

**Phenolische Carbonsäuren als Cross-links  
in unlöslicher Getreidenahrungsfaser  
unter besonderer Berücksichtigung  
von technologischen Prozessen**

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades  
des Fachbereiches Chemie  
der Universität Hamburg

aus dem  
Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie  
- Abteilung Lebensmittelchemie -  
der Universität Hamburg

vorgelegt von

**Anja Renger**  
aus Hamburg

Hamburg 1999

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von April 1995 bis Januar 1999 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Dr. H. Steinhart am Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie, Abteilung Lebensmittelchemie, der Universität Hamburg angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. Dr. H. Steinhart
2. Gutachter: Prof. Dr. J. Voß

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Dezember 1999

## **Danksagungen**

Herrn Prof. Dr. Dr. H. Steinhart möchte ich für die Bereitstellung des Themas sowie sein stetes Interesse an dieser Arbeit danken.

Herrn Prof. Dr. J. Voß danke ich für die Übernahme des Koreferates.

Bei Dr. W. Ganßmann von der Firma Peter Kölln, Köllnflockenwerke, Elmshorn möchte ich mich für das Überlassen der Haferprodukte bedanken. Ein herzlicher Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. F. Meuser (Institut für Getreidetechnologie, TU Berlin) und seiner Mitarbeiterin Frau E. Stötzer für die Rohmaterialien und Extrudate aus Weizen, Gerste und Hafer. Bei der Firma Bahlsen, Hannover, möchte ich mich für die Zusendung der Maisprodukte bedanken.

Ein besonderes Dankeschön möchte ich Gundula Aviszus, Wiebke Höhs, Iris Altug und Petra Schmanke für ihr Engagement und die hervorragende Zusammenarbeit aussprechen. Ferner danke ich Mirko Bunzel für anregende Gespräche und die Durchsicht des Manuskripts. Bei den Kolleginnen und Kollegen der Abteilung Lebensmittelchemie möchte ich mich für die nette Zusammenarbeit bedanken.

Meinen lieben Eltern

## Abkürzungsverzeichnis

|                      |                                                                                                             |
|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ADH                  | <b>A</b> lkalische <b>D</b> ruck <b>h</b> ydrolyse                                                          |
| AH                   | <b>A</b> lkal <b>i</b> hydrolyse                                                                            |
| AOAC                 | <b>A</b> ssociation of <b>O</b> fficial <b>A</b> nalytical <b>C</b> hemists                                 |
| Ara                  | <b>A</b> rabinose                                                                                           |
| AX                   | <b>A</b> rabino <b>x</b> ylan                                                                               |
| BPX-5                | siehe DB-5                                                                                                  |
| BSTFA                | N,O- <b>Bis</b> -( <b>T</b> rimethylsilyl)-trifluor <b>a</b> cetamid                                        |
| c                    | cis                                                                                                         |
| C                    | <b>C</b> oniferylalkohol                                                                                    |
| CC                   | Homocyclobutandimere der p-Cumarsäure                                                                       |
| CF                   | Heterocyclobutandimere aus p-Cumarsäure und Ferulasäure                                                     |
| DAD                  | <b>D</b> iode <b>n</b> array <b>d</b> etektor/detektion                                                     |
| DB-5                 | GC-Kapillarsäule mit einer Phenyl(5%)-Methyl(95%)-Polysiloxanphase                                          |
| dest.                | destilliert                                                                                                 |
| 8-8'aryl DFS         | 8-8' verknüpftes <b>D</b> ehydrodimer der <b>F</b> erulasäure, Aryltetralinform                             |
| 8-8' DFS             | 8-8' verknüpftes <b>D</b> ehydrodimer der <b>F</b> erulasäure, offene Form                                  |
| 8-5' DFS             | 8-5' verknüpftes <b>D</b> ehydrodimer der <b>F</b> erulasäure, offene Form                                  |
| 8-5'benzo DFS        | 8-5' verknüpftes <b>D</b> ehydrodimer der <b>F</b> erulasäure, benzofurane Form                             |
| 8-O-4' DFS           | 8-O-4' verknüpftes <b>D</b> ehydrodimer der <b>F</b> erulasäure                                             |
| 5-5' DFS             | 5-5' verknüpftes <b>D</b> ehydrodimer der <b>F</b> erulasäure                                               |
| DFS                  | <b>D</b> ehydrodimer der <b>F</b> erulasäure                                                                |
| DMSO                 | <b>D</b> imethylsul <b>f</b> oxid                                                                           |
| E.C.R.               | <b>e</b> ffective <b>c</b> arbon <b>r</b> esponse                                                           |
| EHF                  | <b>E</b> xtrudat <b>H</b> afer <b>f</b> locken                                                              |
| EHK                  | <b>E</b> xtrudat <b>H</b> afer <b>k</b> leie                                                                |
| EI                   | <b>E</b> lektronenstoß <b>i</b> onisation                                                                   |
| Ery                  | meso- <b>E</b> rythrit                                                                                      |
| Ery(Ac) <sub>4</sub> | <b>E</b> rythritoltetra <b>a</b> cetat                                                                      |
| EtAc                 | <b>E</b> thyl <b>a</b> cetat                                                                                |
| EtOH                 | Ethanol                                                                                                     |
| f                    | <b>F</b> uranose                                                                                            |
| FD                   | <b>F</b> ilmd <b>i</b> cke                                                                                  |
| FE                   | <b>F</b> erulasäure-Coniferyl <b>e</b> ther                                                                 |
| FF                   | Homocyclobutandimere der Ferulasäure                                                                        |
| FID                  | <b>F</b> lammenionisations <b>d</b> etektor                                                                 |
| F <sub>mol</sub>     | <b>m</b> olarer Response <b>f</b> aktor                                                                     |
| FS                   | <b>F</b> erulasäure                                                                                         |
| FS-Ara               | 5-O- <i>trans</i> - <b>F</b> eruloyl- $\alpha$ - <b>A</b> rabino <b>f</b> uranosid                          |
| GC                   | <b>G</b> aschromatograph(ie)                                                                                |
| GC-FID               | <b>G</b> aschromatographie- <b>F</b> lammenionisations <b>d</b> etektor                                     |
| GC-MS                | <b>G</b> aschromatographie- <b>M</b> assens <b>s</b> pektrometrie                                           |
| Glc                  | Glukose (engl.: <b>g</b> lucose)                                                                            |
| GlcA                 | Glukuronsäure (engl.: <b>g</b> lucuronic <b>a</b> cid)                                                      |
| GPC                  | <b>G</b> erpermeations <b>c</b> hromatographie                                                              |
| h                    | Stunden (engl.: <b>h</b> ours)                                                                              |
| HAc                  | Essigsäure                                                                                                  |
| HF                   | <b>H</b> afer <b>f</b> locken                                                                               |
| hh                   | <b>h</b> ead-to- <b>h</b> ead Konfiguration eines Cyclobutandimers                                          |
| HK                   | <b>H</b> afer <b>k</b> leie                                                                                 |
| HPLC                 | Hochleistungsflüssigchromatographie (engl.: <b>h</b> igh <b>p</b> erformance <b>l</b> iquid chromatography) |
| ht                   | <b>h</b> ead-to- <b>t</b> ail Konfiguration eines Cyclobutandimers                                          |
| ID                   | <b>I</b> nnere <b>r</b> <b>D</b> urchmesser                                                                 |

|                |                                                                                         |
|----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| IS             | <b>I</b> nterner <b>S</b> tandard                                                       |
| K <sub>f</sub> | <b>K</b> orrekturfaktor                                                                 |
| LNf            | <b>l</b> ösliche <b>N</b> ahrungs <b>f</b> aser                                         |
| LMBG           | <b>L</b> ebens <b>m</b> ittel- und <b>B</b> edarfsgegenstände <b>g</b> esetz            |
| m/z            | Massenzahl                                                                              |
| MeCN           | Acetonitril                                                                             |
| MeI            | Methyliodid                                                                             |
| MeOH           | Methanol                                                                                |
| MG             | <b>M</b> olekulargewicht                                                                |
| min            | <b>M</b> inuten                                                                         |
| MS             | <b>M</b> assenspektrometrie                                                             |
| MW             | <b>M</b> ittelwert                                                                      |
| n.b.           | <b>n</b> icht <b>b</b> estimmt                                                          |
| n.n.           | <b>n</b> icht <b>n</b> achweisbar                                                       |
| n.s.           | <b>n</b> icht <b>s</b> ignifikant (P > 0.05)                                            |
| NF             | <b>N</b> ahrungs <b>f</b> aser                                                          |
| NSP            | <b>N</b> icht <b>s</b> tärke- <b>P</b> olysaccharid                                     |
| oCS            | <b>o</b> rtho- <b>C</b> umarsäure                                                       |
| p              | <b>P</b> yranose                                                                        |
| pCS            | <b>p</b> ara- <b>C</b> umarsäure                                                        |
| PCS            | <b>p</b> henolische <b>C</b> arbonsäuren                                                |
| PMAAA          | <b>p</b> artiiell <b>m</b> ethylierte <b>A</b> nhydro <b>a</b> lditol <b>a</b> cetate   |
| RH             | <b>R</b> oh <b>h</b> afer                                                               |
| RP             | <b>R</b> eversed <b>P</b> hase                                                          |
| RRT            | relative Retentionszeit (engl.: <b>r</b> elative <b>r</b> etention <b>t</b> ime)        |
| RT             | <b>R</b> aum <b>t</b> emperatur                                                         |
| s              | Standardabweichung                                                                      |
| SCFA           | kurzkettige Fettsäuren (engl.: <b>s</b> hort <b>c</b> hain <b>f</b> atty <b>a</b> cids) |
| sec            | <b>S</b> ekunden                                                                        |
| SME            | <b>s</b> pezifische <b>m</b> echanische <b>E</b> nergieeinleitung                       |
| SPE            | Festphasenextraktion (engl.: <b>s</b> olid <b>p</b> hase <b>e</b> xtraction)            |
| t              | trans                                                                                   |
| TES            | <b>T</b> riethyl <b>s</b> ilan                                                          |
| TFA            | Trifluoressigsäure                                                                      |
| TM             | <b>T</b> rocken <b>m</b> asse                                                           |
| TMCS           | <b>T</b> rimethyl <b>c</b> hlorsilan                                                    |
| TMS            | <b>t</b> rimethyl <b>s</b> ilyl                                                         |
| tr             | in Spuren (engl.: <b>t</b> races)                                                       |
| U <sub>f</sub> | <b>U</b> mr <b>e</b> chnungs <b>f</b> aktor                                             |
| UNF            | <b>u</b> nlösliche <b>N</b> ahrungs <b>f</b> aser                                       |
| UV             | <b>U</b> ltravio <b>l</b> ettes <b>L</b> icht                                           |
| v/v            | Volumenverhältnisse                                                                     |
| VIS            | sichtbares Licht (engl.: <b>v</b> isible)                                               |
| WFR            | Wiederfindungsrate                                                                      |
| w/w            | Gewichtsverhältnisse                                                                    |
| Xyl            | <b>X</b> ylose                                                                          |
| *              | <b>s</b> ignifikant (P < 0.05)                                                          |
| **             | <b>h</b> och <b>s</b> ignifikant (P < 0.01)                                             |

# Inhaltsverzeichnis

|                                                                                    |           |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 EINLEITUNG</b>                                                                | <b>1</b>  |
| <b>1.1 Definition und ernährungsphysiologische Bedeutung von Nahrungsfaser</b>     | <b>1</b>  |
| <b>1.2 Struktur der Getreide-Nahrungsfaser</b>                                     | <b>3</b>  |
| 1.2.1 Kohlenhydratkomponenten                                                      | 4         |
| 1.2.2 Phenolische Carbonsäuren                                                     | 5         |
| 1.2.2.1 Monomere Phenolcarbonsäuren                                                | 5         |
| 1.2.2.2 Dimere Phenolcarbonsäuren                                                  | 6         |
| 1.2.3 Cross-links zwischen Polysacchariden bzw. Polysacchariden und Lignin         | 8         |
| <b>1.3 Problemstellung</b>                                                         | <b>10</b> |
| <b>2 UNTERSUCHUNGSMATERIAL</b>                                                     | <b>12</b> |
| <b>2.1 Getreide-Rohmaterial</b>                                                    | <b>12</b> |
| <b>2.2 Getreide-Extrudate</b>                                                      | <b>12</b> |
| 2.2.1 Verarbeitung von Getreide mittels Extrusion                                  | 12        |
| 2.2.2 Probenmaterial: Weizen, Gerste, Hafer und Mais                               | 14        |
| <b>2.3 Haferprodukte</b>                                                           | <b>15</b> |
| <b>3 ANALYTIK</b>                                                                  | <b>17</b> |
| <b>3.1 Nahrungsfaserisolierung</b>                                                 | <b>17</b> |
| <b>3.2 Charakterisierung der Nahrungsfaser</b>                                     | <b>19</b> |
| 3.2.1 Phenolcarbonsäuren                                                           | 19        |
| 3.2.1.1 Alkalihydrolyse                                                            | 19        |
| 3.2.1.2 Alkalische Druckhydrolyse                                                  | 19        |
| 3.2.1.3 Festphasenextraktion                                                       | 20        |
| 3.2.1.4 Gaschromatographie (GC) und Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS) | 21        |
| 3.2.1.5 Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC)                                 | 21        |
| 3.2.1.6 Synthese dimerer Phenolcarbonsäuren                                        | 22        |
| 3.2.2 Kohlenhydrate                                                                | 23        |
| 3.2.2.1 SAEMAN-Hydrolyse und Herstellung der Alditolacetate                        | 25        |
| 3.2.2.2 Methanolyse und Trimethylsilylierung                                       | 25        |
| 3.2.2.3 Methylierung und Reduktive Depolymerisation                                | 26        |
| <b>3.3 Methodenentwicklung und -optimierung</b>                                    | <b>29</b> |
| 3.3.1 Festphasenextraktion der phenolischen Carbonsäuren                           | 29        |
| 3.3.1.1 Theoretische Grundlagen                                                    | 29        |
| 3.3.1.2 Durchführung                                                               | 30        |
| 3.3.1.3 Ergebnisse                                                                 | 31        |
| 3.3.2 Optimierung der alkalischen Druckhydrolyse                                   | 34        |
| <b>3.4 Statistische Bewertung der Ergebnisse</b>                                   | <b>36</b> |
| <b>4 ERGEBNISSE</b>                                                                | <b>37</b> |

|                                                                                                                                               |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>4.1 Identifizierung dimerer phenolischer Carbonsäuren</b>                                                                                  | <b>37</b> |
| 4.1.1 Dehydrodimere der Ferulasäure (DFS)                                                                                                     | 37        |
| 4.1.2 Cyclobutandimere der FS bzw. pCS                                                                                                        | 42        |
| 4.1.3 Ferulasäure-Coniferylether (FE)                                                                                                         | 43        |
| <b>4.2 Getreide-Rohmaterial</b>                                                                                                               | <b>45</b> |
| 4.2.1 Nahrungsfasergehalte                                                                                                                    | 45        |
| 4.2.2 Kohlenhydratzusammensetzung                                                                                                             | 45        |
| 4.2.3 Phenolische Carbonsäuren                                                                                                                | 46        |
| 4.2.3.1 Monomere Phenolcarbonsäuren                                                                                                           | 46        |
| 4.2.3.2 Dimere Phenolcarbonsäuren                                                                                                             | 47        |
| 4.2.3.3 Sonstige dimere Verbindungen                                                                                                          | 48        |
| <b>4.3 Getreide-Extrudate</b>                                                                                                                 | <b>48</b> |
| 4.3.1 Nahrungsfasergehalte                                                                                                                    | 48        |
| 4.3.2 Kohlenhydratzusammensetzung                                                                                                             | 48        |
| 4.3.3 Phenolische Carbonsäuren                                                                                                                | 49        |
| 4.3.3.1 Monomere Phenolcarbonsäuren                                                                                                           | 50        |
| 4.3.3.2 Dimere Phenolcarbonsäuren                                                                                                             | 51        |
| 4.3.3.3 Sonstige dimere Verbindungen                                                                                                          | 54        |
| <b>4.4 Haferprodukte</b>                                                                                                                      | <b>54</b> |
| 4.4.1 Nahrungsfasergehalte                                                                                                                    | 54        |
| 4.4.2 Kohlenhydratzusammensetzung                                                                                                             | 55        |
| 4.4.3 Phenolische Carbonsäuren                                                                                                                | 56        |
| 4.4.3.1 Monomere Phenolcarbonsäuren                                                                                                           | 56        |
| 4.4.3.2 Dimere Phenolcarbonsäuren                                                                                                             | 57        |
| 4.4.3.3 Sonstige dimere Verbindungen                                                                                                          | 58        |
| <b>5 DISKUSSION</b>                                                                                                                           | <b>59</b> |
| <b>5.1 Unterschiede in den Phenolcarbonsäuregehalten der Getreide unter Berücksichtigung der Bindungsform (ester- und/oder ethergebunden)</b> | <b>59</b> |
| 5.1.1 Gehalte an monomeren phenolischen Carbonsäuren                                                                                          | 60        |
| 5.1.2 Gehalte an dimeren phenolischen Carbonsäuren                                                                                            | 60        |
| 5.1.2.1 Dehydrodimere der Ferulasäure                                                                                                         | 60        |
| 5.1.2.2 Cyclobutandimere der Ferulasäure                                                                                                      | 62        |
| 5.1.3 Verhältnisse von FS bzw. DFS zum Arabinoxylangehalt                                                                                     | 63        |
| <b>5.2 Einflüsse der Verarbeitung auf die unlösliche Getreidenahrungsfaser</b>                                                                | <b>64</b> |
| 5.2.1 Beeinflussung der Nahrungsfasergehalte in Getreide durch Verarbeitung                                                                   | 64        |
| 5.2.1.1 Getreide-Extrudate                                                                                                                    | 64        |
| 5.2.1.2 Haferprodukte                                                                                                                         | 65        |
| 5.2.2 Einfluß der Verarbeitung auf Gehalte und Verteilung der phenolischen Carbonsäuren in UNF der Getreide                                   | 66        |
| 5.2.2.1 Getreide-Extrudate                                                                                                                    | 66        |
| 5.2.2.2 Haferprodukte                                                                                                                         | 70        |
| 5.2.3 Beeinflussung des Cross-linkings in der UNF                                                                                             | 72        |
| 5.2.3.1 Getreide-Extrudate                                                                                                                    | 72        |
| 5.2.3.2 Haferprodukte                                                                                                                         | 74        |
| 5.2.4 Verarbeitungseinflüsse im Hinblick auf die ernährungsphysiologische Bedeutung der phenolischen Carbonsäuren und der UNF                 | 76        |
| <b>6 ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY</b>                                                                                                            | <b>78</b> |
| <b>7 LITERATUR</b>                                                                                                                            | <b>80</b> |

|                                                                                                  |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>8 ANHANG</b>                                                                                  | <b>87</b>  |
| <b>8.1 Geräte und Meßparameter</b>                                                               | <b>87</b>  |
| 8.1.1 Gaschromatographie (GC)                                                                    | 87         |
| 8.1.2 Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS)                                             | 89         |
| 8.1.3 Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC)                                                 | 89         |
| 8.1.4 Sonstige Geräte                                                                            | 90         |
| <b>8.2 Verwendete Chemikalien</b>                                                                | <b>90</b>  |
| <b>8.3 Methodendurchführung</b>                                                                  | <b>92</b>  |
| 8.3.1 Isolierung der LNF und UNF                                                                 | 92         |
| 8.3.2 Phenolcarbonsäuren                                                                         | 93         |
| 8.3.2.1 <i>Synthese der Cyclobutandicarbonsäuredimere</i>                                        | 93         |
| 8.3.2.2 <i>Synthese des 5-5' Ferulasäure-Dehydridimers</i>                                       | 94         |
| 8.3.2.3 <i>Alkalihydrolyse</i>                                                                   | 94         |
| 8.3.2.4 <i>Alkalische Druckhydrolyse</i>                                                         | 94         |
| 8.3.2.5 <i>Festphasenextraktion</i>                                                              | 95         |
| 8.3.2.6 <i>TMS-Derivatisierung der Phenolcarbonsäuren</i>                                        | 95         |
| 8.3.2.7 <i>HPLC-Analyse</i>                                                                      | 96         |
| 8.3.3 Kohlenhydrate                                                                              | 96         |
| 8.3.3.1 <i>Methanolyse und Trimethylsilylierung</i>                                              | 96         |
| 8.3.3.2 <i>Saure Hydrolyse nach SAEMAN und Derivatisierung zu Alditolacetaten</i>                | 97         |
| 8.3.3.3 <i>Methylierung und Reduktive Depolymerisation</i>                                       | 99         |
| <b>8.4 Auswertung</b>                                                                            | <b>100</b> |
| 8.4.1 Phenolcarbonsäuren                                                                         | 100        |
| 8.4.1.1 <i>GC-Analyse der TMS-Derivate</i>                                                       | 100        |
| 8.4.1.2 <i>HPLC-Analyse</i>                                                                      | 102        |
| 8.4.2 Kohlenhydrate                                                                              | 103        |
| 8.4.2.1 <i>SAEMAN-Hydrolyse und Methanolyse</i>                                                  | 103        |
| 8.4.2.2 <i>Reduktive Depolymerisation</i>                                                        | 106        |
| <b>8.5 Ergebnisse</b>                                                                            | <b>108</b> |
| 8.5.1 Charakterisierung des Untersuchungsmaterials: Trockenmasse, Fett- und Nahrungsfasergehalte | 108        |
| 8.5.2 Phenolcarbonsäuregehalte                                                                   | 109        |
| 8.5.2.1 <i>Getreide-Rohmaterial</i>                                                              | 109        |
| 8.5.2.2 <i>Getreide-Extrudate</i>                                                                | 111        |
| 8.5.2.3 <i>Haferprodukte</i>                                                                     | 115        |
| 8.5.2.4 <i>Berechnung der ethergebundenen Phenolcarbonsäuren aus der Differenz ADH-AH</i>        | 117        |
| 8.5.3 Kohlenhydratzusammensetzung                                                                | 119        |
| 8.5.3.1 <i>Getreide-Rohmaterial</i>                                                              | 119        |
| 8.5.3.2 <i>Getreide-Extrudate</i>                                                                | 119        |
| 8.5.3.3 <i>Haferprodukte</i>                                                                     | 121        |
| 8.5.4 Ergebnisse der statistischen Auswertung mittels t-Test                                     | 122        |
| 8.5.4.1 <i>Nahrungsfasergehalte</i>                                                              | 122        |
| 8.5.4.2 <i>Kohlenhydratzusammensetzung nach SAEMAN-Hydrolyse</i>                                 | 123        |
| 8.5.4.3 <i>Phenolcarbonsäuregehalte: Vergleich AH und ADH</i>                                    | 124        |
| 8.5.4.4 <i>Estergebundene Phenolcarbonsäuren: Vergleich Rohstoffe und Verarbeitungsprodukte</i>  | 125        |
| <b>8.6 Chromatogramme und Spektren</b>                                                           | <b>126</b> |
| 8.6.1 GC-Chromatogramme der Phenolcarbonsäuren                                                   | 126        |
| 8.6.2 GC-MS-Spektren der DFS                                                                     | 129        |
| 8.6.3 HPLC-Chromatogramme                                                                        | 129        |
| 8.6.4 UV-Spektren der DFS                                                                        | 130        |

# 1 Einleitung

## 1.1 Definition und ernährungsphysiologische Bedeutung von Nahrungsfaser

Im deutschsprachigen Raum wird der Begriff „Nahrungsfaser“, der sich eng an die im englischen Sprachgebrauch übliche Bezeichnung „dietary fiber“ anlehnt, heutzutage anstatt des älteren Begriffs „Ballaststoff“ verwendet. Dabei charakterisieren beide Begriffe den Sachverhalt nicht treffend, da es sich hierbei weder um eine negativ zu bewertende Stoffklasse, noch um ausschließlich faserige Substanzen handelt (SCHULZE et al., 1993).

Der Begriff „dietary fiber“ wurde Mitte der 50er Jahre durch HIPSLEY (1953) geprägt, doch ihre Bedeutung insbesondere in der menschlichen Ernährung wurde erst zu Beginn der 70er Jahre durch die englischen Ärzte BURKITT & TROWELL (1975) erkannt. Die Kennzeichnung des Begriffs „Nahrungsfaser“ erfolgt sowohl nach botanischen, chemischen, als auch ernährungsphysiologischen Gesichtspunkten.

So definierten TROWELL et al. (1976) „dietary fiber“ aus ernährungsphysiologischer Sicht als „Bestandteile der pflanzlichen Nahrung, die im menschlichen Magen-Darm-Trakt durch körpereigene Enzyme nicht abgebaut werden“. Die Definition wurde inzwischen erweitert, um andere nichtverdauliche Polysaccharide bzw. Polymere pflanzlichen und anderen Ursprungs, die überwiegend infolge der Lebensmittelverarbeitung hinzukommen, mit einzubeziehen (LEWIS, 1991). Außerdem sollte in der Definition berücksichtigt werden, daß ein Teil der Nahrungsfaser einem mikrobiellen Abbau im Dickdarm des Menschen unterliegen und teilweise resorbiert wird. Somit werden heute unter Nahrungsfaser Stoffe verstanden, die der „Hydrolyse durch menschliche Verdauungsenzyme vollständig oder teilweise entgehen, im Dünndarm nicht resorbiert werden und in den Dickdarm gelangen“ (SCHULZE et al., 1993).

Diese ernährungsphysiologische Definition der Nahrungsfaser hat zur Folge, daß sich hinter dem Begriff eine sehr heterogene Gruppe von Lebensmittelinhaltsstoffen verbirgt, die sich durch chemische, physikalische und botanische Strukturvielfalt auszeichnet.

Chemisch gesehen ist Nahrungsfaser eine Mischung aus einfachen und komplexen Nichtstärke-Polysacchariden (NSP) und Lignin. Zu den NSPs zählen Stütz- und Strukturelemente der pflanzlichen Zellwände wie Cellulose, Hemicellulosen, Pektine und  $\beta$ -Glukane sowie Pflanzengummen und -schleime. Außerdem wird zur Nahrungsfaser resistente Stärke zugerechnet, die nicht oder nur schwer verdaubar ist und insbesondere bei der Lebensmittelverarbeitung entstehen kann. Neben der resistenten Stärke werden auch Wachse und Cutin dazugezählt, die ebenfalls vom Menschen nicht verdaut werden können (LEWIS, 1991; SPILLER, 1993).

Natürliche Quellen für Nahrungsfaser sind insbesondere Früchte, Gemüse, Leguminosen und Getreideprodukte (LEWIS, 1991).

Der Verzehr von Nahrungsfaser wirkt sich positiv auf koronare Herzerkrankungen, Verstopfung, Diabetes, Brustkrebs, Dickdarmkrebs und andere Darmkrankheiten aus (McDOUGALL et al., 1996). Eigenschaften wie mikrobielle Fermentierbarkeit, Bindung organischer Substanzen, Ionenaustausch, Viskosität und Wasserbindungskapazität bedingen die physiologischen Wirkungen der Nahrungsfaser und stehen in Relation zu ihrer Struktur und Zusammensetzung (SCHNEEMAN & TINKER, 1995). Da Nahrungsfaser je nach Herkunft unterschiedliche physikalische und chemische Eigenschaften besitzen, die sich zudem im Laufe der Magen-Darm-Passage ändern, resultiert daraus die Vielfalt physiologischer Effekte im Gastrointestinaltrakt (SCHULZE & ZUNFT, 1993) (siehe Abbildung 1).

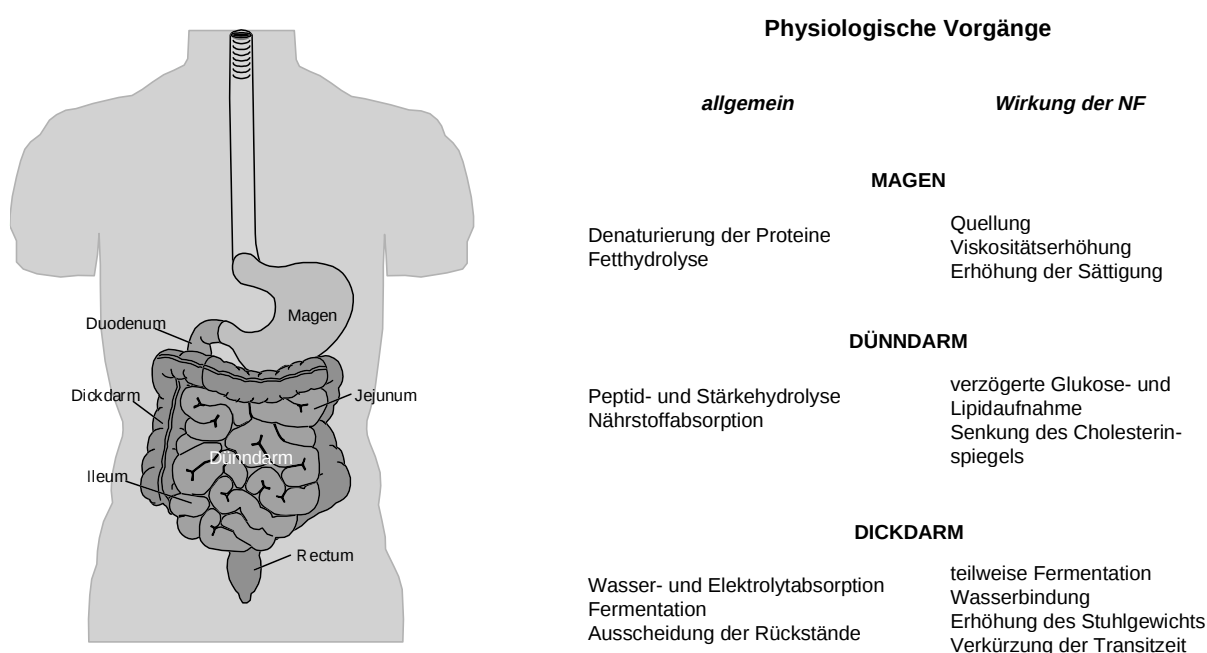


Abbildung 1: Gegenüberstellung der allgemeinen physiologischen Vorgänge im Gastrointestinaltrakt und der speziellen Wirkung von Nahrungsfaser (NF)

Nahrungsfasern werden zwar nicht von den Enzymen der menschlichen Verdauungsorgane abgebaut, können aber von anaeroben Bakterien der Dickdarmflora teilweise fermentiert werden. Der Grad der Fermentation hängt von der Struktur und der daraus resultierenden Löslichkeit der Nahrungsfaser ab. Pektine, Schleime und Gummen werden fast vollständig, Hemicellulosen nur teilweise und Cellulose überhaupt nicht abgebaut. Bei der Fermentation werden kurzkettige Fettsäuren (SCFA), z.B. Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure, gebildet, welche absorbiert werden und den Mucosazellen des Darms als Nährstoffquelle dienen. Deshalb reagiert die Darmschleimhaut auf eine drastisch verminderte SCFA-Zufuhr, z.B. durch eine nahrungsfaserarme Ernährung, mit akuter und chronischer Entzündung (SOERGEL, 1994).

Viskose lösliche Nahrungsfaser (LNF) wie Pektine,  $\beta$ -Glukane oder Gummen verzögern aufgrund ihres guten Wasserbindungsvermögens die Darmentleerung, da es zur Quellung und Bildung von Gelmatrices kommt. Außerdem führt die Inhomogenität des Speisebreis zu einer verzögerten und gleichmäßigeren Resorption insbesondere von Kohlenhydraten. Der Blutzuckerspiegel steigt nach den Mahlzeiten nicht stark an, der Bedarf an Insulin

wird verringert. Zudem wird die Darmmotilität, das Stuhlvolumen und der Stuhlwassergehalt im Dickdarm erhöht (ANDERSSON, 1992; SCHULZE & ZUNFT, 1993; SCHNEEMAN & TINKER, 1995). Außerdem üben UNF, wie z.B. Haferkleie, einen positiven Effekt auf den Cholesterinspiegel aus, indem sie die Ausscheidung von Gallensäuren und/oder Cholesterin mit dem Faeces erhöhen (ANDERSSON, 1992).

Unlösliche Nahrungsfaser (UNF) wirkt sich positiv auf die Prävention von divertikulären Krankheiten und Darmkrebs aus (PLAAMI, 1997). Sie verkürzt die Darmentleerung und die Transitzeit, das Stuhlvolumen und der Wassergehalt im Stuhl wird erhöht. Epidemiologische Studien unterstützen die Hypothese, daß Nahrungsfaser, insbesondere in ihrer unlöslichen Form, vor Darmkrebs schützt (TROCK et al., 1990; FREUDENHEIM et al., 1990; GIOVANNUCCI et al., 1992; HOWE et al., 1992). Diese Eigenschaft wird vor allem auf die Fermentationsprodukte, die kurzkettigen Fettsäuren, zurückgeführt, insbesondere auf antineoplastische Effekte des Butyrats und die pH-Erniedrigung durch SCFAs. Der schützende Effekt von Weizenkleie in Bezug auf Darmkrebs wurde mit ihrer langsameren Fermentierbarkeit in Verbindung gebracht. Während die Fermentation der Weizenkleie im Colon descendens anhält, trifft dieses auf Haferkleie und Guargummi nicht zu (MCINTYRE et al., 1991). Guar und Haferkleie besitzen zwar eine sehr hohe Fermentierbarkeit, aber der Butyratlevel im Colon war gering und es konnte kein schützender Effekt vor Darmkrebs festgestellt werden (MCINTYRE et al., 1993).

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß Nahrungsfaser eine wichtige Bedeutung in der menschlichen Ernährung hat (FELDHEIM, 1989), obwohl sie nicht zu den essentiellen Nahrungsbestandteilen gezählt wird.

Sie verringert den Energiegehalt der Nahrung durch Erhöhung des Nahrungsvolumens, erhöht die Kauzeit und verlängert die Dauer der Nahrungsaufnahme. Außerdem bewirkt sie eine Erhöhung des Stuhlvolumens, eine Steigerung der Darmperistaltik und eine schnellere Entleerung des Darms. Zusätzlich ist die Senkung des Cholesterinspiegels im Blut, eine Verminderung des Anstiegs des Blutzuckerspiegels und eine Bindung krebserzeugender Stoffe an die Nahrungsfaser zu beobachten. Nahrungsfaserreiche Nahrung verhindert die Entstehung von Zivilisationskrankheiten wie Obstipation, Übergewicht, Gallensteine, Divertikulose, Diabetes mellitus, Arteriosklerose und Dickdarmkrebs (SCHNEEMAN, 1989). Heute wird in Deutschland von der deutschen Gesellschaft für Ernährung empfohlen mindestens 30 g Nahrungsfaser pro Tag aufzunehmen, wobei die eine Hälfte aus Getreideerzeugnissen und die andere Hälfte aus Gemüse und Obst, vorzugsweise in roher Form, stammen sollte (FELDHEIM, 1990).

## **1.2 Struktur der Getreide-Nahrungsfaser**

Im Getreide tragen hauptsächlich die pflanzlichen Zellwände zum Nahrungsfasergehalt bei. Je nach Art der Zellwand sind als Hauptkomponenten Hemicellulosen (Arabinoxylane,  $\beta$ -Glukane, Xyloglukane) und Cellulose sowie Lignin bzw. Vorstufen des Lignins, welche in der vorliegenden Arbeit vereinfacht als Lignin bezeichnet werden, enthalten. Abbildung 2 gibt einen Überblick über den Aufbau des Getreidekorns. Nahrungsfaserreiche Gewebe sind die Zellwände des Endosperms, die Aleuronschicht und die Randschichten des Korns (Testa und Perikarp). Die Außenschichten des Korns, welche in der Müllerei vom hellen Mehlkörper getrennt werden, bezeichnet man als Kleie.

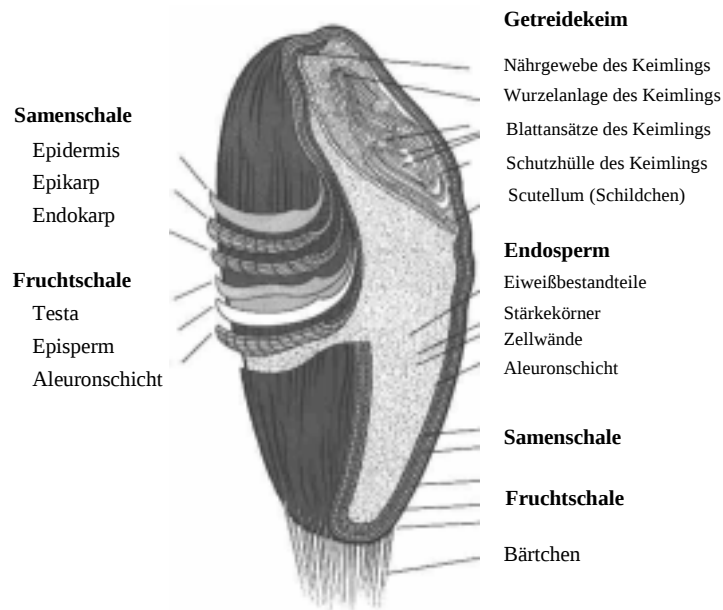


Abbildung 2: Aufbau eines Getreidekorns

### 1.2.1 Kohlenhydratkomponenten

Die Endospermzellwände der Getreidekörner bestehen zu 80-90% aus Hemicellulosen, wozu generell Arabinoxylane,  $\beta$ -Glukane und Xyloglukane zählen. In den meisten Gramineen wie z.B. Weizen stellen Arabinoxylane den Hauptanteil ( $\approx 60$ -70%) dar. Ausnahmen bilden die Endospermzellwände von Gerste und Hafer ( $\approx 20\%$ ) sowie Reis ( $\approx 40\%$ ) (FINCHER & STONE, 1986). Reis unterscheidet sich von allen anderen Getreidearten, da lediglich in Reisendospermzellwänden signifikante Mengen an Pektin, Xyloglukan und Cellulose nachgewiesen wurden (SHIBUYA, 1984).

Arabinoxylane bestehen aus einer  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-D-Xylosekette und kurzen Monosaccharidseitenketten (WILKIE, 1979; MCNEILL et al., 1984; VISSER et al., 1992). Als Seitenketten kommen hauptsächlich  $\alpha$ -L-Araf-Reste vor, welche mit C3 und/oder C2 der Xylosehauptkette verbunden sind. Ein kleiner Anteil liegt in Form oligomerer Seitenketten vor, bestehend aus zwei oder mehr Arabinoseresten, die mittels 1 $\rightarrow$ 2, 1 $\rightarrow$ 3 oder 1 $\rightarrow$ 5-Bindungen verknüpft sind (IZYDORCZYK & BILIADERIS, 1995). Durch die  $\alpha$ -L-Araf-Gruppen wird die Löslichkeit der Xylane in Wasser erhöht (ANDREWARTHA et al., 1979). Einige der  $\alpha$ -L-Araf-Gruppen sind mit anderen Zuckerresten substituiert, z.B.  $\beta$ -D-Xylp und  $\beta$ -D-Galp (WILKIE, 1979; MCNEILL et al., 1984).

Dagegen dominieren in den Endospermzellwänden von Gerste und Hafer die  $\beta$ -Glukane (ca. 70%). Sie setzen sich aus 1 $\rightarrow$ 4 und 1 $\rightarrow$ 3-verknüpften  $\beta$ -D-Glukoseresten zusammen. Längere 1 $\rightarrow$ 4-verknüpfte Glukoseketten werden von einem oder mehreren 1 $\rightarrow$ 3-gebundenen Glukoseresten unterbrochen, so daß keine lineare Molekülkette vorliegt wie z.B. in der Cellulose, welche nur  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 4-Bindungen enthält.

Die äußeren Zellschichten des Getreidekorns besitzen gegenüber den Zellwänden des Endosperms eine leicht veränderte Zusammensetzung, welche vor allem auf die teilweise Lignifizierung des Gewebes zurückzuführen ist. Zum Beispiel bestehen die Zellwände der Weizenkleie aus 53% Hemicellulosen (hauptsächlich Glukuronoarabinoxylane), 30% Cellulose, 12% Lignin und Phenolen sowie 5% Protein (SELVENDRAN & MACDOUGALL, 1995). Glukuronoarabinoxylane wurden ebenfalls in Nichtendospermzellwänden von Hirse (WOOLARD et al., 1976), Gerste (FINCHER & STONE, 1986) und Reis (SHIBUYA & IWASAKI, 1985) nachgewiesen.

## 1.2.2 Phenolische Carbonsäuren

### 1.2.2.1 Monomere Phenolcarbonsäuren

Die Polysaccharide der pflanzlichen Zellwände enthalten in geringem Maße Phenolcarbonsäuren. Hauptsächlich kommen Zimtsäure- und Benzoessäurederivate vor, wobei Ferulasäure (FS) und p-Cumarsäure (pCS) dominieren.

Da Phenolcarbonsäuren durch Alkalihydrolyse unter milden Bedingungen aus Nahrungsfaser abgespalten werden können, wird eine Esterbindung zu den Polysacchariden angenommen. Bislang wurden verschiedene FS-Mono- und Oligosaccharidester sowie pCS-Oligosaccharidester charakterisiert. Nach enzymatischer Hydrolyse der Zellwände wurden die niedermolekularen Bruchstücke isoliert (GPC, HPLC) und durch Kombination verschiedener Analysemethoden (Methylierungsanalyse, Massenspektrometrie,  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR) identifiziert.

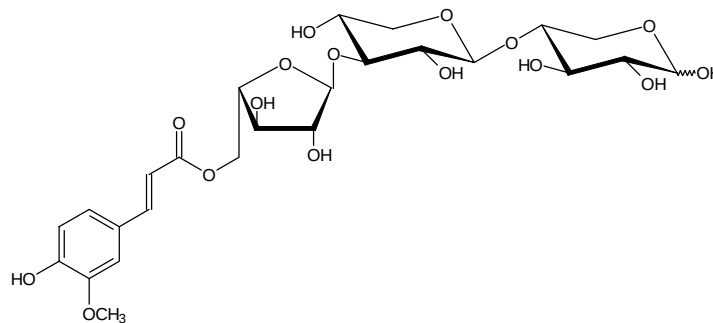


Abbildung 3: [5-O-((trans)-Feruloyl)- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl]-(1 $\rightarrow$ 3)-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-D-xylopyranose (FAXX)

Die erzielten Ergebnisse zeigen, daß die Phenolcarbonsäuren in Monokotyledonen, z.B. den Gramineae, vorwiegend an Arabinoxylane (SMITH & HARTLEY, 1983; KATO & NEVINS, 1985; GUBLER et al., 1985; MUELLER-HARVEY et al., 1986; AHLUWALIA & FRY, 1986; KATO et al., 1987; LAM et al., 1992; HIMMELSBACH et al., 1994) oder Xyloglukane (ISHII et al., 1990) gebunden sind. Die Veresterung eines Teils der  $\alpha$ -L-Araf -Reste im Arabinoxylan mit FS findet am C5-Kohlenstoff statt (siehe Abbildung 3). In den Xyloglukanen sind die Ferulasäuremoleküle an C4 der  $\beta$ -D-Xylp gebunden. Als Ausgangsmaterialien dienten Stengel und Blätter tropischer Gräser, Bambussprossen, Zuckerrohrbagasse, Gerstenstroh, Gerstenaleuronzellen oder -endospermzellen, Weizenkleie, Hirsestengel, Maissprossen, -kleie oder -blätter sowie Blätter diverser Gramineae (siehe Tabelle 1). In Dikotyledonen wurde hingegen eine Assoziation zum Pektin beobachtet. Hier erfolgt die Veresterung mit FS an den Galaktose- bzw. Arabinoseseitenketten über die C6- bzw. C3-Kohlenstoffatome. Untersucht wurden Spinat, Zuckerrübenzellen und Zuckerrübenpulpe (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Liste der Pflanzenmaterialien aus denen Phenolcarbonsäure-Mono- bzw. Oligosaccharide isoliert wurden

| Pflanzenmaterial                                                                                                              | Literatur                                                                                            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Monokotyledonen</i>                                                                                                        |                                                                                                      |
| tropische Gräser ( <i>Lolium multiflorum</i> , <i>Lolium perenne</i> , <i>Festuca arundinacea</i> , <i>Cynodon dactylon</i> ) | HARTLEY et al., 1976; SMITH & HARTLEY, 1983; FORD, 1989; HIMMELSBACH et al., 1994; WENDE & FRY, 1997 |
| Zuckerrohrbagasse                                                                                                             | KATO et al., 1987; AZUMA et al., 1990                                                                |
| Gerstenstroh                                                                                                                  | MUELLER-HARVEY et al., 1986                                                                          |
| Gerstenaleuron-/endospermzellen                                                                                               | GUBLER et al., 1985; AHLUWALIA & FRY, 1986                                                           |
| Bambussprossen                                                                                                                | ISHII et al., 1990; ISHII & HIROI, 1990a,b                                                           |
| Maiskleie, Maissprößling                                                                                                      | KATO & NEVINS, 1985; NISHITANI & NEVINS, 1990; SAULNIER et al., 1995                                 |
| Hirsestengel                                                                                                                  | HARTLEY et al., 1992                                                                                 |
| Weizenkleie                                                                                                                   | SMITH & HARTLEY, 1983; RALET et al., 1994                                                            |
| Blätter von Weizen, Roggen, Gerste, Hafer, Hirse, Mais                                                                        | SMITH & HARTLEY, 1983; WENDE & FRY, 1997                                                             |
| <i>Dikotyledonen</i>                                                                                                          |                                                                                                      |
| Spinat                                                                                                                        | FRY, 1982; ISHII & TOBITA, 1993; ISHII, 1994                                                         |
| Zuckerrübe (cell suspension-cultured)                                                                                         | ISHII, 1994                                                                                          |
| Zuckerrübenpulpe                                                                                                              | ROMBOUTS & THIBAUT, 1986; RALET et al., 1994a; COLQUHOUN et al., 1994                                |

### 1.2.2.2 Dimere Phenolcarbonsäuren

#### Dehydrodimere der Ferulasäure

Vor über zwanzig Jahren beobachteten GEISSMANN & NEUKOM (1973), daß Weizenpentosane in Gegenwart von  $H_2O_2$  und Peroxidase gelieren. Sie stellten fest, daß dieses Verhalten auf die Ferulasäurereste im Arabinoxylan zurückzuführen war, welche unter oxidativen Bedingungen am Phenylrest miteinander reagierten und ein 5-5' verknüpftes Dimer bildeten (siehe Abbildung 4).

Lange Zeit galt diese sogenannte Diferulasäure als einzig bekanntes Dehydrodimer der FS und wurde u.a. in Getreide (MARKWALDER & NEUKOM, 1976; NORDKVIST et al., 1984; KAMISAKA et al., 1990), Weidelgras (*Lolium multiflorum*) (HARTLEY et al., 1976) oder Spinat (FRY, 1983) nachgewiesen. Erst 1994 berichteten RALPH et al. über die Synthese weiterer Dehydrodimerer mit Verknüpfungen in Form von 8-5'-, 8-8'-, 8-O-4'- und 4-O-5'-Brücken. Bis auf die 4-O-5'-Form wiesen sie alle anderen Dehydrodimeren in Blättern oder Stengeln einiger tropischer Gräser nach. Infolge dieser Befunde wurden weitere Materialien wie Maiszellsuspensionen (GRABBER et al., 1995), Weizen- und Haferstengel (JACQUET et al., 1995), chinesische Wasserkastanie (WALDRON et al., 1996; PARR et al., 1996), Zuckerrübenpulpe (MICARD et al., 1997; OOSTERVELD et al., 1997), Zuckerrüben und rote Beete (WALDRON et al., 1997), Karotten (PARR et al., 1997) sowie Maiskleie (NG et al., 1997) untersucht und weitere Dehydrodimere der FS (DFS) identifiziert.

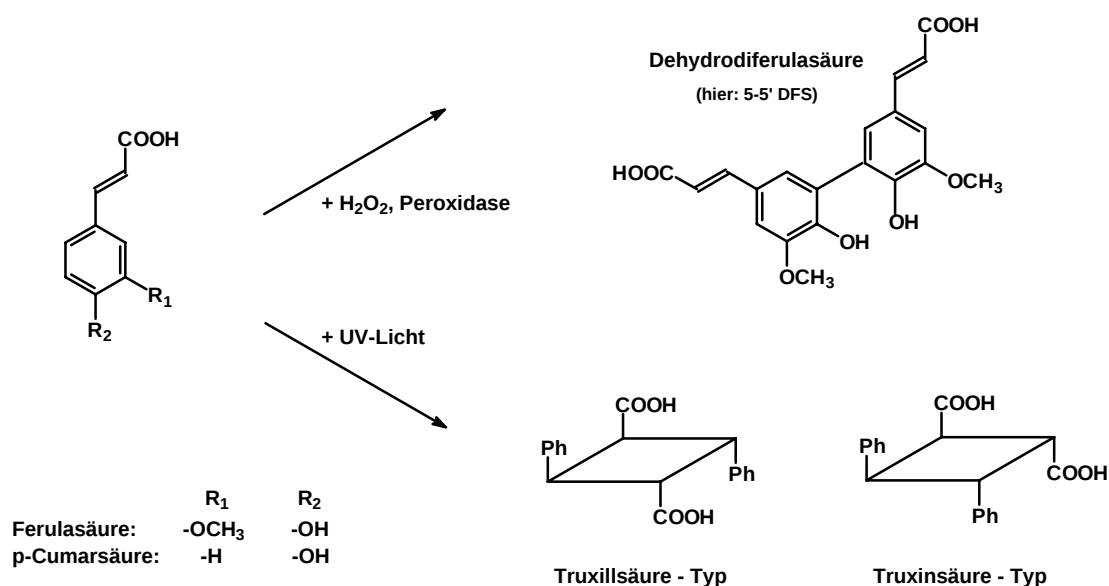


Abbildung 4: Entstehung von Ferulasäure-Dehydrodimeren (DFS) mittels oxidativer Kopplung und von Cyclobutandimeren mittels Photodimerisation

### Cyclobutandimere

Über die Isolierung und Identifizierung einer weiteren Gruppe von Dimeren, den Cyclobutandimeren vom Truxin- bzw. Truxillsäure-Typus berichteten HARTLEY et al. (1988, 1990a), FORD & HARTLEY (1988, 1989) und ERASO & HARTLEY (1990). Die Cyclobutandimeren aus pCS (CC) bzw. FS (FF) wurden von HARTLEYS Arbeitsgruppe in Blättern und Stengeln tropischer Gräser, Gerstenstroh, Mais, Hirse, Luzerne und Klee nachgewiesen. PACKERT (1993) identifizierte CC-, CF- und FF-Dimere in Getreidekörnern (Weizen, Roggen, Gerste, Hafer, Mais, Reis, Hirse).

Unter Einwirkung von UV-Licht dimerisieren FS bzw. pCS, indem eine  $[_2\pi+2\pi]$ -Cycloaddition an den Doppelbindungen der Seitenkette stattfindet und ein Butanring ausgebildet wird (siehe Abbildung 4). Je nach räumlicher Ausrichtung bei der Photodimerisierung unterscheidet man zwei Typen: 2,4-Diphenylcyclobutan-1,3-Dicarbonsäuren entsprechen dem Truxillsäure-Typ und sind head-to-tail (ht) verknüpft; 3,4-Diphenylcyclobutan-1,2-Dicarbonsäuren entsprechen dem Truxinsäure-Typ und sind head-to-head (hh) verknüpft. Bei Cyclobutanhomodimeren vom Truxillsäure-Typ sind fünf Konfigurationen möglich, beim Truxinsäure-Typ sechs Konfigurationen. Bei der Belichtung von FS bzw. pCS, ist also die Entstehung von je maximal 11 Stereoisomeren zu erwarten. Wird eine Mischung aus FS und pCS belichtet, so entstehen neben den Homodimeren auch Heterodimere (CF-Dimere), von denen theoretisch 14 Stereoisomere existieren (6 ht, 8 hh).

Die Vermutung, daß diese Dimeren *in vivo* durch Photodimerisation entstehen, wird durch die Beobachtung unterstützt, daß FS- bzw. pCS-Trisaccharid-Ester (FS-Ara-Xyl<sub>2</sub> bzw. pCS-Ara-Xyl<sub>2</sub>) bei Belichtung entsprechende Strukturen bilden (HARTLEY et al., 1990b).

### 1.2.3 Cross-links zwischen Polysacchariden bzw. Polysacchariden und Lignin

Die Identifizierung von dimeren Phenolcarbonsäuren in verschiedenen pflanzlichen Materialien läßt vermuten, daß diese sowohl intra- als auch intermolekulare Cross-links zwischen Polysacchariden ausbilden. In lignifizierten Geweben ist darüberhinaus eine Vernetzung mit dem Lignin möglich. Lignin ist ein hochkomplexes Nichtpolysaccharid-polymer, welches aus Phenylpropaneinheiten aufgebaut ist, wasserunlöslich und unverdaulich für den Menschen ist (SCHNEEMAN, 1989).

Aufgrund ihrer bifunktionellen Eigenschaften (phenolische Hydroxylgruppe, Carboxylgruppe) können Phenolcarbonsäuren sowohl Ester- als auch Etherbindungen eingehen. Damit sind folgende Quervernetzungen von Biopolymeren in der Pflanzenzellwand durch phenolische Carbonsäuren theoretisch denkbar (siehe Abbildung 5; IYAMA et al., 1994):

#### *Polysaccharid - Polysaccharid*

- Ester- / Etherbindung einer monomeren Phenolcarbonsäure z.B. FS (Ester-Ether-Brücke)
- Ester- / Esterbindung einer dimeren Phenolcarbonsäure (Dehydrodimer oder Photodimer) (Diester-Brücke)
- Ester- / Etherbindung einer dimeren Phenolcarbonsäure (Dehydrodimer oder Photodimer) (Ester-Ether-Brücke)
- Ether- / Etherbindung einer dimeren Phenolcarbonsäure (Dehydrodimer oder Photodimer) (Diether-Brücke)

#### *Polysaccharid-Lignin*

- Esterbindung zum Polysaccharid, Etherbindung zum Lignin durch monomere Phenolcarbonsäure (Ester-Ether-Brücke)
- Esterbindung zum Polysaccharid, Etherbindung zum Lignin durch dimere Phenolcarbonsäure (Diester-Ether-Brücke)
- Etherbindung einer dimeren Phenolcarbonsäure (Dehydrodimer oder Photodimer) zum Polysaccharid und zum Lignin (Diether-Brücke)

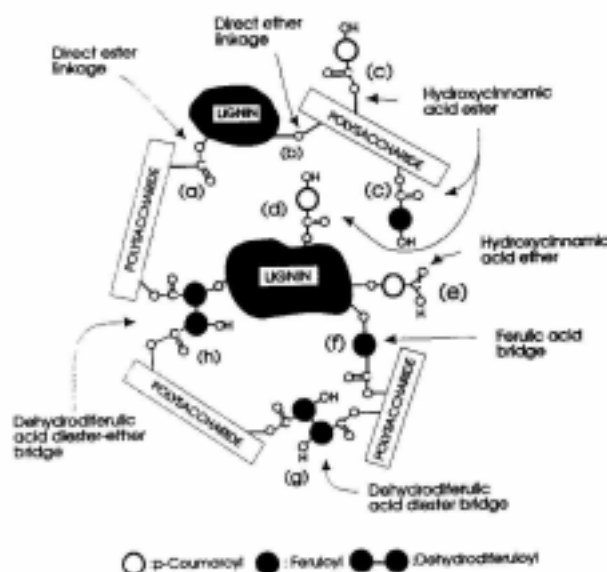


Abbildung 5: Schematische Darstellung der möglichen Cross-links zwischen Polysacchariden und Lignin in der Zellwand (nach IYAMA et al., 1994)

Die Hypothese, daß phenolische Carbonsäuren, vorallem FS, mittels Diester-Brücken Polysaccharide vernetzen, wurde durch die Identifizierung eines DFS-Hexasaccharid-Esters in Bambus-Sproßlingen (ISHII, 1991) unterstützt. Eine FS-Ester-Ether-Brücke zwischen Polysacchariden konnte bislang nicht isoliert werden. Während Polysaccharide der Gramineae vorherrschend mit FS verestert sind, ist pCS vor allem mit Lignin verknüpft. Ethergebundene FS und pCS wurden in Mais (NIMZ et al., 1981), Weizen- (SCALBERT et al., 1985) und Reisstroh (SHARMA et al., 1986) nachgewiesen. Aufgrund von Modellstudien vermuteten SCALBERT et al. (1986), daß FS kovalente Ester-Ether-Bindungen zwischen Lignin und Polysacchariden ausbilden kann. In Weizenstroh wurden daraufhin solche Bindungen nachgewiesen (SCALBERT et al., 1985; IYAMA et al., 1990). Mittels direkter chemischer Analyse der löslichen Lignin-Polysaccharid-Komplexe aus Weizen- und Phalaris-Internodien wurde gezeigt, daß jegliche veretherte FS auch mit Arabinoxylan verestert ist (LAM et al., 1992). Allerdings wurden Lignin-Lignin-FS-Brücken nicht ausgeschlossen (LAM et al., 1992).

Unklar blieb die Position der FS am Lignin. SCALBERT et al. (1986) vermuteten eine Veretherung an  $\alpha$ -C-Position der Propanoidseitenkette des Lignins, indem die phenolischen Reste der Polysaccharide an Quinonmethid-Intermediate binden und Benzylarylether ( $\alpha$ -Ether) ergeben (siehe Abbildung 6).  $^{13}\text{C}$ -NMR-Studien von RALPH et al. (1995) zeigten jedoch, daß diese Reaktion in der Pflanze nicht der bevorzugte Mechanismus zur Inkorporierung von FS in das Lignin-Polymer ist. Vielmehr reagiert die FS in einem radikalischen Prozess (siehe Abbildung 7) mit Lignin-Monomeren wie Coniferylalkohol zu einer Vielzahl von  $\beta$ -Ethern (RALPH et al., 1992) und kann somit als Initiationsstelle der Lignifizierung gelten (GRABBER et al., 1995; HATFIELD et al., 1999). DFS werden auf entsprechende Art und Weise in den Lignifizierungsprozess mit einbezogen (QUIDEAU & RALPH, 1997).

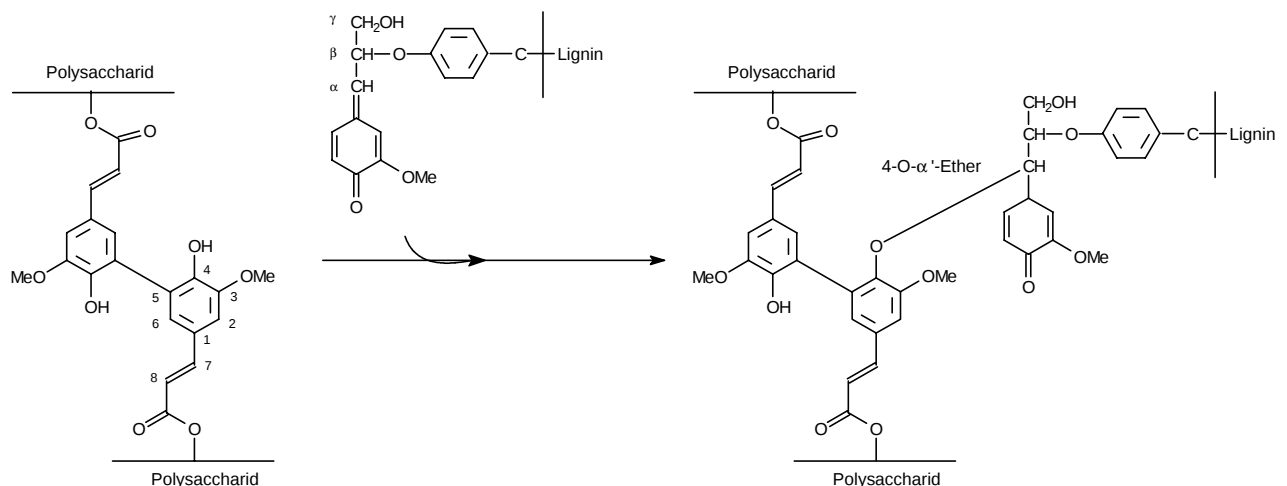


Abbildung 6: Reaktion von monomerer oder dimerer FS mit Quinonmethid-Intermediaten des Ligninkomplexes zu  $\alpha$ -Ethern

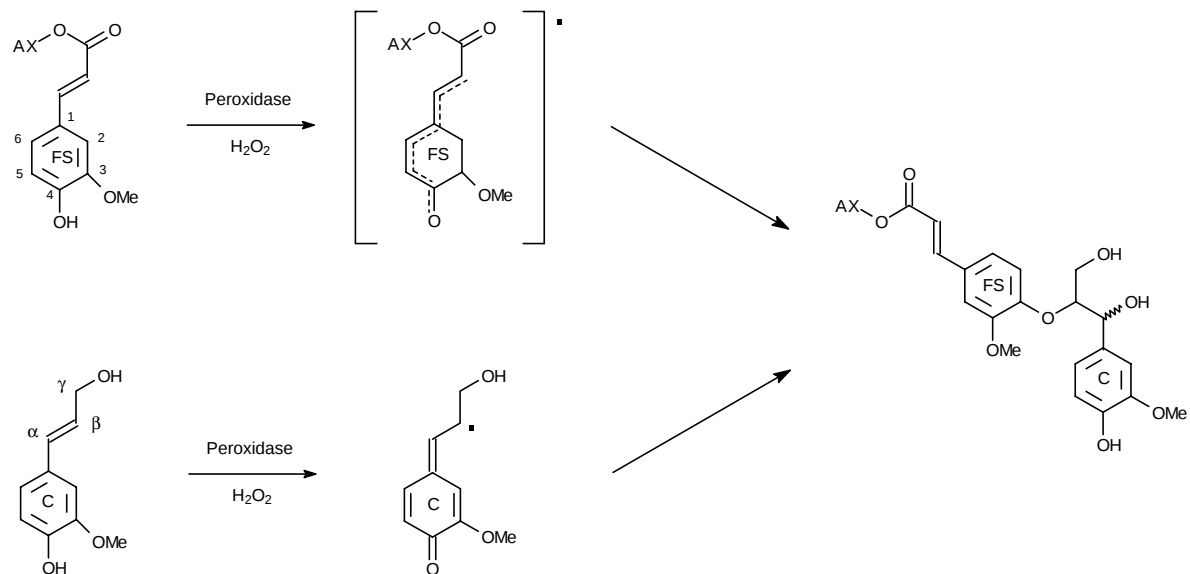


Abbildung 7: Radikalische Reaktion von monomerer oder dimerer FS mit Ligninmonomeren zu  $\beta$ -Ethern (AX = Arabinoxylan; FS = Ferulasäure; C = Coniferylalkohol)

### 1.3 Problemstellung

Die Nahrungsfaserhypothese besagt, daß eine Ernährung reich an pflanzlichen Zellwänden zum Schutz vor einer Reihe von Krankheiten beiträgt. Dieses ist in den westlichen Industrieländern, bedingt durch den geringen Verzehr von Nahrungsfaser, von besonderer Bedeutung. Der schützende Effekt der Nahrungsfaser beruht auf dem Anteil an pflanzlichen Zellwänden in der Nahrung und deren physikochemischen Eigenschaften. Deshalb können Methoden, die nur den Gehalt der Nahrungsfaser in Lebensmitteln bestimmen, nicht adequat die funktionale Rolle der Nahrungsfaser erklären, solange nicht die Veränderungen durch Verarbeitungsprozesse oder Einflüsse des Magen-Darm-Trakts in Betracht gezogen werden. Zum Beispiel ist die Nahrungsfaser im oberen Verdauungstrakt zugänglich für Löslichkeitsänderungen, im Dickdarm wird je nach Art der Nahrungsfaser ein erheblicher Anteil fermentiert. Also ist es offensichtlich, daß für ein besseres Verständnis der Bedeutung der Nahrungsfaser im Verdauungstrakt die chemische Zusammensetzung der Nahrungsfaser in Relation zur Struktur und Funktion der einzelnen Biopolymere in den Zellwänden der verschiedenen Gewebetypen geklärt werden muß.

Die Bindungsart und der Vernetzungsgrad zwischen Biopolymeren in der Nahrungsfasermatrix wurde bei der Betrachtung der chemischen Zusammensetzung der Hauptstrukturkomponenten der als Nahrungsfaser genutzten Zellwände wenig beachtet. Das Verhalten der Nahrungsfasermatrix hängt jedoch von der Fähigkeit der Polysaccharide ab, Wechselwirkungen und Vernetzungen einzugehen und von deren Erhaltung unter verschiedenen physiologischen Bedingungen. Das Bestehen von Crosslinks ist z.B. wesentlich für die Löslichkeit der Nahrungsfaser und somit für den Widerstand gegenüber mikrobiellem Abbau. In Abbildung 8 sind die komplizierten Zusammenhänge nochmals im Überblick dargestellt.

Ein wichtiger Schritt bei der Klärung des Ausmaßes von Cross-link-Bindungen in UNF ist die Identifizierung und Quantifizierung dimerer phenolischer Carbonsäuren. Dieses beinhaltet die Entwicklung eines geeigneten Isolierungsverfahrens genauso wie den Einsatz chromatographischer und massenspektroskopischer Methoden zur Identifizierung.

Da Getreidekörner, -mehle und -kleie nur in sehr geringem Umfang roh verzehrt werden, ist unter ernährungsphysiologischen Gesichtspunkten die Untersuchung verarbeiteter Produkte von Bedeutung. Hier fiel die Wahl auf Extrusionsprodukte, da sie im Hinblick auf die oben geschilderte Problematik noch nicht untersucht sind, obwohl in den letzten Jahren deren Vielfalt und Verzehr stetig zugenommen hat.

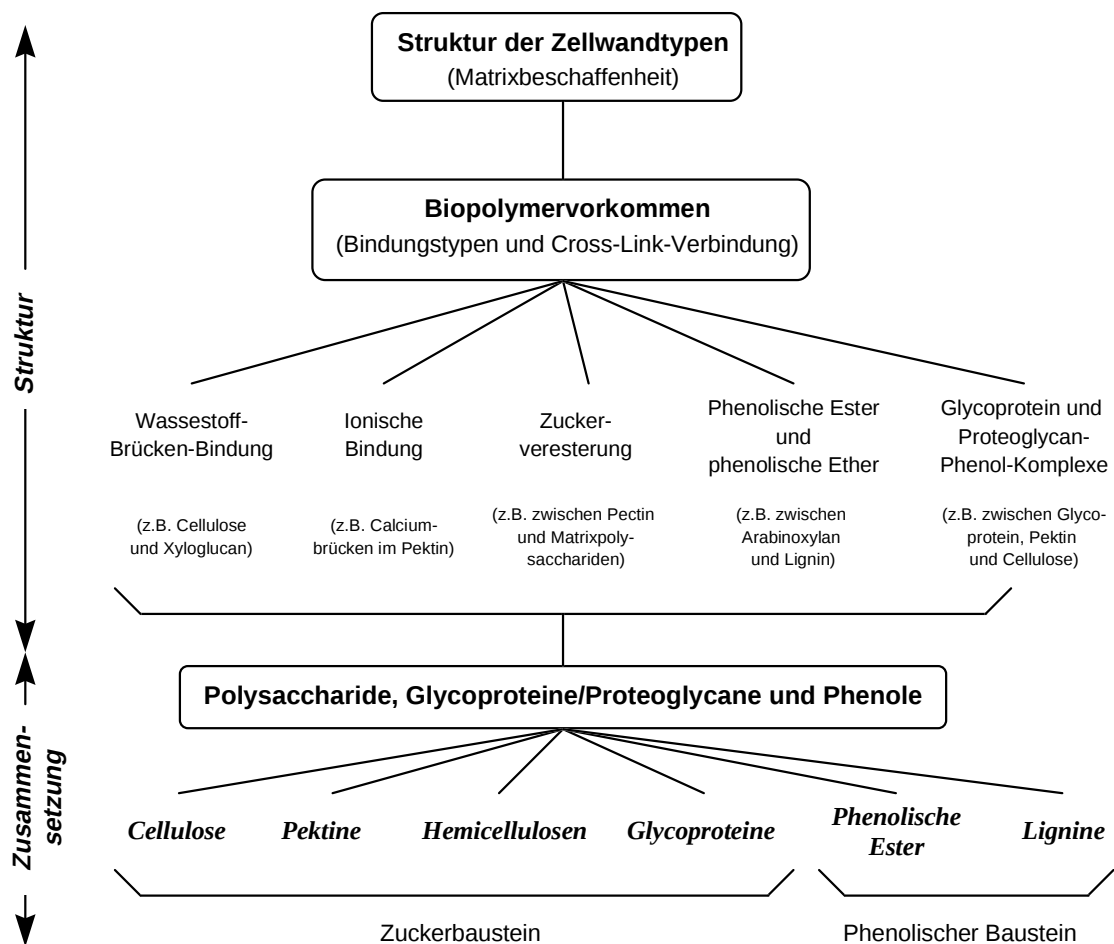


Abbildung 8: Zusammenhänge zwischen Zusammensetzung und Struktur der pflanzlichen Zellwand

## 2 Untersuchungsmaterial

### 2.1 Getreide-Rohmaterial

Insgesamt wurde die UNF sieben verschiedener Getreidearten hinsichtlich ihrer Zusammensetzung (phenolische Carbonsäure, Kohlenhydrate) untersucht. Das Rohmaterial von *Weizen (Triticum aestivum)*, *Gerste (Hordeum vulgare)*, *Hafer (Avena sativa)* wurde vom Institut für Getreidetechnologie der TU Berlin zur Verfügung gestellt, da hiervon auch entsprechende Extrudate stammten. Der *Maisgries (Zea mays)* stammte von der Firma Bahlsen (Hannover). *Roggen (Secale cereale)*, *Langkornreis (geschält, Oryza sativa)* und *Hirse (Panicum miliaceum)* wurden im Lebensmitteleinzelhandel erworben.

### 2.2 Getreide-Extrudate

#### 2.2.1 Verarbeitung von Getreide mittels Extrusion

Die Extrusion ist in der modernen Lebensmitteltechnologie ein sehr häufig eingesetztes Verfahren, vor allem wenn es um kontinuierliche Verarbeitung von Lebensmitteln geht und hat in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen.

Wie Tabelle 2 zu entnehmen ist, existiert eine große Vielzahl an extrudierten Produkten (SCHMIDT & PFALLER, 1992). Neben der großen Gruppe der Frühstückscerealien und Snackprodukte werden modifizierte Stärken und Mehle, Tierfutter, Aromen und Süßigkeiten bereits mit Extrudern hergestellt. In der Backwarenindustrie werden hauptsächlich Misch- und Knetextruder zur kontinuierlichen Teigknetung im Bereich der Frisch- und Dauerbackwarenproduktion eingesetzt.

Tabelle 2: Auswahl mittels Extrusion hergestellter Produkte

| Produktgruppe              | Beispiele                        | Konventioneller Prozess |
|----------------------------|----------------------------------|-------------------------|
| Modifizierte Getreidemehle | Babynahrung                      | Trommeltrockner         |
| Tierfutter                 | Heimtierfutter, Fischfutter      | Autoklav oder Ofen      |
| Milchprodukte              | Caseinate                        | Rührtank                |
| Aromen                     | Karamel, geröstete Aromen        | Röstitank               |
| Backwaren                  | Kekse, Fladenbrote               | Backofen                |
| Frühstückscerealien        | Puffreis, Getreideflakes         | Puffing gun             |
| Stärkehaltige Produkte     | Nudeln                           | Kochen                  |
| Süßwaren                   | Lakritz, Fruchtgummi, Schokolade | Kochen, Conchieren      |

Extruder bestehen im wesentlichen aus einem horizontalen, beheizbaren Rohr, das entweder mit einer oder zwei Schneckenwellen versehen ist (Einschnecken- und Doppelschneckenextruder) (siehe Abbildung 9). Die Oberfläche der Schneckenwellen kann unterschiedlich beschaffen sein und verschiedene Formen von Förder- und Knetelementen besitzen, je nachdem wie die Eigenschaften des Produkts sein sollen (SCHMIDT & PFALLER, 1992).

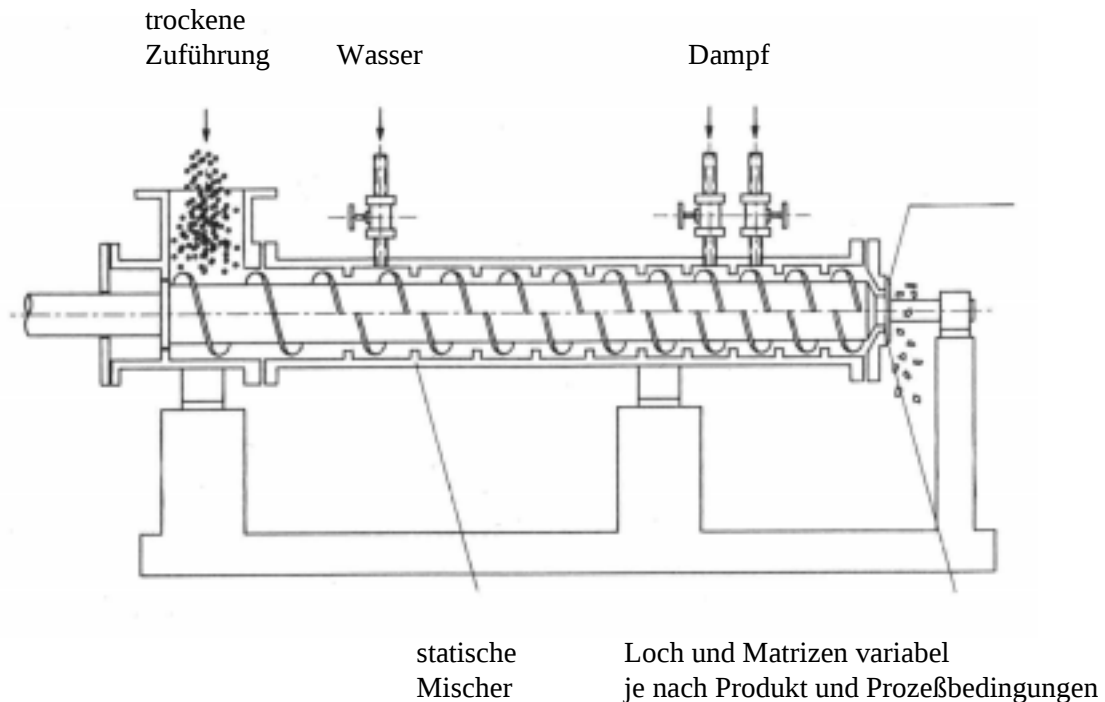


Abbildung 9: Skizze eines Extruders

Bei der Kochextrusion werden die Rohstoffkomponenten (z.B. Maisgries, Maismehl, Hafermehl, Weizenmehl, Salz, Zucker) einzeln oder als Vormischung in den Extruder dosiert. Zur Beeinflussung der Viskosität der Masse im Extruder werden unmittelbar danach die flüssigen Komponenten, meist Wasser, hinzugegeben. Die Mischwirkung der Schnecke verteilt die Flüssigkeiten homogen in der Rohstoffmischung. Unter dem Einfluß von Druck und Temperatur werden die Ausgangsmaterialien in speziellen Knet- und Scherzonen der Schnecke plastifiziert und die Inhaltsstoffe modifiziert. Die plastifizierte Masse wird durch Düsen unterschiedlicher Geometrie ausgetragen und ausgeformt. Es entstehen hierbei entweder direkt expandierte verzehrsfähige Produkte, die infolge einer Aufblähung und teilweisen Trocknung durch plötzliche Verringerung des Drucks beim Austreten aus dem Extruder, voluminös, leicht und knusprig sind. Es können aber auch nicht expandierte, dichte Halbfertigprodukte, die ihren verzehrsfähigen Zustand erst nach weiteren Behandlungsschritten erreichen, hergestellt werden (SCHMIDT & PFALLER, 1992).

Die entstandenen Extrudate sind meist kugel- bis stäbchenförmig, werden getrocknet und auf unterschiedliche Weise nachbehandelt (Rösten, Aufsprühen von Farbstoffen und Vitaminen, Schokoladenüberzug etc.).

Qualitätsbestimmende Eigenschaften, z.B. Geschmack, Textur und Farbe, können sowohl über die Rezepturbestandteile als auch durch die Extrusionsparameter wie Schneckendrehzahl und -konfiguration, Durchsatz und Temperaturprofil gezielt beeinflusst werden.

Insbesondere die spezifische mechanische Energieeinleitung (SME [Wattstunde/kg]), die Temperatur und die Wasserzugabe spielen eine entscheidende Rolle, denn durch sie wird die Umwandlung der physikalisch-chemischen Eigenschaften der eingesetzten Rohstoffe und damit die Beschaffenheit des Produkts beeinflusst.

### 2.2.2 Probenmaterial: Weizen, Gerste, Hafer und Mais

Die Extrudate und Rohstoffe von *Weizen*, *Gerste* und *Hafer* wurden vom Institut für Getreidetechnologie der TU Berlin zur Verfügung gestellt. Der *Maisgries* und die *Maiscollets* stammten von der Firma Bahlsen (Hannover).

#### **Weizen**

Bei dem Rohstoff handelt es sich um Weizenkleie der Firma Schüttmühle Berlin GmbH. Die Weizenkleie wurde mit einem Laborextruder der Firma Werner und Pfleiderer extrudiert. Dieses geschah unter unterschiedlichen Bedingungen, wobei sich die vier Extrudate einerseits durch die Behandlung des Ausgangsrohstoffes (vermahlen oder unvermahlen) sowie nach der spezifischen mechanischen Energieeinleitung SME (niedrig oder hoch) unterschieden.

|                 |                                     |
|-----------------|-------------------------------------|
| Probe W3:       | Rohstoff, unbehandelt               |
| Probe vv 11 3:  | Korngröße < 1000µm, SME = 70 Wh/kg  |
| Probe vv 11 5:  | Korngröße < 1000µm, SME = 140 Wh/kg |
| Probe vv 11 7:  | unvermahlen, SME = 30 Wh/kg         |
| Probe vv 11 11: | unvermahlen, SME = 170 Wh/kg        |

#### **Gerste**

Als Rohstoff diente Gerstenkleie, die unter folgenden Bedingungen extrudiert wurde:

|                 |                    |                   |
|-----------------|--------------------|-------------------|
| Probe V7 G1 01: | Wasserzugabe:      | 1,2 l/h (mittel)  |
|                 | Schneckendrehzahl: | 485 U/min         |
|                 | Produkttemperatur: | 160°C             |
|                 | Massestrom:        | 7 kg/h            |
|                 | SME:               | 39 Wh/kg (mittel) |

Nach der Extrusion wurde die Probe bei 40°C über Nacht in den Trockenschrank gestellt und anschließend mit der Schlagkreuzmühle < 500µm vermahlen.

#### **Hafer**

Bei dem Rohstoff handelte es sich um Haferkleie, die auf zwei unterschiedliche Weisen extrudiert wurde.

|                 |                    |                         |
|-----------------|--------------------|-------------------------|
| Probe V6 H1 01: | Wasserzugabe:      | 2,4 l/h (viel)          |
|                 | Schneckendrehzahl: | 200 U/min               |
|                 | Produkttemperatur: | 120°C                   |
|                 | Massestrom:        | 7 kg/h                  |
|                 | SME:               | 16 Wh/kg (niedrig)      |
| Probe V6 H1 06  | Wasserzugabe:      | 0,16 l/h (wenig)        |
|                 | Schneckendrehzahl: | 200 U/min               |
|                 | Produkttemperatur: | 120°C                   |
|                 | Massestrom:        | 7 kg/h                  |
|                 | SME:               | 53 Wh/kg (relativ hoch) |

Nach der Extrusion wurde die Probe bei 40°C über Nacht in den Trockenschrank gestellt und anschließend mit der Schlagkreuzmühle < 500µm vermahlen.

#### **Mais**

Als Rohstoff wurde Maisgries verwendet. Mittels eines Direkt-Extrusionsprozesses bei 180-190°C wurden daraus Maiscollets hergestellt, die als Ausgangsmaterial für die Herstellung von Snackprodukten dienen. Das Maismaterial wurde von der Firma Bahlsen (Hannover, Deutschland) zur Verfügung gestellt.

## 2.3 Haferprodukte

Die Haferproben der Firma Peter Kölln (Elmshorn, Deutschland) ermöglichten es, den gesamten Produktionsverlauf vom Rohmaterial bis zu den Haferflocken oder Haferkleie und den daraus hergestellten Extrudaten zu verfolgen. Im folgenden sind die müllereitechnischen Vorgänge kurz beschrieben (KÜHNAU & GANßMANN, 1976; ZWINGELBERG, 1993).

Zunächst erfolgt eine Reinigung des *Rohhafers*. Zur Entfernung von Metallteilen wird der Hafer über starke Magnete geleitet, weitere Verunreinigungen wie z.B. erdiger Staub und Sand werden durch mehrfache Siebung entfernt. Sämereien und runde Körner werden mit Trieuren ausgelesen.

Der gereinigte Hafer wird dann der thermischen Behandlung zugeführt. In einen senkrechten Metallschacht, *Darre* genannt, in den der Hafer langsam hineinrieselt, wird trockener Wasserdampf nicht zu hoher Temperatur eingedüst. Der Dampf lockert die Haferspелze und erwärmt das Korninnere. Durch die Hitzebehandlung des Darrens wird die Haltbarkeit des Hafers durch Inaktivierung der fettsplattenden Enzyme verlängert. Das Darren ist beim Hafer notwendig, da der Fettgehalt mit 5-9 % im Vergleich zu anderen Gramineen recht hoch ist. Durch die müllerische Bearbeitung des Hafers kommen fettsplattende Enzyme mit dem Haferfett in Kontakt und verursachen bei der Lagerung durch Fettabbauprodukte einen ranzigen, bitteren Geschmack. Außerdem wird durch das Darren der angenehm nußartige Geschmack des Hafers gebildet, da Rohhaferkerne ursprünglich frei von Aromastoffen sind. Vor dem Darrvorgang durchläuft der Rohhafer eine Dampfbehandlung, bei der Temperaturen von 80 - 90° C erreicht werden, verbunden mit einer geringen Feuchtigkeitszunahme von ca. 14 - 16 % Feuchtegehalt. Im Radiatortendurchlauftrockner der Darre erreicht der Hafer eine Temperatur von 100 - 110°C. Nach 10 - 20 min ist die Inaktivierung der Lipasen und Peroxidasen abgeschlossen, und es erfolgt die Trocknung auf ca. 10 % Endfeuchte und Kühlung auf Raumtemperatur (ZWINGELBERG, 1993).

Für die sich anschließende *Entspelzung* werden die Haferkörner nach Größe sortiert und der Schälmaschine zugeführt.

Zur *Haferflockenherstellung* werden die entspelzten Kerne dann nach durchdringender Dämpfung der Walzung zugeführt. Mit dem Dämpfprozeß wird das Ziel verfolgt, Haferkerne in ihrer physikalischen Eigenschaft so zu verändern, daß im sich anschließenden Walzenstuhl Flocken bestimmter Größe und Dicke hergestellt werden können. Mit diesem Vorgang ist gleichzeitig eine Veränderung der Stärke (Stärkeverkleisterung) verbunden. Zur Erhöhung des Feuchtigkeitsgehalts um bis zu 5% wird den Haferkernen in einem Dämpfer Dampf zugeführt. Nach der Dampfbehandlung erfolgt die Verflockung im Flockenwalzstuhl, wobei im allgemeinen auf eine Flockenstärke von ca. 0,5 mm ausgewalzt wird (ZWINGELBERG, 1993).

Zur Herstellung von *Haferkleie* werden die entspelzten Kerne müllereitechnisch so bearbeitet, daß nur die äußeren Randschichten des Korns und ein Teil des Endosperms im Mahlgut verbleiben.

Zur Herstellung der Extrusionsprodukte werden in diesem Fall einerseits die Haferflocken andererseits die Haferkleie eingesetzt. Zum Aufschließen der Haferstärke im Verarbeitungsprozeß wird der Massefeuchtigkeitsgehalt innerhalb des Extruderzylinders auf ca. 25 - 30 % durch Wasserinjektion eingestellt. Die Temperaturführung in der Extrudermasse muß dem Rohstoff angepaßt sein und sollte eine Maximaltemperatur von 105 bis 110° C bei Hafer nicht übersteigen. Je nach gewünschter Aromaentwicklung und Farbgebung kann eine Malzlösung zugesetzt werden. Bei den untersuchten Extrudaten

wurde jedoch auf jegliche Zumischung anderer (Getreide-)Komponenten verzichtet, um ausschließlich den Einfluß der Extrusion auf den Hafer studieren zu können.

Nach Übertritt des Hafers aus dem Kochextruder in den kaskadenartig nachgeschalteten Formextruder wird die Extrudermasse durch den Formzylinder und die Düsenformen vor die außen umlaufenden Messer gepreßt und kontinuierlich abgetrennt. Die mit einem Feuchtigkeitsgehalt von 20 - 27 % austretenden Pellets werden ausgekühlt und schonend im Luftstrom auf einen Wassergehalt von 16 - 18 % heruntergetrocknet (SEIBEL, 1993; ZWINGELBERG, 1993).

### 3 Analytik

#### 3.1 Nahrungsfaserisolierung

Zur Analyse von Nahrungsfaser existieren diverse Methoden, die grob in drei Gruppen unterteilt werden können: gravimetrische (Neutraldetergentien- und Säuredetergentien-Methode), enzymatisch-gravimetrische und enzymatisch-chemische Methoden.

Während mit den gravimetrischen Methoden nur Teile der UNF erfaßt werden (Cellulose, Lignin, teilweise unlösliche Hemicellulosen), können mittels enzymatisch-gravimetrischer bzw. -chemischer Methoden LNF und UNF in Summe oder getrennt bestimmt werden (Cellulose, Hemicellulosen, Pektin, Lignin) (siehe Abbildung 10). Bei der enzymatisch-chemischen Methode werden die Zuckerbausteine der Nahrungsfaser analysiert, aus der Summe der Zuckerbausteine der Polysaccharidgehalt berechnet und zusammen mit dem Ligningehalt als Nahrungsfasergehalt angegeben. Wird die Nahrungsfaser dagegen gravimetrisch bestimmt, muß die Auswaage um den Asche- und Proteingehalt korrigiert werden.

Für die durchzuführenden Untersuchungen wurde die Methode zur Bestimmung der Nahrungsfaser in Lebensmitteln nach § 35 LMBG (Nr. 00.00-18; BgVV, 1988) eingesetzt. Hierbei handelt es sich um ein enzymatisch-gravimetrisches Verfahren, welches auf einer AOAC-Methode (PROSKY et al., 1988) beruht.

|                                     |                                  |                               |                       |                        |                          |                      |           |
|-------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|-----------------------|------------------------|--------------------------|----------------------|-----------|
| Gesamtballaststoffe (gravimetrisch) | Nichtstärke-Polysaccharide (NSP) | Nichtcellulose-Polysaccharide | andere Polysaccharide | Lösliche Nahrungsfaser | andere Zuckerreste       | pflanzliche Zellwand |           |
|                                     |                                  |                               | Pektin                |                        | Uronsäuren               |                      |           |
|                                     |                                  |                               |                       |                        | Hemicellulosen           |                      | Rhamnose  |
|                                     |                                  |                               | Lignin                |                        |                          |                      | Cellulose |
|                                     |                                  | Xylose                        |                       |                        |                          |                      |           |
|                                     |                                  | Mannose                       |                       |                        |                          |                      |           |
|                                     |                                  | Galactose                     |                       |                        |                          |                      |           |
|                                     |                                  | Lignin                        | Cellulose             | Cellulose              | Unlösliche Nahrungsfaser |                      | Glucose   |
|                                     | Lignin                           |                               |                       |                        |                          |                      |           |
|                                     | Resistente Stärke                |                               |                       |                        |                          |                      |           |
| Stärke                              |                                  |                               |                       |                        |                          |                      |           |

Abbildung 10: Darstellung der je nach Bestimmungsmethode erfaßten Nahrungsfaserkomponenten

#### Gewinnung der Nahrungsfaser

Zur Verkleisterung der Stärke wird die getrocknete und fettfreie Probe mit hitzebeständiger  $\alpha$ -Amylase inkubiert. Mittels Protease werden die Proteine und anschließend mittels Amyloglucosidase die restliche Stärke abgebaut. Nach Zentrifugieren wird der Rückstand gewaschen, getrocknet und als UNF ausgewogen.

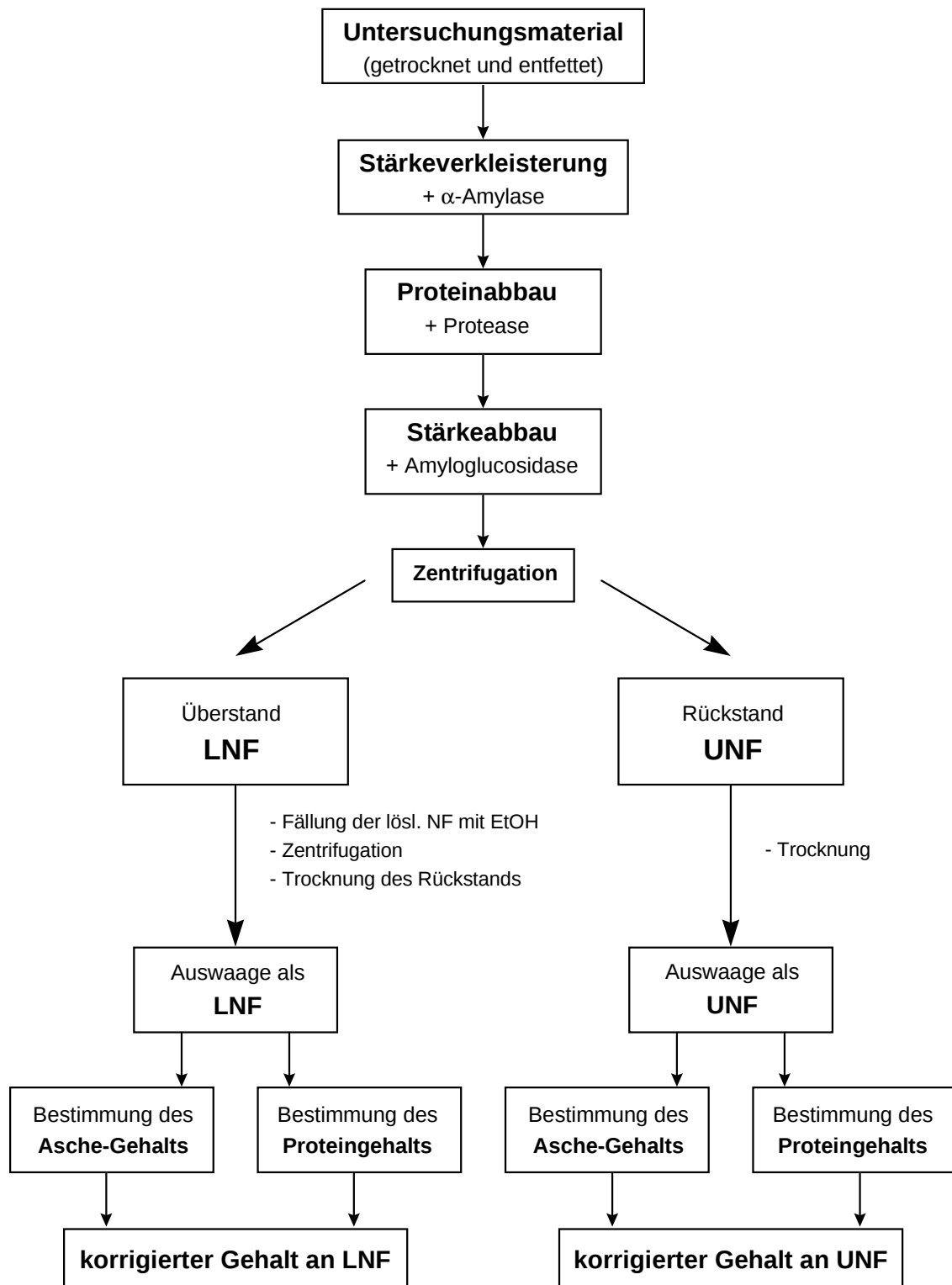


Abbildung 11: Schematische Darstellung der Gewinnung LNF und UNF aus Getreide

Die LNF im Überstand des Zentrifugates wird mit der vierfachen Menge an Ethanol ausgefällt. Der Niederschlag wird zentrifugiert, gewaschen, getrocknet und als LNF ausgewogen. In Abbildung 11 ist das prinzipielle Vorgehen im Überblick dargestellt.

Die genaue Arbeitsvorschrift zur Gewinnung der LNF und UNF ist dem Anhang 8.3.1 zu entnehmen. Die Probenanzahl betrug  $n = 3$ .

Da in den beiden Fraktionen noch Reste an Protein und Mineralstoffen enthalten sind, die einen erhöhten Nahrungsfasergehalt vortäuschen würden, erfolgt eine Korrektur des gravimetrischen Ergebnisses um den Protein- und Aschegehalt.

Die Bestimmung des Glührückstandes erfolgt durch Veraschung im Muffelofen für 24 h bei 550°C (§ 35 LMBG L 46.03-05; BgVV, 1997). Der Proteingehalt wird nach der Methode von KJELDAHL bestimmt (§ 35 LMBG L 06.00-07; BgVV, 1997). Die genauen Arbeitsvorschriften befinden sich im Anhang 8.3.1.

### **3.2 Charakterisierung der Nahrungsfaser**

Die Bestimmung der phenolischen Carbonsäuren erfolgte mittels zweier alkalischer Hydrolysemethoden, welche die Bestimmung sowohl estergebundener als auch ester- und/oder ethergebundener phenolischer Carbonsäuren zulassen. Zur Isolierung aus dem Hydrolysat wurde eine Festphasenextraktion entwickelt. Die qualitative und quantitative Analyse erfolgte mittels Gaschromatographie (GC). Die Identifizierung der dimeren Phenolcarbonsäuren erforderte den Einsatz von Massenspektroskopie (MS) und Hochleistungsflüssigchromatographie-Diodenarraydetektion (HPLC-DAD).

Die qualitative und quantitative Bestimmung der Polysaccharide bzw. deren Zusammensetzung erfolgte nach Hydrolyse und gaschromatographischer Bestimmung flüchtiger Derivate. Das Verknüpfungsmuster wurde nach Methylierung und reduktiver Spaltung der Polysaccharide erhalten (reduktive Depolymerisation).

#### **3.2.1 Phenolcarbonsäuren**

##### **3.2.1.1 Alkalihydrolyse**

Esterbindungen können sauer, alkalisch oder enzymatisch gespalten werden. Eine einfache Methode zur Freisetzung estergebundener Phenolcarbonsäuren stellt die Hydrolyse mit 1 M Natronlauge bei RT für 24h dar (siehe Abbildung 12). Diese Methode wurde bereits vielfach zur Hydrolyse gebundener phenolischer Carbonsäuren in pflanzlichem Zellwandmaterial erfolgreich eingesetzt (IIYAMA et al., 1990; JUNG & SHALITA-JONES, 1990; HARTLEY & MORRISON, 1991; PACKERT, 1993).

Die genaue Arbeitsvorschrift ist dem Anhang 8.3.2.3 zu entnehmen. Die Probenanzahl betrug  $n = 3$ .

##### **3.2.1.2 Alkalische Druckhydrolyse**

Um neben den estergebundenen Phenolcarbonsäuren auch die ethergebundenen Phenolcarbonsäuren erfassen zu können, bedarf es einer Hydrolyse unter drastischeren Bedingungen.

Zur Freisetzung von ethergebundenen Phenolcarbonsäuren wurden in der Literatur sowohl saure als auch alkalische Hydrolysen beschrieben.

IIYAMA et al. (1990, 1994) zeigten, daß bei der alkalischen Druckhydrolyse ester- und ethergebundene Phenolcarbonsäuren freigesetzt werden. Sie stellten ebenfalls fest, daß bei einer sauren Hydrolyse mit wäßriger Salzsäure-Dioxan-Lösung deutlich weniger ethergebundene Phenolcarbonsäuren freigesetzt werden, als bei einer alkalischen Druckhydrolyse.

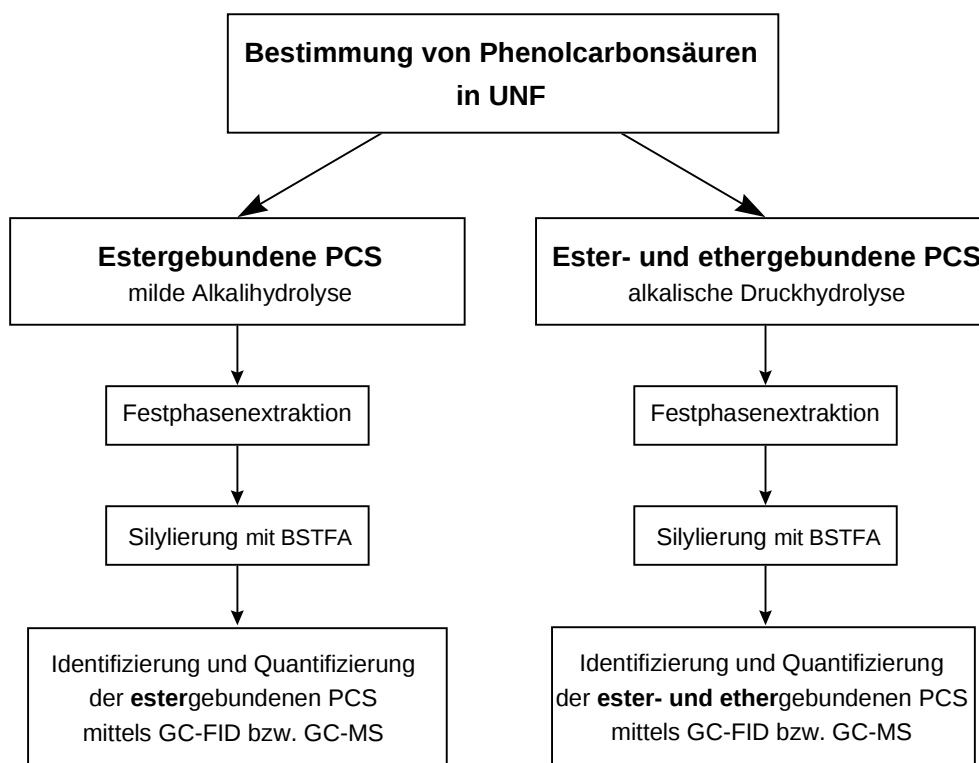


Abbildung 12: Schema zur Bestimmung phenolischer Carbonsäuren (PCS) in UNF der Getreide

Ähnliches wurde auch von PROVAN et al. (1994) ermittelt, die allerdings die alkalische Hydrolyse mittels Mikrowellenaufschluß durchführten. Aus diesem Grund wurde die Methode der alkalischen Druckhydrolyse mittels Druckaufschluß nach IYAMA et al. (1990) adaptiert und die optimalen Bedingungen ermittelt. Der alkalische Aufschluß mittels Mikrowelle kam nicht in Betracht, da keine Mikrowellenaufschlußapparatur zur Verfügung stand.

Zur Bestimmung der gesamtgebundenen Phenolcarbonsäuren (ester- und ethergebundene) wurde die Probe mit 4 M Natronlauge bei 170°C im Teflongefäß 1 h lang unter Druck aufgeschlossen (siehe Abbildung 12). Die Optimierung des alkalischen Druckaufschlusses ist in Kap. 3.3.2 beschrieben. Die genaue Arbeitsvorschrift ist dem Anhang 8.3.2.4 zu entnehmen. Die Probenanzahl betrug  $n = 3$ .

### 3.2.1.3 Festphasenextraktion

Die phenolischen Carbonsäuren wurden mittels Festphasenextraktion von der Kohlenhydratmatrix gereinigt. Unpolare Phasen vom Typ Octadecyl oder Styroldivinylbenzol-Copolymer waren dazu am besten geeignet (siehe Kap. 3.3.1). Als vorteilhaft erwies sich, daß die Octadecylphase auch als high flow - Variante zu erhalten ist, welches eine einfachere Handhabung der teilweise viskoserer Probelösungen ermöglichte.

Das angesäuerte Hydrolysat wurde auf die konditionierte Säule gegeben, mit leichtem Unterdruck hindurchgesaugt, mit angesäuertem Wasser gewaschen und getrocknet. Die Elution erfolgte mit einem Methanol/Wasser-Gemisch (50:50, v/v). Ein Aliquot des Eluats wurde für die weiteren chromatographischen Untersuchungen eingesetzt. Das restliche Eluat wurde bei -18°C gelagert.

Die genaue Durchführung ist im Anhang 8.3.2.5 beschrieben.

#### **3.2.1.4 Gaschromatographie (GC) und Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS)**

Die gaschromatographische Bestimmung phenolischer Substanzen erfolgt in der Regel an unpolaren fused silica-Kapillarsäulen (z.B. 5%Phenyl-95%Methylsiliconphase oder 100%Methylsiliconphase). Zur Erhöhung der Flüchtigkeit werden die Hydroxyl- und Carboxylgruppen der phenolischen Substanzen in weniger polare Gruppen überführt; allerdings wurden auch Trennungen der underivatisierten phenolischen Säuren beschrieben (FRITZ & MOORE, 1987). Die weitaus am häufigsten verwendete Derivatisierungsmethode stellt die Trimethylsilylierung dar (LEHTONEN & KETOLA, 1986; FRITZ & MOORE, 1987; FORD & HARTLEY, 1988; PACKERT & STEINHART, 1995). Da silylierte Substanzen nur kurzzeitig stabil sind, wurden weitere Derivatisierungsmethoden wie die Herstellung der Ethylether (SALOMONSSON et al., 1978), der Methylester-TMS-Ether (LEHTONEN & KETOLA, 1986) oder von O-alkylierten Methyl- bzw. Ethylestern (HUŠEK, 1992) beschrieben, welche jedoch wenig Anwendung finden. PACKERT & STEINHART (1995) wiesen darauf hin, daß das häufig als Katalysator und Lösungsmittel eingesetzte Pyridin zu Isomerisierungen der Hydroxyzimtsäurederivate führt und setzten zur Silylierung reines BSTFA ein. Unter optimierten gaschromatographischen Bedingungen ist eine Trennung von insgesamt 50 monomeren (einschließlich cis/trans-Isomeren) und dimeren Phenolcarbonsäuren (Truxill- und Truxinsäurederivate sowie 5-5' DFS) an einer DB-5-Säule möglich (PACKERT & STEINHART, 1995).

Insbesondere in Kombination mit einem massenselektiven Detektor stellt die gaschromatische Analyse aufgrund ihrer großen Trennleistung eine geeignete Methode zur Identifizierung von Substanzen dar. Nachteile wie die notwendige Derivatisierung werden somit kompensiert.

Für die Trimethylsilylierung wurden Aliquote der Festphaseneluate im Stickstoffstrom zur Trockne gebracht und mit N,O-Bis-trimethylsilyltrifluoracetamid (BSTFA) (mit 1% Trimethylchlorsilan (TMCS)) umgesetzt (siehe Anhang 8.3.2.6).

Das optimierte Temperaturprogramm ermöglichte die Trennung von monomeren Hydroxyzimtsäuren und Dimeren vom Typ Truxill- bzw. Truxinsäure und FS-Dehydromeren an einer HP-5-Kapillarsäule innerhalb von 45 min. Die genauen Geräteparameter sind im Anhang 8.1.1 und 8.1.2 aufgeführt.

Die Identifizierung der monomeren Phenolcarbonsäuren erfolgte anhand eines Standardgemisches über die relativen Retentionszeiten, welche in Bezug auf oCS berechnet wurden. Zur Quantifizierung wurden Flächenkorrekturfaktoren bezogen auf den internen Standard oCS berechnet (siehe Kap. 8.4.2.1). Dimere Phenolcarbonsäuren wurden mittels GC-MS identifiziert. Außerdem erfolgte anhand von Standardgemischen (FF- und CC-Dimere, 5-5' DFS) eine Zuordnung über die relativen Retentionszeiten in Bezug auf oCS. Zur semiquantitativen Bestimmung der Dimere wurden die Flächenkorrekturfaktoren bezogen auf den internen Standard oCS gleich 1 gesetzt, da Einzelstandards der Cyclobutandimere oder DFS nicht zur Verfügung standen.

Relative Retentionszeiten und Flächenkorrekturfaktoren sind in Kap. 8.4.2.1 aufgeführt. Eine Linearitätsüberprüfung anhand der Monomerstandards zeigte, daß sich Peakfläche und Konzentration im untersuchten Konzentrationsbereich von 1µg/50µl - 50µg/50µl proportional verhielten (Kalibriergeraden siehe 8.4.1.1).

#### **3.2.1.5 Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC)**

Eine weitere Methode für die qualitative und quantitative Analyse phenolischer Carbonsäuren stellt die HPLC dar. Sie wird häufig angewandt, da eine Derivatisierung entfallen kann. Zur Detektion werden am häufigsten UV- oder Diodenarray-Detektoren

eingesetzt. Die elektrochemische Detektion hat sich bislang aufgrund der 10-100fach geringeren Empfindlichkeit nicht durchgesetzt (KERMASHA et al., 1995). Die Trennung phenolischer Substanzen (z.B. Benzoe- und Zimtsäuren, Aldehyde, Catechine, Glukoside) erfolgte an RP-18-Materialien mit isokratischer (HARTLEY & BUCHAN, 1979; SHI & SCHWEDT, 1995) oder Gradienten-Elution (VANDE CASTEELE et al., 1983; KERMASHA et al., 1995; BENASSI & CECCHI, 1998).

Ein HPLC-System, welches die Bestimmung der DFS mit einbezog, wurde erstmals von WALDRON et al. (1996) beschrieben. Sie verwendeten eine ODS2-RP-Säule mit einem ternären Gradienten aus Methanol und Acetonitril in wäßriger TFA. Die Detektion erfolgte mit einem Diodenarray-Detektor bei 280 und 325nm. Die Laufzeit betrug inklusive Äquilibration 55min.

Für die eigene Arbeit wurde ein Trennprogramm entwickelt, das bei schneller Analysenzeit eine optimale Trennung ermöglichte. Mit dem gewählten linearen Gradienten aus Methanol und wäßriger TFA wurde eine gute Trennung der cis-/trans-Isomere von pCS und FS erreicht. Die DFS eluierten teilweise vor und zwischen den Monomeren, teilweise später. Die Gesamtanalysenzeit betrug 30min und war damit erheblich kürzer als nach WALDRON et al. (1996) ohne Verluste in der Trennleistung. Ein Acetonitril-Gradient erbrachte keine verbesserte Trennung. Die Detektion mit Diodenarraydetektor ermöglicht anhand der UV-Spektren in Verbindung mit der Retentionszeit eine eindeutige Zuordnung der Substanzen, vor allem der FS-Dehydrodimeren.

Zu einem späteren Zeitpunkt publizierten FIGUEROA-ESPINOZA & ROUAU (1998) eine Methode, welche eine spätere Elution aller Dimeren und somit eine optimale Trennung von den Monomeren ermöglicht. Die Elution von FS und DFS erfolgte mittels linearem Gradienten aus Acetonitril / Acetatpuffer (pH 4.0) innerhalb von 30min.

Die eigenen Analysen wurden mit einem Aliquot der Festphaseneluate durchgeführt. Nachdem die Lösung im Stickstoffstrom zur Trockne gebracht und in einem Methanol/Wasser-Gemisch (20:80, v/v) aufgenommen wurde, wurde die Lösung membranfiltriert und in die HPLC eingespritzt. Die Geräteparameter und die genaue Arbeitsvorschrift sind im Anhang 8.1.3 bzw. 8.3.2.7 beschrieben.

Eine Linearitätsüberprüfung zeigte, daß sich Peakfläche und Konzentration im untersuchten Konzentrationsbereich von 1µg/ml - 50µg/ml proportional verhielten (Kalibriergerade siehe Anhang 8.4.1.2).

### **3.2.1.6 Synthese dimerer Phenolcarbonsäuren**

#### **Synthese der Cyclobutandicarbonsäuredimere**

Unter dem Einfluß von UV-Licht dimerisieren FS bzw. pCS zu Cyclobutandicarbonsäuredimeren vom Truxillsäure-(ht)- oder Truxinsäure-(hh)-Typ (siehe Abbildung 13). Die Darstellung dieser Photodimere erfolgte in Anlehnung an FORD & HARTLEY (1989) und MORRISON et al. (1991, 1992). FS, pCS oder eine Mischung dieser beiden phenolischen Carbonsäuren wurde in Methanol gelöst. Die Lösung wurde in einem Rundkolben zur Trockne gebracht, so daß ein gleichmäßiger Substanzfilm auf der Glaswand des Kolbens entstand. Die Photodimerisation erfolgte, indem der Kolben 2 bis 7 Tage belichtet wurde. Anschließend wurden die FF-, CC- bzw. CF-Isomerenmischungen in dest. Wasser aufgenommen und lyophilisiert.

Die genaue Synthesevorschrift ist dem Anhang 8.3.2.1 zu entnehmen.

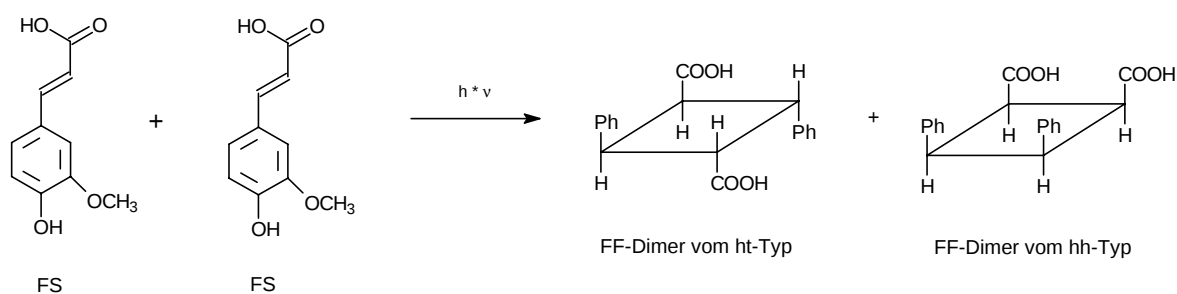


Abbildung 13: Photodimerisation von FS zu einem FF-Dimer vom ht-bzw. hh-Typ (Ph: Phenylrest)

### Synthese des 5-5' Dehydrodimers der Ferulasäure

Die Darstellung der 5-5' Dehydrodiferulasäure erfolgte nach BAUMGARTNER & NEUKOM (1972) und RICHTZENHAIN (1949). Zunächst wird Vanillin in einer enzymatischen Oxidation zu Dehydrodivanillin umgesetzt (siehe Abbildung 14). In der darauffolgenden Reaktionsstufe erfolgt mit Malonsäure die Umsetzung zur Dehydrodiferulasäure. Das ausgefallene 5-5' Dehydrodimer der FS wird gewaschen und getrocknet.

Die genaue Synthesevorschrift ist dem Anhang 8.3.2.2 zu entnehmen.

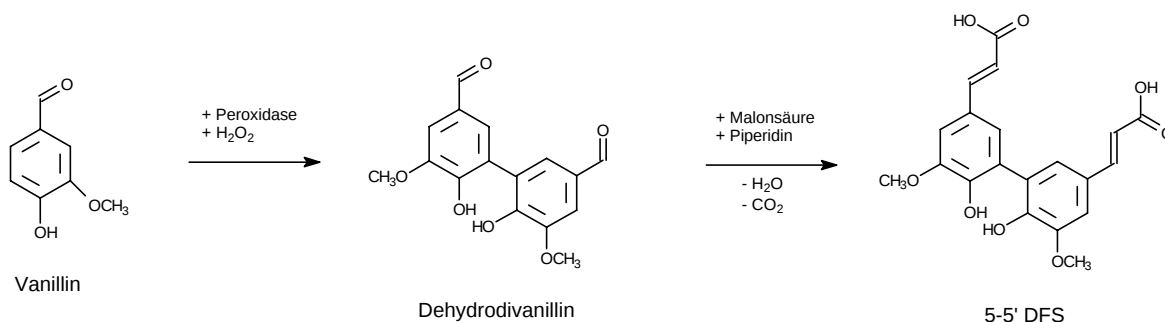


Abbildung 14: Reaktionsschema zur Synthese des 5-5' Dehydrodimers der FS (5-5' DFS)

### 3.2.2 Kohlenhydrate

Bei der Charakterisierung und Strukturaufklärung der Nahrungsfaser spielt die Untersuchung der Polysaccharide eine wichtige Rolle. Zur Bestimmung der Zusammensetzung von Polysacchariden werden diese üblicherweise mittels Säurehydrolyse in ihre Bausteine gespalten. Anschließend können die Monosaccharide flüssig- oder gaschromatographisch getrennt und quantifiziert werden.

Die Hydrolyse der Polysaccharide kann durch Schwefelsäure, Salzsäure oder Trifluoressigsäure erfolgen, jedoch werden die freigesetzten Monosaccharide während der Hydrolyse weiter abgebaut. Besonders säureempfindlich sind Pentosen und Uronsäuren, die zum Teil decarboxyliert werden. Zwar kann die Zersetzung der Zuckerbausteine durch geringere Säurekonzentrationen und Reaktionstemperaturen herabgesetzt werden, aber es muß beachtet werden, daß eine möglichst vollständige Hydrolyse erreicht wird.

Allgemein gilt, daß Bindungen, an denen Uronsäuren beteiligt sind, schwerer hydrolysierbar sind als solche von Neutralzuckern. Innerhalb der Neutralzucker gilt, daß furanoside Bindungen leichter gespalten werden als pyranoside. Außerdem sind  $\alpha$ -glykosidische Bindungen labiler als  $\beta$ -glykosidische Bindungen (BIERMANN, 1988).

Die Umsetzung mit verdünnter Säure ermöglicht keine Spaltung von Cellulose. Daher verwendet man zur Spaltung cellulosehaltiger Materialien (z.B. pflanzliches Zellwandmaterial) die SAEMAN-Hydrolyse (SAEMAN et al., 1954). Dabei wird die Probe in 72% (w/w) Schwefelsäure vorgequollen, auf ca. 1 M verdünnt und in der Hitze hydrolysiert. Der Rückstand wird ausgewogen und als Klason-Lignin bezeichnet.

Eine Alternative, Polysaccharide auf schonende Art und Weise zu spalten, bietet die Methanolyse. Die Umsetzung erfolgt mit methanolischer Salzsäure, so daß aus Neutralzuckern die 1-O-Methylglykoside und aus Uronsäuren die 1-O-Methylglykosid-6-O-methylester entstehen. Die Methanolyse ist vorteilhafter, weil die gebildeten Acetale in wasserfreier Lösung relativ stabil sind und keine Nebenprodukte bilden, z.B. Maillardprodukte aus der Reaktion mit Peptiden (SCHMOLCK & MERGENTHALER, 1973).

Zur strukturellen Charakterisierung der Polysaccharide wird die reduktive Depolymerisation, eine neuere Methode innerhalb der Methylierungsanalyse, eingesetzt (ROLF & GRAY, 1982). Sie erlaubt Aussagen über Art, Ringform, Substitutionsmuster und Verzweigungsgrad der Zuckereinheiten.

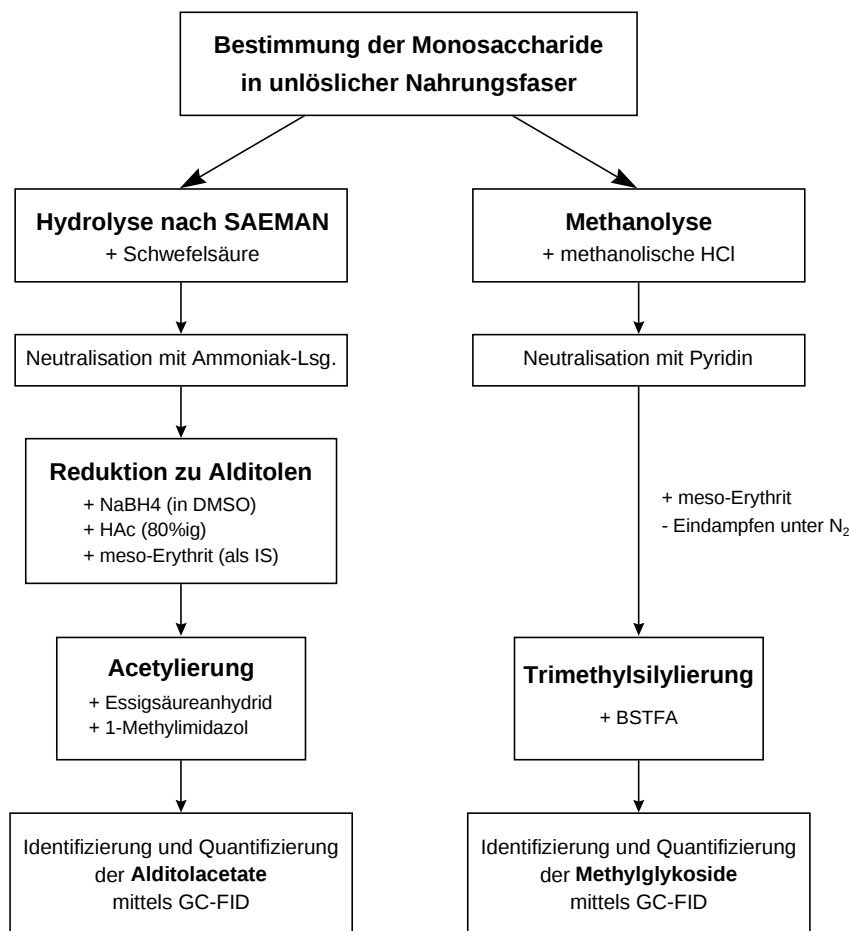


Abbildung 15: Schema zur Bestimmung der Kohlenhydratzusammensetzung in UNF

In den Rohmaterialien wurde der Polysaccharidgehalt der UNF bzw. deren Monosaccharidzusammensetzung nach SAEMAN-Hydrolyse bestimmt. In den Getreide-Extrudaten und Haferprodukten wurden des weiteren die Methanolyse und die reduktive Depolymerisation eingesetzt, um Veränderungen der Polysaccharide durch technologische Verarbeitung besser dokumentieren zu können.

### **3.2.2.1 SAEMAN-Hydrolyse und Herstellung der Alditolacetate**

#### **SAEMAN-Hydrolyse**

Bei der Hydrolyse nach SAEMAN handelt es sich um eine Methode zur Spaltung von Polysacchariden mit Hilfe von Schwefelsäure (SAEMAN et al., 1954). Zur Hydrolyse von Cellulose ist eine Vorbehandlung mit 72%iger Schwefelsäure nötig. Nach Verdünnung auf 1 M Schwefelsäure wurde 3h lang bei 110°C hydrolysiert (siehe Abbildung 15). Die Durchführung erfolgte nach PATZ et al. (1993), dessen Verfahren auf den Arbeiten von BLAKENEY et al. (1983) und WILL & DIETRICH (1990) beruht.

#### **Herstellung der Alditolacetate**

Nach der Neutralisation mit Ammoniak-Lösung wurden die Monosaccharide mittels Natriumborhydrid (2%ig in DMSO) zu den Alditolen reduziert. Die Reaktion wird durch Zugabe von 80%iger Essigsäure, die auch den internen Standard meso-Erythrit enthält, abgebrochen. Anschließend wurden die Alditole acetyliert, um eine ausreichende Flüchtigkeit für die GC zu erreichen. Die Acetylierung geschieht bei Raumtemperatur durch Zugabe von Essigsäureanhydrid und 1-Methylimidazol als Katalysator. Überschüssiges Essigsäureanhydrid wird durch Wasser zerstört und die Alditolacetate durch Ausschütteln mit Chloroform extrahiert. Die genaue Arbeitsvorschrift ist Kap. 8.3.3.2 zu entnehmen. Die Probenanzahl betrug  $n = 3$ .

#### **Identifizierung und Quantifizierung**

Die Derivate wurden gaschromatographisch an einer HP-5 Kapillarsäule getrennt. Die Identifizierung der Derivate erfolgte anhand eines Monosaccharid-Standardgemisches über die relativen Retentionszeiten, welche in Bezug auf meso-Erythrit berechnet wurden. Zur Quantifizierung wurden Flächenkorrekturfaktoren bezogen auf den internen Standard meso-Erythrit berechnet (siehe Kap. 8.4.2.1).

Relative Retentionszeiten und Flächenkorrekturfaktoren sind in Kap. 8.4.2.1 aufgeführt.

Eine Linearitätsüberprüfung zeigte, daß sich Peakfläche und Konzentration im untersuchten Konzentrationsbereich von 10µg/2ml - 200µg/2ml proportional verhielten (siehe Anhang 8.4.2.1).

### **3.2.2.2 Methanolyse und Trimethylsilylierung**

#### **Methanolyse**

Die Methanolyse ermöglicht es, Polysaccharide auf schonende Art und Weise in die Monomere zu spalten, wobei 1-O-Methylglykoside bzw. 1-O-Methylglykosid-6-O-methylester entstehen. Um eine Zerstörung der freigesetzten Monosaccharide beim Einengen zu verhindern, muß vorher neutralisiert werden. Pyridin ist hierfür besonders

vorteilhaft, da es zugleich als Lösungsmittel für die nachfolgende Trimethylsilylierung dient und deshalb den weiteren Reaktionsverlauf nicht stört. Nach der Neutralisation wird meso-Erythrit als interner Volumenstandard hinzugefügt und das Hydrolysat im Stickstoffstrom bis zur Trockne eingeengt (siehe Abbildung 12).

Die Durchführung der Methanolyse erfolgte nach einem Verfahren der Amtlichen Methodensammlung nach § 35 LMBG (BgVV, 1986). Polysaccharide der Nahrungsfaser wurden 4 h bei 100°C mit 2 M methanolischer Salzsäure hydrolysiert; Monosaccharidstandards wurden mit 0,5 M methanolischer Salzsäure umgesetzt. Die genaue Vorschrift ist dem Anhang 8.3.3.1 zu entnehmen. Die Probenanzahl betrug  $n = 3$ .

#### ***Trimethylsilylierung***

Zur Erhöhung der Flüchtigkeit der Derivate für die GC schließt sich an die Methanolyse eine Trimethylsilylierung an (SWEeley et al., 1963). Pro Monosaccharid werden bei Neutralzuckern zwei bis vier Derivate ( $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomere bei unterschiedlicher Ringgröße) und bis zu sechs Derivate bei Uronsäuren (zusätzlich Lactonbildung) in reproduzierbaren Flächenverhältnissen erhalten.

Die 1-O-Methylglykoside bzw. 1-O-Methylglykosid-6-O-methylester wurden mit BSTFA (mit 1% TMCS) silyliert (siehe Abbildung 15). Als Lösungsmittel diente Pyridin. Die Reaktion erfolgte 1 h bei 60°C.

#### ***Identifizierung und Quantifizierung***

Die Bestimmung erfolgte gaschromatographisch. Durch ein optimiertes Temperaturprogramm konnten an einer HP-5 Kapillarsäule fast alle Derivate vollständig aufgetrennt werden. Lediglich der zweite Glukosepeak eluierte zusammen mit dem vorletzten Peak der Glukuronsäure.

Die Identifizierung erfolgte anhand eines Monosaccharid-Standardgemisches, welches nach obiger Methode behandelt worden war. Die relativen Retentionszeiten wurden in Bezug zu meso-Erythrit berechnet. Zur Quantifizierung der Zuckerbausteine in den Polysacchariden wurden über den internen Standard meso-Erythrit Flächenkorrekturfaktoren bestimmt (siehe Anhang 8.4.2.1). Zur quantitativen Bestimmung der Glukose und Glukuronsäure wurden nur jeweils die prozentual am stärksten vertretenen Derivate herangezogen. Die relativen Retentionszeiten und Flächenkorrekturfaktoren sind in einer Tabelle im Anhang 8.4.2.1 aufgeführt.

Eine Linearitätsüberprüfung zeigte, daß sich Peakfläche und Konzentration im untersuchten Konzentrationsbereich von 10 µg/ml - 600 µg/ml proportional verhielten (siehe Anhang 8.4.2.1).

### ***3.2.2.3 Methylierung und Reduktive Depolymerisation***

#### ***Methylierung***

Die Polysaccharide der UNF wurden nach der Methode von CIUCANU & KEREK (1984) methyliert. Diese Methylierungsmethode mit Natriumhydroxid als Base und Methyljodid als Methylierungsreagenz (siehe Abbildung 16) kann einfach durchgeführt werden und liefert gute Methylierungsausbeuten (KIWITT-HASCHEMIE, 1994).

Die freien Hydroxylgruppen des Polysaccharids werden durch die Hydroxidionen, welche vom aprotischen Lösungsmittel DMSO kaum solvatisiert werden und deshalb sehr reaktiv sind, deprotoniert. Das entstehende Wasser wird durch überschüssiges Natriumhydroxid

gebunden und die gebildeten Polyalkoxidionen reagieren mit dem ebenfalls kaum solvatisierten Methyljodid zur methylierten Verbindung. Nach CIUCANU & KEREK (1984) erwies sich der Einsatz von 3 - 5 Äquivalenten Natriumhydroxid pro Mol zu ersetzendem Wasserstoff und eine NaOH-Konzentration von 1 - 3 mmol pro ml DMSO als optimal. Von KIWITT-HASCHEMIE (1994) wurde die Methylierung dahingehend modifiziert, daß die Natriumhydroxidmenge auf 2,5 Äquivalente pro Mol zu abstrahierendes H-Atom reduziert wurde und die NaOH-Konzentration auf 1 mmol pro ml DMSO gesenkt wurde. Dieses vereinfachte Verfahren wurde erfolgreich zur Analyse von Nichtstärke-Polysacchariden angewandt (KIWITT-HASCHEMIE, 1994)

Nach der Methylierung wurde das permethylierte Material mit Chloroform aus der Reaktionslösung isoliert. Eventuell entstandenes Iod wurde vor dem Waschen mit Natriumthiosulfatlösung zu Iodid reduziert. Zur Entfernung von Nebenprodukten wie Iodid oder Methanol und überschüssigen Reagenzien wie Methyljodid oder DMSO wurde die organische Phase mehrmals mit Wasser gewaschen. Nach dem Abdampfen des organischen Lösungsmittels wurde das permethylierte Material über Nacht im Vakuumtrockenschrank getrocknet.

Die genaue Beschreibung der Methylierung ist dem Anhang 8.3.3.3 zu entnehmen. Die Probenanzahl betrug  $n = 3$ .

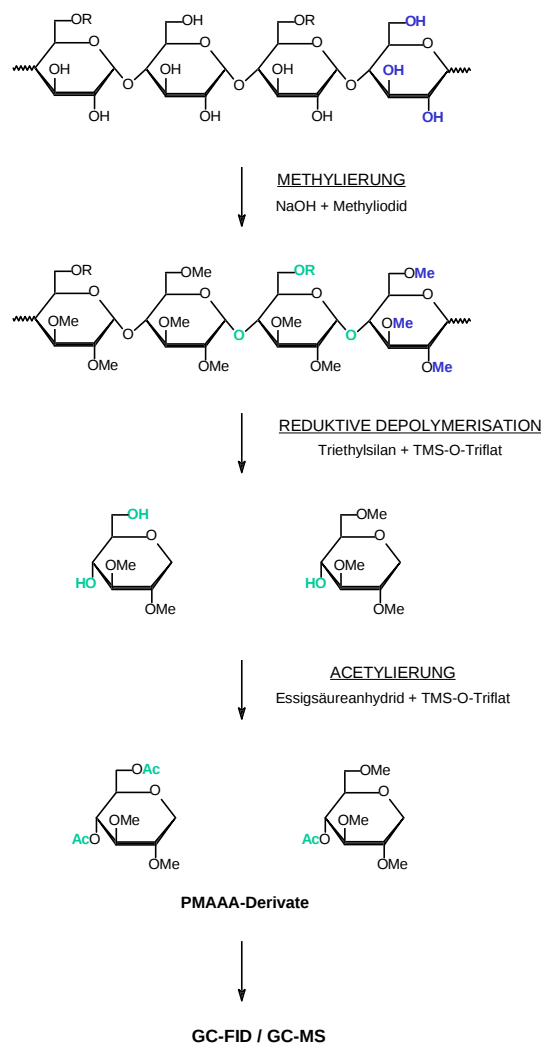


Abbildung 16: Schematische Darstellung der Reduktiven Depolymerisation

### ***Reduktive Depolymerisation***

Die von ROLF & GRAY (1982) entwickelte Methode der reduktiven Depolymerisation ist eine neuere Methode innerhalb der Methylierungsanalyse. Dabei entstehen unter der Einwirkung einer Lewissäure, hier Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMS-O-Triflat), als Katalysator und Triethylsilan als Reduktionsmittel partiell methylierte Anhydroalditole (siehe Abbildung 16). Durch den Angriff der Lewissäure am glykosidischen Sauerstoff wird intermediär ein cyclisches Oxoniumion gebildet, das durch Übertragung eines Hydridions vom Hydriddonor Triethylsilan in ein cyclisches Anhydroalditolderivat übergeht.

Da bei der reduktiven Depolymerisation die Ringform erhalten bleibt, ermöglicht diese Methode die gleichzeitige Bestimmung der Verknüpfungsstellen und der Ringform. So kann im Gegensatz zur herkömmlichen Standardmethylierungsanalyse z.B. zwischen 1,4-verknüpften Aldopyranosen und 1,5-verknüpften Aldofuranosen unterschieden werden.

Die reduktive Depolymerisation wurde bereits erfolgreich zur Bestimmung der Verknüpfungsmuster pentosehaltiger Oligo- und Polysaccharide aus Getreide (HEIMS et al., 1989; Heims, 1990) sowie zur Charakterisierung von Hydrokolloiden (KIWITT-HASCHEMIE, 1994; KIWITT-HASCHEMIE et al., 1996) eingesetzt.

Zur Erhöhung der Flüchtigkeit für die gaschromatographische Bestimmung wurden die erhaltenen partiell methylierten Anhydroalditole acetyliert (siehe Abbildung 16). Die basische Acetylierung mit Essigsäureanhydrid und 1-Methylimidazol als Katalysator erfolgte in situ durch einstündiges Rühren bei Raumtemperatur (KIWITT-HASCHEMIE, 1994). Die Reaktion wurde durch Zugabe von gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung abgebrochen. Nach mehrmaligem Waschen mit dest. Wasser wurde die organische Phase abgetrennt und über Calciumchlorid getrocknet.

Die genaue Arbeitsvorschrift ist dem Anhang 8.4.2.2 zu entnehmen.

### ***Trennung, Identifizierung und Quantifizierung der Derivate***

Die partiell methylierten Anhydroalditolacetate (PMAAA) wurden gaschromatographisch an einer HP-5 Kapillarsäule getrennt. Die Identifizierung der Derivate erfolgte mittels GC-MS. Zur Interpretation der Massenspektren wurden Vergleichsspektren aus den Arbeiten von HEIMS (1990), KIWITT-HASCHEMIE (1994) und ELVEBAK II et al. (1997) herangezogen.

Die quantitative Bestimmung erfolgte mittels GC-FID. Die einzelnen Derivate wurden durch die Berechnung relativer Retentionszeiten in Bezug auf den Standard meso-Erythritoltetraacetat zugeordnet.

Die Auswertung erfolgte durch die Berechnung relativer molarer Anteile (Mol%) der einzelnen Derivate über die integrierten Peakflächen, die zuvor auf Basis des „effective-carbon-response“-Konzeptes (E.C.R.-Konzept) korrigiert wurden (SWEET et al., 1975; JORGENSEN et al., 1990). Dieses Konzept beruht auf der empirisch bestätigten Hypothese, daß das Detektorsignal bei Verwendung eines Flammenionisationsdetektors (FID) von der Anzahl der Kohlenstoffatome und deren Bindungsverhältnissen im Molekül abhängt. Durch die Addition der verschiedenen Teilbeträge der unterschiedlich gebundenen Kohlenstoffatome errechnet sich der E.C.R.-Faktor des jeweiligen Derivats.

Die relativen Retentionszeiten aller Derivate sowie deren E.C.R.-Faktoren und die daraus resultierenden molaren Responsefaktoren sind im Anhang 8.4.2.2 aufgeführt.

### **3.3 Methodenentwicklung und -optimierung**

#### **3.3.1 Festphasenextraktion der phenolischen Carbonsäuren**

Zur selektiven Isolierung der durch alkalische Hydrolyse freigesetzten aromatischen Carbonsäuren aus dem Reaktionsgemisch wird häufig die Methode der Flüssig-Flüssig-Extraktion angewandt. Nachteile dieser Methode sind der geringe parallele Probendurchsatz und dadurch hoher Zeitaufwand, Emulsionsbildung und hoher Lösemittelverbrauch.

Daher wurde die inzwischen weit verbreitete Festphasenextraktion zur Verbesserung der Aufarbeitung herangezogen. Sie sollte es ermöglichen, durch Miniaturisierung der Aufarbeitungsschritte erhebliche Einsparungen an Materialien, Lösungsmitteln und Zeit zu erzielen. Zusätzlich kann durch Optimierung von Proben- und Sorbensmenge ein besseres Signal/Rauschverhältnis erreicht werden, wodurch die Nachweisempfindlichkeit gesteigert wird. Als Probenvorbereitung für eine anschließende HPLC-Analytik von Phenolcarbonsäuren wird in einigen Literaturstellen ebenfalls auf die Festphasenextraktion verwiesen (HERRMANN, 1989; JUNG & SHALITA-JONES, 1990; ISHII, 1991; SAULNIER et al., 1995; SHI & SCHWEDT, 1995; GLOWNIAK et al., 1996). Die beschriebenen Systeme variierten in der Art des Sorptions- und Elutionsmittels sowie in deren Menge und Volumina.

##### **3.3.1.1 Theoretische Grundlagen**

Es werden generell drei Extraktionsmechanismen bezüglich der Festphasenextraktion unterschieden: polare, hydrophobe sowie ionische Wechselwirkungen. Bei der Auswahl des Extraktionsmechanismus wurden die vorhandenen funktionellen Gruppen des Analyten sowie die der Probenmatrix berücksichtigt.

Da die relativ unpolaren Phenolcarbonsäuren aus einer polaren Matrix (Kohlenhydrate) isoliert werden sollten, wurde ein Extraktionsmechanismus basierend auf einer unpolaren stationären Phase gewählt. Die Phenolcarbonsäuren sollten an der Festphase adsorbiert werden, während die polare Zuckermatrix nicht retardiert wird.

Jedes Sorbens kann innerhalb eines vorgegebenen Extraktionsmechanismus unterschiedliche, spezifische Eigenschaften hinsichtlich der Retention und der Selektivität aufweisen. Daher ist es notwendig, mehrere Sorbentien innerhalb einer Kategorie zu testen. Es standen reversed phase-Materialien (RP-Phasen) und Polyamid als klassische unpolare Materialien und Polymere auf Polystyrolbasis verschiedener Hersteller zur Verfügung.

Die RP-Phasen sind eine große Gruppe von Sorbentien, die zur Chromatographie von unpolaren Stoffen mit polaren Fließmitteln geeignet sind. Hierbei handelt es sich um ein mit Alkylresten modifiziertes Kieselgel. Über van der Waals-Kräfte werden die Phenolcarbonsäuren aufgrund ihres aromatischen Systems an der Oberfläche adsorbiert. Bei den Zuckern ist der unpolare Charakter des Kohlenstoffgerüsts durch die vielen polaren OH-Gruppen verdeckt. Phenolcarbonsäuren und Zucker unterscheiden sich daher hinsichtlich ihrer Wechselwirkungen zu RP-Phasen und können abgetrennt werden.

Eine Polymerphase mit einer sehr großen spezifischen Oberfläche wurde auf der Basis eines Styrol-Divinylbenzol-Copolymers entwickelt und hat im Vergleich zu den herkömmlichen RP18-Phasen eine zehnfach höhere Kapazität.

Es handelt sich dabei um ein hochporöses Adsorberharz, welches bereits für die Festphasenextraktion von Phenolen aus wässriger Matrix verwendet wird

(Applikationshandbücher verschiedener Hersteller). Es scheint daher eine Übertragung auf die Hydrolysate zur Isolierung phenolischer Säuren möglich.

Polyamid, ein durch Kondensation von Diaminen und Dicarbonsäuren entstandenes Polymer, bindet spezifisch Phenole wie Flavonoide, Gerbstoffe und aromatische Carbonsäuren. SHI & SCHWEDT (1995) setzten Polyamid erfolgreich zur Isolierung von Phenolcarbonsäuren aus Wein ein.

Damit die Sorbentien mit den Isolaten reproduzierbare Wechselwirkungen eingehen, muß das Trägermaterial solvatisiert werden. Ein häufig verwendetes Konditionierungsmittel für unpolare Phasen ist Methanol gefolgt von Wasser.

Zur besseren Übersicht sind in Tabelle 3 die getesteten Festphasenmaterialien aufgelistet.

*Tabelle 3: Getestete Festphasen-Materialien zur Extraktion von phenolischen Carbonsäuren aus alkalischen Hydrolysaten unlöslicher Getreidenahrungsfaser*

| Produktname          | Hersteller                      | Spezifikationen      |               |            |                        |              |         |
|----------------------|---------------------------------|----------------------|---------------|------------|------------------------|--------------|---------|
|                      |                                 | Phasentyp            | Partikelgröße | Porengröße | Oberfläche             | Porenvolumen | pH-Wert |
| Bakerbond, Octadecyl | Baker                           | Octadecyl            | 15 - 30 µm    | 300 Å      | 100 m <sup>2</sup> /g  | k.A.         | k.A.    |
| Bakerbond, SDB-1     | Baker                           | Styroldivinylbenzol  | 43 - 123 µm   | 27 nm      | 977 m <sup>2</sup> /g  | 0,81 ml/g    | k.A.    |
| Polyamid             | Macherey - Nagel, selbstgepackt | Polyamid             | 40 - 80 µm    | k.A.       | k.A.                   | k.A.         | k.A.    |
| Chromabond C18       | Macherey - Nagel                | Octadecyl            | 45 µm         | k.A.       | 500 m <sup>2</sup> /g  | k.A.         | k.A.    |
| Chromabond HR-P      | Macherey - Nagel                | Styroldivinylbenzol  | 40 - 120 µm   | k.A.       | 1300 m <sup>2</sup> /g | k.A.         | k.A.    |
| Isolute ENV+         | IST                             | Styroldivinylbenzol  | 40 - 140 µm   | 850 Å      | 1100 m <sup>2</sup> /g | 1,1 ml/g     | neutral |
| Bond Elut C18        | Varian                          | Octadecyl, endcapped | 57 µm         | 71 Å       | 480 m <sup>2</sup> /g  | 0,85 ml/g    | 3,4     |
| Bond Elut HF         | Varian                          | Octadecyl            | 146 µm        | 63 Å       | 506 m <sup>2</sup> /g  | k.A.         | 6,1     |
| Hi-Flow C18          | Alltech                         | Octadecyl, endcapped | 100 µm        | 60 Å       | 520 m <sup>2</sup> /g  | k.A.         | 4       |

k.A. keine Angabe

### **3.3.1.2 Durchführung**

Als Standardprüfgemisch diente eine Lösung (pH=3) aus FS (0,01%ig) und Xylose (0,3%ig). Die Elutionskraft wurde variiert, indem mit reinem bzw. verdünntem Ethanol oder Methanol sowie mit Acetonitril oder entsprechenden Mischungen eluiert wurde (siehe Tabelle 4).

*Tabelle 4: Liste der Konditionen, welche zur Ermittlung geeigneter Bedingungen für die Festphasenextraktion von FS aus einer Standardmischung getestet wurden*

| Phasentyp               | Elutionsmittel                               |
|-------------------------|----------------------------------------------|
| Octadecylsilyl          | Ethanol                                      |
|                         | Methanol                                     |
|                         | Methanol (50%)                               |
|                         | Ethanol (60%), Acetonitril                   |
| Polystyroldivinylbenzol | Ethylacetat/Aceton/Eisessig (40/60/2, v/v/v) |
|                         | Aceton / Eisessig (2%)                       |
|                         | Methanol (50%)                               |
|                         | Methanol                                     |
| Polyamid                | Methanol (pH 2,5)                            |
|                         | Methanol, Ameisensäure in MeOH (2%)          |

Fraktionen der Probenaufgabe, des Waschschrilles sowie der Elution wurden aufgefangen und qualitativ und quantitativ auf Zucker und Phenolcarbonsäuren untersucht. Die qualitative Bestimmung erfolgte dünnschichtchromatographisch mit anschließender UV-Detektion und der Detektion der Zucker mittels Anisidin-Sprühareagenz. In weiteren Versuchen wurden Standardlösungen mit monomeren und dimeren Phenolcarbonsäuren getestet. Die quantitative Bestimmung der phenolischen Carbonsäuren erfolgte gaschromatographisch.

### **3.3.1.3 Ergebnisse**

#### ***Versuche mit Standardlösungen***

An C18-Phasen konnte eine sehr gute Abtrennung der Zucker von den phenolischen Carbonsäuren erzielt werden. Nach dem Waschen mit 10-15ml Wasser, welches zur Minimierung von Analytverlusten mit Phosphorsäure auf pH ~ 3 eingestellt war (JUNG & SHALITA-JONES, 1990), wurden keine Zucker mehr im Waschwasser nachgewiesen.

Die Elutionen mit Ethanol, Methanol oder Acetonitril ergaben Wiederfindungsraten der FS von 99-101%. Mit 60%igem Ethanol wurden nur 80% der FS wiedergefunden.

Da das Alkalihydrolysat der UNF aufgrund des hohen Polysaccharidanteils leicht viskos sein kann, wurden C18-high-flow-Phasen getestet. Sie ermöglichen aufgrund eines größeren Porendurchmessers das schnellere Durchlaufen der Säule. Monomere Phenolcarbonsäuren wiesen bei Elution mit Methanol an diesen Phasen genauso gute Wiederfindungsraten auf wie herkömmliche C18-Phasen (siehe Abbildung 17). Lediglich die Wiederfindungsraten der FF-Cyclobutandimere sind um etwa 1/3 niedriger.

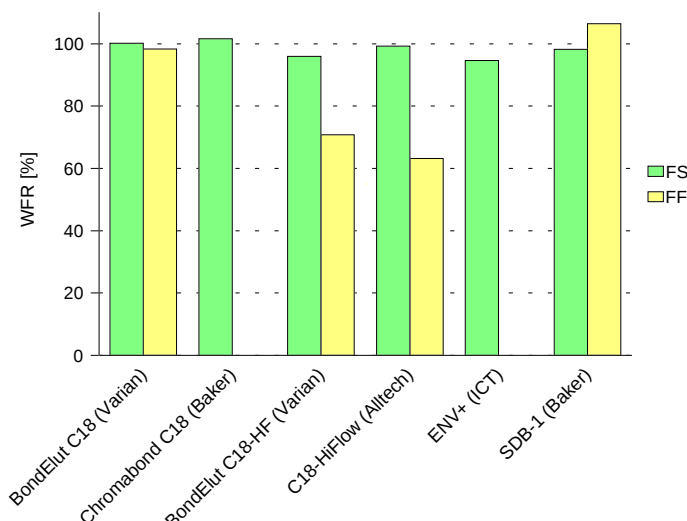


Abbildung 17: Wiederfindungsraten (WFR) monomerer und dimerer FS an verschiedenen Festphasen (Elutionsmittel Methanol)

Die *Styroldivinylbenzol*phasen ermöglichten ebenfalls eine gute Abtrennung der Zuckermatrix. Als am geeignetsten erwies sich die Elution mit reinem Methanol, wobei Wiederfindungsraten zwischen 95% und 98% erreicht wurden (siehe Abbildung 17). Bei der Elution mit einer Mischung aus Ethylacetat/Aceton/Eisessig (40/60/2; v/v/v) erwies sich als nachteilig, daß ein Zwei-Phasen-Gemisch durch Reste von Waschwasser erhalten wurde, da ein vollständiges Trockensaugen nicht möglich war.

Bei der Verwendung von *Polyamid* war keine Abtrennung der Zucker von der FS gegeben. Bereits beim Spülen der Säule eluierte FS gemeinsam mit Xylose von der Festphase. Da die C18-Phase und Polystyrol hinsichtlich ihrer Trennleistung sehr vielversprechend waren, wurde nicht weiter versucht, durch andere Elutionsbedingungen diese Phase hinsichtlich des gewünschten Ziels zu optimieren.

Als Zwischenergebnis läßt sich festhalten, daß C18-Phasen in herkömmlicher Form oder als high-flow Variante genauso wie Styroldivinylbenzolphasen geeignet sind, phenolische Carbonsäuren zu binden. Zucker werden nicht gebunden, sondern verbleiben im Waschwasser. Methanol stellt für alle drei Phasen ein sehr geeignetes Elutionsmittel dar. Unabhängig von Phasentyp und Hersteller wurden ähnlich gute Wiederfindungsraten bestimmt (> 95% für Monomere, ~ 60-70% für FF-Dimere). Lediglich hinsichtlich der Kapazität unterscheiden sich C18-Phasen und Styroldivinylbenzolphasen: letztere besitzt eine etwa vierfach höhere Kapazität. 200mg C18-Phase sorbieren 10mg FS, 200mg Polystyrol-Phase dagegen 37mg.

### **Versuche mit unlöslicher Nahrungsfaser**

Für die weiteren Tests wurden lediglich C18-Phasen verwendet, da deren Kapazität zur Bestimmung von phenolischen Carbonsäuren aus Alkalihydrolysaten der UNF ausreichen sollten und sie auch als high-flow-Variante erhältlich sind, welches bei viskosem Probenmaterial von Vorteil ist. Außerdem stellt der günstigere Preis einen nicht zu vernachlässigenden Parameter dar.

Im nächsten Schritt wurde die Übertragbarkeit der Methodik auf Alkalihydrolysate der UNF getestet. Dazu wurde das wäßrige angesäuerte Hydrolysat (pH 2-3) auf eine zuvor mit Methanol und Wasser konditionierte C18-Festphasensäule aufgegeben. Die Säule

wurde zur Abtrennung der Matrix mit 10 ml angesäuertem Wasser gewaschen. Die Elution der Phenolcarbonsäuren erfolgte in 5 ml Methanol.

Es stellte sich heraus, daß die Auswertung der in nur geringen Konzentrationen vorkommenden *cis*-Isomere der monomeren phenolischen Carbonsäuren durch das Auftreten von Störpeaks im GC-Chromatogramm beeinträchtigt wurde. Dagegen war die Auswertung der dominierenden *trans*-Isomeren problemlos möglich.

Zur Abtrennung störender Matrix kommt entweder eine Erhöhung der Waschkraft des Waschwassers oder eine Erniedrigung der Elutionskraft des Elutionsmittels in Frage.

Das Waschen mit 10%igem Methanol führte bereits zu Analytverlusten, so daß diese Möglichkeit ausgeschlossen wurde.

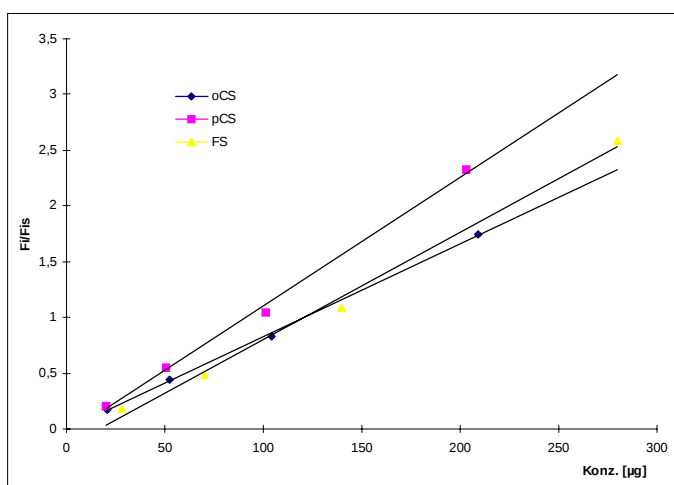
Die zweite Alternative (Erniedrigung der Elutionskraft) erschien dagegen vielversprechender, da bereits in mehreren Literaturstellen auf die Elution von Phenolcarbonsäuren von C18-Phasen mittels verdünntem Ethanol bzw. Methanol hingewiesen wurde (NISHITANI & NEVINS, 1988; MCCALLUM & WALKER, 1991; JUNG & SHALITA-JONES, 1990).

Die besten Chromatogramme wurden nach Elution mit einem Methanol/Wasser-Gemisch (50:50, v/v) erzielt. Es traten deutlich weniger Störpeaks auf und das Grundrauschen war ebenfalls vermindert.

### Kalibrierung

Aufgrund der Ergebnisse mit UNF wurde eine Grundkalibrierung mit den veränderten Elutionsbedingungen vorgenommen. Standardlösungen (oCS, pCS, FS) wurden in vier Konzentrationen (ca. 20, 50, 100 und 200 µg pro 500mg Sorbens) jeweils viermal der Aufarbeitungsprozedur an C18-Festphasen (Ansäuern, Festphasen-extraktion, Silylieren, GC-Messung) unterzogen. Als Elutionsmittel diente ein Methanol/Wasser-Gemisch (50:50, v/v) (siehe Anhang 8.3.2.5). Zur Volumenkorrektur bei der GC-Einspritzung wurde vor der Silylierung Phloroglucin hinzugefügt, das auch als Standard zur Auswertung diente.

Die Kalibriergeraden sind in Abbildung 18 dargestellt. Der Korrelationskoeffizient betrug für FS  $r=0,9975$ , für pCS  $r=0,9957$  und für oCS  $r=0,9977$ . Der Verfahrensvariationskoeffizient betrug durchschnittlich 5,9%.



Regressionsgeraden:

$$\text{oCS} \quad y = 0,0084 \cdot x - 0,0108; r=0,9995$$

$$\text{pCS} \quad y = 0,0116 \cdot x - 0,0549; r=0,9985$$

$$\text{FS} \quad y = 0,0096 \cdot x - 0,1607; r=0,9972$$

Abbildung 18: Kalibriergeraden der monomeren phenolischen Carbonsäuren nach Festphasenextraktion und gaschromatographischer Analyse

Die Nachweisgrenze des gesamten Verfahrens wurde unter Zugrundelegung eines Signal-Rausch-Verhältnisses von 3:1 mit 100ng/50µl BSTFA für monomere Phenolcarbonsäuren und 50ng/50µl BSTFA für DFS abgeschätzt. Dieses entspricht etwa 10 µg/g UNF für monomere Phenolcarbonsäuren und 5 µg/g UNF für DFS.

### 3.3.2 Optimierung der alkalischen Druckhydrolyse

Um die optimalen Aufschlußbedingungen zu ermitteln, wurden die Parameter *Konzentration der Natronlauge*, *Aufschlußtemperatur* und *Aufschlußzeit* variiert. Es erfolgte die Variation jeweils eines Parameters, während die anderen beiden nach den Vorgaben von IYAMA et al. (1990) konstant gehalten wurden.

Die Variation der Parameter wurde an einer Standardlösung aus Phenolcarbonsäuren („Standardlösung“), an einem selbsthergestellten Nahrungsfaser-Vergleich aus Arabinoxylan mit Phenolcarbonsäurestandardsubstanzen („NF-Vergleich“) und an Nahrungsfaser („NF-Hafer“), die aus Hafer gewonnen wurde, getestet.

Dabei zeigte sich, daß bei den Versuchen mit der Standardlösung und dem NF-Vergleich Verluste an phenolischen Carbonsäuren zwischen 70% und 90% auftraten.

Die Ermittlung der optimalen Hydrolysebedingungen erfolgte deshalb ausschließlich anhand der intakten Nahrungsfaser.

Die Versuche zur *Temperaturvariation* erfolgten bei 150°C, 160°C, 170°C und 180°C. Die *Aufschlußzeit* betrug 0,5 h, 1 h bzw. 2 h. Zur Variation der *Natronlaugekonzentration* wurden Versuch mit 3 M, 4 M und 5 M Natronlauge durchgeführt.

In den Abbildungen 19 - 21 wurden die Gehalte jeder einzelnen Phenolcarbonsäure in Relation zum jeweils höchsten Gehalt beim jeweiligen Parameter gesetzt (höchster Werte = 1; entspricht optimalem Ergebnis).

Ein Maximum an FS wird bei der *Aufschlußtemperatur* von 170°C erreicht (siehe Abbildung 19). Bei den anderen Phenolcarbonsäuren sind die höchsten Gehalte bei einer Aufschlußtemperatur von 180°C ermittelt worden. Die Differenzen der Gehalte an Phenolcarbonsäuren sind jedoch zwischen dem Aufschluß bei 180°C und 170°C im Vergleich zum FS-Gehalt gering.

Wie aus Abbildung 20 ersichtlich sind bei einer *Aufschlußzeit* von 1h maximale Gehalte an Phenolcarbonsäuren erhalten worden.

Die optimale *Natronlaugekonzentration* zur Druckhydrolyse liegt bei c=4 mol/l (siehe Abbildung 21).

Über die Verluste an Phenolcarbonsäuren durch den alkalischen Druckaufschluß kann keine Aussage gemacht werden, da aufgrund der hohen Verluste bei den Aufschlußversuchen an Standardlösung und NF-Vergleich keine Wiederfindungsraten bestimmt werden konnten.

Ein Vergleich des Ergebnisses der alkalischen Druckhydrolyse mit der Alkalihydrolyse, bei dem nur die estergebundenen Phenolcarbonsäuren freigesetzt werden, zeigt jedoch, daß die ermittelten Gehalte durch den alkalischen Druckaufschluß deutlich höher ausfallen als die durch die Alkalihydrolyse (z.B. 2,5facher Gehalt an FS im Hafer). Der Verlust an Phenolcarbonsäuren durch den Druckaufschluß ist folglich deutlich niedriger als der Anteil an zusätzlich freigesetzten ethergebundenen Phenolcarbonsäuren.

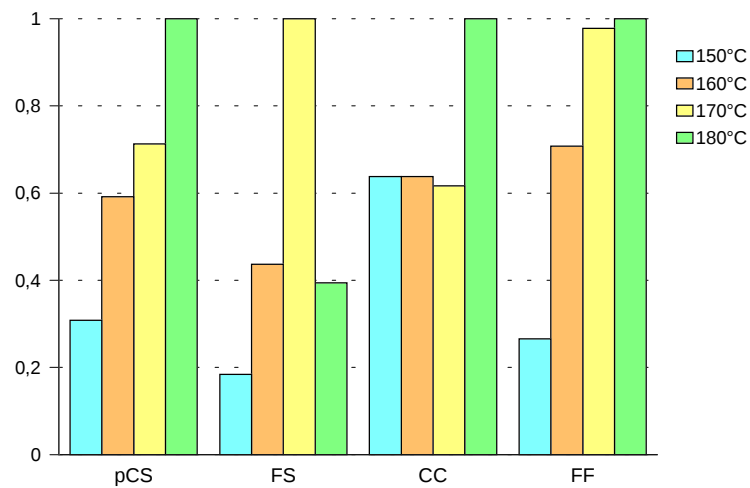


Abbildung 19: Variation der Aufschlußtemperatur (Darstellung der Phenolcarbonsäuregehalte in Relation zum Höchstgehalt bei der jeweiligen Temperatur; höchster Wert = 1)

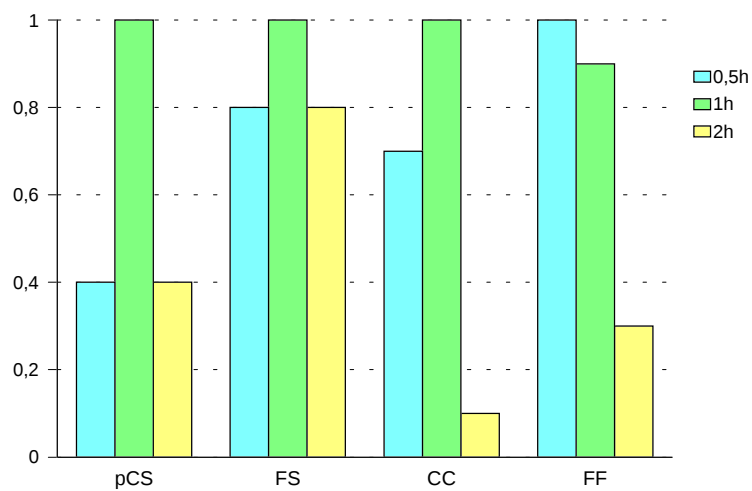


Abbildung 20: Variation der Aufschlußzeit (Darstellung der Phenolcarbonsäuregehalte in Relation zum Höchstgehalt bei der jeweiligen Zeit; höchster Wert = 1)

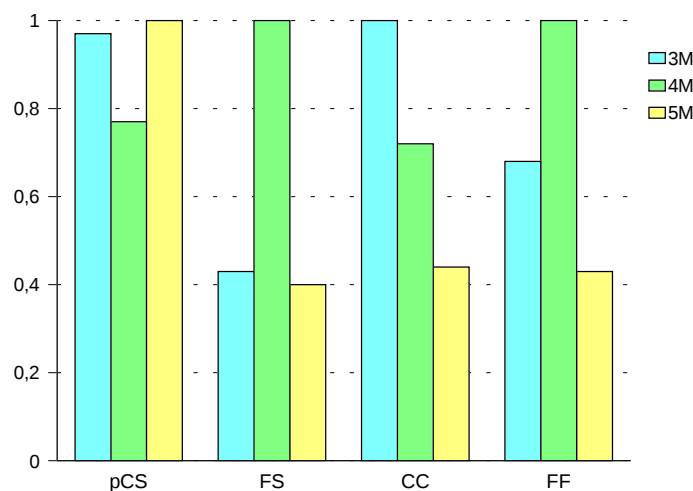


Abbildung 21: Variation der Natronlaugenkonzentration (Darstellung der Phenolcarbonsäuregehalte in Relation zum Höchstgehalt bei der jeweiligen Konzentration; höchster Wert = 1)

Als Ergebnis kann zusammengefaßt werden, daß sich bei den Aufschlußversuchen als optimale Bedingungen eine Aufschlußtemperatur von 170°C, eine Aufschlußzeit von 1 h und eine Natronlaugenkonzentration von  $c=4$  mol/l erwiesen.

Diese Bedingungen entsprechen weitestgehend denen von IYAMA et al. (1990), welche allerdings den Aufschluß 2h lang durchführten.

### **3.4 Statistische Bewertung der Ergebnisse**

Zur statistischen Absicherung der Aussagen wurde zum Vergleich zweier Mittelwerte der t-Test herangezogen (KAISER & GOTTSCHALK, 1972). Der t-Test ermöglicht eine Aussage darüber, ob zwei arithmetische Mittelwerte signifikant unterschiedlich oder gleich sind. Unterschiede auf einem Signifikanzniveau von  $P < 0,05$  werden als signifikant (\*) verschieden [ $t(99) \leq \tau < t(99,9)$ ], solche auf einem Signifikanzniveau von  $P < 0,01$  als hochsignifikant (\*\*) verschieden bezeichnet [ $\tau > t(99,9)$ ].

Die Ergebnisse der Nahrungsfasergehalte, der Kohlenhydratbestimmung nach SAEMAN-Hydrolyse, die Gehalte der monomeren phenolischen Carbonsäuren und die Summe der DFS wurden nach diesem Test geprüft (siehe Anhang 8.5.4).

## 4 Ergebnisse

An das Kapitel zur „Identifizierung dimerer phenolischer Carbonsäuren“ schließt sich die Darstellung der Ergebnisse der Getreide- und Getreideprodukte unterteilt nach Nahrungsfasergehalt, Kohlenhydrat- und Phenolcarbonsäurezusammensetzung an.

Neben den Getreiderohstoffen werden verarbeitete Produkte unter dem Begriff „Getreide-Extrudate“ bzw. „Haferprodukte“ zusammengefaßt. Erstere Gruppe umfaßt als Verarbeitungsprodukte ausschließlich Extrudate. Hier wurden Weizen-, Hafer- und Gerstenproben untersucht. Die zweite Gruppe repräsentiert die Verarbeitungsschritte, die der Rohhafer vom Korn bis zum Endprodukt durchläuft, und wird deshalb gesondert dargestellt.

### 4.1 Identifizierung dimerer phenolischer Carbonsäuren

Im hinteren Chromatogrammbereich ab 25 Minuten (Abbildung 41 im Anhang) sind diverse Peaks zu erkennen, bei denen es sich vermutlich um dimere phenolische Carbonsäuren handelt. Anhand von Standardsubstanzen wurden zunächst Cyclobutan-dimere der FS bzw. pCS zugeordnet sowie die 5-5'-Diferulasäure. Die Identifizierung wurde mittels GC-MS abgesichert. Als dominierendes Photodimer trat ein FF-Dimer vom Truxillsäure-Typ (FF-ht) auf. Des weiteren wurden diverse weitere FF- und CC-Dimere identifiziert, deren Mengen nur knapp über der Nachweisgrenze lagen und deshalb für weitere halbquantitative Berechnungen nicht berücksichtigt wurden.

Die Identifizierung weiterer Dimerer erfolgte mittels GC-MS (siehe 3.2.1.4). Auf diese Art und Weise sollte die Identität markanter Peaks im hinteren Chromatogrammbereich geklärt werden. Ergänzend wurde die HPLC-DAD eingesetzt (siehe 3.2.1.5).

#### 4.1.1 Dehydrodimere der Ferulasäure (DFS)

##### *Identifizierung mittels Gaschromatographie - Massenspektrometrie (GC-MS)*

Aufgrund der Ergebnisse der Studien von RALPH et al. (1994), wurde vermutet, daß Dehydrodimere der FS auch in UNF von Getreide vorkommen. RALPH et al. (1994) synthetisierten sieben verschiedene DFS und wiesen sechs davon in Gräsern nach (siehe Abbildung 22). Lediglich eines dieser Dehydrodimeren entsprach dabei dem hinlänglich bekannten 5-5' verknüpften Ferulasäuredimer, welches häufig als Diferulasäure bezeichnet wird.

In Abbildung 23 sind ein GC-MS-Chromatogramm und dazugehörige SIM-Läufe für die Massenzahlen  $m/z$  338,  $m/z$  602 und  $m/z$  674 dargestellt. Diese Massenzahlen wurden ausgewählt, da sie den Molekularmassen der TMS-Derivate von FS (MG = 338 g/mol) bzw. Dehydrodimeren der FS (MG 674 bzw. 602 g/mol) entsprechen (RALPH et al., 1994). Die Abbildung wird durch den SIM-Lauf für die Massenzahl  $m/z$  556 ergänzt, welche ein charakteristisches Fragment einiger Diferulasäuren ist (siehe unten). Eine tabellarische Aufstellung der Massenspektren ist dem Anhang 8.6.2 zu entnehmen. Ebenfalls im Anhang (Kap. 8.6.1) ist ein GC-FID-Chromatogramm eines Hafer-Alkalihydrolysats abgebildet.

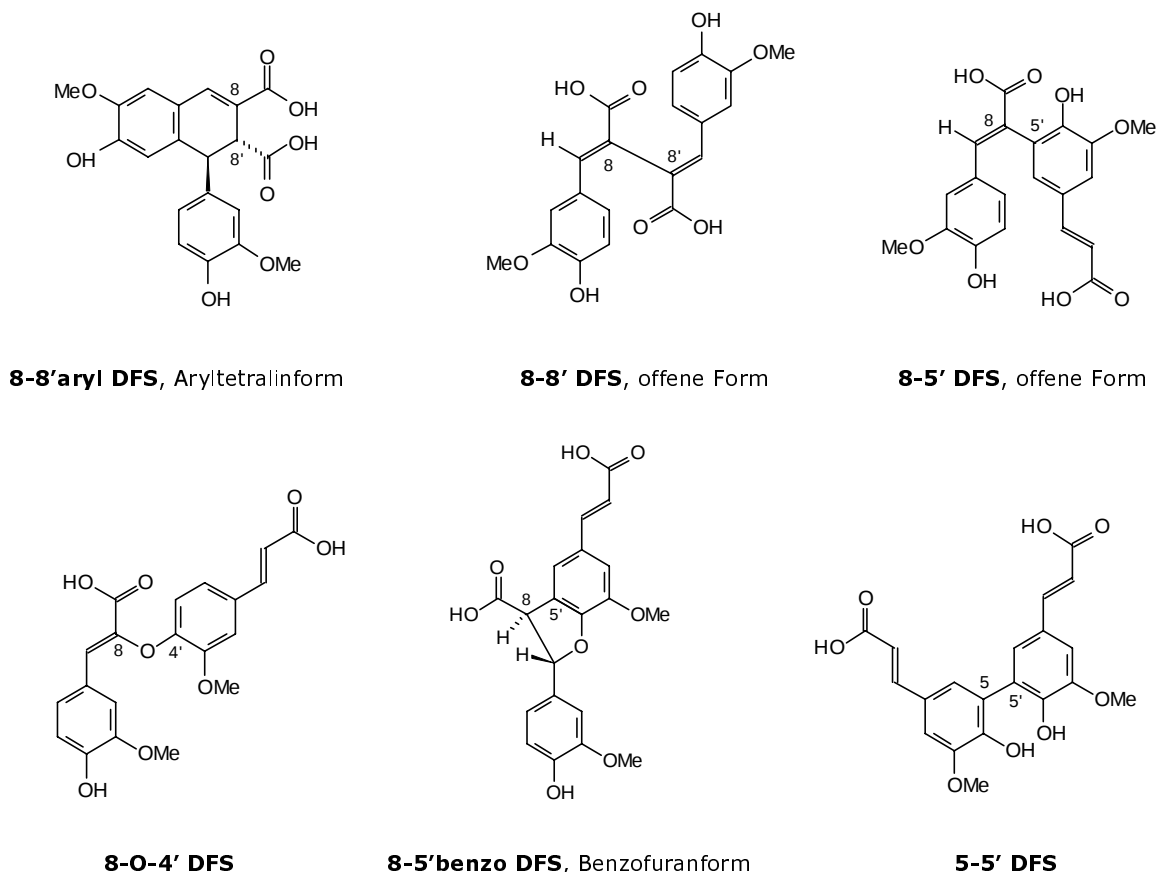


Abbildung 22: Strukturen der von RALPH et al. (1994) identifizierten Ferulasäure-Dehydrodimere

Vier Peaks lieferten Massenspektren mit einem Molekülpeak bei  $m/z$  674, ein Peak ein solches mit einem Molekülpeak bei  $m/z$  602. Der letzte Peak im Chromatogramm wurde aufgrund der relativen Retentionszeit und seines Massenspektrums im Vergleich mit der Standardsubstanz (**(*E,E*)-4,4'-Dihydroxy-5,5'-dimethoxy-3'-dizimtsäure, 5-5' DFS**) dem 5-5' verknüpften Dehydrodimer der FS zugeordnet. Das Massenspektrum zeigt neben dem Molekülion typische Fragmente aufgrund der Abspaltung von Methylgruppen, Trimethylsilylgruppen oder silylierten Carboxylgruppen aus der Seitenkette. Das Molekülion  $M^+$  674 tritt als Basispeak auf. Weitere Fragmentationen mit hohen Intensitäten sind  $m/z$  659 ( $\sim 35\%$ ),  $m/z$  407 ( $\sim 45\%$ ) und  $m/z$  379 ( $\sim 35\%$ ). Eine Zusammenstellung der am häufigsten abgespaltenen Gruppen kann Tabelle 5 entnommen werden.

Das Vorkommen vom Molekülion  $M^+$  674 im Massenspektrum der Substanz Nr. 1 weist auf ein FS-Dehydrodimer hin. Des weiteren ist die Massenzahl  $m/z$  556 mit sehr hoher Intensität vertreten, oftmals bis zu 100%. Sie entsteht bei der Abspaltung von  $HCOOTMS$  ( $m/z$  118) aus dem Molekül. Da jene Masse mit so hoher Intensität auftritt, muß das Fragmention besonders stabil sein. Betrachtet man die Strukturen der von RALPH et al. (1994) synthetisierten DFS, so kämen aufgrund des Molekülpeaks vier verschiedene DFS in Frage: das 5-5' verknüpfte DFS, die 8-8' verknüpften DFS (offene bzw. aryltetraline Form) und das 8-5' verknüpfte DFS (offene Form). Da 5-5' DFS bereits identifiziert wurde und sowohl Massenspektrum als auch relative Retentionszeit nicht mit Peak Nr. 1 übereinstimmen, kann es ausgeschlossen werden.

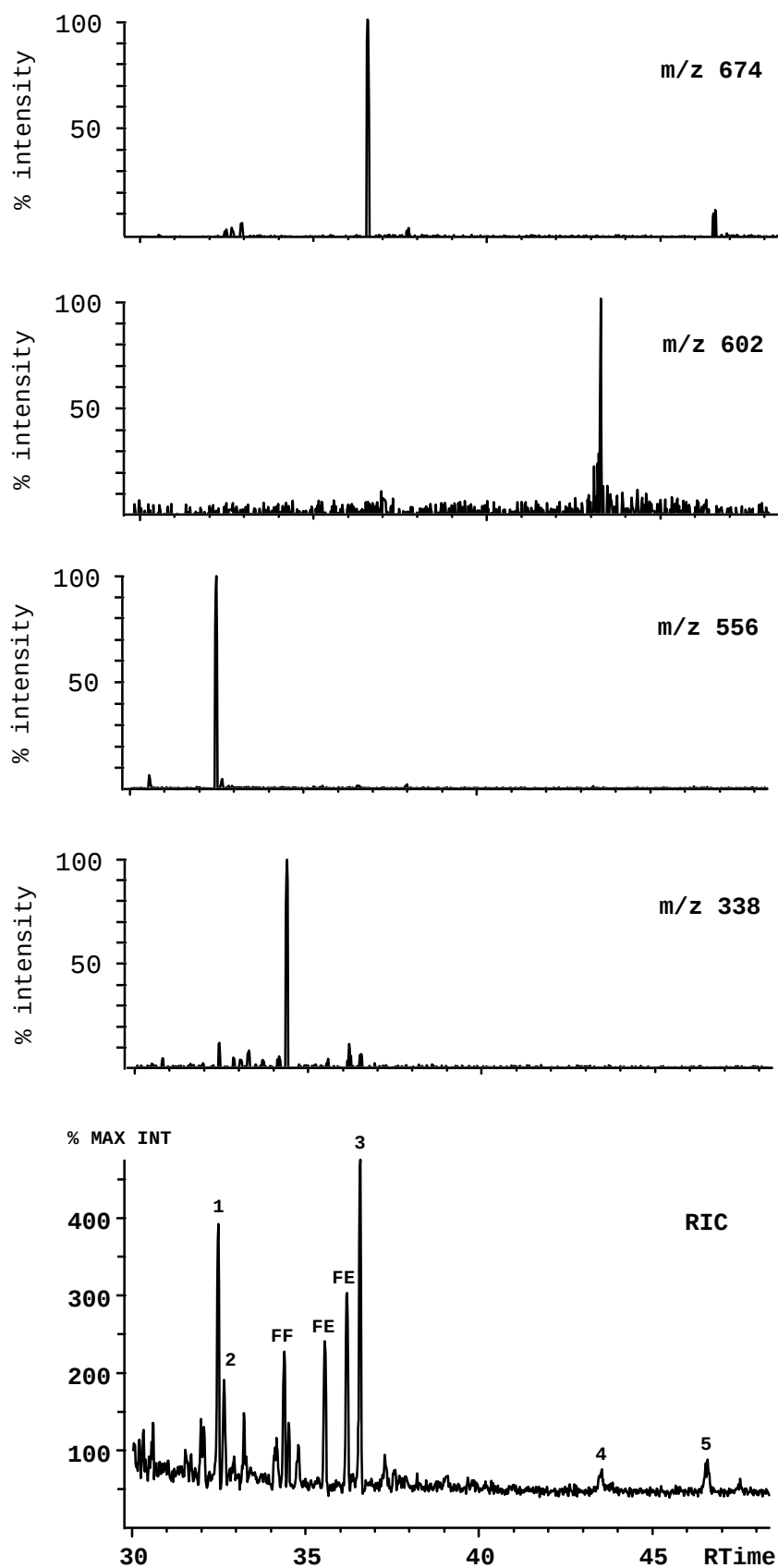


Abbildung 23: Totalionenchromatogramm (RIC) eines Alkalihydrolysats von unlöslicher Weizen-nahrungsfaser und selected ion monitoring (SIM) charakteristischer Massenzahlen zur Identifizierung dimerer Phenolcarbonsäuren (1 = 8-8'aryl DFS; 2 = 8-8' DFS; 3 = 8-5' DFS; 4 = 8-O-4' DFS; 5 = 5-5' DFS; FF = Photodimer der FS; FE = FS-Coniferylether)

Tabelle 5: Fragmentierung der DFS nach MS mit Elektronenstoßionisation

| Abspaltung von                     | $m/z$   |         |
|------------------------------------|---------|---------|
|                                    | M = 674 | M = 602 |
| M                                  | 674     | 602     |
| M - CH <sub>3</sub>                | 659     | 587     |
| M - TMSOH                          | 584     | 512     |
| M - CH <sub>3</sub> - TMSOH        | 569     | 497     |
| M - HCOOTMS                        | 556     | 484     |
| M - CH <sub>3</sub> - HCOOTMS      | 541     | 469     |
| M - 2x TMSOH                       | 498     | 426     |
| M - HCOOTMS- TMSOH                 | 467     | 395     |
| M - 2x HCOOTMS                     | 438     | 367     |
| M - 2x [CH <sub>3</sub> - HCOOTMS] | 410     | 338     |
| M <sub>1/2</sub>                   | 338     | --      |

Einzig die Aryltetralinform des 8-8' verknüpften Dehydrodimers erlaubt eine sehr gute Stabilisierung eines Radikals mit der Massenzahl  $m/z$  556. Aus diesem Grunde wird Peak Nr. 1 der Substanz **trans-7-Hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-6-methoxy-1,2-dihydronaphthalin-2,3-dicarboxysäure (8-8'aryl DFS)** zugeordnet. Peak Nr. 2 weist ebenfalls ein Molekölion bei  $m/z$  674 auf. Hierbei kann es sich nur um das 8-8' DFS in offener Form oder das 8-5' DFS in offener Form handeln. Die Intensitäten von  $m/z$  556 und  $m/z$  467 sind um etwa ¼ geringer als im Massenspektrum von Peak Nr. 1, aber noch wesentlich höher als in den Spektren von Peak Nr. 3 und 5-5' DFS. Aufgrund der Ähnlichkeit des Massenspektrums mit dem des 8-8'aryl DFS und der relativen Retentionszeit im Vergleich zu den Ergebnissen von RALPH et al. (1994) wird Peak Nr. 2 der Substanz **4,4'-Dihydroxy-3,3'-dimethoxy-β,β'-dizimtsäure (8-8' DFS)** zugeordnet.

Das Massenspektrum des Peaks Nr. 3 ähnelt dem von 5-5' DFS sehr stark. Das Molekölion  $M^+$  674 tritt in sehr hohen Intensitäten auf (~80%), das Fragment  $m/z$  659 zeigt eine halb so hohe Intensität wie das Molekölion. Alle anderen für Dehydrodimere typischen Fragmentationen sind nur in geringen Intensitäten vertreten (< 10%). Aufgrund der Molekularmasse und der bereits getroffenen Zuordnungen kann es sich bei Peak Nr. 3 nur um die offene Form des 8-5' DFS handeln ((**E, E**)-4,4'-Dihydroxy-3,5'-dimethoxy-β,3'-dizimtsäure, **8-5' DFS**).

Das Massenspektrum von Peak Nr. 4 weist ein Molekölion bei  $m/z$  602 auf. Damit kann es sich nur um das 8-O-4' verknüpfte Dehydrodimer oder die benzofurane Form des 8-5' verknüpften FS-Dehydrodimers handeln. Neben dem Basispeak  $m/z$  73 tritt das Fragmentation  $m/z$  484 mit der höchsten Intensität auf (~90%). Weitere markante Fragmentationen sind  $m/z$  587,  $m/z$  457 und  $m/z$  367. Sie stammen in Analogie zu den DFS mit  $M^+$  674 aus der Abspaltung einer Methylgruppe und/oder der silylierten Carboxylgruppe. Fragmentationen, die für die eine oder andere Struktur charakteristisch wären, konnten nicht detektiert werden. Deshalb ist aufgrund der Massenspektren eine eindeutige Zuordnung nicht möglich. Bei Peak Nr. 4 könnte es sich sowohl um (**Z**)-β-(4-((**E**)-2-Carboxyvinyl)-2-methoxyphenoxy)-4-hydroxy-3-methoxyzimtsäure (**8-O-4' DFS**) als auch um **trans-5-((E)-2-carboxyvinyl)-2-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-7-methoxy-2,3-dihydro-benzofuran-3-carboxysäure (8-5' benzo DFS)** handeln.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß mittels gaschromatographischer Analyse und massenspektrometrischer Detektion in UNF außer dem 5-5' DFS vier weitere Dehydrodimere der FS nachgewiesen wurden. An einer mittelpolaren Phase ist die Elutionsreihenfolge wie folgt: 8-8'aryl DFS (aryltetralin) > 8-8' DFS (offen) > 8-5' DFS (offen) > 8-O-4' DFS / 8-5'benzo DFS (benzofuran) > 5-5' DFS.

Diese Reihenfolge stimmt sehr gut mit dem von RALPH et al. (1994) angegebenen Retentionsverhalten überein. Dieses wird noch deutlicher, wenn man die relativen Retentionszeiten in Bezug zu 5-5' DFS einander gegenüberstellt (siehe Tabelle 6). Zwar weichen die Zahlenwerte etwas voneinander ab, die Abstände in denen die DFS eluieren sind aber vergleichbar. Die beiden 8-8' verknüpften DFS eluieren kurz nacheinander, wobei die aryltetraline Form vor der offenen Form detektiert wird. Das 8-5' DFS eluiert zwischen dem offenen 8-8' DFS und DFS 8-O-4'/8-5'. Die Retentionszeiten von 8-O-4' DFS und 8-5'benzo DFS liegen nach RALPH et al. (1994) sehr nah beieinander. Möglicherweise reichte die Auflösung des eigenen GC-Systems nicht aus, um die beiden DFS zu trennen oder die Mengen des 8-5'benzo DFS in den untersuchten Materialien lagen unterhalb der Nachweisgrenze.

*Tabelle 6: Relative Retentionszeiten der DFS am GC in Bezug zu 5-5' DFS*

| Name          | RALPH et al.<br>(1994) | eigene Daten |
|---------------|------------------------|--------------|
| 8-8'aryl DFS  | 0,79                   | 0,704        |
| 8-8' DFS      | 0,81                   | 0,713        |
| 8-5' DFS      | 0,86                   | 0,805        |
| 8-O-4' DFS    | 0,95                   | 0,935        |
| 8-5'benzo DFS | 0,96                   | 0,935        |
| 5-5' DFS      | 1,00                   | 1,000        |

#### **Identifizierung mittels Hochleistungsflüssigchromatographie - Diodenarraydetektion (HPLC-DAD)**

Ergänzend zur GC-MS wurde die HPLC zur Identifizierung von DFS eingesetzt. Beispielhaft ist im Anhang 8.6.3 ein Chromatogramm eines Weizen-Hydrolysats abgebildet. Die Diodenarray-Detektion erlaubte es, neben der gleichzeitigen Messung bei zwei Wellenlängen ( $\lambda = 280\text{nm}$  und  $325\text{nm}$ ), die UV-Spektren der Peaks aufzunehmen (siehe Anhang 8.6.4). Der Vergleich mit Literaturspektren (WALDRON et al., 1996) ermöglichte die Zuordnung von 5 Peaks zu Dehydrodimeren der FS. 8-8'aryl DFS und 8-5' DFS eluieren vor den monomeren Phenolsäuren pCS bzw. FS; 8-8', 8-O-4' und 5-5' DFS danach. Alle Spektren weisen Maxima im Bereich um  $330\text{nm}$  auf. Zusammen mit weiteren Maxima und Minima ergibt sich für jedes Dehydrodimer ein charakteristisches Spektrum (siehe Tabelle 7).

Ein UV-Spektrum, welches der 8-5'benzo DFS entspräche, konnte nicht nachgewiesen werden. Im Zusammenhang mit den GC-MS-Ergebnissen wird deshalb davon ausgegangen, daß der vorletzte DFS-Peak im Gaschromatogramm der 8-O-4' DFS zuzuordnen ist.

Tabelle 7: Maxima und Minima der UV-Spektren der DFS

|              | Maxima [nm]        | Minima [nm] | Schulter [nm] |
|--------------|--------------------|-------------|---------------|
| 8-8'aryl DFS | 340, 235, 288      | 300, 270    | --            |
| 8-8' DFS     | 330, 240, 225      | 270, 205    | 300           |
| 8-5' DFS     | 320, 205           | 255         | 285, 215      |
| 8-O-4' DFS   | 325, 235, 220, 205 | 260         | 295           |
| 5-5' DFS     | 330, 250, 210      | 275, 225    | 305           |

#### 4.1.2 Cyclobutandimere der FS bzw. pCS

Bei der UV-Belichtung von FS bzw. pCS können maximal je 11 Stereoisomere (6 vom head-to-tail-Typ, 5 vom head-to-head-Typ) entstehen. Durch GC-MS-Untersuchungen ist eine Zuordnung zum ht- bzw. hh-Typ (Truxill- bzw. Truxinsäure-Typ) möglich. Cyclobutansäuredimere vom hh-Typ können bei der Elektronenstoßionisation sowohl symmetrisch als auch asymmetrisch gespalten werden (siehe Abbildung 24). Die Massenspektren der Dimeren vom Truxinsäure-Typ weisen daher charakteristische Fragmente bei  $m/z$  416 (FF) bzw.  $m/z$  356 (CC) (Stilbenfragmente) sowie  $m/z$  245 auf. Letzteres ist auf die Abspaltung einer Methylgruppe aus dem Dicarboxylation ( $m/z$  260), welches ebenfalls nur bei asymmetrischer Spaltung entsteht, zurückzuführen (CACCAMESE et al., 1974; STEWART et al., 1992).

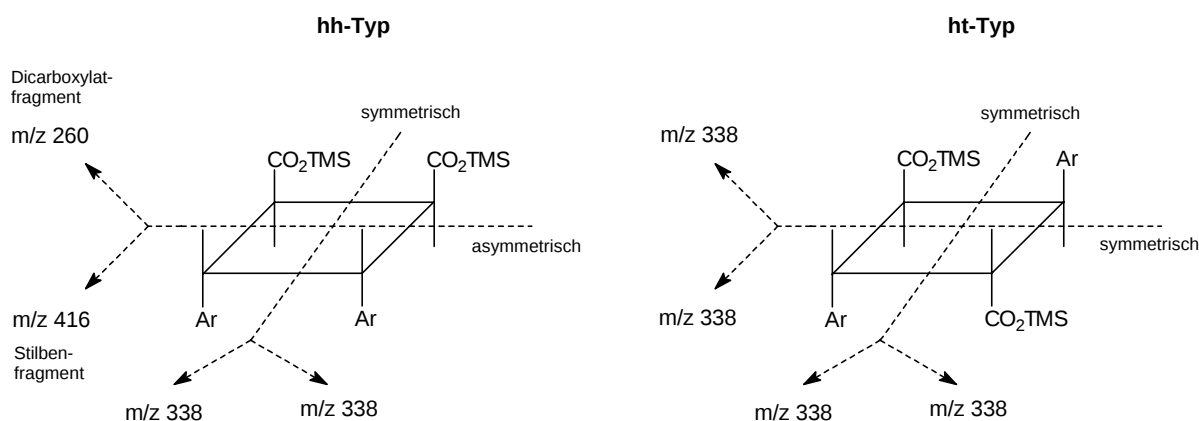


Abbildung 24: Struktur und Fragmentierung eines Cyclobutandimers vom hh-Typ bzw. ht-Typ (Ar = phenolischer Rest)

In den Massenspektren der FF- bzw. CC-Dimeren vom ht-Typ sind signifikanterweise Ionen mit  $m/z$  586 bzw. 526,  $m/z$  469 bzw. 409 und  $m/z$  441 bzw. 381, welche aus einer McLafferty-Umlagerung resultieren, vorhanden (siehe Abbildung 25) (STEWART et al., 1992). Diese Umlagerung, welche zur Ringöffnung führt, ist auch für den hh-Typ denkbar, aber sterisch ist die ht-Form favorisiert (CACCAMESE et al., 1974; STEWART et al., 1992).

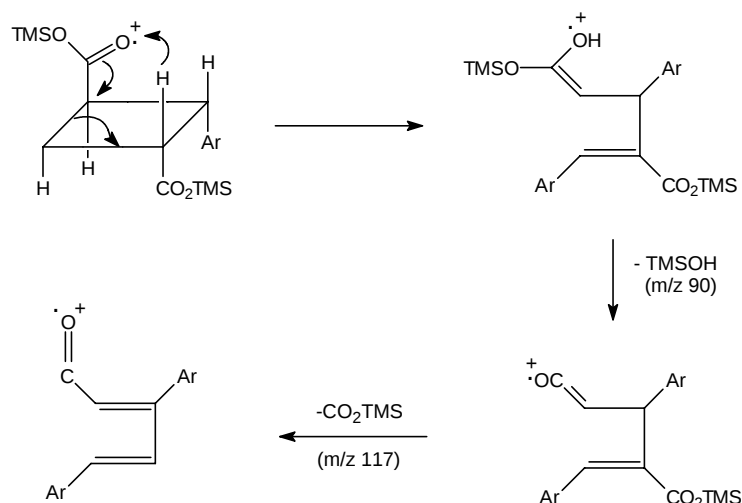


Abbildung 25: Fragmentierungsschema eines silylierten Cyclobutandimers vom ht-Typ, eingeleitet durch eine McLafferty-Umlagerung (Ar = phenolischer Rest)

Die symmetrische Spaltung von FF- bzw. CC-Dimeren liefert Fragmente bei  $m/z$  338 bzw. 308 [Monomer]<sup>+</sup>,  $m/z$  323 bzw. 293 [Monomer-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>,  $m/z$  308 bzw. 278 [Monomer-CH<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> und  $m/z$  249 bzw. 219 [Monomer-OTMS]<sup>+</sup>.

In allen Massenspektren der Cyclobutandimere sind Molekülionen ( $m/z$  676 für FF bzw.  $m/z$  616 für CC) nur mit sehr geringen Intensitäten vertreten.

In der FF-Standardmischung wurden insgesamt 9 Stereoisomere nachgewiesen. Drei vom hh-Typ, vier vom ht-Typ und bei zwei weiteren war keine eindeutige Zuordnung möglich. Als Hauptisomer trat mit einem Anteil von 77% ein Dimer vom ht-Typ auf (FF-ht-9). Die prozentuale Verteilung der FF-Dimeren in der Standardlösung ist dem Anhang 8.4.1.1 zu entnehmen.

In der CC-Dimeren-Standardmischung wurden insgesamt 10 Dimere nachgewiesen; eines vom hh-Typ, 4 vom ht-Typ und bei fünf weiteren konnte keine eindeutige Zuordnung getroffen werden. Mit 95% trat ein CC-ht-Dimer als Hauptdimer auf. Der Anteil des zweithäufigsten CC-Dimers betrug 3%. Alle weiteren CC-Dimeren waren mit < 0,5% vertreten (siehe Anhang 8.4.1.1).

Die relativen Retentionszeiten der FF- und CC-Dimeren sind in Tabellen im Anhang 8.4.1.1 zusammengestellt. Chromatogramme des CC- bzw. FF-Standards sind im Anhang 8.6.1 (Abbildung 39 und Abbildung 40) abgebildet.

#### 4.1.3 Ferulasäure-Coniferylether (FE)

Nach dem FF-ht-Dimer und vor der 8-5' DFS waren in allen Chromatogrammen der Alkalihydrolyse zwei größere Peaks zu beobachten (siehe Abbildung 41 im Anhang 8.6.1). Die Massenspektren der Peaks waren identisch und zeigten einen Basispeak bei  $m/z$  297. Weitere diagnostisch wichtige Fragmente traten bei  $m/z$  663,  $m/z$  412,  $m/z$  397,  $m/z$  351,  $m/z$  338,  $m/z$  223,  $m/z$  209 und  $m/z$  103 auf, wobei deren Intensitäten meistens <5% waren.

Die erhaltenen Massenspektren stimmen sehr gut mit Ergebnissen von JACQUET et al. (1995) überein. Sie wiesen erstmals FS-Coniferylalkohol-Ether (FE) in Alkalihydrolysaten von Zellwänden aus Weizen- und Hafer-Internodien nach. Aus der Tatsache, daß die paarweise auftretenden Peaks identische Massenspektren lieferten, folgerten sie, daß es sich um *erythro* und *threo* TMS-Isomere jenes Ethers handeln mußte.

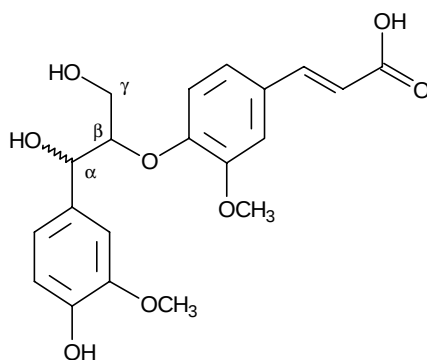


Abbildung 26: Struktur von (E)-Ethyl-4-[2-(4-hydroxyl-3-methoxyphenyl)-2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)-ethyl]-ferulat

JACQUET et al. (1995) bestätigten ihre These durch die Synthese jenes FS-Coniferylalkohol-Ethers ((E)-Ethyl-4-[2-(4-hydroxyl-3-methoxyphenyl)-2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)-ethyl]-ferulat) (siehe Abbildung 26).

Die eigenen GC-MS-Untersuchungen lieferten ebenfalls identische Massenspektren der unbekannten Peaks mit einem charakteristischen Basispeak bei  $m/z$  297. Wie Tabelle 8 zu entnehmen ist, stimmt das eigene Massenspektrum sehr gut mit den Literaturwerten überein. Deshalb wird davon ausgegangen, daß in den untersuchten Alkalihydrolysaten der von JACQUET et al. (1995) beschriebene  $\beta$ -O-4' Ether enthalten ist, welcher ein Kondensationsprodukt aus FS und einem Lignin-Monomer (hier: Guajacoleinheit) darstellt.

Tabelle 8: Massenspektrum des TMS-Derivats eines FS-Coniferylalkohol-Ethers (JACQUET et al., 1995) und Massenspektrum einer unbekannten Substanz in den Alkalihydrolysaten der unlöslichen Getreidenahrungsfaser

| Massenspektrum        |                                                                                                                                                                                                                                       |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| JACQUET et al. (1995) | 678 (5), 663 (3), 412 (3), 397 (1), 351 (4), 340 (3), 338 (9), 323 (15), 308 (3), 297 (100), 293 (5), 265 (4), 263 (3), 249 (4), 235 (3), 223 (56), 219 (5), 209 (15), 193 (4), 179 (3), 147 (13), 103 (9), 73 (83)                   |
| eigene Daten          | 678 (0.4), 663 (0.6), 412 (0.6), 351 (2.4), 340 (1.3), 338 (3.1), 323 (6.9), 308 (1.2), 297 (100), 293 (2.0), 265 (2.5), 263 (2.3), 249 (1.8), 233 (1.2), 223 (3.2), 219 (1.8), 209 (6.8), 193 (1.5), 179 (1.0), 147 (3.5), 73 (12.5) |

## 4.2 Getreide-Rohmaterial

Insgesamt wurden sieben verschiedene Getreide bzw. Getreidekleien auf das Vorkommen monomerer und insbesondere dimerer phenolischer Carbonsäuren in der UNF hin untersucht. Neben der Identifikation neuer dimerer Strukturen stand auch die Berücksichtigung der Bindungsart (ester- oder ethergebunden) im Vordergrund. Des weiteren wurde der Gehalt an UNF und die Kohlenhydratzusammensetzung derselben analysiert.

Als Getreideproben wurden Roggen, Reis (geschält), Mais und Hirse sowie die Kleien von Weizen, Hafer und Gerste untersucht.

### 4.2.1 Nahrungsfasergehalte

Im Anhang 8.5.1 sind der Gehalt an UNF, die Trockenmasse und der Fettgehalt der gemahlenden Proben zusammengestellt.

Die Weizenkleie weist mit 505 mg/g TM den höchsten UNF-Gehalt auf. Gersten- und Haferkleie sowie Roggen liefern etwa 150 mg UNF/g TM. Der UNF-Gehalt in Mais beträgt 65 mg/g TM. In Reis und Hirse ist der UNF-Gehalt am niedrigsten (20 bzw. 15mg/g TM).

### 4.2.2 Kohlenhydratzusammensetzung

Zur Bestimmung der Kohlenhydrate in der UNF wurde die SAEMAN-Hydrolyse angewandt, bei der das Pflanzenmaterial in konz. Schwefelsäure vorgequollen und anschließend mit verdünnter Schwefelsäure hydrolysiert wird (siehe Kap. 3.2.2.1). Die Ergebnisse sind im Anhang 8.5.3.1 aufgeführt.

Gerste, Hafer und Weizen sind Getreide mit einem hohem Arabinoxylangehalt, dessen Anteil am Gesamtpolysaccharidgehalt über 50% liegt. Die Nichtstärke-Polysaccharide in Mais, Reis und Hirse bestehen nur zu einem geringen Anteil aus Arabinoxylanen (20 - 30%). Den Hauptteil machen Glukane aus, welche sich aus  $\beta$ -Glukanen und Cellulose zusammensetzen. Roggen nimmt eine Mittelstellung ein, da der Arabinoxylananteil etwa doppelt so hoch ist wie in Mais, Reis oder Hirse (ca. 45%) aber erheblich niedriger als in Gerste, Hafer oder Weizen.

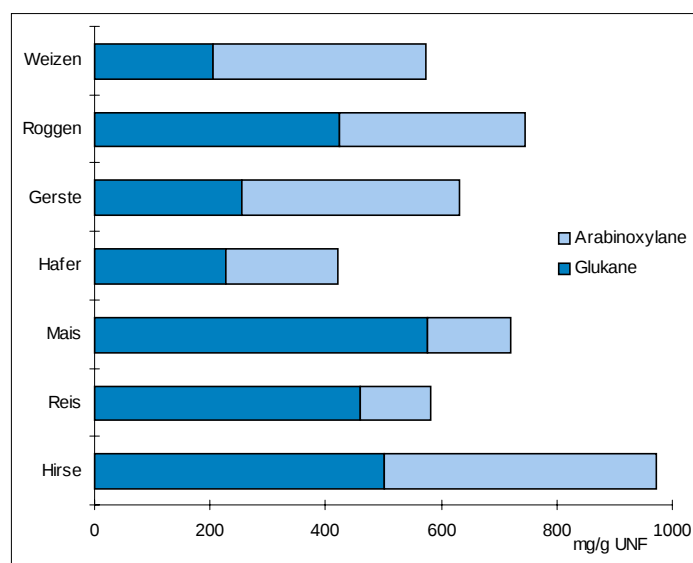


Abbildung 27: Polysaccharidgehalte in UNF der Getreide-Rohmaterialien nach SAEMAN-Hydrolyse

Die Arabinoxylane in Hirse und Mais bestehen zu einem hohen Prozentsatz aus Arabinose (> 50%). In Gerste, Hafer, Reis und Roggen liegt der prozentuale Anteil der Arabinose bei 40-45%. Den niedrigsten Arabinoseanteil mit ca. 30% weisen die Arabinoxylane des Weizens auf.

#### 4.2.3 Phenolische Carbonsäuren

Veresterte phenolische Carbonsäuren wurden mittels Alkalihydrolyse aus der UNF freigesetzt (siehe Kap. 3.2.1.1 und 8.3.2.3). Zur Abspaltung von ethergebundenen phenolischen Carbonsäuren wurde die alkalische Druckhydrolyse eingesetzt (siehe Kap. 3.2.1.2 und 8.3.2.4). Da hierbei sowohl Ester- als auch Etherbindungen gespalten werden, werden die ethergebundenen Phenolcarbonsäuren indirekt aus der Differenz der beiden Hydrolysemethoden berechnet. Die Ergebnisse sind im Anhang 8.5.2.1 und 8.5.2.4 tabellarisch zusammengestellt.

Die Quantifizierung (monomere Phenolcarbonsäuren) bzw. semiquantitative Bestimmung (dimere Phenolcarbonsäuren) erfolgte mittels GC-FID (siehe Anhang 8.1.1). Zur Identifizierung der dimeren Phenolcarbonsäuren wurde die GC-MS und HPLC-DAD eingesetzt (siehe Anhang 8.1.2 und 8.1.3).

##### 4.2.3.1 Monomere Phenolcarbonsäuren

In der UNF aller Getreidematerialien wurde FS als dominierende Hydroxyzimtsäure nachgewiesen. Die Gehalte nach alkalischer Druckhydrolyse sind bei Weizen, Roggen und Reis höher als nach Alkalihydrolyse, jedoch ist der Unterschied nur beim Weizen statistisch gesehen signifikant (siehe 8.5.4.3). Dieses bedeutet, daß FS in Roggen, Gerste, Hafer, Mais, Reis und Hirse ausschließlich über Esterbindungen mit Arabinoxylanen verknüpft ist. Ethergebundene FS wurde lediglich in UNF des Weizens nachgewiesen, welche etwa 24% des Gehalts der estergebundenen FS ausmacht.

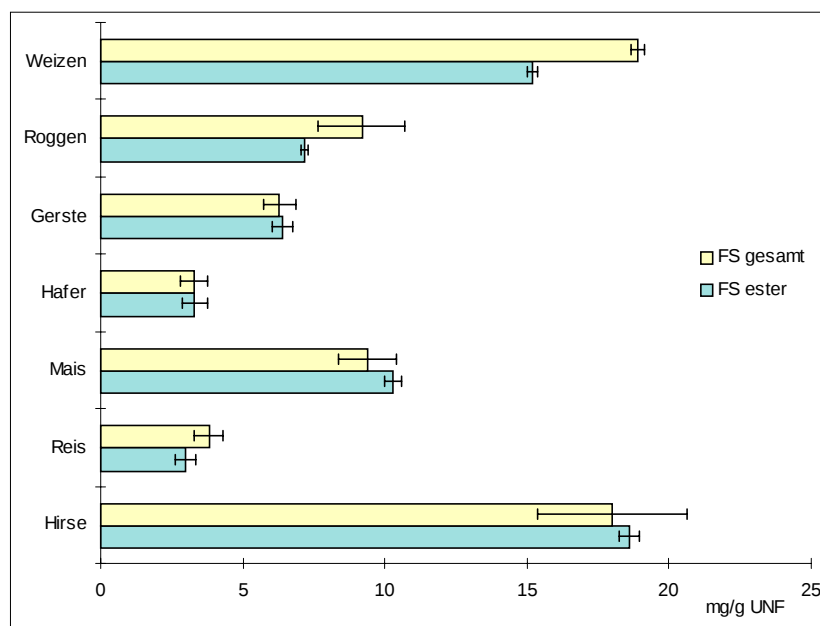


Abbildung 28: Ester- und gesamtgebundene FS in UNF der Getreide-Rohmaterialien

Die Gehalte estergebundener FS unterscheiden sich in den verschiedenen Getreidearten erheblich (siehe Abbildung 28). Weizen und Hirse enthalten die größten Mengen an estergebundener FS ( $> 15 \text{ mg/g UNF}$ ) gefolgt von Mais mit  $10 \text{ mg/g UNF}$ . Dagegen kommt in Reis oder Hafer nur etwa 1/5 dieser Menge vor (ca.  $3 \text{ mg/g UNF}$ ). Roggen und Gerste nehmen mit einem FS-Gehalt von  $6 - 7 \text{ mg/g UNF}$  eine Mittelstellung ein.

pCS wurde in Mengen nachgewiesen, die zwischen 2% und 20% des FS-Gehalts betragen. Lediglich in Roggen wurde pCS aufgrund signifikant höherer Gehalte nach ADH als nach AH in ethergebundener Form nachgewiesen (ca. 50%).

#### **4.2.3.2 Dimere Phenolcarbonsäuren**

In allen unlöslichen Getreidenahrungsfasern konnten Dehydrodimere der FS identifiziert werden. Die dimeren phenolischen Carbonsäuren sind sowohl über Esterbindungen als auch Etherbindungen mit den Polymeren der Nahrungsfaser verknüpft. Dieses gilt nicht für die UNF von Reis; hier konnten nur ethergebundene bzw. ester- und ethergebundene Dimere nachgewiesen werden.

##### **Estergebundene DFS**

Die UNF von Weizen, Roggen, Gerste, Hafer, Mais und Hirse beinhaltet fünf verschiedene estergebundene Dehydrodimere der FS. Dabei handelt es sich um zwei 8-8' verknüpfte Dimere, eine 8-5' DFS, ein 8-O-4' verknüpftes Dimer und eine 5-5' DFS.

In Hafer ist die Summe der DFS am niedrigsten ( $\sim 150 \text{ } \mu\text{g/g UNF}$ ), in Hirse sind die meisten FS-Dehydrodimere vorhanden ( $\sim 950 \text{ } \mu\text{g/g UNF}$ ). In den anderen Getreidearten liegt die DFS-Summe zwischen  $\sim 200 \text{ } \mu\text{g/g UNF}$  (Roggen) und  $\sim 350 \text{ } \mu\text{g/g UNF}$  (Gerste).

Die Verteilung der fünf Dehydrodimere ist in den einzelnen Getreidearten sehr unterschiedlich, jedoch dominieren entweder 8-8'aryl DFS (Hafer, Hirse), 5-5' DFS (Weizen) oder beide sind gleich stark vertreten (Gerste, Mais). Eine Ausnahme bildet die UNF von Roggen, in der 8-5' DFS am häufigsten vorkommt.

8-8' DFS macht mit Ausnahme von Hafer ( $\sim 20\%$ ) in allen Getreiden unter 10% der Summe der veresterten DFS aus. Die prozentualen Anteile von 8-5' DFS und 8-O-4' DFS liegen zwischen 10% und 20%. Lediglich in Roggen und Hafer liegt der 8-O-4' DFS-Anteil bei  $\sim 5\%$ .

##### **Ethergebundene DFS**

Die UNF aller untersuchten Getreidearten enthalten ethergebundene FS-Dehydrodimere in Mengen von  $180 \text{ } \mu\text{g/g UNF}$  (Reis) bis  $1500 \text{ } \mu\text{g/g UNF}$  (Hirse). Diese beiden Getreide markieren die Extrema; die durchschnittlichen Gehalte in Weizen, Roggen, Gerste, Hafer und Mais liegen alle in einem Bereich von 300 bis  $500 \text{ } \mu\text{g/g UNF}$ . Damit machen ethergebundene DFS 60-70% der insgesamt in UNF gebundenen DFS aus (Ausnahme Gerste mit 50%).

Die Gehalte der einzelnen Dehydrodimere betragen 15 bis  $350 \text{ } \mu\text{g/g UNF}$ . Dominierende ethergebundene DFS in Weizen, Gerste und Mais ist 8-O-4' DFS (25-30% der Gesamt-DFS); in Hafer ist sie im gleichen Anteil enthalten wie 5-5' DFS (je 30%). In Roggen dominiert 8-8' DFS, in Reis und Hirse 8-8'aryl DFS (30 bzw. 50%)

#### 4.2.3.3 Sonstige dimere Verbindungen

In Weizen, Roggen, Gerste, Hafer und Hirse waren estergebundene FF-Dimere nachweisbar. In größeren Mengen kam nur das FF-ht-9 vor (ca. 10-30 µg/g UNF), wohingegen weitere FF-Dimere nur in Spuren nachweisbar waren (FF-ht-8, FF-hh-4 in Roggen). In ethergebundener Form lag ebenfalls das FF-ht-9 als dominierendes FF-Dimer vor (ca. 10-30 µg/g UNF). Ester- und/oder ethergebundene CC-Dimere wurden nicht identifiziert. In Reis und Mais waren weder ester- noch ethergebundene Cyclobutandimere nachweisbar.

In allen Getreideproben außer Reis waren nach Alkalihydrolyse FS-Coniferylalkoholether nachweisbar. Nach alkalischer Druckhydrolyse traten im Hydrolysat keine FS-Coniferylalkoholether auf.

### 4.3 Getreide-Extrudate

#### 4.3.1 Nahrungsfasergehalte

Die Ergebnisse der Nahrungsfaserbestimmung sind im Anhang 8.5.1 zusammengefaßt.

Den höchsten UNF-Anteil am Gesamt-NF-Gehalt mit etwa 95% besitzt Mais bei einem im Vergleich zu den anderen Materialien niedrigem Gesamtnahrungsfasergehalt von 68 mg/g TM. Ähnlich hohe Anteile an UNF weist Weizenkleie mit etwa 93% auf. Der Gesamtnahrungsfasergehalt liegt mit 550 mg/g TM jedoch um das 8fache über dem des Mais. Gersten- und Haferkleie setzen sich zu etwa 65% aus UNF und 35% LNF zusammen, wobei die Gesamtnahrungsfasergehalte bei 200 bis 250 mg/g TM liegen.

Die LNF-Gehalte in den Extrudaten von Hafer und Gerste sind signifikant höher als in den jeweiligen Kleien (siehe 8.5.4.1). Jedoch ist nur in den Haferextrudaten der UNF-Gehalt signifikant niedriger. Entsprechendes gilt für den Mais, bei dessen Extrudat der UNF-Gehalt signifikant erniedrigt ist und die leichte Erhöhung des LNF-Gehalts nicht signifikant ist.

In den Weizenextrudaten sind die LNF-Gehalte größtenteils signifikant höher als in der Weizenkleie. Parallel dazu, ist eine signifikante Abnahme des UNF-Gehaltes festzustellen. Dieses gilt jedoch nicht für das Extrudat vv 11 3. Innerhalb der Extrudate weist die Probe vv 11 7 (unvermahlen, niedrige Energieeinleitung) mit 727 mg/g TM den höchsten UNF-Gehalt auf, im Produkt vv 11 11 (unvermahlen, hohe Energieeinleitung) ist er mit 426 mg/g TM am niedrigsten.

#### 4.3.2 Kohlenhydratzusammensetzung

Die Ergebnisse der SAEMAN-Hydrolyse (siehe Kap. 3.2.2.1 und 8.3.3.2), Methanolyse (siehe Kap. 3.2.2.2 und 8.3.3.1) und der reduktiven Depolymerisation (siehe Kap. 3.2.2.3 und 8.3.3.3) sind im Anhang 8.5.3.2 aufgeführt.

Vergleicht man Methanolyse und SAEMAN-Hydrolyse so fällt auf, daß die Arabinoxylan-gehalte nach Methanolyse höher ausfallen, die Glukangehalte dagegen geringer. Im Hafer und Mais sind die Unterschiede in den Glukangehalten nach den beiden Methoden gering. Demnach enthalten sie nur wenig Cellulose. Die Glukane der Gerstenprodukte dürften sich etwa zur Hälfte aus Cellulose und zur Hälfte aus anderen Glukanen zusammensetzen. Am auffälligsten sind die Unterschiede bei den Weizenprodukten. Die Werte nach SAEMAN-Hydrolyse sind um das fünffache höher, welches auf einen hohen Cellulosegehalt schließen läßt.

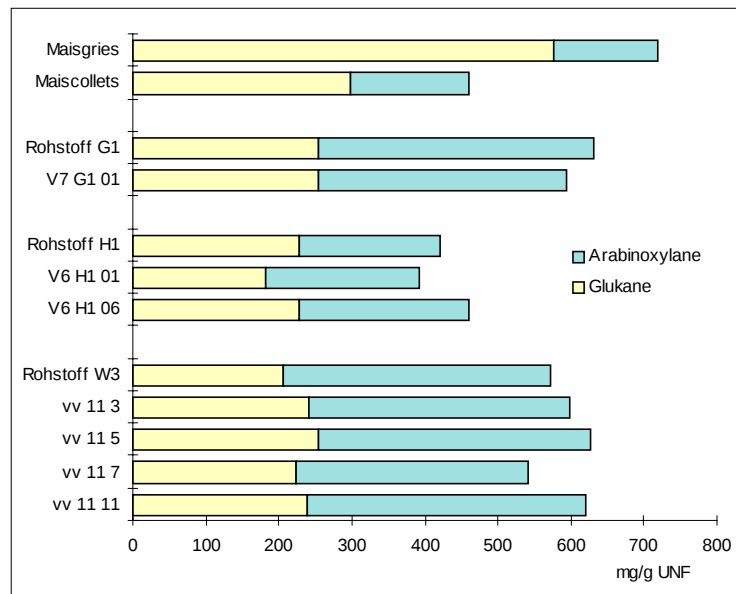


Abbildung 29: Polysaccharidgehalte in UNF der Getreide-Extrudate nach SAEMAN-Hydrolyse

Die generell niedrigeren Arabinoxylangehalte nach SAEMAN-Hydrolyse deuten auf eine Zerstörung der Zuckerbausteine während der Hydrolyse hin.

In den Weizenproben sind signifikante Unterschiede im Arabinoxylangehalt nur zwischen Rohstoff und Extrudat vv 11 7 feststellbar (siehe 8.5.4.2). Innerhalb der Extrudate ist der Arabinoxylangehalt in vv 11 7 (unvermahlen, niedrige SME) niedriger als im Extrudat vv 11 11 (unvermahlen, hohe SME).

Bei den Materialien aus Gerste und Mais ist kein Unterschied zwischen Rohware und Extrudat festzustellen. Beim Hafer unterscheidet sich nur das Extrudat V6 H1 06 im Arabinoxylangehalt signifikant vom Ausgangsmaterial.

Die Reduktive Depolymerisation lieferte für die Weizen-, Gersten- und Maisproben keine Änderungen in den molaren Verhältnissen der Monosaccharidbausteine, die auf eine Spaltung der Arabinoxylanmoleküle in kleinere Einheiten hindeuten.

Dagegen sind in den Haferextrudaten einige markante Änderungen zu verzeichnen. Der molare Anteil der unsubstituierten Xylosebausteine sinkt etwa um die Hälfte, der molare Anteil der terminalen Xylose steigt um das Dreifache und die molaren Anteile der mono- und disubstituierten Xylosebausteine nehmen ebenfalls zu. Diese Änderungen sind darauf zurückzuführen, daß Spaltungen in der Xylosehauptkette stattgefunden haben und Xylooligosaccharide solubilisiert wurden, so daß in der UNF Arabinoxylanmoleküle verblieben, die erstens aus kleineren Molekülen bestehen (Anstieg des Verhältnisses von t-Xyl : 4-Ac-Xylp) und zweitens über einen höheren Verzweigungsgrad verfügen (Anstieg der molaren Anteile der mono- und disubstituierten Xylosebausteine).

#### 4.3.3 Phenolische Carbonsäuren

Veresterte phenolische Carbonsäuren wurden mittels Alkalihydrolyse aus der UNF freigesetzt (siehe Kap. 3.2.1.1 und 8.3.2.3). Zur Abspaltung von ethergebundenen phenolischen Carbonsäuren wurde die alkalische Druckhydrolyse eingesetzt (siehe Kap. 3.2.1.2 und 8.3.2.4). Da hierbei sowohl Ester- als auch Etherbindungen gespalten werden, werden die ethergebundenen Phenolcarbonsäuren indirekt aus der Differenz der

beiden Hydrolysemethoden berechnet. Die Ergebnisse sind im Anhang 8.5.2.2 und 8.5.2.4 tabellarisch zusammengestellt.

Die Quantifizierung (monomere Phenolcarbonsäuren) bzw. semiquantitative Bestimmung (dimere Phenolcarbonsäuren) erfolgte mittels GC-FID (siehe Anhang 8.1.1). Zur Identifizierung der dimeren Phenolcarbonsäuren wurde die GC-MS und HPLC-DAD eingesetzt (siehe Anhang 8.1.2 und 8.1.3).

#### 4.3.3.1 Monomere Phenolcarbonsäuren

Wie bereits für die Rohstoffe beschrieben dominiert auch in den Getreideextrudaten FS als monomere Hydroxyzimtsäure. Die Gehalte sind je nach Getreideart sehr unterschiedlich und liegen zwischen 3 mg/g UNF (Hafer H1) und 15 mg/g UNF (Weizen W3). Aus Abbildung 30 ist ersichtlich, daß der Hauptteil der FS in veresterter Form vorliegt. Ethergebundene FS wurde nur vereinzelt nachgewiesen.

Im folgenden werden die Ergebnisse nach Getreidearten getrennt vorgestellt.

##### Weizen

Der Gehalt an estergebundener FS ist im Weizenrohstoff W3 und im Extrudat vv 11 3 am größten (14 - 15 mg/g UNF). In den anderen Extrudaten ist weniger FS an Arabinoxylane estergebunden. Die Gehalte sind um das zwei bis dreifache kleiner als im Ausgangsmaterial. Die Extrudate untereinander unterscheiden sich ebenfalls in ihrem Gehalt an estergebundener FS. Eine Ausnahme bilden die Extrudate vv 11 5 und vv 11 11, deren FS-Gehalte sich nicht unterscheiden.

Ethergebundene FS ist im Rohmaterial W3 sowie in den Extrudaten vv 11 3 und vv 11 11 nachweisbar. Hier sind die nach ADH ermittelten Gehalte signifikant größer als nach AH (siehe 8.5.4.3). Die Gehalte an ethergebundener FS betragen ca. 3 - 4,5 mg/g UNF.

Estergebundene pCS ist in den Weizenproben etwa in 50fach niedrigeren Mengen vorhanden als FS (1,6 - 2% des FS-Gehalts; 0,12 bis 0,28 mg/g UNF). Auch hier sind die Gehalte an estergebundener pCS in den Extrudaten mit Ausnahme von vv 11 3 geringer als im Rohmaterial W3.

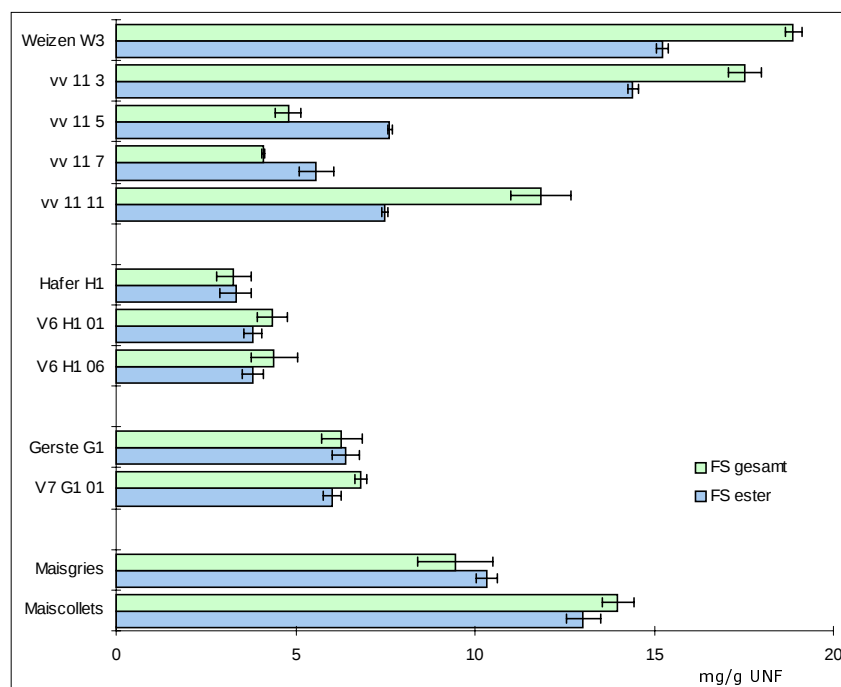


Abbildung 30: Ester- und gesamtgebundene FS in UNF der Getreide-Extrudate

Lediglich in vv 11 3 ist pCS in Etherbindung nachweisbar (50 µg/g UNF); nach ADH sind signifikant höhere Mengen bestimmt worden als nach AH. In vv 11 7 und vv 11 11 sind ebenfalls höhere pCS-Gehalte nach ADH als nach AH ermittelt worden (10-20 µg/g UNF); die Unterschiede sind jedoch nicht signifikant.

### **Hafer**

In den Haferproben sind ca. 3,5 mg FS pro g UNF estergebunden. Die Gehalte im Haferrohmaterial und den Extrudaten unterscheiden sich nicht. Nach alkalischer Druckhydrolyse wurden weder im Rohhafer noch in den Extrudaten höhere FS-Gehalte bestimmt als nach Alkalihydrolyse, so daß keine ethergebundene FS nachweisbar ist.

Estergebundene pCS ist im Hafer H1 mit 0,4 mg/g UNF enthalten. Die Gehalte in den Extrudaten liegen bei 0,6-07 mg/g UNF. Nach alkalischer Druckhydrolyse wurden geringere pCS-Gehalte ermittelt als nach Alkalihydrolyse (ca. 0,15 mg/g UNF); somit war keine ethergebundene pCS in den Haferproben nachweisbar.

### **Gerste**

Estergebundene FS ist in Gerste G1 und im Extrudat V7 G1 01 in Mengen von 6,5 bzw. 6,0 mg/g UNF enthalten. In ethergebundener Form ist FS nur im Extrudat nachweisbar; der Gehalt beträgt 0,6 mg/g UNF.

In beiden Proben ist pCS in sehr viel niedrigeren Mengen vorhanden als FS (ca. 0,15 mg/g UNF). Da die nach ADH ermittelten Gehalte niedriger waren als die nach AH, ist pCS in ethergebundener Form nicht nachweisbar.

### **Mais**

Der in Maiscollets bestimmte Gehalt an estergebundener FS (~13 mg/g UNF) ist signifikant höher als der im Maisgries (~10 mg/g UNF) (siehe 8.5.4.3). Ethergebundene FS konnte in keiner der Maisproben nachgewiesen werden.

Die pCS-Gehalte betragen nach beiden Analysenmethoden etwa 0,5 mg/g UNF. Es sind weder Unterschiede zwischen Rohstoff und Extrudat noch zwischen den Analysenmethoden feststellbar. Dieses bedeutet, daß die bestimmte pCS nur estergebunden vorliegt.

#### **4.3.3.2 Dimere Phenolcarbonsäuren**

Wie in den Getreide-Rohstoffen konnten auch in den extrudierten Produkten fünf Dehydrodimere der FS identifiziert werden. Es handelt sich um Diferulasäuren, die entweder über beide Phenylringe (5-5'), einen Phenylring und Alkenylrest (8-5', offene Form; 8-O-4') oder beide Alkenylresten (8-8', offene und aryltetraline Form) miteinander verknüpft sind.

### **Weizen**

#### **Estergebundene DFS**

Die Summe der estergebundenen DFS ist im Extrudat vv 11 7 mit 400 µg/g UNF am größten und in vv 11 5 mit 200 µg/g UNF am niedrigsten. Die DFS-Summe in den anderen Weizenproben liegt zwischen 240 und 320 µg/g UNF.

Die Verteilung der estergebundenen DFS im Rohstoff und den Extrudaten ist sehr ähnlich (siehe Abbildung 31). 5-5' DFS dominiert mit Ausnahme von vv 11 11 (hier 8-8'aryl DFS) in allen Weizenproben mit etwa 35%. Am zweithäufigsten kommt 8-8'aryl DFS mit durchschnittlich 25% vor. 8-5' DFS und 8-O-4' DFS tragen mit je ca. 20% zur Gesamtsumme bei. Der prozentuale Anteil von 8-8' DFS ist am geringsten (~ 5%).

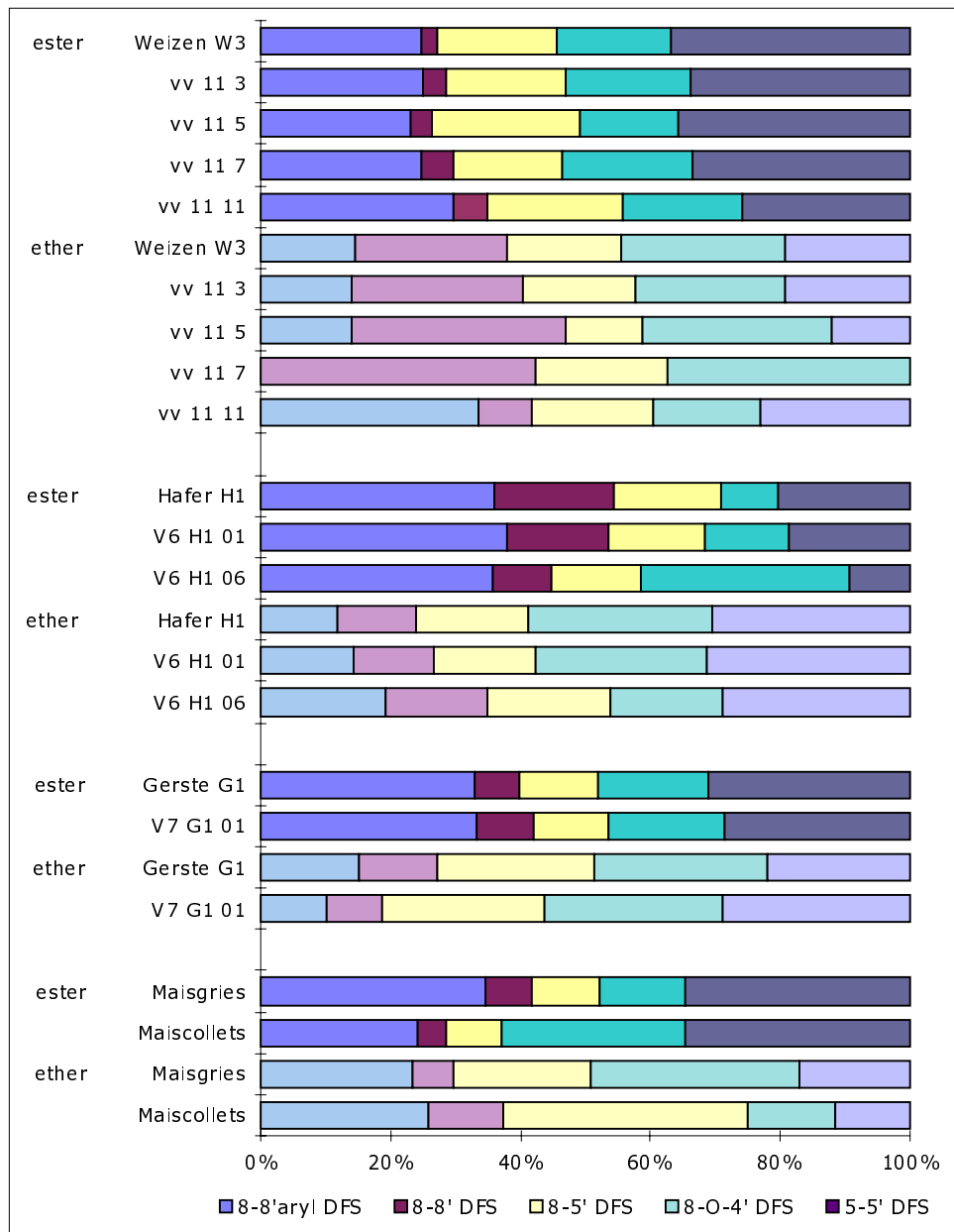


Abbildung 31: Prozentuale Verteilung der ester- bzw. ethergebundenen DFS in UNF der Getreide-Extrudate

### Ethergebundene DFS

8-8' DFS, 8-5' DFS und 8-O-4' DFS sind in allen Weizenproben in ethergebundener Form nachweisbar, da die nach ADH bestimmten Gehalte sich signifikant von denen nach AH unterscheiden. Dieses trifft für 8-8'aryl DFS und 5-5' DFS nur im Rohstoff W3 sowie den Extrudaten vv 11 3 und vv 11 11 zu. In vv 11 5 und vv 11 7 sind keine ethergebundenen 8-8'aryl DFS und 5-5' DFS nachweisbar.

Die Summe der ethergebundenen DFS beträgt im Rohstoff W3 und dem Extrudat vv 11 3 ca. 525 µg/g UNF. In vv 11 11 wurde die höchste DFS-Summe ermittelt (670 µg/g UNF) und in vv 11 5 bzw. vv 11 7 sind die DFS-Gehalte am niedrigsten (150 bzw. 80 µg/g UNF).

Die prozentuale Verteilung der DFS im Rohstoff W3 und dem Extrudat vv 11 3 ist fast identisch (siehe Abbildung 31). Die DFS sind ziemlich gleichmäßig verteilt; 8-8' DFS und 8-O-4' DFS haben einen Anteil von je etwa 25%, 8-5' DFS bzw. 5-5' DFS machen je etwa 20% aus und 8-8'aryl DFS hat mit ca. 15% den niedrigsten prozentualen Anteil.

In vv 11 11 dominiert 8-8'aryl DFS (34%) gefolgt von 5-5' DFS (23%). Die prozentualen Anteile von 8-5' DFS bzw. 8-O-4' DFS liegen bei 15 - 20%. 8-8' DFS hat den geringsten Anteil (< 10%). Da in den Extrudaten vv 11 5 und vv 11 7 keine ethergebundenen 8-8'aryl DFS und 5-5' DFS nachweisbar sind, ist die prozentuale Verteilung der übrigen drei DFS nicht mit den anderen Proben vergleichbar.

## **Hafer**

### ***Estergebundene DFS***

Die fünf verschiedenen Dehydrodimere sind in den Haferprodukten in sehr unterschiedlichen Mengen enthalten. Im Extrudat V6 H1 01 sind am meisten DFS enthalten (Summe ~265 µg/g UNF), während im Rohstoff H1 und dem Extrudat V6 H1 06 nur etwa die Hälfte dieser Menge vorkommt.

Auch in der prozentualen Verteilung zeigen sich Unterschiede (siehe Abbildung 31). Die DFS-Verteilung im Hafer H1 und V6 H1 01 ähnelt sich sehr, mit 8-8'aryl DFS als Hauptkomponente (~37%). Dagegen verschiebt sich in V6 H1 06 das Gewicht zur 8-O-4' DFS auf Kosten von 8-8' DFS und 5-5' DFS, deren Anteil um  $\frac{1}{3}$  sinkt. 8-5' DFS ist in allen Haferprodukten mit ca. 15% an der DFS-Summe beteiligt.

### ***Ethergebundene DFS***

In allen Haferprodukten wurden ethergebundene DFS nachgewiesen. Die nach ADH ermittelten Gehalte unterschieden sich signifikant von denen nach AH. In Hafer beträgt die Summe ethergebundener DFS 330 µg/g UNF und ist damit um das 1,5fache niedriger als in den Extrudaten (530 bzw. 580 µg/g UNF).

Bei der prozentualen Verteilung der DFS treten Ähnlichkeiten zwischen den Haferprodukten auf (siehe Abbildung 31). In allen drei Proben stellt 5-5' DFS mit ~30% den Hauptanteil. Während in Hafer H1 und V6 H1 01 8-O-4' DFS (~25%) als zweitstärkstes Dehydrodimer vorhanden ist, sinkt dessen Anteil in V6 H1 06 auf ~20%. Dafür steigt in V6 H1 06 der prozentuale Anteil der 8-8'aryl DFS auf 20%; in Hafer H1 und V6 H1 01 ist 8-8'aryl DFS mit ~15% vertreten. Die restlichen Dehydrodimere 8-8' DFS und 8-5' DFS sind in allen Produkten mit 15-20% an der Summe der ethergebundenen DFS beteiligt.

## **Gerste**

### ***Estergebundene DFS***

Insgesamt kommen estergebundene DFS in der Gerste G1 bzw. deren Extrudat V7 G1 01 in Mengen von 350-400 µg/g UNF vor. Die prozentualen Anteile der Dehydrodimere sind in Gerste G1 und deren Extrudat sehr ähnlich (siehe Abbildung 31). 8-8'aryl DFS und 5-5' DFS machen zusammen über 50% der estergebundenen DFS aus. 8-8' DFS und 8-5' DFS tragen mit jeweils etwa 10% zur Summe bei, 8-O-4' DFS mit ca. 20%.

### ***Ethergebundene DFS***

In beiden Gerstenprodukten wurden ethergebundene FS-Dehydrodimere nachgewiesen. Die DFS-Summe ist im Extrudat mit 580 µg/g UNF etwa um das 1,5fache höher als im Rohstoff G1 (360 µg/g UNF). Die prozentuale Verteilung dagegen ähnelt sich sehr (siehe Abbildung 31). In beiden Gerstenprodukten sind 8-5' DFS, 8-O-4' DFS und 5-5' DFS in fast gleich großen Anteilen vorhanden (25-30%) und machen zusammen über 80% der ethergebundenen DFS aus. 8-8'aryl DFS und 8-8' DFS kommen mit je etwa 10% vor.

## **Mais**

### ***Estergebundene DFS***

Die fünf verschiedenen FS-Dehydrodimeren sind im Maisgries in einer Menge von 250 µg/g UNF vorhanden. Im Extrudat, den Maiscollets, wurde eine um das 3,5fache höhere Menge bestimmt (800 µg/g UNF). Im Maisgries sind 8-8'aryl DFS und 5-5' DFS in gleichen Anteilen (je 35%) vorhanden. Der prozentuale Anteil von 8-8' DFS ist am niedrigsten (< 10%); 8-5' DFS und 8-O-4' DFS sind mit je etwa 12% an der Summe der ester gebundenen DFS beteiligt. Im Maisgries liegt eine andere Verteilung vor (siehe Abbildung 31). 5-5' DFS dominiert mit 35%, gefolgt von 8-O-4' DFS (28%) und 8-8'aryl DFS (24%). Während diese drei Dehydrodimere zusammen über 85% der DFS-Summe bilden, machen 8-8' DFS und 8-5' DFS weniger als 15% aus.

### ***Ethergebundene DFS***

Ethergebundene DFS sind im Maisgries mehr vorhanden (~400 µg/g UNF) als in den Maiscollets (~300 µg/g UNF). Die prozentuale DFS-Verteilung unterscheidet sich ebenfalls sehr stark (siehe Abbildung 31). Während im Maisgries 8-O-4' DFS dominiert (32%), ist es in den Maiscollets 8-5' DFS (37%). Im Maisgries machen 8-8'aryl DFS, 8-5' DFS und 5-5' DFS jeweils etwa 20% der DFS-Summe aus, 8-8' DFS ist mit etwa 5% vertreten. In den Maiscollets bildet 8-8'aryl DFS den zweitstärksten prozentualen Anteil (~25%). 8-8' DFS, 8-O-4' DFS und 5-5' DFS sind ungefähr mit gleichen prozentualen Anteilen vertreten, die um 12% liegen.

#### **4.3.3.3 Sonstige dimere Verbindungen**

In allen Weizen-, Gerste- und Haferextrudaten sowie den Ausgangsmaterialien wurde ein FF-Dimer vom ht-Typ (FF-ht-9) in ester gebundener Form identifiziert (ca. 5-40 µg/g UNF). In Mais war dieses FF-Dimer nur nach alkalischer Druckhydrolyse nachweisbar. Darüberhinaus waren in einigen Proben bis zu zwei weitere FF-Dimere (FF-hh-8, FF-hh-4) in Spuren nachweisbar.

Ether gebundenes FF-ht-9 wurde im Weizen-Rohstoff und dem Extrudat vv 11 11 sowie in Maisgries und -collets nachgewiesen. Die abgeschätzten Gehalte lagen zwischen 2 und 20 µg/g UNF. In den anderen Rohstoffen und Extrudaten waren die Gehalte nach alkalischer Druckhydrolyse nicht höher als nach Alkalihydrolyse.

Des weiteren wurden nach Alkalihydrolyse in allen Produkten FS-Coniferylalkohol-Ether identifiziert.

## **4.4 Haferprodukte**

### **4.4.1 Nahrungsfasergehalte**

Die Nahrungsfasergehalte der Haferprodukte sind der Tabelle im Anhang 8.5.1 zu entnehmen.

Die Gesamtnahrungsfaser des Rohhafers beträgt 105 mg/g TM; davon sind 38% löslich und 62% unlöslich. Während der Produktionsstufen verändern sich diese Verhältnisse nur geringfügig. Auffällig ist lediglich die 30%ige Zunahme der LNF im Extrudat der Haferflocken im Vergleich zu den reinen Haferflocken.

Betrachtet man die absoluten Werte, so sind betreffend der LNF bei der Haferkleie und dem Haferkleie-Extrudat hochsignifikant höhere LNF-Gehalte im Vergleich zum Rohhafer

festzustellen. Die extrudierten Produkte unterscheiden sich von den direkten Ausgangsmaterialien, also Haferflocken bzw. Haferkleie, nicht in ihrem LNF-Gehalt. In Darre, Haferflocken und dem Haferflocken-Extrudat sind im Vergleich zum Rohhafer niedrigere UNF-Gehalte bestimmt worden, die jedoch statistisch nicht signifikant sind (siehe 8.5.4.1). Dagegen sind in Haferkleie und deren Extrudat aufgrund der Anreicherung äußerer Randschichten des Haferkorns die UNF-Gehalte hochsignifikant höher. Jedoch sind zwischen den Extrudaten und ihren direkten Ausgangsprodukten keine Unterschiede im Gehalt der UNF feststellbar.

#### 4.4.2 Kohlenhydratzusammensetzung

Die Ergebnisse der SAEMAN-Hydrolyse (siehe Kap. 3.2.2.1 und 8.3.3.2), Methanolyse (siehe Kap. 3.2.2.2 und 8.3.3.1) und der reduktiven Depolymerisation (siehe Kap. 3.2.2.3 und 8.3.3.3) sind im Anhang 8.5.3.3 aufgeführt.

Die Werte aus der SAEMAN-Hydrolyse sind etwa nur  $\frac{1}{2}$  bis  $\frac{1}{3}$  so groß wie die der Methanolyse. Dementsprechend niedriger fallen die Polysaccharidgehalte aus, wobei die Xylangehalte nach beiden Methoden ungefähr  $\frac{2}{3}$  des NSP-Gehalts ausmachen.

Nach SAEMAN-Hydrolyse betragen die Polysaccharidgehalte in allen Haferprodukten etwa 280 mg/g UNF, davon ca. 70% Arabinoxylane und ca. 30% Glukane. Die Arabinoxylane bestehen zu 40% aus Arabinose und 60% Xylose.

Aufgrund der Verarbeitung ist in der Darre und den Haferflocken ein leichter Anstieg im Arabinoxylangehalt gegenüber dem Rohhafer feststellbar. Der Arabinoxylangehalt der Haferkleie entspricht dem des Rohhafers.

Im Haferflockenextrudat ist im Vergleich zu den Haferflocken ein niedrigerer Arabinose- und Xylosegehalt festzustellen, welches insgesamt in einem niedrigeren Arabinoxylangehalt resultiert. Im Haferkleieextrudat ist der Arabinoxylangehalt gegenüber der Haferkleie leicht erhöht. Die beobachteten Veränderungen sind statistisch gesehen nicht signifikant (siehe 8.5.4.2).

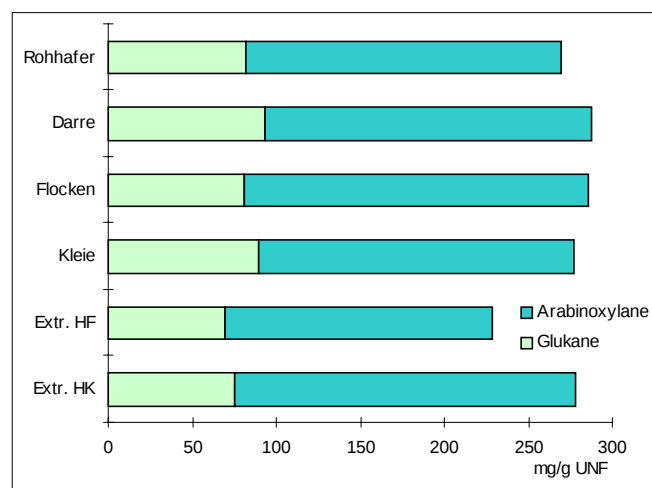


Abbildung 32: Polysaccharidgehalte in UNF der Haferprodukte nach SAEMAN-Hydrolyse

Die Ergebnisse der Methylierungsanalyse zeigen, daß in allen Haferprodukten im Vergleich zum Rohhafer die molaren Anteile terminaler Xylose zunehmen und im Gegenzug der molare Anteil unsubstituierter Xylosebausteine aus der Xylosehauptkette abnimmt. Dieses kann nur auf eine Abnahme der Kettenlänge der Xylanmoleküle zurückzuführen sein, d.h. in den Verarbeitungsprodukten (Haferflocken, Haferkleie und deren Extrudate) hat eine Spaltung der Arabinoxylane stattgefunden.

#### 4.4.3 Phenolische Carbonsäuren

Veresterte phenolische Carbonsäuren wurden mittels Alkalihydrolyse aus der UNF freigesetzt (siehe Kap. 3.2.1.1 und 8.3.2.3). Zur Abspaltung von ethergebundenen phenolischen Carbonsäuren wurde die alkalische Druckhydrolyse eingesetzt (siehe Kap. 3.2.1.2 und 8.3.2.4). Da hierbei sowohl Ester- als auch Etherbindungen gespalten werden, werden die ethergebundenen Phenolcarbonsäuren indirekt aus der Differenz der beiden Hydrolysemethoden berechnet. Die Ergebnisse sind im Anhang 8.5.2.3 und 8.5.2.4 tabellarisch zusammengestellt.

Die Quantifizierung bzw. semiquantitative Bestimmung (dimere Phenolcarbonsäuren) erfolgte mittels GC-FID (siehe Anhang 8.1.1). Zur Identifizierung der Dimeren wurde die GC-MS und HPLC-DAD eingesetzt (siehe Anhang 8.1.2 und 8.1.3).

##### 4.4.3.1 Monomere Phenolcarbonsäuren

In allen Haferprodukten ist FS die dominierende Hydroxyzimtsäure. pCS wird ebenfalls nachgewiesen, jedoch in Konzentrationen, die um 1/20 bis 1/100 darunter liegen.

In Rohhafer, Darre, Haferflocken und Kleie beträgt der Anteil estergebundener FS etwa  $\frac{1}{3}$  bis  $\frac{1}{2}$  der insgesamt gebundenen FS (siehe Abbildung 33). Die Gehalte estergebundener FS liegen in Rohhafer, Darre, Haferflocken und -kleie bei 2,5-2,9 mg/g UNF. In Rohhafer ist der höchste Gehalt ester- und ethergebundener FS zu verzeichnen (8,6 mg/g UNF); in Haferflocken und -kleie sind nur noch gut  $\frac{1}{3}$  dieser Menge vorhanden. In der UNF der Extrudate sind 3,1-3,5 mg FS/g UNF estergebunden und 5,4-7,2 mg FS/g UNF liegen insgesamt in Ester- und Etherbindungen vor.

Estergebundene pCS wurde in der UNF in den Haferprodukten in Mengen von 30 µg/g UNF (EHK) bis 140 µg/g UNF (Haferflocken) bestimmt. Der Gehalt an ester- und ethergebundener pCS betrug 150 bis 240 µg/g UNF.

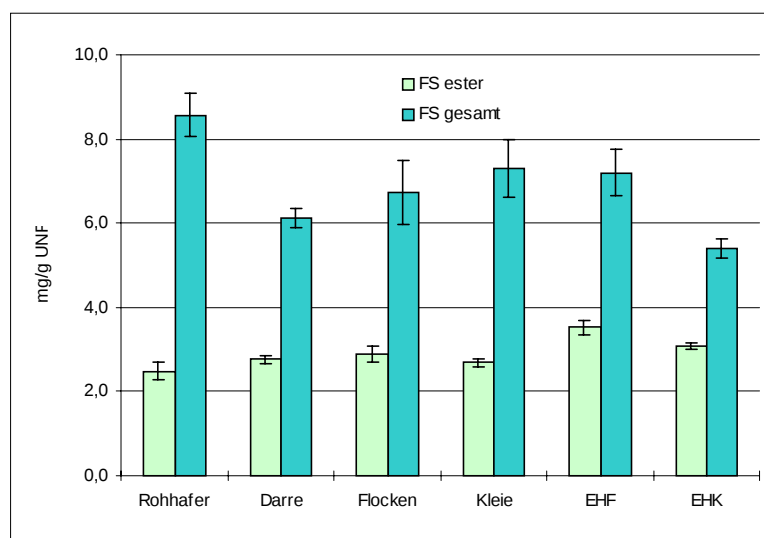


Abbildung 33: Gehalte an ester- und gesamtgebundener FS in UNF der Haferprodukte

Diese Ergebnisse zeigen, daß in Rohhafer, Darre, Haferflocken und -kleie sowie den Extrudaten gesamtgebundene FS in hochsignifikant höheren Gehalten (siehe 8.5.4.3) vorliegt als estergebundene FS (Faktor 2-3) und somit ein Teil der FS ethergebunden vorkommt. Die Gehalte an ethergebundener FS in den Haferprodukten betragen etwa 2-6 mg/g UNF. Außer in Haferflocken und Haferkleie wurden auch für gesamtgebundene pCS hochsignifikant höhere Gehalte bestimmt. Für ethergebundene pCS wurden Gehalte von 60 - 120 µg/g UNF berechnet.

#### 4.4.3.2 Dimere Phenolcarbonsäuren

Wie in den anderen Getreidearten konnten auch in den Haferprodukten fünf Dehydrodimere der FS identifiziert werden. Es handelt sich um Diferulasäuren, die entweder über beide Phenylringe (5-5'), einen Phenylring und Alkenylrest (8-5', offene Form; 8-O-4') oder beide Alkenylreste (8-8', offene und aryltetraline Form) miteinander verknüpft sind.

In allen Haferprodukten wurden höhere Summen an ester- und ethergebundenen DFS bestimmt als nur estergebundene DFS.

##### ***Estergebundene DFS***

Die Summe an estergebundenen DFS beträgt in Rohhafer, Darre, Haferkleie sowie Haferkleie-Extrudat etwa 400 bis 600 µg/g UNF; in den Haferflocken und dessen Extrudat ist dieser Gehalt mit über 600 µg/g UNF am größten.

Der prozentuale Anteil der estergebundenen DFS am Gesamtgehalt der DFS ist sehr unterschiedlich. Im Rohhafer beträgt er ca. 40%, sinkt in der Darre auf etwa 30%, beträgt in den Haferflocken und -kleie etwa 20% und in den Extrudaten etwa 10-15%.

Betrachtet man nicht die Summe der DFS sondern die Verteilung der einzelnen Dehydrodimere so ergibt sich folgendes (siehe Abbildung 34):

In allen Haferprodukten ist das 8-8'-Dehydrodimer der FS in der aryltetralinen Form (8-8'aryl DFS) am häufigsten vertreten. Die prozentualen Anteile des in Esterbindung vorliegenden 8-8'aryl DFS betragen etwa 30%. Die abgeschätzten Gehalte liegen zwischen 130 µg/g UNF (EHK) und 215 µg/g UNF (Haferflocken). Das 8-O-4' verknüpfte Dehydrodimer tritt am zweithäufigsten auf. Die prozentualen Anteile liegen bei 20%. In Haferflocken und dessen Extrudat kommt die offene Form des 8-5' Dehydrodimers etwa in gleichen prozentualen Anteilen vor wie 8-O-4' DFS. Entsprechendes trifft für das 5-5' verknüpfte Dehydrodimer in den Extrudaten der Haferflocken und -kleie zu. In den anderen Haferprodukten machen 8-5' DFS und 5-5' DFS etwa je 15% der DFS-Summe aus. 8-8' DFS ist in Haferflocken und -kleie sowie deren Extrudaten am geringsten vertreten (ca. 10%). In Rohhafer und Darre kommt 8-8' DFS etwa in gleichen Größenordnungen vor wie 5-5' DFS (ca. 15%).

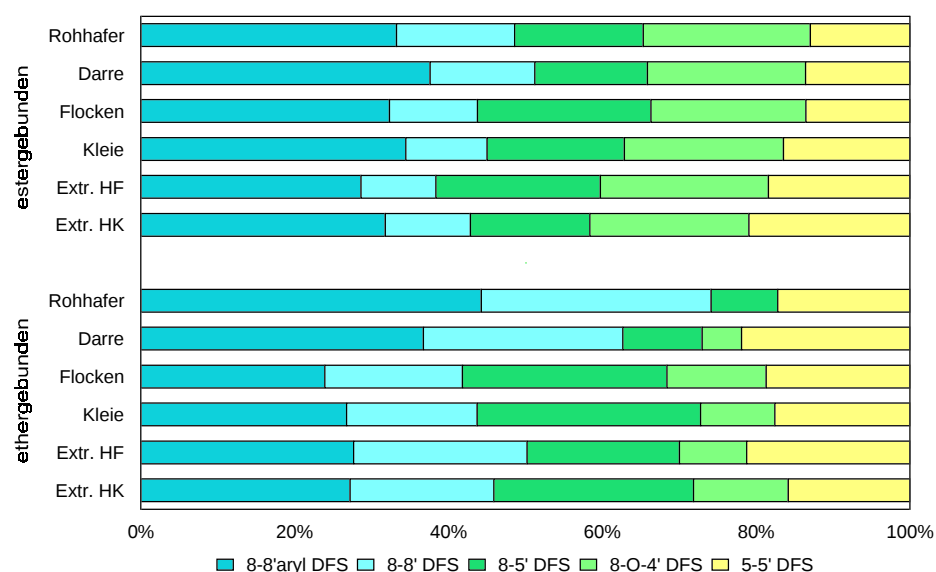


Abbildung 34: Prozentuale Verteilung der ester- bzw. ethergebundenen DFS in UNF der Haferprodukte

### ***Ethergebundene DFS***

Die fünf FS-Dehydrodimeren wurden auch nach alkalischer Druckhydrolyse in den Haferprodukten nachgewiesen.

Die Summe der DFS-Gehalte nach ADH liegt je nach Probe zwischen ca. 1 mg/g UNF (Rohhafer, Darre) und etwa 4 mg/g UNF (EHF). Die Werte der ADH unterschieden sich größtenteils signifikant bzw. hochsignifikant von denen der AH (Ausnahme 8-O-4' DFS in Rohhafer und Darre), so daß das Vorkommen von DFS in Etherbindungen als gesichert gelten kann.

In den Extrudaten sind in Summe etwa dreimal so viele DFS in ethergebundener Form vorhanden (etwa 3000 µg/g UNF) wie im Rohhafer oder der Darre (ca. 1000 µg/g UNF). In Haferflocken bzw. -kleie ist die Summe der ethergebundenen DFS (ca. 2500 µg/g UNF) etwa doppelt so hoch wie im Rohhafer oder der Darre.

Die prozentuale Verteilung der berechneten ethergebundenen DFS ist in Abbildung 34 dargestellt. In Rohhafer und Darre dominiert 8-8'aryl DFS mit 40-45%, gefolgt von 8-8' DFS und 5-5' DFS (20 - 30%). 8-5' DFS ist in Rohhafer und Darre nur zu 10% an der Summe der ethergebundenen DFS beteiligt; 8-O-4' DFS ist im Rohhafer nicht in Etherbindung nachweisbar und in der Darre zu etwa 5% vorhanden.

Haferflocken und Haferkleie sowie deren Extrudate weisen eine ähnliche Verteilung der ethergebundenen DFS auf. 8-8'aryl DFS und 8-5' DFS sind die dominierenden ethergebundenen DFS mit Anteilen von 25-30%. Am zweithäufigsten treten 8-8' DFS und 5-5' DFS auf, deren prozentuale Anteile zwischen 16 und 23% liegen. 8-O-4' DFS kommt zu etwa 10% vor.

#### **4.4.3.3 Sonstige dimere Verbindungen**

Außer den FS-Dehydrodimeren wurde als dominierende Diphenyldihydroxyzimtsäure ein FF-Cyclobutandimer vom Truxillsäure-Typ identifiziert (FF-ht-9). Der in Esterbindung vorliegende Gehalt wurde mit 5-10 µg/g UNF abgeschätzt. Gesamtgebundenes FF-Dimer war in Mengen von etwa 65 µg/g UNF (Rohhafer) bis 140 µg/g UNF (Haferkleie, EHK) vorhanden. Damit liegen 90-95% des insgesamt vorhandenen FF-ht-9 in ethergebundener Form vor.

Des weiteren wurden zwei Isomere eines Ethers aus FS und Coniferylalkohol in Mengen von etwa 150 µg/g UNF identifiziert (FE I und II).

## 5 Diskussion

### 5.1 Unterschiede in den Phenolcarbonsäuregehalten der Getreide unter Berücksichtigung der Bindungsform (ester- und/oder ethergebunden)

Im folgenden werden zunächst die ermittelten Phenolcarbonsäure-Gehalte in den Getreide-Rohmaterialien Literaturdaten gegenübergestellt. Die Bedeutung der dimeren Phenolcarbonsäuren im Hinblick auf ihre Rolle als Cross-links in der UNF soll anhand der Verhältnisse von monomeren zu dimeren Phenolcarbonsäuren getrennt nach estergebundener und ethergebundener Form verdeutlicht und Unterschiede in den Getreidearten aufgezeigt werden. Der Vernetzungsgrad der Biopolymeren in der UNF läßt sich anhand der Verhältnisse von dimeren Phenolcarbonsäuren zu Arabinoseresten der Arabinoxylane verdeutlichen.

*Tabelle 9: Literaturdaten zum Gehalt gebundener FS in verschiedenen Getreidearten*

| Pflanzenteil                | Gehalt                        | Literatur                   |
|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| <u>estergebundene FS</u>    |                               |                             |
| <i>Getreidekorn</i>         |                               |                             |
| Weizenkleie                 | 4,8 mg/g Zellwand             | RING & SELVENDRAN (1980)    |
| Weizenvollkorn              | 63,6 mg/g Gesamtmehl          | SOSULSKI et al. (1982)      |
| Weizenkorn                  | 238 - 392 µg/g TM             | MCCALLUM & WALKER (1991)    |
| Weizenkleie                 | 1,96 mg/g                     | RYBKA et al. (1993)         |
| Weizenkleie                 | 5,33 mg/g                     | KROON et al. (1996)         |
| Durumweizen                 | 0,78 - 1,98 mg/g TM           | LEMPEREUR et al. (1997)     |
| Gerstenkorn                 | 343 - 580 µg/g Korn           | ZUPFER et al. (1998)        |
| Haferkorn                   | 63,7 mg/g Gesamtmehl          | SOSULSKI et al. (1982)      |
| Maiskorn                    | 258,6 mg/g Gesamtmehl         | SOSULSKI et al. (1982)      |
| Langkornreis, braun         | 75,1 mg/g Gesamtmehl          | SOSULSKI et al. (1982)      |
| Reis-Endospermzellwände     | 9,1 mg/g                      | SHIBUYA (1984)              |
| <i>andere Pflanzenteile</i> |                               |                             |
| Weizen-Internodien          | ca. 5 mg/g                    | IYAMA et al. (1990)         |
| Weizen-Internodien          | 2,4 - 5,0 mg/g                | PROVAN et al. (1994)        |
| Weizenstroh-Zellwände       | 1,83 mg/g                     | WALDRON et al. (1996)       |
| Gerstenmahlfractionen       | ca. 5 mg/g                    | NORDKVIST et al. (1984)     |
| Gerstenstengel              | 2,91 mg/g NDF                 | TURNER et al. (1993)        |
| Gerstenblätter              | 2,86 mg/g NDF                 | TURNER et al. (1993)        |
| Haferinternodien            | 9,7 - 42,7 mg/g Hemicellulose | MIYAMOTO et al. (1994)      |
| Maimesocotyl                | 0,12 mg/g Frischgewicht       | HAGERMAN & NICHOLSON (1982) |
| Maissproß                   | 4 - 8 mg/g                    | OHASHI et al. (1987)        |
| Wurzel von <i>Zea mays</i>  | 0,9 - 1,1 mg/g Zellwand       | LOCHER et al. (1994)        |
| Mais-Zellsuspension         | 14,6 mg/g                     | GRABBER et al. (1995)       |
| Maisstroh                   | 4,9 mg/g                      | CHEN et al. (1996)          |
| Hirsestengel                | 3,4 - 7,1 mg/g                | HARTLEY et al. (1992)       |
| Hirsekörner                 | 0,4 mg/g                      | VERBRUGGEN et al. (1993)    |
| <u>ethergebundene FS</u>    |                               |                             |
| Weizenstroh                 | 1,44 - 5,29 g/kg              | PROVAN et al. (1994)        |
| Gerstenstroh                | 4,46 - 5,58 g/kg              | PROVAN et al. (1994)        |
| Maisstroh                   | 3,24 - 4,78 g/kg              | PROVAN et al. (1994)        |
| Maisstengel                 | 5 g/kg                        | OSTRANDER et al. (1999)     |

### 5.1.1 Gehalte an monomeren phenolischen Carbonsäuren

Mit einem Gesamtferulasäuregehalt von 18,8 mg/g UNF ist in Weizenkleie weitaus am meisten FS gebunden. Außerdem ist in Weizenkleie als einzigem Getreide FS in ethergebundener Form (20% der Gesamt-NF) nachweisbar. Ähnlich hohe Gehalte an estergebundener FS wie in Weizenkleie werden nur in Hirse erreicht. Als Getreide mit dem drittgrößten FS-Gehalt folgt Mais (10,3 mg/g UNF). Roggen und Gerste beinhalten etwa 1/3 der FS-Menge in Weizen oder Hirse (7,2 bzw. 6,4 mg/g UNF). Die Getreidearten mit den geringsten FS-Gehalten stellen Hafer (3,3 mg/g UNF) und Reis (3,0 mg/g UNF) dar.

Eine Vergleichbarkeit der quantitativ bestimmten Werte mit Literaturdaten ist nur sehr eingeschränkt möglich, da entweder andere Gewebeteile der Pflanzen oder andere Aufbereitungsverfahren zur Gewinnung des Untersuchungsmaterials angewandt wurden. Die daraus resultierende Vielfalt der Ergebnisse wird auch aus Tabelle 9 deutlich, in der einige Literaturdaten zum Gehalt gebundener FS in verschiedenen Getreidearten zusammengestellt sind. Des weiteren liegen zwar eine ganze Reihe Untersuchungen zum Gehalt estergebundener FS vor, jedoch nur vereinzelte Daten zum Gehalt ethergebundener FS. In der vorliegenden Arbeit wurden deshalb erstmalig in unlöslicher Getreidenahrungsfaser Analysen zum Gehalt ethergebundener FS durchgeführt.

### 5.1.2 Gehalte an dimeren phenolischen Carbonsäuren

#### 5.1.2.1 Dehydrodimere der Ferulasäure

Den höchsten Dehydrodimerengehalt sowohl in ester- als auch ethergebundener Form weist die UNF von Hirse auf. Damit liegt ihr DFS-Gesamtgehalt um das 3 - 12fache über dem der anderen Getreidearten. In Reis wurde der niedrigste Gehalt an Dehydrodimeren der FS bestimmt, welche nur in ethergebundener Form nachgewiesen wurden (siehe Abbildung 35).

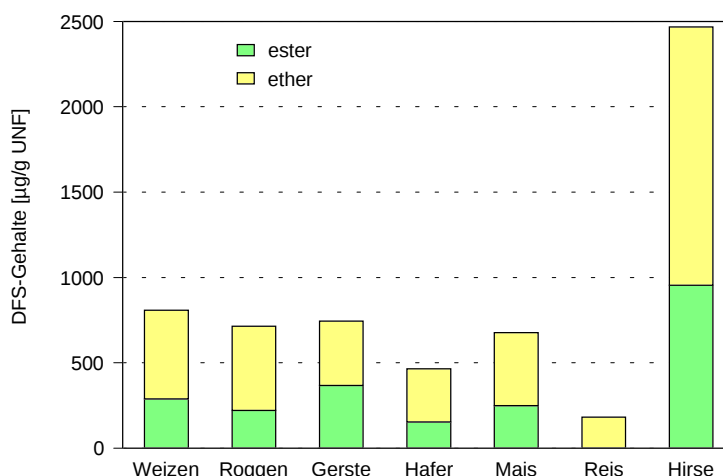


Abbildung 35: Summe der ester- bzw. ethergebundenen DFS in UNF verschiedener Getreide-Rohmaterialien

Bezüglich des Verhältnisses von ester- zu ethergebundener DFS lassen sich die untersuchten Getreide in drei Gruppen einteilen. In Weizen, Mais und Hirse liegt das Verhältnis bei 1 : 1.6-1.8, in Roggen und Hafer ist es zugunsten der ethergebundenen DFS verschoben und liegt bei 1 : 2.0-2.2. In Gerste sind ester- und ethergebundene DFS in etwa gleichen Anteilen vorhanden.

In den Getreideproben lagen die semiquantitativ bestimmten Gehalte der estergebundenen DFS (in Summe) zwischen 150 und 950 µg/g UNF. Dieses ist deutlich niedriger als die in der Literatur zitierten Werte (siehe Tabelle 10). Aber auch der Vergleich der Literaturdaten zeigt, daß die Gehalte in Sproß oder Stengel, also Geweben mit Stützfunktion, höher ausfallen als im Getreidekorn (Maiszellsuspension: ca. 7500 µg/g; Maiskleie: ca. 1000 µg/g).

Wie bereits ausgeführt, gestaltet sich der Vergleich mit Literaturdaten schwierig. Einerseits wurden andere Pflanzenarten oder -teile untersucht andererseits unterscheidet sich die Gewinnung des Pflanzenmaterials von der eigenen. Hinzukommt, daß größtenteils nur estergebundene DFS bestimmt wurden und Daten über ethergebundene DFS nur vereinzelt vorliegen (LAM et al., 1992; GRABBER et al., 1995). Ethergebundene DFS wurden in Weizeninternodien in 10-20fach höheren Konzentrationen als estergebundene DFS bestimmt (LAM et al., 1992). Dieses wurde als Hinweis darauf interpretiert, daß DFS an Lignin in Etherform gebunden sind. Als Mechanismus wurde eine Reaktion mittels Quinonmethid-Intermediaten vorgeschlagen, welcher zu Benzylarylethern in der  $\alpha$ -Form führt (SCALBERT et al., 1986; LAM et al., 1992). Jedoch zeigten andere Forschungsergebnisse, daß dieses nicht der bevorzugte Mechanismus ist. Vielmehr reagieren die Ferulate in einem radikalischen Prozess (ähnlich dem bei der Dehydrodimerbildung) mit Lignineinheiten wie Coniferylalkohol zu einer Vielzahl von  $\beta$ -Ethern (RALPH et al., 1992; QUIDEAU & RALPH et al., 1997; HATFIELD et al., 1999). Aus diesen Strukturen ist mit den herkömmlichen solvolytischen Methoden nur ein Bruchteil der Ferulate isolierbar. In Modellversuchen wurden nach alkalischer Druckhydrolyse (Spaltung von Etherbindungen) nur 40% der in Lignin inkorporierten Ferulate wiedergefunden (GRABBER et al., 1995).

Der Grad der Quervernetzung in den verschiedenen UNF ist sicherlich vom absoluten Dimerengehalt abhängig, aber welche Bedeutung die Dimeren als Cross-links in der jeweiligen UNF haben, kann anhand des molaren Verhältnisses FS/DFS (Monomer/Dimer) abgelesen werden.

Wie in Tabelle 11 zu sehen, unterscheiden sich die molaren Verhältnisse zwischen den Getreidearten stark. Weizen weist zwar den zweithöchsten Gehalt an estergebundener FS auf, aber der Dimerisierungsgrad ist von allen untersuchten Getreiden sowohl für die ester- als auch die gesamtgebundenen Ferulate am niedrigsten. Dagegen ist in Gerste der DFS-Gehalt (ester) höher als im Weizen, obwohl der FS-Gehalt um etwa 1/3 niedriger ist. Dieses wird auch in den molaren FS-/DFS-Verhältnissen sichtbar, die für Gerste um den Faktor 2-3 kleiner sind als für Weizen. Damit bestätigen sich Ergebnisse von BARTOLOMÉ et al. (1997), welche ebenfalls in Gerste einen etwa doppelt so hohen Dimerisierungsgrad feststellten wie in Weizenkleie, obwohl die höheren absoluten Dimerengehalte in der Weizenkleie bestimmt wurden.

Nach den eigenen Untersuchungen sind Weizen und Reis Getreide mit relativ niedrigem Dimerisierungsgrad. Im Vergleich dazu ist der Dimerisierungsgrad in Hafer, Gerste und Hirse etwa doppelt so groß (die molaren FS/DFS-Verhältnisse sind entsprechend klein).

Die Bedeutung von gebundenen DFS als Cross-links zu Lignin und/oder Polysacchariden ist also in Gerste, Hafer und Hirse am größten.

### 5.1.2.2 Cyclobutandimere der Ferulasäure

Die Abstufungen in den FF-Gehalten entsprechen etwa denen bei den estergebundenen DFS. In Hirse sind etwa 5-15mal soviel FF-Dimere enthalten wie in den anderen Getreidearten (siehe Tabelle 11). Deren FF-Gehalte liegen zwischen 20 und 50 µg/g UNF. Die wesentlich niedrigeren FF-Gehalte als DFS-Gehalte resultieren in FS/FF(ester)-Verhältnissen, die etwa zehnmal höher sind als die FS/DFS(ester)-Verhältnisse. Damit tragen FF-Dimere in viel geringerem Maße zur Vernetzung von Polysacchariden bei als die Dehydrodimeren.

Tabelle 10: Literaturdaten zum Gehalt von DFS in verschiedenen Pflanzen und Pflanzenteilen

| Literatur           | RALPH et al. (1994)  |                        |                        |                          |                      | GRABBER et al. (1995) | WALDRON et al. (1996) |
|---------------------|----------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Material            | Cocksfoot Parenchyma | Cocksfoot Sclerenchyma | Switchgrass Parenchyma | Switchgrass Sclerenchyma | Mais-Zell-suspension | Mais-Zell-suspension  | chin. Wasserkastanie  |
| <i>Dehydrodimer</i> | µg/g CWM             |                        |                        |                          |                      | mg/g                  | µg/g CWM              |
| 8-5'benzo DFS       | 1460                 | 640                    | 3180                   | 800                      | 870                  | Σ 1,22                | -                     |
| 8-5' DFS            | 510                  | 690                    | 860                    | 680                      | 350                  |                       | 910                   |
| 5-5' DFS            | 530                  | 300                    | 1370                   | 290                      | 410                  | 0,45                  | 988                   |
| 8-O-4' DFS          | 1520                 | 1540                   | 4230                   | 1430                     | 540                  | 0,34                  | 2866                  |
| 8-8' DFS            | 460                  | 680                    | 1340                   | 220                      | 100                  | Σ 0,57                | -                     |
| 8-8'aryl DFS        | 650                  | 670                    | 1680                   | 1030                     | 470                  |                       | -                     |

| Literatur           | BARTOLOMÉ et al. (1997)   | MICARD et al. (1997) | OOSTERVELD et al. (1997) | WALDRON et al. (1997)   | NG et al. (1997) | PARR et al. (1997) | SAULNIER & THIBAUT (1999) |
|---------------------|---------------------------|----------------------|--------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|---------------------------|
| Material            | Weizenkleie / Gerstenkorn | Zuckerrüben-pulpe    | Zuckerrüben-pulpe        | Zuckerrübe / Rote Beete | Maiskleie        | Karotten           | Maiskleie                 |
| <i>Dehydrodimer</i> | µmol/g                    | % (w/w)              | mg/g                     | µg/g                    | µg/g             | µg/g               | % (w/w)                   |
| 8-5'benzo DFS       | 0,96 / 0,86               | 38                   |                          | 415 / 285               | 346              | -                  | Σ 31                      |
| 8-5' DFS            | 0,66 / 0,40               | 10                   | 0,30                     | 111 / 45,9              | -                | -                  |                           |
| 5-5' DFS            | 0,74 / 0,42               | 9                    | 0,23                     | 138 / 90                | 389              | -                  | 23                        |
| 8-O-4' DFS          | 2,28 / 1,84               | 31                   | 0,53                     | 594 / 342               | 331              | -                  | 35                        |
| 8-8' DFS            | - / -                     | 4                    | -                        | 13,7 / 27,5             | -                | 11,2               | Σ 11                      |
| 8-8'aryl DFS        | tr / tr                   | 8                    | 0,38                     | 31,5 / 28,8             | -                | -                  |                           |

\* CWM: cell wall material

Tabelle 11: Molare Monomer/Dimer-Verhältnisse und Monomer- bzw. Dimeren-Gehalte in UNF der Getreide-Rohmaterialien

|        | FS/DFS ester | FS/DFS gesamt | FS/FF ester | FS ester [µg/g UNF] | DFS ester [µg/g UNF] | DFS gesamt [µg/g UNF] | FF ester [µg/g UNF] |
|--------|--------------|---------------|-------------|---------------------|----------------------|-----------------------|---------------------|
| Weizen | 105          | 47            | 1306        | 15224               | 288                  | 808                   | 27                  |
| Roggen | 64           | 26            | 550         | 7183                | 222                  | 713                   | 32                  |
| Gerste | 35           | 17            | 402         | 6401                | 367                  | 744                   | 51                  |
| Hafer  | 43           | 14            | 718         | 3328                | 153                  | 466                   | 16                  |
| Mais   | 82           | 28            | n.b.        | 10318               | 250                  | 677                   | n.n.                |
| Reis   | -            | 42            | n.b.        | 3046                | n.n.                 | 181                   | n.n.                |
| Hirse  | 39           | 15            | 1231        | 18573               | 954                  | 2467                  | 262                 |

### 5.1.3 Verhältnisse von FS bzw. DFS zum Arabinoxylangehalt

Die Verhältnisse der ester- bzw. gesamtgebundenen FS zu Arabinose unterscheiden sich innerhalb einer Getreideart nicht wesentlich (siehe Tabelle 12). Zwischen den Getreidearten schwanken die molaren Verhältnisse von etwa 10 bis zu 35. Damit weisen die Arabinoxylane im Mais oder Weizen einen höheren Veresterungsgrad mit FS auf als solche in Hafer oder Gerste. Arabinoxylane in Roggen, Reis und Hirse nehmen eine mittlere Position ein.

*Tabelle 12: Molare Verhältnisse von FS bzw. DFS zu Arabinose in UNF der Getreide-Rohmaterialien*

|        | Ara / FS<br>ester | Ara / FS<br>gesamt | Ara / DFS<br>ester | Ara / DFS<br>gesamt | Ara / DFS<br>ether |
|--------|-------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| Weizen | 10                | 8                  | 1066               | 380                 | 589                |
| Roggen | 24                | 19                 | 1540               | 478                 | 694                |
| Gerste | 34                | 35                 | 1189               | 586                 | 1155               |
| Hafer  | 32                | 32                 | 1382               | 455                 | 679                |
| Mais   | 9                 | 10                 | 732                | 271                 | 430                |
| Reis   | 21                | 16                 | -                  | 685                 | 685                |
| Hirse  | 18                | 19                 | 713                | 275                 | 449                |

Dehydrodimere der FS sind in einem viel geringerem Maße mit Arabinose verestert (Faktor 30-100). Da DFS Cross-links zwischen den Polysacchariden darstellen, kann aus dem molaren Verhältnis zu den Arabinoseresesten in den Arabinoxylanen der Vernetzungsgrad abgeleitet werden. Dieser ist in Mais und Hirse am größten, gefolgt von Weizen und Gerste sowie Hafer und Roggen. Die Berechnung der molaren Verhältnisse der gesamt- bzw. ethergebundenen DFS erfolgte unter der Voraussetzung, daß als erstes die Esterbindung zum Arabinoxylan vorliegt und anschließend eine Verknüpfung mit Ligninmonomeren über Etherbindungen stattfindet (HATFIELD et al., 1999). Der Vernetzungsgrad durch ethergebundene DFS und damit zwischen Polysacchariden und Lignin ist in Mais und Hirse am größten, gefolgt von Weizen, Hafer, Roggen und Reis. In Gerste ist der relative Vernetzungsgrad zum Lignin am geringsten. Das molare Verhältnis Ara/DFS (ether) ist in der Gerste genauso groß wie das Verhältnis Ara/DFS (ester), während in allen anderen Getreidearten das Verhältnis der ethergebundenen DFS zu Arabinose etwa halb so groß ist wie das der estergebundenen DFS. Dieses bedeutet, daß in den meisten Getreidearten die DFS erheblich mehr Cross-links zwischen Lignin und Polysaccharid ausbilden wie inter-/intramolekular zwischen Polysacchariden. Mögliche Konsequenzen für die physiologischen Vorgänge im menschlichen Gastrointestinaltrakt und für die Bedeutung der UNF als positivem Bestandteil der menschlichen Nahrung werden in Kap. 5.2.4 erläutert.

## 5.2 Einflüsse der Verarbeitung auf die unlösliche Getreide-nahrungsfaser

### 5.2.1 Beeinflussung der Nahrungsfasergehalte in Getreide durch Verarbeitung

#### 5.2.1.1 Getreide-Extrudate

Nach der Extrusion ist in den Gersten-, Hafer- und Weizenproben eine 20-50%ige Zunahme der LNF-Gehalte zu verzeichnen. Die größten Zunahmen traten bei den Weizenextrudaten auf. Bei den Maiscollets trat keine Veränderung ein.

Die Gehalte an UNF werden größtenteils ebenfalls durch Extrusion beeinflusst. Lediglich beim Gerstenextrudat und dem Weizenextrudat vv 11 3 ist keine Änderung zu beobachten.

*Tabelle 13: Nahrungsfasergehalte der Getreide-Extrudate und prozentuale Anteile der LNF und UNF an der Gesamt-NF der jeweiligen Probe*

|               | NF-Gehalte [mg/g TM] |     |           | % -Anteil |      |
|---------------|----------------------|-----|-----------|-----------|------|
|               | LNF                  | UNF | Gesamt-NF | LNF       | UNF  |
| <i>Weizen</i> |                      |     |           |           |      |
| Rohstoff W3   | 41                   | 505 | 546       | 7,5       | 92,5 |
| vv 11 3       | 51                   | 524 | 575       | 8,9       | 91,1 |
| vv 11 5       | 62                   | 452 | 514       | 12,1      | 87,9 |
| vv 11 7       | 57                   | 727 | 784       | 7,3       | 92,7 |
| vv 11 11      | 62                   | 426 | 488       | 12,7      | 87,3 |
| <i>Hafer</i>  |                      |     |           |           |      |
| Rohstoff H1   | 90                   | 157 | 247       | 36        | 64   |
| V6 H1 01      | 122                  | 120 | 242       | 50        | 50   |
| V6 H1 06      | 110                  | 119 | 229       | 48        | 52   |
| <i>Gerste</i> |                      |     |           |           |      |
| Rohstoff G1   | 59                   | 139 | 198       | 30        | 70   |
| V7 G1 07      | 77                   | 137 | 214       | 36        | 64   |
| <i>Mais</i>   |                      |     |           |           |      |
| Maisgries     | 3                    | 65  | 68        | 4,4       | 95,6 |
| Maiscollets   | 5                    | 47  | 52        | 9,6       | 91,4 |

#### **Weizen**

Die Extrudate der Weizenkleie wiesen eine Zunahme des Gehalts an LNF gegenüber dem Rohstoff von 40 - 50% auf (Ausnahme vv 11 3: 25%). Zwischen den einzelnen Weizenextrudaten bestand kein Unterschied im LNF-Gehalt (siehe Tabelle 13).

Die Gehalte an UNF werden größtenteils ebenfalls durch Extrusion beeinflusst (siehe Tabelle 13). Lediglich beim Weizenextrudat vv 11 3 ist keine Änderung zu beobachten. Die Weizenextrudate vv 11 5 und vv 11 11 besitzen einen 11%ig bzw. 16%ig niedrigeren UNF-Gehalt als der Rohstoff. Im Weizenextrudat vv 11 7 ist dagegen ein 44%iger Anstieg der UNF zu verzeichnen. Die Weizenextrudate unterscheiden sich in ihrem UNF-Gehalt nicht nur signifikant vom Rohstoff sondern auch untereinander. Sowohl die unterschiedlichen Vermahlungsgrade als auch Energieeinträge wirken sich auf den UNF-Gehalt aus. In den Weizenextrudaten vv 11 5 und vv 11 11, welche mit hoher SME hergestellt wurden, nahm der UNF-Gehalt ab. Extrudat vv 11 7, welches aus dem

unvermahlenden Rohstoff bei niedriger SME hergestellt wurde, wies sogar einen erhöhten UNF-Gehalt auf. Dieses führt zu einem Anstieg der Gesamt-NF, welcher in den anderen Weizenextrudaten nicht auftrat. Trotzdem bleibt die prozentuale Verteilung der LNF und UNF gegenüber dem Rohstoff unverändert. Dagegen ist in den Extrudaten vv 11 5 und vv 11 11 der prozentuale Anteil der LNF deutlich erhöht (auf 12%) und der der UNF erniedrigt (von 92,5% auf 88%) (siehe Tabelle 13).

Entsprechende Beobachtungen an NF von Weizenkleie wurden auch von BJÖRCK et al. (1984) und RALET et al. (1990) gemacht. Beide Forschergruppen stellten fest, daß sich in extrudierter Weizenkleie bei etwa gleichbleibendem Gesamt-NF-Gehalt die Verteilung hin zur LNF verschiebt. Im extremsten Fall nahm der UNF-Gehalt um etwa ein Drittel ab und der LNF-Gehalt verdoppelte sich (RALET et al., 1990).

Demgegenüber wurden von WANG et al. (1993) nur geringfügige Änderungen (1-2%) in den Nahrungsfasergehalten extrudierter Weizenprodukte (Weizenvollkornmehl, Weizenkleie) bestimmt.

### **Gerste**

Der LNF-Gehalt des Gerstenextrudats V7 G1 07 ist gegenüber dem Rohstoff um 30% erhöht bei gleichzeitig unverändertem UNF-Gehalt. Wie Tabelle 13 zu entnehmen ist, verschieben sich die prozentualen Anteile der LNF und UNF im Gerstenextrudat nur geringfügig zugunsten der LNF.

### **Hafer**

In den Haferextrudaten ist eine Zunahme des LNF-Gehalts um 35% bzw. 22% zu verzeichnen. Die beiden Haferextrudate weisen einen um 25% niedrigeren UNF-Gehalt auf als das Ausgangsmaterial (siehe Tabelle 13). Die Gesamt-NF nimmt nur leicht ab. Die unterschiedlichen Extrusionsbedingungen a) mit viel Wasser und niedriger Energieeinleitung, b) mit wenig Wasser und hoher Energieeinleitung wirken sich nicht unterschiedlich auf die Abnahme der UNF aus. Die Untersuchungen von CAMIRE & FLINT (1991) ergaben im Gegensatz zu den eigenen Daten, daß in extrudiertem Hafermehl sich der Gehalt an UNF und Gesamt-NF erhöhte.

### **Mais**

Der LNF-Gehalt bleibt durch Extrusion unbeeinflusst. Die Abnahme der UNF in den Maiscollets um etwa 28% führt auch zu einer entsprechenden Abnahme der Gesamt-NF (siehe Tabelle 13). Die prozentualen Anteile der LNF und UNF an der Gesamt-NF verschieben sich in den Maiscollets zugunsten der LNF, dessen prozentualer Anteil sich fast verdoppelt. Dagegen stellten CAMIRE & FLINT (1991) in ihren Untersuchungen an Maismehl keine Gehaltsänderungen der UNF oder Gesamt-NF im extrudierten Produkt fest.

#### **5.2.1.2 Haferprodukte**

Bei der Darre und den Haferflocken sind die UNF-Gehalte signifikant niedriger als im Rohhafer. Die LNF-Gehalte bleiben unverändert. Bei Haferkleie tritt sowohl im Gehalt der LNF als auch der UNF eine Verdoppelung der Gehalte gegenüber dem Rohhafer auf. Dieses war zu erwarten, da Haferkleie hauptsächlich aus den Randschichten des Korns besteht, welche besonders reich an Nahrungsfaser sind. Nach der Extrusion bleiben die LNF- und UNF-Gehalte im Vergleich zu den Haferflocken bzw. der Haferkleie unverändert.

Aufschlußreicher ist die Betrachtung der prozentualen Anteile von LNF und UNF am Gesamt-NF-Gehalt. Im Rohhafer beträgt die Verteilung 38% LNF zu 62% UNF. In der Darre ist ein leichter Anstieg der LNF auf 43% zu beobachten, der auch in der Haferkleie auftritt. Die Nahrungsfaser der Haferflocken weist die gleiche prozentuale Verteilung auf wie der Rohhafer. Die Extrusion der Haferflocken bewirkt einen Anstieg des LNF-Gehalts um 10% auf 48%; dementsprechend nimmt der Anteil der UNF von 62% auf 52% ab. Bei Haferkleie fällt die Abnahme der UNF etwas geringer aus (von 57 auf 55%).

Abschließend läßt sich die Feststellung treffen, daß während der Verarbeitung des Rohhafers über die Darre zu Haferflocken die UNF abnimmt. Die Extrusion verursacht keine statistisch signifikanten Veränderungen der LNF oder UNF (siehe 8.5.4.1), jedoch ist im Haferflockenextrudat, eine Verschiebung der prozentualen Anteile an der Gesamt-NF hin zur LNF zu beobachten.

Damit müssen die Auswirkungen der Verarbeitung wie Dämpfen/Darren und Walzen als stärker eingestuft werden, als die der Extrusion. Dieses ist erstaunlich, da die Masse bei der Extrusion höheren Drücken und Temperaturen also insgesamt einer höheren Energie ausgesetzt ist als beim Darren oder Walzen. Es wird somit deutlich, daß die Vorgänge in den Zellwänden während der Verarbeitung derartig komplex verlaufen, daß nur durch weitere Untersuchungen eine bessere Charakterisierung der Vorgänge möglich ist.

## **5.2.2 Einfluß der Verarbeitung auf Gehalte und Verteilung der phenolischen Carbonsäuren in UNF der Getreide**

### **5.2.2.1 Getreide-Extrudate**

#### ***Monomere Phenolcarbonsäuren***

Im Gerstenextrudat und den Haferextrudaten ist gegenüber den Ausgangsmaterialien keine Änderung im pCS- oder FS-Gehalt (ester/ether) festzustellen. Die Maiscollets weisen einen um 25% höheren FS-Gehalt (ester) als der Maisgries auf, der pCS-Gehalt bleibt unverändert.

Bei den Weizenproben nimmt der Gehalt an estergebundener pCS und FS in allen Extrudaten gegenüber dem Weizenrohstoff W3 ab. Am niedrigsten fällt die FS-Abnahme in Extrudat vv 11 3 aus mit -12 bzw. -5%, die allerdings statistisch nicht signifikant ist (siehe 8.5.4.4). In den anderen Extrudaten betragen die Abnahmen 37-50% im Gehalt der estergebundenen FS und unterscheiden sich damit signifikant bzw. hochsignifikant vom Rohstoff W3. In Bezug auf den Vermahlungsgrad ist festzustellen, daß bei niedriger SME in der unvermahlten Probe der Gehalt estergebundener FS hochsignifikant niedriger ist als in der vermahlten Probe, bei hoher SME ist zwischen den Vermahlungsgraden kein Unterschied feststellbar. Die unterschiedliche Energie-einleitung bewirkt in den vermahlten und unvermahlten Proben signifikante bzw. hochsignifikante Änderungen. Und zwar ist in den unvermahlten Proben der FS-Gehalt bei niedriger SME geringer als bei hoher SME; in den vermahlten Proben ist es genau umgekehrt: bei hoher SME geringerer FS-Gehalt als bei niedriger SME.

Ethergebundene pCS ist nicht nachweisbar und ethergebundene FS ist nur im Rohstoff und den Extrudaten vv 11 3 und vv 11 11 nachweisbar, deren Gehalte unverändert bleiben.

### ***Dimere Phenolcarbonsäuren***

In den Getreiderohstoffen überwiegt die Summe der ethergebundenen DFS (51-68%) die der estergebundenen DFS (32-49%) (siehe Tabelle 14). In den Extrudaten ist zwar eine Verschiebung der Anteile auszumachen, aber keine einheitliche Tendenz feststellbar; einerseits verschieben sich die Anteile hin zur estergebundenen DFS (vv 11 5, vv 11 7, V6 H1 01, Maiscollets) andererseits zu den ethergebundenen DFS (vv 11 11, V6 H1 06, V7 G1 01).

Bei den Weizenproben ist wie auch bei den monomeren Phenolcarbonsäuren die Änderung im Extrudat vv 11 3 (vermahlen, niedrige SME) am geringsten. Die größte Verschiebung der prozentualen Anteile tritt in der unvermahlenen Probe, die mit niedriger SME extrudiert wurde (vv 11 7), auf. In den Extrudaten, welche mit hoher SME extrudiert wurden (vv 11 5 und vv 11 11), ist eine Auswirkung des Vermahlungsgrads auf die prozentuale Verteilung der ester- und ethergebundenen DFS feststellbar. In der unvermahlenen Probe (vv 11 11) verschiebt sich der Anteil zugunsten der ethergebundenen DFS, in der vermahlenen Probe (vv 11 5) erhöht sich der Anteil estergebundener DFS (siehe Tabelle 14).

*Tabelle 14: Gehalte der ester-, ether- und gesamtgebundenen DFS in UNF der verschiedenen Getreide-Extrudate und prozentuale Anteile der ester- bzw. ethergebundenen DFS an der Gesamt-DFS-Summe*

|             | DFS-Summe [ $\mu\text{g/g UNF}$ ] |       |        | % - Anteile          |                      |
|-------------|-----------------------------------|-------|--------|----------------------|----------------------|
|             | ester                             | ether | gesamt | DFS <sub>ester</sub> | DFS <sub>ether</sub> |
| Weizen W3   | 284                               | 523   | 808    | 35                   | 65                   |
| vv 11 3     | 325                               | 527   | 852    | 38                   | 62                   |
| vv 11 5     | 198                               | 200   | 398    | 50                   | 50                   |
| vv 11 7     | 419                               | 48    | 467    | 83                   | 17                   |
| vv 11 11    | 238                               | 669   | 908    | 26                   | 74                   |
| Hafer H1    | 158                               | 329   | 487    | 32                   | 68                   |
| V6 H1 01    | 265                               | 580   | 845    | 31                   | 69                   |
| V6 H1 06    | 135                               | 530   | 665    | 20                   | 80                   |
| Gerste G1   | 367                               | 377   | 744    | 49                   | 51                   |
| V7 G1 01    | 412                               | 558   | 970    | 42                   | 58                   |
| Maisgries   | 251                               | 428   | 679    | 37                   | 63                   |
| Maiscollets | 801                               | 314   | 1115   | 72                   | 28                   |

Die Gehalte der DFS-Summen je nach Bindungsform in den verschiedenen Getreide-Extrudaten sind in Tabelle 14 aufgeführt. Zur Veranschaulichung der Änderungen der DFS-Gehalte der Extrudate gegenüber den Ausgangsmaterialien dient Abbildung 36.

### ***Weizen***

Die Änderungen der DFS-Summe fallen in den Extrudaten sehr unterschiedlich aus (siehe Tabelle 14 und Abbildung 36). In vv 11 3 tritt eine geringfügige Zunahme der estergebundenen DFS auf (+14%), die Summe der ethergebundenen DFS bleibt gegenüber dem Weizenrohstoff unverändert. Im Extrudat vv 11 5 ist die Abnahme der ethergebundenen DFS (-62%) doppelt so groß wie die der estergebundenen DFS (-32%) (siehe Abbildung 36).

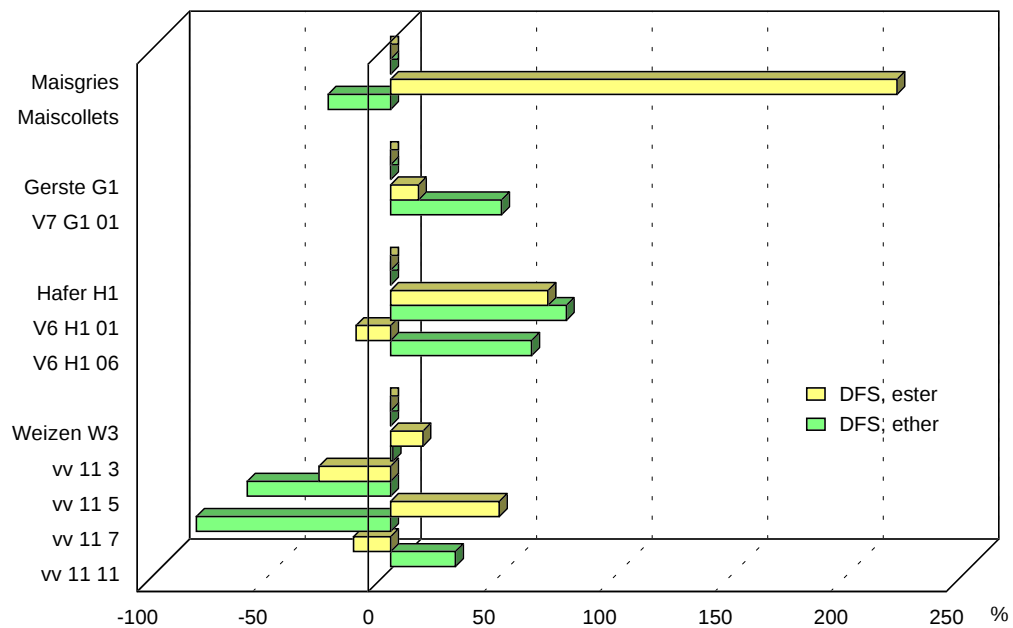


Abbildung 36: Prozentuale Veränderungen der DFS-Summen in UNF durch Extrusion im Vergleich zum Rohstoff (Nullwert)

Im Extrudat vv 11 7 wiederum ist eine Zunahme der estergebundenen DFS um 47% zu verzeichnen, der eine Abnahme der ethergebundenen DFS um 84% gegenübersteht. Eine Umkehrung der Verhältnisse findet sich in Extrudat vv 11 11, in dem die estergebundenen DFS abnehmen (-16%) und die ethergebundenen DFS zunehmen (+28%). Damit sind die größten Veränderungen die Summe der DFS betreffend in den Extrudaten mit der höchsten (vv 11 5: vermahlen, große Energieeinleitung) und niedrigsten Belastung (vv 11 7: unvermahlen, niedrige Energieeinleitung) festzustellen.

Die prozentualen Anteile der einzelnen DFS an der Gesamt-DFS-Summe ändern sich bei den estergebundenen DFS nur geringfügig (siehe Abbildung 31), wodurch die Rangfolge der DFS nicht beeinflusst wird. 5-5' DFS und 8-8'aryl DFS kommen in der UNF der Weizenproben am häufigsten vor (35-25 %) gefolgt von 8-5' DFS und 8-O-4' DFS (ca. 20%). Der 8-8' DFS - Anteil beträgt  $\leq 5\%$ . Das Extrudat, welches mit der größten SME behandelt wurde, weist die größten Abweichungen zum Rohstoff auf. Die Anteile der 8-8', 8-8'aryl und 8-5' DFS haben sich zulasten der 5-5' DFS erhöht.

Die prozentualen Verteilungen der ethergebundenen DFS in den Extrudaten weisen deutlichere Unterschiede zum Rohstoff auf (siehe Abbildung 31). Im Extrudat vv 11 5 (vermahlen, hohe SME) steigen die Anteile der 8-8' und 8-O-4' DFS zulasten der 8-5' und 5-5' DFS an. Im zweiten Extrudat, welches ebenfalls mit hoher SME behandelt wurde (vv 11 11), aber unvermahlen war, sind die Verhältnisse umgekehrt. Der prozentuale Anteil der ethergebundenen 8-8'aryl DFS verdoppelt sich zulasten der 8-8' und 8-O-4' DFS.

Die prozentuale Verteilung der ethergebundenen DFS im Extrudat vv 11 3 (vermahlen, niedrige SME) ähnelt der im Rohstoff. Da im Extrudat vv 11 7 8-8'aryl und 5-5' DFS nicht in ethergebundener Form nachweisbar waren, ist deren prozentuale Verteilung nicht mit den anderen Weizenproben vergleichbar.

Damit treten in Extrudaten hoher Belastung (vv 11 11: unvermahlen, hohe Energieeinleitung; vv 11 5: vermahlen, hohe SME) tendentiell die größten Änderungen der prozentualen DFS-Verteilung (ester- bzw. ethergebundenen) auf.

**Hafer**

Im Haferextrudat V6 H1 01 nehmen die Gehalte der ester- und ethergebundene DFS etwa um 50% zu (siehe Abbildung 36). Dieses gilt auch für die ethergebundenen DFS im zweiten Extrudat V6 H1 06; die estergebundenen DFS nehmen dagegen minimal ab. Die höchsten Zuwächse bei den einzelnen DFS sind beim 8-8'aryl DFS sowohl in ester- als auch ethergebundener Form zu verzeichnen.

Die prozentuale Verteilung der estergebundenen DFS unterscheidet sich im Extrudat V6 H1 06 durch eine starke Zunahme der 8-O-4' DFS und der Abnahme der prozentualen Anteile von 8-8' DFS und 5-5' DFS gegenüber dem Haferrohstoff und dem Extrudat V6 H1 01 (siehe Abbildung 31).

**Gerste**

Im Gerstenextrudat ist eine minimale Zunahme der Gehalte an ester- und ethergebundenen DFS zu beobachten, die unter 50% liegt (siehe Abbildung 36). Die prozentuale Verteilung der estergebundenen DFS sind wie aus Abbildung 31 ersichtlich im Rohstoff und Extrudat ähnlich. Bei den ethergebundenen DFS findet im Extrudat eine Verschiebung der prozentualen Anteile der 8-8' verknüpften DFS hin zum 5-5' verknüpften Dimer statt.

**Mais**

In den Maiscollets ist gegenüber dem Maisgries, eine Zunahme der Gehalte an estergebundenen DFS um über 200% zu verzeichnen (siehe Abbildung 36), welches vor allem auf eine Zunahme des 8-O-4'-Gehalts um das 7fache zurückzuführen ist. Die anderen DFS verdoppeln bzw. verdreifachen ihren Gehalt. Diese Veränderungen der DFS-Gehalte spiegeln sich auch in der prozentualen Verteilung der estergebundenen DFS wider. Der Anteil der 8-O-4' DFS verdoppelt sich in den Maiscollets gegenüber dem Maisgries (siehe Abbildung 31).

Die Gehalte der ethergebundenen DFS nehmen in den Maiscollets leicht ab. Auffällig ist hier die Verdoppelung des prozentualen Anteils der 8-5' DFS gegenüber dem Anteil im Maisgries.

**Schlußfolgerung**

Insgesamt läßt sich feststellen, daß durch Extrusion vielfältige Änderungen in den DFS-Gehalten und den prozentualen Verteilungen der DFS auftreten, aber keine einheitlichen Tendenzen erkennbar sind. Die Auswirkungen der Extrusion unterscheiden sich sowohl zwischen den Getreidearten als auch innerhalb einer Getreideart (Weizen, Hafer). Die Zu- bzw. Abnahmen in den DFS-Gehalten schwanken zwischen 10-200% (estergebundene DFS) und 30-85% (ethergebundene DFS). Tendentiell sind bei den ethergebundenen DFS die Änderungen in den prozentualen Verteilungen auffälliger als bei den estergebundenen DFS.

### 5.2.2.2 Haferprodukte

#### Monomere Phenolcarbonsäuren

In Darre, Haferflocken und -kleie sind gegenüber dem Rohhafer keine signifikanten Änderungen der estergebundenen FS feststellbar. Ähnliches trifft für die gesamtgebundene FS zu, deren Gehalte nur in der Darre gegenüber dem Rohhafer signifikant um etwa 30% erniedrigt sind. Die Gehalte an ethergebundener FS sind in Darre, Haferflocken und -kleie um etwa 25-50% niedriger als im Rohhafer.

Demgegenüber weist pCS eine Zunahme der estergebundenen Form in den Haferflocken und eine Abnahme in der Haferkleie auf. Die Gehalte der gesamtgebundenen pCS bleiben in Darre, Haferflocken und -kleie gegenüber dem Rohhafer unverändert.

In den Extrudaten ähneln sich die Veränderungen der estergebundenen Monomere zum jeweiligen Rohmaterial, also den Flocken bzw. der Kleie. Im Extrudat nimmt der Gehalt an estergebundener FS zu und der an pCS ab. Bei den ethergebundenen monomeren phenolischen Säuren bestehen gegensätzliche Tendenzen. Während im Extrudat der Haferflocken keine signifikanten Änderungen auftreten, ist im Haferkleie-Extrudat eine Abnahme der ethergebundenen FS um etwa die Hälfte und eine Zunahme der ethergebundenen pCS um etwa  $\frac{1}{3}$  festzustellen.

#### Dimere Phenolcarbonsäuren

Wie aus Tabelle 15 ersichtlich ist, dominieren in allen Haferprodukten ethergebundene DFS. Während im Ausgangsmaterial, dem Rohhafer, das Verhältnis ester-/ethergebundene DFS etwa 40:60 beträgt, sinkt der Anteil der estergebundenen DFS im Laufe der Verarbeitung auf etwa 20%. Nach der Extrusion ist eine weitere Abnahme auf etwa 10-15% zu beobachten.

Tabelle 15: Prozentuale Anteile der ester- und ethergebundenen DFS an der Summe der DFS in UNF der Haferprodukte

| DSF-Summe    | %Anteile |       |
|--------------|----------|-------|
|              | ester    | ether |
| Rohhafer     | 38       | 62    |
| Darre        | 27       | 73    |
| Haferflocken | 20       | 80    |
| Haferkleie   | 19       | 81    |
| EHF          | 16       | 84    |
| EHK          | 11       | 89    |

Inwiefern sich die Gehalte der DFS durch die Verarbeitung ändern, ist in Abbildung 37 dargestellt. Die Haferprodukte Flocken und Kleie zeigen ähnliche Veränderungen im DFS-Gehalt gegenüber dem Rohhafer. Sowohl ester- als auch ethergebundene DFS nehmen zu, wobei die Zunahme der ethergebundenen DFS um das 8-10fache höher ausfällt. In der Darre ist ebenfalls ein Anstieg der ethergebundenen DFS zu verzeichnen, der mit 20% wiederum geringer ist als derjenige in Haferflocken oder -kleie. Demgegenüber nimmt der Gehalt an estergebundener DFS in Darre um 25% ab. In den Extrudaten ist im Vergleich zu den Ausgangsmaterialien eine Zunahme der ethergebundenen DFS um etwa 25% und eine Abnahme der estergebundenen DFS um etwa 30% im Haferkleie-Extrudat festzustellen.

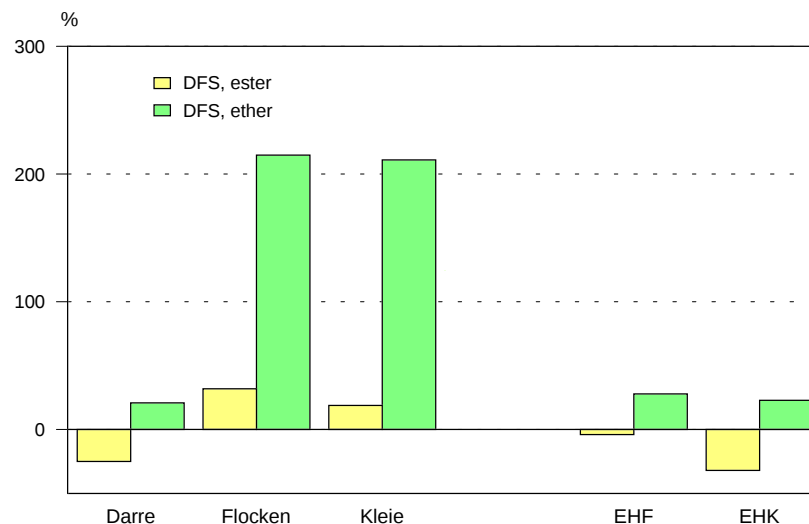


Abbildung 37: Prozentuale Änderungen der DFS-Summen in UNF der Haferprodukte in Relation zum jeweiligen Ausgangsmaterial (Rohhafer, Haferflocken oder -kleie)

Die prozentuale Verteilung der einzelnen DFS in den Haferprodukten ist in Abbildung 34 dargestellt. Bei den estergebundenen DFS sind nur geringe Schwankungen in den prozentualen Anteilen der DFS zu erkennen, so daß die Rangfolge der DFS unbeeinflusst bleibt. Die ethergebundenen DFS weisen aufgrund der Verarbeitung einige Veränderungen in ihrer Verteilung auf. Am auffälligsten ist die Abnahme der 8-8'aryl DFS von 45% im Rohhafer auf ca. 25% in den Flocken bzw. der Kleie. Im Gegenzug nehmen die prozentualen Anteile der 8-5' und 8-O-4' DFS um etwa das 2-3fache zu.

Aufgrund der Extrusion ist lediglich beim Haferflockenextrudat bei der prozentualen Verteilung der ethergebundenen DFS eine Zunahme der 8-8' DFS und eine Abnahme der 8-5' und 8-O-4' DFS zu beobachten. Die prozentualen Verteilungen des Haferkleieextrudats und der Haferkleie sind fast identisch.

Die FF-Gehalte zeigen in ihren Veränderungen innerhalb der Produkte Darre, Flocken und Kleie ein gleiches Muster. Während der Gehalt an estergebundenem FF unverändert bleibt, steigt der Gehalt an verethertem FF-Dimer an; um bis zum zweifachen in der Kleie. Aufgrund der Extrusion ist keine Veränderung in den Gehalten an ester- bzw. ethergebundenem FF-Dimer gegenüber den Flocken bzw. der Kleie zu verzeichnen.

### Schlußfolgerung

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß aufgrund der Extrusion eine geringfügige Erhöhung der estergebundenen FS und eine Abnahme der estergebundenen pCS sowie der ethergebundenen FS auftritt. Während der Verarbeitung des Rohhafers zu Haferflocken und -kleie ist eine Abnahme der ethergebundenen FS zu beobachten.

Die Gehalte der Dehydrodimeren der FS ändern sich ebenfalls aufgrund der Verarbeitung. Sowohl in Darre, Haferflocken und Haferkleie als auch den jeweiligen Extrudaten nehmen ethergebundene DFS zu. Ein Anstieg der estergebundenen DFS ist in Haferflocken und -kleie zu beobachten, während in den anderen Produkten eine Abnahme auftritt.

Insgesamt sind in allen Haferproben mehr ethergebundene DFS als estergebundene DFS enthalten. Aufgrund der Verarbeitung verändert sich das Verhältnis zugunsten der ethergebundenen DFS.

### 5.2.3 Beeinflussung des Cross-linkings in der UNF

Der Grad der Quervernetzung in den verschiedenen UNF ist sicherlich vom absoluten Dimerengehalt abhängig, aber welche Bedeutung die Dimeren als Cross-links in der jeweiligen UNF haben, kann anhand des molaren Verhältnisses FS/DFS (Monomer/Dimer) abgelesen werden. Da DFS in estergebundener Form Cross-links zwischen den Polysacchariden und in ethergebundener Form zwischen Polysacchariden und Lignin darstellen, kann aus dem molaren Verhältnis zu den Arabinoseresten in den Arabinoxylanen der Vernetzungsgrad abgeleitet werden.

#### 5.2.3.1 Getreide-Extrudate

Nachfolgende Tabelle 16 gibt einen Überblick über die molaren Verhältnisse der monomeren und dimeren FS zueinander und zur Arabinose in den Arabinoxylanen der UNF. Anhand dieser molaren Verhältnisse lassen sich einerseits der Dimerisierungsgrad der FS andererseits der Veresterungsgrad der Arabinoxylane mit FS bzw. DFS ablesen. Änderungen dieser molaren Verhältnisse geben Aufschluß darüber, inwiefern durch die Extrusion Veränderungen in dem Cross-linking der Biopolymeren der UNF durch DFS eintreten.

Tabelle 16: Dimerisierungsgrad der veresterten FS sowie molare Verhältnisse der Arabinose zu FS und DFS (ester- und ethergebunden\*) in UNF der Getreide-Extrudate

| molare<br>Verhältnisse | FS/DFS<br>(ester) | Ara/FS<br>(ester) | Ara/DFS<br>(ester) | Ara/DFS<br>(ether) |
|------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| Gerste G1              | 35                | 34                | 1189               | 1155               |
| V7 G1 01               | 29                | 33                | 958                | 707                |
| Hafer H1               | 42                | 32                | 1342               | 644                |
| V6 H1 01               | 29                | 31                | 895                | 409                |
| V6 H1 06               | 56                | 32                | 1821               | 463                |
| Maisgries              | 82                | 9                 | 731                | 429                |
| Maiscollets            | 32                | 8                 | 271                | 691                |
| Weizen W3              | 107               | 10                | 1078               | 586                |
| vv 11 3                | 88                | 12                | 1096               | 677                |
| vv 11 5                | 77                | 24                | 1855               | 1829               |
| vv 11 7                | 26                | 32                | 852                | 7515               |
| vv 11 11               | 62                | 25                | 1554               | 554                |

\*Da in einem Großteil der Proben ethergebundene FS nicht berechenbar ist, sind die FS/DFS(ether)- und Ara/FS(ether)-Verhältnisse in der Tabelle nicht dargestellt

#### Weizen

In den Extrudaten sinken die FS/DFS(ester)-Verhältnisse auf bis zu 1/4 des Wertes im Rohstoff ab. Diese Veränderung der Verhältnisse ist vorallem auf die Abnahme der FS-Gehalte in den Extrudaten zurückzuführen, welches sich auch in der Abnahme der Veresterungsgrade der Arabinoxylane mit FS widerspiegelt. Insgesamt bedeutet es eine relative Zunahme des Dimerisierungsgrades. Aufgrund einer größeren Zunahme des Gehalts an estergebundener DFS im Extrudat vv 11 7 wird der FS/DFS-Quotient besonders niedrig.

Der Vernetzungsgrad der Polysaccharide in der UNF wird auch anhand der Verhältnisse von Kohlenhydraten zu phenolischen Carbonsäuren deutlich.

In den Extrudaten, welche mit hoher Energieeinleitung (vv 11 5 und vv 11 11) hergestellt wurden, ist eine Abnahme des Veresterungsgrades der Arabinoxylane mit DFS zu beobachten. In den mit niedriger Energieeinleitung (vv 11 3 und vv 11 7) behandelten Proben bleiben die Veresterungsgrade mit DFS unverändert bzw. nehmen leicht zu. Diese Veränderungen der Ara/DFS(ester)-Verhältnisse sind darauf zurückzuführen, daß der Arabinoseanteil in den Arabinoxylanen der Extrudate ansteigt und gleichzeitig die DFS-Gehalte ebenfalls ansteigen (vv 11 3 und vv 11 7) bzw. leicht abnehmen (vv 11 5 und vv 11 11). Bei den Ara/DFS(ether)-Verhältnissen fällt der große Anstieg in den Extrudaten vv 11 5 und vv 11 7 auf. Dieses ist auf geringe Gehalte an ethergebundenen DFS zurückzuführen und läßt in diesen Extrudaten auf eine relativ geringe Bedeutung der DFS als Cross-links zwischen Polysacchariden und Lignin schließen.

Zusammenfassend läßt sich festhalten, daß die Zunahme des Dimerisierungsgrades in den Extrudaten einhergeht mit einer Abnahme des Veresterungsgrades der Arabinoxylane mit FS. Damit ist ein Anstieg der Bedeutung der DFS als Cross-links zu verzeichnen. Obwohl der Dimerisierungsgrad in allen Extrudaten im Vergleich zum Rohstoff ansteigt, ist nur in zwei Extrudaten auch eine Zunahme des Veresterungsgrades der Arabinoxylane mit DFS festzustellen. Eine eindeutige Aussage, ob durch Extrusion der Weizenkleie die Bedeutung der DFS als Cross-links zwischen Polysacchariden bzw. zwischen Polysacchariden und Lignin positiv oder negativ beeinflußt wird, ist nicht möglich. Auffällig ist lediglich, daß die größten Veränderungen der DFS-Veresterungsgrade in den mit hoher Energieeinleitung behandelten Proben auftreten. Alle diese Beobachtungen deuten darauf hin, daß während der Extrusion folgende Vorgänge parallel auftreten:

- Abspaltung von Xylooligosacchariden aus den Arabinoxylanen führt zur Anreicherung von Arabinoseresten in den verbleibenden Arabinoxylanen und der relativen Anreicherung von phenolischen Carbonsäuren
- Verringerung der Phenolcarbonsäure-Gehalte aufgrund der Spaltung von Ester- und Etherbindungen

Das Ausmaß der einzelnen Vorgänge bestimmt, inwiefern in den Extrudaten die Anzahl der Quervernetzungen durch DFS zwischen Polysacchariden inter-/intramolekular einerseits und Polysacchariden und Lignin andererseits beeinflußt wird.

### **Hafer**

Bezüglich der Dimerisierungs- und Vernetzungsgrade ist bei den Extrudaten keine einheitliche Tendenz feststellbar.

Im Extrudat V6 H1 01 ist parallel zum Anstieg des Dimerisierungsgrades im Vergleich zum Rohstoff H1 eine Zunahme des Veresterungsgrades der Arabinoxylane mit DFS festzustellen. Dieses bedeutet, daß im Extrudat die Arabinoxylane stärker durch DFS vernetzt werden und somit die Bedeutung der DFS als Cross-links zwischen Polysacchariden in diesem Extrudat größer ist als im Rohstoff. Im Extrudat V6 H1 06 sind die Verhältnisse genau gegenteilig, welches auf eine etwas verringerte Quervernetzung der Arabinoxylane durch DFS hindeutet. Beim Vernetzungsgrad zwischen Polysacchariden und Lignin treten in beiden Extrudaten ähnliche Tendenzen auf. Insgesamt haben aber diese „Ether-Cross-links“ sowohl im Rohstoff als auch in den Extrudaten eine größere Bedeutung für die Vernetzung der UNF als „Ester-Cross-links“ zwischen Polysacchariden.

### **Gerste**

Das Extrudat V7 G1 07 unterscheidet sich in seinem Dimerisierungsgrad und dem Veresterungsgrad der Arabinoxylane mit FS nicht von denen im Rohstoff. Der Veresterungsgrad mit DFS nimmt genauso wie das molare Verhältnis von Arabinose zu ethergebundener DFS leicht zu, welches auf eine Zunahme der Gehalte an ester- und ethergebundener DFS sowie einer leichten Abnahme des Arabinoxylangehalts zurückzuführen ist. Insgesamt deuten diese Beobachtungen darauf hin, daß im Extrudat die Bedeutung der DFS sowohl als Cross-link zwischen Arabinoxylanen als auch bei der Vernetzung von Polysacchariden mit Lignin zunimmt.

### **Mais**

Der Dimerisierungsgrad verdoppelt sich in den Maiscollets gegenüber dem Maisgries. Parallel dazu ist eine Zunahme des Veresterungsgrades der Arabinoxylane mit DFS und eine Abnahme des Vernetzungsgrades mit Lignin zu beobachten. Somit sind die Vernetzungsgrade in den Maiscollets genau gegensätzlich zu denen im Maisgries. In den Maiscollets haben DFS eine relativ größere Bedeutung als Cross-links zwischen Arabinoxylanen als bei der Vernetzung von Polysacchariden mit Lignin.

#### **5.2.3.2 Haferprodukte**

Interessante Erkenntnisse kann man aus der Bildung der molaren Verhältnisse von Monomeren zu Dimeren gewinnen (siehe Abbildung 38). Je kleiner dieses Verhältnis ist, desto größer ist die Bedeutung der DFS als Cross-links der Biopolymere.

Außerdem ist es interessant, die Werte der estergebundenen Phenolcarbonsäuren mit den ethergebundenen Phenolcarbonsäuren zu vergleichen. Unter der Voraussetzung, daß Etherbindungen nur zwischen Phenolcarbonsäuren und Lignin bestehen, kann abgeschätzt werden wie groß der Anteil solcher Lignin-Cross-links am gesamten Cross-linking der Phenolcarbonsäuren ist bzw. Verhältnis zu dem Cross-linking zum Arabinoxylan.

Die Dimerisierungsgrade der veresterten FS in den Verarbeitungsprodukten Haferflocken und -kleie ähneln demjenigen im Rohhafer nachdem in der Darre ein kleine Abnahme auftrat. In den Extrudaten läßt ein leichter Anstieg der Verhältnisse auf eine abnehmende Bedeutung der DFS als Cross-links schließen. Dieses wird durch die ansteigenden Ara/DFS(ester)-Verhältnisse in den Extrudaten bestätigt (siehe Abbildung 38). Dagegen nehmen in den Haferflocken und der Haferkleie diese Verhältnisse ab, welches auf einen höheren Vernetzungsgrad der Arabinoxylane hindeutet.

Die Dehydrodimeren der FS haben in allen Haferprodukten eine relative größere Bedeutung als Cross-links zwischen Polysacchariden und Lignin als für die Quervernetzung der Arabinoxylane untereinander. Während der Verarbeitung vom Rohhafer über die Darre zu Haferflocken und Kleie ist eine kontinuierliche Abnahme der molaren Ara/DFS(ether)-Verhältnisse zu beobachten, welches auf eine zunehmende Bedeutung der DFS als „Ether-Cross-links“ hinweist.

Aufgrund der Extrusion tritt eine weitere Abnahme des molaren Ara/DFS(ether)-Verhältnisses und somit eine Zunahme des Vernetzungsgrades zwischen Polysacchariden und Lignin auf.

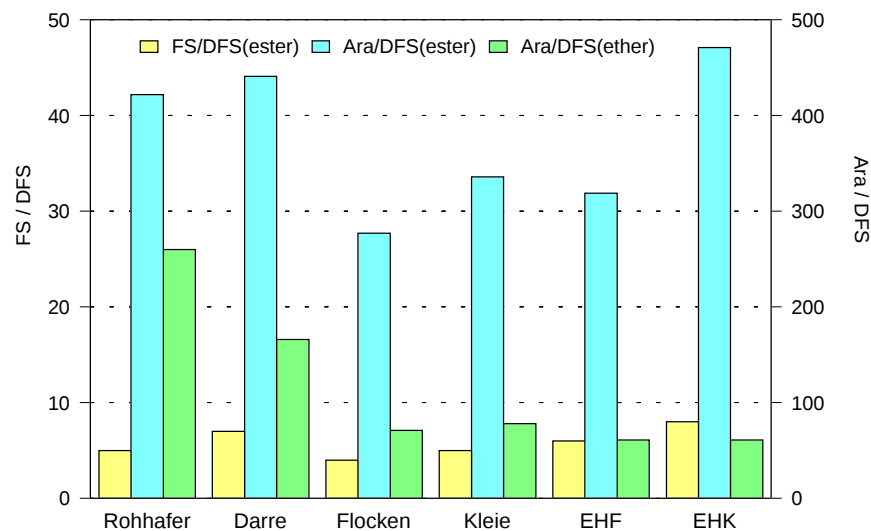


Abbildung 38: Darstellung des Dimerisierungsgrades der FS anhand der FS/DFS-Verhältnisse, des Veresterungsgrades der Arabinose mit FS und des Vernetzungsgrades der Arabinoxylane mittels molarer Verhältnisse von Ara/FS bzw. Ara/DFS in UNF der Haferprodukte

Wie schon unter 5.2.3.1 erläutert können diese Veränderungen in den molaren Verhältnissen nur durch das gleichzeitige Auftreten folgender Phänomene erklärt werden:

- Spaltung von Ester- und Etherbindungen; hierbei ist zu bedenken, daß die Spaltung einer Etherbindung der DFS auch zu einer Erhöhung der Gehalte an veresterten DFS führen kann
- Veränderung der Arabinoxylanstruktur durch teilweise Solubilisierung von Xylooligosacchariden; Erhöhung des Arabinoseanteils in den Arabinoxylanen

#### 5.2.4 Verarbeitungseinflüsse im Hinblick auf die ernährungsphysiologische Bedeutung der phenolischen Carbonsäuren und der UNF

Die positiven Auswirkungen der Nahrungsfaser auf die Gesundheit des Menschen beruhen auch auf deren Gehalt an phenolischen Carbonsäuren; einerseits weil sie zur Struktur der Nahrungsfaser beitragen und dadurch deren physiko-chemischen Eigenschaften mit prägen andererseits weil sie selbst wirksame Agentien darstellen. So ist FS ein wirksames Antioxidans (GRAF, 1992), inhibiert die chemisch induzierte Carcinogenese in Tiermodellen (HUANG et al., 1988; TANAKA et al., 1993), wirkt schützend gegen die Bildung von Nitroso-Komponenten (STICH et al., 1984; MOLLER et al., 1988) und verringert in Zellkulturen die Bildung von Carcinogen-DNA-Addukten (WARGOVICH et al., 1985). DFS weisen teilweise sogar noch eine bessere Antioxidans-Wirkung auf als das Monomer (GARCIA-CONESA et al., 1997, 1999). In der wäßrigen Phase sind die TEAC-Werte<sup>1</sup> von 8-8' DFS, 5-5' DFS und 8-O-4' DFS bis zu doppelt so groß wie die der FS, der TEAC-Werte von 8-5'benzo DFS ist etwas niedriger. Im Lipid-peroxidationstest sind die antioxidativen Kapazitäten aller DFS besser als die der FS. Aber nicht nur freie phenolische Säuren auch lösliche Feruloyl oligosaccharide besitzen eine gute antioxidative Wirkung (OHTA et al., 1994).

Ein weiterer wichtiger Aspekt ist die Fermentierbarkeit der Nahrungsfaser durch Darmbakterien. Bislang ist allerdings noch ungeklärt in welchem Maße FS und DFS bzw. deren veresterte Form im menschlichen Darm freigesetzt werden. *In vitro*-Studien zeigten, daß Feruloyl esterase-Aktivitäten im menschlichen Darm existieren und FS aus Zuckerrübenpulpe vollständiger freigesetzt wird als aus Weizenkleie (KROON et al., 1997). Einige Feruloyl esterases, die FS aus Nahrungsfaser abspalten können, weisen auch Aktivitäten zur Abspaltung von DFS auf (KROON et al., 1999). Anscheinend benötigen die Feruloyl esterases jedoch lösliche Oligosaccharide als Substrat, so daß vorher eine hydrolytische Spaltung der Polysaccharidketten mittels entsprechender Enzyme (z.B. Xylanasen in der Weizenkleie) notwendig ist (KROON et al., 1997; CHESSEON et al., 1999). Diese enzymatische Spaltung wird umso stärker limitiert je größer das Ausmaß der Cross-link-Bildung durch Dehydrodimere der FS zwischen Polysacchariden bzw. Polysacchariden und Lignin ist (GRABBER et al., 1998a, b).

Andererseits gibt es noch offene Fragen über den Verbleib der freigesetzten FS und FS-Oligosacchariden im Liquor. Eine Absorption der freigesetzten Phenolcarbonsäuren an die Rückstände der NF wird jedoch ausgeschlossen (KROON et al., 1997). Somit ist die Bedeutung der Aufnahme von FS und DFS aus Nahrungsfaser (ca. 200mg/Tag) z.B. in Bezug auf deren antioxidative Wirksamkeit noch klärungsbedürftig.

Trotz vieler offener Fragen machen die bisherigen Studien deutlich, daß die Quervernetzungen der Polymere in der UNF durch DFS einen entscheidenden Einfluß auf die Struktur der NF haben. Damit werden aber auch wichtige physiko-chemische Eigenschaften wie Fermentierbarkeit und Wasserbindungskapazität beeinflusst, welches wiederum Auswirkungen u.a. auf das Stuhlvolumen, die Produktion kurzkettiger Fettsäuren und die Transitzeit hat.

<sup>1</sup> TEAC = Trolox C Equivalent Antioxidant Capacity

Im Hinblick auf die Verarbeitungseinflüsse lassen sich aus den eigenen Untersuchungen folgende Schlußfolgerungen ziehen:

- ◆ aufgrund der Extrusion ist in den meisten Extrudaten der Gersten-, Hafer- und Weizenproben eine Abnahme der UNF und eine Zunahme der LNF feststellbar
  - ◆ in allen Rohstoffen und einigen Extrudaten überwiegt der Anteil der DFS in ethergebundener Form denjenigen der veresterten DFS  
und  
der Vernetzungsgrad zwischen Polysacchariden und Lignin (molares Ara/DFS(ether)-Verhältnis) ist in vielen Extrudaten größer als der Vernetzungsgrad zwischen Polysacchariden
- ⇒ Polysaccharid-Lignin-Cross-linking als wichtiger Aspekt in der UNF
- ◆ in den Extrudaten treten vielfältige Änderungen in den DFS-Gehalten und den prozentualen Verteilungen der DFS auf, aber einheitliche Tendenzen sind nicht erkennbar. Die Auswirkungen der Extrusion unterscheiden sich sowohl zwischen den Getreidearten als auch innerhalb einer Getreideart (Weizen, Hafer)
  - ◆ in vielen Extrudaten nehmen die Dimerisierungsgrade zu, d.h. das molare Verhältnis FS/DFS(ester) nimmt ab,  
und  
die Vernetzungsgrade („Ester- bzw. Ether-Cross-links“) verändern sich (keine einheitlichen Tendenzen feststellbar)
- ⇒ insgesamt besteht die Tendenz, daß die Bedeutung der DFS als Cross-links in den Extrudaten zunimmt

Auch wenn die Ergebnisse keine abschließende Bewertung des Einflusses technologischer Verarbeitungsprozesse auf die Struktur unlöslicher Getreidenahrungsfaser zulassen, so machen sie doch deutlich, daß bei zukünftigen Forschungen zur Wirksamkeit von Nahrungsfaser nicht nur Getreiderohstoffe sondern auch verarbeitete Produkte berücksichtigt werden müssen.

## 6 Zusammenfassung / Summary

Nahrungsfaser hat vielfältige positive Auswirkungen auf die Gesundheit des Menschen, die von verbesserter Darmperistaltik (erhöhtes Stuhlvolumen, verringerte Transitzeit) bis zur günstigen Beeinflussung oder Prävention zahlreicher Krankheiten (u.a. Hypcholesterinämie, Diabetes mellitus, Dickdarmkrebs) reichen.

Wichtige strukturgebende Minorkomponenten der Nahrungsfaser sind die phenolischen Carbonsäuren. In dieser Arbeit wurden Untersuchungen zur Identifizierung dimerer phenolischer Carbonsäuren in unlöslicher Getreidenahrungsfaser durchgeführt und der Einfluß technologischer Verarbeitungsschritte auf das Cross-linking in der unlöslichen Nahrungsfaser verschiedener Getreideprodukte analysiert. Dazu wurden die Nahrungsfasergehalte, die Kohlenhydratzusammensetzung und die Phenolcarbonsäuregehalte einerseits in Weizen-, Gerste-, Hafer- und Maisextrudaten andererseits in Haferprodukten (von Proben der einzelnen Verarbeitungsschritte bis hin zu Extrudaten der Haferflocken und der Haferkleie) bestimmt.

Zur Freisetzung estergebundener Phenolcarbonsäuren wurde eine milde Alkalihydrolyse durchgeführt, ethergebundene Phenolcarbonsäuren wurden unter den verschärften Bedingungen einer alkalischen Druckhydrolyse abgespalten. Die Entwicklung einer Festphasenextraktionsmethode ermöglichte die selektive Isolierung der phenolischen Carbonsäuren aus den Hydrolysaten. Dieses Aufarbeitungsverfahren zeichnet sich gegenüber der herkömmlichen Flüssig-Flüssig-Extraktion durch einen erhöhten Probendurchsatz bei vereinfachter Handhabung und erheblichen Einsparungen an Lösungsmitteln aus.

Der Nachweis dimerer phenolischer Carbonsäuren erfolgte mittels GC-MS und HPLC-DAD. Insgesamt wurden fünf Dehydrodimere der Ferulasäure (DFS) und ein Photodimer (FF-ht-Typ) in unlöslicher Getreidenahrungsfaser identifiziert.

In allen Getreideprodukten sind dimere phenolische Carbonsäuren in viel stärkerem Maße an Etherbindungen zum Lignin, d.h. „Ether-Cross-links“, beteiligt als monomere Phenolcarbonsäuren. Außerdem überwiegt der Anteil ethergebundener DFS den der estergebundenen DFS, welches die Bedeutung der DFS nicht nur als Cross-links zwischen Arabinoxylanen sondern auch zwischen Polysacchariden und Lignin in unlöslicher Getreidenahrungsfaser hervorhebt.

Aufgrund der technologischen Verarbeitung läßt sich sowohl in den Getreide-Extrudaten als auch den Haferprodukten größtenteils eine leichte Zunahme der löslichen und eine leichte Abnahme der unlöslichen Nahrungsfaser beobachten.

Die Bindungsformen und Dimerisierungsgrade der phenolischen Carbonsäuren werden durch die Verarbeitung/Extrusion auf vielfältige Weise beeinflusst. Die Auswirkungen der Extrusion im Bezug auf DFS-Gehalte und -Verteilungen unterscheiden sich sowohl zwischen Getreidearten als auch innerhalb einer Getreideart.

Aus den molaren Verhältnissen der DFS zu den Arabinoseresen der Arabinoxylane kann einerseits der Vernetzungsgrad der Polysaccharide („Ester-Cross-links“) andererseits der Vernetzungsgrad zwischen Polysacchariden und Lignin („Ether-Cross-links“) abgelesen werden. Tendentiell ist aufgrund der in vielen Extrudaten steigenden Vernetzungsgrade eine Zunahme der Bedeutung der DFS als Cross-links sowohl zwischen Polysacchariden als auch zwischen Polysacchariden und Lignin festzustellen.

## Summary

Dietary fiber has been shown to have many beneficial effects on human health. Their physiological effects such as gastrointestinal emptying (faecal bulking, intestinal transit time) and prevention of many diseases (i.e. lowering blood cholesterol, diabetes, colon cancer) are well documented.

Topics of the present thesis were the analysis of dimeric phenolic acids in insoluble cereal dietary fiber and studies on the effects of technological processing on cross-linking of insoluble dietary fiber of several cereal (extrusion)products.

Dietary fiber contents, carbohydrate composition and phenolic acid contents were determined in extrusion products of wheat, barley, oat and maize as well as in oat products (samples of each production step and extrudates of oat flakes and oat bran).

Esterified phenolic acids were released by mild alkaline hydrolysis while cleavage of etherified phenolic acids needed more severe conditions and high pressure alkaline hydrolysis was used. Selective isolation of phenolic acids from the hydrolysates was achieved by solid phase extraction (C18 cartridges) which allowed a high sample throughput at easy handling and saved solvents compared to liquid-liquid extraction.

Identification of dimeric phenolic acids was carried out by gaschromatography-mass spectroscopy and high performance liquid chromatography - diode array detection.

Five ferulic acid dehydrodimers (DFS) and one photodimer (FF-ht-type) were identified in insoluble cereal dietary fiber.

Dimeric phenolic acids are much more involved in etherlinkages to lignin („ether-cross-links“) than monomeric phenolic acids (ferulic and p-coumaric acid). Besides more etherlinked than esterlinked DFS occurred which implies the importance of DFS in cross-linking not only polysaccharides by „ester-cross-links“ but also polysaccharides and lignin („ether-cross-links“).

In cereal extrusion products as well as in oat products in most cases a slight increase of soluble dietary fiber and a slight decrease of insoluble dietary fiber was observed.

The kind of linkages and extent of dimerization of phenolic acids were affected by processing/extrusion in manifold ways. Effects differed not only between cereal species but also between extrusion products of one cereal.

Molar DFS/arabinose ratios are useful to elucidate on one hand the extent of polysaccharide cross-linking (ester-cross-links) and on the other hand cross-linking between polysaccharides and lignin (ether-cross-links). Because of decreasing molar DFS/arabinose ratios in cereal extrudates an increasing importance of ester- and ether-cross-links in cereal extrusion products is supposed.

## 7 Literatur

- AHLUWALIA, B., FRY, S.C. (1986) Barley endosperm cell walls contain a feroylated arabinoxylan and a non-feruloylated  $\beta$ -glucan. *J. Cereal Sci.* **4** 287-295
- ANDERSSON H (1992) Resistant starch. *Eur. J. Clin. Nutr.* **46** (Suppl. 2) S69-S76
- ANDREWARTHA KA, PHILLIPS DR, STONE BA (1979) Solution properties of wheat-flour arabinoxylans and enzymically modified arabinoxylans. *Carbohydr. Res.* **77** 191-204
- AZUMA J, KATO A, KOSHIIJIMA T, OKAMURA K (1990) Arabinosylxylotriose mixedly esterified with acetic and ferulic acids from sugar cane bagasse. *Agric. Biol. Chem.* **54** 2181-2182
- BARTOLOME B, FAULDS CB, KROON PA, K.WALDRON, GILBERT HJ, HAZLEWOOD G, WILLIAMSON G (1997) An *Aspergillus niger* esterase (ferulic acid esterase III) and a recombinant *Pseudomonas fluorescens subsp. cellulosa* esterase (XylD) release a 5-5' ferulic dehydrodimer (diferulic acid) from barley and wheat cell walls. *Appl. Environ. Microbiol.* **63** 208-212
- BENASSI MT, CECCHI HM (1998) Method development for the simultaneous determination of carboxylic acids, phenolic compounds, and sorbic acid in white wines. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **21** 491-501
- BgVV (Bundesamt für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin) (1997) in: *Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35 LMBG*. Beuth Verlag, Berlin
- BIERMANN CJ (1988) Hydrolysis and other cleavages of glycosidic linkages in polysaccharides. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **46** 251-270
- BJÖRCK I, NYMAN M, ASP N-G (1984) Extrusion cooking and dietary fiber: effects on dietary fiber content and on degradation in the rat intestinal tract. *Cereal Chem.* **61** 174-178
- BLAKENEY AB, HARRIS PJ, HENRY RJ, STONE BA (1983) A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydr. Res.* **113** 291-292
- BURKITT DP, TROWELL H (1975) Redefined carbohydrate foods and disease, Academic Press, New York
- CACCAMESE S, MONTAUDO G, PRZYBYLSKI M (1974) Photodimers of cinnamic acid and related compounds. A stereochemical study by electron-impact and field desorption mass spectrometry. *Org. Mass. Spectrom.* **9** 1114-1123
- CAMIRE ME, FLINT SI (1991) Thermal processing effects on dietary fiber composition and hydration capacity in corn meal, oat meal, and potato peels. *Cereal Chem.* **68** 645-647
- CHEN J, FALES SL, VARGA GA, ROYSE DJ (1996) Biodegradability of free monomeric and cell-wall-bound phenolic acids in maize stover by two strains of white-rot fungi. *J. Sci. Food Agric.* **71** 145-150
- CHESSON A, PROVAN GJ, RUSSELL WR, SCOBIE L, RICHARDSON AJ, STEWART C (1999) Hydroxycinnamic acids in the digestive tract of livestock and humans. *J. Sci. Food Agric.* **79** 373-378
- CIUCANU I, KEREC F (1984) A simple and rapid method for the permethylation of carbohydrates. *Carbohydr. Res.* **131** 209-217
- COLQUHOUN IJ, RALET MC, THIBAUT JF, FAULDS CB, WILLIAMSON G (1994) Structure identification of feruloylated oligosaccharides from sugar-beet pulp by NMR spectroscopy. *Carbohydr. Res.* **263** 243-256
- ELVEBAK II LE, KNOWLES V, GRAY GR (1997) Authentic standards for the reductive-cleavage method. The positional isomers of partially methylated and acetylated or benzoylated 1,5-anhydro-D-xylitol. *Carbohydr. Res.* **299** 143-149
- ERASO F, HARTLEY RD (1990) Monomeric and dimeric phenolic constituents of plant cell walls - possible factors influencing wall biodegradability. *J. Sci. Food Agric.* **51** 163-170
- FELDHEIM W (1989) Verwertbare und nicht verwertbare Kohlenhydrate - Definition und chemische Bestimmungsverfahren. *Ernähr.-Umsch.* **36** 40-44
- FELDHEIM W (1990) Neues von den Ballaststoffen unter besonderer Berücksichtigung von Sojakleie. *Ernähr.-Umsch.* **37** 467-471
- FIGUEROA-ESPINOZA MC, ROUAU X (1998) Oxidative cross-linking of pentosans by a fungal laccase and horseradish peroxidase: mechanism of linkage between feruloylated arabinoxylans. *Cereal Chem.* **75** 259-265
- FINCHER GB, STONE BA, Cell walls and their components in cereal grain technology, in: *Advances in cereal science and technology*, Y. Pomeranz, Vol. 8, American Association of Cereal Chemists 1986, pp 207-295.

- FORD CW (1989) Deacylation and cleavage of cell walls of pangola grass with borohydride. *Phytochemistry* **28** 393-397
- FORD CW, HARTLEY RD (1988) Identification of phenols, phenolic acid dimers, and monosaccharides by gas-liquid chromatography on a capillary column. *J. Chromatogr.* **436** 484-489
- FORD CW, HARTLEY RD (1989) GC/MS characterisation of cyclodimers from p-coumaric and ferulic acids by photodimerisation - a possible factor influencing cell wall biodegradability. *J. Sci. Food Agric.* **46** 301-310
- FREUDENHEIM JL, GRAHAM S, MARSHALL JR, HAUGHEY BP, WILLIAMSON G (1990) A case-control study of diet and rectal cancer in western New York. *Am. J. Epidemiol.* **131** 612-624
- FRITZ JO, MOORE KJ (1987) Separation and quantification of lignin-derived phenolic monomers using high-resolution gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.* **35** 710-713
- FRY SC (1982) Phenolic components of the primary cell wall. *Biochem. J.* **203** 493-504
- FRY SC (1983) Feruloylated pectins from the primary cell wall: their structure and possible functions. *Planta* **157** 111-123
- GARCIA-CONESA MT, PLUMB GW, KROON PA, WALLACE G, WILLIAMSON G (1997) Antioxidant properties of ferulic acid dimers. *Redox Report* **3** 239-244
- GARCIA-CONESA MT, WILSON PD, PLUMB GW, RALPH J, WILLIAMSON G (1999) Antioxidant properties of 4,4'-dihydroxy-3,3'-dimethoxy- $\beta,\beta'$ -bicinnamic acid (8-8-diferulic acid, non-cyclic form). *J. Sci. Food Agric.* **79** 379-384
- GEISSMANN T, NEUKOM H (1973) A note on ferulic acid as a constituent of the water-insoluble pentosans of wheat flour. *Cereal Chem.* **50** 414-416
- GIOVANNUCCI E, STAMPFER MJ, COLDITZ G, RIMM EB, WUILLETT WC (1992) Relationship of diet to risk of colorectal adenoma in men. *J. Natl. Cancer Inst.* **84** 91-98
- GLOWNIAK K, GRAZYNA Z, MALGORZATA K (1996) Solid-phase extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography of free phenolic acids in some Echinacea species. *J. Chromatogr.* **739** 25-29
- GRABBER JH, HATFIELD RD, RALPH J (1998a) Diferulate cross-links impede the enzymatic degradation of nonlignified maize walls. *J. Sci. Food Agric.* **7** 193-200
- GRABBER JH, HATFIELD RD, RALPH J, ZON J, AMRHEIN N (1995) Ferulate cross-linking in cell walls isolated from maize cell suspensions. *Phytochemistry* **40** 1077-1082
- GRABBER JH, RALPH J, HATFIELD RD (1998b) Ferulate cross-links limit the enzymatic degradation of synthetically lignified primary walls of maize. *J. Agric. Food Chem.* **46** 2609-2614
- GRAF E (1992) Antioxidant potential of ferulic acid. *Free Radic. Biol. Med.* **13** 435-448
- GUBLER F, ASCHFORD AE, BACIC A, BLAKENEY AB, STONE BA (1985) Release of ferulic acid esters from barley aleurone. II. Characterization of the feruloyl compounds released in response to GA3. *Aust. J. Plant Physiol.* **12** 307-317
- HAGERMAN AE, NICHOLSON RL (1982) High-performance liquid chromatographic determination of hydroxycinnamic acids in the maize mesocotyl. *J. Agric. Food Chem.* **30** 1098-1102
- HARTLEY RD, BUCHAN H (1979) High-performance liquid chromatography of phenolic acids and aldehydes derived from plants or from the decomposition of organic matter in soil. *J. Chromatogr.* **180** 139-143
- HARTLEY RD, MORRISON III WH (1991) Monomeric and dimeric phenolic acids released from cell walls of grasses by sequential treatment with sodium hydroxide. *J. Sci. Food Agric.* **55** 365-375
- HARTLEY RD, MORRISON III WH, BALZA F, TOWERS GHN (1990a) Substituted truxillic and truxinic acids in cell walls of *Cynodon dactylon*. *Phytochemistry* **29** 3699-3703
- HARTLEY RD, MORRISON III WH, BORNEMANN WS, RIGSBY LL, O'NEILL M, HANNA WW, AKIN DE (1992) Phenolic constituents of cell wall types of normal and brown midrib mutants of pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L) R Br) in relation to wall biodegradability. *J. Sci. Food Agric.* **59** 211-216
- HARTLEY RD, MORRISON III WH, HIMMELSBACH DS, BORNEMANN WS (1990b) Cross-linking of cell wall phenolic arabinoxylans in graminaceous plants. *Phytochemistry* **29** 3705-3709
- HARTLEY RD, JONES EC, WOOD TM (1976) Carbohydrates and carbohydrate esters of ferulic acid released from cell walls of *Lolium multiflorum* by treatment with cellulolytic enzymes. *Phytochemistry* **15** 305-307
- HARTLEY RD, WHATLEY FR, HARRIS PJ (1988) 4,4'-Dihydroxytruxillic acid as a component of cell walls of *Lolium multiflorum*. *Phytochemistry* **27** 349-351

- HATFIELD RD, RALPH J, GRABBER JH (1999) Cell wall cross-linking by ferulates and diferulates in grasses. *J. Sci. Food Agric.* **79** 403-407
- HEIMS H (1990) Bestimmung der Struktur der wasserunlöslichen Nahrungsfaser aus Getreide, Dissertation, Universität Hamburg
- HEIMS H, STEINHART H, MISCHNICK P (1989) Determination of the structure of pentose-containing carbohydrates by the reductive-cleavage method. *Carbohydr. Res.* **191** 343-350
- HERRMANN K (1989) Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **28** 315-347
- HIMMELSBACH DS, HARTLEY RD, BORNEMANN WS, POPPE L, HALBEEK VAN H (1994) Structure of a feruloylated arabinoxylan tetrasaccharide that contains the  $\beta$ -D-Xylp-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-Araf element by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy. *Magn. Res. Chem.* **32** 158-165
- HIPSLEY EH (1953) Dietary fiber and pregnancy toxemia. *Brit. Med. J.* **42** 420-422
- HOWE GR, BENITO E, CASTELLETO R, CORNEE J, ESTEVE J, GALLAGHER RP, ISCOVICH JM, DENG-AO J, KAAKS R, KUNE GA (1992) Dietary intake of fiber and decreased risk of cancers of the colon and rectum: evidence from the combined analysis of 13 case-control studies. *J. Natl. Cancer Inst.* **84** 1887-1896
- HUANG MT, SMART RC, WONG C-Q, CONNEY AH (1988) Inhibitory effect of curcumin, chlorogenic acid, caffeic acid, and ferulic acid on tumor promotion in mouse skin by 23-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Cancer Res.* **48** 5941-5946
- HUSEK P (1992) Fast derivatization and GC analysis of phenolic acids. *Chromatographia* **34** 621-626
- IYAMA K, LAM TBT, STONE BA (1990) Phenolic acid bridges between polysaccharides and lignin in wheat internodes. *Phytochemistry* **29** 733-737
- IYAMA K, LAM TBT, STONE BA (1994) Covalent cross-links in the cell wall. *Plant Physiol.* **104** 315-320
- ISHII T (1991) Isolation and characterization of a diferuloyl arabinoxylan hexasaccharide from bamboo shoot cell-walls. *Carbohydr. Res.* **219** 15-22
- ISHII T (1994) Feruloyl oligosaccharides from cell walls of suspension-cultured spinach cells and sugar beet pulp. *Plant Cell Physiol.* **35** 701-704
- ISHII T, HIROI T (1990a) Linkage of phenolic acids to cell-wall polysaccharides of bamboo shoot. *Carbohydr. Res.* **206** 297-310
- ISHII T, HIROI T (1990b) Isolation and characterization of feruloylated arabinoxylan oligosaccharides from bamboo shoot cell-walls. *Carbohydr. Res.* **196** 175-183
- ISHII T, HIROI T, THOMAS JR (1990) Feruloylated xyloglucan and p-coumaroyl arabinoxylan oligosaccharides from bamboo shoot cell-walls. *Phytochemistry* **29** 1999-2003
- ISHII T, TOBITA T (1993) Structural characterization of feruloyl oligosaccharides from spinach-leaf cell walls. *Carbohydr. Res.* **248** 179-190
- IZYDORCZYK MS, BILIADERIS CG (1995) Cereal arabinoxylans: advances in structure and physicochemical properties. *Carbohydr. Polym.* **28** 33-48
- JAQUET G, POLLET B, LAPIERRE C (1995) New ether-linked ferulic acid - coniferyl alcohol dimers identified in grass straws. *J. Agric. Food Chem.* **43** 2746-2751
- JORGENSEN AD, PICEL KC, STAMOUDIS VC (1990) Prediction of gas chromatography flame ionization detector response factors from molecular structures. *Anal. Chem.* **62** 683-689
- JUNG HJG, SHALITA-JONES SC (1990) Variation in the extractability of esterified p-coumaric and ferulic acids from forage cell walls. *J. Agric. Food Chem.* **38** 397-402
- KAISER R, GOTTSCHALK G (1972) Elementare Tests zur Beurteilung von Meßdaten, Bd. 774, BI-Hochschultaschenbuch, Bibliographisches Institut, Mannheim
- KAMISAKA S, TAKEDA S, TAKAHASHI K, SHIBATA K (1990) Diferulic and ferulic acid in the cell wall of *Avena coleoptiles* - their relationships to mechanical properties of the cell wall. *Physiol. Plant.* **78** 1-7
- KATO A, AZUMA J, KOSHIIJIMA T (1987) Isolation and identification of a new feruloylated tetrasaccharide from bagasse lignin-carbohydrate complex containing phenolic acid. *Agric. Biol. Chem.* **51** 1691-1693
- KATO Y, NEVINS DJ (1985) Isolation and identification of O-(5-O-Feruloyl- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl)-(1 $\rightarrow$ 3)-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-D-xylopyranose as a component of Zea shoot cell-walls. *Carbohydr. Res.* **137** 139-150

- KERMASHA S, GOETGHEBEUR M, DUMONT J (1995) Determination of phenolic compound profiles in maple products by high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* **43** 706-716
- KIWITT-HASCHEMIE K (1994) Hydrokolloide - Beitrag zur strukturellen Charakterisierung von Nichtstärke-Polysacchariden und ihrem Nachweis in Lebensmitteln, Dissertation, Universität Hamburg
- KIWITT-HASCHEMIE K, RINGER A, STEINHART H (1996) A comparison between reductive cleavage and standard methylation analysis for determining structural features of galactomannans. *Carbohydr. Polym.* **30** 31-35
- KROON PA, FAULDS CB, RYDEN P, ROBERTSON JA, WILLIAMSON G (1997) Release of covalently bound ferulic acid from fiber in the human colon. *J. Agric. Food Chem.* **45** 661-667
- KROON PA, FAULDS GB, RYDEN P, WILLIAMSON G (1996) Solubilisation of ferulic acid from plant cell wall materials in a model human gut system. *Biochem. Soc. Trans.* **24** 384S
- KROON PA, GARCIA-CONESA MT, FILLINGHAM IJ, HAZLEWOOD GP, WILLIAMSON G (1999) Release of ferulic acid dehydrodimers from plant cell walls by feruloyl esterases. *J. Sci. Food Agric.* **79** 428-434
- KÜHNAU J, GANßMANN W (HRSG.) (1976) Hafer - Ein Element der modernen Ernährung, Umschau Verlag, Frankfurt a.M.
- LAM TBT, IYAMA K, STONE BA (1992) Cinnamic acid bridges between cell wall polymers in wheat and phalaris internodes. *Phytochemistry* **31** 1179-1183
- LEHTONEN K, KETOLA M (1986) Derivatization of phenolic acids for capillary gas chromatography with hydrogen flame ionization and electron-capture detection. *J. Chromatogr.* **370** 465-473
- LEMPEREUR I, ROUAU X, ABECASSIS J (1997) Genetic and agronomic variation in arabinoxylan and ferulic acid contents of durum wheat (*Triticum durum* L.) grain and its milling fractions. *J. Cereal Sci.* **25** 103-110
- LEWIS BA (1991) Dietary fiber, in: *Encyclopedia of chemical technology*, KIRK RE, OTHMER DF, KROSHWITZ JF, HOWE-GRANT M (eds.), Vol. 10, John Wiley & Sons, New York, pp 137-148
- LOCHER R, MARTIN HV, GRISON R, PILET PE (1994) Cell wall-bound trans- and cis-ferulic acids in growing maize roots. *Physiol. Plant.* **90** 734-738
- MARKWALDER HU, NEUKOM H (1976) Diferulic acid as a possible crosslink in hemicelluloses from wheat germ. *Phytochemistry* **15** 836-837
- MCCALLUM JA, WALKER JRL (1991) Phenolic biosynthesis during grain development in wheat (*Triticum aestivum* L.) III. Changes in hydroxycinnamic acids during grain development. *J. Cereal Sci.* **13** 161-172
- MCDUGALL GJ, MORRISON IM, STEWART D, HILLMAN JR (1996) Plant cell walls as dietary fibre: range, structure, processing and function. *J. Sci. Food Agric.* **70** 133-150
- MCINTYRE A, GIBSON PR, YOUNG GP (1993) Butyrate production from dietary fibre and protection against large bowel cancer in a rat model. *Gut* **34** 386-391
- MCINTYRE A, YOUNG GP, TARANTO T, GIBSON PR, WARD PB (1991) Different fibers have different regional effects on luminal contents of rat colon. *Gastroenterology* **101** 1274-1281
- MCNEILL M, DARVILL AG, FRY SC, ALBERSHEIM P (1984) *Ann. Rev. Biochem.* **53** 625
- MICARD V, GRABBER JH, RALPH J, RENARD CMGC, THIBAUT J-F (1997) Dehydrodiferulic acids from sugar-beet pulp. *Phytochemistry* **44** 1365-1368
- MIYAMOTO K, UEDA J, TAKEDA S, IDA K, HOSON T, MASUDA Y, KAMISAKA S (1994) Light-induced increase in the contents of ferulic and diferulic acids in cell walls of *Avena* coleoptiles: its relationship to growth inhibition by light. *Physiol. Plant.* **92** 350-355
- MOLLER ME, DAHL R, BOCKMANN OC (1988) A possible role of the dietary fibre product, wheat bran, as a nitrite scavenger. *Food Chem. Toxicol.* **26** 841-845
- MUELLER-HARVEY I, HARTLEY RD, HARRIS PJ, CURZON EH (1986) Linkage of p-coumaroyl and feruloyl groups to cell-wall polysaccharides of barley straw. *Carbohydr. Res.* **148** 71-85
- NG A, GREENSHIELDS RN, WALDRON KW (1997) Oxidative cross-linking of corn bran hemicellulose: formation of ferulic acid dehydrodimers. *Carbohydr. Res.* **303** 459-462
- NIMZ HH, ROBER D, FAIX O, NEMR M (1981) Carbon-13 NMR spectra of lignins, 8 structural differences between lignins of hardwoods, softwoods, grasses and compression wood. *Holzforschung* **35** 16-26
- NISHITANI K, NEVINS DJ (1988) Enzymic analysis of feruloylated arabinoxylan (Feraxan) derived from *Zea mays* cell walls I. *Plant Physiol.* **87** 883-890

- NISHITANI K, NEVINS DJ (1990) Enzymic analysis of feruloylated arabinoxylans (Feraxan) derived from *Zea mays* cell walls. *Plant Physiol.* **93** 396-402
- NORDKVIST E, SALOMONSSON A-C, AMAN P (1984) Distribution of insoluble bound phenolic acids in barley grain. *J. Sci. Food Agric.* **35** 657-661
- OHASHI H, YAMAMOTO E, LEWIS NG, TOWERS GHN (1987) 5-Hydroxyferulic acid in *Zea mays* and *Hordeum vulgare* cell walls. *Phytochemistry* **26** 1915-1916
- OHTA T, YAMASAKI S, EGASHIRA Y, SANADA H (1994) Antioxidative activity of corn bran hemicellulose fragments. *J. Agric. Food Chem.* **42** 653-656
- OOSTERVELD A, GRABBER JH, BELDMAN G, RALPH J, VORAGEN AGJ (1997) Formation of ferulic acid dehydrodimers through oxidative cross-linking of sugar beet pectin. *Carbohydr. Res.* **300** 179-181
- OSTRANDER B, MAILLOT MP, TOILLON S, BARRIERE Y, POLLACSEK M, BESLE JM (1999) Cell wall phenolics and digestibility of normal and brown midrib maizes in different stem sections and across maturity stages. *J. Sci. Food Agric.* **79** 414-415
- PACKERT M (1993) Analytik und Bedeutung gebundener aromatischer Carbonsäuren der Nahrungsfaser aus Getreide und anderen Nutzpflanzen, Dissertation, Universität Hamburg
- PACKERT M, STEINHART H (1995) Separation and identification of some monomeric and dimeric phenolic acids by a simple gas chromatographic method using capillary column and FID-MSD. *J. Chromatogr. Sci.* **33**
- PARR AJ, NG A, WALDRON KW (1997) Ester-linked phenolic components of carrot cell walls. *J. Agric. Food Chem.* **45** 2468-2471
- PARR AJ, WALDRON KW, NG A, PARKER ML (1996) The wall-bound phenolics of chinese water chestnut (*Eleocharis dulcis*). *J. Sci. Food Agric.* **71** 501-507
- PATZ C-D, ZIMMER E, DIETRICH H (1993) Vergleichende Saccharidanalytik mit GC als Alditolacetate und HPIC. *Deutsch. Lebensm. Rd.* **89** 1-6
- PLAAMI SP (1997) Content of dietary fiber in foods and its physiological effects. *Food Rev. Int.* **13** 29-76
- PROSKY L, ASP N-G, SCHWEIZER TF, DeVRIES JW, FURDA I (1988) Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **71** 1017-1023
- PROVAN GJ, SCOBBIE L, CHESSON A (1994) Determination of phenolic acids in plant cell walls by microwave digestion. *J. Sci. Food Agric.* **64** 63-65
- QUIDEAU S, RALPH J (1997) Lignin-ferulate cross-links in grasses. Part 4. Incorporation of 5-5-coupled dehydrodiferulate into synthetic lignin. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 2351-2358
- RALET MC, FAULDS CB, WILLIAMSON G, THIBAUT JF (1994a) Degradation of feruloylated oligosaccharides from sugar-beet pulp and wheat bran by ferulic acid esterases from *Aspergillus niger*. *Carbohydr. Res.* **263** 257-269
- RALET MC, THIBAUT JF, DELLA BALLE G (1990) Influence of extrusion-cooking on the structure and properties of wheat bran. *J. Cereal Sci.* **11** 249-259
- RALET MC, THIBAUT JF, FAULDS CB, WILLIAMSON GW (1994b) Isolation and purification of feruloylated oligosaccharides from cell walls of sugar-beet pulp. *Carbohydr. Res.* **263** 227-241
- RALPH J, GRABBER JH, HATFIELD RD (1995) Lignin-ferulate cross-links in grasses: active incorporation of ferulate polysaccharide esters into ryegrass lignins. *Carbohydr. Res.* **275** 167-178
- RALPH J, HELM RF, QUIDEAU S, HATFIELD RD (1992) Lignin-feruloyl ester cross-links in grasses. Part 1. Incorporation of feruloyl esters into coniferyl alcohol dehydrogenation polymers. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **23** 2961-2969
- RALPH J, QUIDEAU S, GRABBER JH, HATFIELD RD (1994) Identification and synthesis of new ferulic acid dehydrodimers present in grass cell walls. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **23** 3485-3498
- RICHTZENHAIN H (1949) Enzymatische Versuche zur Entstehung des Lignins, IV. Mitteilung: Dehydrierungen in der Guajacolreihe. *Chem. Ber.* **82** 447-453
- RING SG, SELVENDRAN RR (1980) Isolation and analysis of cell wall material from beeswing wheat bran (*Triticum aestivum*). *Phytochemistry* **19** 1723-1730
- ROLF D, GRAY GR (1982) Reductive cleavage of glycosides. *J. Am. Chem. Soc.* **104** 3539-3541
- ROMBOUTS FM, THIBAUT J-F (1986) Enzymic and chemical degradation and the fine structure of pectins from sugar-beet pulp. *Carbohydr. Res.* **154** 189-203
- RYBKA K, SITARSKI J, RACZYNSKA-BOJANOWSKA K (1993) Ferulic acid in rye and wheat grain and grain dietary fiber. *Cereal Chem.* **70** 55-59

- SAEMAN JF, BUBL LJ, HARRIS EE (1954) Quantitative saccharification of wood and cellulose. *Industr. Engin. Chem.* **17** 35-37
- SALOMONSSON A, THEANDER O, AMAN P (1978) Quantitative determination by GLC of phenolic acids as ethyl derivatives in cereal straws. *J. Agric. Food Chem.* **26** 830-835
- SAULNIER L, THIBAUT J-F (1999) Ferulic acid and diferulic acids as components of sugar-beet pectins and maize bran heteroxylans. *J. Sci. Food Agric.* **79** 396-402
- SAULNIER L, VIGOUROUX J, THIBAUT J-F (1995) Isolation and partial characterization of feruloylated oligosaccharides from maize bran. *Carbohydr. Res.* **272** 241-253
- SCALBERT A, MONTIER B, LALLEMAND J-Y, GUITTET E, ROLANDO C (1985) Ether linkage between phenolic acids and lignin fractions from wheat straw. *Phytochemistry* **24** 1359-1362
- SCALBERT A, MONTIER B, ROLANDO C, SIERRA-ESCUADERO A (1986) Formation of ether linkage between phenolic acids and Granimeae lignin: a possible mechanism involving quinone methides. *Holzforschung* **40** 191-195
- SCHMIDT H, PFALLER W (1992) Theorie und Praxis der Kochextrusion von direkt und indirekt expandierten Cerealienprodukten. *Ernährung* **16** 9-16
- SCHMOLCK W, MERGENTHALER E (1973) Beiträge zur Analytik von Polysacchariden, die als Lebensmittelzusatzstoffe verwendet werden. II. Gaschromatographischer Nachweis nach Methanolyse und Trimethylsilylierung. *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **152** 263-273
- SCHNEEMAN BO (1989) Dietary fiber. *Food Technol.* **10** 133-139
- SCHNEEMAN BO, TINKER LF (1995) Dietary fiber. *Pediatric Clin. North Am.* **42** 825-838
- SCHULZE J, ZUNFT H-J (1993) Nahrungsbestandteile mit Ballaststoffcharakter, in: *Aktuelle Aspekte der Ballaststoffforschung*, J. Schulze und W. Bock (Hrsg.), Behr's Verlag, Hamburg, S. 47-62
- SCHULZE J, ZUNFT HJ, HAENEL H (1993) Zur Definition des Ballaststoffbegriffs, in: *Aktuelle Aspekte der Ballaststoffforschung*, Behr's Verlag, Hamburg, S. 21-28
- SEIBEL W, Herstellung von Lebensmitteln aus Spelz- und Schälgetreide, in: *Spelz- und Schälgetreide*, W. Seibel und W. Steller, Behr's Verlag, Hamburg 1993.
- SELVENDRAN RR, MACDOUGALL AJ (1995) Cell-wall chemistry and architecture in relation to sources of dietary fibre. *Eur. J. Clin. Nutr.* **49** 27-41
- SHARMA U, BRILLOUET J-M, SCALBERT A, MONTIER B (1986) *Agronomie* **6** 265-271
- SHI R, SCHWEDT G (1995) HPLC- und DC-Analytik phenolischer Inhaltsstoffe im Wein. *Deutsch. Lebensm. Rund.* **91** 14-17
- SHIBUYA N, IWASAKI T (1985) *Phytochemistry* **24** 285-289
- SHIBUYA N (1984) Phenolic acids and their carbohydrate esters in rice endosperm cell walls. *Phytochemistry* **23** 2233-2237
- SMITH MM, HARTLEY RD (1983) Occurrence and nature of ferulic acid substitution of cell-wall polysaccharides in graminaceous plants. *Carbohydr. Res.* **118** 65-80
- SOERGER KH (1994) Colonic fermentation: metabolic and clinical implications. *Clin. Invest.* **72** 742-748
- SOSULSKI F, KRYGIER K, HOGGE L (1982) Free, esterified, and insoluble-bound phenolic acids. 3. Composition of phenolic acids in cereal and potato flours. *J. Agric. Food Chem.* **30** 337-340
- SPILLER GA (1993) Definition of dietary fiber, in: *CRC Handbook of Dietary Fiber in Human Nutrition*, 2nd Edition, G.A. Spiller (Ed.), CRC Press Boca Raton, pp 15-18
- STEWART D, ROBERTSON GW, MORRISON IM (1992) Identification of cyclobutane-type dimers of substituted cinnamic acids by gas chromatography / mass spectrometry. *RCM Rapid Commun. Mass. Spectrom.* **6** 46-53
- STICH HF, DUNN BP, PIGNATELLI B, OSHIMA H, BARTSH H (1984) Dietary phenolics and betel nut extracts as modifiers of N-nitrosation in rat and man. *IAEC Sci. Publ.* **57** 213-222
- SWEELEY CC, BENTLEY R, MAKITA M, WELLS WW (1963) Gas-liquid chromatography of trimethylsilyl derivatives of sugars and related substances. *J. Am. Chem. Soc.* **85** 2497-2507
- SWEET DP, SHAPIRO RH, ALBERSHEIM P (1975) Quantitative analysis by various g.l.c. response-factor theories for partially methylated and partially ethylated alditol acetates. *Carbohydr. Res.* **40** 217-225
- TANAKA T, KOJIMA T, KAWAMORI T, WANG A, SUZUI M, OKAMOTO K, MORI H (1993) Inhibition of 4-nitroquinoline-1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis by the naturally occurring plant phenolics caffeic, allagic, chlorogenic and ferulic acids. *Carcinogenesis* **14** 1321-1325
- TROCK B, LANZA E, GREENWALD P (1990) Dietary fiber, vegetables, and colon cancer: critical review and meta-analyses of the epidemiologic evidence. *J. Natl. Cancer Inst.* **82** 650-661

- TROWELL H, SOUTHGATE DAT, WOLEVER TMS, LEEDS AR, GASULL MA, JENKINS DJA (1976) Dietary fiber redefined. *Lancet* **1** 967
- TURNER LB, MUELLER-HARVEY I, McALLAN AB (1993) Light-induced isomerization and dimerization of cinnamic acid derivatives in cell walls. *Phytochemistry* **33** 791-796
- VANDE CASTEELE K, GEIGER H, VAN SUMERE CE (1983) Separation of phenolics (benzoic acids, cinnamic acids, phenylacetic acids, quinic acid esters, benzaldehydes and acetophenones, miscellaneous phenolics) and coumarins by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **258** 111-124
- VERBRUGGEN MA, BELDMAN G, VORAGEN AGJ, HOLLEMANS M (1993) Water-unextractable cell wall material from sorghum: isolation and characterization. *J. Cereal Sci.* **17** 71-82
- VISSEER J, BELDMAN G, KUSTER-VAN SOMEREN MA, VORAGEN AGJ (eds.) (1992) Xylans and Xylanases, Elsevier, Amsterdam
- WALDRON KW, NG A, PARKER ML, PARR AJ (1997) Ferulic acid dehydrodimers in the cell walls of beta vulgaris and their possible role in texture. *J. Sci. Food Agric.* **74** 221-228
- WALDRON KW, PARR AJ, NG A, J. RALPH (1996) Cell wall esterified phenolic dimers: identification and quantification by reverse phase high performance liquid chromatography and diode array detection. *Phytochem. Anal.* **7** 305-312
- WANG W-M, KLOPFENSTEIN CF, PONTE JR. JG (1993) Effects of twin-screw extrusion on the physical properties of dietary fiber and other components of whole wheat and wheat bran and on the baking quality of the wheat bran. *Cereal Chem.* **70** 707-711
- WARGOVICH MJ, ENG VW, NEWMARK HL (1985) Inhibition of plant phenols of benzo[a]pyrene-induced nuclear aberrations in mammalian intestinal cells: a rapid in vivo method. *Food Chem. Toxicol.* **23** 47-49
- WENDE G, FRY SC (1997) 2-O-b-D-Xylopyranosyl-(5-O-feruloyl)-L-arabinose, a widespread component of grass cell walls. *Phytochemistry* **44** 1019-1030
- WILKIE KCB (1979) The hemicelluloses of grasses and cereals. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **36** 215-264
- WILL F, DIETRICH H (1990) Untersuchung der Zuckerbausteine von Polysacchariden des Weines. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **191** 123-128
- WOOLARD GR, RATHBONE EB, NOVELLIE L (1976) Structural studies on a glucuronoarabinoxylan from the husk of sorghum grain. *Carbohydr. Res.* **51** 239-247
- ZUPFER JM, CHURCHILL KE, RASMUSSEN DC, FULCHER RG (1998) Variation in ferulic acid concentration among diverse barley cultivars measured by HPLC and microspectrophotometry. *J. Agric. Food Chem.* **46** 1350-1354
- ZWINGELBERG H (1993) Müllerische Bearbeitung, in: *Spelz- und Schälgetreide*, W. Seibel und W. Steller (Hrsg.), Behr's Verlag, Hamburg

## 8 Anhang

### 8.1 Geräte und Meßparameter

#### 8.1.1 Gaschromatographie (GC)

##### **Gerät 1**

*zur Bestimmung der Phenolcarbonsäuren und der Monosaccharide nach Methanolyse*

|                    |                                                                                   |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Gerät:             | Hewlett Packard, HP 5890 Gaschromatograph Series II                               |
| Säule:             | HP-5 (95% Methyl, 5%Phenyl), 30m, 0.32mm ID; 0.25 Filmdicke                       |
| Vorsäule:          | 2m fused-silica-Kapillare, phenyldesaktiviert; 0.32 ID                            |
| Injektor:          | on-column                                                                         |
| Detektor:          | FID                                                                               |
| Trärgas:           | Helium; 300 kPa; 1,5 ml min <sup>-1</sup> ; column head pressure: 55 kPa          |
| Make-up Gas:       | Helium                                                                            |
| Brenngase:         | Sauerstoff; 250 kPa<br>Wasserstoff; 135 kPa                                       |
| Auswerteeinheit:   | HP-Personal Computer mit HP 3365 Series II Chem Station,<br>Software Version A.03 |
| Injektionsvolumen: | 0,5 bis 1,0 µl                                                                    |

##### **Gerät 2**

*zur Bestimmung der Monosaccharide als Alditolacetate nach SAEMAN-Hydrolyse*

|                    |                                                             |
|--------------------|-------------------------------------------------------------|
| Gerät:             | Carlo Erba GC 6000 Vega Series II                           |
| Säule:             | HP-5 (95% Methyl, 5%Phenyl), 30m, 0.32mm ID; 0.25 Filmdicke |
| Vorsäule:          | 2m fused-silica-Kapillare, phenyldesaktiviert; 0.32 ID      |
| Injektor:          | split 1:10                                                  |
| Detektor:          | FID                                                         |
| Trärgas:           | Helium; 1 ml min <sup>-1</sup>                              |
| Make-up Gas:       | Helium                                                      |
| Brenngase:         | Sauerstoff<br>Wasserstoff                                   |
| Auswerteeinheit:   | LCD Analytical D-2500 computing integrator, Merck/Hitachi   |
| Injektionsvolumen: | 1,0 µl                                                      |

**Temperaturprogramme*****TMS-Derivate der monomeren Phenolcarbonsäuren***

Anfangstemperatur: 60°C

Dauer: 21.0 min

Anfangszeit: 2 min

Detektortemperatur: 300°C

|         | Rate [°C/min] | Final temp.<br>[°C] | Final time<br>[min] |
|---------|---------------|---------------------|---------------------|
| Level 1 | 20.0          | 220                 | 0.00                |
| Level 2 | 10.0          | 280                 | 5.00                |
| Level 3 | -             | -                   | -                   |

***TMS-Derivate der dimeren Phenolcarbonsäuren***

Anfangstemperatur: 60°C

Dauer: 50.0 min

Anfangszeit: 2 min

Detektortemperatur: 320°C

|         | Rate [°C/min] | Final temp.<br>[°C] | Final time<br>[min] |
|---------|---------------|---------------------|---------------------|
| Level 1 | 20.0          | 220                 | 0.00                |
| Level 2 | 10.0          | 280                 | 5.00                |
| Level 3 | 5.0           | 300                 | 25.00               |

***TMS-Derivate der Methylglycoside bzw. der Methylglycosidester***

Anfangstemperatur: 60°C

Dauer: 36.0 min

Anfangszeit: 1 min

Detektortemperatur: 320°C

|         | Rate [°C/min] | Final temp.<br>[°C] | Final time<br>[min] |
|---------|---------------|---------------------|---------------------|
| Level 1 | 25.0          | 150                 | 0.00                |
| Level 2 | 5.00          | 250                 | 0.00                |
| Level 3 | 25.00         | 300                 | 5.00                |

***Alditolacetate der Monosaccharide nach SAEMAN-Hydrolyse***

Anfangstemperatur: 150°C

Dauer: 31.6 min

Anfangszeit: 3 min

Detektortemperatur: 300°C

Injektortemperatur: 250°C

|         | Rate [°C/min] | Final temp.<br>[°C] | Final time<br>[min] |
|---------|---------------|---------------------|---------------------|
| Level 1 | -             | 150                 | 3.00                |
| Level 2 | 5.0           | 220                 | 10.00               |
| Level 3 | 20.0          | 300                 | 5.00                |

### 8.1.2 Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS)

Gerät: Varian GC 3400  
 Säule: BPX 5 (SGE, Weiterstadt); 30m; 0.25 ID; 0.25µm Filmdicke  
 Vorsäule: fused silica - Säule (desaktiviert) (3m; 0.25 ID)  
 Injektor: SSL-Injektor 1075, JADE-Injektionsventil  
 Massenspektrometer: INCOS 50 B, Finnigan MAT, U.K.  
     Ionisationsenergie: 70 eV  
     Ionenquelle: 180°C  
     Scanbereich: m/z 70 bis 700  
     Scangeschwindigkeit: 1,7 scans/sec  
 Trägergas: Helium; 1,5 ml min<sup>-1</sup>  
 Auswerteeinheit: DG 10, Data General  
 Injektionsvolumen: 1,0 µl

#### *Temperaturprogramm für die TMS-Derivate der dimeren Phenolcarbonsäuren*

Anfangstemperatur: 60°C                      Dauer: 40.0 min  
 Anfangszeit: 2 min                      Detektortemperatur: 300°C

|         | Rate [°C/min] | Final temp.<br>[°C] | Final time<br>[min] |
|---------|---------------|---------------------|---------------------|
| Level 1 | 20.0          | 220                 | 0.00                |
| Level 2 | 10.0          | 300                 | 22.00               |
| Level 3 | -             | -                   | -                   |

### 8.1.3 Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC)

Pumpe: L-6200 Intelligent Pump; Merck/Hitachi  
 Autosampler: AS-4000 Intelligent Autosampler; Merck/Hitachi  
 Säulenofen: T-6300 Column Thermostat; Merck/Hitachi  
 Detektor: Waters 994 Programmable Photodiode Array Detector; Millipore  
 Auswerteeinheit: DART

Säule: Nucleosil 120-5 C18; 250 x 4 mm; CS Chromatographie Service  
 Injektionsvolumen: 20 µl  
 Flußrate: 1 ml min<sup>-1</sup>

Gradient: Fließmittel A: Methanol  
 Fließmittel B: 0,01%ige wäßrige TFA (v/v)

| Zeit [min] | A [%] | B [%] |
|------------|-------|-------|
| 0          | 25    | 75    |
| 5          | 25    | 75    |
| 15         | 50    | 50    |
| 20         | 100   | 0     |
| 25         | 25    | 75    |
| 30         | 25    | 75    |

### 8.1.4 Sonstige Geräte

|                                       |                                                                                            |
|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ethanolbad:                           | FOC-1 K40 (Christ, Osterode)                                                               |
| Gefriertrocknung:                     | Gerät A) LOC.2.Beta 1-16 (Christ, Osterode)<br>Gerät B) LOC-1 Alpha 1-4 (Christ, Osterode) |
| Kjeldahl-Aufschluß-<br>block:         | Tecator, Digestion System 6, 1007 Digester                                                 |
| Kjeldahl-Destillations-<br>apparatur: | Vapodest 12                                                                                |
| Metallheizblock:                      | Eigenbau                                                                                   |
| pH-Meter mit Elektrode:               | CG 801 (Schott, Mainz)                                                                     |
| Schlagmessermühle:                    | A 10 S (Jahnke & Kunkel GmbH & Co. KG)                                                     |
| Ultraschallbad:                       | Branasonic 12 (B12)                                                                        |
| UV-Strahler:                          | Ultravitalux-Sonnenstrahler, 300W (Osram)                                                  |
| Vakuum-Einheit zur SPE:               | spe-10 (J.T. Baker)                                                                        |
| Vakuumtrockenschrank:                 | RVT 360 (Heraeus, Hanau)                                                                   |
| Wasserbad:                            | 1. C12 Thermo-Temp (mgw Lauda)<br>2. Firma GFL, Type 1012                                  |
| Zentrifuge:                           | 1. UJ III (Heraeus, Hanau)<br>2. EBA III (Hettich, Tuttlingen)                             |

### 8.2 Verwendete Chemikalien

| Substanz                     | Gef.<br>sym.   | R-Sätze                     | S-Sätze              | Firma |
|------------------------------|----------------|-----------------------------|----------------------|-------|
| Acetanhydrid                 | C              | 10-34                       | 26                   | Merck |
| Aceton                       | F              | 11                          | 9-16-23-33           | Merck |
| Acetonitril                  | T, F           | 11-23/24/25                 | 16-27-44             | Merck |
| Acetylchlorid                | F, C           | 11-14-34                    | 9-16-26-45           | Merck |
| Alcalase (Protease)          | --             | --                          | --                   | Novo  |
| AMG (Amyloglucosidase)       | --             | --                          | --                   | Novo  |
| Ammoniak-Lösung,<br>25%ig    | Xi             | 36/37/38                    | 2-26                 | Merck |
| p-Anisidin                   | T <sup>+</sup> | 26/27/28-33                 | 28-36/37-45          | Merck |
| Arabinose                    | --             | --                          | --                   | Merck |
| Borsäure                     |                | 20/21/22-36/37/38-40        | 26-36-22             | Merck |
| BSTFA (mit 1% TMCS)          | Xi             | 10-34                       | 16-26-28-36-45       | Fluka |
| Calciumchlorid               | Xi             | 36                          | 22-24                | Merck |
| Citronensäure-<br>Monohydrat | --             | --                          | --                   | Merck |
| Chloroform                   | Xn             | 47-20/22-38-40-48           | 53-36/37             | Merck |
| o-Cumarsäure                 | --             | --                          | --                   | Sigma |
| p-Cumarsäure                 | --             | --                          | --                   | Sigma |
| Dichlormethan                | Xn             | 40                          | 23.2-24/25-<br>36/37 | Merck |
| Dimethylsulfoxid             | Xn             | 20/21/22-36/37/38-<br>42/43 | 26-36-23             | Merck |

| Substanz                         | Gef.<br>sym. | R-Sätze           | S-Sätze          | Firma |
|----------------------------------|--------------|-------------------|------------------|-------|
| Diphenylamin                     | T            | 23/24/25-33       | 28-36/37-45      | Merck |
| Meso-Erythrit                    | --           | 36/37/38          | 26-36            | Merck |
| Essigsäure, 96%ig                | F            | 10-35             | 2-23.2-26        | Merck |
| Essigsäureanhydrid               | C            | 10-34             | 26-45            | Merck |
| Ethanol                          | F            | 11                | 7-16             | Merck |
| Ethylacetat                      | F            | 11                | 16-23.2-29-33    | Merck |
| Ferulasäure                      |              | 36/37/38          | 26-36            | Sigma |
| Glukose                          | --           | --                | --               | Merck |
| Glukuronsäure                    | --           | --                | --               | Merck |
| n-Hexan                          | F, Xn        | 11-20-48          | 9-16-24/25-29-51 | Merck |
| Iod-Lösung                       | --           | --                | --               | Merck |
| Iodmethan                        | T            | 21-23/25-37/38-40 | 36/37-38-45      | Merck |
| Malonsäure                       | Xn           | 22-36             | 22-24            | Merck |
| Methanol                         | T, F         | 11-23/25          | 2-7-16-24        | merck |
| 1-Methylimidazol                 | C            | 20/21/22-36/37/38 | 26-36            | Merck |
| Natriumborhydrid                 | F, C, T      | 15-25-34          | 14.2-26-36/37/39 |       |
| Natriumchlorid                   | --           | 36/37/38          | 26-36            | Merck |
| Natriumhydrogen-carbonat         | --           | --                | --               | Merck |
| di-Natriumhydrogen-phosphat      | --           | --                | --               | Merck |
| Natriumdihydrogen-phosphat       | --           | --                | --               | Merck |
| Natriumhydroxid                  | C            | 35                | 2-26-27-37/39    | Merck |
| Natriumsulfat                    | --           | 36/3738           | 26-36            | Merck |
| Natriumthiosulfat                | --           | 36/37/38          | 24/25            | Sigma |
| Peroxidase Typ I                 | --           | --                | --               | Sigma |
| Phloroglucin                     | --           | 36/37/38          | 24/25            | Sigma |
| Phosphorsäure                    | --           | 34-2              | 26               | Merck |
| Piperidin                        | F, T         | 11-23/24-34       | 16-26-27-45      | Merck |
| Pyridin                          | F, Xi        | 11-20/21/22       | 26-28.1          | Fluka |
| Salpetersäure, 65%ig             | C            | 34-37             | 2-26-30          | Merck |
| Salzsäure, 37%ig                 | C            | 34-37             | 2-26             | Merck |
| Schwefelsäure, 95-97%ig          | C            | 35                | 2-26-30          | Merck |
| Selenreaktionsgemisch            | T            | 23/25-33          | 20/21-28-44      | Merck |
| Tashiro-Indikator                |              |                   |                  | Merck |
| Termamyl ( $\alpha$ -Amylase)    | --           | --                | --               | Novo  |
| Toluol                           | F, Xn        | 47-11-20          | 53-16-25-29-33   | Merck |
| Triethylsilan                    | C            | 10-34             | 26               | Fluka |
| Trifluormethansulfonat           | --           | --                | --               | Fluka |
| Trifluoressigsäure               | C            | 20-35             | 9-26-27-28.1     | Merck |
| Wasserstoffperoxid-Lösung, 30%ig | C            | 11-20/21-38       | 16-25-29         | Merck |
| Xylose                           | --           | --                | --               | Merck |

## 8.3 Methodendurchführung

### 8.3.1 Isolierung der LNF und UNF

Die Isolierung der LNF und UNF erfolgt in Anlehnung an die amtliche Methode nach §35 LMBG (L 00.00-18; BgVV, 1997).

#### ***Vorbereitung des Untersuchungsmaterials***

- Probe mit Labormühle < 0,5 mm zerkleinern
- Trocknung über Nacht bei 40°C im Vakuumtrockenschrank
- Entfettung durch dreimalige Extraktion mit n-Hexan
- Entfernung der Lösungsmittelreste im Vakuumtrockenschrank

#### ***Enzymatischer Abbau***

- ca. 10 g fettfreie Trockenmasse werden in einen 500 ml Iodzahlkolben eingewogen
- 300 ml Phosphatpuffer (pH = 6,0) zusetzen, suspendieren
- 750 µl thermostabile  $\alpha$ -Amylase hinzupipettieren
- 15 min im Wasserbad bei 95°C bis 100°C inkubieren, alle 5 min schütteln
- abkühlen auf 60°, mit ca. 5 ml Natronlauge (c = 2 mol/l) auf pH = 7,5 einstellen
- 35 µl Proteinase hinzupipettieren
- 30 min im Wasserbad bei 60°C inkubieren, alle 5 min schütteln
- mit Salzsäure (c = 6 mol/l) auf pH = 4,5 einstellen
- 350 µl Amyloglucosidase hinzupipettieren
- 30 min im Wasserbad bei 60°C inkubieren, alle 5 min schütteln
- 10 min zentrifugieren, zweimal mit dest. Wasser waschen
- Überstand zur Gewinnung der LNF, Rückstand zur Gewinnung der UNF einsetzen

#### ***Isolierung der löslichen Nahrungsfaser***

- Überstand und Waschwasser des Zentrifugats vereinigen und mit dem 4-fachen Überschuß an Ethanol (96%ig) fällen, über Nacht stehen lassen
- überstehende Lösung abdekantieren und Rückstand zentrifugieren, Überstand verwerfen
- Rückstand in gewogene Zentrifugengläser überführen, zweimal mit Ethanol waschen
- im Vakuumtrockenschrank über Nacht trocknen und als UNF auswiegen

#### ***Isolierung der unlöslichen Nahrungsfaser***

- Rückstand aus enzymatischen Abbau in gewogene Zentrifugengläser überführen und zweimal mit Ethanol waschen
- im Vakuumtrockenschrank über Nacht trocknen und als UNF auswiegen

### **Bestimmung des Aschegehalts in der Nahrungsfaser**

Die Bestimmung des Aschegehalts erfolgt nach der Methode nach § 35 LMBG (L 46.03-05; BgVV, 1997)

- 0,5 bis 1,0 g der LNF bzw. UNF in eine Quarzschale einwiegen
- 24 h bei 550°C im Muffelofen veraschen
- im Exsiccator abkühlen, wiegen

### **Bestimmung des Proteingehalts in der Nahrungsfaser**

Die Bestimmung des Proteingehalts erfolgt nach der Methode der Bestimmung des Gesamtstickstoffgehalts nach KJELDAHL (Faktor 5,70 für Getreideprodukte; Faktor 6,35 für Mais) nach § 35 LMBG (L 06.00-07; BgVV, 1997)

- 0,2 bis 0,6 g lösliche bzw. UNF in einen KJELDAHL-Aufschlußkolben einwiegen
- 2 g Selenreaktionsgemisch und 20 ml konz. Schwefelsäure hinzufügen
- im Aufschlußblock so lange erhitzen bis die Lösung klar ist
- aufgeschlossene Lösung in Kjeldahldestillationsapparatur nach Zugabe von ca. 80 ml Natronlauge (c = 330 g/l) 8 min in Vorlage von 50 ml Borsäure (c = 40 g/l) destillieren
- mit Salzsäure (c = 0,1 mol/l) titrieren; Tashiro als Indikator verwenden

## **8.3.2 Phenolcarbonsäuren**

### **8.3.2.1 Synthese der Cyclobutandicarbonsäuredimere**

Die Darstellung der Cyclobutandimere erfolgt in Anlehnung an FORD & HARTLEY (1989) und MORRISON et al. (1991, 1992).

- ca. 100mg pCS und/oder FS in Methanol lösen und in einen 2L-Rundkolben überführen
- Lösungsmittel am Rotationsverdampfer oder im Stickstoffstrom entfernen; dabei auf eine gleichmäßige, möglichst großflächige Ausbildung der Substanzschicht achten
- den weißlichen Substanzbelag am Boden des Rundkolbens mit UV-Licht bestrahlen (siehe Tabelle)
- alle 48h die feste Schicht in Methanol lösen und durch Abdampfen des Lösungsmittels die Substanzschicht erneuern
- nach der Photodimerisation die Cyclobutandimere in dest. Wasser aufnehmen
- Gefriertrocknung der synthetisierten Substanzen

| Dimer | Monomer  | Menge                           | Bestrahlungsdauer |
|-------|----------|---------------------------------|-------------------|
| CC    | pCS      | ~ 100mg                         | 2 Tage            |
| FF    | FS       | ~ 100mg                         | 7 Tage            |
| CF    | pCS + FS | im Molverhältnis<br>1:1 mischen | 7 Tage            |

### **8.3.2.2 Synthese des 5-5' Ferulasäure-Dehydrodimers**

Die Darstellung der 5-5' Dehydrodiferulasäure erfolgt nach BAUMGARTNER & NEUKOM (1972) und RICHTZENHAIN (1949). Zunächst wird Vanillin in einer enzymatischen Oxidation zu Dehydrodivanillin umgesetzt. In der darauffolgenden Reaktionsstufe erfolgt mit Malonsäure die Umsetzung zur Dehydrodiferulasäure.

- 1g Vanillin (6,6mmol) in 300ml Citratpuffer (pH=4,25) in der Wärme lösen
- nach dem Abkühlen 16,8ml 3%ige H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung zusetzen (molares Verhältnis H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : Vanillin = 0,75)
- 10mg Peroxidase Typ I (120 E/mg) hinzufügen
- bei 35-38°C 18h umsetzen
- ausfallendes Dehydrodivanillin mittels einer Fritte G3 abfiltrieren, mit dest. Wasser waschen und im Vakuumtrockenschrank trocknen
- 500mg Dehydrodivanillin in 1ml Pyridin lösen
- 380mg Malonsäure hinzufügen
- 40µl Piperidin hinzufügen
- bei Raumtemperatur im Dunkeln 14 Tage lang rühren
- Ansatz in 80ml Salzsäure (c=6 mol/l) gießen
- ausfallende Dehydrodiferulasäure abfiltrieren, nachwaschen und im Vakuumtrockenschrank trocknen

### **8.3.2.3 Alkalihydrolyse**

- ca. 50 bis 100 mg der UNF in ein Pyrexglas einwiegen
- 5 ml Natronlauge (c = 1 mol/l) hinzufügen
- 5 min im Ultraschallbad dispergieren
- Kopfraum des Pyrexglases mit Stickstoff begasen, Glas verschließen
- 24 h bei Raumtemperatur im Dunkeln rühren
- Lösung zentrifugieren, Rückstand zweimal mit dest. Wasser waschen, klare Lösungen abdekantieren und vereinigen
- vereinigte Lösungen mit konz. Phosphorsäure auf pH 2-3 einstellen und evtl. auftretenden Niederschlag abzentrifugieren
- klares Zentrifugat zur Festphasenextraktion einsetzen

### **8.3.2.4 Alkalische Druckhydrolyse**

- ca. 100 mg UNF in einen Teflonbehälter zum Druckaufschluß einwiegen
- 4 ml Natronlauge (c = 4 mol/l) zugeben
- Teflonbehälter in Aufschlußbomben geben
- 1 h bei 170°C aufschließen
- Aufschlußlösung zentrifugieren, Rückstand zweimal mit dest. Wasser waschen, klare Lösungen abdekantieren und vereinigen
- mit konz. Phosphorsäure auf pH  $\approx$  3 einstellen und einen evtl. auftretenden Niederschlag abzentrifugieren oder filtrieren
- klare Lösung zur Festphasenextraktion einsetzen

### 8.3.2.5 Festphasenextraktion

*Interner Aufarbeitungsstandard:*

oCS:  $c = 10,45 \text{ mg/100 ml dest. Wasser}$

**Methode A:** *Säulen mit Octadecylsilylphase*

stationäre Phasen: Bond Elut C-18, 500 mg/3 ml (Fa. Varian)

Bond Elut HF-18, high flow, 500 mg/3 ml (Fa. Varian)

- 1 ml des internen Aufarbeitungsstandards oCS ( $c = 10,45 \text{ mg/100 ml dest. Wasser}$ ) zur klaren Lösung aus 8.3.2.1 oder 8.3.2.4 hinzugeben
- Säule konditionieren: 1 Säulenvolumen Methanol  
1 Säulenvolumen dest. Wasser
- Probenlösung auf die Säule geben
- mit 20 ml dest. Wasser (mit  $\text{H}_3\text{PO}_4$  angesäuert;  $\text{pH} \approx 3$ ) waschen
- neutralwaschen mit ca. 15 ml dest. Wasser
- mit 5 ml dest. Wasser / Methanol (50/50, v/v) eluieren
- 1 bis 1,5 ml des Eluats zur Silylierung oder HPLC-Analyse einsetzen

**Methode B:** *Säulen mit Styroldivinylbenzolphase*

stationäre Phase: Bakerbond, SDB-1, 200 mg/3 ml (Fa. Baker)

- 1 ml des internen Aufarbeitungsstandards oCS ( $c = 10,45 \text{ mg/100 ml dest. Wasser}$ ) zur klaren Lösung aus 8.3.2.1 oder 8.3.2.4 hinzugeben
- Säule konditionieren: 1 Säulenvolumen Methanol  
1 Säulenvolumen dest. Wasser
- Probenlösung auf die Säule geben
- mit 30 ml Methanol / dest. Wasser (20/80, v/v) waschen
- mit 5 ml Methanol eluieren
- 1 bis 1,5 ml des Eluats zur Silylierung oder HPLC-Analyse einsetzen

### 8.3.2.6 TMS-Derivatisierung der Phenolcarbonsäuren

#### Standardlösungen

*Interner Volumenstandard für die GC:*

Phloroglucin:  $c = 21,3 \text{ mg/100 ml 70\%igem Ethanol}$

*Phenolcarbonsäure-Standardlösungen für die GC:*

|           |            |                                                |
|-----------|------------|------------------------------------------------|
| Monomere: | FS:        | $c = 27,97 \text{ mg/100 ml Methanol}$         |
|           | pCS:       | $c = 20,29 \text{ mg/100 ml Methanol}$         |
|           | oCS:       | $c = 20,9 \text{ mg/100 ml Methanol}$          |
| Dimere:   | FF-Dimere: | $c \sim 5 \text{ mg/5 ml Methanol}$            |
|           | CC-Dimere: | $c \sim 40 \text{ mg/100 ml 70\%igem Ethanol}$ |
|           | 5-5' DFS:  | $c \sim 5 \text{ mg/10 ml Methanol}$           |

**TMS-Derivatisierung der Phenolcarbonsäuren**

- Aliquot des SPE-Eluats in Braunglasgefäße (1,7 ml; silyldesaktiviert; mit teflangedichtetem Schraubdeckel) pipettieren  
bzw.  
je 100 µl der Monomeren-Standardlösungen und der CC-Dimeren-Standardlösung sowie 200 µl der FF-Dimeren-Standardlösung
- 50 µl Phloroglucin-Lösung zugeben
- im Stickstoffstrom bis zur Trockne eindampfen
- Rückstand mit 50 bzw. 100 µl BSTFA-Derivatisierungsreagenz versetzen
- 1 h bei 70°C im Heizblock umsetzen, gelegentlich schütteln
- 0,5 bis 1 µl für die gaschromatographische Analyse verwenden

**8.3.2.7 HPLC-Analyse****Standardlösungen**

|           |            |                            |
|-----------|------------|----------------------------|
| Monomere: | FS:        | c = 1 mg/100 ml Methanol   |
|           | pCS:       | c = 1 mg/100 ml Methanol   |
|           | oCS:       | c = 1,1 mg/100 ml Methanol |
| Dimere:   | FF-Dimere: | c ~ 2 mg/100 ml Methanol   |
|           | 5-5' DFS:  | c ~ 2 mg/100 ml Methanol   |

**HPLC-Analyse der Phenolcarbonsäuren**

- 0,5 - 1ml des SPE-Eluats bzw. 200µl der Standardlösungen in 4ml-Braunglasgefäße pipettieren und im Stickstoffstrom zur Trockne bringen
- in 1 ml Methanol / Wasser (20:80, v/v) aufnehmen
- Lösung membranfiltrieren und in die HPLC einspritzen

**8.3.3 Kohlenhydrate****8.3.3.1 Methanolyse und Trimethylsilylierung****Standardlösungen***Interner Standard:*

|                |                                                         |
|----------------|---------------------------------------------------------|
| meso-Erythrit: | c = 18,3 mg/100 ml Methanol → für den externen Standard |
|                | c = 73,0 mg/100 ml Methanol → für die Proben            |

*Monosaccharidstandardlösung:*

|                |                                    |
|----------------|------------------------------------|
| Arabinose:     | c = 20,8 mg/100 ml 70%igem Ethanol |
| Xylose:        | c = 19,1 mg/100 ml 70%igem Ethanol |
| Glukose:       | c = 21,3 mg/100 ml 70%igem Ethanol |
| Glukuronsäure: | c = 32,9 mg/100 ml 70%igem Ethanol |

**Methanolyse**

*Herstellung der methanolischen Salzsäure ( $c = 4 \text{ mol/l}$ ):*

200 ml getrocknetes Methanol werden mittels einer Eis/Kochsalz-Mischung auf etwa  $-20^\circ\text{C}$  gekühlt und unter Feuchtigkeitsausschluß tropfenweise mit 60 ml Acetylchlorid versetzt. Die genaue Konzentration des gebildeten Chlorwasserstoffs wird durch Titration eines aliquoten Anteils mit Natriumhydroxid-Maßlösung ( $c = 0,5 \text{ mol/l}$ ) ermittelt. Die Lösung wird bei  $-20^\circ\text{C}$  aufbewahrt.

- ca. 10 mg UNF in Pyrexgläser einwiegen  
bzw.  
100  $\mu\text{l}$  der Monosaccharidstandardlösung in Pyrexgläser pipettieren
- 1 ml methanolische Salzsäure ( $c = 2 \text{ mol/l}$  für die Proben bzw.  
 $c = 0,5 \text{ mol/l}$  für den Monosaccharidstandard)  
zugeben
- 4 h bei  $100^\circ\text{C}$  im Heizblock umsetzen, gelegentlich vorsichtig schütteln
- Proben zentrifugieren und in 5 ml Meßkolben überführen
- 50  $\mu\text{l}$  Pyridin hinzufügen
- Proben mit Methanol zur Marke auffüllen
- 2,5 ml der Probelösung mit 50  $\mu\text{l}$  des internen Standards meso-Erythrit versetzen  
bzw.  
neutralisierte Standardlösung mit 100  $\mu\text{l}$  meso-Erythrit-Lösung versetzen
- im Stickstoffstrom eindampfen

**Silylierung**

- eingedampfte Probe mit 700  $\mu\text{l}$  Silylierungsreagenz (Pyridin/BSTFA, 70/30, v/v)  
bzw.  
eingedampften Monosaccharidstandard mit 100  $\mu\text{l}$  Silylierungsreagenz versetzen
- 1 h bei  $60^\circ\text{C}$  im Heizblock umsetzen, gelegentlich umschwenken
- 0,5  $\mu\text{l}$  zur Injektion in den Gaschromatographen verwenden

**8.3.3.2 Saure Hydrolyse nach SAEMAN und Derivatisierung zu Alditolacetaten****Standardlösungen**

*Interner Standard:*

meso-Erythrit:  $c = 12,9 \text{ mg/100 ml}$  80%iger Essigsäure

*Monosaccharidstandardlösungen:*

Arabinose:  $c = 10,4 \text{ mg/10 ml}$  dest. Wasser

Xylose:  $c = 10,5 \text{ mg/10 ml}$  dest. Wasser

Glukose:  $c = 10,4 \text{ mg/10 ml}$  dest. Wasser

**SAEMAN-Hydrolyse**

- ca. 20 - 30 mg der UNF in ein kleines Pyrexglas einwiegen
- 250  $\mu\text{l}$  72%igen (w/w) Schwefelsäure zugeben
- 45 min abwechselnd ins Ultraschallbad stellen und umschütteln (übermäßige Erwärmung der Probe vermeiden, da ansonsten Teile der Probe verkohlen)

- 2,7 ml stickstoffgesättigtes dest. Wasser zugeben (Verdünnung auf ca. 1 mol/l  $\text{H}_2\text{SO}_4$ )
- 3 h bei 110°C im Trockenschrank hydrolysieren
- stündlich die Proben kräftig schütteln
- mit Eiswasser auf Raumtemperatur abkühlen
- mit 800 µl 25%igem Ammoniak neutralisieren
- zentrifugieren
- überstehende Lösung in einen 10 ml-Meßkolben dekantieren
- Rückstand zweimal mit Wasser waschen, Zentrifugate in den Meßkolben überführen
- 10 ml-Meßkolben mit dest. Wasser zur Marke auffüllen
- Pyrexglas mit unlöslichem Rückstand (Klason-Lignin) im Vakuumtrockenschrank trocknen, wiegen

#### ***Reduktion der Zucker zu den Alditolen***

- 100 µl des neutralisierten Hydrolysats in ein großes Pyrexglas pipettieren bzw.  
je 100µl der Monosaccharidstandardlösungen in ein großes Pyrexglas pipettieren und im Stickstoffstrom zur Trockne bringen; Rückstand in 100µl dest. Wasser aufnehmen
- 1 ml frische Natriumborhydrid-Lösung (2 g/100 ml DMSO) zugeben
- 1 h bei 60°C im Heizblock rühren
- Lösung abkühlen
- 100 µl internen Standard meso-Erythrit (in 80%iger Essigsäure) hinzufügen

#### ***Acetylierung der Zuckeralkohole***

- Lösung der Zuckeralkohole (s.o.) bei Raumtemperatur mit 2 ml Essigsäureanhydrid versetzen
- 200 µl 1-Methylimidazol als Katalysator zugeben
- 10 min bei Raumtemperatur reagieren lassen
- 5 ml dest. Wasser unter Kühlung mit Eiswasser hinzufügen (Zerstörung des überschüssigen Essigsäureanhydrids)

#### ***Extraktion der Alditolacetate***

- 2 ml Chloroform zugeben
- durch kräftiges Schütteln gut mischen
- überstehende Wasserphase entfernen
- organische Phase noch zweimal mit je 3 ml dest. Wasser waschen
- bei -20°C das restliche Wasser ausfrieren
- Chloroformphase in 1,75 ml-Braunglasfläschchen abfüllen
- 1 µl der Lösung in den Gaschromatographen injizieren

### **8.3.3.3 Methylierung und Reduktive Depolymerisation**

#### **Methylierung**

- 2 - 20 mg UNF werden in ein 4ml Schraubdeckelglas eingewogen
- 0,2 - 1 ml DMSO zugeben
- Lösung unter Erwärmen auf max. 120°C vervollständigen
- berechnete Menge frisch gepulvertes Natriumhydroxid (2,5 Äquivalente / abstrahierbarem H-Atom) hinzufügen
- 1 h bei Raumtemperatur rühren
- Methyljodid zugeben (äquimolare Menge zur NaOH-Menge)
- über Nacht bei Raumtemperatur rühren
- 1 ml Chloroform hinzufügen
- mit Natriumthiosulfatlösung ( $c = 0,1 \text{ mol/l}$ ) waschen, zentrifugieren
- mit dest. Wasser neutral waschen (ca. 3x)
- organische Phase in gewogene Schraubdeckelgläschen abpipettieren und zweimal mit Chloroform nachextrahieren
- vereinigte organische Phasen im Stickstoffstrom eindampfen und Material über Nacht im Vakuumtrockenschrank bei 40°C trocknen
- permethyliertes Material auswiegen und in definiertem Chloroform-Volumen aufnehmen ( $\gg 1 \text{ mg/ml}$ )

#### **Reduktive Spaltung**

- 0,5 - 2 mg des permethylierten Materials (d.h. entsprechendes Volumen der Chloroformlösung) in ein 1,75 ml-Braunglas geben und im Stickstoffstrom das Lösungsmittel bis zur Trockne entfernen
- Material in 200  $\mu\text{l}$  Dichlormethan aufnehmen
- 15  $\mu\text{l}$  TES pro mg permethyliertes Material zugeben
- 17  $\mu\text{l}$  TMS-O-Triflat pro mg permethyliertes Material zugeben
- 3 h bei Raumtemperatur rühren

#### **Basische Acetylierung**

- 20  $\mu\text{l}$  Acetanhydrid hinzufügen
- 10  $\mu\text{l}$  1-Methylimidazol als Katalysator zugeben
- 1 h bei Raumtemperatur rühren

#### **Extraktion der PMAAA**

- 200  $\mu\text{l}$  Dichlormethan zupipettieren
- gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung hinzufügen
- 30 min rühren
- mit dest. Wasser neutral waschen (ca. 3x)
- organische Phase in 1,75 ml-Gläschen abpipettieren und wässrige Phase mit 200  $\mu\text{l}$  Dichlormethan nachextrahieren
- vereinigte organische Phasen über Calciumchlorid trocknen (über Nacht)
- über Natriumsulfat filtrieren und Dichlormethan im Stickstoffstrom abdampfen
- PMAAA in 200  $\mu\text{l}$  meso-Erythritoltetraacetatlösung (ca. 0,1 mg/ml) aufnehmen
- GC-Einspitzung (1  $\mu\text{l}$ )

## 8.4 Auswertung

### 8.4.1 Phenolcarbonsäuren

#### 8.4.1.1 GC-Analyse der TMS-Derivate

##### *Berechnung der Flächenkorrekturfaktoren*

Der Gehalt an phenolischen Carbonsäuren wird nach der Methode des Internen Standards berechnet. Die Flächenkorrekturfaktoren ( $K_f$ -Werte) werden wie folgt berechnet:

$$K_f = \frac{A_{IS} \cdot m_{PCS}}{m_{IS} \cdot A_{PCS}}$$

$K_f$  = Flächenkorrekturfaktor  
 $A_{IS}$  = Peakfläche des internen Standard oCS  
 $A_{PCS}$  = Peakfläche der jeweiligen Phenolcarbonsäure  
 $m_{IS}$  = Menge des internen Standards oCS [ $\mu\text{g}$  in Der.lsg.]  
 $m_{PCS}$  = Menge der jeweiligen Phenolcarbonsäure [ $\mu\text{g}$  in Der.lsg.]

Da für dimere phenolische Carbonsäuren keine Standards zur Quantifizierung vorlagen, wurden, um eine halbquantitative Abschätzung zu ermöglichen, die Flächenkorrekturfaktoren gleich 1 gesetzt.

##### *Berechnung des Phenolcarbonsäuregehalts in der Nahrungsfaser*

Die Konzentration der jeweiligen phenolischen Carbonsäuren in der Probelösung wird nach folgender Formel berechnet:

$$m_{PCS} = \frac{K_f \cdot c_{IS} \cdot A_{MS}}{A_{IS}}$$

$m_{PCS}$  = Konzentration der Phenolcarbonsäure in der Probelösung [ $\mu\text{g}$  in Der.lsg.]  
 $c_{IS}$  = Konzentration des internen Standards oCS in der Probelösung [ $\mu\text{g}$  in Der.lsg.]  
 $K_f$  = Flächenkorrekturfaktor  
 $A_{IS}$  = Peakfläche des internen Standards oCS  
 $A_{PCS}$  = Peakfläche der Phenolcarbonsäure

Unter Einbeziehung der Einwaage und des Verdünnungsfaktors  $F_V$  errechnet sich der Gehalt der Phenolcarbonsäure in der Nahrungsfaser [ $\mu\text{g/g}$ ] wie folgt:

$$M_{PCS} = \frac{c_{PCS} \cdot F_V}{E_{NF}}$$

$M_{PCS}$  = Gehalt der Phenolcarbonsäure in der Nahrungsfaser [ $\mu\text{g/g}$ ]  
 $c_{PCS}$  = Konzentration der Phenolcarbonsäure in der Probelösung [ $\mu\text{g}$  in Derivatisierungslösung]  
 $F_V$  = Verdünnungsfaktor  
 $E_{NF}$  = Einwaage der Nahrungsfaser [g]

**Relative Retentionszeiten und Flächenkorrekturfaktoren der monomeren phenolischen Carbonsäuren, DFS und FE**

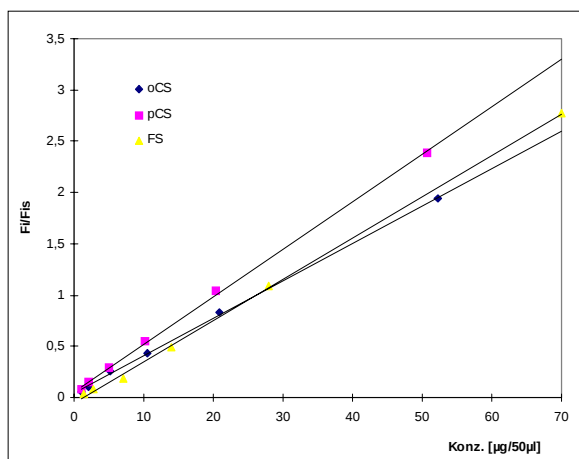
| Substanz     | RRT   | Kf <sub>0-CS</sub> |
|--------------|-------|--------------------|
| Phloro       | 1,000 | -                  |
| oCS          | 1,111 | 1,000              |
| c-pCS        | 1,092 | -                  |
| t-pCS        | 1,191 | 1,535              |
| c-FS         | 1,184 | -                  |
| t-FS         | 1,289 | 2,961              |
| 8-8'aryl DFS | 2,367 | 1,000              |
| 8-8' DFS     | 2,401 | 1,000              |
| FE I         | 2,637 | 1,000              |
| FE II        | 2,675 | 1,000              |
| 8-5' DFS     | 2,696 | 1,000              |
| 8-O-4' DFS   | 3,147 | 1,000              |
| 5-5' DFS     | 3,365 | 1,000              |

**Relative Retentionszeiten, Flächenkorrekturfaktoren und prozentuale Verteilung der Isomeren im CC-Dimeren-Standard**

| Substanz | RRT   | Kf <sub>0-CS</sub> | %-Anteile |
|----------|-------|--------------------|-----------|
| CC-1     | 1,900 | 1,000              | 0,05      |
| CC-2     | 1,944 | 1,000              | 0,10      |
| CC-3     | 2,006 | 1,000              | 0,32      |
| CC-4     | 2,042 | 1,000              | 0,11      |
| CC-5     | 2,096 | 1,000              | 0,20      |
| CC-ht-6  | 2,123 | 1,000              | 0,25      |
| CC-ht-7  | 2,151 | 1,000              | 0,47      |
| CC-hh-8  | 2,162 | 1,000              | 0,35      |
| CC-ht-9  | 2,223 | 1,000              | 3,08      |
| CC-ht-10 | 2,258 | 1,000              | 95,06     |

**Relative Retentionszeiten, Flächenkorrekturfaktoren und prozentuale Verteilung der Isomeren im FF-Dimeren-Standard**

| Substanz | RRT   | Kf <sub>0-CS</sub> | %-Anteile |
|----------|-------|--------------------|-----------|
| FF-hh-1  | 2,152 | 1,000              | 1,4       |
| FF-ht-2  | 2,214 | 1,000              | 1,9       |
| FF-hh-3  | 2,282 | 1,000              | 0,1       |
| FF-ht-4  | 2,309 | 1,000              | 2,9       |
| FF-hh-5  | 2,325 | 1,000              | 4,9       |
| FF-hh-6  | 2,379 | 1,000              | 9,5       |
| FF-ht-7  | 2,427 | 1,000              | 1,4       |
| FF-ht-8  | 2,462 | 1,000              | 1,1       |
| FF-ht-9  | 2,508 | 1,000              | 76,7      |

**Linearitäten**

Regressionsgeraden:

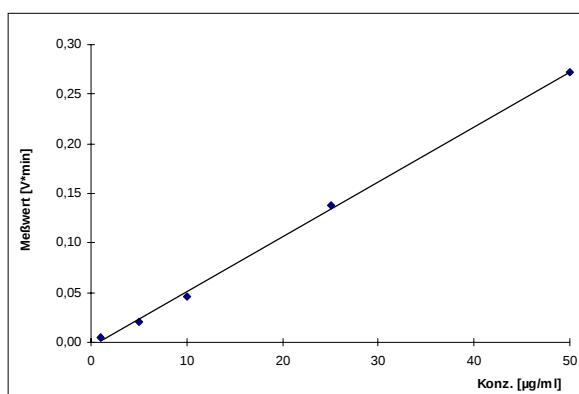
$$\text{oCS} \quad y = 0,0364 \cdot x + 0,0489; r=0,9996$$

$$\text{pCS} \quad y = 0,0463 \cdot x + 0,0613; r=0,9996$$

$$\text{FS} \quad y = 0,0403 \cdot x - 0,0536; r=0,9997$$

**8.4.1.2 HPLC-Analyse****Relative Retentionszeiten der monomeren und dimeren phenolischen Carbonsäuren**

|              | RT   | RRT <sub>FS</sub> | RRT <sub>5-5' DFS</sub> | RRT <sub>oCS</sub> |
|--------------|------|-------------------|-------------------------|--------------------|
| Vanillin     | 8,7  | 0,635             | 0,429                   | 0,561              |
| t-pCS        | 12,3 | 0,898             | 0,606                   | 0,794              |
| t-FS         | 13,7 | 1,000             | 0,675                   | 0,884              |
| c-pCS        | 14,3 | 1,044             | 0,704                   | 0,923              |
| c-FS         | 14,8 | 1,080             | 0,729                   | 0,955              |
| oCS          | 15,5 | 1,131             | 0,764                   | 1,000              |
| 8-8'aryl DFS | 10,9 | 0,796             | 0,537                   | 0,703              |
| 8-5' DFS     | 11,5 | 0,839             | 0,567                   | 0,742              |
| 8-8' DFS     | 15,8 | 1,153             | 0,778                   | 1,019              |
| 8-O-4' DFS   | 18,6 | 1,358             | 0,916                   | 1,200              |
| 5-5' DFS     | 20,3 | 1,482             | 1,000                   | 1,310              |

**Linearität**

Regressionsgerade:

$$\text{FS} \quad y = 0,0056 \cdot x - 0,0049; r=0,9994$$

## 8.4.2 Kohlenhydrate

### 8.4.2.1 SAEMAN-Hydrolyse und Methanolyse

#### Berechnung der Flächenkorrekturfaktoren

Der Gehalt an Monosacchariden wird nach der Methode des Internen Standards berechnet. Zur Berechnung der Flächenkorrekturfaktoren ( $K_f$ -Werte) wird die nachfolgende Formel benutzt. Bei der Methanolyse werden zuvor die Peakflächen der Methylglykoside der jeweiligen Monosaccharide addiert und die Summe auf den internen Standard meso-Erythrit bezogen.

$$K_f = \frac{A_{IS} \cdot m_{MS}}{m_{IS} \cdot A_{MS}}$$

$K_f$  = Flächenkorrekturfaktor  
 $A_{IS}$  = Peakfläche des internen Standard Erythrit  
 $A_{MS}$  = Peakfläche des jeweiligen Monosaccharids (Alditolacetate) bzw. Summe der Peakflächen bei den Methylglycosiden  
 $m_{IS}$  = Menge des internen Standards Erythrit [ $\mu\text{g}$  in Der.lsg.]  
 $m_{MS}$  = Menge des jeweiligen Monosaccharids [ $\mu\text{g}$  in Der.lsg.]

Bei glykosidischer Bindung der Monosaccharide im Polysaccharid wird je Baustein ein Molekül Wasser abgespalten. Die Flächenkorrekturfaktoren  $K_f$  müssen daher mit dem Quotienten  $Q$  aus den molaren Massen der Bausteine in glykosidischer Bindung und der Monosaccharidstandards multipliziert werden. Man erhält den Umrechnungsfaktor  $U_f$ .

$$U_f = K_f \cdot Q \quad \text{mit} \quad Q = \frac{MG_g}{MG_M}$$

$U_f$  = Umrechnungsfaktor  
 $K_f$  = Flächenkorrekturfaktor  
 $Q$  = Quotient  
 $MG_g$  = Molekulargewicht des Monosaccharids in glykosidischer Bindung [g/mol]  
 $MG_M$  = Molekulargewicht des Monosaccharidstandards [g/mol]

Die Flächenkorrekturfaktoren  $K_f$  wurden regelmäßig überprüft und gegebenenfalls korrigiert.

Die unten folgenden Tabellen geben die Flächenkorrektur- und Umrechnungsfaktoren beispielhaft wieder.

### **Berechnung des Monosaccharidgehalts in der Nahrungsfaser**

Die Konzentration des jeweiligen Monosaccharids in der Probelösung wird nach folgender Formel berechnet:

$$m_{MS} = \frac{U_f \cdot m_{IS} \cdot A_{MS}}{A_{IS}}$$

- $m_{MS}$  = Konzentration des Monosaccharids in der Probelösung [ $\mu\text{g}$  in Der.lsg.]  
 $U_f$  = Umrechnungsfaktor  
 $A_{IS}$  = Peakfläche des internen Standards Erythrit  
 $A_{MS}$  = Peakfläche des Monosaccharids (Alditolacetate) bzw. Summe der Peakflächen bei den Methylglycosiden  
 $m_{IS}$  = Menge des internen Standards Erythrit [ $\mu\text{g}$  in Der.lsg.]

Unter Einbeziehung der Einwaage und des Verdünnungsfaktors  $F_V$  errechnet sich der Gehalt des Monosaccharids in der Nahrungsfaser [mg/g] wie folgt:

$$M_{MS} = \frac{c_{MS} \cdot F_V}{E_{NF} \cdot 1000}$$

- $M_{MS}$  = Gehalt des Monosaccharids in der Nahrungsfaser [mg/g]  
 $c_{MS}$  = Konzentration des Monosaccharids in der Probelösung [ $\mu\text{g}$  in Der.lsg.]  
 $F_V$  = Verdünnungsfaktor  
 $E_{NF}$  = Einwaage der Nahrungsfaser [g]

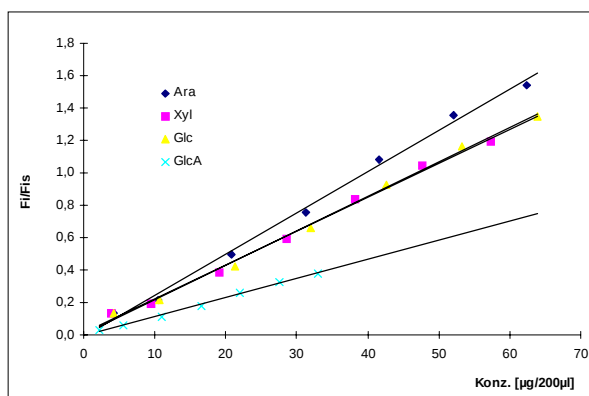
### **Relative Retentionszeiten und Flächenkorrekturfaktoren**

#### **Methanolyse**

| Monosaccharid | Abkürzung | Ringform | Peak-Nr. | RRT   | Kf     | Q    | $U_f$  |
|---------------|-----------|----------|----------|-------|--------|------|--------|
| meso-Erythrit | Ery       | -        | 1        | 1,000 | 1,000  | -    | -      |
| Arabinose     | Ara       | <i>f</i> | 2        | 1,062 | 1,5835 | 0,88 | 1,3935 |
|               |           | <i>p</i> | 3        | 1,067 |        |      |        |
|               |           | <i>f</i> | 4        | 1,086 |        |      |        |
|               |           | <i>p</i> | 5        | 1,136 |        |      |        |
| Xylose        | Xyl       | <i>p</i> | 6        | 1,244 | 1,4931 | 0,88 | 1,3139 |
|               |           | <i>p</i> | 7        | 1,274 |        |      |        |
| Glukose       | Glc       | <i>p</i> | 8        | 1,643 | 2,1933 | 0,9  | 1,9740 |
|               |           | <i>p</i> | 9        | 1,673 |        |      |        |
| Glukuronsäure | GlcA      | <i>p</i> | 10       | 1,673 | 5,0486 | 0,98 | 4,9476 |
|               |           | <i>p</i> | 11       | 1,699 |        |      |        |

**SAEMAN-Hydrolyse**

| Monosaccharid | Abkürzung | RRT   | Kf     | Q    | U <sub>f</sub> |
|---------------|-----------|-------|--------|------|----------------|
| meso-Erythrit | Ery       | 1,000 | 1,000  | -    | -              |
| Arabinose     | Ara       | 1,565 | 0,9333 | 0,88 | 0,8213         |
| Xylose        | Xyl       | 1,606 | 0,9381 | 0,88 | 0,8255         |
| Glukose       | Glc       | 2,134 | 0,6406 | 0,90 | 0,5765         |

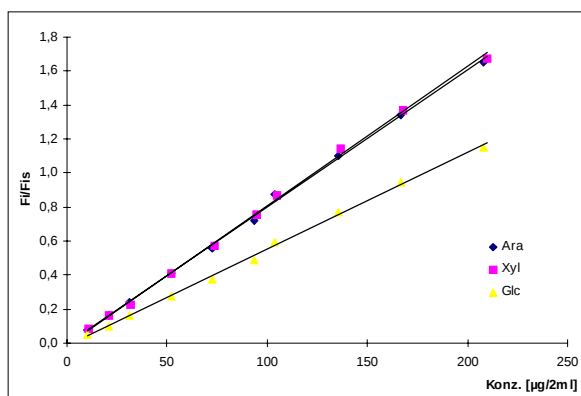
**Linearitäten****Methanolyse****Regressionsgeraden:**

Arabinose  $y = 0,0255 \cdot x - 0,0121$ ;  $r=0,9977$

Xylose  $y = 0,0209 \cdot x + 0,0151$ ;  $r=0,9976$

Glukose  $y = 0,0213 \cdot x + 0,0022$ ;  $r=0,9983$

Glukuronsäure  $y = 0,0117 \cdot x - 0,0051$ ;  $r=0,9979$

**SAEMAN-Hydrolyse****Regressionsgeraden:**

Arabinose  $y = 0,0085 \cdot x - 0,0245$ ;  $r=0,9888$

Xylose  $y = 0,0079 \cdot x - 0,0007$ ;  $r=0,9981$

Glukose  $y = 0,0057 \cdot x - 0,0190$ ;  $r=0,9982$

### 8.4.2.2 Reduktive Depolymerisation

#### *Berechnung der Reagenzienmengen für die Methylierung*

Die Natriumhydroxidmenge wird nach folgender Formel berechnet:

$$m_{\text{NaOH}} = \frac{m_{\text{PS}} \cdot H \cdot eq_{\text{NaOH}} \cdot MG_{\text{NaOH}}}{MG_{\text{AP}}}$$

$m_{\text{NaOH}}$  = Natriumhydroxidmenge [mg]  
 $m_{\text{PS}}$  = eingesetzte Polysaccharidmenge [mg]  
 $MG_{\text{NaOH}}$  = Molekulargewicht von NaOH = 40 g/mol  
 $MG_{\text{AP}}$  = Molekulargewicht der Anhydropentose  
 = 150 g/mol  
 $H$  = Anzahl der abstrahierbaren H-Atome = 3  
 $eq_{\text{NaOH}}$  = NaOH-Äquivalente pro Mol zu ersetzendes  
 H-Atom = 2,5

Aus der benötigten Natriumhydroxidmenge ergibt sich das DMSO-Volumen, welches zum Lösen des Polysaccharids eingesetzt wird. Es sollte so bemessen sein, daß eine NaOH-Konzentration von 1 mmol pro ml DMSO nicht überschritten wird.

#### *Abkürzungen der PMAAA-Derivate*

| PMAAA-Derivat                                        | Abkürzung     |
|------------------------------------------------------|---------------|
| 1,4-Anhydro-2,3,5-tri-O-methyl-D-arabitol            | t-Araf        |
| 1,5-Anhydro-2,3,4-tri-O-methyl-D-xylitol             | t-Xylp        |
| 1,4-Anhydro-2-O-acetyl-3,5-di-O-methyl-D-arabitol    | 2-Ac-Araf     |
| 1,4-Anhydro-3-O-acetyl-2,5-di-O-methyl-D-arabitol    | 3-Ac-Araf     |
| 1,5-Anhydro-4-O-acetyl-2,3-di-O-methyl-D-xylitol     | 4-Ac-Xylp     |
| 1,4-Anhydro-5-O-acetyl-2,3-di-O-methyl-D-xylitol     | 5-Ac-Xylf     |
| 1,5-Anhydro-3,4-di-O-acetyl-2-O-methyl-D-xylitol     | 3,4-Ac-Xylp   |
| 1,4-Anhydro-3,5-di-O-acetyl-2-O-methyl-D-xylitol     | 3,5-Ac-Xylf   |
| 1,5-Anhydro-2,4-di-O-acetyl-3-O-methyl-D-xylitol     | 2,4-Ac-Xylp   |
| 1,4-Anhydro-2,5-di-O-acetyl-3-O-methyl-D-xylitol     | 2,5-Ac-Xylp   |
| 1,5-Anhydro-2,3,4-tri-O-acetyl-D-xylitol             | 2,3,4-Ac-Xylp |
| 1,4-Anhydro-2,3,5-tri-O-acetyl-D-xylitol             | 2,3,5-Ac-Xylf |
| 1,5-Anhydro-2,3,4,6-tri-O-methyl-D-glucitol          | t-Glcp        |
| 1,5-Anhydro-4-O-acetyl-2,3,6-tri-O-methyl-D-glucitol | 4-Ac-Glcp     |
| 1,4-Anhydro-5-O-acetyl-2,3,6-tri-O-methyl-D-glucitol | 5-Ac-Glcf     |

***Relative Retentionszeiten und E.C.R.-Faktoren der PMAAA-Derivate***

| PMAAA-Derivat        | Derivat-Nr. | RRT   | E.C.R. | F <sub>mol</sub> |
|----------------------|-------------|-------|--------|------------------|
| t-Xylp               | 1           | 0,414 | 400    | 1,0000           |
| t-Araf               | 2           | 0,450 | 400    | 1,0000           |
| 2-Ac-Araf            | 3           | 0,596 | 445    | 0,8989           |
| 3-Ac-Araf            | 4           | 0,616 | 445    | 0,8989           |
| 4-Ac-Xylp            | 5           | 0,622 | 445    | 0,8989           |
| t-Glcp               | 6           | 0,684 | 455    | 0,8791           |
| 5-Ac-Xylf            | 7           | 0,729 | 455    | 0,8791           |
| 3,4-Ac-Xylp          | 8           | 0,788 | 490    | 0,8163           |
| 3,5-Ac-Xylf          | 9           | 0,817 | 500    | 0,8000           |
| 2,4-Ac-Xylp          | 10          | 0,850 | 490    | 0,8163           |
| 2,5-Ac-Xylf          | 11          | 0,868 | 500    | 0,8000           |
| 4-Ac-Glcp            | 12          | 0,890 | 545    | 0,7339           |
| 2,3,4-Ac-Xylp        | 13          | 0,917 | 535    | 0,7476           |
| 5-Ac-Glcf            | 14          | 0,930 | 555    | 0,7207           |
| 2,3,5-Ac-Xylf        | 15          | 0,979 | 545    | 0,7339           |
| Ery(Ac) <sub>4</sub> | IS          | 1,000 | 400    | -                |

## 8.5 Ergebnisse

### 8.5.1 Charakterisierung des Untersuchungsmaterials: Trockenmasse, Fett- und Nahrungsfasergehalte

#### Getreide-Rohmaterial

|              | <b>TM</b><br>[mg/g] | <b>Fett</b><br>[mg/g] | <b>UNF</b><br>[mg/g TM] |
|--------------|---------------------|-----------------------|-------------------------|
| Weizenkleie  | 918                 | 12                    | 505                     |
| Roggen       | 875                 | 13                    | 137                     |
| Gerstenkleie | 945                 | 25                    | 139                     |
| Haferkleie   | 961                 | 58                    | 152                     |
| Mais         | 952                 | 13                    | 65                      |
| Reis         | 925                 | 5                     | 18                      |
| Hirse        | 928                 | 31                    | 15                      |

#### Getreide-Extrudate

|               | <b>TM</b><br>[mg/g] | <b>Fett</b><br>[mg/g] | <b>LNF</b> [mg/g TM] |      | <b>UNF</b> [mg/g TM] |      |
|---------------|---------------------|-----------------------|----------------------|------|----------------------|------|
|               |                     |                       | MW                   | s    | MW                   | s    |
| <b>Gerste</b> |                     |                       |                      |      |                      |      |
| Rohstoff G1   | 945                 | 25                    | 59                   | 1,1  | 139                  | 5,6  |
| V7 G1 01      | 976                 | 11                    | 77                   | 2,2  | 137                  | 4,2  |
| <b>Hafer</b>  |                     |                       |                      |      |                      |      |
| RohstoffH1    | 961                 | 58                    | 90                   | 3,2  | 157                  | 0,4  |
| V6 H1 01      | 979                 | 51                    | 122                  | 11,2 | 120                  | 5,8  |
| V6 H1 06      | 989                 | 73                    | 110                  | 2,8  | 119                  | 10,0 |
| <b>Mais</b>   |                     |                       |                      |      |                      |      |
| Maisgries     | 952                 | 13                    | 3                    | 0,8  | 65                   | 2,0  |
| Maiscollets   | 1000                | 3                     | 5                    | 1,4  | 47                   | 5,3  |
| <b>Weizen</b> |                     |                       |                      |      |                      |      |
| RohstoffW3    | 918                 | 12                    | 41                   | 0,6  | 505                  | 8,9  |
| vv 11 3       | 976                 | 25                    | 51                   | 3,2  | 524                  | 15,7 |
| vv 11 5       | 982                 | 32                    | 62                   | 9,3  | 452                  | 1,8  |
| vv 11 7       | 981                 | 22                    | 57                   | 2,5  | 727                  | 4,1  |
| vv 11 11      | 977                 | 28                    | 62                   | 4,8  | 426                  | 2,8  |

#### Haferprodukte

|              | <b>TM</b><br>[mg/g] | <b>Fett</b><br>[mg/g] | <b>LNF</b> [mg/g TM] |     | <b>UNF</b> [mg/g TM] |     |
|--------------|---------------------|-----------------------|----------------------|-----|----------------------|-----|
|              |                     |                       | MW                   | s   | MW                   | s   |
| Rohhafer     | 883                 | 65                    | 40                   | 3,5 | 65                   | 1,3 |
| Darre        | 899                 | 71                    | 41                   | 6,8 | 55                   | 5,7 |
| Haferflocken | 893                 | 66                    | 36                   | 6,0 | 58                   | 3,5 |
| Haferkleie   | 889                 | 73                    | 91                   | 6,9 | 120                  | 8,6 |
| EHF          | 944                 | 20                    | 45                   | 4,0 | 58                   | 3,9 |
| EHK          | 946                 | 33                    | 96                   | 6,9 | 118                  | 8,4 |

## 8.5.2 Phenolcarbonsäuregehalte

### 8.5.2.1 Getreide-Rohmaterial

Alkalihydrolyse (estergebundene PCS)

| [µg/g UNF]   | Weizen |        | Roggen |       | Gerste |       | Hafer |       |
|--------------|--------|--------|--------|-------|--------|-------|-------|-------|
|              | MW     | s      | MW     | s     | MW     | s     | MW    | s     |
| pCS          | 283    | 34,7   | 665    | 9,5   | 151    | 11,5  | 405   | 70,1  |
| FS           | 15224  | 1691,2 | 7183   | 117,3 | 6401   | 365,2 | 3328  | 436,4 |
| 8-8'aryl DFS | 71     | 18,1   | 66     | 3,6   | 121    | 22,5  | 57    | 13,7  |
| 8-8' DFS     | 6      | 5,7    | 18     | 3,2   | 25     | 7,9   | 29    | 12,0  |
| 8-5' DFS     | 53     | 11,9   | 96     | 14,6  | 44     | 7,4   | 26    | 11,9  |
| 8-O-4' DFS   | 50     | 25,6   | 6      | 1,2   | 62     | 21,0  | 9     | 9,7   |
| 5-5' DFS     | 105    | 15,5   | 36     | 12,2  | 114    | 20,9  | 32    | 15,9  |
| FF           | 27     | 0,2    | 32     | 5,3   | 51     | 3,2   | 16    | 2,5   |
| FE I         | 21     | 4,6    | 53     | 4,4   | 8      | 1,2   | tr    | -     |
| FE II        | 23     | 20,6   | n.n.   | -     | 22     | 13,4  | 3     | 2,3   |

| [µg/g UNF]   | Mais  |       | Reis |       | Hirse |       |
|--------------|-------|-------|------|-------|-------|-------|
|              | MW    | s     | MW   | s     | MW    | s     |
| pCS          | 502   | 38,5  | 310  | 41,6  | 4219  | 536,8 |
| FS           | 10318 | 311,4 | 3046 | 338,6 | 18573 | 343,0 |
| 8-8'aryl DFS | 87    | 6,7   | n.n. | -     | 373   | 37,2  |
| 8-8' DFS     | 18    | 6,0   | n.n. | -     | 44    | 30,3  |
| 8-5' DFS     | 27    | 10,5  | n.n. | -     | 182   | 36,4  |
| 8-O-4' DFS   | 32    | 28,0  | n.n. | -     | 163   | 19,2  |
| 5-5' DFS     | 87    | 79,5  | n.n. | -     | 192   | 9,5   |
| FF           | n.n.  | -     | n.n. | -     | 262   | 43,7  |
| FE I         | n.n.  | -     | n.n. | -     | 70    | 16,7  |
| FE II        | 22    | 19,8  | n.n. | -     | 192   | 4,2   |

*Alkalische Druckhydrolyse (ester- und ethergebundene PCS)*

| [µg/g UNF]   | <b>Weizen</b> |       | <b>Roggen</b> |        | <b>Gerste</b> |       | <b>Hafer</b> |       |
|--------------|---------------|-------|---------------|--------|---------------|-------|--------------|-------|
|              | MW            | s     | MW            | s      | MW            | s     | MW           | s     |
| pCS          | 338           | 19,3  | 1439          | 93,2   | 140           | 26,3  | 153          | 27,6  |
| FS           | 18884         | 243,0 | 9193          | 1518,4 | 6289          | 573,1 | 3282         | 486,1 |
| 8-8'aryl DFS | 147           | 2,7   | 162           | 34,5   | 178           | 39,9  | 96           | 39,4  |
| 8-8' DFS     | 127           | 22,7  | 188           | 7,1    | 71            | 15,7  | 47           | 40,1  |
| 8-5' DFS     | 146           | 6,0   | 117           | 35,0   | 135           | 24,9  | 84           | 18,4  |
| 8-O-4' DFS   | 182           | 15,7  | 124           | 68,4   | 163           | 19,2  | 107          | 20,5  |
| 5-5' DFS     | 205           | 15,7  | 123           | 35,9   | 197           | 46,3  | 132          | 46,5  |
| FF           | 33            | 2,1   | 22            | 1,3    | 34            | 11,8  | 9            | 1,3   |
| FE I         | n.n.          | -     | n.n.          | -      | n.n.          | -     | n.n.         | -     |
| FE II        | 96            | 7,7   | 100           | 55,0   | n.n.          | -     | n.n.         | -     |

| [µg/g UNF]   | <b>Mais</b> |        | <b>Reis</b> |       | <b>Hirse</b> |        |
|--------------|-------------|--------|-------------|-------|--------------|--------|
|              | MW          | s      | MW          | s     | MW           | s      |
| pCS          | 262         | 33,3   | 298         | 53,3  | 1936         | 881,8  |
| FS           | 9440        | 1030,0 | 3823        | 518,4 | 18047        | 2613,4 |
| 8-8'aryl DFS | 186         | 25,5   | 57          | 7,4   | 1098         | 390,9  |
| 8-8' DFS     | 45          | 4,1    | 15          | 7,2   | 393          | 98,5   |
| 8-5' DFS     | 117         | 38,5   | 32          | 5,7   | 322          | 36,1   |
| 8-O-4' DFS   | 170         | 32,0   | 41          | 8,6   | 374          | 49,3   |
| 5-5' DFS     | 160         | 58,8   | 36          | 3,3   | 281          | 38,1   |
| FF           | tr          | -      | n.n.        | -     | 57           | 4,4    |
| FE I         | n.n.        | -      | tr          | -     | 495          | 37,9   |
| FE II        | n.n.        | -      | 32          | 5,7   | 322          | 36,1   |

**8.5.2.2 Getreide-Extrudate****Gerste***Alkalihydrolyse**(estergebundene PCS)*

| [µg/g UNF]   | <b>Rohstoff G1</b> |       | <b>V7 G1 01</b> |       |
|--------------|--------------------|-------|-----------------|-------|
|              | MW                 | s     | MW              | s     |
| PCS          | 151                | 11,5  | 132             | 12,4  |
| FS           | 6401               | 365,2 | 6014            | 249,3 |
| 8-8'aryl DFS | 121                | 22,5  | 137             | 26,6  |
| 8-8' DFS     | 25                 | 7,9   | 36              | 10,6  |
| 8-5' DFS     | 44                 | 7,4   | 47              | 10,3  |
| 8-O-4' DFS   | 62                 | 21,0  | 74              | 12,9  |
| 5-5' DFS     | 114                | 20,9  | 117             | 15,5  |
| FF           | 32                 | 2,0   | 32              | 3,9   |
| FE I         | 8                  | 1,2   | 9               | 2,0   |
| FE II        | 22                 | 13,4  | 28              | 10,0  |

*Alkalische Druckhydrolyse**(ester- und ethergebundene PCS)*

| [µg/g UNF]   | <b>Rohstoff G1</b> |       | <b>V7 G1 01</b> |       |
|--------------|--------------------|-------|-----------------|-------|
|              | MW                 | s     | MW              | s     |
| pCS          | 140                | 26,3  | 109             | 7,8   |
| FS           | 6289               | 573,1 | 6820            | 157,8 |
| 8-8'aryl DFS | 178                | 39,9  | 194             | 8,3   |
| 8-8' DFS     | 71                 | 15,7  | 84              | 13,1  |
| 8-5' DFS     | 135                | 24,9  | 186             | 10,2  |
| 8-O-4' DFS   | 163                | 19,2  | 228             | 19,7  |
| 5-5' DFS     | 197                | 46,3  | 278             | 13,9  |
| FF           | 21                 | 7,3   | 26              | 0,6   |
| FE I         | n.n.               | -     | n.n.            | -     |
| FE II        | n.n.               | -     | n.n.            | -     |

**Mais***Alkalihydrolyse**(estergebundene PCS)*

| [µg/g UNF]   | <b>Maisgries</b> |       | <b>Maiscollets</b> |       |
|--------------|------------------|-------|--------------------|-------|
|              | MW               | s     | MW                 | s     |
| PCS          | 502              | 38,5  | 559                | 43,8  |
| FS           | 10336            | 312,0 | 13026              | 488,3 |
| 8-8'aryl DFS | 87               | 6,7   | 194                | 12,8  |
| 8-8' DFS     | 18               | 6,0   | 35                 | 2,8   |
| 8-5' DFS     | 27               | 10,5  | 68                 | 7,3   |
| 8-O-4' DFS   | 33               | 28,1  | 226                | 28,9  |
| 5-5' DFS     | 87               | 79,6  | 278                | 54,0  |
| FF           | n.n.             | -     | n.n.               | -     |
| FE I         | n.n.             | -     | n.n.               | -     |
| FE II        | 22               | 19,8  | n.n.               | -     |

*Alkalische Druckhydrolyse**(ester- und ethergebundene PCS)*

| [µg/g UNF]   | <b>Maisgries</b> |        | <b>Maiscollets</b> |       |
|--------------|------------------|--------|--------------------|-------|
|              | MW               | s      | MW                 | s     |
| pCS          | 263              | 33,4   | 679                | 68,7  |
| FS           | 9457             | 1031,8 | 13988              | 452,2 |
| 8-8'aryl DFS | 186              | 25,5   | 276                | 23,1  |
| 8-8' DFS     | 45               | 4,1    | 71                 | 14,5  |
| 8-5' DFS     | 117              | 38,6   | 185                | 27,3  |
| 8-O-4' DFS   | 170              | 32,1   | 268                | 69,7  |
| 5-5' DFS     | 160              | 58,9   | 315                | 56,3  |
| FF           | tr               | -      | 14                 | 3,0   |
| FE I         | n.n.             | -      | n.n.               | -     |
| FE II        | n.n.             | -      | n.n.               | -     |

**Hafer***Alkalihydrolyse (estergebundene PCS)*

| [µg/g UNF]   | <b>Rohstoff H1</b> |       | <b>V6 H1 01</b> |       | <b>V6 H1 06</b> |       |
|--------------|--------------------|-------|-----------------|-------|-----------------|-------|
|              | MW                 | s     | MW              | s     | MW              | s     |
| PCS          | 405                | 70,1  | 619             | 47,9  | 783             | 127,1 |
| FS           | 3328               | 436,4 | 3817            | 252,3 | 3816            | 284,1 |
| 8-8'aryl DFS | 57                 | 13,7  | 101             | 8,2   | 48              | 15,0  |
| 8-8' DFS     | 29                 | 12,0  | 42              | 9,8   | 12              | 5,5   |
| 8-5' DFS     | 26                 | 11,9  | 39              | 6,2   | 19              | 3,2   |
| 8-O-4' DFS   | 14                 | 9,7   | 34              | 1,6   | 43              | 35,8  |
| 5-5' DFS     | 32                 | 7,1   | 50              | 0,0   | 13              | 2,7   |
| FF           | 9                  | 1,5   | 9               | 1,7   | 6               | 1,2   |
| FE I         | tr                 | -     | tr              | -     | tr              | -     |
| FE II        | tr                 | -     | tr              | -     | tr              | -     |

*Alkalische Druckhydrolyse (ester- und ethergebundene PCS)*

| [µg/g UNF]   | <b>Rohstoff H1</b> |       | <b>V6 H1 01</b> |       | <b>V6 H1 06</b> |       |
|--------------|--------------------|-------|-----------------|-------|-----------------|-------|
|              | MW                 | s     | MW              | s     | MW              | s     |
| PCS          | 153                | 27,6  | 142             | 14,2  | 173             | 30,9  |
| FS           | 3282               | 486,1 | 4358            | 418,5 | 4413            | 663,0 |
| 8-8'aryl DFS | 96                 | 39,4  | 184             | 33,7  | 150             | 37,1  |
| 8-8' DFS     | 69                 | 40,1  | 113             | 19,5  | 96              | 22,1  |
| 8-5' DFS     | 84                 | 18,4  | 130             | 13,7  | 119             | 32,2  |
| 8-O-4' DFS   | 107                | 20,5  | 186             | 42,8  | 135             | 30,2  |
| 5-5' DFS     | 132                | 46,5  | 232             | 58,1  | 166             | 34,9  |
| FF           | 5                  | 0,8   | 8               | 1,5   | 6               | 0,6   |
| FE I         | n.n.               | -     | n.n.            | -     | n.n.            | -     |
| FE II        | n.n.               | -     | n.n.            | -     | n.n.            | -     |

**Weizen***Alkalihydrolyse (estergebundene PCS)*

| [µg/g UNF]   | <b>Rohstoff W3</b> |        | <b>vv 11 3</b> |       | <b>vv 11 5</b> |      |
|--------------|--------------------|--------|----------------|-------|----------------|------|
|              | MW                 | s      | MW             | s     | MW             | s    |
| pCS          | 283                | 34,7   | 249            | 2,2   | 122            | 1,6  |
| FS           | 15224              | 1691,2 | 14412          | 151,8 | 7634           | 50,5 |
| 8-8'aryl DFS | 71                 | 18,1   | 81             | 5,4   | 46             | 44,6 |
| 8-8' DFS     | 6                  | 5,7    | 12             | 5,6   | 7              | 2,5  |
| 8-5' DFS     | 53                 | 11,9   | 60             | 3,7   | 45             | 3,4  |
| 8-O-4' DFS   | 50                 | 25,6   | 62             | 7,5   | 30             | 5,8  |
| 5-5' DFS     | 105                | 15,5   | 110            | 5,6   | 71             | 3,3  |
| FF           | 27                 | 0,2    | 36             | 0,6   | 29             | 1,1  |
| FE I         | 21                 | 4,6    | 23             | 0,8   | 19             | 1,3  |
| FE II        | 23                 | 20,6   | 39             | 3,0   | 28             | 6,6  |

| [µg/g UNF]   | <b>vv 11 7</b> |       | <b>vv 11 11</b> |      |
|--------------|----------------|-------|-----------------|------|
|              | MW             | s     | MW              | s    |
| pCS          | 116            | 6,8   | 138             | 2,2  |
| FS           | 5566           | 480,7 | 7477            | 81,6 |
| 8-8'aryl DFS | 103            | 6,5   | 70              | 24,1 |
| 8-8' DFS     | 21             | 8,3   | 13              | 8,1  |
| 8-5' DFS     | 70             | 1,8   | 50              | 15,1 |
| 8-O-4' DFS   | 84             | 10,3  | 44              | 37,0 |
| 5-5' DFS     | 140            | 15,8  | 62              | 12,6 |
| FF           | 39             | 0,4   | 45              | 4,7  |
| FE I         | 27             | 0,7   | 20              | 2,1  |
| FE II        | 52             | 5,4   | 25              | 19,1 |

*Alkalische Druckhydrolyse (ester- und ethergebundene PCS)*

| [µg/g UNF]   | <b>Rohstoff W3</b> |       | <b>vv 11 3</b> |       | <b>vv 11 5</b> |       |
|--------------|--------------------|-------|----------------|-------|----------------|-------|
|              | MW                 | s     | MW             | s     | MW             | s     |
| pCS          | 338                | 19,3  | 295            | 11,4  | 126            | 9,7   |
| FS           | 18884              | 243,0 | 17521          | 455,1 | 4802           | 350,4 |
| 8-8'aryl DFS | 147                | 2,7   | 154            | 11,8  | 74             | 11,3  |
| 8-8' DFS     | 127                | 22,7  | 151            | 6,4   | 73             | 10,3  |
| 8-5' DFS     | 146                | 6,0   | 152            | 16,0  | 69             | 10,5  |
| 8-O-4' DFS   | 182                | 15,7  | 183            | 5,1   | 87             | 12,3  |
| 5-5' DFS     | 205                | 15,7  | 212            | 8,7   | 95             | 17,6  |
| FF           | 33                 | 2,1   | 30             | 2,4   | 14             | 3,9   |
| FE I         | n.n.               | -     | n.n.           | -     | n.n.           | -     |
| FE II        | 96                 | 7,7   | 83             | 17,4  | n.n.           | -     |

| [µg/g UNF]   | <b>vv 11 7</b> |      | <b>vv 11 11</b> |       |
|--------------|----------------|------|-----------------|-------|
|              | MW             | s    | MW              | s     |
| pCS          | 121            | 7,3  | 156             | 11,0  |
| FS           | 4092           | 47,6 | 11835           | 831,7 |
| 8-8'aryl DFS | 86             | 8,6  | 295             | 20,7  |
| 8-8' DFS     | 56             | 4,6  | 68              | 4,8   |
| 8-5' DFS     | 87             | 1,6  | 175             | 12,3  |
| 8-O-4' DFS   | 116            | 1,7  | 154             | 10,8  |
| 5-5' DFS     | 122            | 7,0  | 217             | 15,2  |
| FF           | 14             | 1,7  | 73              | 5,1   |
| FE I         | n.n.           | -    | n.n.            | -     |
| FE II        | n.n.           | -    | n.n.            | -     |

**8.5.2.3 Haferprodukte***Alkalihydrolyse (estergebundene PCS)*

| [µg/g UNF]   | <b>Rohhafer</b> |       | <b>Darre</b> |      | <b>Haferflocken</b> |       | <b>Haferkleie</b> |      |
|--------------|-----------------|-------|--------------|------|---------------------|-------|-------------------|------|
|              | MW              | s     | MW           | s    | MW                  | s     | MW                | s    |
| pCS          | 93              | 5,6   | 69           | 10,7 | 140                 | 7,8   | 72                | 3,1  |
| FS           | 2483            | 213,8 | 2771         | 93,3 | 2887                | 187,8 | 2692              | 88,7 |
| 8-8'aryl DFS | 167             | 14,3  | 141          | 1,9  | 215                 | 21,4  | 205               | 13,7 |
| 8-8' DFS     | 77              | 12,7  | 51           | 9,2  | 76                  | 2,5   | 63                | 5,2  |
| 8-5' DFS     | 84              | 9,6   | 55           | 2,7  | 150                 | 22,9  | 106               | 2,0  |
| 8-O-4' DFS   | 109             | 9,3   | 77           | 9,5  | 134                 | 26,0  | 123               | 0,1  |
| 5-5' DFS     | 65              | 5,2   | 51           | 5,8  | 90                  | 19,2  | 98                | 6,6  |
| FF           | 7               | 0,7   | 5            | 1,0  | n.n.                | -     | 7                 | 0,2  |
| FE I         | 72              | 10,1  | 56           | 5,1  | 54                  | 8,9   | 28                | 3,2  |
| FE II        | 95              | 4,3   | 69           | 8,9  | 139                 | 5,3   | 138               | 10,5 |

| [µg/g UNF]   | <b>EHF</b> |       | <b>EHK</b> |      |
|--------------|------------|-------|------------|------|
|              | MW         | s     | MW         | s    |
| pCS          | 50         | 1,9   | 30         | 1,9  |
| FS           | 3521       | 164,9 | 3089       | 78,3 |
| 8-8'aryl DFS | 182        | 24,4  | 129        | 5,0  |
| 8-8' DFS     | 62         | 4,9   | 45         | 2,3  |
| 8-5' DFS     | 136        | 21,7  | 63         | 10,4 |
| 8-O-4' DFS   | 139        | 23,6  | 84         | 1,7  |
| 5-5' DFS     | 117        | 16,6  | 85         | 7,4  |
| FF           | 8          | 1,6   | 4          | 0,3  |
| FE I         | 52         | 8,9   | 16         | 0,8  |
| FE II        | 123        | 22,0  | 79         | 0,7  |

*Alkalische Druckhydrolyse (ester- und ethergebundene PCS)*

| [µg/g UNF]   | <b>Rohhafer</b> |       | <b>Darre</b> |       | <b>Haferflocken</b> |       | <b>Haferkleie</b> |       |
|--------------|-----------------|-------|--------------|-------|---------------------|-------|-------------------|-------|
|              | MW              | s     | MW           | s     | MW                  | s     | MW                | s     |
| pCS          | 155             | 3,3   | 158          | 13,3  | 236                 | 38,9  | 154               | 35,7  |
| FS           | 8567            | 504,1 | 6107         | 232,8 | 6732                | 746,8 | 7310              | 692,3 |
| 8-8'aryl DFS | 530             | 48,4  | 507          | 56,8  | 834                 | 51,8  | 889               | 41,4  |
| 8-8' DFS     | 322             | 22,9  | 309          | 18,   | 538                 | 30,3  | 496               | 23,5  |
| 8-5' DFS     | 155             | 14,2  | 158          | 26,7  | 836                 | 50,0  | 846               | 40,8  |
| 8-O-4' DFS   | 103             | 3,2   | 128          | 45,3  | 468                 | 52,6  | 370               | 17,0  |
| 5-5' DFS     | 206             | 28,7  | 269          | 39,5  | 574                 | 32,1  | 546               | 25,4  |
| FF           | 66              | 10,5  | 77           | 7,6   | 92                  | 5,6   | 139               | 8,1   |
| FE I         | n.n.            | -     | n.n.         | -     | n.n.                | -     | n.n.              | -     |
| FE II        | n.n.            | -     | n.n.         | -     | n.n.                | -     | n.n.              | -     |

| [µg/g UNF]   | <b>EHF</b> |       | <b>EHK</b> |       |
|--------------|------------|-------|------------|-------|
|              | MW         | s     | MW         | s     |
| pCS          | 147        | 4,2   | 152        | 20,8  |
| FS           | 7201       | 566,0 | 5393       | 239,8 |
| 8-8'aryl DFS | 1095       | 14,1  | 987        | 77,1  |
| 8-8' DFS     | 806        | 30,6  | 633        | 58,3  |
| 8-5' DFS     | 790        | 100,2 | 882        | 28,0  |
| 8-O-4' DFS   | 427        | 51,7  | 472        | 11,3  |
| 5-5' DFS     | 818        | 38,7  | 583        | 13,4  |
| FF           | 124        | 5,2   | 137        | 7,6   |
| FE I         | n.n.       | -     | n.n.       | -     |
| FE II        | n.n.       | -     | n.n.       | -     |

### 8.5.2.4 Berechnung der ethergebundenen Phenolcarbonsäuren aus der Differenz ADH-AH

#### Getreide-Rohmaterial

| [µg/g UNF]   | Weizen | Roggen | Gerste | Hafer | Mais | Reis | Hirse |
|--------------|--------|--------|--------|-------|------|------|-------|
| pCS          | 55     | 774    | -      | -     | -    | -    | -     |
| FS           | 3659   | 2010   | -      | -     | -    | 777  | -     |
| 8-8'aryl DFS | 77     | 96     | 57     | 39    | 99   | 57   | 725   |
| 8-8' DFS     | 121    | 170    | 46     | 18    | 27   | 15   | 349   |
| 8-5' DFS     | 93     | 21     | 91     | 57    | 90   | 32   | 140   |
| 8-O-4' DFS   | 132    | 118    | 101    | 98    | 138  | 41   | 210   |
| 5-5' DFS     | 101    | 87     | 83     | 100   | 73   | 36   | 89    |
| FF           | 6      | -      | 11     | -     | n.n. | -    | 233   |

#### Getreide-Extrudate

##### Gerste und Mais

| [µg/g UNF]   | Gerste G1 | V7 G1 01 | Maisgries | Maiscollets |
|--------------|-----------|----------|-----------|-------------|
| pCS          | -         | -        | -         | -           |
| FS           | 807       | -        | 120       | 962         |
| 8-8'aryl DFS | 57        | 57       | 99        | 81          |
| 8-8' DFS     | 46        | 48       | 27        | 36          |
| 8-5' DFS     | 91        | 138      | 91        | 118         |
| 8-O-4' DFS   | 101       | 154      | 138       | 42          |
| 5-5' DFS     | 83        | 161      | 73        | 37          |
| FF           | 11        | -        | 4         | 21          |

##### Hafer

| [µg/g UNF]   | Hafer H1 | V6 H1 01 | V6 H1 06 |
|--------------|----------|----------|----------|
| pCS          | -        | -        | -        |
| FS           | -        | 541      | 596      |
| 8-8'aryl DFS | 39       | 83       | 102      |
| 8-8' DFS     | 40       | 72       | 83       |
| 8-5' DFS     | 57       | 91       | 100      |
| 8-O-4' DFS   | 93       | 152      | 92       |
| 5-5' DFS     | 100      | 182      | 153      |
| FF           | -        | -        | -        |

**Weizen**

| [µg/g UNF]   | <b>Weizen W3</b> | <b>vv 11 3</b> | <b>vv 11 5</b> | <b>vv 11 7</b> | <b>vv 11 11</b> |
|--------------|------------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|
| pCS          | 55               | 46             | -              | -              | 18              |
| FS           | 3659             | 3109           | -              | -              | 4358            |
| 8-8'aryl DFS | 77               | 73             | 28             | -              | 224             |
| 8-8' DFS     | 121              | 139            | 66             | 35             | 55              |
| 8-5' DFS     | 93               | 92             | 24             | 17             | 125             |
| 8-O-4' DFS   | 132              | 121            | 58             | 31             | 110             |
| 5-5' DFS     | 101              | 102            | 24             | -              | 155             |
| FF           | 6                | -              | -              | -              | 28              |

**Haferprodukte**

| [µg/g UNF]   | <b>Rohhafer</b> | <b>Darre</b> | <b>Flocken</b> | <b>Kleie</b> | <b>EHF</b> | <b>EHK</b> |
|--------------|-----------------|--------------|----------------|--------------|------------|------------|
| pCS          | 61              | 89           | 96             | 82           | 97         | 122        |
| FS           | 6083            | 3336         | 3845           | 4617         | 2681       | 2304       |
| 8-8'aryl DFS | 363             | 366          | 619            | 683          | 913        | 858        |
| 8-8' DFS     | 245             | 258          | 462            | 433          | 744        | 588        |
| 8-5' DFS     | 71              | 103          | 687            | 740          | 654        | 818        |
| 8-O-4' DFS   | -               | 51           | 334            | 247          | 288        | 388        |
| 5-5' DFS     | 141             | 218          | 483            | 448          | 701        | 498        |
| FF           | 59              | 72           | 92             | 132          | 116        | 133        |

### 8.5.3 Kohlenhydratzusammensetzung

#### 8.5.3.1 Getreide-Rohmaterial

##### SAEMAN-Hydrolyse

| [mg/g UNF]  | Arabinose |      | Xylose |      | Glukose |      |
|-------------|-----------|------|--------|------|---------|------|
|             | MW        | s    | MW     | s    | MW      | s    |
| Weizenkleie | 138       | 5,8  | 252    | 5,4  | 186     | 7,0  |
| Roggen      | 132       | 4,8  | 188    | 8,8  | 424     | 56,4 |
| Gerste      | 169       | 33,3 | 209    | 36,5 | 254     | 5,2  |
| Hafer       | 82        | 2,1  | 112    | 3,5  | 227     | 17,7 |
| Mais        | 71        | 5,9  | 72     | 6,5  | 576     | 2,0  |
| Reis        | 48        | 4,8  | 76     | 20,8 | 459     | 40,7 |
| Hirse       | 263       | 43,5 | 209    | 35,4 | 512     | 49,0 |

#### 8.5.3.2 Getreide-Extrudate

##### SAEMAN-Hydrolyse

| [mg/g UNF]    | Arabinose |      | Xylose |      | Glukose |      |
|---------------|-----------|------|--------|------|---------|------|
|               | MW        | s    | MW     | s    | MW      | s    |
| <b>Gerste</b> |           |      |        |      |         |      |
| Rohstoff G1   | 169       | 33,3 | 209    | 36,5 | 254     | 5,2  |
| V7 G1 01      | 153       | 1,5  | 187    | 4,2  | 255     | 5,0  |
| <b>Hafer</b>  |           |      |        |      |         |      |
| Rohstoff H1   | 82        | 2,1  | 112    | 3,5  | 227     | 17,7 |
| V6 H1 01      | 92        | 3,6  | 120    | 9,0  | 181     | 7,4  |
| V6 H1 06      | 95        | 0,4  | 137    | 4,8  | 228     | 12,2 |
| <b>Mais</b>   |           |      |        |      |         |      |
| Maisgries     | 71        | 5,9  | 72     | 6,5  | 576     | 2,0  |
| Maiscollets   | 84        | 3,9  | 78     | 1,7  | 298     | 13,5 |
| <b>Weizen</b> |           |      |        |      |         |      |
| Rohstoff W3   | 119       | 4,8  | 249    | 10,7 | 205     | 10,1 |
| vv 11 3       | 138       | 14,3 | 220    | 22,3 | 241     | 26,2 |
| vv 11 5       | 142       | 3,2  | 232    | 6,2  | 255     | 8,6  |
| vv 11 7       | 138       | 3,2  | 179    | 6,7  | 223     | 7,4  |
| vv 11 11      | 143       | 4,7  | 239    | 12,0 | 239     | 18,4 |

**Methanolyse**

| [mg/g UNF]    | <b>Arabinose</b> |      | <b>Xylose</b> |      | <b>Glukose</b> |      | <b>Glukuronsäure</b> |     |
|---------------|------------------|------|---------------|------|----------------|------|----------------------|-----|
|               | MW               | s    | MW            | s    | MW             | s    | MW                   | s   |
| <b>Gerste</b> |                  |      |               |      |                |      |                      |     |
| Rohstoff G1   | 252              | 5,5  | 383           | 35,9 | 120            | 12,6 | 7                    | 0,3 |
| V7 G1 01      | 229              | 13,3 | 330           | 2,6  | 103            | 5,1  | 5,2                  | 1,2 |
| <b>Hafer</b>  |                  |      |               |      |                |      |                      |     |
| Rohstoff H1   | 67               | 9,8  | 157           | 23,7 | 216            | 30,5 | 16                   | 1,4 |
| V6 H1 01      | 46               | 2,9  | 180           | 19,5 | 179            | 66,2 | 6,5                  | 1,1 |
| V6 H1 06      | 67               | 9,0  | 158           | 22,7 | 161            | 40,6 | 11,2                 | 8,3 |
| <b>Mais</b>   |                  |      |               |      |                |      |                      |     |
| Maisgries     | 98               | 1,4  | 81            | 2,8  | 536            | 26,4 | 9,2                  | 0,3 |
| Maiscollets   | 104              | 7,0  | 98            | 8,1  | 139            | 16,7 | 8,6                  | 0,8 |
| <b>Weizen</b> |                  |      |               |      |                |      |                      |     |
| Rohstoff W3   | 100              | 8,2  | 129           | 4,9  | 45             | 2,8  | 2,6                  | 0,5 |
| vv 11 3       | 94               | 5,3  | 128           | 2,0  | 44             | 0,7  | 2,9                  | 0,1 |
| vv 11 5       | 87               | 7,3  | 148           | 3,1  | 52             | 1,5  | 2,7                  | 1,1 |
| vv 11 7       | 92               | 6,4  | 133           | 3,7  | 46             | 2,1  | 2,7                  | 0,6 |
| vv 11 11      | 108              | 11,8 | 148           | 7,2  | 52             | 8,2  | 3,3                  | 0,3 |

**Reduktive Depolymerisation**

|               | <b>t-Xylp</b> | <b>t-Araf</b> | <b>4-Ac-Xylp</b> | <b>3,4-Ac-Xylp</b> | <b>2,4-Ac-Xylp</b> | <b>2,3,4-Ac-Xylp</b> |
|---------------|---------------|---------------|------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| <b>Weizen</b> |               |               |                  |                    |                    |                      |
| Rohstoff W3   | 8,2           | 5,6           | 65,0             | 12,1               | 7,2                | 1,9                  |
| vv 11 3       | 3,4           | 11,5          | 70,1             | 9,5                | 4,7                | 0,8                  |
| vv 11 5       | 4,8           | 10,1          | 72,6             | 8,7                | 3,3                | 0,6                  |
| vv 11 7       | n.b.          | n.b.          | n.b.             | n.b.               | n.b.               | n.b.                 |
| vv 11 11      | 7,2           | 11,3          | 66,5             | 10,2               | 3,6                | 1,2                  |
| <b>Hafer</b>  |               |               |                  |                    |                    |                      |
| Rohstoff H1   | 4,9           | 15,3          | 67,3             | 8,5                | 3,3                | 0,7                  |
| V6 H1 01      | 15,8          | 35,8          | 27,3             | 15,3               | 4,2                | 1,6                  |
| V6 H1 06      | 14,9          | 38,9          | 23,2             | 17,3               | 3,9                | 1,8                  |
| <b>Gerste</b> |               |               |                  |                    |                    |                      |
| Rohstoff G1   | 8,8           | 33,3          | 42,2             | 9,9                | 4,1                | 1,7                  |
| V7 G1 01      | 10,3          | 30,1          | 43,1             | 10,6               | 4,2                | 1,7                  |
| <b>Mais</b>   |               |               |                  |                    |                    |                      |
| Gries         | 21,6          | 43,0          | 16,7             | 7,7                | 8,4                | 2,6                  |
| Collets       | 26,2          | 45,2          | 8,8              | 11,4               | 6,3                | 2,1                  |

**8.5.3.3 Haferprodukte****SAEMAN-Hydrolyse**

| [mg/g UNF] | <b>Arabinose</b> |      | <b>Xylose</b> |      | <b>Glukose</b> |     |
|------------|------------------|------|---------------|------|----------------|-----|
|            | MW               | s    | MW            | s    | MW             | s   |
| Rohhafer   | 74               | 5,6  | 114           | 9,4  | 82             | 7,4 |
| Darre      | 78               | 7,3  | 116           | 6,5  | 93             | 9,6 |
| Flocken    | 77               | 12,8 | 127           | 16,9 | 81             | 7,7 |
| Kleie      | 71               | 5,5  | 117           | 10,0 | 89             | 4,6 |
| EHF        | 64               | 1,2  | 95            | 1,6  | 70             | 5,5 |
| EHK        | 82               | 3,2  | 121           | 4,6  | 76             | 4,1 |

**Methanolyse**

| [mg/g UNF] | <b>Arabinose</b> |      | <b>Xylose</b> |      | <b>Glukose</b> |      |
|------------|------------------|------|---------------|------|----------------|------|
|            | MW               | s    | MW            | s    | MW             | s    |
| Rohhafer   | 162              | 18,2 | 360           | 28,0 | 333            | 30,2 |
| Darre      | 171              | 14,4 | 379           | 20,4 | 408            | 38,1 |
| Flocken    | 172              | 20,3 | 387           | 35,7 | 279            | 22,8 |
| Kleie      | 165              | 4,3  | 372           | 10,7 | 339            | 1,8  |
| EHF        | 196              | 24,5 | 414           | 27,0 | 343            | 2,3  |
| EHK        | 70               | 98,9 | 183           | 25,9 | 145            | 20,5 |

**Reduktive Depolymerisation**

|              | <b>t-Xylp</b> | <b>t-Araf</b> | <b>4-Ac-Xylp</b> | <b>3,4-Ac-Xylp</b> | <b>2,4-Ac-Xylp</b> | <b>2,3,4-Ac-Xylp</b> |
|--------------|---------------|---------------|------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| Rohhafer     | 12,7          | 14,0          | 31,9             | 32,6               | 6,2                | 2,7                  |
| Darre        | 24,9          | 4,9           | 22,3             | 37,8               | 6,1                | 4,0                  |
| Haferflocken | 26,2          | 9,7           | 27,3             | 30,2               | 3,7                | 3,0                  |
| Haferkleie   | 33,9          | 16,2          | 21,6             | 23,2               | 2,7                | 2,4                  |
| EHF          | 24,0          | 14,2          | 27,5             | 27,9               | 3,3                | 3,1                  |
| EHK          | 26,1          | 25,5          | 21,7             | 21,9               | 2,8                | 2,0                  |

## 8.5.4 Ergebnisse der statistischen Auswertung mittels t-Test

### 8.5.4.1 Nahrungsfasergehalte

#### Getreide-Extrudate

##### Weizen

| <b>LNF</b> | vv 11 3 | vv 11 5 | vv 11 7 | vv 11<br>11 | <b>UNF</b> | vv 11 3 | vv 11 5 | vv 11 7 | vv 11<br>11 |
|------------|---------|---------|---------|-------------|------------|---------|---------|---------|-------------|
| W3         | *       | n.s.    | **      | *           | W3         | n.s.    | **      | **      | **          |
| vv 11 3    | -       | n.s.    | n.s.    | -           | vv 11 3    | -       | **      | **      | -           |
| vv 11 5    | -       | -       | -       | n.s.        | vv 11 5    | -       | -       | -       | **          |
| vv 11 7    | -       | -       | -       | n.s.        | vv 11 7    | -       | -       | -       | **          |

##### Hafer

| <b>LNF</b>  | V6 H1 01 | V6 H1 06 | <b>UNF</b>  | V6 H1 01 | V6 H1 06 |
|-------------|----------|----------|-------------|----------|----------|
| Rohstoff H1 | *        | *        | Rohstoff H1 | **       | *        |
| V6 H1 01    | -        | n.s.     | V6 H1 01    | -        | n.s.     |

##### Gerste

|          | <b>LNF</b> | <b>UNF</b> |
|----------|------------|------------|
|          | G1         | G1         |
| V7 G1 01 | **         | n.s.       |

##### Mais

|         | <b>LNF</b> | <b>UNF</b> |
|---------|------------|------------|
|         | Gries      | Gries      |
| Collets | n.s.       | *          |

#### Haferprodukte

| <b>LNF</b> | Darre | HF   | HK | EHF  | EHK  | <b>UNF</b> | Darre | HF   | HK | EHF  | EHK  |
|------------|-------|------|----|------|------|------------|-------|------|----|------|------|
| Rohhafer   | n.s.  | n.s. | ** | n.s. | **   | Rohhafer   | n.s.  | n.s. | ** | n.s. | **   |
| HF         | -     | -    | -  | n.s. | -    | HF         | -     | -    | -  | n.s. | -    |
| HK         | -     | -    | -  | -    | n.s. | HK         | -     | -    | -  | -    | n.s. |

### 8.5.4.2 Kohlenhydratzusammensetzung nach SAEMAN-Hydrolyse

#### Getreide-Extrudate

##### Weizen

| <b>Ara</b> | vv 11 3 | vv 11 5 | vv 11 7 | vv 11<br>11 | <b>Xyl</b> | vv 11 3 | vv 11 5 | vv 11 7 | vv 11<br>11 |
|------------|---------|---------|---------|-------------|------------|---------|---------|---------|-------------|
| W3         | n.s.    | *       | *       | *           | W3         | n.s.    | n.s.    | **      | n.s.        |
| vv 11 3    | -       | n.s.    | n.s.    | -           | vv 11 3    | -       | n.s.    | *       | -           |
| vv 11 5    | -       | -       | -       | n.s.        | vv 11 5    | -       | -       | -       | n.s.        |
| vv 11 7    | -       | -       | -       | n.s.        | vv 11 7    | -       | -       | -       | *           |

| <b>Arabino<br/>-xylan</b> | vv 11 3 | vv 11 5 | vv 11 7 | vv 11<br>11 |
|---------------------------|---------|---------|---------|-------------|
| W3                        | n.s.    | n.s.    | *       | n.s.        |
| vv 11 3                   | -       | n.s.    | n.s.    | -           |
| vv 11 5                   | -       | -       | -       | n.s.        |
| vv 11 7                   | -       | -       | -       | *           |

##### Hafer

|             | <b>Ara</b> |          | <b>Xyl</b> |          | <b>Arabinoxylan</b> |          |
|-------------|------------|----------|------------|----------|---------------------|----------|
|             | V6 H1 01   | V6 H1 06 | V6 H1 01   | V6 H1 06 | V6 H1 01            | V6 H1 06 |
| Rohstoff H1 | n.s.       | **       | n.s.       | *        | n.s.                | *        |
| V6 H1 01    | -          | n.s.     | -          | n.s.     | -                   | n.s.     |

##### Gerste

|          | <b>Ara</b> | <b>Xyl</b> | <b>Arabino-<br/>xylan</b> |
|----------|------------|------------|---------------------------|
|          | G1         | G1         | G1                        |
| V7 G1 01 | n.s.       | n.s.       | n.s.                      |

##### Mais

|         | <b>Ara</b> | <b>Xyl</b> | <b>Arabino-<br/>xylan</b> |
|---------|------------|------------|---------------------------|
|         | Gries      | Gries      | Gries                     |
| Collets | n.s.       | n.s.       | n.s.                      |

#### Haferprodukte

| <b>Ara</b> | Darre | HF   | HK   | EHF  | EHK  | <b>Xyl</b> | Darre | HF   | HK   | EHF  | EHK  |
|------------|-------|------|------|------|------|------------|-------|------|------|------|------|
| Rohhafer   | n.s.  | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | Rohhafer   | n.s.  | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| HF         | -     | -    | -    | n.s. | -    | HF         | -     | -    | -    | n.s. | -    |
| HK         | -     | -    | -    | -    | n.s. | HK         | -     | -    | -    | -    | n.s. |

| <b>Arabino<br/>-xylan</b> | Darre | HF   | HK   | EHF  | EHK  |
|---------------------------|-------|------|------|------|------|
| Rohhafer                  | n.s.  | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| HF                        | -     | -    | -    | n.s. | -    |
| HK                        | -     | -    | -    | -    | n.s. |

### 8.5.4.3 Phenolcarbonsäuregehalte: Vergleich AH und ADH

#### Getreide-Rohmaterialien

|            | Weizen | Roggen | Gerste | Hafer | Mais | Reis | Hirse |
|------------|--------|--------|--------|-------|------|------|-------|
| pCS        | n.s.   | **     | n.s.   | n.s.  | *    | n.s. | n.s.  |
| FS         | *      | n.s.   | n.s.   | n.s.  | n.s. | n.s. | n.s.  |
| 8-8'aryl   | **     | n.s.   | n.s.   | n.s.  | **   | **   | *     |
| DFS        |        |        |        |       |      |      |       |
| 8-8' DFS   | **     | **     | *      | n.s.  | **   | *    | **    |
| 8-5' DFS   | **     | n.s.   | **     | **    | *    | **   | **    |
| 8-O-4' DFS | **     | *      | **     | **    | **   | **   | **    |
| 5-5' DFS   | **     | n.s.   | *      | *     | n.s. | **   | *     |
| DFS-       | **     | *      | *      | *     | *    | **   | *     |
| Summe      |        |        |        |       |      |      |       |

#### Getreide-Extrudate

##### Weizen

|              | Rohstoff W3 | vv 11 3 | vv 11 5 | vv 11 7 | vv 11 11 |
|--------------|-------------|---------|---------|---------|----------|
| pCS          | n.s.        | *       | **      | **      | n.s.     |
| FS           | **          | **      | **      | *       | **       |
| 8-8'aryl DFS | *           | **      | n.s.    | n.s.    | **       |
| 8-8' DFS     | **          | **      | **      | *       | **       |
| 8-5' DFS     | **          | **      | n.s.    | **      | **       |
| 8-O-4' DFS   | *           | **      | **      | *       | *        |
| 5-5' DFS     | *           | **      | n.s.    | n.s.    | **       |
| DFS-Summe    | **          | **      | n.s.    | n.s.    | **       |

##### Hafer

|              | Rohstoff H1 | V6 H1 01 | V6 H1 06 |
|--------------|-------------|----------|----------|
| pCS          | *           | **       | *        |
| FS           | n.s.        | n.s.     | n.s.     |
| 8-8'aryl DFS | n.s.        | n.s.     | n.s.     |
| 8-8' DFS     | n.s.        | *        | *        |
| 8-5' DFS     | *           | **       | *        |
| 8-O-4' DFS   | *           | *        | n.s.     |
| 5-5' DFS     | n.s.        | *        | *        |
| DFS-Summe    | n.s.        | *        | *        |

##### Gerste

|              | Rohstoff G1 | V7 G1 01 |
|--------------|-------------|----------|
| pCS          | n.s.        | n.s.     |
| FS           | n.s.        | *        |
| 8-8'aryl DFS | n.s.        | n.s.     |
| 8-8' DFS     | n.s.        | *        |
| 8-5' DFS     | *           | **       |
| 8-O-4' DFS   | n.s.        | **       |
| 5-5' DFS     | n.s.        | **       |
| DFS-Summe    | n.s.        | **       |

##### Mais

|              | Gries | Collets |
|--------------|-------|---------|
| pCS          | n.s.  | n.s.    |
| FS           | *     | n.s.    |
| 8-8'aryl DFS | *     | *       |
| 8-8' DFS     | *     | n.s.    |
| 8-5' DFS     | n.s.  | *       |
| 8-O-4' DFS   | *     | n.s.    |
| 5-5' DFS     | n.s.  | n.s.    |
| DFS-Summe    | n.s.  | n.s.    |

**Haferprodukte**

|            | Rohhafer | Darre | Flocken | Kleie | EHF | EHK |
|------------|----------|-------|---------|-------|-----|-----|
| pCS        | **       | **    | n.s.    | n.s.  | **  | **  |
| FS         | **       | **    | **      | **    | **  | **  |
| 8-8'aryl   | **       | **    | **      | **    | **  | **  |
| DFS        |          |       |         |       |     |     |
| 8-8' DFS   | **       | **    | **      | **    | **  | **  |
| 8-5' DFS   | *        | *     | **      | **    | **  | **  |
| 8-0-4' DFS | n.s.     | n.s.  | **      | **    | **  | **  |
| 5-5' DFS   | **       | **    | **      | **    | **  | **  |
| DFS-       | **       | **    | **      | **    | **  | **  |
| Summe      |          |       |         |       |     |     |

**8.5.4.4 Estergebundene Phenolcarbonsäuren: Vergleich Rohstoffe und Verarbeitungsprodukte****Getreide-Extrudate****Weizen**

| FS      | vv 11 3 | vv 11 5 | vv 11 7 | vv 11 11 | DFS     | vv 11 3 | vv 11 5 | vv 11 7 | vv 11 11 |
|---------|---------|---------|---------|----------|---------|---------|---------|---------|----------|
| W3      | n.s.    | *       | **      | *        | W3      | n.s.    | n.s.    | n.s.    | n.s.     |
| vv 11 3 | -       | **      | **      | -        | vv 11 3 | -       | n.s.    | n.s.    | -        |
| vv 11 5 | -       | -       | -       | n.s.     | vv 11 5 | -       | -       | -       | n.s.     |
| vv 11 7 | -       | -       | -       | *        | vv 11 7 | -       | -       | -       | n.s.     |

**Hafer**

|             | FS       |          | DFS      |          |
|-------------|----------|----------|----------|----------|
|             | V6 H1 01 | V6 H1 06 | V6 H1 01 | V6 H1 06 |
| Rohstoff H1 | n.s.     | n.s.     | n.s.     | n.s.     |
| V6 H1 01    | -        | n.s.     | -        | n.s.     |

**Gerste**

|          | FS   | DFS  |
|----------|------|------|
|          | G1   | G1   |
| V7 G1 01 | n.s. | n.s. |

**Mais**

|         | FS    | DFS   |
|---------|-------|-------|
|         | Gries | Gries |
| Collets | *     | *     |

**Haferprodukte**

| FS       | Darre | HF   | HK   | EHF  | EHK | DFS      | Darre | HF   | HK   | EHF  | EHK  |
|----------|-------|------|------|------|-----|----------|-------|------|------|------|------|
| Rohhafer | n.s.  | n.s. | n.s. | *    | *   | Rohhafer | n.s.  | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| HF       | -     | -    | -    | n.s. | -   | HF       | -     | -    | -    | n.s. | -    |
| HK       | -     | -    | -    | -    | *   | HK       | -     | -    | -    | -    | *    |

## 8.6 Chromatogramme und Spektren

### 8.6.1 GC-Chromatogramme der Phenolcarbonsäuren

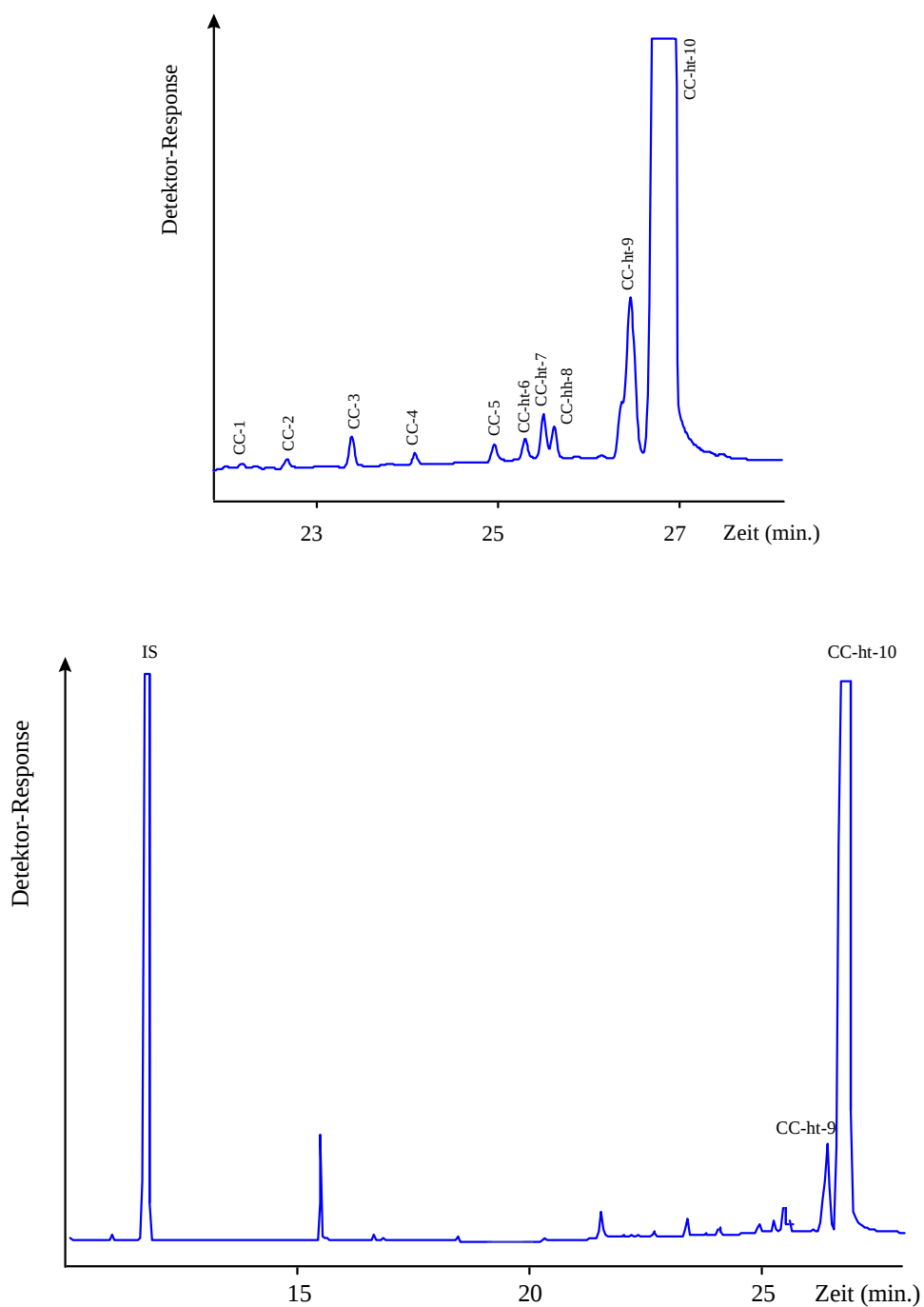


Abbildung 39: GC-Chromatogramm des CC-Dimeren-Standards mit vergrößerter Darstellung des Dimerenbereichs

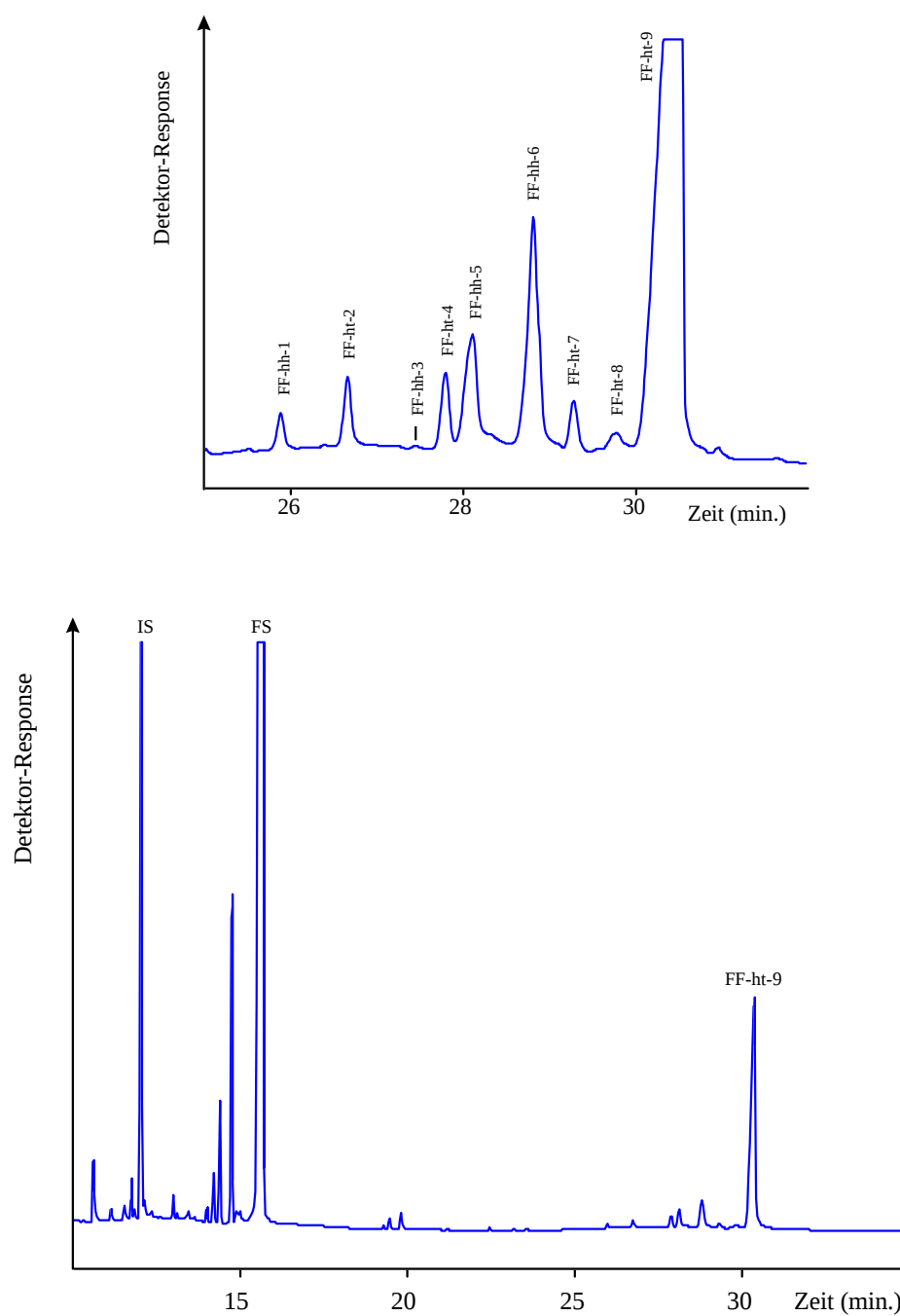


Abbildung 40: GC-Chromatogramm des FF-Dimeren-Standards mit vergrößerter Darstellung des Dimerenbereichs

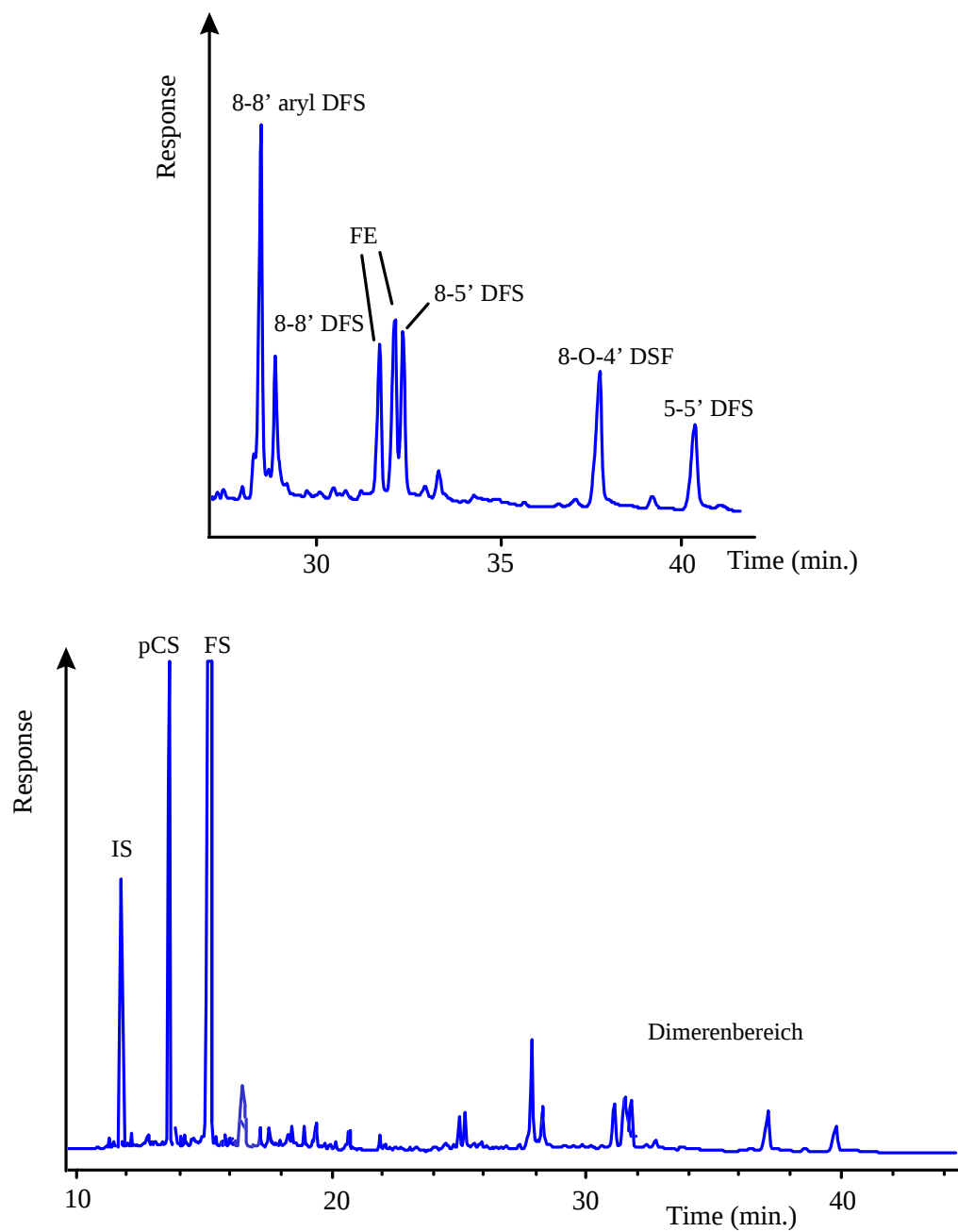


Abbildung 41: GC-Chromatogramm phenolischer Carbonsäuren aus UNF des Hafers mit vergrößerter Darstellung des Dimerenbereichs

### 8.6.2 GC-MS-Spektren der DFS

| Substanz            | 8-8'aryl DFS | 8-8' DFS  | 8-5' DFS  | 8-O-4' DFS | 5-5' DFS  |
|---------------------|--------------|-----------|-----------|------------|-----------|
| Massen-<br>spektrum | 674 (5)      | 674 (15)  | 674 (100) | 602 (58)   | 674 (100) |
|                     | 659 (10)     | 659 (8)   | 659 (52)  | 587 (20)   | 659 (20)  |
|                     | 556 (100)    | 584 (9)   | 556 (2)   | 484 (90)   | 569 (5)   |
|                     | 541 (7)      | 556 (18)  | 511 (3)   | 457 (19)   | 497 (14)  |
|                     | 526 (10)     | 467 (22)  | 495 (2)   | 394 (15)   | 479 (7)   |
|                     | 513 (5)      | 437 (10)  | 479 (1)   | 367 (17)   | 407 (28)  |
|                     | 498 (13)     | 410 (12)  | 465 (6)   | 353 (10)   | 379 (23)  |
|                     | 484 (4)      | 389 (23)  | 453 (3)   | 337 (11)   | 364 (8)   |
|                     | 467 (82)     | 297 (37)  | 437 (3)   | 323 (10)   | 322 (4)   |
|                     | 437 (9)      | 209 (100) | 423 (5)   | 308 (11)   | 207 (6)   |
|                     | 425 (6)      | 147 (23)  | 407 (5)   | 293 (10)   | 147 (29)  |
|                     | 410 (21)     | 73 (81)   | 395 (9)   | 281 (32)   | 75 (13)   |
|                     | 380 (20)     |           | 379 (4)   | 263 (11)   | 73 (84)   |
|                     | 347 (3)      |           | 367 (9)   | 251 (15)   |           |
|                     | 297 (5)      |           | 350 (3)   | 235 (8)    |           |
|                     | 273 (11)     |           | 338 (10)  | 219 (13)   |           |
|                     | 263 (5)      |           | 323 (2)   | 206 (22)   |           |
|                     | 207 (4)      |           | 297 (14)  | 191 (10)   |           |
|                     | 147 (10)     |           | 281 (5)   | 179 (12)   |           |
|                     | 73 (84)      |           | 264 (8)   | 147 (40)   |           |
|                     |              |           | 147 (60)  | 73 (100)   |           |
|                     |              |           | 73 (86)   |            |           |
|                     |              |           |           |            |           |
|                     |              |           |           |            |           |
|                     |              |           |           |            |           |
|                     |              |           |           |            |           |
|                     |              |           |           |            |           |
|                     |              |           |           |            |           |
|                     |              |           |           |            |           |
|                     |              |           |           |            |           |
|                     |              |           |           |            |           |
|                     |              |           |           |            |           |
|                     |              |           |           |            |           |

### 8.6.3 HPLC-Chromatogramme

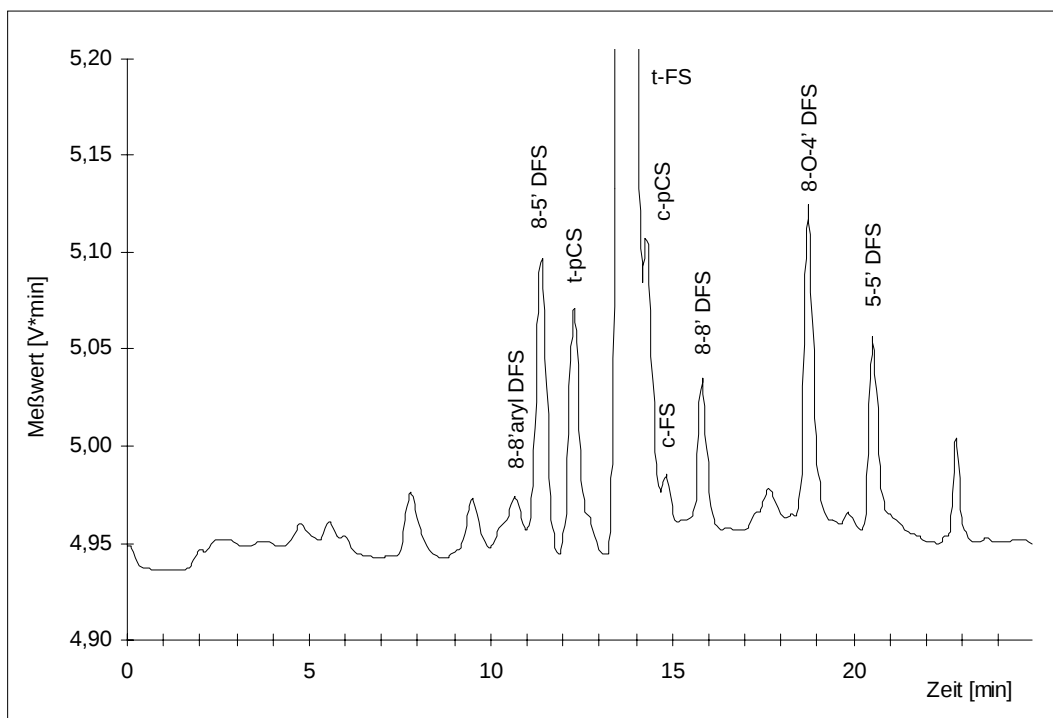


Abbildung 42: HPLC-Chromatogramm phenolischer Carbonsäuren aus UNF des Weizens

### 8.6.4 UV-Spektren der DFS

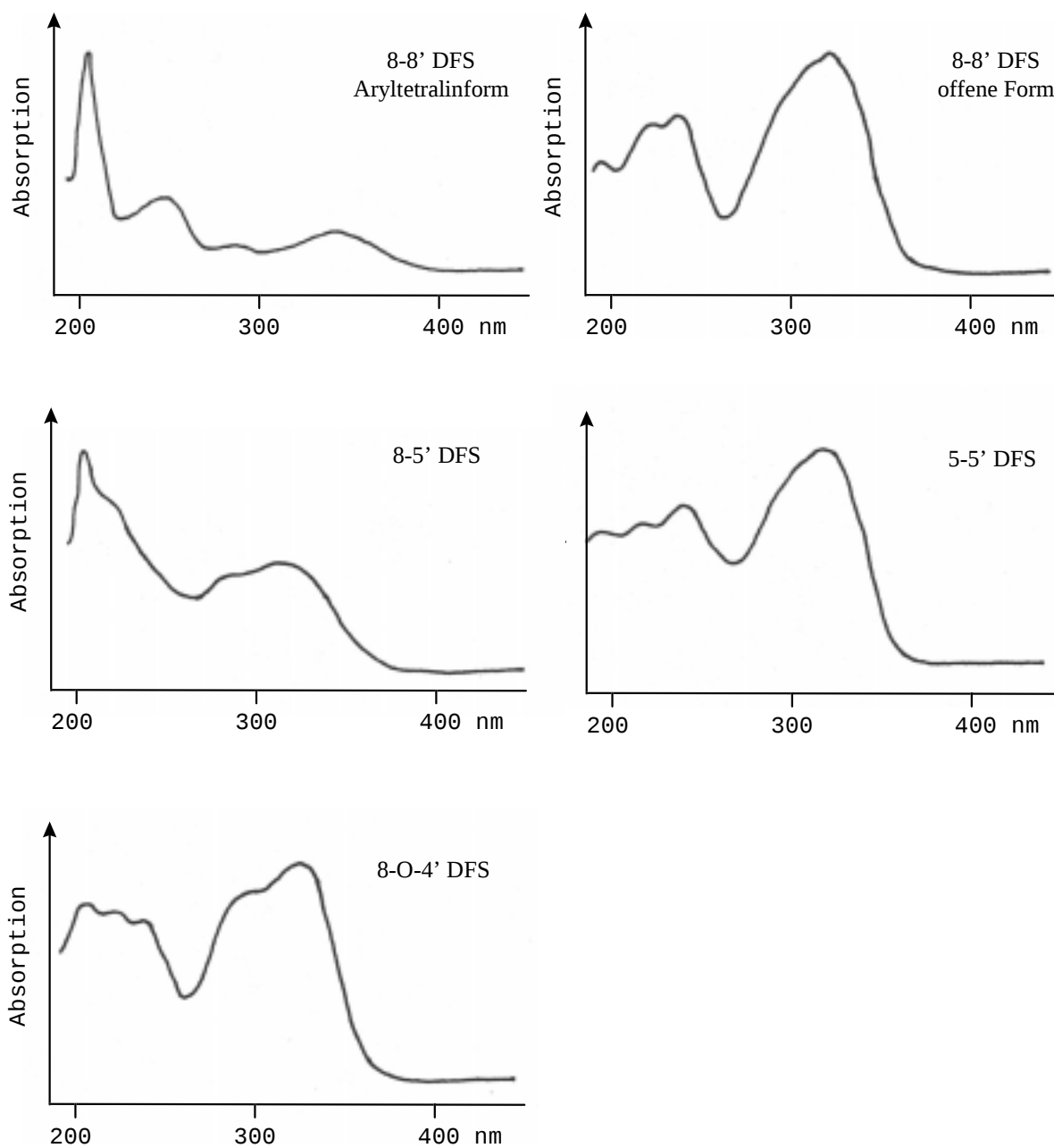


Abbildung 43: DAD-Spektren der DFS

## **LEBENS LAUF**

### **Persönliche Daten**

|            |                         |
|------------|-------------------------|
| Name       | Anja Renger             |
| geboren am | 20. Mai 1969 in Hamburg |

### **Schulbildung**

|                   |                                       |
|-------------------|---------------------------------------|
| 08/1975 - 07/1979 | Grundschule Kielkoppelstraße, Hamburg |
| 08/1979 - 07/1988 | Gymnasium Heegen, Hamburg             |

### **Berufsausbildung**

|                   |                                                                                                                   |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 10/1988 - 03/1989 | Gasthörerin an der Universität Hamburg                                                                            |
| 04/1989 - 10/1993 | Studium der Lebensmittelchemie, Universität Hamburg                                                               |
| 09/1992 - 06/1993 | Diplomarbeit „Identifizierung von Gelier- und Verdickungsmitteln mit der Methode der Reduktiven Depolymerisation“ |
| 10/1993           | Erste lebensmittelchemische Staatsprüfung und Diplom in Lebensmittelchemie                                        |
| 01/1995           | Zweite lebensmittelchemische Staatsprüfung                                                                        |

### **Berufspraktika**

|                   |                                                                                 |
|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| 11/1993 - 04/1994 | Firma SGS-Controll-Co.m.b.H., Hamburg                                           |
| 05/1994 - 10/1994 | Chemische und Lebensmittel-Untersuchungsanstalt, Hygienisches Institut, Hamburg |

### **Berufstätigkeit**

|                   |                                                                                                          |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 04/1995 - 01/1999 | Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie der Universität Hamburg |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|