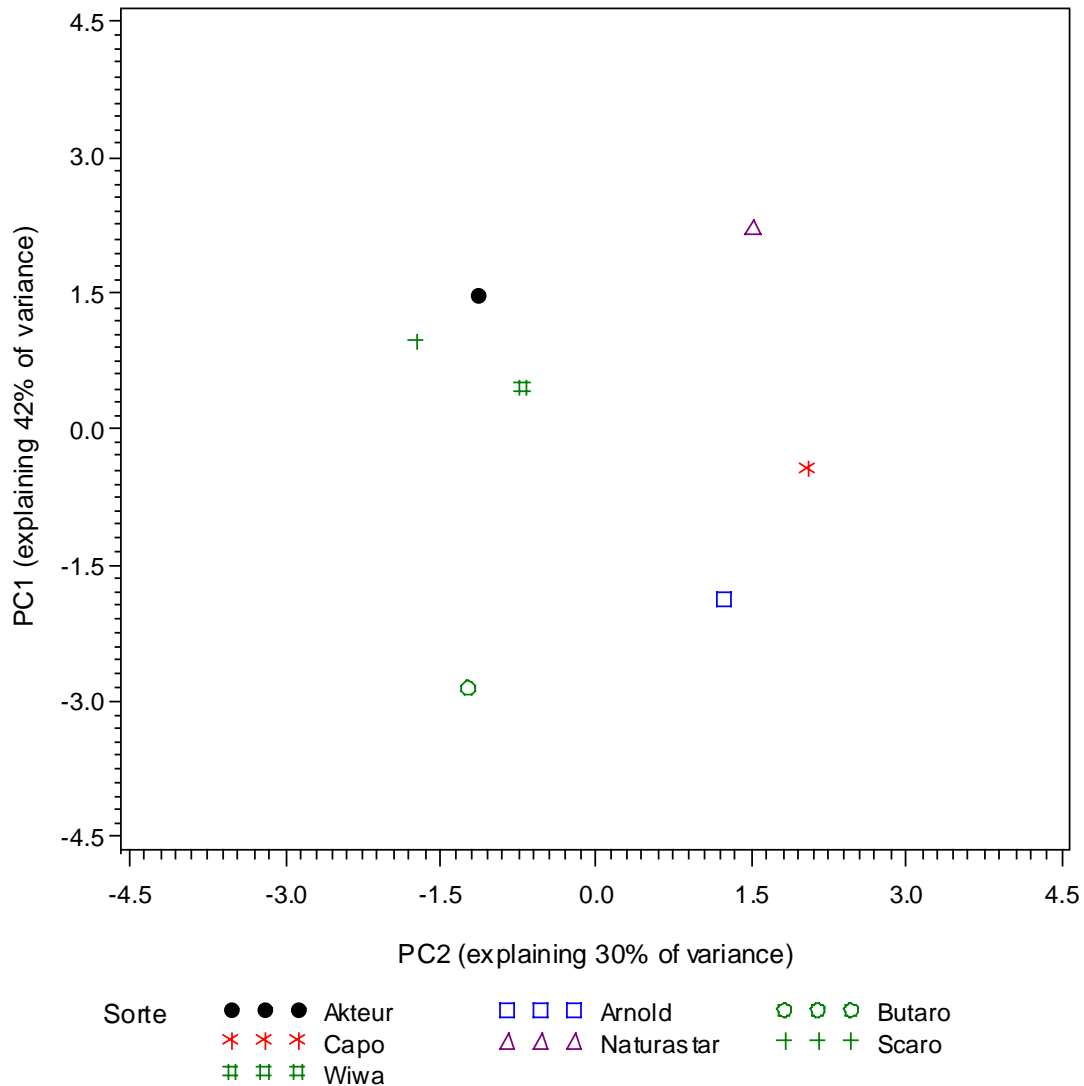
Die Korrelationsanalyse von Zusammenhängen zwischen den Einzelparametern berechnet aus 8 Umweltmittelwerten für 7 Sorten ist in der Tabelle 4 dargestellt. In der Literatur wird diskutiert, ob die TKM einen Einfluss auf die Gehalte von sekundären Pflanzenstoffen und Tocochromanolen hat, da mit steigender TKM das Fläche-zu-Volumen-Verhältnis abnimmt und es somit zu einem Verdünnungseffekt mit steigender TKM kommen kann (Roose et al. 2009; Zuchowski et al. 2011). Dieser Zusammenhang konnte in dieser Studie nur für die Gruppe der Tocochromanole gefunden werden. Dabei korrelierte das  $\beta$ -Tocopherol negativ mit der TKM, die anderen Tocochromanole verfehlten die Signifikanzschwelle nur knapp.

**Tabelle 4:** Pearsons-Korrelation: Berechnet aus den Mittelwerten von 8 Umwelten für 7 Sorten. Korrelationskoeffizienten mit Signifikanzlevel p<0,05\*, p<0,01\*\*, p<0,001\*\*\*.

	<i>Lutein</i>	<i><math>\alpha</math>-Tocopherol</i>	<i><math>\beta</math>-Tocopherol</i>	<i><math>\alpha</math>-Tocotrienol</i>	<i><math>\beta</math>-Tocotrienol</i>	<i>Ferulasaeure</i>	<i>Sinapinsaeure</i>
<i><math>\alpha</math>-Tocopherol</i>	-0.66013						
<i><math>\beta</math>-Tocopherol</i>	-0.7642*	0.96369***					
<i><math>\alpha</math>-Tocotrienol</i>	-0.2334	0.64977	0.45482				
<i><math>\beta</math>-Tocotrienol</i>	-0.65742	0.84451**	0.88452**	0.38428			
<i>Ferulasaeure</i>	0.35006	-0.61352	-0.7204*	0.09652	-0.69728		
<i>Sinapinsaeure</i>	0.46501	-0.25166	-0.2704	0.05031	-0.12743	0.26658	
<i>TKM</i>	0.60392	-0.70499	-0.70593*	-0.64838	-0.70296	0.20894	-0.29977

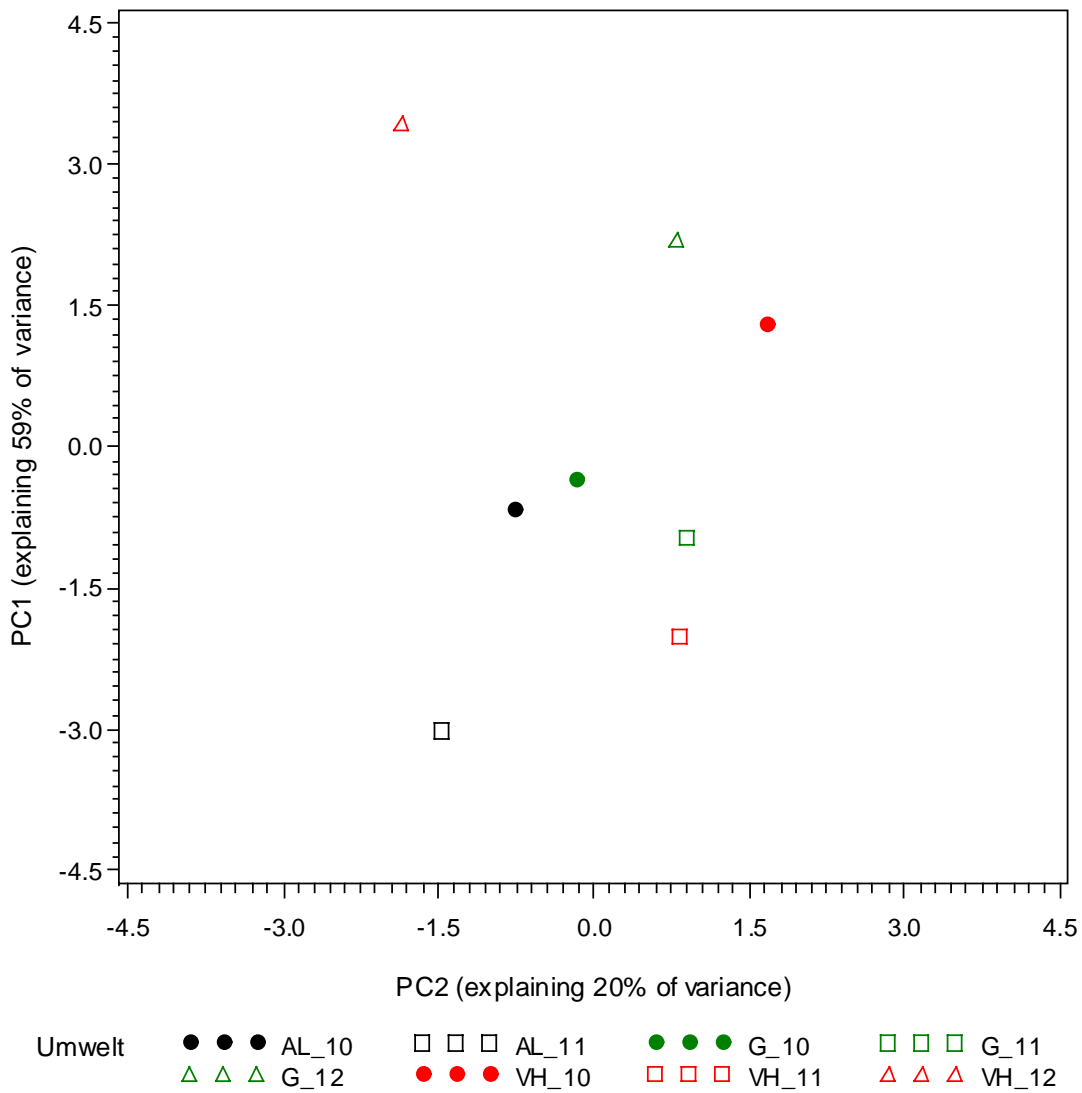
### Hauptkomponentenanalyse

Aufgrund der Vielzahl der untersuchten Parameter wurde neben der Varianzanalyse eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt. Alle untersuchten Inhaltsstoffe fungieren jeweils als Variablen, die dann korreliert und mittels PCA verdichtet wurden. In der Abbildung 9 sind die Sortenmittelwerte für die 8 Umwelten abgebildet. Die Sortengruppen Öko und Konventionell konnten nicht getrennt werden. Es gab aber eine Gruppierung der Sorten Akteur, Wiwa und Scaro. Capo und Arnold bildeten eine weitere Gruppe.



**Abbildung 9:** Hauptkomponentenanalyse basierend auf Sortenmittelwerte über 8 Umwelten

Die Hauptkomponentenanalyse basierend auf 8 Umwelt-Mittelwerten zeigte eine klare Gruppierung nach Anbaujahren (Abb. 10). Die erste Hauptkomponente erklärt schon 59 % der Varianz. Das bedeutet, dass der saisonale Einfluss der jeweiligen Wachstumsperiode auf die bioaktiven Substanzen von entscheidender Bedeutung war.



**Abbildung 10:** Hauptkomponentenanalyse basierend auf 8 Umwelt-Mittelwerten (Standort Alsfeld 2010 und 2011 (AL\_10; AL\_11), Grötzingen und Viehhausen 2010-2012 (G\_10,G\_11,G\_12, VH\_10, VH\_2011, VH\_2012)) über 7 Sorten.

## **5. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse**

Die Ergebnisse in diesem Forschungsvorhaben zeigen, dass es bei den untersuchten Winterweizensorten keine charakteristische Unterschiede im Gehalt von sekundären Pflanzenstoffen und Tocochromanole gibt. Aus ernährungsphysiologischer Sicht erscheint es zur Zeit nicht sinnvoll Unterschiede zwischen ökologisch gezüchteten Winterweizensorten und konventionellen Sorten an der Konzentration sekundärer Pflanzenstoffe festzumachen.

Der Verbraucher sollte aufgeklärt werden, dass die meisten phenolischen Verbindungen sowie die Tocochromanole in den äußeren Zellwänden gebunden sind und das sie vor allem in der Kleie und im Keimling vorkommen. Damit hat Vollkornmehl insgesamt einen höheren physiologischen Wert und höheren Nutzen für die Gesundheit als raffiniertes Weizenmehl.

Nach Abschluss des Projektes ist eine weitere zeitnahe Verbreitung der Ergebnisse durch Veröffentlichungen in einschlägigen Mitteilungsorganen der Verbände des ökologischen Landbaus als auch in wissenschaftlichen Fachzeitschriften vorgesehen.

## **6. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen**

Sämtliche im Arbeitsprogramm formulierten Projektziele konnten realisiert werden. Einschränkungen bei den Ergebnissen und infolgedessen bei der Bewertung des Einflusses von Standort und Jahr ergaben sich durch den extremen Winter 2011/2012, da das gesamte Untersuchungssortiment des Standortes Alsfeld-Liederbach umgebrochen werden musste.

## **7. Zusammenfassung**

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sich in den hier untersuchten sieben Winterweizensorten die Ökosorten im Gehalt an den untersuchten sekundären Pflanzeninhaltsstoffen nicht von den konventionellen Sorten unterscheiden. Die Untersuchung machte deutlich, dass der Jahres- und der Standorteinfluss größer waren als der Sorteneinfluss. Dennoch gab es Unterschiede zwischen den einzelnen Sorten.

Insgesamt erscheint der Ansatz Unterschiede zwischen ökologischen und konventionell erzeugten (und gezüchteten) landwirtschaftlichen Rohstoffen und Lebensmitteln an einzelnen Inhaltsstoffgehalten und Substanzen wie bspw. sekundären Pflanzeninhaltsstoffen, die als gesundheitsfördernd gelten, festzumachen als fraglich. Hier sind zudem weitere Forschungsergebnisse zur gesundheitlichen Relevanz sekundärer Pflanzenstoffe abzuwarten. Weiterhin scheint es so, dass der Fokus auf Nährstoffe, anstatt Lebensmittel in vielerlei Hinsicht kontraproduktiv ist, denn die beobachteten präventiven Effekte könnten eher durch das komplexe Spektrum von Nährstoffen in verschiedenen Lebensmitteln ausgelöst werden (Jacobs und Tapsel 2013).

Sinnvoller erscheint es die Entwicklung von Methoden, die die ganzheitliche Qualität / Vitalqualität eines landwirtschaftliches Produktes in seinem Kontext erfassen, zu fördern, um zukünftig geeignete Messmethoden für die Bestimmung der Gesamtqualität von Ökoprodukten zur Verfügung zu haben.

## 8. Literatur

- Abdel-Aal, E.M. ; Rabalski, I. 2008: Bioactive Compounds and their Antioxidant Capacity in Selected Primitive and Modern Wheat Species. *The Open Agriculture Journal* 2: 7-14.
- Adom, KK.; Sorrells, ME.; Liu, RH 2005: Phytochemicals and antioxidant activity of milled fractions of different wheat varieties. *JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY* 53: 2297-2306.
- Dinelli, G.; Benedettelli, S.; Marotti, I.; Bonetti, A.; Ghiselli, L.; Carratero, A.S. 2008: Functional properties of wheat: phytochemical profiles of old and new varieties. *Ital. J. Agron.* 2008, 3 Suppl. S. 415-416.
- Heimler, D.; Vignolini, P.; Isolani, L.; Arfaioli, P.; Ghiselli, L.; Romani, A. 2010: Polyphenol Content of Modern and Old Varieties of *Triticum aestivum* L. and *T. durum* Desf. Grains in Two Years of Production. In *J. Agric. Food Chem.* Nr. 58, S. 7329 – 7334.
- Hildermann, I.; Thommen, A.; Dubois, D.; Boller, T.; Wiemken, A.; Mäder, P. 2009: Erträge und Nährstoffgehalte von alten, biologisch und konventionell gezüchteten Winterweizensorten in verschiedenen landwirtschaftlichen Systemen. In: Mayer et al. (Hrsg.) Beiträge zur 10. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, Zürich. Verlag Köster Berlin. S. 117-118.
- Hussain, A.; Larsson, H.; Olsson, M. E.; Kuktaite, R; Grausgruber, H.; Johansson, E. 2012: Is organically produced wheat a source of tocopherols and tocotrienols for health food? *Food Chemistry*, Volume 132, Issue 4, 1789-1795.
- Jacobs, DR.; Tapsell, LC 2013: Food synergy: the key to a healthy diet. *Proc Nutr Soc* 72:200–206.
- Konopka, I.; Czaplicki, S.; Rotkiewicz, D. 2006: Differences in content and composition of free lipids and carotenoids in flour of spring and winter wheat cultivated in Poland. *Food Chem*, 95, 290–300.
- Lampi, A-M.; Nurmi, T.; Piironen, V. 2010: Effects of the Environment and Genotype on Tocopherols and Tocotrienols in Wheat in the HEALTHGRAIN Diversity Screen. In *J. Agric. Food Chem.* Nr. 58, S. 9306–9313.
- Li, L.; Shewry, P.R.; Ward, J.L.; 2008: Phenolic Acids in Wheat Varieties in the HEALTHGRAIN Diversity Screen. *J. Agric. Food Chem.* 56: 9732-9739.
- Meyercordt, A.; Mücke, M.; Seidel, K.; Lux, G.; Schmidtke, K.; Wunderlich, B 2013: Verbesserung der Vergleichbarkeit der Öko-Landessortenversuche mit der BSL. <http://orgprints.org/22860/>
- Moore, J., Z.; Hao, K.; Zhou, M.; Luther, J.; Costa; Yu, L. 2005: Carotenoid, Tocopherol, Phenolic Acid, and Antioxidant Properties of Maryland-Grown Soft Wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 6649-6657.
- Okarter, N.; Liu, C.-S.; Sorrells, M. E.; Liu, R. H. 2010: Phytochemical content and antioxidant activity of six diverse varieties of whole wheat. *Food Chemistry* 119: 249–257.
- Roose, M.; Kahl, J.; Ploeger, A. 2009: Influence of the Farming System on the Xanthophyll Content of Soft and Hard Wheat. *J. Agric. Food Chem.* 57: 182-188.

Roose M.; Kahl J.; Körner K.; Ploeger A. 2010: Can the authenticity of organic products be proved by secondary plant substances. *Biological Agriculture and Horticulture*, 2010, Vol. 27, S. 129-138.

Shewry, P. R.; Piironen, V.; Lampi, A.-M.; Edelman, M.; Kariluoto, S.; Nurmi, T.; Fernandez-Orozco, R.; Ravel, C.; Charmet, G.; Andersson, A. A. M.; Åman, P.; Boros, D.; Gebruers, K.; Dornez, E.; Courtin, C. M.; Delcour, J. A.; Rakszegi, M.; Bedo, Z.; Ward, J. L. 2010: The HEALTHGRAIN Wheat Diversity Screen: Effects of Genotype and Environment on Phytochemicals and Dietary Fiber Components. In *J. Agric. Food Chem.* Nr. 58, S. 9291 – 9298.

Stracke, B. A.; Eitel, J.; Watzl, B.; Mäder, P.; Rüfer, C.E. 2009: Influence of the Production Method on Phytochemical Concentrations in Whole Wheat (*Triticum aestivum* L.): A Comparative Study. In *J. Agric. Food Chem.* Nr. 57, S. 10116–10121.

Ward, J. L.; Poutanen, K.; Gebruers, K.; Piironen, V.; Lampi, A.-M.; Nyström, L.; Andersson, A. A. M.; Åman, P.; Boros, D.; Rakszegi, M.; Bedo, Z.; Shewry, P. R. 2008: The HEALTHGRAIN Cereal Diversity Screen: Concept, Results, and Prospects. In *J. Agric. Food Chem.* Nr. 56, S. 9699 – 9709.

Watzl, B.; Leitzmann, C. 2005: *Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln*. 3., unveränderte Auflage, Hippokrates Verlag.

Zhou, K.; Su, L.; Yu, L. 2004: Phytochemicals and Antioxidant Properties in Wheat Bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (20), 6108-6114

Zuchowski, J.; Jonczyk, K.; Pecio, L.; Oleszek, W. 2011: Phenolic acid concentrations in organically and conventionally cultivated spring and winter wheat. *J. Sci. Food Agric.*, 91, 1089–1095.

## 9. Anhang

### Anhang 1:

#### Untersuchung von Lebensmitteln (Getreide) auf Phenolsäuren für HPLC-DAD mit Hydrolyse

**Extraktion** in Anlehnung an Serafini et al., The J. of Nutrition/Human Nutrition and Metabolism (1998) 1003-1007

**HPLC** in Anlehnung an Arranz et al., J. of Cereal Science 51 (2010) 313-318

Tomas-Barberan et al., J. Agricultural and Food Chemistry 49 (2001) 4748-4760

Heimler et al., J. Agricultural and Food Chemistry 58 (2010) 7329-7334

**Chemikalien: HCl (1,0 mol/l)**

9,8 mL 32%ige Salzsäure im 100mL-Maßkolben mit Wasser auffüllen

**NaOH-Lösung (2,0 mol/l) in 75% MeOH**

16 g NaOH in 50 mL Wasser vollständig lösen (200-ml-Maßkolben); danach unter ständigem Rühren (am besten Rührwerk + Rührfisch) schrittweise mittels Pasteurpipette mit Methanol bis zur Marke auffüllen

**meta-Phosphorsäure (0,75 mol/l)**

14,7 g meta-HPO<sub>3</sub> in 200 ml dest. H<sub>2</sub>O (Maßkolben)

**MeOH/Wasser 1+1**

**Interner Standard**

Gallussäure 10,3 mg/10 mL

**Extraktion:**

Proben mahlen (wenn nötig)

1,0 g Probe einwiegen (15ml-Falcons) + Glasperlen + 200 µL interner Standard (IS) und 4 ml HCl (1,0 mol/l)

⇒ 30 s schütteln (Vortex)

⇒ 30 min bei 37 °C inkubieren (Wasserbad) - RT

⇒ danach Zugabe von 4 ml NaOH (2,0 mol/l in 75% MeOH)

⇒ 30 s schütteln (Vortex)

⇒ 30 min bei 37 °C inkubieren (Wasserbad)

⇒ 30 s schütteln (Vortex)

⇒ danach 4 ml meta-Phosphorsäure (0,75 mol/l) zugeben

⇒ 30 s schütteln (Vortex)

⇒ 5 min mit 2.000 U/min zentrifugieren

→ Überstand in 20 mL-Maßkolben

→ zum Rückstand 3 ml MeOH/H<sub>2</sub>O 1+1 (v/v) geben – 1 min Vortex

→ 5 min zentrifugieren mit 2.000 U/min

→ Extraktion mit 3 mL MeOH/H<sub>2</sub>O 1+1 (v/v) 1x wiederholen

→ Überstände vereinigen und Kolben mit MeOH/H<sub>2</sub>O 1+1 (v/v) bis zur Marke auffüllen

→ 1 mL in 1,5mL-Tube abfüllen und zentrifugieren (5 min bei 14.000 U/min)

→ Überstand für die HPLC-Messung in ein 1,5 mL Braunglasvial pipettieren

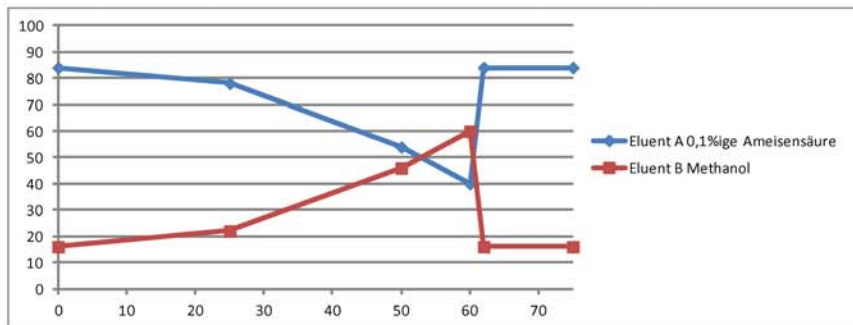
Die Überstände können bei -30°C eingefroren und am nächsten Tag analysiert werden.

HPLC:

Pumpe: L-7100, Merck-Hitachi  
Fluß: 1,0 mL/min  
Autosampler: L-7200, Merck-Hitachi  
Säule: Nucleodur 100-5 C188ec EC 250/4.0, Macherey-Nagel  
Säulenofen: 30 °C  
Detektor: DAD, L7420 Merck-Hitachi  
200-400 nm, 4 nm,  
Wellenlänge 1: 280 nm  
Wellenlänge 2: 320 nm  
Injektionsvolumen: 20 µL  
Mobile Phase: Eluent A 0,1 % ige Ameisensäure  
Eluent B Methanol, HPLC grade

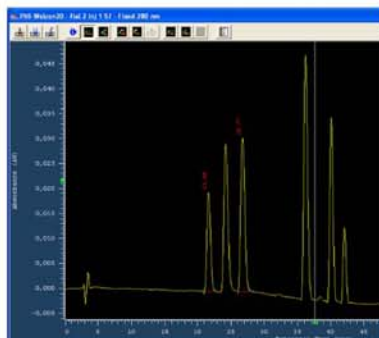
Gradient:	Zeit (min)	Eluent A (%)	Eluent B (%)
	0	84	16
	25	78	22
	50	54	46
	60	40	60
	62	84	16
	75	84	16

HPLC Gradient:

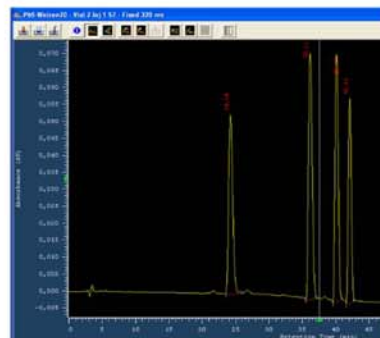


Beispielchromatogramm einer Standardmischung aus Vanillinsäure, Kaffeesäure, Syringasäure, p-Cumarsäure, Ferulasäure und Sinapinsäure

280 nm



320 nm





## Anhang 2:

### Vitamin E + Carotinoide in Hartweizen (HPLC)

Probenaufbereitung: für kombinierte Messung von Vitamin E und Carotinoiden in Hartweizen, Grieß und Nudeln

⇒ Einwaage ca. 5 g in 50 ml-Erlenmeyer-Kolben mit Schliff (bei Analyse mit und ohne Einweichen jede Probe 6 mal einwiegen; Einweichen mit Wasser bei trockenen Proben für quantitative Extraktion zwingend notwendig)

**mit Einweichen:** 3 der 6 Einwaagen mit je 5 ml HPLC-Wasser gründlich mischen, mind. 5 min quellen lassen  
**ohne Einweichen:** restliche 3 Einwaagen

⇒ Zugabe von 200 mg MgO und 35 ml MeOH/THF (1+1 v/v, + 0,1 % BHT) in alle 6 Erlenmeyer-Kolben  
+ 100 µl **β-apo-8'-Carotinal** (interner Standard für Carotinoide, entspricht **1:50**)  
+ 100 µl **α-Tocopherolacetat** (interner Standard für Vitamin E, entspricht **1:100** in der verdünnten Lösung)

⇒ 5 min am Ultra-Turrax im Eisbad extrahieren

⇒ anschließend über Büchnertrichter mit Filter 390 unter Vakuum filtrieren,  
bei den eingeweichten Proben vorher einen Löffel Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (entwässert) auf den Filter geben (bindet das Wasser)

⇒ Extraktion mit 35 ml MeOH/THF (1+1 v/v, + 0,1 % BHT) mind. 2 x wiederholen (bis Lösungsmittel farblos)

⇒ Extraktionslösung in Braunglas-Rundkolben überführen, dabei die Flasche nachspülen und am Rotationsverdampfer bei 30-35 °C bis auf ca. 10 ml einengen

⇒ Lösung in braune 50 ml-Spitzkolben überführen, Rundkolben dabei gründlich nachspülen bis Lösungsmittel farblos bleibt, bis zur Trockene einrotieren

⇒ Rückstand mit wenig Ethanol im Ultraschallbad lösen und in 5 ml-Maßkolben überführen, Spitzkolben weitere 2-3 mal mit Ethanol spülen (Lösungsmittel muss am Ende farblos bleiben) und ebenfalls in den Maßkolben überführen, mit Ethanol auf 5 ml auffüllen

⇒ Lösung in Zentrifugengläser umfüllen und 5 min bei 5000 U/min zentrifugieren (Reste bei -30 °C einfrieren)

↓  
⇒ vom Überstand 1 ml in Reaktionsgefäße abfüllen,  
5 min mit 14000 U/min zentrifugieren

⇒ Überstand in Braunglas-Vials abfüllen,  
für die Proben können Deckel mit bereits durchstochenen  
Septen verwendet werden (für Standard neue Septen)

#### HPLC Carotinoide

Standard: Lutein / Zeaxanthin / β-Apo-8'-carotinal  
je 40 µl in einem 2 ml-Maßkolben mit Ethanol  
auffüllen (entspricht Verd. 1:50)

Detektor: Diodenarray, 450 nm  
Säule: Trentec C<sub>30</sub>-Analysensäule (Säule 6),  
250 mm × 4,6 mm; 5µm  
Mobile Phase: Methanol/Wasser (97+3, v/v)  
Thermostat: 20°C  
Flussrate: 1,3 ml/min  
Injektionsvol.: 50 µl  
Laufzeit: 40 min, isokratisch

↓  
⇒ 1 ml des Überstandes in 2 ml-Maßkolben  
umfüllen, Lösungsmittel unter N<sub>2</sub> abblasen

⇒ Rückstand in 2 ml n-Hexan/MtBE (98+2,  
v/m) lösen (Ultraschallbad) = **Verd. 1:2**

⇒ 1 ml in Reaktionsgefäße abfüllen und 5 min  
bei 14000 U/min zentrifugieren

⇒ Überstand in Braunglas-Vials abfüllen  
(Deckel mit neuen Septen)

#### HPLC Vitamin E

Standards: siehe gesondertes Blatt

Detektor: Fluoreszenz;  
Anregung 292 nm, Emission 330 nm  
Säule: Knauer Eurospher 100 DIOL,  
250 mm × 4,0 mm; 7µm  
Mobile Phase: n-Hexan/MtBE (98+2, v/m)  
(10 g MtBE in einen 500 ml Maßkolben  
einwiegen und mit n-Hexan auffüllen)  
Thermostat: 35°C (auf 37 °C einstellen)  
Flussrate: 1,5 ml/min  
Injektionsvol.: 20 µl  
Laufzeit: 45 min, isokratisch

**Standardlösungen Vitamin E:**

Stammlösungen von  $\alpha$ -Tocopherolacetat,  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol (T) sowie  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocotrienol (T3) bei  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  gelagert

**Standardkalibrierung:**

Aus den Stammlösungen (ca. 0,5-1 mg/ml) die 1. Verdünnung (1:100) herstellen:

**T 1:100** → je 50  $\mu\text{l}$   $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol in einem 5 ml-Maßkolben mit mobiler Phase auffüllen

**T3 1:100** → je 50  $\mu\text{l}$   $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocotrienol in einem 5 ml-Maßkolben mit mobiler Phase auffüllen

Aus den beiden 1. Verdünnungen die weiteren Verdünnungen herstellen:

**1:500** → 400  $\mu\text{l}$  der 1. Verd. / 2 ml mobile Phase

**1:1000** → 200  $\mu\text{l}$  der 1. Verd. / 2 ml mobile Phase

**1:2000** → 100  $\mu\text{l}$  der 1. Verd. / 2 ml mobile Phase

**(1:5000)** → 40  $\mu\text{l}$  der 1. Verd. / 2 ml mobile Phase)

**$\alpha$ -T-acetat 1:100** → 20  $\mu\text{l}$   $\alpha$ -Tocopherolacetat in einem 2 ml-Maßkolben mit mobiler Phase auffüllen

**Mischstandard:** Stammlösungen T 1:100 und T3 1:100 im gleichen Verhältnis mischen

Bei Kenntnis über die Vitamin E- Zusammensetzung der Probe nur die notwendigen Standards verwenden und entsprechend mischen. Hinweis:  $\gamma$ -Tocopherol und  $\beta$ -Tocotrienol dürfen nicht gemeinsam in eine Standardlösung, da keine ausreichende Trennung!