

Über Polyphenole in Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) und andere gesundheitsrelevante Inhaltsstoffe

vorgelegt von
Diplom-Ingenieur
Michel Tchomé
D.E.A
Maître es Sciences
Licence es Sciences
Aus Bandjoun, Kamerun

Von der Fakultät III – Prozesswissenschaften
der Technischen Universität Berlin
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Ingenieurwissenschaften
-Dr. -Ing.-

genehmigte Dissertation

Promotionsausschuss:

Vorsitzender: Prof. Dr. rer. nat. L. Kroh

Berichter: Prof. Dr. sc. techn. L.-G. Fleischer

Berichter: Prof. Dr. sc. techn. G. Annemüller

Berichter: Prof. Dr.-Ing. G. Bärwald

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 20.03.03

Berlin 2003

D 83

Erklärung

Ich versichere an Eides statt, dass ich diese Arbeit selbstständig und nur unter Zuhilfenahme der angegebenen Literatur verfasst habe.

Michel Tchomé

Berlin, den 16.11.02

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Erklärung	I
Inhaltsverzeichnis	II
O Einleitung und Zielstellung	1
<u>1 Theoretischer Teil</u>	4
<u>1.1 Topinambur</u>	4
1.1.1 Herkunft und Geschichte	4
1.1.2 Anbau und landwirtschaftliche Bedeutung der Topinambur	5
1.1.3 Ernte und Einlagerung	7
1.1.4 Zusammensetzung der Topinamburknollen	9
1.1.4.1 Inhaltsstoffe	9
1.1.4.2 Einfluss des Erntezeitpunktes	11
1.1.5 Anwendungsmöglichkeiten für Topinamburknollen	12
<u>1.2 Enzymatische Verfärbung</u>	13
1.2.1 Einführung	13
1.2.2 Phenolische Substrate und Pigmente	14
1.2.3 Enzymsystem und Reaktionsmechanismus	19
1.2.3.1 Prinzip der enzymatischen Bräunung	20
1.2.3.2 Reaktionsgeschwindigkeit	20
1.2.4 Physiologische Rolle der PPO und der Reaktionen bei enzymatischer Verfärbung	22
1.2.5 Hemmen der enzymatischen Verfärbung	22
<u>1.3 Biosynthese der Polyphenole</u>	24
<u>1.4 Pflanzenphenole</u>	25
1.4.1 C ₆ C ₁ -Grundkörper	26
1.4.2 C ₆ C ₃ -Grundkörper	27
1.4.3 C ₆ C ₃ C ₆ -Grundkörper	28
1.4.3.1 Polyhydroxiflavan-3-ole	29
1.4.3.2 Polyhydroxiflavan-3-4-diole	29
1.4.3.3 Flavanone und Flavanonone	30
1.4.3.4 Flavone und Flavonole	30
1.4.3.5 Anthocyanidine	30
1.4.4 Chemischer Aufbau der Polyphenole	31
1.4.4.1 Catechine und Proanthocyanidine	32
1.4.4.2 Anthocyanine	32
1.4.5 Gesundheitsförderung der Polyphenole	32
1.4.5.1 Antikarzinogene Wirkungen	32
1.4.5.2 Antioxidative Wirkung	33
1.4.5.3 Antimikrobielle Wirkungen	34
1.4.5.4 Andere Gesundheitsauswirkungen	35
<u>1.5 Freie Radikale und deren biologische Bedeutung</u>	36
1.5.1 Wichtige Vertreter reaktiver Sauerstoffmetabolite	38
1.5.2 Quelle der Radikalbildung	39
1.5.3 Biologische Bedeutung freier Radikale	42
1.5.4 Das antioxidative Schutzsystem	45
<u>1.6 Absorptionskoeffizient der verwendeten phenolischen Verbindungen (Beilstein-Datenbank)</u>	46
<u>1.7 Schlussfolgerungen für die eigene Versuchsanstellung</u>	46
<u>2 Material und Methoden</u>	48
<u>2.1 Material</u>	48

	Seite
2.1.1 2.1.1 Labor-Kultivierung von Topinamburpflanzen	48
2.1.2 Probenvorbereitung	48
2.1.3 Gesamtphenol-Bestimmung	49
2.1.3.1 Nach Folin-Ciocalteu	49
2.1.3.2 Nach MEBAK (EBC Methode)	49
2.1.4 Absorptionsspektren verschiedener phenolischer Verbindungen	50
2.1.5 HPLC-Trennung der Polyphenole	51
2.1.6 LC-HPLC-Trennung der Polyphenole	51
2.1.7 GC-MS	52
2.1.8 Physikalische Messungen	52
2.1.9 PPO-Aktivität-Bestimmung	52
2.10 Bestimmung der antioxidativen Kapazität von wasserlöslichen Stoffen	53
2.1.11 Bestimmung des Reduktionsvermögens nach MEBAK	54
2.1.12 Bestimmung der Trockenmasse	54
<u>2.2 Methoden</u>	<u>55</u>
2.2.1 Bestimmung der PPO-Aktivität	55
2.2.1.1 Nachweismethode von PPO bei Topinambur	55
2.2.2 Entwicklung der Polyphenol-Extraktionsmethode und Anzahl der Extraktionsstufen	56
2.2.3 Extraktion der Polyphenole	57
2.2.4 Bestimmung der Gesamtphenole	57
2.2.4.1 Nach Folin-Ciocalteu	57
2.2.4.2 Nach MEBAK (EBC Methode)	58
2.2.5 Ausreißernachweis	60
2.2.6 Prüfung auf gegenseitige Abhängigkeit zweier Variablen	60
2.2.7 Prüfung zweier Stichproben auf signifikanten Unterschied	61
2.2.8 Ermittlung des molaren dekadischen Absorptionskoeffizienten	61
2.2.9 Trennmethode mittels HPLC	62
2.2.10 LC-MS- Kopplung	62
2.2.10.1 Prinzip der Elektrospray-Ionisierungstechnik (ESI)	63
2.2.10.2 Typische Phänomene der Elektrospray Ionisation und deren Erklärung anhand der beiden Modelle CRM und IEM	67
2.2.10.2.1 CRM	67
2.2.10.2.2 IEM	67
2.2.10.2.3 Charakteristische Merkmale von ESI-MS Spektren	67
2.2.10.2.3.1 ESI-MS niedermolekularer Verbindungen	67
2.2.10.2.3.2 Ionen hoher Masse	68
2.2.10.2.4 Durchführung	69
2.2.10.2.5 Trennungsparameter	69
2.2.10.2.5.1 LC	69
2.2.10.2.5.2 MS	69
2.2.8 GC-MS- Kopplung	69
2.2.11.1 Ionisationsprinzip	70
2.2.11.1.1 Elektronenstoß-Ionisation	70
2.2.11.1.2 Chemische Ionisation	71

	Seite	
2.2.11.1.2.1	Ionisierung durch Protonierung	71
2.2.11.1.2.2	Ionisierung durch Ladungsübertragung	72
2.2.11.1.2.3	Bedeutung der Chemischen Ionisation	73
2.2.11.2	Trennungparameter	74
2.2.11.3	Auswertung von Massenspektren	75
2.2.12	Bestimmung der antioxidativen Kapazität und des Reduktionsvermögens	75
2.2.12.1	Bestimmung der antioxidativen Kapazität von wasserlöslichen Stoffen (ACW)	77
2.2.12.2	Bestimmung der Reduktionsvermögen nach MEBAK	82
2.2.13	Bestimmung der Trockenmasse	83
3	<u>Ergebnisse</u>	84
3.1	<u>PPO</u>	84
3.1.1	Prüfung der Reaktionsordnung	84
3.1.2	PPO-Aktivität der Topinambur unterschiedlicher Sorten	85
3.1.3	Topinambur-Polyphenoloxidaseaktivität bei unterschiedlichen Temperaturen	88
3.1.4	Inaktivierung der Topinambur-Polyphenoloxidase durch Temperatur und Zeit	88
3.1.5	pH-Abhängigkeit der Topinambur-PPO	91
3.1.6	Topinambur-Polyphenoloxidaseaktivität bei unterschiedlichen Säuren und pH-Werten	92
3.2	<u>Gesamtphenol-Bestimmung</u>	93
3.2.1	Überprüfung der Gesamtphenol-Bestimmungsmethode	93
3.2.2	Überprüfung der Farbreaktion bei der Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes nach Folin-Ciocalteu mit Topinambur	96
3.2.3	Überprüfung der Farbstabilität bei der Gesamtphenol-Bestimmung nach Folin-Ciocalteu mit Chlorogensäure als Standard in Abhängigkeit von der Zeit	98
3.2.4	Einfluss der Störungsfaktoren bei der Gesamtphenol-Bestimmung nach Folin-Ciocalteu	98
3.2.4.1	Einwirkung der freien SO ₂ bei der Gesamtphenol-Bestimmung nach Folin-Ciocalteu	100
3.2.4.2	Einwirkung der Ascorbinsäure bei der Gesamtphenol-Bestimmung nach Folin-Ciocalteu	102
3.2.4.3	Einwirkung von Aminosäuren bei der Gesamtphenol-Bestimmung nach Folin-Ciocalteu	103
3.2.4.4	Einwirkung der Eisen (II)-Ionen bei der Gesamtphenol-Bestimmung nach Folin-Ciocalteu	105
3.2.5	Überprüfung der Gesamtphenol-Extraktionsmethode nach Paupardin	107
3.2.5.1	Zusammenhang zwischen PPO und dem Polyphenolgehalt der Extrakten aus den Schalen (alle Sorten)	115
3.2.5.2	Zusammenhang zwischen dem Wassergehalt und dem Polyphenolgehalt der Extrakten aus den Schalen der frisch geernteten Topinamburknollen (alle Sorten)	116
3.2.5.3	Zusammenhang zwischen dem Wassergehalt und PPO der Extrakten aus den Schalen (alle Sorten)	117
3.2.6	Weiterentwicklung der Gesamtphenol-Extraktionsmethode und Überprüfung der Anzahl der Extraktionsstufen	117

	Seite	
3.2.7	Überprüfung der Reproduzierbarkeit der vorgeschlagenen Extraktionsmethode zur Bestimmung der phenolischen Verbindungen	121
3.2.8	Keimversuch der Topinamburknollen im Labor	122
3.2.8.1	Labor-Kultivierung von Topinamburknollen	122
3.2.8.2	Trockenmassen der im Labor kultivierten Topinamburknollen und einer Zichorienwurzel im Vergleich zwischen der ganzen Frucht und den Fruchtschalen	126
3.2.8.3	Gesamtphenolgehalte in den Schalen der Topinambursorte Stamm in Abhängigkeit von den Bezugssubstanzen	127
3.2.8.4	Gesamtphenolgehalte der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln bzw. deren Schalen als Salicylsäure-Äquivalent in Methanolextrakten nach Folin-Ciocalteu	131
3.2.8.5	Gesamtphenolgehalte der Schalen von im Labor kultivierten Topinambur und Zichorien in Methanolextrakten als Salicylsäure-Äquivalent nach Folin-Ciocalteu	133
3.2.8.6	Vergleichende physikalische Messungen an Topinambur und Zichorie	134
3.2.8.6.1	pH	134
3.2.8.6.1.1	pH-Messung an Extrakten aus verschiedenen Topinamburknollen und an der Zichorienwurzel nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorte und Keimdauer	134
3.2.8.6.1.2	pH-Messung in den Extrakten von verschiedenen Topinambur- und Zichorienschalen nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorte und Keimdauer	135
3.2.8.6.2	Extrakt	135
3.2.8.6.2.1	Extrakt-Messung an verschiedenen Topinamburknollen und an Zichorienwurzeln nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorten und Keimdauer	135
3.2.8.6.2.2	Extrakt-Messung verschiedener Topinambur- und Zichorienschalen nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorten und Keimdauer	136
3.2.8.6.3	Spezifische elektrische Leitfähigkeit K_{20}	137
3.2.8.6.3.1	Spezifische elektrische Leitfähigkeitsmessung K_{20} verschiedener Extrakte von Topinamburknollen und der Zichorienwurzel nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorte und Keimdauer	137
3.2.8.6.3.2	Spezifische elektrische Leitfähigkeitsmessung K_{20} verschiedener Extrakte von Topinambur- und Zichorienschalen nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorten und Keimdauer	138
3.2.8.6.3.3	Zusammenhang zwischen der Extraktkonzentration und der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit (K_{20}) in den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen	139

	Seite	
3.2.8.6.3.4	Zusammenhang zwischen dem Wassergehalt und der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit (K_{20}) in den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen	140
3.2.8.6.3.5	Zusammenhang zwischen dem Wassergehalt und dem Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu als SAE) in den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen	141
3.2.8.6.3.6	Zusammenhang zwischen dem Wassergehalt und dem Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu als GAE) in den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen	142
3.2.8.6.3.7	Zusammenhang zwischen spezifischer elektrischer Leitfähigkeit K_{20} und Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu als SAE)	144
3.2.8.6.3.8	Zusammenhang zwischen der Extraktkonzentration und dem Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu als SAE) der Extrakte aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen	145
3.2.8.6.3.9	Zusammenhang zwischen den pH-Werten und dem Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu als SAE)	145
3.2.8.6.4	Physikalische Messungen verschiedener frisch geernteter Topinamburknollen in Abhängigkeit von den Extraktionsstufen	146
3.2.8.6.5	Gesamtphenolbestimmung in einer Lösung unterschiedlicher Konzentration an Vergleichssubstanzen mit oder ohne 1 % iger Ascorbinsäure	147
3.2.8.7	Linearität der Extinktionen verschiedener phenolischer Verbindungen bei $\lambda = 720 \text{ nm}$ ($s = 1 \text{ cm}$) und $\lambda = 760 \text{ nm}$ ($s = 1 \text{ cm}$) (eigene Messungen)	148
3.2.8.8	Dekadische molare Extinktionskoeffizienten der untersuchten phenolischen Verbindungen in Methanol in Abhängigkeit von der Wellenlänge (eigene Messungen)	148
<u>3.3</u>	<u>Schnellbestimmung der reduzierenden Kräfte nach</u>	
	<u>MEBAK (DPI)</u>	154
3.3.1	Reduzierende Kräfte der Topinamburknollen und der Zichorienwurzeln	154
3.3.2	Reduzierende Kräfte der Topinambur- und Zichorienschalen, nach MEBAK bestimmt	155
3.3.3	Reduktionsvermögen [%] üblicher deutscher Biere	156
3.3.4	Zusammenhang zwischen Reduktionsvermögen und Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) der Extrakte aus der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln	157
3.3.5	Zusammenhang zwischen dem Reduktionsvermögen und dem Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) der Extrakte aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln	158
<u>3.4</u>	<u>Chemolumineszenz-Messungen</u>	159
3.4.1	Antioxidative Kapazität der Extrakte aus Topinamburknollen und Zichorienwurzeln	159

	Seite
3.4.2	Antioxidative Kapazität der Extrakten aus Topinambur- und Zichorienschalen 159
3.4.3	Gegenüberstellung der antioxidativen Kapazität der Topinambur- und Zichorienschalen (Maximalwerte sind angegeben) mit denjenigen von anderem Gemüse (Analytik Jena) 160
3.4.4	Zusammenhang zwischen der antioxidativen Kapazität in (g Ascorbinsäure/kg TM) und dem Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) der Extrakten aus der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln 161
3.4.5	Zusammenhang zwischen der antioxidativen Kapazität in (g Ascorbinsäure/kg TM) und dem Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln 162
3.4.6	Zusammenhang zwischen der antioxidativen Kapazität in (g Ascorbinsäure/kg TM) und dem Reduktionsvermögen [%] der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln 164
3.5	<u>HPLC-Trennung von einzelnen phenolischen Verbindungen</u> 165
3.5.1	Auswirkung der unterschiedlichen Strukturen von Phenolen auf die HPLC-Trennung bei einzelnen phenolischen Verbindungen, bestimmt bei $\lambda = 280$ nm mittels UV-Detektors 165
3.5.2	Wiederfindung von phenolischen Verbindungen bei der HPLC-Trennung und UV-Detektion gegenüber dem Diode Array Detektor (DAD) bei $\lambda = 280$ nm 166
3.5.3	Retentionzeiten der Vergleichssubstanzen 167
3.5.4	HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen einer Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen (440 mg/l) in Methanol bei $\lambda = 280$ nm (UV-Detektor) 168
3.5.5	Auswirkung der Lösemittel auf die HPLC-Trennung von einzelnen phenolischen Verbindungen bei $\lambda = 280$ nm (UV-Detektor) 168
3.5.6	Strukturaufklärung durch Kopplung LC/ MS 168
3.5.6.1	Mittels LC-MS identifizierte phenolische Verbindungen in Methanol anhand einer Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen 168
3.5.6.2	Mittels LC-MS identifizierte phenolische Verbindungen in Methanol an Topinamburextrakten 171
3.5.7	Strukturaufklärung durch die Kopplung GC-MS 172
3.5.7.1	Mittels GC-MS identifizierte phenolische Verbindungen anhand einer Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen 172
3.5.7.2	Mittels GC-MS identifizierte phenolische Verbindungen aus Topinamburextrakten 172
3.5.8	Gehalte der mittels HPLC getrennten einzelnen phenolischen Verbindungen und deren Gesamtphenolgehalte berechnet als Salicylsäureäquivalente, anhand der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln sowie deren Schalen, jeweils aus der Methanolextraktion bei $\lambda = 280$ nm, im UV detektiert 173

		Seite
3.5.8.1	HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Sorte Gigant, (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf die Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)	173
3.5.8.2	HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Sorte Gute Gelbe, (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf die Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)	173
3.5.8.3	HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Sorte Large White, (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf die Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)	174
3.5.8.4	HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Sorte Medius Brückmann, (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf die Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)	175
3.5.8.5	HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Sorte Medius Lindhoop, (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf die Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)	175
3.5.8.6	HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Sorte Petit Blanc, (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf die Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)	176
3.5.8.7	HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Sorte RoZo, (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf die Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)	176
3.5.8.8	HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Sorte Stamm, (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf die Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)	177
3.5.8.9	HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Sorte Waldspindel, (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf die Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)	177
3.5.8.10	HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Zichorie (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)	178
3.5.8.11	Mittels HPLC bestimmte Gesamtphenolwerte (auch nicht identifizierte Verbindungen) der Topinamburknollen und Zichorienwurzeln sowie deren Schalen in Abhängigkeit von der Keimdauer: berechnet als Salicylsäure-Äquivalent	179
3.5.8.11.1	Gegenüberstellung der mittels HPLC (auch nicht identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte der Topinamburknollen und Zichorienwurzeln	179

	Seite	
3.5.8.11.2	Gegenüberstellung der mittels HPLC (auch nicht identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte der Topinambur- und Zichorienschalen	180
3.5.8.11.3	Zusammenhang zwischen der mittels HPLC (auch nicht identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte der Topinambur- und Zichorienschalen	180
3.5.8.12	Mittels HPLC bestimmte Gesamtphenolwerte der Topinamburknollen und Zichorienwurzeln sowie deren Schalen in Abhängigkeit von der Keimdauer: Summierung der individuellen Polyphenolverbindungen	181
3.5.8.12.1	Gegenüberstellung der mittels HPLC (nur identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte der Topinamburknollen und Zichorienwurzeln	182
3.5.8.12.2	Gegenüberstellung der mittels HPLC (nur identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte der Topinambur- und Zichorienschalen	182
3.5.8.12.3	Zusammenhang zwischen der mittels HPLC (nur identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte der Topinambur- und Zichorienschalen	182
<u>4</u>	<u>Diskussion</u>	184
<u>5</u>	<u>Schlussfolgerung</u>	194
<u>6</u>	<u>Zusammenfassung</u>	202
<u>7</u>	<u>Literaturverzeichnis</u>	204
	Abbildungsverzeichnis	228
	Abkürzungsverzeichnis	229
	Bilderverzeichnis	232
	Chromatogrammverzeichnis	233
	Diagrammverzeichnis	234
	Schemaverzeichnis	237
	Tabelle Verzeichnis	238
	Danksagung	243
<u>8</u>	<u>Anlagen</u>	244

„Eure Nahrungsmittel sollen eure Heilmittel und eure Heilmittel eure Nahrungsmittel sein“
Paracelsus

0 Einleitung und Zielstellung

Sauerstoff ist das Lebelement schlechthin. Ohne ihn gab es kein höherentwickeltes Leben auf der Erde - keine Menschen und auch nur anaerobe Tiere und Pflanzen. Handelt es sich um Lebensmittel, wird Energie durch Stoffwechselwege und unter Sauerstoffverbrauch freigesetzt, die alle Körperzellen benötigen, um am Leben zu bleiben. Dieser positiven Seite des Sauerstoffs steht jedoch eine negative gegenüber: Sauerstoffreaktionen führen zur Bildung von freien Radikalen. Es ist bekannt und wird durch neueste Forschungsergebnisse aus den USA wieder bestätigt, dass die sekundären Pflanzeninhaltsstoffe, wie insbesondere Polyphenole, natürliche Fänger freier Radikale sind. Durch die Nahrung und durch Umwelteinflüsse, wie Ozon, Abgase, ungereinigte Emissionen aus der Industrie, gelangen cancerogene Stoffe in den Körper, darunter die beschriebenen freien Radikale. Ferner ist bekannt, dass Selen zusammen mit den reduktiv wirkenden Vitaminen A, C und E die Reduktion reaktiver Peroxide vornimmt, wobei das Selen Aktivator der Glutathionperoxidase ist.

Die sekundären Pflanzeninhaltsstoffe rücken in den letzten Jahren immer mehr in das Interesse der Wissenschaft. Verschiedene Studien deuten darauf hin, dass eine obst- und gemüsereiche Ernährung, d.h. die ausreichende Aufnahme von diesen sekundären Pflanzenstoffen vor verschiedenen Erkrankungen schützen soll (1). Zusammengefasst wirken sie vorbeugend gegen Krebs, sie schützen den Körper vor Infektionen mit Bakterien und Viren, hemmen die Entstehung von schädlichen Stoffwechselprodukte, regen das Immunsystem an, verhindern Blutgerinsel und sind verdauungsfördernd. Die positive Wirkung vieler sekundärer Pflanzenstoffe wird unter anderem auf ihre antioxidative Aktivität zurückgeführt.

Aufgrund des sog. „French Paradoxons“ sind phenolische Pflanzeninhaltsstoffe Gegenstand intensiver Forschungen geworden (2, 3, 4, 5). Danach liegt die Mortalitätsrate an Herz-Kreislauf-Erkrankungen in der Bevölkerung Frankreichs, besonders von dessen südlichen Teile wesentlich niedriger als bei Bewohnern anderer industrialisierter Länder Europas und der USA, obwohl die Aufnahmen an gesättigten Fettsäuren sowie die Serum-Cholesterinwerte in allen Länder vergleichbar sind. Dies wird auf die Ernährung mit einem höheren Obst- und Gemüseverzehr sowie den Rotweinkonsum zurückgeführt. Phenolische Verbindungen sind in Obst und Gemüse (4-48), Wein (49-68), Fruchtsäften (69-92), Bier (93-97), Tee (98-117), Olivenöl (118-123), Getreide (124, 125), Kaffee (126, 127, 128), Sorghum (129, 130, 131), Malz (132, 133), Kakao (134, 135) und Honig (136) nachgewie-

sen worden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen deuten darauf hin, dass phenolische Verbindungen in Pflanzen in Spuren vorkommen. Sie sind unter anderem für den Geschmack, den Duft und die Farbe von Obst und Gemüse verantwortlich. Ihr Molekülspektrum reicht von einfachen Phenolderivaten und Phenolsäuren bis hin zu hochmolekularen Strukturen.

Über die Zusammensetzung der Polyphenole in Topinambur liegen in der Literatur dagegen nur qualitative Aussagen vor. Einzelne Verbindungen sind früher mittels Papierchromatographie qualitativ untersucht worden (137, 138). Hierbei wurden die Topinamburknollen zum Keimen gebracht und das mit dieser einfachen Methode nachweisbare Spektrum der Polyphenole qualitativ nach (6, 8, 12 und 40) Keimungstagen beobachtet. Nach diesen Autoren sind Chlorogensäure, 4-Hydrozibenzoessäure, Vanillinsäure, Gentiensäure, p-Cumarsäure, Kaffeesäure, Ferulasäure und Cyanidin in Topinambur vorhanden. Weitere Inhaltsstoffe von Topinamburknollen sind ebenfalls untersucht worden (139). Die Isolierung und Charakterisierung von Polyphenoloxidasen (PPO), ihre Bedeutung für die Obst- und Gemüse-Verarbeitung sowie die Hemmung der PPO in Topinamburknollen sind ebenfalls untersucht worden (140-156). Die PPO gehört zur Gruppe der Oxidoreduktasen und können die aromatische Verbindungen oxidativ unter Verbrauch von O₂ verändern, wobei es sich nicht nur um Phenole handeln muss, sondern auch um Amine handeln kann. Die physiologischen Aufgaben der PPO sind vielfältig. Zum einem ist das Enzym an der Biosynthese einiger Farbpigmente, z.B. Melanin aus Tyrosin über DOPA beteiligt. Weiterhin ist es an dem Abbau und der Weiterverwendung von aromatischen Aminosäuren beteiligt. PPO spielen auch eine Rolle bei der cuticulären Melanisierung und Sklerotisierung der Insekten sowie bei deren Immunantwort gegen Eindringlinge. Sie verursachen bei der Verarbeitung von Obst und Gemüse eine unerwünschte und qualitätsvermindernde Verfärbung. Bis heute wurde über die antioxidative Aktivität sowie das Reduktionsvermögen von Topinambur nicht berichtet. Neben dem hohen Anteil an Inulin sind die Polyphenole wichtige Inhaltsstoffe von Topinambur.

Zielstellung der Arbeit

Die vorliegende Arbeit leistet einen Beitrag zur Bewertung von verschiedenen Topinambursorten (*Helianthus tuberosus* L.) bezüglich des Polyphenolspektrums. Die Keimungseinflüsse bei der vegetativen Vermehrung werden geprüft, besonders werden die verdickten Rhizome („Knollen“) fraktioniert (Fruchtfleisch und Schalen), im Hinblick auf die Gewinnung von phenolischen Verbindungen, ihre antioxidative Kapazität und das Reduktionsvermögen sowie ihr Zusammenspiel mit den Polyphenoloxidasen untersucht.

Das Ziel der Arbeit ist:

1. Die Entwicklung einer abgesicherten Methode zur Gewinnung von phenolischen Verbindungen aus Topinambur,
2. die Bestimmung der PPO-Aktivität und die Extraktion der Polyphenole aus ganzen Knollen und der Schalenfraktion der physiologisch aktiven Topinamburknollen, wobei die Knollen auch zum Keimen gebracht werden und in Abhängigkeit von der Keimdauer die Gesamtpolyphenole sowie einzelne polyphenolische Verbindungen bewertet werden,
3. Vergleich der Absorptionsmaxima mit den Beilstein-Werten,
4. die Bestimmung der molaren Extinktionskoeffizienten aller Vergleichssubstanzen,
5. die Strukturklärung aller im Topinambur enthaltenen Polyphenole mittels LC-MS und GC-MS,
6. die Ermittlung der antioxidativen Aktivität der Topinamburproben nach der MEBAK-Methode und dem ACW-Test,
7. das Ziehen von Schlussfolgerungen für die Vorbereitung des Einsatzes von großtechnischen Anlagen zur Gewinnung von isolierten Polyphenolen aus der Schalenfraktion von Topinambur und
8. das Übertragen der Erkenntnisse auf andere Früchte.

1 Theoretischer Teil

1.1 Topinambur

1.1.1 Herkunft und Geschichte

Helianthus tuberosus L. ist genetisch ursprünglich den mittleren und östlichen Gebieten Nordamerikas zugeordnet worden. Die Topinambur gehört botanisch zur Ordnung der Korbblütler (Compositae) in die Gattung *Helianthus* (Sonnenblumengewächse). Der amerikanische Name lautet heute „Jerusalem Artichoke“. Sie wurde das erste Mal vor 400 Jahren in Europa angebaut (157, 158). Topinambur war einst ein Armeleuteessen, das den Menschen in Not- und Kriegszeiten über den schlimmsten Hunger hinweghalf. Diese schmackhafte Knolle wurde Anfang des 17. Jahrhunderts im Zuge der Kolonisation Kanadas bei den dort ansässigen Indianerstämmen entdeckt.

Es war übrigens nicht der spektakuläre Cristobal Colon (Kolumbus), der diese Pflanze oder die Kunde davon nach Europa brachte, sondern bei der Kolonisation Kanadas fand der französische Offizier Samuel de Champlain 1603 bei den eingeborenen Indianern mehrere Arten essbarer "Wurzeln", die sie anbauten und die den Geschmack von Artischocken hatten. Wäre nicht im Jahre 1612 eine Hungersnot in Port Royal, Neu-Frankreich (Ostkanada) ausgebrochen, hätte sich die Kunde über die Topinambur als Wunderpflanze nicht verbreitet. So aber konnten sich die französischen Neu-Kanadier mit dieser Pflanze fast als alleinigem und dabei auch noch ausgesprochen schmackhaftem Nahrungsmittel bis zur nächsten Ernte retten. Berichte über das wundersame Überleben mussten verfasst werden, und zwar zunächst an den weltlichen Herrscher, Ludwig XIII. von Frankreich, und schließlich an den Papst. Zum Beweis wurden Pflanzen nach Frankreich gebracht, wo sie nur für den Hochadel bestimmt waren. Die Topinambur gedieh in den königlichen Gärten von Versailles für die Tafel des Hofes. Aber was "die da oben" essen, muss doch auch für den Bauern, den Seemann und anderes Volk gut sein. Und so wurden - heimlich durch die Seeleute direkt aus "Neu-Frankreich", aber auch durch Diebstahl aus den königlichen Gärten diese Indianerknollen doch verbreitet und allgemein als Speise, Beilage zu Fisch und Fleisch, für Suppen und roh zum Dazwischenessen genossen. Die Kunde über die Wunderpflanze verbreitete sich so rasch, dass bereits innerhalb weniger Jahre der Anbau in England, Belgien, den Niederlanden, in Spanien und Italien begann. Bemerkenswert ist, dass sich diese Pflanze trotz des Dreißigjährigen Krieges besonders in den betroffenen Ländern Mitteleuropas ausbreitete - wieder in Zeiten der Not. Bedingt durch die Nöte in der damaligen Versorgung mit Nahrungsmitteln, bedingt durch die Wiederentdeckung dieser wertvollen Pflanze im 20. Jahrhundert, haftet der Topinambur der Geruch von Not und Tod an. Sie war zum Armeleuteessen, zum Lückenbüßer in der Versorgung der von Kriegen geschüt-

telten Bevölkerung in Mitteleuropa stilisiert worden. Der Gesundheitswert der Knollenfrüchte wird erkannt: die positiven Wirkungen auf das Verdauungssystem, frische Topinambur und Produkte daraus werden in der Ernährung bei Diabetes mellitus, der häufigsten Zivilisationskrankheit in der westlichen Welt, die oftmals mit Übergewicht einhergeht, seit Jahrzehnten angewandt. Viele Namen sind von Topinambur bekannt, z.B. Erdartischocke, Erdbirne, Erdapfel und Knollensonnenblume. Der Name Topinambur hingegen bezeichnet den brasilianischen Indianerstamm der Tupinambas. Im Laufe der Zeit erhielt sie viele andere volkstümliche Bezeichnungen, wie beispielsweise Erdsonnenblume, kleine Sonnenblume, Knollensonnenblume, Erdbirne, Erdartischocke, Ewigkeitskartoffel und Indianerknolle(159). Die in mehreren Namen auftauchende Bezeichnung "Artischocke" hat mit der echten Artischocke nichts zu tun. Dieser Name zeigt an, dass die Knolle der ursprünglichen Art herzhaft nach Artischocken schmeckt (139).

1.1.2 Anbau und landwirtschaftliche Bedeutung der Topinambur

Topinambur ist eine Kurztagspflanze. Unter Ertragsminderung wird sie auch in den geographischen Zonen angebaut, die wechselnde Jahreszeiten und Lichtverhältnisse aufweisen. In den Breiten Mitteleuropas erreichen die Pflanzen im Laufe des Sommers eine Wuchshöhe von mindestens 2 m (Bild 1) bis über 4 m.

Während die oberirdischen Teile noch leichte Fröste bis $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ überstehen, sind die Knollen absolut winterhart, da sie Fröste bis $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ widerstehen. Diese Pflanze ist gekennzeichnet durch einen starken, rauhaarigen Stängel, große, langgestielte, rauhaarige Blätter, gelbe, der Sonnenblume ähnliche kleine Blütenköpfe und ein dichtes Wurzelnetz mit birnenförmigen, spindelartigen oder runden Sprossverdickungen, den sogenannten Knollen. Aus landwirtschaftlicher Sicht stellt Topinambur keine besonderen Ansprüche an Klima, Boden oder Standort. Am besten gedeihen die Pflanzen an einem sonnigen Standort mit kalkhaltigem Untergrund (z.B. Sandböden mit 10 % Lehm). Die Pflanze hat einen ziemlich hohen Wasserbedarf.

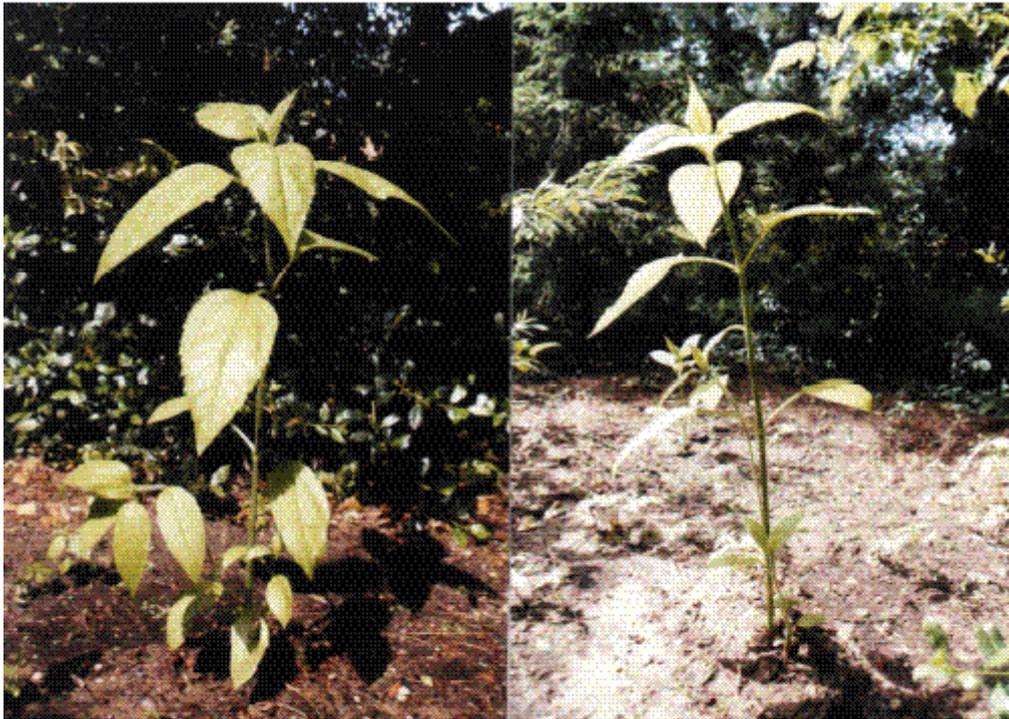


Bild 1: Die Topinamburpflanze im Garten in Berlin-Frohnau

In Mitteleuropa blühende Formen haben kleine sonnenblumenähnliche Blüten. Bis zum Herbst bilden sich an den Wurzeln Verdickungen (Knollen) aus (Bild 2).



Bild 2: Die Topinamburknollen (weißschalige Sorte „Gigant“)

Wenn auf der nördlichen Erdhalbkugel zwischen Juli und September zu wenig Regen fällt, bilden sich nur kleine Knollen mit geringem Inulingehalt aus. Im Frühjahr, Mitte April bis Mai, werden zwischen 35 000 und 40000 Knollen/ha als Dammkultur gesetzt. Die Pflanzen sollten unbeschattet sein. Die vegetative Kultur beginnt mit sogenannten Saatknollen. Eine generative Vermehrung durch Saatgut ist nicht üblich. Als beste Pflanzzeit in Mitteleuropa gelten die Monate Oktober bis Mitte April. Das Pflanzen der Knollen im Herbst ist wegen der Frostbeständigkeit möglich. Die Knollen selbst werden etwa 5 bis 10 cm tief in den Boden gelegt mit einem Reihenabstand von 50 bis 60 cm und einem Abstand in der Reihe von 30 cm. Die Pflanzknollen werden nach Gewicht und Größe vorsortiert. Für eine gute Jugendentwicklung der Pflanze hat sich Wärme während des Frühjahrs als günstig erwiesen, ebenso wie Niederschläge im Spätsommer und ein milder Herbst für einen guten Knollenansatz bzw. einen hohen Knollenertrag.

In den letzten Jahren wurde der Topinamburpflanze größeres Interesse entgegengebracht. Einesteils, weil sie auch auf leichteren Böden ausreichende Erträge liefert, und andererseits, weil sie sehr widerstandsfähig gegen Pflanzenkrankheiten ist (159). Auch in die Reihe der energieliefernden nachwachsenden Rohstoffe, deren Anbau durch die Staaten des EWG in den Jahren 1980-1990 geprüft wurde, ist die Topinambur mit einbezogen worden. Dies betraf den Anbau in den Niederlanden, in Frankreich und in der Bundesrepublik. Die Pflanzen sollten jedes Jahr umgesetzt bzw. neu an einen anderen Standort gepflanzt werden, sonst gehen die Erträge bei mehrfacher Kultivierung stark zurück (kleinere und weniger Knollen). Eine zusätzliche Düngung ist ab dem Frühjahr empfehlenswert. Die Düngungshöhe richtet sich nach der Nährstoffversorgung des Bodens. Zwei Gaben mit je 30 g eines organisch-mineralischen Volldüngers pro m² im Frühjahr und Frühsommer können als Durchschnittswert gelten. Der Dünger wird flach in die Erdoberfläche eingearbeitet. Besondere Pflegemaßnahmen sind weiterhin nicht erforderlich. Bei länger anhaltender Trockenheit muss bewässert (beregnet) werden. Außer Sclerotinia (Pilse) ist kein weiterer Schädling der Pflanze bekannt. Die Pflanze ist besonders resistent gegenüber Rhizomania (von der Zuckerrübe stammend) und Nematoden (Kartoffelkrankheit).

1.1.3 Ernte und Einlagerung

Die Länge der vegetativen Phase vom Auskeimen bis zur Blütenbildung beträgt in Mitteleuropa zwischen 65 Tagen bei frühen Sorten und 140 Tagen bei den spätreifen. Wenn die mittlere Temperatur im Pflanzgebiet über dem Jahresdurchschnitt liegt, kann sich die vegetative Phase um bis zu 15 % verkürzen. Die Blätter und Stängel werden welk und trocken ein - das Zeichen dafür, dass die Knollen voll ausgebildet sind. Frühsorten sollten nur

im Herbst geerntet werden, weil der Auftauprozess nach Winterfrösten zu schnellem Atmungsstoffwechsel und Auskeimen führt, wodurch erhebliche Inulinverluste eintreten. Auch die spätreifen Sorten Violet de Rennes aus Frankreich und RoZo sollten, wenn das Kraut total abgereift ist, schon im Herbst geerntet werden. Rotschalige Sorten haben einen schützenden Anthocyangehalt und sind weniger empfindlich beim Einlagern. Je nach Klima, Standort und Pflege (Düngung, genügend Wasser) werden 1,5 bis 3,5 kg Knollen pro Pflanze geerntet. Der ideale Erntetermin ist dann erreicht, wenn sich die Knollen von ihren Hartsträngen oder Stolonen lösen. Das kann bei späten Sorten erst im November der Fall sein. Im Gegensatz zu den Kartoffeln sollte man jedoch die Knollen für den Hausbedarf nicht auf einmal ernten, da ihre Haltbarkeit beschränkt ist. Das hängt damit zusammen, dass die Knollen nur eine sehr dünne Schale haben und dadurch nach der Ernte schnell Wasser verlieren, schrumpfen und infolge der dünnen äußeren Schale leicht verderben. So kann sich die Ernte, abgesehen von den Frostperioden, praktisch über den ganzen Winter bis zum Frühjahr hin erstrecken. In diesem Fall ist nur zu beachten, dass die Knollen dann im Winter Futter für Wühlmäuse sind. Muss mit einem Wühlmausbefall gerechnet werden, wird oft empfohlen, die Ernte einmalig vorzunehmen und die Knollen einzumieten. Kleine Mengen sind in Drahtkörben an einem geschützten Platz in die Erde einzugraben. Ansonsten können die Knollen auch einige Zeit kühl, schattig und etwas feucht gelagert werden. Bei einer geplanten Einlagerung der Knollen ist auf sich relativ schnell ausbreitende Fäulnis sowie Weißschimmelbefall zu achten. Bei mittelfrühen bzw. späten Sorten sollte ein Teil der Herbsternnte im Boden gelassen und sofort im Frühjahr die Knollen zum alsbaldigen Verzehr ausgegraben werden. Bei Bedarf kann auch ein Teil der Herbsternnte über 4-5 Wochen in sauberen Holzkisten, die zwecks Klimahaltens von außen mit Styroporplatten eingeschlossen werden, bei +4 °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 90 % gelagert werden (160).

Die Frühjahrsernte ist sehr anfällig - man kann unter diesen Bedingungen die Knollen nicht länger als drei Wochen bevorraten, danach ist mit Fäulnis und Schimmelbefall zu rechnen. Die Topinamburpflanzen haben die ökologischen Vorteile, dass sie hohe Nährstoffaufnahme (600 - 800 kg/ha/Jahr) aufweisen und damit den Boden von Mineralstoffüberschüssen entlasten. Gleichzeitig brauchen sie keinen Einsatz von chemischen Pflanzenschutzmitteln. Topinambur wird in Böden verschiedener Gebiete, in denen Zuckerrübenpflanzen nicht kultiviert werden, angebaut. Bei entsprechender Nährstoff- und Wasserversorgung, und unter günstigen klimatischen Bedingungen lassen sich flächenbezogene Kohlenhydraterträge erzielen, die jene der Getreidesorten weit hinter sich lassen

(161-164), und zwar von 35 % bis zu 72 % der Trockenmasse des in den Knollen enthaltenen Kohlenhydrats Inulin.

1.1.4. Zusammensetzung der Topinamburknollen

1.1.4.1 Inhaltsstoffe

Die stoffliche Zusammensetzung der Topinamburknollen zeigt sehr unterschiedliche Ergebnisse, weil sie von Sorte, Standort, Klima, Anbau, Erntezeitpunkt, Lagerung und Verarbeitungsbedingungen abhängig ist (162, 165). Tabelle 1 zeigt die Inhaltsstoffe der Topinamburknolle .

Der Feuchtigkeitsgehalt der frisch geernteten Knollen ist sehr hoch. Dieser liegt bei mehr als 80 % am Anfang des Knollenwachstums im August, nimmt danach sehr schnell bis 75 % ab und bleibt dann konstant (166). Nach Untersuchungen von (Bärwald und Mitarbeitern 1982-1991) hingegen beträgt die Trockenmasse der Topinamburknollen 21 ± 1 % , was einem Feuchtigkeitsgehalt von 79 % entspricht (Tabelle 1). Eigene Untersuchungen haben gezeigt, dass die Trockenmassen der Topinambur je nach Sorten bzw. Schalen unterschiedlich sind und sich im Laufe der vegetativen Keimung ändern. Der Schwankungsbereich liegt zwischen 12 und 28 % in den Knollen und zwischen 14 und 31 % in den Schalen. Der Rohproteinanteil beträgt 2,4 %, wovon der größere Teil aus 60 % Reineiweiß, der kleinere Teil aus Amidn, freien Aminosäuren, wie den essentiellen Lysin, Cystin, Arginin, Histidin, Tryptophan, Asparagin, vor allem aber Betain und Cholin besteht (167).

Die niedermolekularen Stickstoffverbindungen sind bei einem pH-Wert am isoelektrischen Punkt der Reineiweiße löslich. Diese Eigenschaft kompliziert ihre Entfernung vom Knollensaft (168).

Tabelle 1: Inhaltsstoffe der Topinamburknollen nach Bärwald u.a 1989

Substanz	Mittelwert	Bereich
Trockenmasse, %	21	19-28
Kohlenhydrate, %	15,8	13,2-22
Fructose, g/ kg	1,2	1-2
Glucose, g/ kg	0,4	0,2-0,8
Inulin, hochpolymer, %	8	variabel; abhängig von Sorten und Ernte
mittlerer Polymerisations- grad der Fruooligosaccha- ride, %	6	
Rohprotein, %	2,4	1,8-3,2
Fett, %	0,4	0,1-0,7
Rohfaser,%	1,3	1,25-2,5
Mineralstoffe,%	1,7	1-2
Natrium, mg/ 100 g	16	10-90
Kalium, mg/ 100 g	848	478-1000
Calcium, mg/ 100 g	134	100-150
Magnesium, mg/ 100 g	34	20-40
Eisen, mg/ 100 g	3	2,1-3,7
Phosphat, mg/ 100 g	383	200-400
Sulfate, mg/ 100 g	68	
Vitamin B ₁ , µg / 100 g		100-200
Vitamin B ₂ , µg / 100 g		50-60
Vitamin B ₆ , µg / 100 g	300	
Inositol mg/ 100 g	66	

Im Allgemeinen steigt der Rohproteingehalt in verwilderten und kultivierten Topinambur-
sorten bei zunehmender Reifung der Knollen. In der vegetativen Zeit liegt der Eiweißge-
halt bei 7,65 % bezogen auf die Trockensubstanz. Im Durchschnitt steigt der Roheiweiß-
gehalt auf ein Maximum (10,4 % bezogen auf die Trockensubstanz) in der Fruchterntepe-
riode an. Die hohe Roheiweißkonzentration kann das Ergebnis vom Übergang des Stick-
stoffs aus dem Stängel und aus den Blättern zu den Knollen zum Ende der Saison sein. Der

Stickstoffgehalt in den Blättern und Stängeln der Topinambur steigt vor der Blüteperiode an und nimmt danach während der Fruchternteperiode ab (169). Der Gehalt an reduzierenden Zuckern unterscheidet sich signifikant in den frischen Knollen bei den verschiedenen Entwicklungsstadien und Sorten. Er schwankt von 13,2 bis 27,7 % (170, 171). Das ist sehr widersprüchlich, denn die reduzierenden Zucker, die in freier Form als Monosaccharide vorliegen, betragen nach eigene Untersuchungen ja nur 0,2 % in der Knolle für Glukose und bis 1 % als Fruktose. Die in der Literatur (171, 172) angegebenen Werte können nicht stimmen, weil 13,2 bis 27,7 % reduzierende Zucker doch total daneben sind. Die Konzentration der Trockensubstanz nimmt fortschreitend von dem Gewebe der Rinde zum Mark hin ab. Diese Abnahme beträgt zwischen 32 und 36 % (163). Der Gesamt-Saccharidgehalt ist 39 bis 43 % höher in dem Rindengewebe als in dem Markgewebe. Der Gehalt an „freien“ fermentierbaren Zuckern (FFZ) bzw. Trockenmasse nimmt im Lauf der Lagerung zu (160).

Der Gehalt an „total“ fermentierbaren Zuckern (TFZ), d.h. die Summe der Kohlenhydrate nach Totalaufschluss, nimmt im Lauf der Lagerung ab (160). Der Gehalt an Trockenmasse nimmt bei Überwinterung der Knolle in der Erde ab (160). Der Anteil der niedermolekularen Fruktosane von Herbstknollen nimmt während der Lagerung zu, sortenbedingt jedoch in verschiedenem Ausmaß. Bei der Lagerung der Frühjahrsknollen wurde hingegen eine Abnahme festgestellt. Die Verminderung des Gehaltes an „freien fermentierbaren Zuckern“ hängt mit einer Erhöhung des mittleren Polymerisationsgrades der Fruktosane zusammen und kommt in einer Erhöhung des Fruktoseanteiles an den TFZ zum Ausdruck.

1.1.4.2 Einfluss des Erntezeitpunktes

Das Ergebnis der Varianzanalyse für den Knollenertrag von fünf verschiedenen Sorten zeigte nach Haluschan (172) keinen Einfluss des Erntezeitpunktes "Herbst" oder "Frühjahr". Dagegen kam die besondere Bedeutung des Erntezeitpunktes für die Trockensubstanz, den reduzierenden Zucker und Gesamtzucker (gemeint ist der gebundene Anteil nach Hydrolyse) zum Ausdruck. Der Trockensubstanzgehalt war zur Frühjahrsernte um 1,3 % bis 2,4 % absolut geringer als zur Herbsterte. Die hohen Verluste an Trockenmasse und Kohlenhydrate wurden damit erklärt, dass ein langer und niederschlagsreicher Winter herrschte und die Ernte erst in der ersten Aprildekade durchgeführt werden konnte. Zu diesem Zeitpunkt fand bereits eine relativ starke Atmung der Topinamburknollen statt. Es wurde weiterhin festgestellt, dass der Erntezeitpunkt den großen Einfluss auf den Fruktoseanteil an dem gesamten reduzierenden Zucker hatte (168). Die Fruktosekonzentration

nimmt ab, wenn die Ernte später erfolgt. Septemberernte gibt Fruktosekonzentrationen von 82 % bis 91 %, während Novemberernte nur entsprechend 73 % bis 79 % zeigt (Tabelle 1).

1.1.5 Anwendungsmöglichkeiten für Topinamburknollen

Bisher liegt in Mitteleuropa die Verarbeitung von Topinamburknollen zu Industrieprodukten nur in den Bereichen Brennerei (Herstellung eines speziellen Obstbranntweins, Bioalkohol), Saft- und Konzentratfabrikation, Sirupherstellung, Trockenprodukte und Anwendung in der Pharmazie. Nur wenige Veröffentlichungen aus anwendungsbezogener Sicht in den letzten Jahren liegen vor (165-182), wobei sich einige mit der Analytik (168, 176, 177, 178, 179) bzw. dem Lagerverhalten der Knollen (160, 180, 181) befassen.

Von Berichten aus der Einwanderung nach Amerika ist der Verzehr der rohen und gegarten Topinamburknollen bekannt. Auch in Europa war die Knolle sehr geschätzt. Wegen ihres artischockenartigen Geruchs und Geschmacks bereicherte sie den Speisezettel als Beilage. Wegen ihrer geringen Lagerfähigkeit geriet sie in Mitteleuropa in Vergessenheit. Erst durch die Herstellung haltbarer Produkte aus der Knolle und die günstigen Eigenschaften ihrer Inhaltsstoffe in der Diätetik und als Diabetikerkost rückt die Verarbeitung im Lebensmittelbereich wieder in den Vordergrund. Bisher sind nach den Erfahrungen von Bärwald (persönliche Mitteilung 2000) reine Süßungsmittel aus Topinambur entwickelt worden, die hinsichtlich ihrer Zusammensetzung Honig und Ahornsirup durch den Inulin-, Inulide- und Fruktosegehalt sowie aufgrund der Mineralstoffzusammensetzung und Spurenelemente überlegen sind. Hierzu gehören auch Brotaufstriche, Bonbonfüllmassen, Komponenten in Marmeladen, Grundstoffe für Süßgetränke und Saftzubereitungen. Das aus dem Trocknungsprozess der Knollen gewonnene Mehl wird zur Verbesserung der Sauerteige in den Bäckereien grosstechnisch eingesetzt.

Als besonders wohlschmeckend erweisen sich milchsauer fermentierte Topinambursäfte mit einem hohen Gehalt an L(+)-Milchsäure. Hier ist es gelungen durch den Einsatz verschiedener zu den Streptokokken und Laktobazillen gehörenden Spezialstämmen variable Geschmacksrichtungen zu komponieren. Die Anteile an L(+)-Milchsäure können dabei bis zu 94% der Gesamtmilchsäure betragen. Die Aromaeindrücke reichen dabei bis zu Frucht- und Colanoten. Die Herstellung von Fruktose sowie Sirup aus Topinamburknollen ist seit über 60 Jahren bekannt (168, 182). Auf dem Pharmagebiet wird der Auszug aus *Helianthus tuberosus* als Appetitzügler angeboten (167, 168).

1.2 Enzymatische Verfärbung

1.2.1 Einführung

Man nennt "enzymatische Verfärbung" die enzymatische Umwandlung in ihr ersten E-tappen von phenolischen Verbindungen unter Beteiligung von Sauerstoff zu gefärbten Polymeren, die meistens braun oder schwarz sind. Die Abschnitte dieser Veränderung sind nach Cheftel (183) (Abbildung 1):

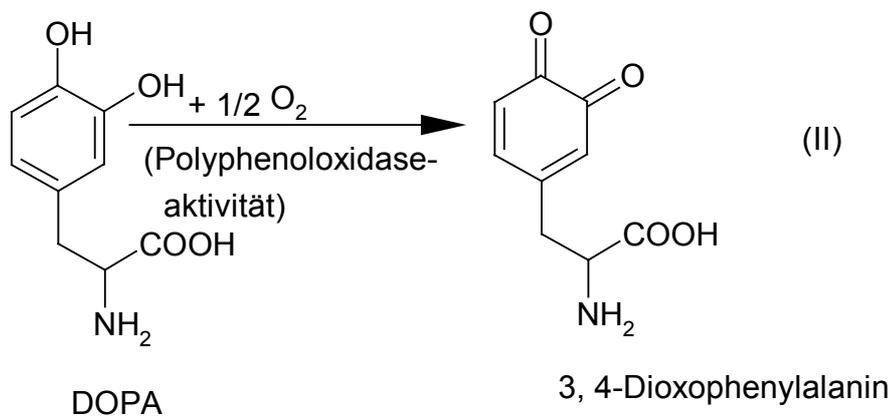
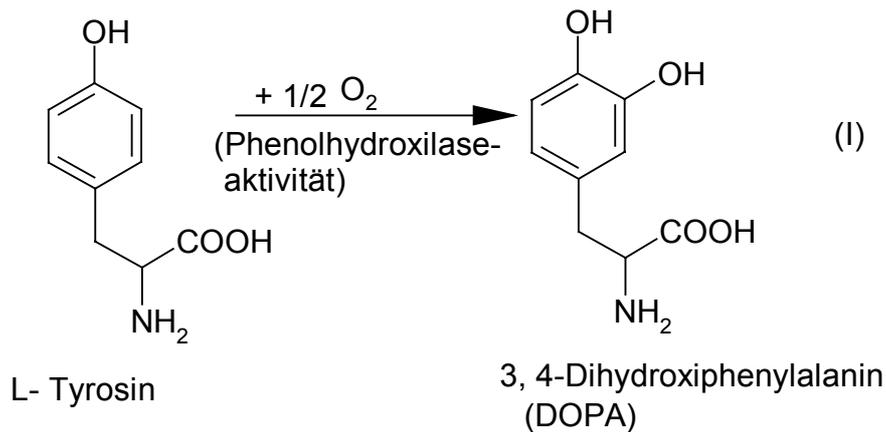
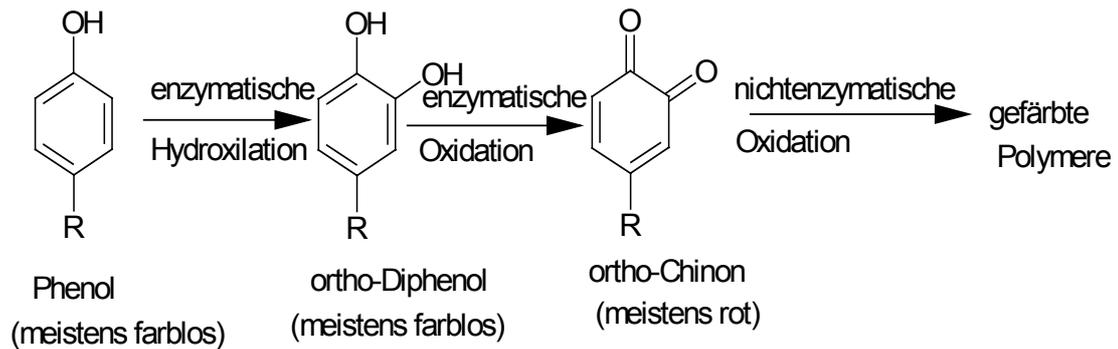


Abbildung 1: Stufen der enzymatischen und nichtenzymatischen Verfärbung (nach Cheftel 1984)

Die enzymatische Verfärbung lässt sich bei den Pflanzen, die reich an phenolischen Verbindungen sind und auch bei der Bildung von Melanin bei den Insekten (Braunverfärbung der Kutikula) sowie bei den Säugetieren (für die Pigmentierung der Haut verantwortlich: Melanin) beobachten. Die enzymatische Verfärbung kommt nicht in den Nahrungsmitteln tierischen Ursprungs vor. Wenn die Zellen von Obst bzw. Gemüse mit hoher PPO-Aktivität durch bestimmte Behandlungen beschädigt sind (Schälen, Durchschneiden, Zermahlen für die Saftzubereitung, Gefrieren, Dehydratation), können Farbprobleme durch unerwünschte Farbveränderungen auftreten (183). Beispielhaft sind Äpfel, Birnen, Aprikosen und Bananen. Die Bildung von braunen Pigmenten bei Früchten und anderen Lebensmittelprodukten ist jedoch nicht immer unerwünscht. Man braucht z.B. einen bestimmten Grad der Braunverfärbung bei dem Reifen der Datteln, der Zubereitung des Apfelsaftes, der Fermentation des schwarzen Tees, der Trocknung der Kakaobohnen sowie der Trocknung des Tabaks.

1.2.2 Phenolische Substrate und Pigmente

Es gibt zahlreiche natürliche Substrate (Mono-, Di- oder Polyphenole) für die enzymatische Braunverfärbung. Ihre Reaktivität ist nach ihrer Struktur (diejenige des Metadiphenols zum Beispiel ist ein schlechtes Substrat) und auch nach dem Ursprung der Enzyme, die ihre Oxidation katalysiert, mehr oder weniger hoch.

Ein großer Teil dieser Substrate wird wie folgt klassifiziert :

- das Pyrocatechol und seine Derivate:

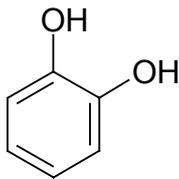


Abbildung 2: Pyrocatechol

- die 3,4-Dihydroxyphenylalanine (DOPA), geformt aus dem Tyrosin (z.B. im Fall der Kartoffel) und die in Dopachinon oxidiert werden kann:

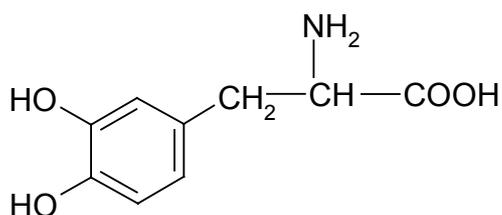


Abbildung 3: 3, 4-Dihydroxyphenylalanin

-die 3,4-Dihydroxyphenylethylamine (Dopamin, welches das Hauptsubstrat der Braunfärbung der Banane ist):

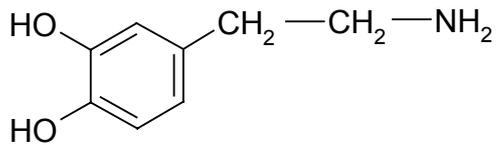


Abbildung 4: 3, 4-Dihydroxyphenylethylamin (Dopamin)

- die Phenolsäuren mit aromatischem Kern, wie zum Beispiel die Gallussäure (Abbildung 5):

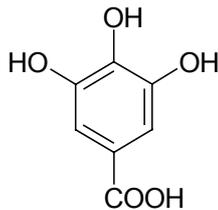


Abbildung 5: Gallussäure

- Bestandteil des hydrolysierbaren Tannins (bezogen auf Abb. 5 oder 6), wie die Chlorogensäure und andere Derivate der Zimt- und Cumarsäuren:

Die Gegenwart von Chlorogensäure in Äpfeln, Birnen und Kartoffeln spielt eine große Rolle in der Bildung der schwarzblauen Pigmente. Diese können in den Kartoffeln beim Kochen durch Reaktion mit Spuren von Eisen gebildet werden. Diese Färbung kann durch pH-Senkung vermieden werden (unterhalb pH 3, was nicht immer geeignet ist, denn in diesem pH-Bereich verursacht das Kochen die Umwandlung der Stärke in Dextrin), und durch die Zugabe von Eisen-Fällungsmitteln, insbesondere Phosphaten, sowie, wenn erlaubt, von Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA).

- die Chlorogensäure (Abbildung 6)

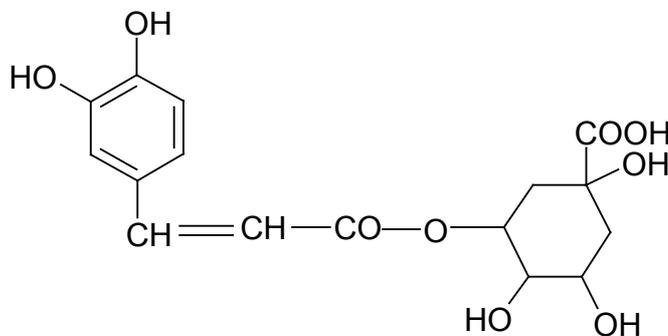


Abbildung 6: Chlorogensäure

- die Flavonoide, welche die nachfolgende allgemeine Struktur haben (Abbildung 7):

Alle Flavonoide lassen sich auf die wenigen Stammgruppen Flavan, Flaven, Flavylium, Flavanon und Flavon zurückführen, von denen sie Derivate sind. Sie unterscheiden sich durch unterschiedliche Oxidationsstufen am heterozyklischen Mittelring. Die Einzelsubstanzen innerhalb dieser Oxidationsstufen sind durch Anzahl und Stellung der Hydroxylgruppen am Molekülgerüst charakterisiert. Durch Hydroxilierung des Flavylium-Ions z.B entstehen die Anthocyanidine. Ihre Glukoside, die Anthocyane, sind zum Beispiel die roten bis blauen Farbpigmente der Traube (184).

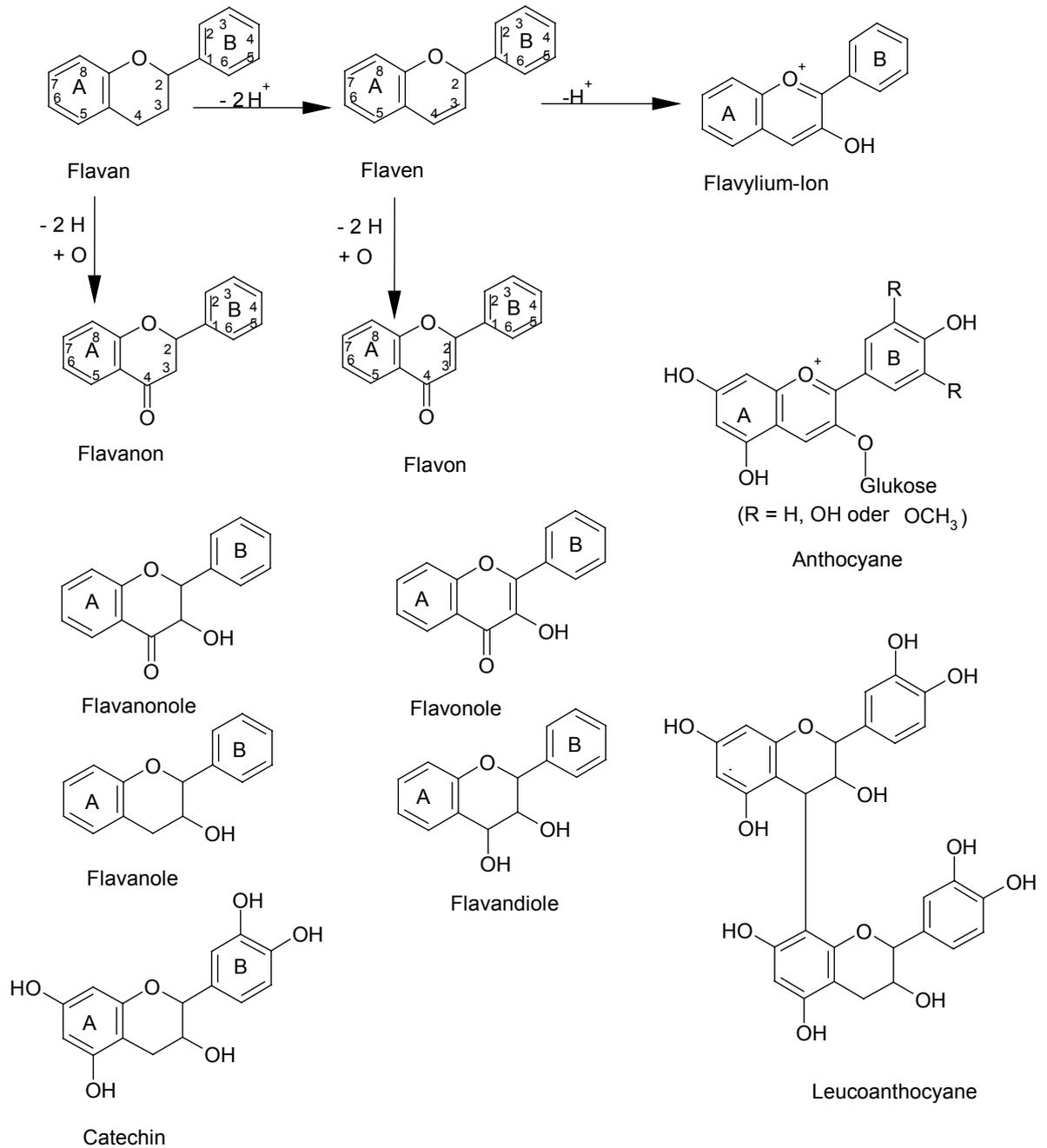


Abbildung 7: Hauptklasse der Flavonoide

Unter diesen Flavonoiden findet man insbesondere

- a) Die Anthocyanidole, die nach ihrer Struktur rot, violett oder blau gefärbt sind. Beispiel ist das Cyanidolblau (Abbildung 8):

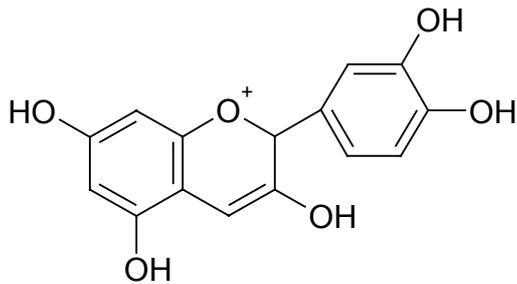


Abbildung 8: Cyanidolblau oder Cyanidin

Diese Verbindungen sind im allgemeinen als Glykoside vorkommende Anthocyanoside, das heißt, sie sind mit einem oder mehreren Kohlenhydraten verknüpft. Diese pflanzlichen Pigmente reagieren sehr empfindlich auf pH-Änderungen: so gehen sie von blau nach rot über, wenn sich das pH in den sauren Bereich verschiebt und umgekehrt. Ihre Farbe ändert sich auch, wenn die Glykoside durch Hydrolyse oder durch Reaktionen mit verschiedenen Metallen gespalten werden. Beispiel: mit dem Zink aus Dosenkonserven kann eine violette Farbe entstehen.

b) die farblosen Leucoanthocyanidole wie zum Beispiel das Leucocyanidol.

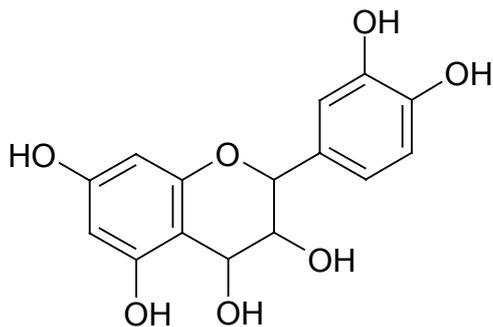


Abbildung 9: Leucocyanidol oder Leucocyanidin

Durch Erhitzen in säurehaltigem Milieu erleiden sie eine Oxidation unter Wasserverlust und werden zu entsprechenden Anthocyanidolen umgewandelt.

Die Farbe verändert sich nach rosa oder rot (bei Bohnen, bestimmten Sorten Äpfeln, Birnen, Kohl). Farblose Verbindungen dieses Typs sind oft gegenwärtiger als das Polymer und stellen dann eine der zwei Tanninkategorien dar.

c) Flavonole, wie beispielsweise das Quercetin, das durch die Anwesenheit einer Carbonylgruppe in Position 4 und einer Hydroxylgruppe in Position 3 charakterisiert ist, und das am häufigsten im Verbund mit Kohlenhydraten in Position 7 vorkommt.

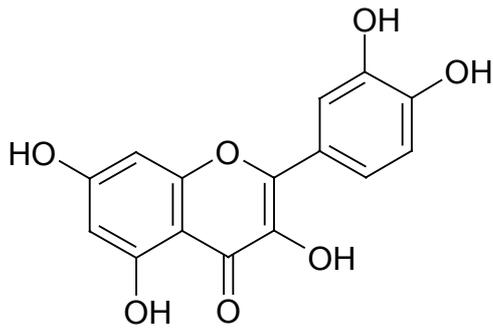


Abbildung 10: Quercetin

d) Flavanone wie beispielsweise das Naringenol,

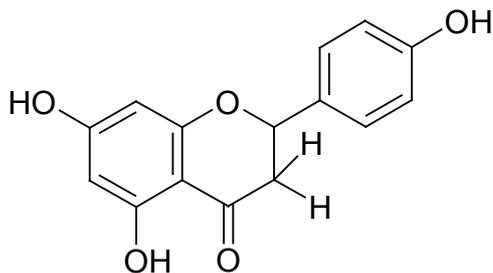


Abbildung 11: Naringenol

deren Glykoside (mit Rhamnose und Glukose), z.B. das Naringin, verantwortlich für den bitteren Geschmack einiger Grapefruitarten besonders vor dem Reifen, ist. Eine Verbindung mit benachbarter Struktur ist das Hesperidin (7,5,3-Methoxy-4'-flavanon), das in den Apfelsinen zu finden ist;

- das Tannin, das nicht nur Substrat der enzymatischen Braunverfärbung ist, sondern auch zur Textur (Inkrustation der Zellwände) und zum Geschmack (adstringierende Eigenschaft) der Pflanzen beiträgt. Man unterscheidet zwei Tanningruppen:

- das hydrolysierbare Tannin (oder auch pyrogallische Tannin, das sich aus der Veresterung von fünf alkoholischen Funktionen der Glukose durch verschiedene polyphenolische Säuren (Gallussäure, Digallussäure, Ellagsäure) bildet, und

- das kondensierbare Tannin (oder auch catechische Tannin genannt), dessen chemische Zusammensetzung sehr ähnlich derjenigen des Anthocyanidins ist. Dieses Tannin besitzt die Eigenschaft, mit den Proteinen zu reagieren; sie können dadurch Enzyme inaktivieren.

1.2.3 Enzymsystem und Reaktionsmechanismus

Das Enzymsystem, das diese Bräunungsreaktion einleitet, gehört zu den Oxidoreduktasen, EC 1.10.3.1 und wird als Phenolase, Phenoloxidase oder Polyphenoloxidase (PPO) bezeichnet. Es kommt in den intakten Zellen, getrennt vom Substrat (phenolischen Substanzen) vor und kann daher praktisch erst nach einer Zellzerstörung wirksam werden, wobei Sauerstoff als Wasserstoffakzeptor erforderlich ist. Die Phenolaseaktivität kann in eine

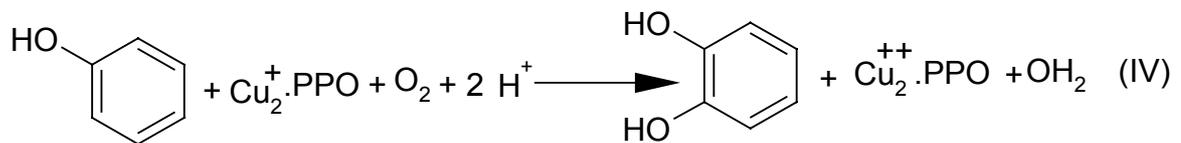
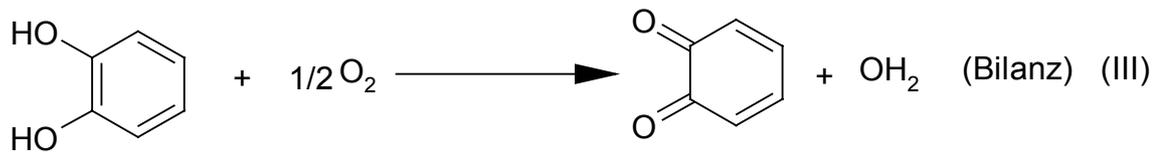
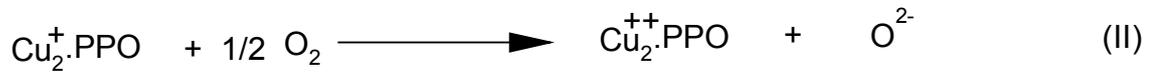
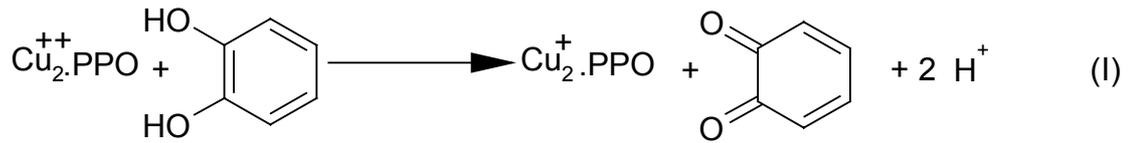
Phenolhydroxylase (Kresolase-) und eine Polyphenoloxidaseaktivität (Katecholaseaktivität) unterteilt werden, die beide z.B. bei der Oxidation von L-Tyrosin eine Rolle spielen (185, 186). Die Hydroxilation der Monophenole und die Oxidation der Diphenole sind zwei unterschiedliche enzymatische Reaktionen; es scheint allerdings, dass ein und dasselbe Enzym oft die zwei Reaktionen katalysieren kann. Enzyme anderen Ursprungs legen trotzdem verschiedene Aktivitätsquotienten (hydroxilierende/oxidierende Aktivität) vor. Die Existenz von Isoenzymen wird vermutet und der Tatsache zugeschrieben, dass der Gehalt an Cu^+ und Cu^{++} variiert. Die Nomenklatur über diese Enzyme ist nicht sehr präzise. Man spricht über Oxidoreduktase, Monophenolase oder Phenoloxidase, indem man sich auf den ersten enzymatischen Reaktionsschritt bezieht und über PPO, in Verbindung mit der zweiten Reaktionsfolge. Der systematische Name für Enzyme, die für die oxidierende Aktion verantwortlichen sind, ist o-Diphenol-Sauerstoff- Oxidoreduktase (EC 1.10.3.1). Der molekulare Sauerstoff spielt die Rolle des Wasserstoffempfängers. Im Säugetierstoffwechsel begegnet man der Tyrosinase, welche abweichend von der pflanzlichen PPO die Bildung von DOPA und von Dopachinonen, vom Tyrosin ausgehend, verursacht. Die PPO der Banane, des Tees und des Tabaks katalysieren spezifisch die Oxidation der Diphenole; jene des Apfels, der Birne, der Kartoffel und die PPO in Pilzen besitzen auch eine hydroxilierende Aktivität. PPO sind metallhaltige Enzyme, die ungefähr 0,2 % an Kupfer enthalten. Das Ion kann durch Dialyse gegen EDTA abgetrennt werden. Die PPO des Tees hat ein Molekulargewicht von 144.000 D und besitzt 7 Mole Kupfer pro Mol; ihr optimales pH beträgt 5,5 (183).

1.2.3.1 Prinzip der enzymatischen Bräunung

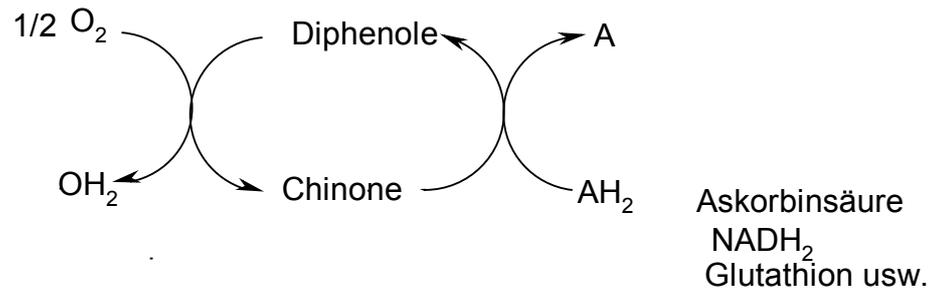
In den Pflanzenzellen ist das Enzym vom Substrat (z.B. phenolischer Substanz) räumlich getrennt. Das Enzym ist in der Zellen und der Substrat an den äußeren Zellenwand lokalisiert. Durch Zellzerstörung wird es erst freigesetzt, dabei ist Sauerstoff (O_2) als Wasserstoff-Akzeptor erforderlich.

1.2.3.2 Reaktionsgeschwindigkeit

Monophenole, und ähnlichen Strukturen, wie z.B. Tyrosin, 4-Hydroxibenzoesäure oder 4-Hydroxizimtsäure, werden generell langsamer umgesetzt als o-Diphenole, da die Monophenole vor der Oxidation erst zu den entsprechenden o-Chinonen hydroxiliert werden müssen. Polyhydroxiflavan-3-ole und Polyhydroxiflavan-3,4-diole sowie Phenolkarbonsäure mit zwei benachbarten OH-Gruppen, z.B. Protokatechu-, Kaffee- und Gallussäure bzw. deren Derivate, unterliegen besonders leicht der enzymatischen Bräunung (186).



Das Diphenol für seinen Teil katalysiert die Hydroxilierung des Monophenols nach der Gleichung (IV) oben, denn ihre Umwandlung in Chinon (Gleichung (I)) wird durch die Bildung der kupferhaltigen PPO bewirkt. In der Literatur wurde über PPO in Pflanzen nur von einer schwachen Konzentration (z.B. 40 mg/kg bei Pilzen) berichtet ohne die Aktivität zu messen (183). Der Substratgehalt begrenzt die Geschwindigkeit der Braunverfärbung. Der optimale pH-Wert für die PPO-Aktivität und der optimale pH-Wert für die enzymatische Braunverfärbung liegen in den Grenzen zwischen pH 5 und 7, meistens zwischen pH 6 und 6,5. Die Aktivität nimmt bei niedrigerem pH schnell ab. Die Enzymaktivität kann durch die Absorption der Chinone, durch den Sauerstoffverbrauch, durch die indirekte Oxidation einiger Verbindungen oder auch durch die Absorption bei 470 nm zum Beispiel von polymerisierten Endpigmenten gemessen werden. Die Wirkung der PPO kann wegen der Chinonbildung auch eine nichtenzymatische, also chemische Oxidation von Verbindungen bewirken, deren Redoxpotential niedriger als jenes der Chinone ist. Es handelt sich dabei um additive Oxidationen. Die Ascorbinsäure, das reduzierte NADH₂, das reduzierte Glutathion, Cystein bzw. Anthocyanidine können so unter Aufnahme von Sauerstoff oxidiert werden und die Chinone zu Diphenolen reduzieren.



Schema 1: Reduktion der Chinone zu Diphenole

1.2.4 Physiologische Rolle der PPO und der Reaktionen bei enzymatischer Verfärbung

Einige Früchte, z.B. Zitrusfrüchte und Ananas, enthalten offensichtlich keine PPO und ziemlich wenig Phenolsubstrate. Andere Früchte, wie Pfirsich, enthalten die Enzyme, aber nicht das Substrat(183). Sogar in solchen Früchten und Gemüsesorten, die bräunen könnten, gibt es praktisch keine Braunfärbungsreaktionen, solange der Stoff gesund und intakt bleibt. Es ist anzunehmen, dass die Enzyme und die Substrate in verschiedenen Gewebe- oder Zellabteilungen eingebunden sind und durch unterschiedliche Membranen getrennt werden. Die Lokalisierung dieser Bestandteile ist noch nicht bekannt. Im Apfel wurde ein lösliches Enzym und ein anderes hervorgehoben (183), die mit den Chloroplasten zusammenhängen; in der Banane scheint das Substrat der Braunverfärbung der Schale in den aufeinanderfolgenden Schichten verteilt zu sein. Es wird vermutet, dass die PPO eine Rolle spielt, indem sie die Oxidation verschiedener Substrate verursacht: Diese Reaktion kommt am Ende des Metabolismus der Atmungskette in ähnlicher Weise, wie bei Cytochromoxidase, die auch Kupfer enthält, vor. So ist scheinbar in der Kartoffel ca. ein Drittel der Phänomene der Atmungsoxidation auf die Aktivität von PPO zurückzuführen.

Die Reaktionen der enzymatischen Braunverfärbungen spielen auch eine Rolle im Schutz der Pflanzen vor Mikroorganismenbefall. Es wird angenommen, dass die pigmentierten Polymere, die sich schnell bilden, wenn ein pflanzlicher Stoff gequetscht, zerrissen oder kontaminiert wird, eine Grenze zur Penetration mit Mikroorganismen bilden und sogar ihr Wachstum verlangsamen können (183).

1.2.5 Hemmen der enzymatischen Verfärbung

Die wichtigsten praktikablen Möglichkeiten zur Verhinderung der bei Lebensmitteln meist

unerwünschten Bräunung, die oft auch eine negative Geschmacks- und Aromabeeinflussung sowie eine ernährungsphysiologische Wertminderung bedingt, sind:

Inaktivierung des Enzymsystems, Zusatz von Schwefeldioxid oder Ascorbinsäure, Senkung des pH-Wertes unter 3 und weitgehender Sauerstoffausschluß. Bei der Tee- und Kakaofermentation spielt dagegen die PPO eine erwünschte Rolle im Hinblick auf die Entwicklung der Farbe und des Flavours. Eine langsame Oxidation von Phenolen kann aber auch durch Peroxidasen, die praktisch in jeder Pflanze vorkommen, bei Anwesenheit von Peroxiden (Sauerstoffdonator) ablaufen und zu Braunverfärbungen führen. Es gibt zahlreiche Mittel, um die enzymatische Verfärbung zu verhindern, aber aus Kostengründen, Giftigkeit oder ungünstigen Nebenwirkungen für die Qualität werden nur wenige praktisch eingesetzt. Diese werden nachfolgend erwähnt. Das Inaktivieren der Enzyme durch die Hitze, wie Bleichen, Pasteurisieren, Eindosen und Sterilisieren, ist sehr wirksam, ändert aber den Geschmack des Lebensmittels und kann nicht in allen Fällen angewandt werden. Das trifft besonders bei Obst und Gemüse zu, das gelagert oder im rohen Zustand aufbewahrt wird, insbesondere bei Kühlung, Gefrieren oder Dehydratation. In diesem Zusammenhang kann festgestellt werden, dass das Gefrieren und die Dehydratation die Stabilität des pflanzlichen Stoffes in Frage stellt. Dadurch wird die enzymatische Verfärbung begünstigt. Durch reduzierende Zusatzstoffe werden Chinone zu Phenolen reduziert. Dadurch kann die enzymatische Verfärbung aufgehalten oder sogar verhindert werden. Ascorbinsäure wird meistens bei Fruchtsäften und verarbeiteten Früchten, die in Tranchen, Segmente oder Stücke zerschnitten wurden eingesetzt, denn sogar in die geschälten ganzen Früchte dringt sie nur langsam ein. Die hohe Gabe von Ascorbinsäure, die notwendig ist, um die Braunverfärbung gänzlich zu vermeiden, beträgt 0,5 bis 1 % des Produktgewichts; unter diesen Bedingungen würden PPO sogar im Laufe ihrer Aktion inaktiviert werden, bevor die Ascorbinsäure aus der Mitte des behandelten Produkts umgesetzt ist. Das Eintauchen der Früchte nach dem Schälen oder der Aufgliederung in leichtem Salzwasser oder in einer Glukose- bzw. Saccharoselösung begrenzt den Zugang des Sauerstoffs bis direkt zum pflanzlichen Stoff hin. Den Sirupen wird oft Ascorbinsäure zugefügt. Zwar sind Schwefeldioxide und Bisulfite sowohl gegen die enzymatische Braunverfärbung als auch gegen die nichtenzymatische Verfärbung wirksam; diese Chemikalien besitzen auch eine eingeschränkte Desinfektionswirkung, aber nicht in den Dosen, die gegen die Verfärbung notwendigerweise gebraucht werden. Es wurde eine Verstärkung der Bisulfitdosis durch Ascorbinsäure und Thiamin beobachtet. Je nach Anwendung wird gasförmiges SO_2 , gelöstes SO_2 oder Bisulfit eingesetzt. Gasförmiges SO_2 entsteht bei der Verbrennung von Schwefel zu Schwefeldioxid, welches Früchte vor Insekten schützt, die für die Trocknung

in der Sonne bestimmt sind. Dabei bleibt auch die Farbe erhalten. Diese Methode ist aus der Antike bekannt. Für die Früchte, die für das Gefrieren bestimmt sind, wird ein erstes Eintauchen 45 sec. lang in einer 0,25 % igen NaHSO_3 -Lösung, gefolgt von einem Eintauchen 5 min lang in einer 0,2 % igen K_2HPO_4 -Lösung Dikaliumhydrogenphosphat realisiert, dies setzt die PPO-Reaktivität herab. Durch pH-Verschiebung < 3 kann die Verfärbung verhindert werden.

1.3 Biosynthese der Polyphenole

Unter polyphenolischen Verbindungen werden im Sekundärstoffwechsel der Pflanzen synthetisierte Minorbestandteile verstanden, die aromatische Strukturen mit mehreren phenolischen OH-Gruppen im Molekül enthalten. Die Anzahl der natürlich vorkommenden Verbindungen ist ungewöhnlich groß, es sind z.B. weit über tausend Flavonoide bereits nachgewiesen und aufgeklärt worden. Da die unterschiedlichen Polyphenole auch Bindungen miteinander und/oder aufgrund ihrer Reaktivität ebenfalls mit ganz anderen Stoffklassen eingehen, ist eine klare Abgrenzung und Zuordnung oft gar nicht möglich. Den vollständigsten Überblick bietet Harborne in seinem mehrbändigen, bisher im Abstand von einigen Jahren aktualisierten Werk (187). Hieraus ist auch der in Abb. 12 gezeigte Biosyntheseweg entnommen, der gleichzeitig wichtige Untergruppen der Polyphenole zeigt. Alle Precursoren entstammen dem Kohlenhydratstoffwechsel. Über Shikimisäure, Phenylalanin und Zimtsäure wird z.B. p-Cumarsäure gebildet. Diese reagiert als 4-Cumaroyl-CoA mit drei Malonyl-CoA-Einheiten zum 4,2',4',6'-Tetrahydroxichalkon, welches bereits das $\text{C}_6\text{C}_3\text{C}_6$ Grundgerüst der Flavonoide aufweist und zum Naringenin zyklisieren kann. Von hier aus sind weitere vielfältige, in der Regel enzymatisch gesteuerte Verzweigungen des Stoffwechsels möglich (siehe. Abb.12). Von den Hydroxyzimtsäuren und ihren Derivaten wiederum leiten sich die Hydroxybenzoesäuren ab, die aus diesen durch eine analog der β -Oxidation bei den Fetten ablaufenden Reaktionskette gebildet werden.

Als ein steuernder Faktor bei der Biosynthese ist das Licht erkannt worden. Es wird am langwelligen Bereich über das Cytochrom-System wirksam, wobei dieser Effekt vor allem durch blaue und ultraviolette Strahlungsanteile mitbestimmt wird. Als ein wichtiges und zentrales „lichtabhängiges“ Enzym sei hier die Phenylalanin-Ammoniumlyase genannt (188, 189).

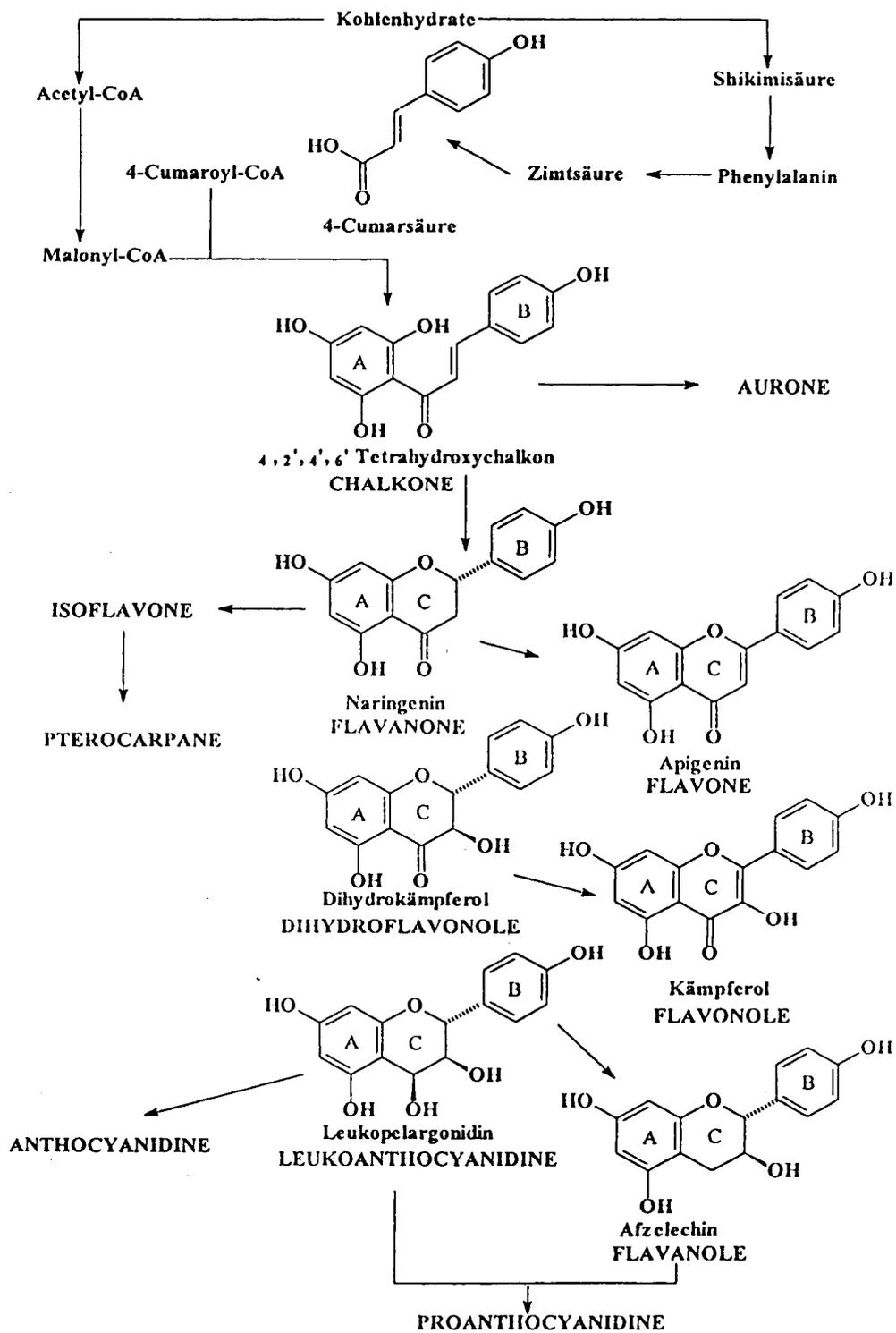


Abbildung 12: Synthese der Polyphenole nach Engelhardt und Galensa (188)

1.4 Pflanzenphenole

Phenolische Inhaltsstoffe gehören zu den wichtigsten Bestandteilen sowohl des Obstes als auch des Gemüses. Zahlreiche Studien belegen, dass eine obst- und gemüsereiche Ernährung, d.h. die Aufnahme dieser sekundären Pflanzenstoffe, in gewissem Maße vor ver-

schiedenen Erkrankungen (Herz - Kreislauf - Erkrankungen, Katarakt, Krebs) schützen soll. Die Farbe ist seit langer Zeit mit der Frucht- und Gemüsequalität verbunden, weil ihre Attraktivität auf dem Tisch zum größten Teil von ihrer Färbung abhängig ist (42). Die Einteilung der für Lebensmittel bedeutungsvollen phenolischen Substanzen erfolgt zweckmäßigerweise in drei Gruppen:

- C₆C₁-Grundkörper
- C₆C₃-Grundkörper
- C₆C₃C₆-Grundkörper.

1.4.1 C₆C₁-Grundkörper

Zu dieser Gruppe zählen in erster Linie die verschiedenen Hydroxybenzoesäuren mit folgenden Hauptvertretern:

- 4-Hydroxybenzoesäure
- 2-Hydroxybenzoesäure (Salizylsäure)
- 2,5-Dihydroxybenzoesäure (Gentisinsäure)
- 3,4,5-Trihydroxybenzoesäure (Gallussäure)
- 3-Methoxy-4-Hydroxybenzoesäure (Vanillinsäure)
- 3,5-Dimethoxy-4-Hydroxybenzoesäure (Syringasäure)
- 3,4-Dihydroxybenzoesäure (Protocatechusäure)

Nachdem die Hydroxybenzoesäure und deren Derivate z.B. in verschiedenen Obst- und Gemüsearten, in Zerealien und im Tee nachgewiesen und bestimmt werden konnten, wurde vermutet, dass sie ubiquitär sind. Relativ große Mengen an Gallussäure finden sich in den sogenannten hydrolysierbaren Gerbstoffen (Gallotannine, Estergerbstoffe), bei denen Glukose oder ein anderer Zucker ein- oder mehrfach mit dieser Säure verestert ist. Meist liegen mehrere untereinander verknüpfte Gallussäureeinheiten vor, die mit einer Hydroxylgruppe des Zuckers verestert sind, wobei die Säuren untereinander depsidartig (Typ I) oder über eine C-C-Bindung (Typ II) verknüpft sind (Abbildung 14). Gerbstoffe vom Typ II werden mitunter auch als Ellagengerbstoffe bezeichnet.

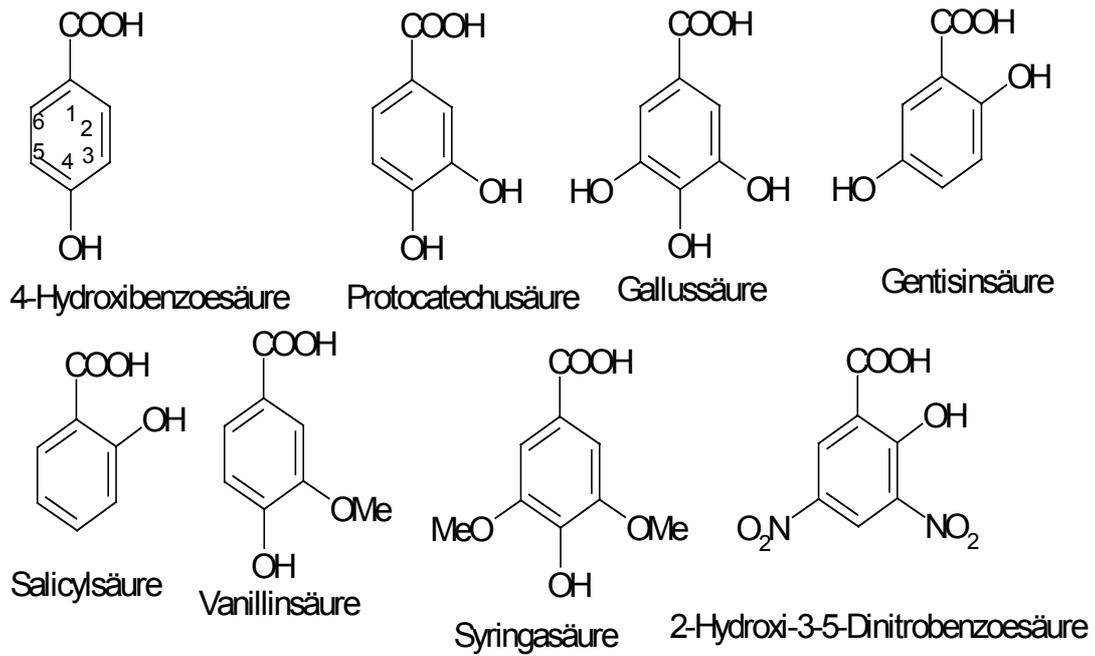


Abbildung 13: Hydroxybenzoessäure-Verbindungen

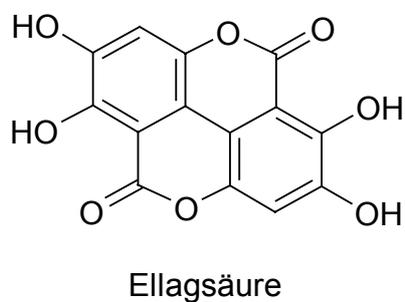
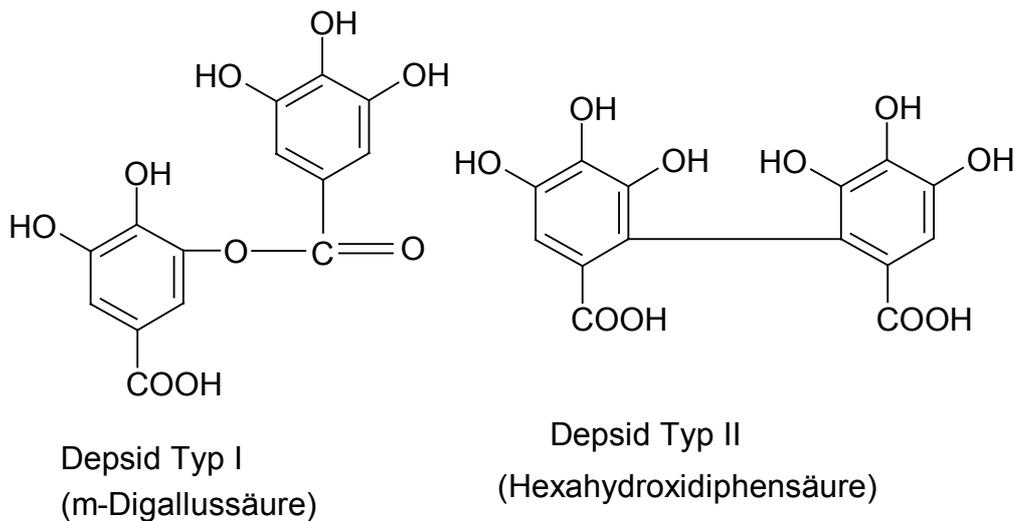


Abbildung 14: Depsid Typ I und II

1.4.2 C₆C₃-Grundkörper

Typische Vertreter dieser Gruppe sind die sogenannten Hydroxyzimtsäuren

(3-Hydroxyphenyl-2-propensäuren) und das Hydroxicumarin (Abbildung 15), aber auch Aminosäuren, wie Tyrosin und Dihydroxyphenylalanin. Die wichtigsten Hydroxyzimtsäuren sind:

- 4-Hydroxyzimtsäure (p-Cumarsäure)
- 2-Hydroxyzimtsäure (o-Cumarsäure)
- 3,4-Dihydroxyzimtsäure (Kaffeensäure)
- 3-Methoxy-4-Hydroxyzimtsäure (Ferulasäure)
- 3,5-Dimethoxy-4-Hydroxyzimtsäure (Sinapinsäure).

Diese Säuren kommen in der Natur überwiegend als Ester, zum Teil, aber auch als o-Glykoside vor und dürften ubiquitär sein. Die Kaffeoyl-Chinasäuren vor allem in Form von 3-O-Kaffeoyl-Chinasäure wird meist als Chlorogensäure bezeichnet.

Die intermolekularen Veresterungsprodukte von Phenolkarbonsäure, wie m-Digallussäure bzw. Phenolkarbonsäuren, mit anderen Hydroxyzimtsäuren (z.B. Chlorogensäure) werden als Depside bezeichnet.

1.4.3 C₆C₃C₆-Grundkörper

Die große Gruppe der Flavonoide, deren Name seinen Ursprung in der gelben Färbung der überwiegenden Zahl der hierzu gehörenden Verbindungen hat, läßt sich vom Flavan (2-Phenyl-chroman) bzw. Flaven (2-Phenyl-4H-chromen) ableiten, die beide dem in der Natur häufig vorkommenden C₆C₃C₆-Bauprinzip entsprechen.

Davon ausgehend kann man eine Unterteilung nachfolgender Formeln in die dargestellten Hauptklassen vornehmen, wobei hierfür die üblichen Trivialnamen benutzt werden (Abbildung 7). Von wenigen Ausnahmen abgesehen enthalten die Ringsysteme A und B der Flavonoide generell phenolische OH-Gruppen, die bevorzugt an den C-Atomen 5 und 7 bzw. 3' und 4' sitzen. Diese Hydroxylgruppen können frei, alkyliert, azyliert (z. B. mit 4-Hydroxyzimtsäure) oder o-glykosidisch gebunden vorliegen. Als Zuckerkomponente tritt bei den vorherrschenden Mono- und Disacchariden meist Glukose auf, wobei die Bindung vorzugsweise am C-Atom 7 bzw. 3 erfolgt. Flavylumsalze (Anthocyanidine) kommen in der Natur nur als Glykoside (Anthocyanine) vor. Die Flavonoide finden sich ebenso wie die Hydroxyzimtsäuren vor allem in Blättern, Blüten und Früchten.

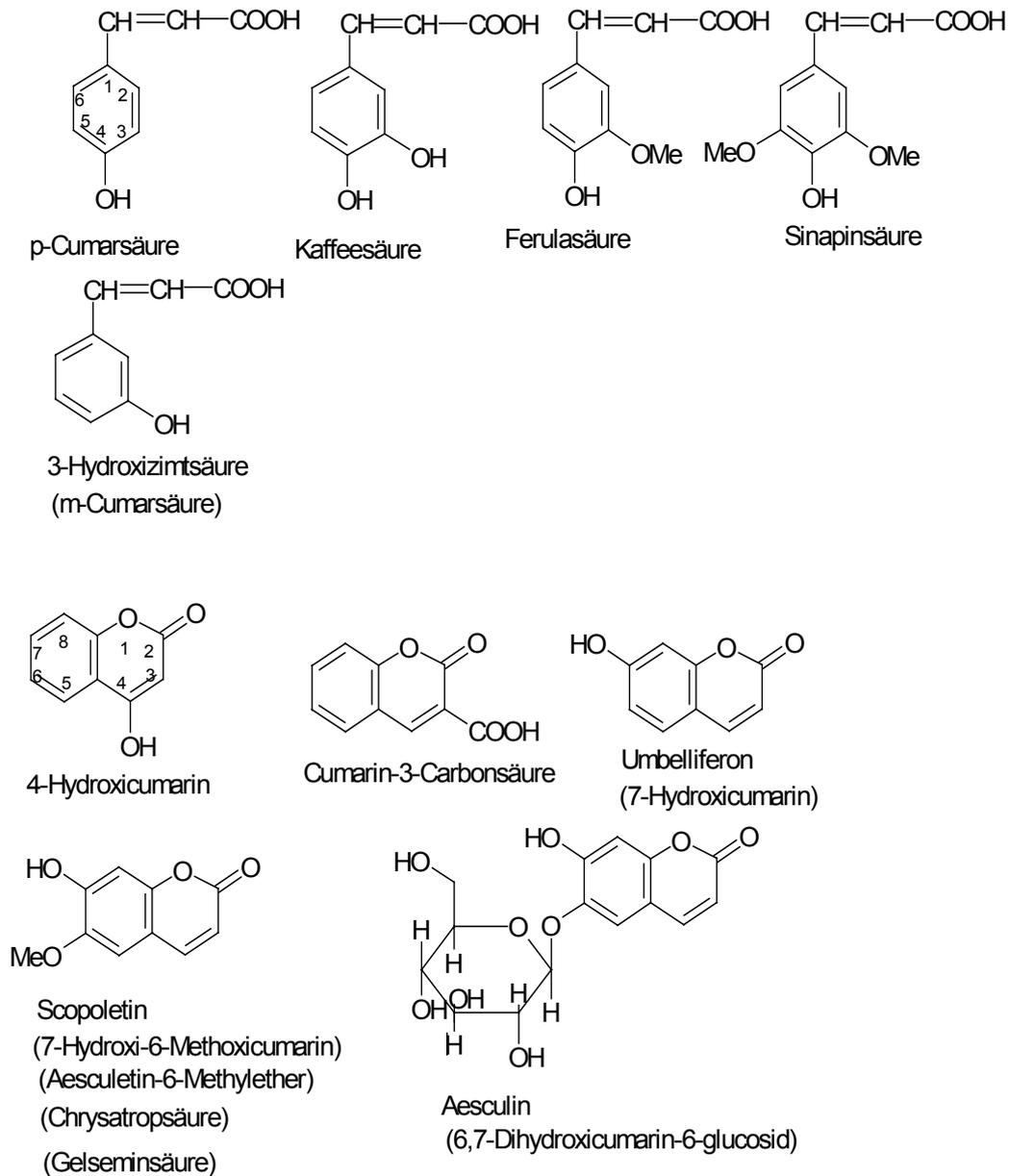


Abbildung 15: Hydroxizimtsäure- und Hydroxicoumarin-Verbindungen

1.4.3.1 Polyhydroxyflavan-3-ole

Die wichtigsten natürlichen Vertreter dieser Gruppe sind die farblosen Catechine (3,5,7,3',4'-Pentahydroxyflavane) und die Gallocatechine (3,5,7,3',4',5'-Hexahydroxyflavane). Sie sind, ebenso wie bestimmte Flavandiolderivate, Muttersubstanz der kondensierten, d.h. nicht hydrolysierbaren Gerbstoffe, die daraus enzymatisch oder nicht enzymatisch durch Ausbildung von C-C-Bindungen entstehen können.

1.4.3.2 Polyhydroxyflavan-3-4-diole

Hydroxyflavan-3,4-diole (Leukoanthozyanidine) wurden bisher in einigen Lebensmitteln, wie Tee, Kakao sowie in den Samenschalen von Leguminosen nachgewiesen, in bezug auf

ihre Konstitution sind aber bisher nur wenige aufgeklärt. Typische Vertreter sind z.B. 3,4,5,7,3',4'-Hexahydroxyflavan (Leukozyanidin) und 3,4,5,7,3',4',5'-Heptahydroxyflavan (Leukodelphinidin).

1.4.3.3 Flavanone und Flavanonone

Flavanone finden sich in geringer Menge als Lebensmittelbestandteile vorzugsweise in Zitrusfrüchten, darin sowohl im Fruchtfleisch als auch im Perikarp und liegen häufig als Glykoside vor. Die bekanntesten sind:

- 5,7,4'-Trihydroxyflavanon (Naringenin)
- 5,7,3',4'-Tetrahydroxyflavanon (Eriodiktyol)
- 5,7-Dihydroxy-4'-methoxyflavanon (Zetrefoliol)
- 5,7,3'-Trihydroxy-4'-methoxyflavanon (Hesperidin).

1.4.3.4 Flavone und Flavonole

Flavone und Flavonole kommen meist in Form von Glykosiden, seltener frei als gelbe Farbstoffe in der Natur vor. Die beiden bekanntesten Flavone, die für pharmazeutische Zwecke als Spasmolytikum bzw. Antihämorrhagikum eingesetzt werden, sind 5,7,4'-Trihydroxyflavon (Apigenin) und 5,7,3',4'-Tetrahydroxyflavon (Luteolin). Unter den Flavonoiden ist die Gruppe der Flavonole zweifellos die größte und auch die verbreitetste. Die wichtigsten Vertreter sind:

- 5,7,4'-Trihydroxyflavonol (Kämpferol)
- 5,7,3',4'-Tetrahydroxyflavonol (Quercetin)
- 5,7,3',4',5'-Pentahydroxyflavonol (Myricetin)
- 5,7,4'-Trihydroxy-3'-methoxyflavonol (Isorhamnetin).

1.4.3.5 Anthocyanidine

Die Anthocyanidine (Polyhydroxyflavyliumsalze) kommen in der Natur in der Regel als 3-O-Glykoside vor und werden dann als Anthocyanine (Anthocyane) bezeichnet. Letztere verursachen im allgemeinen die hellrote bis blauviolette Färbung der äußeren Partien von bestimmten Obst- und Gemüsearten sowie Blütenblättern, soweit nicht andere Farbstoffe dafür verantwortlich sind. Aber auch Zerealien, Leguminosen, Kartoffeln und Kakao enthalten Anthocyanine.

Die drei am häufigsten vorkommenden Anthocyanine sind:

- 3,5,7,3',4'-Pentahydroxyflavylium (Cyanidin)
- 3,5,7,3',4',5'-Hexahydroxyflavylium (Delphinidin)

- 3,4'-Dihydroxyflavylium (Pelargonidin).

Alle Anthocyanidine und Anthocyanine sind typische Indikatorfarbstoffe und schlagen beim Übergang vom sauren zum alkalischen Gebiet von rot nach blau um.

Flavonole liegen im pflanzlichen Gewebe, wie die Anthocyanine, praktisch immer als Glykoside vor (Rutin = Quercetin -3-rutinosid) (8, 9). Im Gegensatz zu den Anthocyaninen sind Flavon- und Flavonolglykoside von Natur aus nur recht schwach gelb gefärbt. Sie können aber als Copigmente der Anthocyanine zu deren Farbverstärkung und Stabilisierung beitragen (9). Kämpferol- und Quercetin-3-triglucoside sind zum Teil mit p-Cumarsäure, möglicherweise auch mit Ferulasäure und Kaffeesäure verestert (9). Neben Flavonoiden werden stets Hydroxyzimtsäure- und Hydroxybenzoesäure-Verbindungen nachgewiesen (7).

1.4.4 Chemischer Aufbau der Polyphenole

Die Anzahl der natürlich vorkommenden Polyphenolverbindungen ist ungewöhnlich groß. Da die unterschiedlichen Polyphenole auch Bindungen miteinander und/ oder aufgrund ihrer Reaktivität ebenfalls mit ganz anderen Stoffklassen eingehen, ist eine klare Abgrenzung und Zuordnung oft gar nicht möglich (188). Die größte und bedeutendste Gruppe unter den Pflanzenphenolen stellen indessen die sog. Flavonoide dar (187). Sie leiten sich alle vom Flavan = 2-Phenyl-benzo-dihydroxy-pyran ab, daher der Name Flavonoide. Wichtige Untergruppen in Lebensmittel liefernden Pflanzen sind die farblosen Catechine und Proanthocyanidine, die roten oder blauen Anthocyanine, die hellgelben Glykoside der Flavone und Flavonole sowie die farblosen Flavanonglykoside. Weiterhin gibt es die Untergruppen der Chalcone, Aurone, Dihydrochalcone, Dihydroflavonole, Isoflavonoide, Neoflavonoide und Biflavonoide. Die Untergruppen unterscheiden sich durch Abwandlungen des Flavan - Grundmoleküls, die einzelnen Verbindungen der Untergruppen durch die Zahl und Verteilung der Hydroxygruppen (-OH) sowie durch die Methylierung (-OH zu -OCH₃) und /oder Glykosidierung (Reaktion mit Zuckern) einzelner Hydroxylgruppen. Die mengenmäßig im Vordergrund stehenden Verbindungen sind meist 1, 2- Dihydroxybenzol - Verbindungen, z.B. Catechin und Epicatechin bei den Catechinen, Procyanidine bei den Proanthocyanidinen, Cyanidin bei den Anthocyaninen, Quercetin und Luteolin bei den Flavon(ol)en.

1.4.4.1 Catechine und Proanthocyanidine

Catechine stellen chemisch Flavan-3-ole (-OH-Gruppe am C₃) dar, während Proanthocyanidine aus zwei und mehr Flavan-3-ol-Grundeinheiten aufgebaut sind. Mit verdünnter Säure in organischen Lösemitteln geben sie Anthocyanidine, daher ihr Name.

1.4.4.2 Anthocyanine

Die Anthocyanine leiten sich von der 4'-Hydroxyflavylium-Struktur ab. Sie unterscheiden sich durch die Anzahl und den Methylationsgrad von -OH- Gruppen im Molekül, der Anzahl und Position von ihrem verbundenen Zucker und der aliphatischen oder aromatischen Zahl der mit Zucker verbundenen Säure.

1.4.5. Gesundheitsförderung der Polyphenole

Seit einigen Jahren gibt es in der wissenschaftlichen Literatur vermehrt Veröffentlichungen, die sich mit positiven physiologischen Wirkungen von Polyphenolen befassen (190-218). Zusammengefasst sollen phenolische Verbindungen antioxidativ, antikanzerogen, antimikrobiell, antithrombotisch, immunmodulierend, entzündungshemmend, blutdrucksteuernd und blutglucoseregulierend wirken.

1.4.5.1 Antikarzinogene Wirkungen

Eine Reihe von Publikationen befasst sich mit Krebs-verhindernden Wirkungen. Hierbei wurde sehr häufig grüner Tee bzw. Extrakte daraus untersucht, da dieser aufgrund seines hohen Gehaltes an Catechinen ein interessantes Modell darstellt (98-117, 219-224). Es sind Wirkungen gegen die Bildung von Hauttumoren (225-234) beschrieben, gegen Tumoren in Lunge (226), Vormagen (227), Dünndarm, Speiseröhre und Leber. Die antikarzinogenen Wirkungen werden insbesondere den Catechinen, speziell dem Epigallocatechingallat und Quercetin, zugeschrieben. Catechine weisen entzündungshemmende Eigenschaften auf und vermindern ebenso wie Rutin (Quercetin-3-rutinosid) die Permeabilität und Brüchigkeit kapillarer Blutgefäße. Die günstige Wirkung auf die Kapillaren könnte auf einer Bindung des Flavonoids an Collagen beruhen. Allgemein scheint Catechin eine Schutzwirkung auf Collagen und andere Bindegewebsproteine auszuüben (6). Catechin ebenso wie Chlorogensäure hemmen die Bildung mutagener Nitrosierungsprodukte (Krebs erzeugende Stoffe) und können Nitrit abfangen (6). Epicatechin kann den Cholesterinspiegel des Blutes senken, was bei Arteriosklerose wichtig sein könnte (6, 224). Flavonoide und Hydroxyzimtsäure (p-Cumarsäure) weisen anticarcinogene Eigenschaften auf (10). Sie dürften in allen Stadien des Krebsprozesses eingreifen können durch Schädigung der

DNA, Tumorwachstum und Metastasen - Bildung. Flavonoide können das Wachstum der DNA - geschädigten Zellen verhindern und verschiedene Stadien der Tumorbildung bei Tieren unterbinden.

Bekannt und verbreitet vorkommende Flavonoide und Hydroxyzimtsäure sind potentielle Antioxidantien und fangen "freie Sauerstoffradikale" ab. Sie werden vom gastrointestinalen Trakt des Menschen absorbiert und können somit ihre antioxidative Wirkung im Körper entfalten. Chlorogensäure, Kaffeesäure und Ferulasäure können den Auslösungsprozess der Krebsbildung, zumindest *in vitro*, blockieren. Sie haben z.B. die Bildung von stark krebserregenden Nitrosaminen und Nitrosamiden *in vitro* und an Ratten *in vivo* blockiert (235). Nitrosamine und Nitrosamide entstehen durch Reaktion von sekundären Aminen und Amiden mit in der Nahrung vorhandenem oder aus Nitrat gebildetem Nitrit (197, 198). Weiter wurde häufig über entzündungshemmende und/ oder antiallergene Eigenschaften von Flavon(ol)en und deren Glycosiden wie Quercetin und Rutin, sowie über spasmolytische (krampflösende) Wirkung berichtet. Nach Untersuchungen von Lietti (236) vermindern die Anthocyanine die Permeabilität und Brüchigkeit der Kapillaren (Blutgefäße) und weisen entzündungs- und ödemhemmende Eigenschaften auf. Auf eine antivirale Aktivität der Flavonoide, darunter von Quercetin und Rutin wurde in der Literatur verwiesen (237).

1.4.5.2 Antioxidative Wirkung

Die antioxidative Wirkung phenolischer Verbindungen wurde von zahlreichen Forschern belegt (238-248). Zusammengefasst, weisen Flavonoide und Phenolcarbonsäure eine herzschützende Wirkung, welche von der chemischen Struktur abhängig ist, durch die Hemmung der LDL-Oxidation auf. Der Einfluss der chemischen Struktur auf die antioxidative Wirkung (Hemmung der Kupfer katalysierten LDL-Oxidation) von Catechin, Cyanidin, Kaffeesäure, p-Cumarsäure, Ferulasäure, Chlorogensäure, Quercetin und Ellagsäure wurde in der Literatur beschrieben (238, 239). Nach diesen Studien hat Chlorogensäure die höchste antioxidative Wirkung gezeigt, gefolgt von Catechin, Cyanidin, Kaffeesäure, Quercetin, Ferulasäure, p-Cumarsäure, und Ellagsäure. Weiter wurde über die antioxidative Aktivität (schützende Wirkung gegen Linolsäure-Peroxidation) von Flavonoiden, Cumarin- und Zimtsäureverbindungen berichtet (240). Aus den Ergebnissen dieser Untersuchungen kann geschlossen werden, dass 4-Hydroxicumarin, 7-Hydroxicumarin (Umbelliferon) und 6-Methoxikumarin (Scopoletin) sowie p-Cumarsäure, Kaffeesäure und Ferulasäure durch diese Methode nur eine geringe antioxidative Wirkung aufweisen. Die antioxidative Aktivität der Flavonoide beruht auf der Hemmung der Bildung von trans-

Hydroperoxid-Isomeren der Linolsäure. Diese Hemmung zeigt die starke Fähigkeit der Flavonoide, H-Atome an Peroxy-Radikale abzugeben, womit die Radikal-Kettenreaktion gestoppt wird (241). Untersuchungen von Torel u.a. haben gezeigt, dass die antioxidative Wirkung auf Linolsäure in der Reihenfolge Catechin < Quercetin < Rutin < Kämpferol ansteigt. Bei Foti u.a.(240) durchgeführten Untersuchungen zeigte Quercetin die höchste antioxidative Wirkung auf Linolsäure gegenüber dem Catechin, d.h. die Reihenfolge der antioxidativen Wirkung auf Linolsäure ist von den angewendeten Methoden abhängig. Tannin, insbesondere Gallussäure und Catechin wirken antioxidativ auf Linolsäure (242, 244, 245). Die Untersuchungen von Takashi u.a. haben gezeigt, dass Gallussäure, Ferulasäure und Rutin antioxidative und Radikalfänger-Eigenschaften aufweisen (246, 247). Die Untersuchungen von Tagashira u.a. (249) haben gezeigt, dass Protocatechusäure, Kaffeesäure und Kaffeesäuremethylester 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl-Radikal (DPPH) abfangen. Chen und Mitarbeiter (250) haben die antioxidative Aktivität von Kaffeesäure, Kaffeesäurephenylester, Ferulasäure, Ferulasäurephenylester und Chlorogensäure im Vergleich zu α -Tocopherol und Butylhydroxytoluol (BHT) untersucht. Bei diesen Untersuchungen wurden die Racemat-Methode und die DPPH-Methode angewendet. Die antiradikalische Aktivität nimmt bei der Racemat-Methode in der Reihenfolge Kaffeesäure > α -Tocopherol > Kaffeesäurephenylester > Chlorogensäure > BHT > Ferulasäure > Ferulasäurephenylester ab und wenn das Lipidsubstrat durch Maisöl ersetzt wird, nimmt sie in den Reihenfolge Kaffeesäure > Kaffeesäurephenylester > Chlorogensäure > α -Tocopherol > BHT ab. Ferulasäure und Ferulasäurephenylester weisen hier keine antiradikalische Aktivitäten auf. Bei der DPPH-Methode nimmt sie in der Reihenfolge Kaffeesäurephenylester > Kaffeesäure > Chlorogensäure > α -Tocopherol > Ferulasäure > Ferulasäurephenylester > BHT ab. Die beiden Methoden führen zu unterschiedlichen Ergebnissen.

1.4.5.3 Antimikrobielle Wirkungen

Für schwarzen, d.h. fermentierten Tee sind bakterizide Wirkungen gegen verschiedene Durchfallerreger beschrieben worden (251). Die Polyphenole hemmen die Glycosyltransferase von *Streptococcus mutans*, dadurch wird die Bildung von Plaque gestört.

Die Untersuchungen von Powers (252) ergab, dass die Anthocyanine, Leucoanthocyanine und Phenolsäure die Atmung und Vermehrung von Bakterien allgemein hemmen. Salicylsäure weist eine antimikrobielle Wirkung auf *Escherichia coli* K12 IAM, *Staphylococcus aureus* IAM 1011, *Bacillus subtilis* IAM 1521, *Pseudomonas ovalis* sowie Fungi (*Asper-*

gillus niger IAM 2107, *Rhizopus nigricans saito*, *Penicillium chrysogenum* IAM 7106), Hefen (*Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*) auf (253). Eine antimikrobielle Wirkung von Kaffeesäure, Catechin und Protocatechusäure auf *Staphylococcus aureus* FAD-209P, *Bacillus subtilis* PCI-219, *Micrococcus luteus* ATCC-1001, *Escherichia coli* O-80, *Salmonella typhi* H-90, *Pseudomonas aeruginosa* IFO-3080, *Candida albicans* ATCC-7491, *Saccharomyces cerevisiae* KF-25, *Penicillium chrysogenum* KF-97 und *Aspergillus niger* ATCC-6275 wurde beschrieben (254). Tesaki u.a.(255) belegen, dass Sinapinsäure antimikrobielle Wirkung auf *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* und *Salmonella enteritidis* aufweist. Es sind antimikrobielle Wirkungen von 4-Hydroxibenzoesäure und trans-4-Hydroxizimtsäure auf *Staphylococcus aureus* ATCC 5838, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus planterum* KCTC 3104, *Leuconostoc mesenteroides* KCTC 3100, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Salmonella typhimurium* ATCC 19430, *Pseudomonas aeruginosa* KCTC 1628, *Vibrio vulnificus* CDC C7184, *Saccharomyces cerevisiae* IFO 1850, *Candida albicans* ATCC 10231, *Pseudomonas syringae* (P.S.) PS 61, *Pseudomonas syringae* pv tobaci PT 232, *Pseudomonas syringae* pv tomato UCRDAC 0893-29, *Erwinia carovora* subsp. *carotovora* 6072, *Xanthomonas campestris* UCRDAC 0888-1, und *Agrobacterium* 454 beschrieben (256). Aesculetin trägt zur antimikrobiellen Wirkung von *Haplopappus multifolius* bei (257). Vanillinsäure und 4-Hydroxibenzoesäure hemmen das Wachstum von *Cladosporium herbarum* (258), Umbelliferon und Scopoletin von pathogenen Pilzen, insbesondere von *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Geotrichum candidum*, *Trichophyton rubrum* und *Epidermophyton floccosum*. Ferner weist Umbelliferon eine hemmende Wirkung auf *Candida tropicalis* und *Aspergillus flavus* auf (259). Es wurde über die Hemmung von Flavonoiden auf Hepatitis B-Virus berichtet (260, 261). Salicylsäure hemmt das Wachstum von *Helicobacter pylori*, eine Gram-negative Bakterie, welche die akute Gastritis (Magen-schleimhautentzündung) verursacht (262).

1.4.5.4 Andere Gesundheitsauswirkungen

Eine günstige Wirkung des grünen Tees auf den Fettstoffwechsel (Cholesterin/Gesamt- und LDL-Fraktion werden erniedrigt, das HDL wird erhöht) wurden beschrieben. Auswirkungen auf die Leberfunktionen wurden festgestellt, desgleichen ein positiver Einfluß von Flavonolglykosid auf koronare Herzerkrankungen (Verhindern von Herzinfarkt) (188). Salicylsäure ist die Stammsubstanz der „Salicylsäuregruppe“ (z. B. Acetylsalicylsäure, Salicylamid) und wirkt harnsäuretreibend, vermindert den Ascorbinsäuregehalt der Neben-

nierenrinde und senkt die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit. Die therapeutische Anwendung als Analgetikum, Antipyretikum, Antiphlogistikum und äußerlich dermatologisches Antiseptikum und gebräuchlichstes Keratolytikum wird beschrieben (263, 264, 265, 266). Scopoletin und Aesculin weisen hypertensiv und entzündungshemmende, harn-treibende sowie krampflösende Eigenschaften auf (267, 268). Auch Umbelliferon ist ein Spasmolytikum (268). Kaffeesäure und Umbelliferon sind schmerzlindernde (Analgetika) und entzündungshemmende Stoffe (269). Ellagsäure hemmt die Bildung hepatotoxischer Substanzen (270). Scopoletin hemmt die Synthese von Stickstoffmonoxid (NO) (271). Zahlreiche Autoren belegen, dass Gallussäure, Ellagsäure, 4-Hydroxibenzoesäure, Aesculin, Vanillinsäure, Protocatechualdehyde, Kaempferol, Quercetin, 4-Hydroxicumarin und Umbelliferon antimutagene Stoffe sind (272-279). Aesculin weist eine enzymhemmende Aktivität auf Laktatdehydrogenase, Alanintransaminase, Xanthinoxidase und Soja-Lipoxigenase auf (280). Chlorogensäure hemmt Trypsin, Chymotrypsin und Carboxypeptidase (281). Umbelliferon und 4-Hydroxicumarin hemmen die Entstehung von Sauerstoffperoxid (282).

1.5 Freie Radikale und deren biologische Bedeutung

Alle Lebewesen stehen unter einem permanenten Einfluss von freien Radikalen und hochreaktiven Sauerstoffverbindungen (283). Radikale sind kurzlebige Moleküle oder Ionen mit einem Spin-ungepaarten Elektronen in der Atomhülle. Das bedingt die aggressive Reaktion der Radikale mit anderen Molekülen. Diese Moleküle, denen dabei ein Elektron „entrissen“ wird, werden somit zu neuen Radikalen. Damit wird eine Kettenreaktion initiiert, in die bis zur Termination der Reaktion viele Moleküle einbezogen werden.

Freie Radikale sind reaktive Substanzen, denen ein negativ geladenes Teilchen (Elektron) zum Ausgleich eines stabilen Zustandes fehlt. Sie sind in der Lage, einzelne Elektronen von anderen Substanzen abzuspalten, um sich selbst in einen stabilen Zustand zu bringen. Da nun aber der anderen Substanz ein Elektron fehlt und diese ihrerseits versucht, sich durch ein „geraubtes“ Elektron zu stabilisieren, kommt eine Kettenreaktion in Gang, wie z. B. Lipidperoxidation, bei der immer neue freie Radikale entstehen. Diese Kettenreaktion setzt sich solange fort, bis sich zwei Radikale miteinander verbinden oder aber eine antioxidative Substanz (ein sogenannter Radikalfänger) die Reaktion unterbricht. Freie Radikale entstehen im Körper in mehr oder weniger starkem Umfang während der natürlichen Stoffwechselprozesse (als Nebenprodukte der Atmung und als Zwischenprodukte in der Synthese komplexerer biochemischer Strukturen). Grundsätzlich ist der Organismus in der Lage über eigene Abwehrmechanismen diese hochreaktiven Substanzen un-

schädlich zu machen. Sogenannter oxidativer Stress entsteht dann, wenn die antioxidative Abwehr nicht mehr ausreicht und ein Ungleichgewicht zwischen Radikalbildung und Radikalneutralisierung entsteht. In diesem Zustand greifen freie Radikale Zellen und Gewebe an und verursachen dort Schäden und beschleunigen dadurch den Alterungsprozess. Außerdem können diese freien Radikale Zellen zu Krebszellen verändern, wodurch sich die Gefahr der Erkrankung stark erhöht. Das ist der Grund weshalb freie Radikale zunehmend als mögliche Ursache verschiedener degenerativer Erkrankungen (Arteriosklerose, Krebs u.a.) angesehen werden. Besonders stark ausgesetzt ist man den freien Radikalen z.B. durch übermäßigen Stress, intensive Sonneneinstrahlung, starke körperliche Belastung, Zigarettenkonsum und Umweltverschmutzung. Die Quellen, Biochemie und Chemie der freien Radikale sowie der Mechanismus von Zellzerstörung durch freie Radikale und die biologische Bedeutung freier Radikale sind mittlerweile vielfach durch zahlreiche Autoren belegt (284-294). Kurzgefasst beinhaltet der Mechanismus Reaktionen mit Nucleinsäuren, Nucleotiden, Polysacchariden, Proteinen und nicht proteinhaltigen Thiolen (Thiol-Oxidation), weiter die kovalente Bindung an Membran-Komponenten (Proteine, Lipide, Enzyme, Rezeptoren und Transportsysteme) und die Initiierung der Lipidperoxidation. Der Prozess der Autooxidation von Fetten läuft in drei Phasen ab: Induktion, Kettenwachstum bzw. Kettenverzweigung und Kettenabbruch (295). Die Geschwindigkeit der Lipidperoxidation ist pH-abhängig (296). Diesen Angriff der freien Radikale auf unsere Zellen kann mit Antioxidantien, auch Radikalfänger genannt, abgewehrt werden. Die Antioxidantien erhöhen die Funktionsfähigkeit und Abwehrbereitschaft des Immunsystems gegenüber dem oxidativen Stress, beugen dadurch Arteriosklerose vor (Arterienerkrankung bzw. Arterieneinengung durch Fettablagerungen, Verkalkung u.a.) und stärken die Gesundheit, verzögern das Altern der Mitochondrien als Kraftwerke der Zelle. Zur Erhaltung der Gesundheit und zum Schutz vor Krankheiten ist daher die regelmäßige Zufuhr hochdosierter zellschützender Antioxidantien von außen dringend notwendig. Sinnvoll ist die Kombination der Antioxidantien, da sie sich bei ihrer antioxidativen Reaktion hervorragend ergänzen. Während Vitamin C vor allem im Zellinnern „arbeitet“, fangen Vitamin E und Beta-karotin die freien Radikale im Bereich der Zellmembran ab und vernichten sie. Zusammen mit dem immunstabilisierenden Selen bilden sie einen Wirkkomplex. Nach der Lehre von Paracelsus sollen „Eure Nahrungsmittel sollen eure Heilmittel und eure Heilmittel sollen eure Nahrungsmittel sein“. Diese Lehre war in der modernen Ernährungswissenschaft eine Weile in Vergessenheit geraten, da fast die gesamte Aufmerksamkeit sich über Jahrzehnte auf die überlebenswichtigen „essentiellen“ Bestandteile der Nahrung – auf Kohlenhydrate, Proteine, Fett, Vitamine und Mineralstoffe konzentrierte.

In der neuen ernährungswissenschaftlichen Auseinandersetzung stehen die gesundheitlichen Wirkungen für das Wohlbefinden von Menschen im Mittelpunkt der Betrachtung. Das nationale Krebsinstitut der USA empfiehlt beispielsweise, an jedem Tag fünf bis neun Portionen Obst und Gemüse zu essen. Als Portion gelten dabei ein Apfel oder der Salat zum Essen genauso wie zum Beispiel die Tomatensauce zu den Spaghetti. Man muss also nicht komplett seine Ernährung umstellen, um diese Empfehlung umzusetzen. Es reicht häufig schon, Fritten lieber mit Ketchup zu essen als mit Mayonnaise. Auch die Deutsche Gesellschaft für Ernährung hat Empfehlungen ausgesprochen: jeder sollte am Tag mindestens 200 Gramm Gemüse, eine Portion Salat von etwa 75 Gramm und mindestens ein bis zwei Stück Obst zu sich nehmen. Darunter ist aber zum Beispiel auch ein Pfirsichkompott aus der Dose zu verstehen oder Gemüsesaft.

Zu den in der Nahrung enthaltenen antioxidativ wirkenden Schutzfaktoren zählen bestimmte Vitamine, wie beispielweise die Vitamine C und E, das Provitamin Betakarotin, ferner das Spurenelement Selen sowie die sogenannten sekundären Pflanzenstoffe.

Der Wirkmechanismus der Vitamine E und C sowie von Betakarotin ist belegt worden (14, 15). Sie greifen an zwei Stellen in die Reaktionskette der Autoxidation ein: Entweder verhindern sie die Kettenreaktion durch Abfangen der Peroxiradikale oder sie unterbrechen die Autoxidation durch Abfangen von Alkoxilradikalen. Das Antioxidans greift in die Autoxidation der Lipide als schneller H-Donator ein. Für das Unterbrechen der autooxidativen Kettenreaktion gilt Vitamin E als wichtigstes Antioxidans, gefolgt von Ascorbinsäure und Betakarotin. Bei den sekundären Pflanzenstoffen handelt es sich um Stoffe, die keine Nährstofffunktion im Körper ausüben. Sie haben vielfältige Aufgaben: Zum Beispiel dienen die sekundären Pflanzenstoffe den Pflanzen als Abwehrstoff gegen Fressfeinde. Des Weiteren schützen sie viele Gewächse vor schädlichen Auswirkungen der UV-Strahlung der Sonne. Sie kommen auch als Farbstoffe vor. Viele Früchte enthalten sekundäre Pflanzenstoffe, die Tiere und Menschen zum Verzehr der Früchte anregen. Wegen ihrer antioxidativen Wirkung zählt man sie aber zu den Schutzstoffen für die Körperzellen. Sekundäre Pflanzenstoffe sind chemisch gesehen sehr unterschiedliche Substanzen, die in allen Pflanzen in nur geringen Mengen, aber äußerst vielfältig vorkommen. Der Arzneimittelindustrie dienen die sekundären Pflanzenstoffe als Basis für zahlreiche Medikamente, z.B. gegen Venenleiden oder Verdauungsbeschwerden.

1.5.1 Wichtige Vertreter reaktiver Sauerstoffmetabolite

Zu den in biologischen Systemen relevanten Radikalen und anderen reaktiven Sauerstoffverbindungen gehören: das Superoxid-Anionenradikal $O_2^{\bullet -}$, das Hydroxylradikal HO^{\bullet} , das

Peroxidradikal ROO^\bullet und Wasserstoffperoxid H_2O_2 (283). Die wichtigen Vertreter reaktiver Sauerstoffmetabolite sind in Tabelle 2 dargestellt.

1.5.2 Quelle der Radikalbildung

Im Körper selbst gebildete freie Radikale entstehen als Folge normaler Stoffwechsellvorgänge, zum Beispiel als Nebenprodukte in der Atmungskette, bei der Vernichtung von Krankheitserregern oder als Zwischenprodukte in der Synthese komplexerer biochemischer Strukturen (284). Unter physiologischen Bedingungen gelten als Hauptquellen für „reaktive Sauerstoffspezies (ROS)“ die Elektronentransportkette von Mitochondrien und andere elektronenübertragende Enzyme (297).

Tabelle 2: Wichtige Vertreter reaktiver Sauerstoffmetabolite (nach Sies 1995, Schimke 1993)

Metabolit	Anmerkungen
Superoxidanionradikal ($O_2^{\bullet -}$)	Ein-Elektronen-Reduktionsstufe, die bei Elektronentransport, Autoxidationsreaktionen, Leukozytenaktivierung, u. a. gebildet wird
Perhydroxylradikal (HOO^{\bullet})	Protonierte Form des $O_2^{\bullet -}$; besser lipidlöslich
Wasserstoffperoxid (H_2O_2)	Zwei-Elektronen-Reduktionsstufe, die aus $O_2^{\bullet -}$ (HO_2) durch Dismutation oder direkt aus $O_2^{\bullet -}$ entsteht
Hydroxylradikal (HO^{\bullet})	Drei-Elektronen-Reduktionsstufe, die durch Fenton-Reaktion ¹ oder metallionen-katalysierte Haber-Weiss-Reaktion ² sowie durch ionisierende Strahlen gebildet wird; hoch aktiv
Alkoxyradikal (RO^{\bullet})	sauerstoff-zentriertes organisches Radikal, z. B. aus Lipiden (\rightarrow Lipidperoxidationsprodukt)
Peroxyradikal (ROO^{\bullet})	aus organischem Hydroperoxid ($ROOH$), z. B. von Lipiden formal durch Wasserstoffabstraktion gebildetes Radikal (\rightarrow Lipidperoxidationsprodukt)
Hydroperoxid ($ROOH$)	organisches Hydroperoxid, z. B. von Lipiden (\rightarrow Lipidperoxidationsprodukt)
Singulett-Sauerstoff (1O_2)	energetisch angeregter Zustand des O_2 ; gebildet durch Energie aus chemische Reaktionen (Zersetzung von $O_2^{\bullet -}$, H_2O_2) oder Strahlung
Stickstoffmonoxid (NO)	aus Arginin enzymatisch gebildet (NO -Synthasen); biologisch: EDGF (Endothelium Derived Growth Factor)
Hypochlorit ($^{\bullet}OCl$)	Reaktionsprodukt der Myeloperoxidase (Granulozyten, Monozyten)

¹ Fenton-Reaktion: $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow HO^{\bullet} + OH^- + Fe^{3+}$

² Haber-Weiss-Reaktion: $O_2^{\bullet -} + H_2O_2 \xrightarrow{Fe} HO^{\bullet} + OH^- + O_2$

Autoxidationsreaktionen von Ascorbinsäure, reduzierten Flavinen, Hydrochinonen und Ferridoxinen, reduzierten Häm-Proteinen und Katecholaminen führen ebenfalls zur Bildung von Superoxidanionen (289). Das gebildete Superoxidanionradikal ($O_2^{\bullet -}$) disproportioniert entweder spontan oder enzymatisch zu Wasserstoffperoxid (H_2O_2), welches dann zur Entstehung weiterer ROS beitragen kann. Andere ROS entstammen der Lipidperoxidation, oxidativen Enzymreaktionen (z. B. Xanthinoxidase, Amino-Oxidasen) und weiteren oxidativen Prozessen (298). Die intrazellulären Bildungsorte von ROS sind in Abbildung 16 dargestellt.

„Einsame“ Elektronen haben das Bestreben, ein Elektronenpaar zu bilden. Das ist die Ursache des instabilen Charakters radikalischer Verbindungen und begründet deren Tendenz, mit anderen Molekülen zu reagieren (290). Die Reaktionsbereitschaft eines Radikals drückt sich in seiner Lebensdauer aus (Tabelle 3).

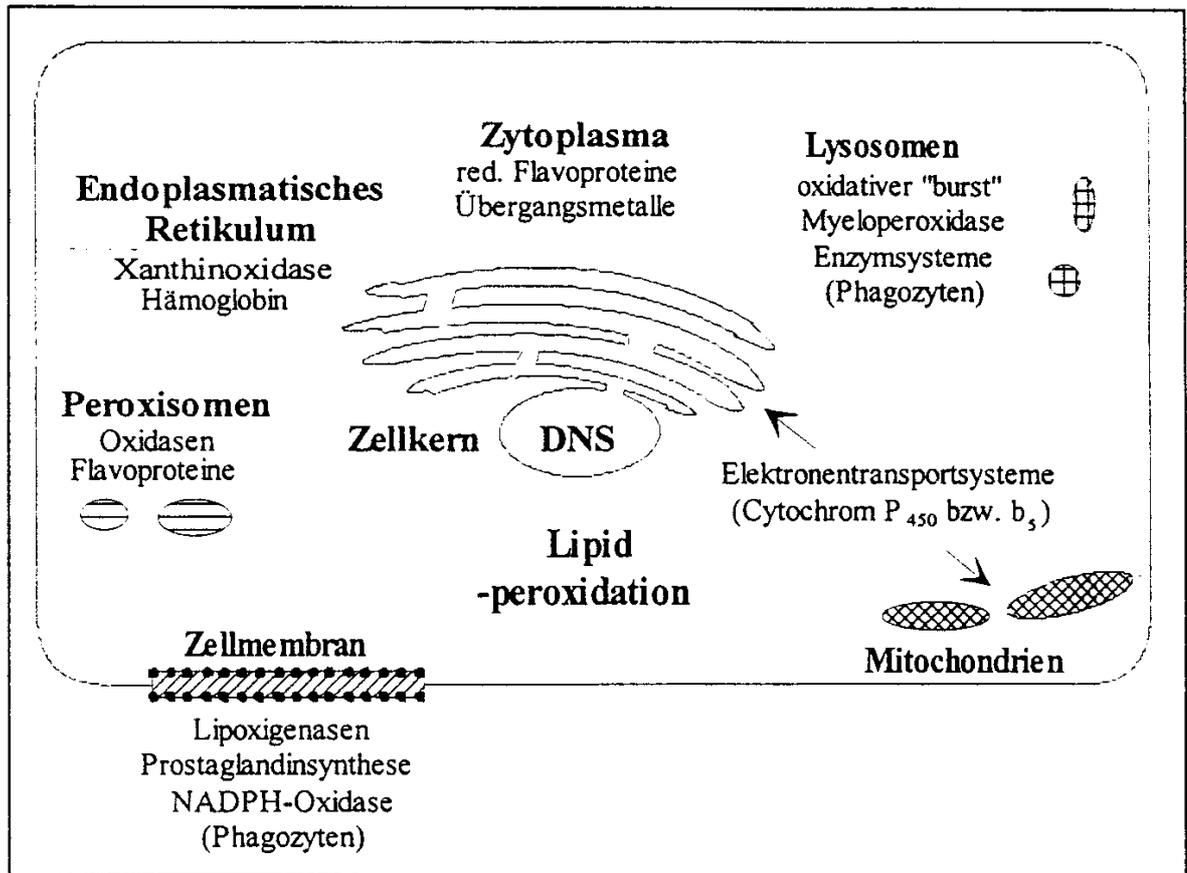


Abbildung 16: Intrazelluläre Quellen freier Radikale (Biesalski 1995)

Tabelle 3: Geschätzte Halbwertszeiten verschiedener ROS (12)
(Sies und Stahl 1995)

Sauerstoffmetabolit	Halbwertszeit (s)
Hydroxylradikal (HO [•])	1 * 10 ⁻⁹
Singulett-Sauerstoff (¹ O ₂)	1 * 10 ⁻⁶
Alkoxyradikal (RO [•])	1 * 10 ⁻⁶
Peroxyradikal (ROO [•])	7
Nitritoxidradikal (NO [•])	1-10

Je reaktionsfreudiger das Radikal, desto geringer ist die Lebensdauer. Aufgrund der unterschiedlichen Lebensdauer muss der Entstehungsort der ROS nicht in jedem Fall mit dem Wirkungsort identisch sein. Wegen seines apolaren Charakters kann H₂O₂ natürliche Grenzen, wie z. B. die biologische Membran, passieren und darauffolgend als Ausgangsprodukt zur Bildung neuer, reaktiverer Spezies beitragen (298). Lipidhydroperoxide können, bedingt durch ihren metastabilen Charakter, über relativ lange Strecken (z. B. durch

Diffusion) transportiert werden und nach ihrer Metabolisierung als Alkoxyradikale an anderer Stelle biologisches Material angreifen (294). Das Superoxidationradikal kann intra- und interzellulär relativ große Distanzen zurücklegen und zu reaktiveren ROS konvertieren (212). Es dient quasi als „Muttersubstrat“ zur Bildung anderer, oft noch aggressiverer Metaboliten, wie zum Beispiel des Hydroxylradikals (HO^\bullet) oder des Wasserstoffperoxids (H_2O_2) (284).

ROS interagieren mit ihren Reaktionspartnern in sehr unterschiedlicher Weise. In allen Fällen führen diese Reaktionen zu neuen radikalischen Verbindungen.

Da die meisten biologischen Moleküle nicht-radikalischer Natur sind, entsteht in vivo eine Kettenreaktion, die ständig neue (sekundäre) aggressive Reaktionsprodukte hervorbringt (297). Die Summe der Effekte aus dieser Radikalbildung verursacht vielfältige Schädigungen an Zellbestandteilen, z. B. an mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Eine immer größere Bedeutung als Umweltfaktor für Pflanzen, Tiere und Menschen kommt dagegen den exogenen, d.h. außerhalb des Organismus entstandenen freien Radikalen zu. Sie bilden sich beispielsweise durch Luftverunreinigungen, Pestizide, UV-Strahlung, Ozon und psychischen Stress. Die zunehmende Industrialisierung führte zu einer steigenden Menge von Verbindungen (Stickoxide, Ozon, Produkte und Abfallprodukte der chemischen und pharmazeutischen Chemie) und Strahlungen (natürliche und künstliche UV-Strahlung, Gammastrahlung), die radikalische Reaktionen verursachen. Neben lebenden Organismen und biogenen Substanzgemischen (Nahrungsmittel) sind aber auch unbelebte Stoffe, wie die Produkte der chemischen Industrie selbst (Fette, Öle, Plastik), vom allgegenwärtigen Wirken der Radikale und reaktiven Sauerstoffverbindungen betroffen. Hierbei ist die Oxidierbarkeit durch die Substanzeigenschaften und eventuelle zusätzliche Komponenten festgelegt. Im Gegensatz dazu sind gesunde, lebende Organismen in der Lage, die endogenen hochreaktiven Substanzen im Stoffwechsel zu nutzen, ohne sich selbst zu vernichten und sich auch in gewissem Ausmaß gegen die unkontrollierte Oxidation durch exogene Radikale zu schützen. Die Ursache liegt in einem gut geregelten Gleichgewicht zwischen dem notwendigen Auftreten und der Neutralisierung der hochreaktiven Sauerstoffverbindungen durch ein schützendes System. Das verstärkte Auftreten der hochreaktiven Verbindungen ist daher eine Begleiterscheinung vieler Krankheiten.

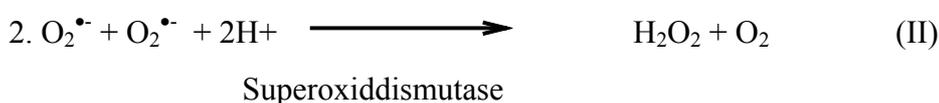
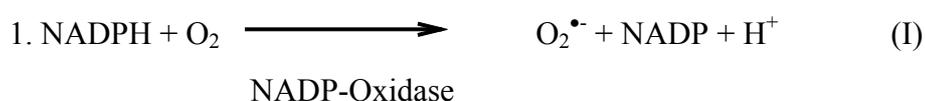
1.5.3 Biologische Bedeutung freier Radikale

Freie Radikale verändern in lebenden Zellen wichtige Proteine, schädigen das Erbgut und greifen die ungesättigten Fettsäuren in den Lipidmembranen an. Oxidativ wirksame Sub-

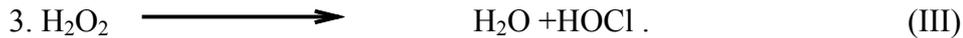
stanzen und Antioxidantien erfüllen genau definierte Aufgaben in spezifischen Zellkompartimenten, Geweben und extrazellulären Flüssigkeiten

(288, 298). ROS sind also nicht in jedem Fall als schädigende Substanzen zu betrachten, sondern sie nehmen im Organismus auch physiologische Aufgaben wahr.

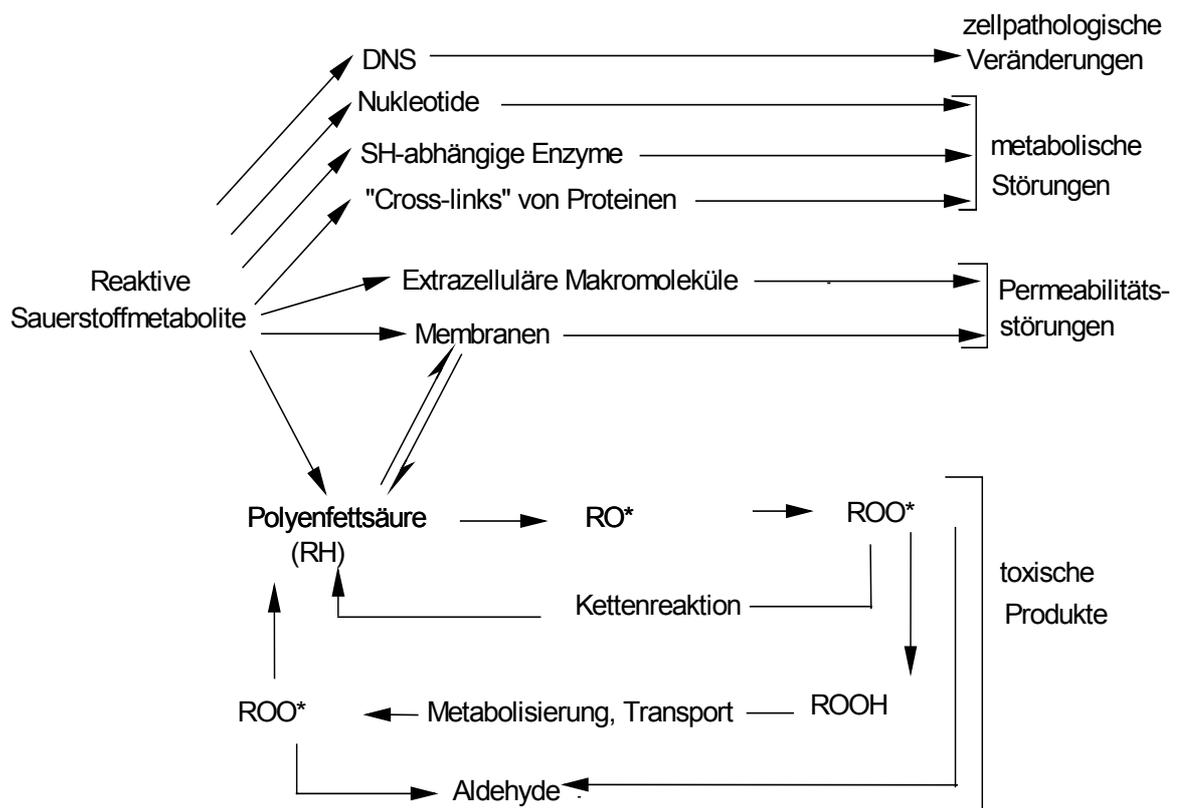
Verschiebt sich das Gleichgewicht zugunsten oxidativer Prozesse (oxidativer Stress), können schwerwiegende Funktionsstörungen entstehen, die sich in verschiedenen Krankheitsbildern, wie Krebs und Herz-Kreislauf-Krankheiten, äußern können (287). An zwei Beispielen soll die Bedeutung des oxidativen Gleichgewichtes bei physiologischen Prozessen erläutert werden. ROS greifen in das Gleichgewicht zwischen gefäßverengenden und -erweiternden Einflüssen ein, die auf die Endothelzellen wirken. Endothelzellen können über ihr Xanthindehydrogenase/-oxidase-System Superoxidationradikale ($O_2^{\bullet-}$) freisetzen. Intrazellulär reichen kleinste Mengen der ROS als Katalysatoren aus, um die Umsetzung von Arachidonsäure zu gefäßwirksamen Prostanoiden (z. B. Prostacyclin) über die Cyclooxygenasereaktion zu stimulieren. Auf diesem Mechanismus scheint die verschiedentlich beschriebene Gefäßerweiterung durch Superoxidradikale zu beruhen. Übergroße Konzentrationen des Superoxidationradikals inaktivieren jedoch das gefäßerweiternde Stickstoffmonoxid (NO) durch eine Reaktion zwischen den beiden ROS. Superoxidradikale hemmen die Prostaglandin-G- und -H- sowie die Prostacyclinsynthese, wohingegen die Thromboxan- A_2 -Synthese kaum beeinträchtigt wird. Das Übergewicht von gefäßverengenden Faktoren führt demzufolge zur Gefäßverengung. Störungen des oxidativen Gleichgewichtes durch eine verstärkte ROS-Bildung können die Aggregation und Adhäsion von Thrombozyten und eine Gefäßverengung verursachen, mit allen pathophysiologischen Konsequenzen (299). Stimulierte Phagozyten produzieren als Komponenten des Immunsystems keimabtötende Substanzen. Ihre Aktivierung drückt sich in der enormen Steigerung ihres Sauerstoffverbrauchs (ca. um den Faktor 10) innerhalb von etwa 30 sec aus (300). Der Sauerstoff ist Vorläufersubstanz für Superoxidradikale und Wasserstoffperoxid, wobei NADPH als Reduktionsäquivalent dient. Wasserstoffperoxid (H_2O_2) wird in folgenden Reaktionsschritten katalytisch bis zu der hoch bakteriziden hypochlorigen Säure (HOCl) umgesetzt (298):



Myeloperoxidase; HCl



Im Falle einer chronischen Entzündung kann sich allerdings die Schutzwirkung ins Gegenteil verkehren, wenn überproportional große Mengen an Superoxid freigesetzt werden und dieses Superoxid biologisches Material zerstört (287). Die Angriffspunkte von ROS an biologischem Material und deren Folgen sind sehr verschieden, wie folgendes Schema zeigt:



Schema 2: Angriffspunkte von ROS an biologischem Material und deren Folgen nach Lechler 1996 (284)

An dieser Stelle soll sich die Darstellung auf ihre gegen die Bestandteile der Erbsubstanz, Proteine und Lipide gerichtete Wirkung beschränken. Angriffe freier Radikale auf Purin- und Pyrimidinbasen der DNS führen zu deren Deformation, Kopplung an Proteine, zu einem Cross-linking zwischen Nukleinsäurebasen der DNS und zu DNS-Strangbrüchen. Daraufhin können sich in vivo Störungen der Replikationsprozesse an der DNS einstellen (301). Die biologische Aktivität von Proteinen kann durch freie Radikale stark verändert werden, während die oxidative Destruktion von Kohlenhydraten scheinbar weniger dramatische Konsequenzen nach sich zieht (287). Sind mehrfach ungesättigte Fettsäuren das Ziel freier Radikale, führt dies zur Oxidation, Spaltung bzw. Verkürzung ihrer Kohlenstoffket-

te. Sind Membranlipide von den oxidativen Prozessen betroffen, gehen bei umfangreichen Strukturdefekten Membraneigenschaften verloren (298).

1.5.4 Das antioxidative Schutzsystem

Im Zuge der Evolution haben Lebewesen die Fähigkeit entwickelt, sich dank eines antioxidativen Systems vor unkontrollierter Oxidation zu schützen. Ein sehr wichtiger Schutzmechanismus dabei ist die so genannte Detoxifikation (Entgiftung) der Radikale. Intrazelluläre enzymatische Wirkmechanismen sind hierbei vor allem das Glutathionperoxidase-Glutathion-System (die Glutathionperoxidase enthält Selen als Aktivator), verschiedene Superoxiddismutasen und die Katalase. Die Topinambur ist, verglichen mit anderen Pflanzen, relativ reich an diesem Spurenelement (302). Von großer Bedeutung für den detoxifizierenden Schutz gegen die Schädigung durch Radikale sind die nicht enzymatischen Antioxidantien. Darunter versteht man allgemein Substanzen, die bereits in geringen Konzentrationen die Oxidation eines in größeren Mengen vorliegenden Substrates verringern oder vollständig verhindern. Die Antioxidantien wirken hierbei in den radikalischen Kettenreaktionen als „Radikalfänger“ und reduzieren die Anzahl der Initialisierungen bzw. unterbrechen die Kettenreaktionen. Zu den Antioxidantien gehören beispielsweise die Vitamine C und E (Ascorbinsäure, α -Tocopherol), Harnsäure, Bilirubin, Flavonoide, Karotinoide, Steroide und Ubichinone, Thiole, Inosin, Taurin oder Pyruvat. Der als Folge einer einseitigen Verschiebung des Gleichgewichtes auftretenden Zustand wird auch als oxidativer Stress bezeichnet (287). Seine Auswirkungen können durch Aufnahme von Antioxidantien mit der Nahrung oder durch Gabe von antioxidativ wirksamen Medikamenten vermindert werden. In einem gesunden Organismus wird die beschriebene Kettenreaktion der Radikale unterbrochen, wenn Moleküle einwirken, die geeignet sind als Radikalfänger zu wirken: die Antioxidantien. Dabei sind die Lebewesen bestrebt, ein Gleichgewicht zwischen dem notwendigen Auftreten der hochreaktiven Sauerstoffverbindungen und einer ausreichenden Konzentration antiradikalischer Substanzen herzustellen.

Dafür sorgen im Organismus enzymatische und nichtenzymatische Substanzen. Die antioxidativen Enzyme, wie z. B. die Superoxiddismutase (SOD), befinden sich nur in bestimmten Teilen der Zelle und entgiften die von dort auftretenden Radikale.

1.6 Absorptionskoeffizient der verwendeten phenolischen Verbindungen (Beilstein Datenbank)

Die Absorptionskoeffizienten der verwendeten phenolischen Verbindungen sind in Tabelle 4 (siehe Anlagen) dargestellt. Wie aus dieser Tabelle hervorgeht, sind die Absorptionskoeffizienten-Werte für jede phenolische Verbindung je nach Literaturangabe anders obwohl die Autoren z. T. gleiche Lösemittel verwendet hatten.

Wegen der Unstimmigkeiten in den Literaturangaben wurden diese Beilstein-Daten in der vorliegenden Arbeit nicht verwendet. Es wurden deshalb neue Absorptionskoeffizienten experimentell mit Methanol als Lösemittel aufgenommen und mit den Beilstein-Daten aus der Tabelle 4 verglichen. Die Ergebnisse sind in Kapitel (3.2.8.8) dargestellt. Die Autoren verwendeten als Lösemittel neben Methanol auch Ethanol, Acetonitril und Wasser, so dass diese Ergebnisse nicht mit den hier beschriebenen vergleichbar sind. In der vorliegenden Arbeit wurde ausschliesslich in Methanol gelöst.

1.7 Schlussfolgerungen für die eigene Versuchsanstellung

Die in der Literatur beschriebenen Methoden zur Bewertung der Hemmung der PPO, zur Bestimmung der Gesamtphenole sowie der HPLC-Trennung einzelner Verbindungen lassen viele Fragen offen.

Es fehlen Methoden zu der Gewinnung der Topinambur-PPO und ihrer Hemmung durch Naturprodukte.

Es gibt in der Literatur nur wenig qualitative Aussagen über Polyphenole in Topinambur. Die von Paupardin (138) beschriebene Methode zur Gewinnung phenolischer Verbindungen in Topinambur ist zeit- und arbeitsaufwändig.

Der Gesamtphenolgehalt kann konzentrationsabhängig mit zwei unterschiedlichen Methoden bestimmt werden: der MEBAK- und der Folin-Ciocalteu-Methode. Ein Vergleich der beiden Methoden hinsichtlich Empfindlichkeit, Wellenlänge des Absorptionsmaximums, Farbstabilität u.ä. wurde noch nicht durchgeführt. Aufgrund der chemischen Verschiedenheit der phenolischen Verbindungen und deren Zusammensetzung im Obst oder Gemüse stellt die Wahl einer geeigneten Bezugssubstanz eine offene Frage dar.

Über die quantitative Trennung phenolischer Verbindungen in Topinambur, die Identifizierung und Strukturaufklärung der getrennten Verbindungen mittels LC-MS- und GC-MS-Kopplung sowie der Zusammenhang zwischen den Konzentrationen der Polyphenole und Polyphenoloxidasen einerseits bzw. zwischen den Polyphenolen und deren Reduktionsvermögen oder Reduktionskapazität andererseits wurde noch nicht berichtet.

Die Erarbeitung

- einer geeigneten Methode zur Gewinnung phenolischer Verbindungen, im Hinblick auf die Gewinnung und Entwicklung von Produkten für Getränke u.a. mit neuen funktionellen Eigenschaften,
- die Erarbeitung der Methode zur Bestimmung phenolischer Verbindungen nach Folin-Ciocalteu,
- das Herausfinden einer Leitsubstanz für Topinambur-Polyphenole,
- die HPLC-Trennung und Strukturaufklärung der in Topinambur vorhandenen phenolischen Verbindungen und
- die Bewertung des Zusammenhanges zwischen den Polyphenolen und Polyphenoloxidasen, deren Reduktionsvermögen oder Reduktionskapazität sind Gegenstand dieser Arbeit.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Labor-Kultivierung von Topinamburpflanzen

Erde (aufgedüngte-pflanzfertige Blumenerde Fa. T.S.G., Wiesmoor

Plastikeimer, 5 l Inhalt)

Licht (kompletter Lichtkasten mit Philips-Spezial-Leuchtstoffröhren mit langwelligem UV Strahlenanteil Typ Starlicht LT36W020

div. Thermometer

2.1.2 Probenvorbereitung

a) Chemikalien

Ethylacetat > 99 % Reinheit, Fa. Roth, Karlsruhe

Methanol 99,9 % Reinheit, Fa. Roth, Karlsruhe

Natriumdisulfid > 97 % Reinheit, Fa. Roth, Karlsruhe

destilliertes Wasser

entionisiertes Wasser

Aceton > 99,5 % Reinheit, Fa. Roth, Karlsruhe

Salzsäure, 37% p.a., Fa. Roth, Karlsruhe

b) Geräte

div. Küchenmesser

Kartoffelmesser

Teefilter

Ultraschallbad (Modell B-3200, Fa. Branson USA)

Stabmixer Typ Pianissimo, Fa. Siemens Elektrogeräte GmbH, Berlin

Waring Commercial Blendor (Modell 32BL79, Fa. Waring USA)

Analysenwaage PT600 Fa. Sartorius

Messkolben (250 ml; 1 l)

Messzylinder (100 ml)

2.1.3 Gesamtphenol-Bestimmung

2.1.3.1 Nach Folin-Ciocalteu

a) Chemikalien

Folin-Ciocalteus Phenolreagenz, Fa. Merck, Darmstadt

Natriumcarbonat wasserfrei 99,9 % Reinheit, Fa. Merck, Darmstadt

Na-carbonat-Lösung: bei Raumtemperatur gesättigte Lösung (35%) von wasserfreiem Na-carbonat.

Natriummolybdat-Dihydrat ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$) 98 % Reinheit, Fa. Merck, Darmstadt

Natriumwolframat-Dihydrat ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$) 99 % Reinheit, Fa. Merck, Darmstadt

Lithiumsulfat-Monohydrat ($\text{Li}_2\text{SO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$), 99 % Reinheit, Fa. Merck, Darmstadt

Salzsäure, 37%, p.a., Fa. Roth, Karlsruhe

Phosphorsäure 85% p.a., Fa. Jenapharm, Jena

Brom p.a., Fa. Merck, Darmstadt

L(+)-Ascorbinsäure, Fa. Merck, Darmstadt

b) Geräte

Spektrophotometer UVIKON 930, Fa. Kontron Instruments, Neufahrn

UV/VIS Spektralphotometer 8620, Fa. Unicam, Kassel

Meßkolben (25; 50; 100 und 1000 ml)

div. Pipetten

Quarzküvetten $s = 1 \text{ cm}$

2.1.3.2 Nach MEBAK (EBC Methode)

Ammoniumeisen(III)-Citrat; Gehalt an Fe: 16%, Fa. Riedel de Haen, Seelze

Carboximethylcellulose-Natriumsalz, Fa. Merck, Darmstadt

Ethylendiamintetraacetat Dinatriumsalz Dihydrat ($\text{Na}_2\text{-EDTA}$), Fa. Merck, Darmstadt

Ammoniaklösung 25 %, Fa. Merck, Darmstadt

Lösungen

- CMC/EDTA-Lösung:

10 g Carboximethylcellulose (CMC) wird mit 2 g EDTA in 500 ml dest. Wasser suspendiert und auf 1 l aufgefüllt. Die Lösung muß klar sein, sie ist einen Monat haltbar.

- Eisenreagenz:

Die Lösung muß 5,6 g/l Fe^{3+} pro Liter enthalten. Dazu werden 3,5 g Ammoniumeisencitrat in 100 ml entmineralisiertem Wasser gelöst. Diese Lösung wird jede Woche frisch hergestellt.

- Ammoniaklösung:

100 ml konzentrierte Ammoniaklösung (25 %) wird mit 300 ml entmineralisiertem Wasser gemischt.

2.1.4 Absorptionsspektren verschiedener phenolischer Verbindungen

a) Chemikalien

Methanol Rotisolv[®] HPLC, 99,9 % Reinheit, Fa. Roth, Karlsruhe

Catechin, Fa. Roth, Karlsruhe

Epicatechin, Fa. Roth, Karlsruhe

Chlorogensäure, Fa. Roth, Karlsruhe

p-Cumarsäure, Fa. Roth, Karlsruhe

Gallussäure Monohydrat, Fa. Roth, Karlsruhe

Ferulasäure, Fa. Roth, Karlsruhe

4-Hydroxibenzoesäure, Fa. Merck, Schuchardt

Kaffeesäure, Fa. Serva Feinbiochemica, Heidelberg

Vanillinsäure, Fa. Roth, Karlsruhe

Protocatechusäure (3, 4-Dihydroxibenzoesäure), Fa. Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchs

Aesculin Sesquihydrat, Fa. Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchs

Gentisinsäure (2, 5-Dihydroxibenzoesäure), Fa. Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchs

2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoesäure, Fa. Merck, Darmstadt

Scopoletin (7-Hydroxi-6-Methoxikumarin oder Gelseminsäure), Fa. Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchs

Umbelliferon (7-Hydroxicumarin), Fa. Roth, Karlsruhe

Cumarin-3-Carbonsäure, Fa. Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchs

Sinapinsäure (3, 5-Dimethoxy-4-Hydroxizimtsäure), Fa. Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchs

Syringasäure (3, 5-Dimethoxy-4-Hydroxibenzoesäure), Fa. Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchs

3-Hydroxizimtsäure, Fa. Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchs

Ellagsäure, Fa. Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchs

Salicylsäure (2-Hydroxibenzoesäure), Fa. Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchs

4-Hydroxicumarin, Fa. Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchs

b) Geräte

UV/VIS Spektralphotometer Modell U-2000 Fa. Hitachi, Tokyo Japan

2.1.5 HPLC-Trennung der Polyphenole

a) Chemikalien

Essigsäure 99 % Reinheit, Fa. Fluka, Buchs

Acetonitril (gradient grade) Lichrosolv[®] HPLC, 99,9 % Reinheit, Fa. Merck, Darmstadt

Methanol Rotisol[®] HPLC, 99,9 % Reinheit, Fa. Roth, Karlsruhe

Vergleichssubstanzen (siehe 2.1.4)

b) Geräte

Einstufigerrotationsverdampfer BÜCHI Modell RE 111

Wasserbad BÜCHI Modell 461

Wasserbad Julabor VC, Fa. Julabor Labortechnik GmbH Seelbach

Vakuumpumpe, Fa. VEB Labortechnik Ilmenau; Typ VE3, Saugvermögen:

3,6 m³/h.; Enddruck: 6,665*10⁵ Pa)

Vakuumpumpe, Fa. Saskia Hochvakuum und Labortechnik, Ilmenau; Typ MP 100E

Saugflasche (2 L)

Sicherheitsflasche mit Manometer

Intelligent Pumpe L 6200 A, Fa. Merck-Hitachi, Japan

Gradientensystem, Fa. Merck-Hitachi, Japan

Manueller Injektor , Fa. Merck-Hitachi, Japan

UV-Detektor L 4000, Fa. Merck-Hitachi, Japan

Chromato-Integrator D 2500, Fa. Merck-Hitachi, Japan

Hypersil LichroCART[®] 250-4 HPLC Säule, Fa. Merck, Darmstadt

Nucleosil[®] LichroCART[®] 4-4 HPLC Vorsäulenkartuschen, Fa. Merck, Darmstadt

2.1.6 LC-HPLC-Trennung der Polyphenole

a) Chemikalien

siehe 2.1.4

b) Geräte

LC 1100, Fa. Hewlett Packard

Autosampler G1313A, Fa. Hewlett Packard, USA

Degasser G1322 A, Fa. Hewlett Packard, USA

BinPump G1312 A, Fa. Hewlett Packard, USA
Col.Pump G1316 A, Fa. Hewlett Packard, USA
DAD G1315 A, Fa. Hewlett Packard, USA
Massenspektrometer Typ Platform LCZ, Fa. Micromass UK Limited, Idstein
Masslynx NT Software

2.1.7 GC-MS

a) Chemikalien

Bis(trimethylsilyl)-trifluoracetamid, Fa. Merck, Schuchardt
Vergleichssubstanzen (siehe 2.1.4)

b) Geräte

Gaschromatograph Typ 5890, Fa. Hewlett Packard, USA
Säule Typ HP-1MS 025, Länge =30 m , innerer Durchmesser = 0,25 mm, Fa. Hewlett Packard, USA.
Massenspektrometer Typ TSQ 700, Fa. Finnigan

2.1.8 Physikalische Messungen

a) Chemikalien

Pufferlösungen (pH 4; pH 7), Fa. Merck, Darmstadt
Aluminiumnitrat-Nonahydrat, Fa. Merck, Darmstadt

b) Geräte

pH-Meter Modell pH 537, Micopozessor, Fa. WTW, Weilheim
pH-mV-Meter Knick Typ 510 mit Ingold Elektrode Typ Pt 4805-S7/ 25 Combination Redox für Redox-Potentialmessung
Digital Leitwert-Meßgerät mit automatischer Temperatur-Kompensation, Typ GLM 020, Fa. WTW, Weilheim

2.1.9 PPO-Aktivität-Bestimmung

a) Chemikalien

Dopaminhydrochlorid, z.A., Fa. Merck, Darmstadt
Kaliumdihydrogenphosphat , z.A., Fa. Merck, Darmstadt
Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat , z.A., Fa. Merck, Darmstadt
Pufferlösungen (pH 4, pH 7, pH 10) Fa. Merck, Darmstadt
Triton-X-100 z.A., Fa. Merck, Darmstadt
Lösungen

Aufschlusspuffer (0,02 M Phosphatpuffer pH 7 nach Sørensen):

- Lösung A: 3,54 g/l $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$

-Lösung B: 2,72 g/l KH_2PO_4

61 Teile A, 39 Teile B und 0,05 % nichtionische Detergenz (Triton X-100) mischen

0,1 M Phosphatpuffer nach Sørensen, pH 7,0

- Lösung A: 17,80 g/l $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$

- Lösung B: 13,61 g/l KH_2PO_4

61 Teile A und 39 Teile B mischen.

Lösung für den Enzymtest:

0,01 M Dopamin-Hydrochloridlösung in entmineralisiertem H_2O = 0,379 g/20 ml

b) Geräte

pH-Meter Modell CG840, Fa. Schott Geräte GmbH, Hofheim

Laborzentrifuge Typ 00702, Fa. Heraeus-Christ GmbH, Osterode

UV/VIS Spektralphotometer 8620, Fa. Unicam, Kassel

Safe-Lock Reaktionsgefäße 1,5 ml (Eppi's), Fa. Eppendorf, Hamburg

2.1.10 Bestimmung der antioxidativen Kapazität von wasserlöslichen Stoffen

a) Chemikalien

a.1) ACW - Kit

- Flascheninhalt (ACW-Kit):

Reagens 1: ACW-Diluent (Probenlösemittel und Verdünnungslösung)

Reagens 2: Reaktionspuffer

Reagens 3: PS-1 Stammlösung (Photosensibilisator und Detektorsubstanz),

250 μl /val

Reagens 4 Standardsubstanz für die Quantifizierung von wasserlöslichen

Antioxidantien in äquivalenten Mengen der vorgelegten Ascorbinsäure bzw. der Untersuchungslösung.

a.2) Herstellung der Arbeitslösungen (AL)

Die Reagenzien 1 und 2 sind einsatzfertig.

Das Reagens 3 ist die Arbeitslösung. Das Fläschchen mit dem Reagens 3 ist aufzutauen, mit 750 μl des Reagens 2 aufzufüllen und kurz zu mischen (3-AL). Die gebrauchsfertige Lösung ist ausreichend für ca. 40 Messungen.

Das Reagens 4 ist die Stammlösung. Das Fläschchen wird mit 490 μl des Reagens 1 + 10 μl H_2SO_4 gefüllt und 20-30 sec. gemischt (Vortex) (10 mMol /l). Das Reagens 4 wird

nochmals 1:100 mit dem Reagens 1 (z.B. 10 µl Reagens 4a + 990 µl Reagens 1) verdünnt (Reagens 4-AL). Die Arbeitslösung sollte nur einen Tag lang verwendet werden.

10 µl der Arbeitslösung enthalten 1 nmol der Standardsubstanz Ascorbinsäure.

a) Geräte

Photochem[®], Fa. Analytikjena AG, Jena

2.1.11 Bestimmung des Reduktionsvermögens nach MEBAK

a) Chemikalien

2,6-Dichlorphenol-Indophenol Natriumsalz-Dihydrat z.A. (DPI), Fa. Merck, Darmstadt
destilliertes Wasser

Kaliumiodid z.A., Fa. Merck, Darmstadt

Schwefelsäure konzentriert, Fa. Merck, Darmstadt

Natriumthiosulfat 0,1 mol/l (Titrisol), Fa. Merck, Darmstadt

Stärke löslich, Fa. Merck, Darmstadt

Dinatriumhydrogenphosphat wasserfrei, 99% Reinheit, Fa. Sigma Aldrich, Steinheim

Citronensäure Monohydrat z.A., Fa. Merck, Darmstadt

b) Geräte

Tannometer, 520 nm, Fa. Pfeuffer GmbH, Kitzingen

Küvetten, s = 1 cm

Pipette, Fa. Eppendorf, Hamburg

Erlenmeyerkolben

Messkolben

Faltenfilter

2.1.12 Bestimmung der Trockenmasse

Trockenschrank

Exsiccator

2.2 Methoden

2.2.1 Bestimmung der PPO-Aktivität

Als Grundlage zur Bestimmung der Polyphenoloxidasen diene die Untersuchungsmethode für den Nachweis von PPO in Bananen (150).

2.2.1.1 Nachweismethode von PPO bei Topinambur

a) Reaktionsmechanismus

Die PPO katalysiert Reaktionen, bei denen o-Diphenole mit Luftsauerstoff zu Chinonen oxidiert werden. Diese sehr reaktiven Produkte polymerisieren miteinander bzw. kondensieren mit Aminosäuren, Peptiden oder Proteinen zu den braungefärbten Melaninen.

b) Durchführung:

b.1) Zellaufschluß

2 g zerkleinerte Knollenschalen in 18 ml Aufschlusspuffer zugeben und 30 sec. lang mit Ultraschall behandeln. Die zerstörten Zellen 20 min. bei 3220 g abzentrifugieren, den Überstand, welcher die PPO enthält (Enzymlösung) als Rohextrakt (RE) kennzeichnen und auf Eis aufbewahren.

b.2) Photometrische Messung der Enzymaktivität (Dopaminumsatz)

In einer Küvette $s=1$ cm werden 0,5 ml 0,01 M Dopaminhydrochloridlösung + 0,4 ml 0,1M Sörensenpuffer pH 7 gemischt und in der Meßkammer 30 sec. auf 25°C vortemperiert. Die Reaktion wird durch Zugabe der Enzymlösung (0,1ml) gestartet. Die Extinktionssteigerung (Bildung von 2, 3-Dihydroindol-5, 6-Chinon) wird bei 470 nm, $s=1$ cm, über die Zeit von 3 min gemessen. Ein Blindwert ohne Enzymlösung mit 0,1 ml dest. H₂O ist ebenfalls zu ermitteln und muß vom Ergebnis abgezogen werden. Es erfolgen jeweils Doppelbestimmungen. Die Extinktionsänderungen (ΔE) sollten 0,02 bis 0,1 betragen, ansonsten ist die Enzymlösung zu verdünnen.

b.3) Auswertung

Durch Umformung des Lambert-Beerschen-Gesetzes gilt für die volumetrische Enzymaktivität EA_1 :

$$EA_1 = E \cdot F \cdot (V \cdot v^{-1} \cdot \hat{e}^{-1} \cdot d^{-1}) \quad (I)$$

$$EA_1 = E \cdot F \times 3,98$$

$$E = \text{Extinktionsänderung} \cdot \text{min}^{-1}$$

$$EA_1: [\text{U} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}] = \mu\text{mol} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$$

$$F = \text{Verdünnungsfaktor}$$

$$V = \text{Volumen in Küvette} = 1 \text{ ml}$$

$\hat{\epsilon}$ = molarer Extinktionskoeffizient = $2512 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

d = Schichtdicke der Küvette = 1 cm

v = Probevolumen = 0,1 ml und

die prozentuale Enzymaktivität EA_2 :

$$EA_2 [\%] = EA_1(E_t) * 100 / EA_1 (RE) \quad (II)$$

EA_2 : [%]

E_t : Extrakt zum Zeitpunkt t

Die Einheit [U] entspricht der Enzymaktivität, welche die Umwandlung von 1 μmol Substrat pro Minute unter genau festgelegten Versuchsbedingungen katalysiert. Die Enzymaktivität des Rohextraktes (ohne thermische Behandlung) wird zugrunde gelegt (=100%).

b 4) Inaktivierung der Topinambur-Polyphenoloxidase durch Zeit und Temperatur.

Die Schalen der Topinambursorte Medius wurde für die Inaktivierung der PPO verwendet. Die Inaktivierung erfolgte in beheizten Wasserbädern. Folgende Proben wurden hergestellt (je 1 ml aus dem 1 : 20 verdünnten Rohextrakt in Eppi' s): 40 °C; 50 °C; 60 °C; 65 °C; 70 °C; 75 °C; 80 °C und 85 °C mit je 5; 10; 20; 30 und 40 min Verweildauer im Wasserbad, wobei eine Doppelbestimmung durchgeführt wurde. Weiterhin erfolgte die Behandlung der PPO bei den Temperaturen von 90 °C; 95 °C und 100 °C bei je 2; 2,5; 4; 5; 7,5 und 10 min. Nach der Herausnahme aus dem Wasserbad wurden die Proben direkt auf Eis gegeben, um eine weitere Denaturierung zu unterbinden.

b 5) Polyphenoloxidase-Aktivitäten bei unterschiedlichen pH-Werten und unterschiedlichen Säuren

Material mit Puffer und Zusatz von gesättigter Ascorbinsäure aufgeschlossenes Topinambur in Wasser bringt einen pH-Wert von 3,5, bei Zugabe von gesättigter Citronensäure in Wasser einen pH-Wert von 2,3. Frisch gepresster Zitronensaft hat einen pH-Wert von 2,7. Mit entmineralisiertem Wasser hat die Enzymlösung ein pH von 6,4. Aus diesem Grunde wurde der Sørensenpuffer für die enzymatische Bestimmung bei den Versuchen nicht abgeändert, sondern die Aufschlusspuffer wurden für die entsprechenden pH-Bereiche mit einem Puffer aus KH_2PO_4 und Na_2HPO_4 , in höheren und tieferen pH-Bereichen mit einer 1 M NaOH oder HCl eingestellt.

2.2.2 Entwicklung der Polyphenol-Extraktionsmethode und Anzahl der Extraktionsstufen

a) Extraktionsmittel-Kombinationen

In diesem Versuchsteil wurde die Topinambursorte „RoZo“ als Standard verwendet. Als Extraktionsmittel wurden folgende Varianten getestet, um die Extraktionsmethode zu optimieren: Wasser von 90°C + Ultraschall + Na-Bisulfit; Ethylacetat-Methanol 1:1+Na-

Bisulfit ohne Ultraschall; Wasser von 90°C+Ascorbinsäure 1% + Ultraschall; Ethylacetat-Methanol 1:1+ Na-Bisulfit + Ultraschall; Methanol-Aceton-Wasser (2:2:1) +Ultraschall; Methanol-Aceton-HCl-Wasser (20:20:1:9) +Ultraschall; Preßsaft (Wasser 90°C ohne Ultraschall; gekochte Knolle + Wasser von 90°C ohne Ultraschall; Ethylacetat-Methanol 1:1.

2.2.3 Extraktion der Polyphenole

Von den gewaschenen und abgetrockneten Topinamburknollen werden etwa 50 g abgewogen und in dem Blendor mit 100 ml Extraktionsmittel (Ethylacetat-Methanol 1:1) 5 min lang zerkleinert. Mit weiteren 10 ml Extraktionsmittel wird die Wand des Mixerbechers abgespült. Das zerkleinerte Gewebe wird entweder im Mixerbecher 10 min lang im Ultraschallbad bei 80°C behandelt und anschließend die Mischung gepresst (mittels eines Teefilters filtriert) oder direkt nach dem Zerkleinern gepresst. Der Rückstand wird in 100 ml Extraktionsmittel aufgenommen und anschließend 10 min lang im Ultraschallbad bei 80°C behandelt. Anschließend wird der zweite Rückstand in 50 ml Extraktionsmittel zugesetzt und 10 min lang im Ultraschallbad bei 80°C behandelt. Das gesamte Filtrat wird in einem 250 ml Messkolben gesammelt und mit dem Extraktionsmittel auf 250 ml aufgefüllt. Dieses Filtrat dient entweder zur direkten Bestimmung der Gesamtphenole, wenn Ethylacetat-Methanol als Extraktionsmittel dient, oder es wird zuerst auf 50 ml mit Methanol zur Bestimmung der Gesamtphenole konzentriert und dient der Bestimmung einzelner phenolischer Verbindungen mit der HPLC-Methode.

2.2.4 Bestimmung der Gesamtphenole

2.2.4.1 Nach Folin-Ciocalteu

a) Prinzip

Phenolische Substanzen geben in alkalischem Milieu mit dem Folin-Ciocalteu-Reagenz (Oxidationsgemisch aus phosphorsaurem Wolframat und Molybdat) eine Blaufärbung, die bei 760 nm photometrisch ausgewertet wird. Gallussäure wird im allgemeinen als Bezugssubstanz verwendet. Eine Vorbehandlung entfällt, da keine schweflige Säure und nur geringe Konzentration an Ascorbinsäure im hier untersuchten Probematerial Topinambur vorhanden sind.

b) Messung:

75 ml destilliertes Wasser werden in einen 100-ml-Meßkolben gegeben.

1,0 ml des zu untersuchenden Topinamburextrakts sowie 5,0 ml Folin-Ciocalteus-Reagenz werden zugegeben: gründlich vermischen, 3 min stehen lassen, 10,0 ml gesättigte Nacarbonat-Lösung werden zugegeben, anschließend mit destilliertem Wasser zur Marke

aufgefüllt und erneut gründlich vermischt. 60 min stehen lassen und dann die Extinktion bei 760 nm, $s=1\text{ cm}$, im Spektralphotometer gegen einen in gleicher Weise ohne Probe angesetzten Blindwert messen.

c) Kalibrieren der Methode (graphische Darstellung)

Eine Stammlösung, welche 2000 mg Catechin oder Gallussäure/l enthält, wird durch Auflösen der entsprechenden Substanz in absolutem Alkohol hergestellt (z. B. 200,0 mg Catechin/100 ml absol. Ethanol).

Davon werden 1,25 ml; 2,5 ml; 3,75 ml; 5 ml; 6,25 ml; 7,5 ml, 10ml; 11,25 ml; 12,5 ml; 15 ml und 18,75 ml der Stammlösung je in einen 25 ml Meßkolben pipettiert und mit absol. Ethanol zur Marke aufgefüllt. Die so erhaltenen Verdünnungen enthalten 100; 200; 300; 400; 500; 600; 800; 900; 1000; 1200 und 1500 mg/l Catechin bzw. Gallussäure/l. Für die Messung nach b) verwendet man je 1,0 ml dieser Verdünnungen bzw. der Stammlösung (Doppelbestimmungen). Die gegen die entsprechenden Konzentrationen aufgetragenen Extinktionswerte liegen auf einer Geraden und dienen zum Vergleich (Kalibrierung).

d) Auswertung

Der Gesamtgehalt an phenolischen Verbindungen lässt sich anhand der gemessenen Extinktion aus der Geraden ablesen. Eventuell vorgenommene Verdünnungen (auch durch die Probenvorbereitung) sind entsprechend zu berücksichtigen. Die Angabe der Resultate erfolgt in mg Catechin bzw. Gallussäure/l, ohne Dezimale.

e) Folin-Ciocalteus Phenol Reagenz eigene Herstellung im Labor

100 g $\text{Na}_2\text{WO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$, 25 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ werden in einem 2 l-Kolben im 700 ml aqua bidest. gelöst, 50 ml 85%ige Phosphorsäure und 100 ml konzentriert HCl werden zugegeben und 10 h langsam unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Dann werden 150 g Li_2SO_4 , 50 ml aqua bidest. und einige Tropfen Bromwasser zugefügt. Zur Entfernung von überschüssigem Brom wird 15 min ohne Kühler, d.h. offen zum Sieden gebracht und nach dem Abkühlen auf 1 l aufgefüllt und filtriert. Das Reagens darf nicht grün gefärbt sein. Die Säurekonzentration des Reagens wird durch Titration mit 1 N NaOH gegen Phenolphthalein bestimmt und soll 1 M sein.

2.2.4.2 Nach MEBAK (EBC Methode)

a) Prinzip

Das Prinzip der Bestimmung der Gesamtpolyphenole nach EBC beruht auf der Reaktion der Polyphenole mit Eisen(III)-Ionen (in alkalischem Milieu) zu rotbraun gefärbten Eisenkomplexen, deren Farbintensität von der Polyphenolkonzentration (besonders von der An-

zahl der freien vicinalen Hydroxylgruppen) abhängig ist und spektralphotometrisch bei 600 nm gemessen werden kann. Gewählt wird die Schichtdicke $s=1$ cm.

Bei Erhöhung des pH-Wertes einer Fe(III)-Salzlösung durch langsame Zugabe von OH^- fällt nicht sofort $\text{Fe}(\text{OH})_3$ aus, sondern es tritt unter Wasserabspaltung eine Kondensation zu höhermolekularen Teilchen ein.

Unter Wasseraustritt bilden sich polynukleare Ionen, in denen zwei und mehr Eisenatome vorhanden sind. Mit Vergrößerung der OH^- -Ionenkonzentration nimmt der Aggregationszustand zu, so dass zum Schluss ein Molekül mit der Summenformel $(\text{FeOOH})_x$, entsteht.

b) Durchführung:

10 ml der Probe werden mit 8 ml CMC/EDTA-Lösung in einem 25 ml Meßkolben vermischt. Nach Zugabe von 0,5 ml Eisenreagenz wird sofort durchgemischt, anschließend erfolgt die Zugabe von 0,5 ml der Ammoniaklösung und es wird erneut gemischt. Für den Blindwert wird keine Ammoniaklösung zugegeben. Diese Lösung wird zur Einstellung des Nullpunktes des Photometers genommen. Nach 10 Minuten erfolgt die Messung der Probe in einer Küvette $s=1$ cm im Spektralphotometer bei $\lambda = 600$ nm.

c) Kalibrieren der Methode (graphische Darstellung)

Eine Stammlösung, welche 2000 mg Catechin oder Gallussäure/l enthält, wird durch Auflösen der entsprechenden Substanz in absolutem Alkohol hergestellt (z. B. 200,0 mg Catechin/100 ml absol. Ethanol).

Davon werden 1,25 ml; 2,5 ml; 3,75 ml; 5 ml; 6,25 ml; 7,5 ml; 10ml; 11,25 ml;

12,5 ml; 15 ml und 18,75 ml der Stammlösung je in einen 25 ml Meßkolben pipettiert und mit absol. Ethanol zur Marke aufgefüllt. Die so erhaltenen Verdünnungen enthalten 100; 200; 300; 400; 500; 600; 800; 900; 1000; 1200 und 1500 mg/l Catechin bzw. Gallussäure. Für die Messung nach b) verwendet man je 1,0 ml dieser Verdünnungen bzw. der Stammlösung (Doppelbestimmungen). Die gegen die entsprechenden Konzentrationen aufgetragenen Extinktionswerte liegen auf einer Geraden und dienen zum Vergleich (Kalibrierung).

d) Auswertung

Der Gesamtgehalt an phenolischen Verbindungen lässt sich anhand der gemessenen Extinktion aus der Geraden ablesen. Eventuell vorgenommene Verdünnungen (auch durch die Probenvorbereitung) sind entsprechend zu berücksichtigen. Die Angabe der Resultate erfolgt in mg Catechin bzw. Gallussäure/l, ohne Dezimale.

2.2.5 Ausreißernachweis

Bei mehrfacher Wiederholung einer Messung weicht manchmal ein Messwert nach der einen oder anderen Seite besonders stark ab, ohne dass hierfür eine Erklärung gefunden werden kann. Man hat dann zu entscheiden, ob es sich um einen nur zufällig besonders streuenden Messwert handelt oder um einen echten „Ausreißer“, den man bei der weiteren Verarbeitung des Zahlenmaterials streichen oder besser durch einen wiederholten Messwert ersetzen sollte. Da es sich in der vorliegenden Arbeit um Serien mit wenigen Messungen handelt, wurde der Ausreißernachweis mit Hilfe der Spannweite nach Dean und Dixon geführt (303). Die Messwerte wurden nach der Größe ($X_1 \leq X_2 \leq X_3 \leq \dots \leq X_n$) geordnet und der Varianzbreite (R) sowie die Prüfkriterien (Q_n und Q_1) wie folgt berechnet :

$$R = X_n - X_1 \quad (I)$$

$$Q_n = \frac{X_n - X_{n-1}}{R} \quad Q_1 = \frac{X_2 - X_1}{R} \quad (II)$$

Q_n oder Q_1 wird je nach Unterschreitung oder Überschreitung des erwarteten Ergebnisses angewendet. Das berechnete Prüfkriterium Q wird mit dem kritischen $Q(n, \alpha)$ -Wert nach der Tabelle überprüft. Wenn Q_n oder $Q_1 > Q(n, \alpha)$ ist, dann muss der Extremwert eliminiert werden, das reduzierte Ergebnis ist nochmals zu überprüfen.

2.2.6. Prüfung auf gegenseitige Abhängigkeit zweier Variablen

Ein Zusammenhang zwischen zwei Größen x und y ist immer dann leicht erkennbar, wenn der auftretende Zufallsfehler genügend klein ist. Bei hohem Zufallsfehler kann die Abhängigkeit zwischen beiden Größen verwischt werden, da dann die Messpunkte innerhalb eines mehr oder weniger breiten Streifens streuen. Man spricht dann von einem stochastischen Zusammenhang, oder man sagt auch, die beiden Größen seien durch eine Korrelation verknüpft. Zur zahlenmäßigen Charakterisierung des Zusammenhanges dient der Korrelationskoeffizient r ($-1 \leq r \leq +1$) bzw. das Bestimmtheitsmaß $B = r^2$. Bei $r = +1$ ist der lineare Zusammenhang exakt erfüllt, wobei x und y gleichsinnig wachsen. $r = -1$ zeigt ebenfalls streng lineare, jedoch gegensinnige Abhängigkeit an. Im Falle $r = 0$ bezeichnet man x und y als unkorreliert. Das tritt insbesondere dann ein, wenn x und y voneinander unabhängig sind. Jedoch darf man nicht umgekehrt aus $r = 0$ auf Unabhängigkeit von x und y schließen. Je näher r an ± 1 liegt, desto straffer ist der beobachtete Zusammenhang. Der Korrelationskoeffizient wird stets auf seine Abweichung von Null geprüft. Dazu stellt man seinen Betrag bei $f = m-2$ Freiheitsgraden der in Tabelle angegebenen Prüfgröße

$r(P, f)$ gegenüber. Ein Zusammenhang gilt als erwiesen, wenn $|r| > r(P, f)$ (304).

2.2.7 Prüfung zweier Stichproben auf signifikanten Unterschied

Die Prüfung erfolgt bei einer Messreihe vom Umfang $n \geq 10$ mittels des t-Testes.

Die t-Verteilung kann auch bei der Beantwortung der Frage herangezogen werden, ob zwischen den Mittelwerten x_{m1} und x_{m2} zweier Stichproben (Messreihe) vom Umfang $n_1 < 100$ und $n_2 < 100$ und den Standardabweichungen s_1 und s_2 ein signifikanter Unterschied besteht oder nicht (305). Vor Berechnung der Prüfgröße t muss nachgeprüft werden, ob die Differenz zwischen den Varianzen der beiden Stichproben mit f_1 bzw. f_2 Freiheitsgraden als zufällig angesehen werden kann oder ob sie signifikant ist. Die Prüfung erfolgt bei einer Messreihe vom Umfang $n \geq 10$ mittels des F-Tests (nach Fischer).

$$F = s_1^2 / s_2^2 \quad (s_1^2 > s_2^2) \quad (I)$$

Der Wert dieses Quotienten muss stets > 1 sein.

Wenn $F_{\text{ber}} < F_{\text{tab}}(5\%) < F_{\text{tab}}(1\%)$, besteht zwischen den Varianzen s_1^2 und s_2^2 kein signifikanter Unterschied.

$$\text{Prüfgröße} = t = \frac{|X_{m1} - X_{m2}|}{s_D} \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}} \quad x_m = \text{Mittelwert} \quad (II)$$

$$s_D = \sqrt{\frac{(n_1 - 1) \cdot s_1^2 + (n_2 - 1) \cdot s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}} \quad (III)$$

Überschreitet t_{ber} den aus der Tabelle der t-Verteilung zu entnehmenden Wert $t_{\text{tab}}(1\%)$ (bei einer gewählten statistischen Sicherheit P und Freiheitsgrad $FG = n_1 + n_2 - 2$), so liegt ein signifikanter Unterschied zwischen den Werten der beiden Stichproben vor.

2.2.8 Ermittlung des molaren dekadischen Absorptionskoeffizienten

Grundlage photometrischer Bestimmungsmethoden ist das Lambert-Beersche Gesetz. Im Spektralphotometer wird Licht einer bestimmten Wellenlänge durch die Lösung einer Verbindung (= Messlösung) geschickt (einstrahlendes Licht). Zum Vergleich läuft Licht gleicher Qualität durch das reine Lösemittel. Die Lichtintensität I nach Durchtritt durch die Messlösung (Transmission) wird mit I_0 (Intensität des einstrahlenden Lichtes) verglichen, die nach Passieren des reinen Lösemittels zu beobachten ist. Es ergibt sich folgende Beziehung:

$$E = \varepsilon \cdot c \cdot d \quad (I)$$

E = Extinktion

ε = Absorptionskoeffizient

oder

$$A = {}^{10}\log(\tau_i) = \chi_n \cdot c \cdot d \quad (\text{II})$$

$A = - {}^{10}\log(\tau_i)$, spektrales dekadisches Absorptionsmaß (nach DIN)

$\tau_i = \Phi_{\text{ex}}/\Phi_{\text{in}}$; Transmissionsgrad; Φ = spektraler Strahlungsfluß

(ex = austretend, in = eintretend)

χ_n = molarer dekadischer Absorptionskoeffizient (von der Wellenlänge der Strahlung-abhängigen Stoffkonstante)

I_0 = vor dem Eintritt in die Probe gemessene Intensität

I = nach dem Durchgang durch die Probe gemessene Intensität

c = Konzentration der zu analysierenden Lösung in mol/l

d = Schichtdicke der Probe im Strahlengang in cm

Der molare dekadische Absorptionskoeffizient χ_n wird durch das Messen von A in Verdünnungsreihen bestimmt. Dieses kann graphisch durch eine „Eichkurve“ geschehen. Der molare dekadische Absorptionskoeffizient χ_n ist das spektrale dekadische Absorptionsmaß einer einmolaren Lösung einer Substanz bei einer bestimmten Wellenlänge und einer Probenlänge von 1 cm. Von der gemessenen Verbindung trägt man die χ_n -Werte bei verschiedener Wellenlänge auf, so entsteht eine Kurve, die bei bestimmter Wellenlänge (λ_{max}) Maxima aufweist. Solche Kurven charakterisieren eine Verbindung (306).

2.2.9 Trennmethode mittels HPLC

Temperatur 20°C

Fließgeschwindigkeit: 1 ml/min

Wellenlänge: 280 nm

Eluenten: 3,5 %ige Essigsäure (A); Acetonitril (B);

Gradient: B in 16 min von 5 % auf 25 %; B in 10 min von 25 % auf 5 %; B 5 min bei 5 % halten.

2.2.10 LC-MS- Kopplung

Massenspektrometrische Untersuchungsmethoden haben für die Strukturaufklärung und die quantitative Analyse organischer Verbindungen eine große Bedeutung erlangt. Zur Erzeugung der Massenspektren werden eine Reihe verschiedener Ionisationsmethoden benutzt, die bezüglich des Ausmaßes ihrer Anwendung verschiedene Gewichte besitzen.

Diese Gewichtsverteilung ist auch vom Stand der technischen Entwicklung her zeitlich variabel. Neben der Ionisation organischer Moleküle durch Elektronenstoß (EI), finden die Feldionisation (FI), chemische Ionisation (CI), Fast Atom Bombardment-Ionisation

(FAB), Felddesorption (FD), Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation (MALDI), Thermospray-Ionisation (TSI) und Elektrospray-Ionisation (ESI), zunehmend Eingang in die Praxis der organischen Analytik. Diese für die vorliegende Arbeit angewendeten Ionisationsmethoden werden hier erläutert.

Die Stärken der Hochdruck-Flüssigchromatographie/ Massenspektrometrie-Kopplung gegenüber traditionellen UV-basierten Detektoren sind die höhere Selektivität durch gezielten Nachweis der kationisierten bzw. anionisierten Analytmoleküle und/ oder deren typischer Fragmente. In der Regel resultiert diese gesteigerte Selektivität in einer höheren Nachweisempfindlichkeit. HPLC/MS soll Information über das Molekulargewicht und/ oder die Molekülstruktur quasi „frei Haus“ liefern (307). HPLC/ MS, in spezieller Verbindung mit Triple-Quadrupol-Geräten, erlaubt Hochdurchsatzanalytik mit Analysenzyklen kürzer als 3 min bei minimaler Probenvorbereitung.

2.2.10.1 Prinzip der Elektrospray-Ionisierungstechnik (ESI)

Die Elektrospray-Ionisation beruht auf einer Kationisierung bzw. Anionisierung in der mobilen Phase durch Zerstäubung in einem Hochspannungsfeld mit nachfolgendem Verdampfen des Lösemittels. Die ionisierten Analytmoleküle werden aus den schrumpfenden Aerosoltröpfchen emittiert und in die Ionenoptik überführt.

Die Elektrospray-Ionisation findet statt als Ergebnisse des Weitergebens von starken elektrischen Ladungen an Eluenten, wenn sie aus dem Zerstäuber kommen. Ein Aerosol von geladenen Tröpfchen wird dadurch erzeugt. Durch Evaporation wird das Eluentenvolumen eingeengt bis eine ausreichende Ladungsdichte erzeugt ist. Die so erzeugten Ionen werden aus der Oberfläche vom Tröpfchen ausgeworfen. Ein Merkmal von Elektrospray-Spektren ist, dass Ionen einzeln oder mehrfach geladen werden. Da das Massenspektrometer Ionen nach dem Masse/ Ladung-Verhältnis filtrierte, können Verbindungen mit hohem Molekulargewicht bestimmt werden, wenn mehrfach geladene Ionen produziert werden. Eine Eluentenflussrate bis zu 1 ml/ min kann untergebracht werden, obwohl es oft besser ist, mit Elektrospray-Ionisierung die Flussrate zu teilen, so dass 10 bis 20 µl/ min des Eluents in das Massenspektrometer eintreten.

Beim Elektrospray-Verfahren wird eine Lösung des Analyten (10^{-3} bis 10^{-5} mol/l) bei Atmosphärendruck aus einer LC-Kapillare (ca. 0,1 mm Ø) in ein starkes elektrisches Feld versprüht. Die an der Kapillarspitze und einer Gegenelektrode angelegte kV-Spannung ist verantwortlich für die rasche und feine Zerstäubung der aus der Kapillare austretenden Lösung und für die effektive Ionisierung der Analyt-Moleküle. Ab einem bestimmten

Schwellenwert der angelegten Spannung (2-6 kV) bildet sich ein stabiler Spray, der je nach Ladungspolarität zur Bildung von positiven bzw. negativen Ionen führt. Eine schonende Ionisierung wird erhalten, wenn eine stabile Vernebelung ohne Entladungen erzeugt wird. Diese optimale Einstellung kann für eine breite Variation an Lösemittelzusammensetzungen und Flussraten (μl bis ml/min) erreicht werden. Ein um die Kapillare konzentrisch angeordneter Inertgasstrom (meist N_2) wird zur Unterstützung der Vernebelung eingesetzt. Zur vollständigen Desolvatation der ladungstragenden Flüssigkeitstropfen und zur effektiven Ionenbildung wird in einer ESI-Ionenquelle entweder eine beheizte Transferkapillare oder ein dem Spray entgegengerichteter, beheizter Stickstoffstrom eingesetzt. Man erreicht unter diesen ESI-Bedingungen eine außergewöhnlich hohe Ionenbildungseffizienz von ca. 0,01 bis 0,1 (vergl. EI ca. 10^{-4}).

Die generierten Ionen werden letztlich durch eine Öffnung im Zentrum der Gegenelektrode in den Analysatorteil des Massenspektrometers überführt. Die ESI-Quelle ist in Abbildung 17 dargestellt.

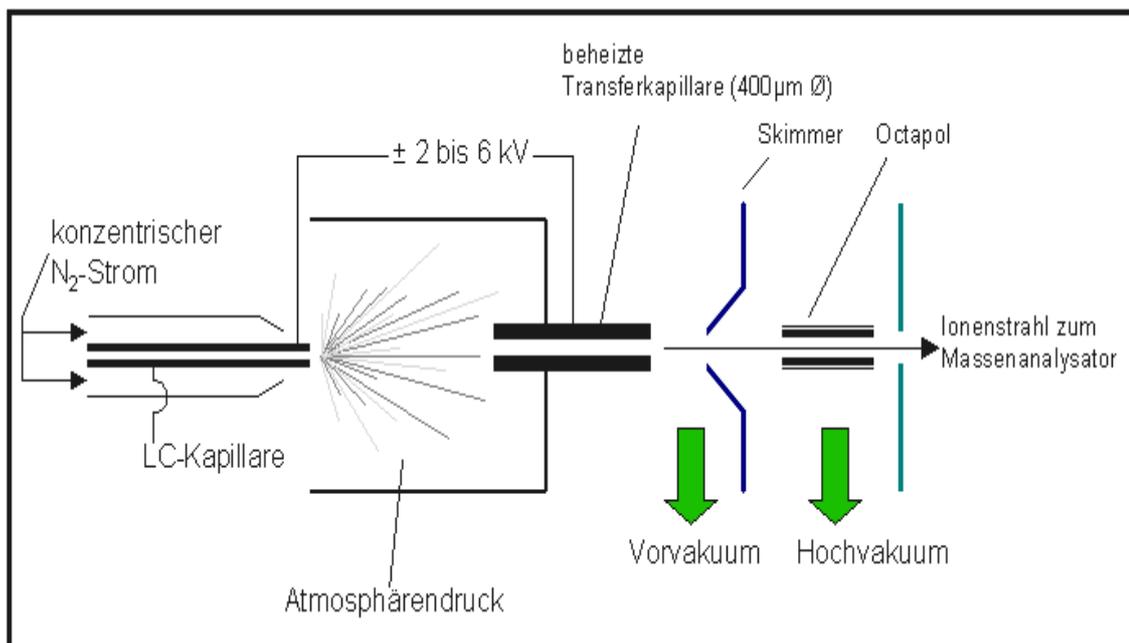


Abbildung 17: ESI-Quelle nach www.jeol.com/ms/ionize.html

Die Zusammenstellung der Elektrospray-Ionisation ist in der Literatur beschrieben worden (308, 309). Um den gesamten Vorgang der Ionenbildung bei ESI zu beschreiben, ist eine Unterteilung der Abläufe in drei Abschnitte sinnvoll:

a) Bildung ladungstragender Tropfen

Durch die an die enge Kapillarspitze angelegte kV-Spannung resultiert ein sehr starkes

elektrisches Feld von ca. $E \sim 10^6$ V/m. In der aus der Kapillare austretenden Elektrolytlösung erfolgt eine Ladungstrennung:

Positive Ladungsträger werden auf der Flüssigkeitsoberfläche angereichert, zur Gegenelektrode gezogen und zum Teil dort reduziert.

Negativ geladene Ionen dagegen wandern zum positiv geladenen Kapillarende und werden entladen bzw. oxidiert. Insgesamt resultiert ein konstanter Spraystrom der Stärke $I \sim 10^{-7}$ bis 10^{-6} A. Aufgrund der elektrophoretischen Ladungstrennung bei ESI sind alternative Ionenbildungsmechanismen wie die Feld-Ionisation wenig wahrscheinlich.

Die Anreicherung von positiver Ladung auf der Flüssigkeitsoberfläche ist Ursache der Bildung eines Flüssigkeitskonus, da die Kationen zum negativen Pol gezogen werden.

Dieser sogenannte Taylor Konus oder Taylor cone (Abbildung 18) resultiert aus der Balance des elektrischen Feldes und der Oberflächenspannung der Lösung. Ab einer bestimmten Distanz zum Kapillarende erfolgt eine zunehmende Destabilisierung und es werden Tropfen mit positiver Überschussladung in einem stabilen Spray emittiert (liquid filament).

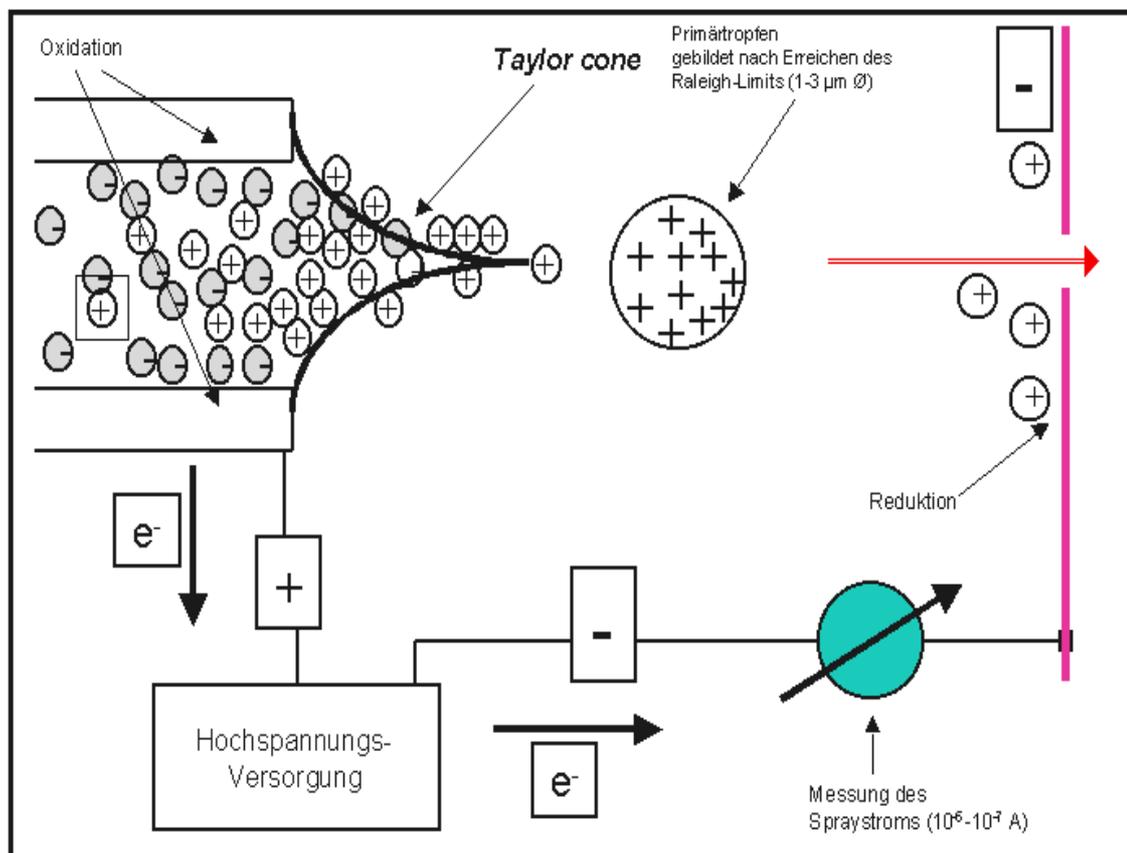


Abbildung18: Taylor cone nach www.jeol.com/ms/ionize.html

b) Verkleinerung der Tropfen

Die Größe der gebildeten Tropfen hängt von der Flußrate, der angelegten Spannung und der Konzentration des Elektrolyten ab. Für eine Flußrate von ca. 5 $\mu\text{l}/\text{min}$ und einer Konzentration von 1 mmol ergeben sich Tropfen mit Radius $r \sim 1\text{-}3 \mu\text{m}$ und einer Überschußladung von $Q \sim 10\text{-}14 Q$; dies entspricht einer Zahl von $N \sim 50\ 000$ einfach geladener Ionen. Diese Tropfen verlieren durch Verdampfen Lösemittelmoleküle und bei Erreichen des Raleigh Limits (elektrostatische Abstoßung der Oberflächenladungen $>$ Oberflächenspannung) werden viel kleinere Tropfen (sog. Mikrotropfen) emittiert. Dies geschieht aufgrund von elastischen Oberflächenvibrationen der Tropfen, die zur Bildung Taylor cone-ähnlicher Strukturen führen. Am Ende solcher Ausstülpungen werden kleine Tropfen, die ca. 2% der Masse, aber 15% der Ladung des "Muttertropfens" tragen, gebildet. Durch diesen ungleichen Zerfall der "Muttertropfen" erhöht sich pro Durchlauf von

Tropfenbildung und Verdampfung bis zum Raleigh Limit das Verhältnis von Oberflächenladung zur Zahl gepaarter Ionen im Tropfen dramatisch. Das heißt, dass nur die hochgeladenen Mikrotropfen für die letztlich erfolgende Ionenbildung verantwortlich sind und die verbleibenden großen Muttertropfen den überwiegenden Teil der Salzfracht (gepaarte Ionen) tragen.

c) Bildung gasförmiger Ionen

Im wesentlichen wurden zwei Modelle vorgeschlagen, um die Formierung gasförmiger Ionen aus Mikrotropfen zu erklären. Die ältere Theorie stammt von Dole und wird als das Modell des geladenen Rückstands (charged residue model, CRM) bezeichnet. Man geht davon aus, dass letztlich aus extrem kleinen Tropfen mit Radius $r \sim 1 \text{ nm}$, die nur noch ein Analyt ionen enthalten, durch Lösemittelverdampfung gasförmige Ionen entstehen. Die zweite Vorstellung stammt von Iribane und Thomson und wird als Ionenemissions-Modell (ion emission model IEM) bezeichnet. Hierbei erfolgt die Bildung gasförmiger Ionen aus hochgeladenen Mikrotropfen mit Radius $r \sim 8 \text{ nm}$ und ca. $N \sim 70$ Elementarladungen. Diese Ionenemission aus den Mikrotropfen steht beim IEM in Konkurrenz zum weiteren Raleigh-Zerfall der Tropfen.

Zur Vereinfachung der weiteren Besprechung von ESI soll jeweils von einer positiven kV-Spannung zur Generierung von positiven Ionen ausgegangen werden.

2.2.10.2 Typische Phänomene der Elektrospray Ionisation und deren Erklärung anhand der beiden Modelle CRM und IEM:

2.2.10.2.1 CRM

In ESI-MS Spektren werden zum Teil sehr intensive Adduktionen beobachtet, die mehrere intakte protonierte bzw. deprotonierte Analytmoleküle enthalten (z.B. $[M_2]^{7-}$ oder $[M_3]^{5-}$ bei ESI-MS von Cytochrom. Im allgemeinen erscheint das Auftreten von Adduktionen, die auf der Ausbildung von non-kovalenten Bindungen (H-Brückenbindungen, p-p-Wechselwirkungen usw.) beruhen, eher durch das CRM erklärbar.

2.2.10.2.2 IEM

Charakteristisch für ESI-MS Spektren ist das Auftreten von glockenförmigen Ladungsverteilungen verschiedener Ladungszustände eines ionisierten Analyts. Im Zuge der Verkleinerung der Tropfenradien durch Verdampfen von Lösemittel nimmt die Ladungsdichte auf der Tropfenoberfläche zu. Bei der Ionenemission eines Analyts von einem Tropfen mit relativ großem Radius ist die Zahl der übertragenen Ladungen kleiner als bei der Emission von einem Tropfen mit einem kleineren Radius. Da eine kontinuierliche Verteilung von Tropfenradien vorliegt und diese innerhalb einer gewissen Verteilung zur Ionenemission beitragen, beobachtet man eine Verteilung von Ladungszuständen in ESI-MS Spektren. Wird der Sheathgasfluß erhöht, findet man eine Verschiebung der Verteilung der Ladungszustände zu höheren Ladungszuständen hin. Durch die verstärkte Vernebelung der Tropfen und die Verkürzung ihrer Lebensdauer wird das Maximum der Verteilung der Tropfenradien zu kleineren Werten verschoben. Damit steigt die Ladungsdichte auf der Oberfläche der Mikrotropfen. Im Bild des IEM kann die resultierende Intensitätssteigerung der Analytionen in höheren Ladungszuständen gut erklärt werden.

2.2.10.2.3 Charakteristische Merkmale von ESI-MS Spektren

2.2.10.2.3.1 ESI-MS niedermolekularer Verbindungen

Bei Molekülen mit einer molaren Masse < 1000 u werden in der Regel einfach positiv bzw. negativ geladene Quasimolekülionen beobachtet. Diese entstehen durch Protonierung $[M+H]^+$ oder Kationenanlagerung $[M+Kat]^+$ mit $Kat = Na, K$ bei positiver Ionendetektion. Im Fall von negativer Polarität werden intensive Ionen des Typs $[M-H]^-$ gebildet. Frag-

mentierungen werden wegen der sanften Ionisation bei ESI nur mit sehr geringen Intensitäten beobachtet.

2.2.10.2.3.2 Ionen hoher Masse

Mit der Elektrospray-Ionisierung ist der massenspektrometrische Nachweis von hochmolekularen Verbindungen bis zu einigen Kilodalton möglich. Dies beruht auf der Generierung von vielfach geladenen bzw. protonierten Molekülonen. Da im Massenspektrometer das Masse zu Ladungsverhältnis detektiert wird, eröffnet sich ein sehr großer Massenbereich. Um ausreichende Empfindlichkeit zu gewährleisten, wird bei gewöhnlichen ESI-MS Messungen mit Auflösungen gearbeitet, die keine isotopenaufgelösten Ionenpattern hochgeladener Ionen liefern können. Es wird stattdessen die Umhüllende aller Molekülonensignale eines Ladungszustands detektiert. Aus der Sequenz von Signalen (Umhüllenden), die in einem ESI-MS Spektrum auftreten, läßt sich aber die Molekularmasse eindeutig bestimmen. Unter der Annahme, dass sich benachbarte Ionen in der Bruttoformel jeweils um ein Kation (Proton oder Alkaliion) unterscheiden und die Zahl der zusätzlichen (positiv ESI) oder fehlenden (negativ ESI) Kationen der Ladungszahl des Ions entspricht, kann mit einem Dekonvolutionsalgorithmus die Masse des Ions genau bestimmt werden.

Elektrospray-Ionisation (ESI) ist eigentlich die Methode der Wahl für Proteine, Oligonucleotide und Metallkomplexe. Hierbei müssen die Substanzen in einem niedrig-siedenden Lösemittel in kleinen Konzentrationen (z. B. 10^{-2} mol/l) löslich sein (Acetonitril, Methanol, CHCl_3 und Wasser). Der Teil der Ionenquelle, in der der Sprayprozeß stattfindet, liegt auf Atmosphärendruck, die Probe wird durch eine Metallkapillare mit 3 - 5 kV Potential in die Quelle eingeführt. Durch dieses hydrodynamische und elektrische Vernebeln entstehen kleinste Tröpfchen, aus denen Lösemittel-Ionen abgesaugt werden (Elektrotrocknung). Zurück bleiben Probenmoleküle, die mit einem oder mehreren Protonen (oder Na^+ , K^+ , NH_4^+) aus dem Lösemittel beladen sind und damit auch eine Abhängigkeit von der Moleküloberfläche und damit der Sekundär- und Tertiärstruktur (z.B. von Proteinen) aufweisen. ESI-Spektren sind charakterisiert durch das Auftreten von Quasi-Molekülonen wie $[\text{M} + \text{H}]^+$, $[\text{M} + \text{Na}]^+$. Größere Probenmolekel (mit größerer Oberfläche) werden bevorzugt mehrfach ionisiert zu $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$, $[\text{M} + 3\text{H}]^{3+}$, $[\text{M} + 4\text{H}]^{4+}$, etc. Die Signale im Massenspektrum liegen aufgrund der Mehrfachladung dann bei Massenzahlen entsprechend der Hälfte von $[\text{M} + 2]$, einem Drittel von $[\text{M} + 3]$, einem Viertel von $[\text{M} + 4]$, usw. Nur aus einer Serie von Quasi-Molekülonen oder aus der Bestimmung der Isotopenverteilung im Molekülon läßt sich letzteres als solches charakterisieren. ESI ist ebenso wie FAB eine weiche Ionisierungstechnik und damit vor allem für große Biomoleküle oder Bio- und synthetische

Polymere sowie für ionische Proben (z.B. Metallkomplexe) geeignet. Die Empfindlichkeit ist stark vom Analyten abhängig, die Lösungsbedingung erlaubt eine elegante Kopplung mit Flüssigchromatographie, wie z.B. HPLC oder Kapillar-Elektrophorese.

2.2.10.2.4 Durchführung

Die mobile Phase aus der HPLC-Säule wird durch Probezuführung und ESI-Nadel zur Ionisierungsquelle (Spraykammer) unter Atmosphärendruck geführt, wo sie pneumatisch in der Zerstäuber zu einem feinen elektrostatischen geladenen Aerosol vernebeln wird. Der Eluent wird mittels Kapillareerhitzers in einem pneumatischen Zerstäuber vollständig aus dem Tröpfchen verdampft. Die resultierenden Analytmoleküle und Lösemittel-Ionen werden dann aus den schrumpfenden Aerosoltröpfchen in einer Extraktionskammer emittiert und in die Ionenoptik übergeführt. Schließlich werden die erzeugten Ionen mittels eines Quadrupols (Analyser) nach ihrem Masse/ Ladung-Verhältnis filtriert und zu einem Photoverstärker gesendet. Die Auswertung erfolgt mit der Software.

2.2.10.2.5 Trennungparameter

2.2.10.2.5.1 LC

Fließgeschwindigkeit: 1 ml/min

Wellenlänge: 280 nm

Eluenten: 3,5 %ige Essigsäure (A); Acetonitril (B);

Gradient: B in 16 min von 5 % auf 25 %; B in 10 min von 25 % auf 5 %; B 5 min bei 5 % halten;

2.2.10.2.5.2 MS

Vernebelungsgas: Stickstoff ($6-7 \cdot 10^5$ Pa), 150 °C, 3 KV

Eluent Flussrate: 20 µl/ min

Eluententfernung bei 250 °C

Konus:Flußrate : 400 l/ h, 70 V

Verstärker: 650 V

2.2.11 GC-MS- Kopplung

Ein deutlicher Trend zur Kopplung der Gaschromatographie mit der Massenspektrometrie (GC-MS) hat sich in den letzten Jahren abgezeichnet. Ein GC/MS-Gerät soll deutlich mehr an Informationen über die untersuchte Probe liefern als beispielweise ein klassischer

Flammenionisationsdetektor (FID). Diese Kopplungstechnik setzt sich beispielsweise in der Produktanalytik zur Identifizierung unbekannter Komponenten ein. Der Vorteil hoher Nachweisempfindlichkeit, gepaart mit einer großen Selektivität für Einzelstoffe, führt zu der herausragenden Rolle der Kopplungsverfahren.

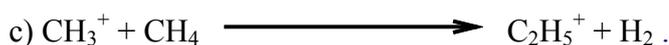
2.2.11.1 Ionisationsprinzip

2.2.11.1.1 Elektronenstoß-Ionisation

Die Elektronenstoßionisation (EI, früher: electron impact, heute: electron ionization), ist die klassische Ionisierungsmethode der Massenspektrometrie. Ihre Anwendung ist jedoch auf thermisch stabile Substanzen beschränkt, die unzerstört verdampfbar sind. Ein EI-Massenspektrum enthält meistens viele Signale für Fragmentationen und ist deshalb für die strukturelle Charakterisierung und Identifizierung von Substanzen nützlich („Fingerabdruck“). Bei $133,3 \cdot 10^{-6} - 133,3 \cdot 10^{-7}$ Pa und bis 200°C wird die Probe verdampft und mit 70 eV Elektronen bombardiert. Es entstehen Molekül-Radikalkationen M^+ , die aufgrund der schnellen Elektronenstöße Überschuss an innerer Energie (thermischer Energie) besitzen (M^{+*}) und zum Zerfall in Neutralteilchen und Tochterionen tendieren. Sowohl die Neutralteilchen als auch die Fragmentationen können Radikalcharakter haben und, wenn die Tochterionen noch genug Überschussenergie besitzen, können sie jeweils zu weiteren, kleineren Fragmentationen zerfallen. Das kann dazu führen, über Verbindungen, wie z.B. Alkohole, Ester, usw., so leicht fragmentieren, dass im Spektrum kein Molekülion M^+ gefunden wird, sondern nur durch entsprechende charakteristische Zerfälle entstehende Quasi-Molekülionen, z.B. $(M - \text{H}_2\text{O})^+$, $(M - \text{CH}_3\text{COOH})^+$, u.a.. Da die Temperatur der Ionenquelle und die Elektronenenergie konstant gehalten werden, sind die Zahl und relative Größe der Fragmentationen und damit die Elektronenstoß (EI)-Spektren im allgemeinen vergleichbar und charakteristisch für jede Substanz. Die Anwendung der EI-Massenspektrometrie ist auf flüchtige, niedermolekulare Verbindungen (bis ca. 1.500 D) beschränkt und wird, da sie Aussagen zur chemischen Zusammensetzung des Analyten erlaubt, auch üblicherweise zur Identifizierung unbekannter Proben und zur Strukturaufklärung herangezogen. Die klassischen EI-Spektren ermöglichen automatisierte Literatursuche und Interpretation. Auch luft- und feuchtigkeitsempfindliche Substanzen können mit dieser Technik analysiert werden.

2.2.11.1.2 Chemische Ionisation

Bei der chemischen Ionisation wird in die Ionenquelle zu den thermisch verdampften Probenmolekülen ein Überschuss an Reaktantgas eingelassen, das durch Elektronenbeschuss (150 eV) ionisiert wird. Es resultiert ein Druck in der Ionenquelle von etwa $266,6 \cdot 10^{-1}$ bis 266,6 Pa. Um diesen Druck (4-5 Zehnerpotenzen höher als bei EI-MS) in der Ionenquelle zu erreichen, müssen die Elektroneneintrittsöffnung und die Ionenaustrittsöffnung verkleinert und die Pumpenleistung des Vakuumsystems erhöht werden. Die durch den Elektronenbeschuss gebildeten Primärionen des Reaktantgases reagieren durch eine Serie von Stößen mit weiteren Reaktantgasmolekülen zu den eigentlich ionisierend wirkenden stabilen Ionen (CI-Plasmaionen). Als Beispiel sei Methan angeführt:



Bei der chemischen Ionisation (CI, chemical ionization) wird die Substanz durch eine Ion-Molekül-Reaktion mit einem Reaktantgasplasma ionisiert, z. B. durch Protonenübertragung. Da bei diesem Vorgang nur relativ wenig Energie übertragen wird, tritt kaum Fragmentierung auf; die Spektren werden durch intensive "Quasimolekülionen" dominiert. Allerdings ist auch hier die Verdampfbarkeit der zu messenden Verbindung Voraussetzung. Bei einer Variante der CI, der DCI (Desorption durch chemische Ionisation bzw. direkte chemische Ionisation) fällt diese Einschränkung weg. Hierbei wird die Substanz gelöst und auf eine Drahtschleife getropft. Nach Verdampfen des Solvens wird die Drahtschleife in das Plasma eingebracht und die Probe durch leichtes Erwärmen des Drahtes direkt in die Gasphase transferiert.

2.2.11.1.2.1 Ionisierung durch Protonierung

Im CH_4 -CI-Plasma sind die vorwiegend gebildeten stabilen Reaktantgasionen CH_3^+ und C_2H_5^+ (protoniertes Ethen). Bei Wasser und Ammoniak dominieren die protonierten Moleküle $[\text{H}_3\text{O}]^+$ und $[\text{NH}_4]^+$ sowie deren Clusterionen mit einem oder zwei weiteren Neutalmolekülen (z.B. $[(\text{NH}_3)_i\text{NH}_4]^+$ mit $i = 1-2$). Bei Isobutan wirkt als protoniertes Reaktantgasion $[\text{C}_4\text{H}_9]^+$, das protoniertem Isobuten entspricht. Diese Reaktantgasionen sind Brönsted-Säuren. Sie ionisieren Analyt-Moleküle in der Gasphase durch Protonierung in Ionen-Molekül-Reaktionen. Die Reaktantgase für die chemische Ionisation durch Protonierung sind in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Reaktantgase für CI-MS: Protonierungsreaktionen

Reaktantgase für CI-MS: Protonierungsreaktionen		
Gas	Plasma-Ionen	PA [KJ/mol]*
H ₂	H ₃ ⁺	422
CH ₄	CH ₅ ⁺	527
H ₂ O	H ₃ O ⁺	706
CH ₃ OH	CH ₃ OH ₂ ⁺	761
i-C ₄ H ₁₀	t-C ₄ H ₉ ⁺	807
NH ₃	NH ₄ ⁺	840

* Protonenaffinität (PA) ist die mit der Reaktion $M + H^+ \rightarrow MH^+$ verbundene negative Reaktionsenthalpie

Die Protonenaffinitäten nehmen in der Reihenfolge $[H_3]^+ > [CH_5]^+ > [C_2H_5]^+ > [H_3O]^+ > [C_4H_9]^+ > [NH_4]^+$ ab. Demnach wird ein gegebenes Analytmolekül durch Protonenübertragung zunehmend schonender ionisiert, da die Exothermizität der Protonenübertragungsreaktion abnimmt. Auf diese Weise kann durch Wahl des Reaktantgases das Ausmaß der massenspektrometrischen Fragmentierungen gesteuert werden.

Neben der Protonierung werden auch durch Anlagerung von Reaktantgasen gebildete Analytionen beobachtet (z.B. bei $[NH_4]^+$).

In der Regel sind CI-Spektren deutlich fragmentärmer als entsprechende EI-Spektren und zeigen höhere relative Intensitäten an Ionen, die das intakte Molekül enthalten. Dies ist auf die geringere Anregungsenergie bei Protonenübertragungen und Anlagerungsreaktionen zurückzuführen. Überdies wird die innere Energie der gebildeten Molekülionen (z.B. $[M+H]^+$) im CI-Quellenbereich durch zahlreiche Stöße mit neutralen Reaktantgasmolekülen moderiert.

2.2.11.1.2.2 Ionisierung durch Ladungsübertragung

Wird ein Reaktantgas verwendet, das keine protonierenden Spezies bilden kann (z.B. N₂, CO₂), so werden Analytmoleküle über Ladungsaustauschreaktionen (charge transfer reactions) ionisiert. Dabei entstehen wie bei EI-MS positiv geladene Molekülionen des Typs $[M]^{+}$. Hierbei ist die Differenz der Ionisierungspotentiale (IP) des Analyten und des Reaktantgases entscheidend. Ist das $IP(\text{Reaktantgas}) \sim IP(\text{Analyt})$, so werden in der Hauptsache Molekülionen $[M]^{+}$ gebildet. Ist das IP des Reaktantgases um einige eV größer als das IP des Analyten (M), so wird das CI-MS-Spektrum einem entsprechenden EI-MS-Spektrum ähnlich, da in analoger Weise Fragmentierungen durch die auftretende Überschussenergie generiert werden. Die Reaktantgase für die chemische Ionisation durch Ladungsübertragung sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Reaktantgase für CI-MS : Ladungsaustauschreaktionen

Reaktantgase für CI-MS: Ladungsaustauschreaktionen		
Gas	Plasma-Ionen	IP[eV]
C ₆ H ₆	C ₆ H ₆ ⁺	9,3
Xe	Xe ⁺	12,1
CO ₂	CO ₂ ⁺	13,8
CO	CO ⁺	14,0
N ₂	N ₂ ⁺	15,3
Ar	Ar ⁺	15,8
He	He ⁺	24,6

Häufig laufen auch mehrere Reaktionen als Konkurrenzprozesse nebeneinander ab. So liefern Alkene mit Isobutan als Reaktantgas durch Ladungsaustausch mit C₄H₁₀⁺ [M]⁺⁺ sowie durch Reaktion mit dem Plasmaion C₄H₉⁺, [M+H]⁺, [M-H]⁺, [M+ C₄H₉]⁺ und [M+ C₃H₃]⁺. Voraussetzung für den Ablauf jeder Reaktion ist deren Exothermizität. Auch hier gilt: Wird bei der betreffenden Reaktion nur wenig Energie frei, so werden nur Quasimolekülonen oder solche beobachtet, die daraus durch schnelle stark exotherme Prozesse entstehen können. Beispiel:



Ist die Ionisierungsreaktion stark exotherm, so ist mit einem fragmentreichen Spektrum zu rechnen. Zu beachten ist dabei, daß die Quasi-Molekülonen in der Regel über eine gerade Zahl an Elektronen verfügen (z.B. [M+H]⁺ etc.) und daher in anderer Weise fragmentieren als Molekülradikalkationen des Typs [M]⁺⁺ (ungerade Zahl e⁻).

2.2.11.1.2.3 Bedeutung der chemischen Ionisation

Die chemische Ionisierung bedeutet

- gezielte Unterdrückung von Fragmentierungen; Vereinfachung von Gemischanalysen durch das ausschließliche Auftreten von Quasimolekülonen und zur Bestimmung der Molmasse
- gezielte Ionisation bestimmter Verbindungsklassen; so werden z.B. bei Verwendung von NH₃ als Reaktantgas nur stark basische Substanzen ionisiert.
- Bestimmung der Anzahl an aciden H-Atomen durch ND₃ oder D₂O



d) Erzeugung negativer Ionen; Durch Wechselwirkung der 150 eV Elektronen mit den Reaktantgasmolekülen wird die Energie der Primärelektronen vermindert. Es entstehen sog. thermische energiearme e^- (Energie \sim eV Bereich), die insbesondere von halogenhaltigen Verbindungen wegen ihrer hohen Elektronenaffinität eingefangen werden (resonance capture ionization) und so empfindlich nachgewiesen werden können. Dies kann auch zum Nachweis von entsprechend derivatisierten Verbindungen (z.B. mit Pentafluorbenzylbromid, C_2F_5COOH) genutzt werden.

Harrison (310) bietet eine gute Zusammenstellung der Methode. Die CI-Quelle ist in Abbildung 19 dargestellt.

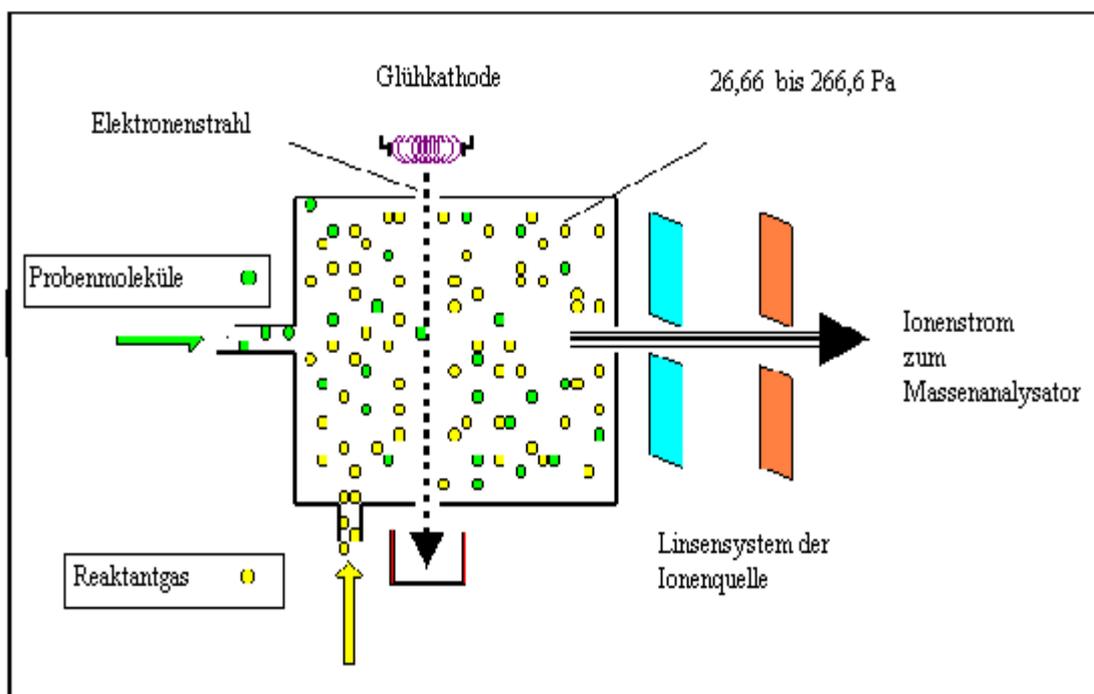


Abbildung 19: CI-Quelle nach www.jeol.com/ms/ionize.html

2.2.11.2 Trennungparameter

Injektor: 250 °C

Injektionsvolumen: 2 μ l

Elektronenverstärker: 1000 V

Filamentstrom: 200 μ A

Trärgas: He, 1,5 ml/ min

Temperaturprogramm der Säule: 80 °C auf 280 °C.

2 min bei 80°C halten und dann in 12 min von 80°C bis 280°C.

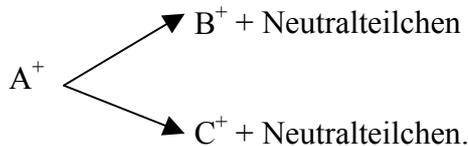
2.2.11.3 Auswertung von Massenspektren

In seiner einfachsten Ausführung muß ein Massenspektrometer drei Grundfunktionen verrichten können. Diese sind:

1. Die Verdampfung von Verbindungen der unterschiedlichsten Flüchtigkeiten.
2. Die Erzeugung von Ionen aus den resultierenden gasförmigen Molekülen. Eine Ausnahme liegt vor, wenn der Verdampfungsprozess keine Neutralteilchen, sondern unmittelbar Ionen ergibt.
3. Die Auftrennung der Ionen gemäß dem Verhältnis Masse zu Ladung ($m/z \cdot e$) und deren anschließende Detektion und Aufzeichnung.

Da die Bildung mehrfach geladener Ionen im Verhältnis zu den einfach geladenen selten ist, beträgt die Ladungszahl normalerweise eins. Da ferner die Elementarladung eine Naturkonstante ist, ergibt m/z die Masse des Ions. Damit ist ein Massenspektrometer eine Vorrichtung für die Produktion und Auswägung von Ionen.

In den gängigen Geräten zur Erzeugung von Ionen in der Gasphase wird im Zuge der Ionenproduktion nahezu immer ausreichende Schwingungsenergie übertragen, so dass in gewissen Umfang ein Weiterzerfall, der unter Verlust von Neutralteilchen zu neuen Ionen führt, erfolgen kann; z.B.:



Reicht die Schwingungsenergie aus, so können schließlich auch B^+ und/oder C^+ weiter fragmentieren; z.B. :



Wenn die Gesamtheit der gebildeten Ionen (A^+ , B^+ , C^+ usw.) die Auftrennung und Registrierung durchlaufen hat, so ist das Ergebnis ein Massenspektrum. In ihm ist die Häufigkeit jedes einzelnen Ions als Ordinate gegen den m/z -Wert als Abzisse aufgetragen (311). Dem häufigsten Ion wird willkürlich der Wert 100 % als relative Intensität zugewiesen und die übrigen Ionenintensitäten in % davon angegeben (% relative Intensität).

2.2.12 Bestimmung der antioxidativen Kapazität und des Reduktionsvermögens

Während der letzten 10 Jahre wurden viele neue analytische Methoden für die Bestimmung von Antioxidantien in der Brauerei entwickelt. Eine umfassende Arbeit über die Bestimmungsmethoden des Reduktionsvermögens in Getränken wurde 2001 veröffentlicht (312, 313). Mehrere Methoden wurden aus anderen Industriezweigen oder aus der medizinisch/ pharmazeutischen Forschung übernommen.

Die Methoden für die Bestimmung von Antioxidantien unterteilen sich in chemische, biochemische und physikalische Methoden.

Zu den chemischen und biochemischen gehören folgenden Methoden:

- DPI (2,6-Dichlorphenol-Indophenol), die von Hartong (314) vorgeschlagen wurde und eine breite Anwendungsmöglichkeit in der sogenannten ITT-Methode von Gray und Stone (315) gefunden hat,
- DPH oder DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl), die von Owades (316), Kaneda und Mitarbeiter, (317) für Bier angewendet wurde,
- Cersulfat $Ce(SO_4)_2$, die von Williams und Mitarbeiter (318) entwickelt wurde,
- Silbernitrat mit Ammoniumhydroxid (Reduktionskraft), die im Labor der Beck-Brauerei, Bremen entwickelt und von Kretschmer (319) für Gerste, Malz und Bier angewendet wurde,
- Dipyridyl (Reduktionskraft), die von Chapon (320) vorgeschlagen wurde,
- Eisenzyanid ($K_3Fe(CN)_6$), die von Adachi (1958) entwickelt wurde und von Karakus und Scriban (321) für Malz angewendet,
- Thiobarbitursäure (TBA) für die Bestimmung von Gewebefett, ungesättigten Fettsäuren und deren Ester,
- Sulfitoxidationswert, die von Lie und Mitarbeiter (322) vorgeschlagen wurde für die Bestimmung der Sauerstoffabsorption in der Brauerei,
- Iod-Reduktionsaktivität, die von Ohtsu (323) für Bier angewendet wurde,
- Ellmans Reagenz: 5, 5'-Dithiobis (2-Nitrobenzoesäure) oder DTNB, die von Muller (324) für Maische angewendet wurde,
- Superoxidradikal- und Hydroxylradikalversuch, die von Scott und Mitarbeitern (1993) beschrieben und von Walters et al. (247) für Bier angewendet wurden,
- Fettperoxidationsversuch von Walters und Mitarbeitern (247),
- ABTS-TROLOX und TRAP-Test, die sowohl die Verzögerung der Radikalbildung als auch die Radikalfängereigenschaften erfassen (4, 325),
- AOX (Antioxidans Potential von Spezialmalz), die von Auerbach beschrieben (326) und dann von Bright und Mitarbeitern (327) für Serum angewendet wurde,
- Co-Oxidation von Beta-Carotin in einem Linoleat-Modellssystem, die von Pratt und Hudson (328) entwickelt und von Groupy und Mitarbeitern (329) für Gersten- und Malzextrakte angewendet wurde, und
- Sauerstoff-Radikal Aufnahmekapazität (ORAC), die das erste Mal als Prüfung von Cao und Mitarbeitern (330, 331, 332) vorgestellt wurde.

Folgende Methoden beruhen auf physikalischen Messungen:

- rH, Redoxpotential, die von De Clerck (333) beschrieben und von vielen Forscher (332-340) für Bier angewendet wurde,
- Oxidationsänderungen durch ^{18}O , von Owades und Jakovac (341, 342),
- Rotfarbeindex von Van Gheluwe und Mitarbeitern (343),
- Kinetik der Bieroxidation (Bestimmung durch Bieroxidation unter konstanten Druck von André und Moll (344),
- Elektrochemische Detektion (ED), die von Moll (345, 346) und von Bovin und Mitarbeitern (347) für Bier angewendet wurde,
- Chemolumineszenz, die von Kaneda und Mitarbeitern (348, 349, 350) beschrieben und von Kobayashi und Mitarbeitern (351) für Würze, von Uchida (352) für Bier angewendet wurde,
- Elektronenspinresonanz-Spektroskopie (ESR), die von Kaneda und Mitarbeitern (353), Uchida und Ono (354) für Bier und von Andersen und Mitarbeitern (355, 356, 357) für süßer Würze angewendet wurde und
- Die potentiometrische Methode, die von Höner und Mitarbeitern (358) für Wein angewendet wurde.

Mehrere der beschriebenen chemischen und biochemischen Methoden sind schwierig zu interpretieren, was auf die Komplexität des Mediums zurückzuführen ist. Die DPI- und Chemolumineszenzmethode werden in der vorliegende Arbeit angewandt.

2.2.12.1 Bestimmung der antioxidativen Kapazität von wasserlöslichen Stoffen (ACW)

a) Prinzip der Messmethode ACW:

Durch optische Anregung (Belichtung) einer fotoempfindlichen Substanz („Photosensitizer“) werden Messradikale, in vorliegenden Verfahren Superoxidationenradikale, erzeugt. Durch Reaktion der Antioxidantien der Probe mit den Radikalen werden diese zum Teil eliminiert. In einer Messküvette wird die durch die verbleibenden Radikale erzeugte Lumineszenz einer Detektorsubstanz gemessen und damit die Antioxidantienmenge in der Probe quantifiziert.

Durch Vergleich mit einem Standard (Erstellung einer Kalibrierkurve mit Ascorbinsäure) kann die Quantifizierung in äquivalenten Einheiten des Standards angegeben werden. Das durch die Lumineszenz erzeugte Messsignal wird über einen Zeitraum (1-3 min) hinweg verfolgt. Typischerweise ist bei einer ACW-Messung zunächst eine lag-Phase zu beobach-

ten, in der keine Chemolumineszenz stattfindet. Bei Erschöpfung der Antioxidantien steigt die Menge der Radikale und damit das Messsignal an und erreicht schließlich ein Maximum. Die Länge der Lag-Phase ist abhängig vom Abfangen der in der Probe gebildeten Messradikale durch die Antioxidantien im Messansatz. Bei der ACW-Messung wird die Dauer der Lag-Phase ermittelt, indem durch Bildung der 1. Ableitung der entstandenen Kurve der Wendepunkt bestimmt wird. Anschließend wird der Anstieg im Wendepunkt berechnet. Der Schnittpunkt der Tangente durch den Wendepunkt mit der x-Achse definiert die Dauer der Lag-Zeit (Abbildung 20).

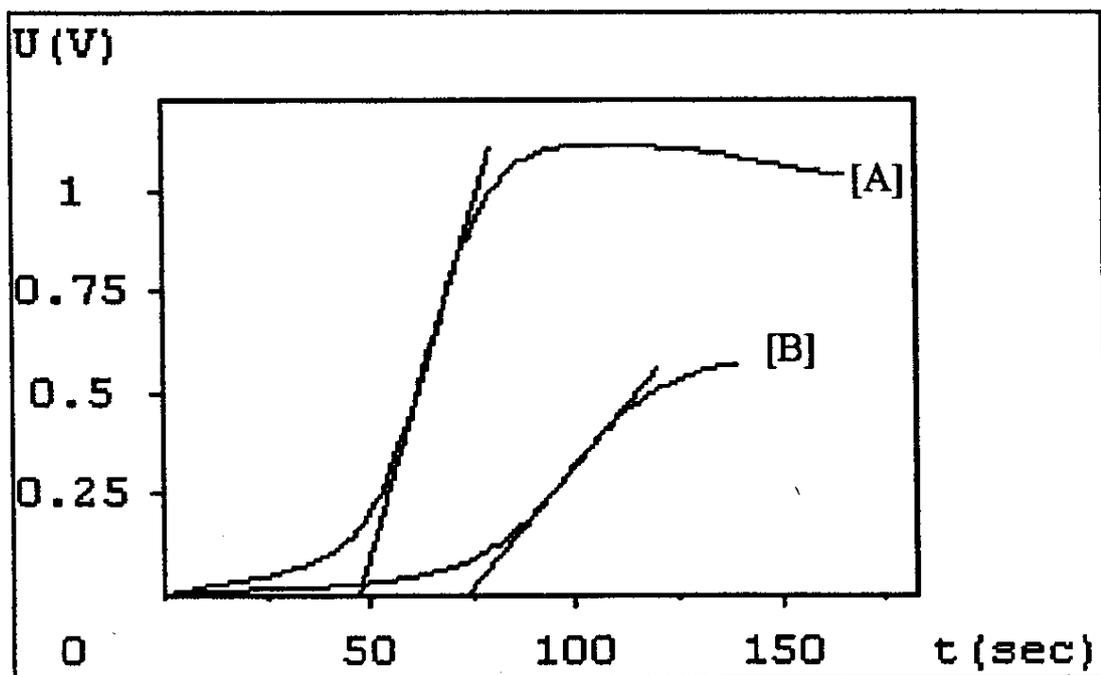


Abbildung 20: Originalmesskurve ACW für die Bestimmung der wasserlöslichen antioxidativen Kapazität einer Probe:

Spannung proportional zur entstandenen Lumineszenz, aufgetragen gegen die Messdauer. Die Anstiegsgeraden durch den Wendepunkt sind eingetragen. Zu beobachten ist die Verlängerung der Lag-Phase der Radikal-Nachweisreaktion durch Antioxidantien in der Probe [B] gegenüber dem Blindwert [A].

b) Lagerung und Haltbarkeit der ACW-Kit-Lösungen

Die Reagenzien 1, 2 und 4 sind bei Raumtemperatur gut verschlossen und im Dunkeln aufzubewahren.

Das Reagens 3 wird bei -20°C eingefroren. Die Stammlösung ist ungeöffnet mindestens 6 Monate haltbar. Die gebrauchsfertige Lösung behält nur einen Tag lang ihre Qualität. Sie ist sehr lichtempfindlich, deshalb ist die braune Flasche nach jeder Entnahme wieder abzudecken. Aliquots können eingefroren und weiterverwendet werden, wenn eine neue Kalibration durchgeführt wird.

Die Stammlösung des Reagens 4 ist ca. 3 Wochen stabil. Aliquots werden bei -20°C gelagert. Die Arbeitslösung muss täglich frisch zubereitet werden.

c) Herstellung der Probenlösung

Wasserlösliche Proben werden mit Reagens 1 gelöst und dem Messbereich entsprechend verdünnt.

Pipettierschema (alle Volumina in μl)

Tabelle 7: Pipettierschema der ACW-Methode

Reagens	1	2	3-AL	4-AL	Probe
Leerwert	1.500	1.000	25	0	0
Kalibration	1.500 – X	1.000	25	X	0
Messung	1.500-Y	1.000	25	0	Y

AL= Arbeitslösung

3-AL: Reagens 3- Arbeitslösung

X: Volumen der verwendeten 4-AL

4-AL: Reagens 4- Arbeitslösung

Y: Volumen der verwendeten Probe

d) Durchführung der Messungen:

d.1) Methodenparameter:

Tabelle 8: Methodenparameter der ACW-Methode

	Messdauer [s]	Parameter für Kalibration und Messung	Spülen
ACW	100-500	Lagzeit (lag-lag0)	1 x pro Messung

Da für die Bestimmung der Lag-Zeit der Wendepunkt der Messkurve errechnet werden muss, kann die Messung in der Praxis gestoppt werden, sobald das Maximum der Lumi-

niesenzmessung erreicht worden ist. Die Messzeiten der einzelnen Proben /Reaktionen brauchen bei der ACW-Messung also nicht gleich lang zu sein.

d.2) Leerwertbestimmung:

Es sollten mindestens 2 Leerwertbestimmungen durchgeführt werden. Die Abweichung der beiden Leerwertbestimmungen sollte nicht größer als 5% sein. Sonst sollten weitere Leerwerte bestimmt werden, bis sich der Wert stabilisiert hat. Die instabilen Messwerte sollten dann aus der Berechnung eliminiert werden.

Gelegentlich tritt Instabilität bei Messungen mit organischen Lösemitteln (ACL und ASC-Kit) auf. Hier kann es nötig sein, das System erst mit der lösemittelhaltigen Messlösung zu äquilibrieren, wenn vorher mit rein wässrigen Lösungen (z.B. ACW) gemessen wurde.

Die Äquilibration ist durch die Wiederholung der Leerwertmessung zu kontrollieren. Das Messsystem gilt als stabil, wenn die Leerwerte stabil sind.

d.3) Kalibration:

Die Kalibrationskurve sollte durch Messungen mit den Mengen 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 und 2,5 nmol Ascorbinsäure (entsprechend 5 - 25 µl Reagens 4-Arbeitslösung (X)) erstellt werden. Da die Ascorbinsäure im alkalischen pH des Reaktionsansatzes rasch zerfällt, sollte so gearbeitet werden, dass der Zeitraum vom Zusetzen der Arbeitslösung zum Reaktionsansatz und bis zum Start der jeweiligen Messung möglichst kurz und einheitlich ist. Reagens 1 und Reagens 2 können dazu vorgelegt werden. Reagens 3 und der Aliquot des Ascorbinsäure-Standards (Reagens 4b Arbeitslösung) sollten erst unmittelbar vor der Messung zugegeben und der Ansatz kurz durchmischt werden. Bei Verwendung anderer, stabilerer Standardsubstanzen (z.B. Gallussäure oder Trolox) ist diese Vorsichtsmaßnahme nicht notwendig.

Ein beispielhafter Verlauf der Kalibrationskurve (lineare Regression) mit Ascorbinsäure ist in Abbildung 21 dargestellt.

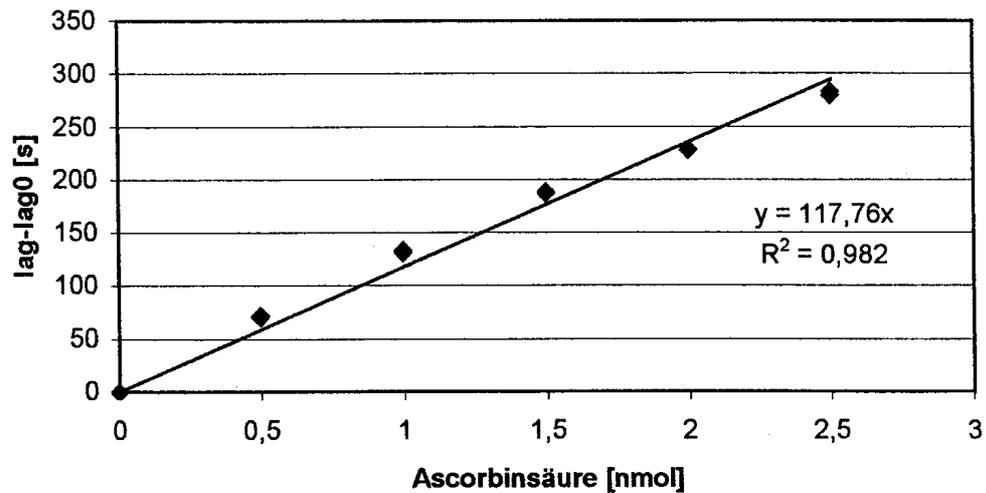


Abbildung 21: Beispielhafter Verlauf der Kalibrationskurve (lineare Regression) mit Ascorbinsäure

d.4) Probenmessung und Probenvorbereitung:

Bei den mit dem ACW- Kit zu messenden Proben sollte es sich um wässrige Lösungen oder wasserlösliche Substanzen handeln. Die Proben müssen in Reagens 1 so verdünnt werden, dass das Messsignal innerhalb der Kalibrierkurve und im linearen Messbereich des Messgeräts liegt. Dazu kann es notwendig sein die Proben in mehreren Schritten zu verdünnen. Die Proben dürfen keine groben Partikel enthalten. Die Proben sind gegebenenfalls zu filtrieren.

d.5) Auswertung der Messkurven

Diese Schritte:

1. Ermittlung der 1. Ableitung der entstandenen Kurve
2. Bestimmung des Wendepunktes
3. Berechnung des Anstiegs durch den Wendepunkt
4. Schnittpunkt der Anstiegsgeraden mit der x-Achse definiert die Lag-Zeit (Dauer der Lag-Phase)
5. Parameter für antioxidative Kapazität ist die Differenz zwischen Lag-Zeit des Blindwertes und der Probe (Lag-Lag 0)
6. entsprechend Kalibration Berechnung des Messwertes in Äquivalenten der Standardsubstanz werden von der Software automatisch durchgeführt.

2.2.12.2 Bestimmung der Reduktionsvermögen nach MEBAK

Das Reduktionsvermögen ist ein Maß für die im Bier bzw. Pflanzenextrakt vorhandenen, schnell reduzierenden Substanzen. Reduktone kommen im Bier in relativ geringer Menge vor, haben jedoch eine große Bedeutung für die chemisch-physikalische, die biologische und die geschmackliche Stabilität.

a) Prinzip

Reduktone reduzieren innerhalb einer gewissen Zeitspanne eine bestimmte Menge von Tillmanns-Reagenz (2,6-Dichlorphenol-Indophenol, DPI). Die Entfärbung des Reagenzes wird spektralphotometrisch gemessen und mittels der angegebenen Formel berechnet.

b) Lösungen

2,6-Dichlorphenol-Indophenol, 0,005 M (DPI-Lösung, Molekulargewicht des Natriumsalzes 290,08): in ein Becherglas ca. 100 mg DPI einwiegen, ca. 25 ml H₂O zufügen, unter Erwärmen auf etwa 60 °C lösen, nach Abkühlen in 50 ml-Messkolben überspülen, auf 50 ml auffüllen, durch Weißbandfilter filtrieren, 10 ml Filtrat, 1 g KJ und 2 ml H₂SO₄ (1 + 6) in 150 ml- Erlenmeyerkolben geben, mit 0,01 M Natrium-thiosulfat bis Farbumschlag gegen Stärkelösung titrieren. Verbrauchte ml x 14,5 = mg Indikator in 100 ml. Restliches Filtrat so verdünnen, dass 100 ml 145 mg Indikator enthalten. Die Lösung ist in randvollen, braunen Flaschen bei +4°C ca. 1 Woche haltbar.

Phosphat-Citrat-Puffer, pH = 4,35: 31,60 g Dinatriumhydrogenphosphat (Na₂HPO₄ x 12 H₂O) und 11,75 g Citronensäure (C₆H₈O₇ x H₂O) in H₂O lösen und auf 1 l verdünnen.

c) Durchführung

4 ml Probe in eine Küvette pipettieren, Rührstäbchen einsetzen, auf 20°C im Tannometer temperieren und 0,100 ml 0,005 M DPI-Lösung zufließen lassen und die Transmission (T) nach Zugabe des Reagenzes 60 sec lang bei 520 nm messen.

d) Berechnung

$$\text{Reduktionsvermögen} = 100 \times (1 - E / E_0)$$

E = Extinktion der Probe

E₀ = Extinktion der Phosphat-Citrat-Puffer

Die so ermittelte, dimensionslose Zahl gibt an, wieviel Prozent der vorgelegten DPI-Menge von 4 ml Probe innerhalb 60 sec reduziert werden.

E₀ ist der Extinktionswert der Referenzlösung aus 0,100 ml jodometrisch eingestellter 0,005 M DPI-Lösung und 4 ml Phosphat-Citratpuffer vom pH = 4,35, welches dem durchschnittlichen Bier-pH entspricht.

d) Beurteilung

>60 sehr gut

50-60 gut

45 - 50 befriedigend

<45 schlecht.

2.2.13 Bestimmung der Trockenmasse

Die Bestimmung der Trockenmasse des untersuchten Materials wurde durch 24 stündiges Trocknen bei 105 °C im Trockenschrank, Abkühlen im Exsiccator und Auswiegen ausgeführt. Die Analyse erfolgte als Doppelbestimmung.

3 Ergebnisse

3.1 PPO

3.1.1 Prüfung der Reaktionsordnung

Die Polyphenoloxidase (PPO)-Aktivität wurde überprüft. Da es sich um eine enzymatische Reaktion handelt, musste geklärt werden, ob sie nullter, erster oder zweiter Ordnung entspricht. Davon ist die Auswertung abhängig.

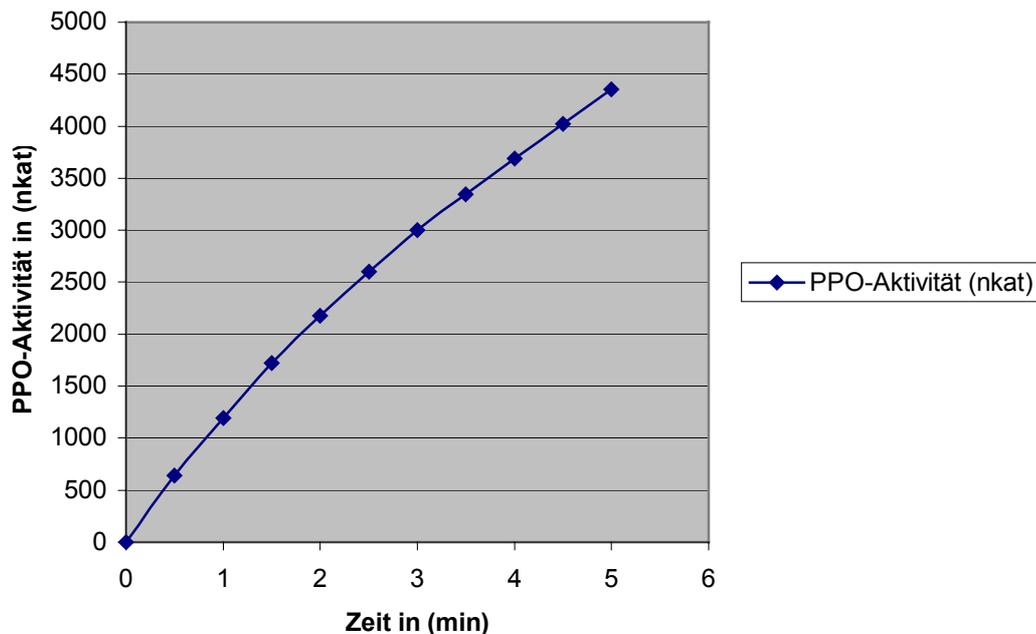


Diagramm 1: Prüfung der Reaktionsordnung von PPO aus den Schalen der Topinambur Sorte Waldspindel bei $\lambda = 470 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$.

Nach den Ergebnissen, dargestellt in Diagramm 1, handelt es sich um eine Reaktion gebrochener Ordnung.

Der zeitliche Extinktionsverlauf der untersuchten Topinambursorten ist in Diagramm 2 dargestellt. Für die Auswertung der Messergebnisse ist das von besonderer Wichtigkeit, da sie im Bereich der nullten Ordnung erfolgen sollen. Dies kann sehr einfach, durch die Vorgabe der Extinktionsänderungen bei bekannten Reaktionen, erfolgen. Vergleicht man die Kurven miteinander, so merkt man, dass sie schneller steigen und abbiegen. Für alle Topinambursorten lassen sich zwei lineare Bereiche mit einem Wendepunkt bei 1,5 min ablesen (Diagramm 2). Deshalb wurde in den vorliegenden Untersuchungen zur Berechnung der PPO-Aktivität die Extinktionswerte nach einer min, wo die Steigerung am größten ist, genommen.

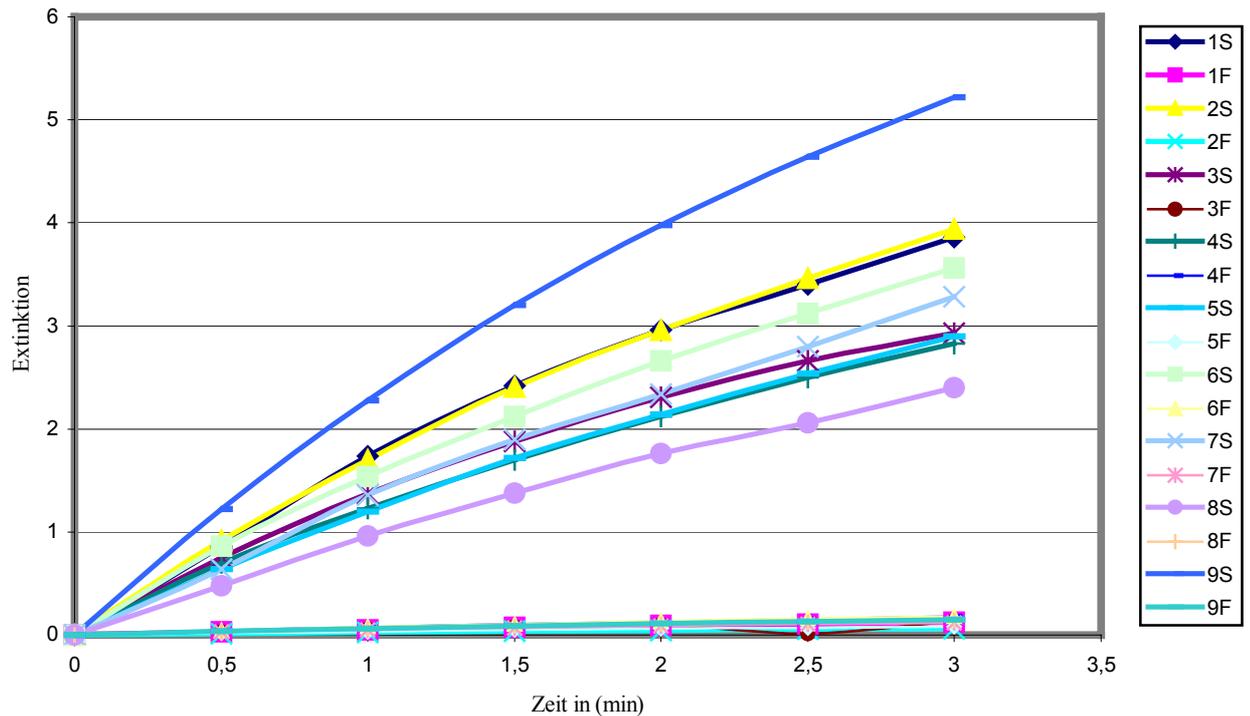


Diagramm 2: Extinktionsverlauf zur Bestimmung der PPO-Aktivität von Topinamburknollen-Schalen (S) bzw. -Fleisch (F) (Ernte Oktober/ Dezember 2000)

1= Waldspindel

2= Gigant

3= Wildacker

4= Petit Blanc

5= Medius Brückmann

6= RoZo

7= Stamm

8= Large White

9= Medius Lindhoop

S= Knollenschalen

F= Knollenfleisch

3.1.2 PPO-Aktivität der Topinambur unterschiedlicher Sorten

Der Enzymgehalt einer Lösung wird im allgemeinen durch die Messung der Enzymaktivität bestimmt. In Diagramm 3 sind die PPO-Aktivitäten der untersuchten Topinambursorten zusammengefasst.

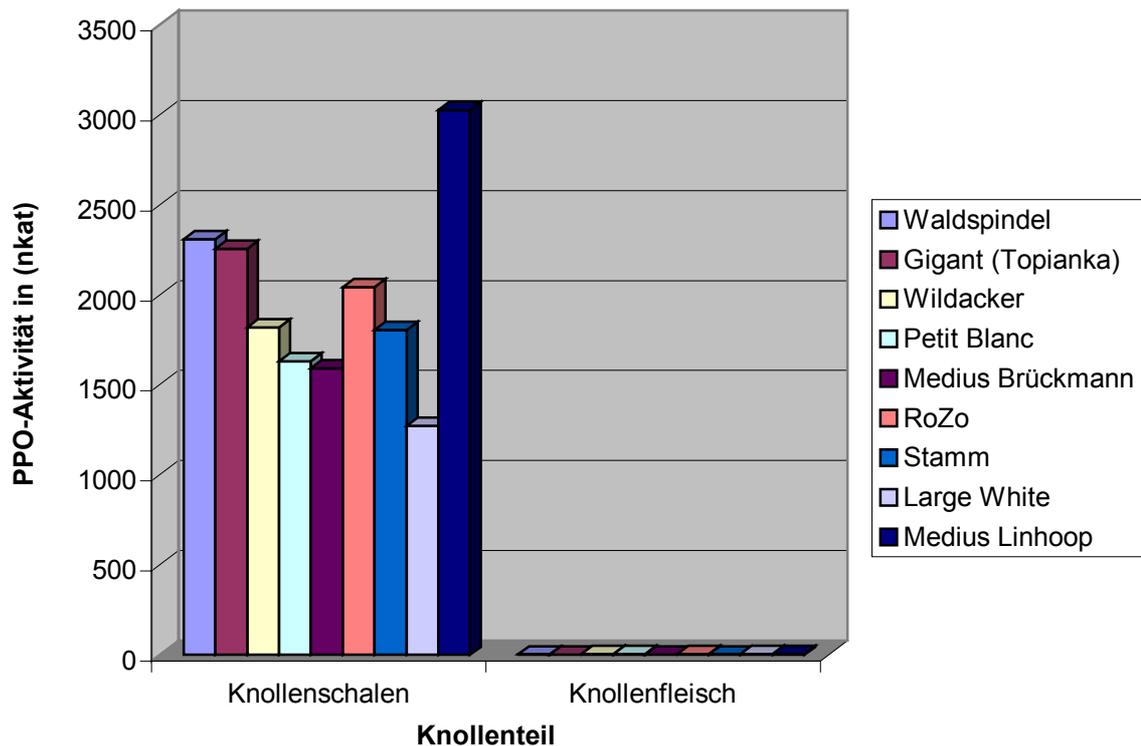


Diagramm 3: Polyphenoloxidase-Aktivität der Topinamburknollenschalen bzw. Knollenfleisch in Abhängigkeit von Sorten (Ernte Oktober/ Dezember 2000)

Die Sorte Medius Lindhoop weist in den Schalen die höchste Enzymaktivität auf (3025,60 nkat), gefolgt von den Sorten Waldspindel (2308,79 nkat), Gigant (2255,78 nkat), RoZo (2043,41 nkat), Wildacker (1817,86 nkat), Stamm (1804,69 nkat), Petit Blanc (1592,32 nkat) und Medius Brückmann (1592,32). Die Sorte Large White weist die geringste Enzymaktivität auf (1273,92 nkat). Die PPO-Aktivität ist für alle Sorten ganz überwiegend in den Knollenschalen zu finden, d.h. durch die Reduzierung oder Entfernung der Schalen kann die Bräunungsreaktion enorm herabgesetzt werden. Es gibt dagegen kaum Enzymaktivität im Fruchtfleisch. Hierbei ist allerdings zu berücksichtigen, dass unterschiedliche Ernten, wie bei allen Naturprodukten, natürlichen Schwankungen unterworfen sind. Die Polyphenoloxidaseaktivität soll während des Wachstums abnehmen (147). In Tabelle 9 ist die Enzymaktivität verschiedener Topinambursorten dargestellt.

Tabelle 9: Polyphenoloxidase-Aktivität verschiedener Topinambursorten

PPO-Aktivität (nkat)							
Knollensorten	Knollenschalen			Knollenfleisch			
	I	II	III (0,2. II)	IV	V	VI (0,8. V)	VII III + VI
Waldspindel	2308,79	2083,7 5	416,75	3,33	3,33	3,33	416,75
Gigant	2255,78	2033,7 4	400,08	1,67	1,5	0,08	400,08
Wildacker	1817,86	1633,6 6	333,40	3,33	3,33	3,33	333,4
Petit Blanc	1592,32	1466,9 6	300,06	5	5	3,33	300,06
Medius Brückmann	1592,32	1433,6 2	283,39	3,33	1,67	1,67	283,39
RoZo	2043,41	1833,7	366,74	5	5	3,33	366,74
Stamm	1804,69	1625,3 3	325,06	3,33	3,33	3,33	333,4
Large White	1273,92	1150,2 3	233,38	3,33	3,33	3,33	233,38
Medius Linhoop	3025,60	2717,2 1	550,11	3,33	3,33	3,33	550,11

I= PPO-Aktivität der Schalen (nkat)

II= PPO-Aktivität nkat /100g Schalen

III= PPO-Aktivität nkat /100g Schalen der Modellknollen (0,2.II)

IV= PPO-Aktivität der Knollenfleisch (nkat)

V= PPO-Aktivität nkat /100g Knollenfleisch

VI= PPO-Aktivität nkat /100g Knollenfleisch der Modellknollen (0,8.V)

VII= PPO-Aktivität nkat /100g Modell ganze Knollen (III + VI)

Eine eigene Modelluntersuchung der Verteilung von Fruchtfleisch und Schalenanteil ergab 80 % Fruchtfleisch und 20 % Schalen. Auf dieser Basis wurde die Gesamtpolyphenoloxidase-Aktivität in den ganzen Topinamburknollen berechnet.

3.1.3 Topinambur-Polyphenoloxidaseaktivität bei unterschiedlichen Temperaturen

Die Topinambur-Polyphenoloxidaseaktivität bei unterschiedlichen Temperaturen ist in Diagramm 4 dargestellt.

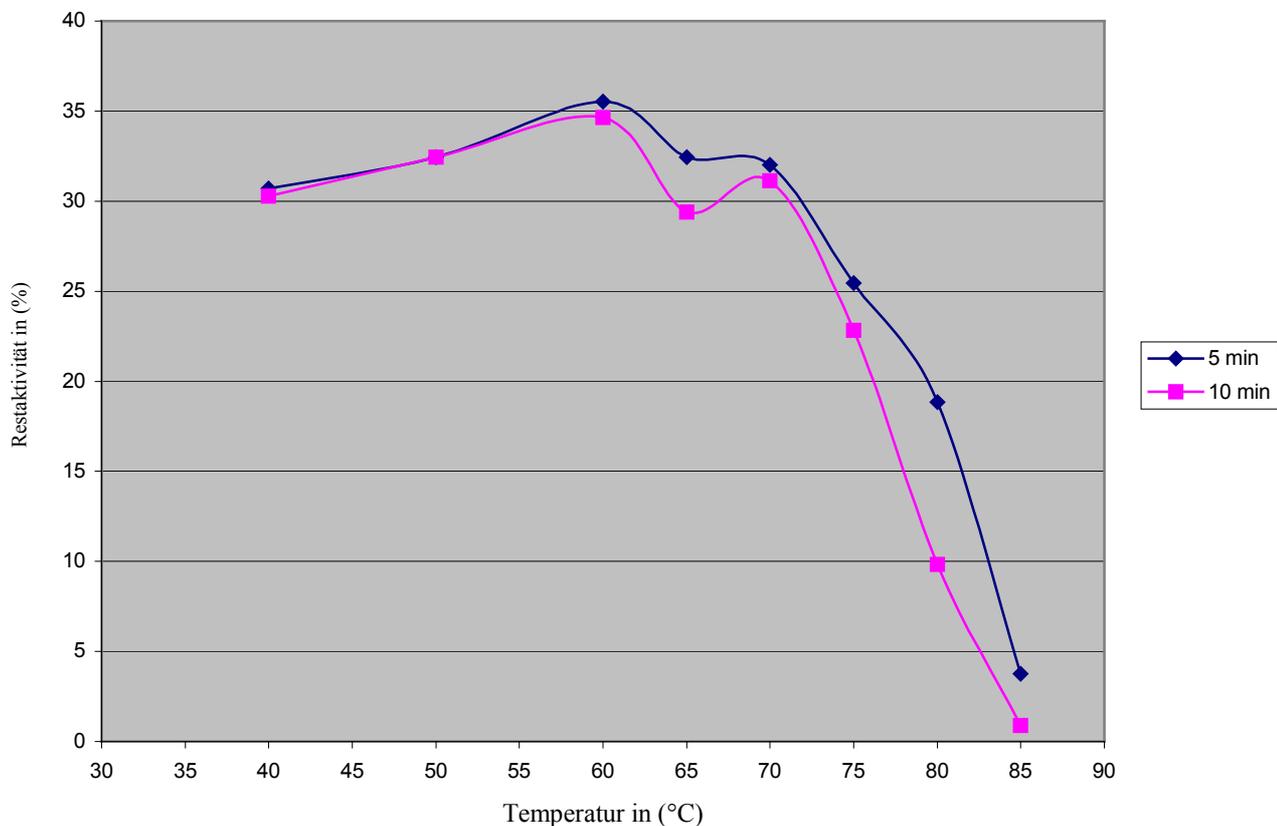


Diagramm 4: Topinambur-Polyphenoloxidase bei unterschiedlichen Temperaturen und bei $\lambda = 470 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$, (Medius Lindhoop).

Wie aus Diagramm 4 hervorgeht, liegt die optimale Enzymaktivität (DOPA als Substrat), welche von den Sorten, Substraten, dem Enzymursprung und der Ernte abhängig ist (142), bei 60 °C. Die optimale Temperatur für Polyphenolesterase der *Aspergillus niger* liegt bei 40 °C. Wenn Chlorogensäure als Substrat verwendet wird, liegt die optimale Temperatur für Polyphenolesterase der *Aspergillus niger* bei 55 °C und zwischen 55 °C und 60 °C, wenn Methylferulasäure als Substrat verwendet wird (142).

3.1.4 Inaktivierung der Topinambur-Polyphenoloxidase durch Temperatur und Zeit

Die Inaktivierung der Topinambur-Polyphenoloxidase durch Temperatur und Zeit ist in den Diagrammen 5 a bis 5 c dargestellt.

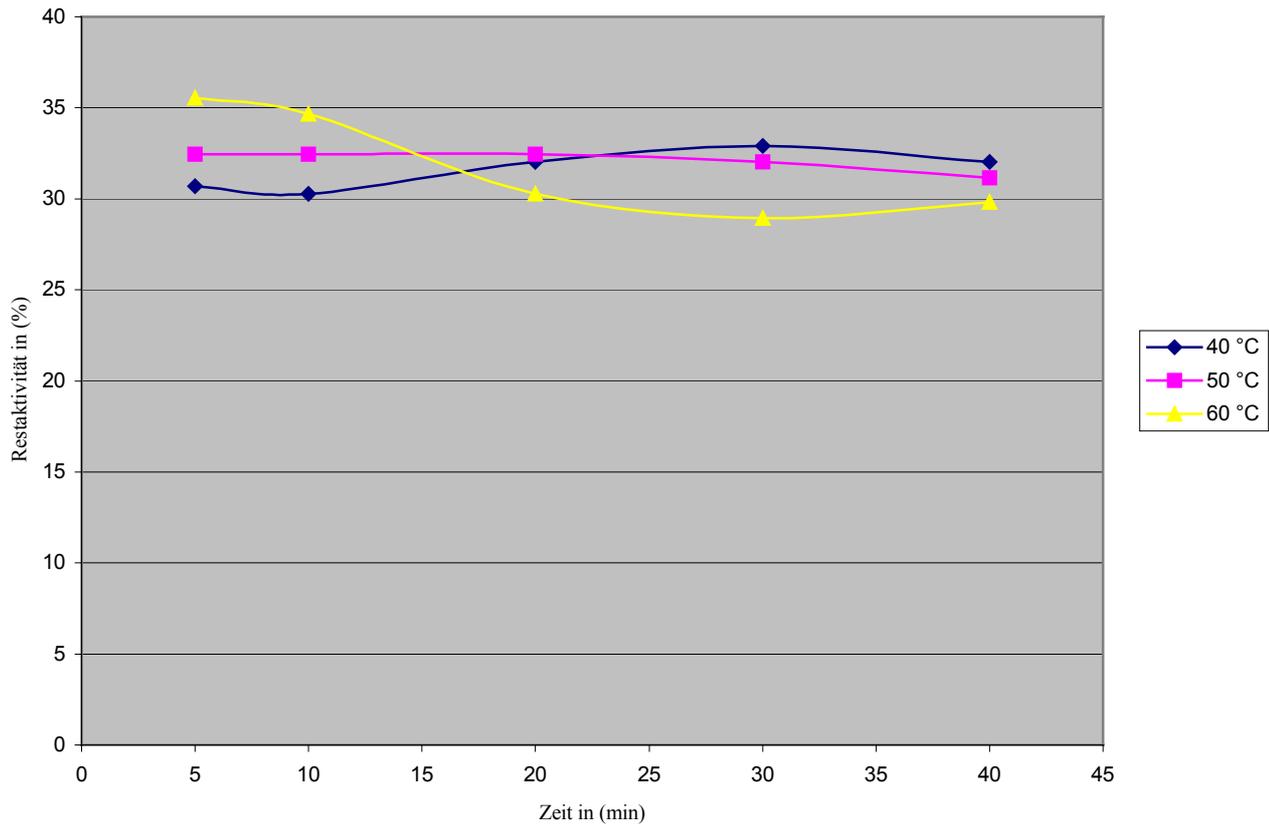


Diagramm 5 a: Inaktivierung der Topinambur-Polyphenoloxidase durch Temperatur und Zeit bei $\lambda = 470 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$, (Medius Lindhoop).

Ab Temperaturen von $80 \text{ }^\circ\text{C}$ ist eine deutliche Inaktivierung der Topinambur-Polyphenoloxidasen zu erreichen. Die Zeit, um Topinambur-PPO vollständig zu inaktivieren, beträgt 10 Minuten bei $85 \text{ }^\circ\text{C}$ und sechs Minuten bei $100 \text{ }^\circ\text{C}$. Polyphenoloxidasen der *Anethum graveolens* L. sind nach einer Stunde bei $80 \text{ }^\circ\text{C}$ vollständig inaktiviert (143). Aus einer spanischen Untersuchung (359) konnte die Polyphenoloxidase in Abwässern einer Olivenölmühle bei Temperaturen von $60 \text{ }^\circ\text{C}$ bis $70 \text{ }^\circ\text{C}$ inaktiviert werden, was von den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit abweicht.

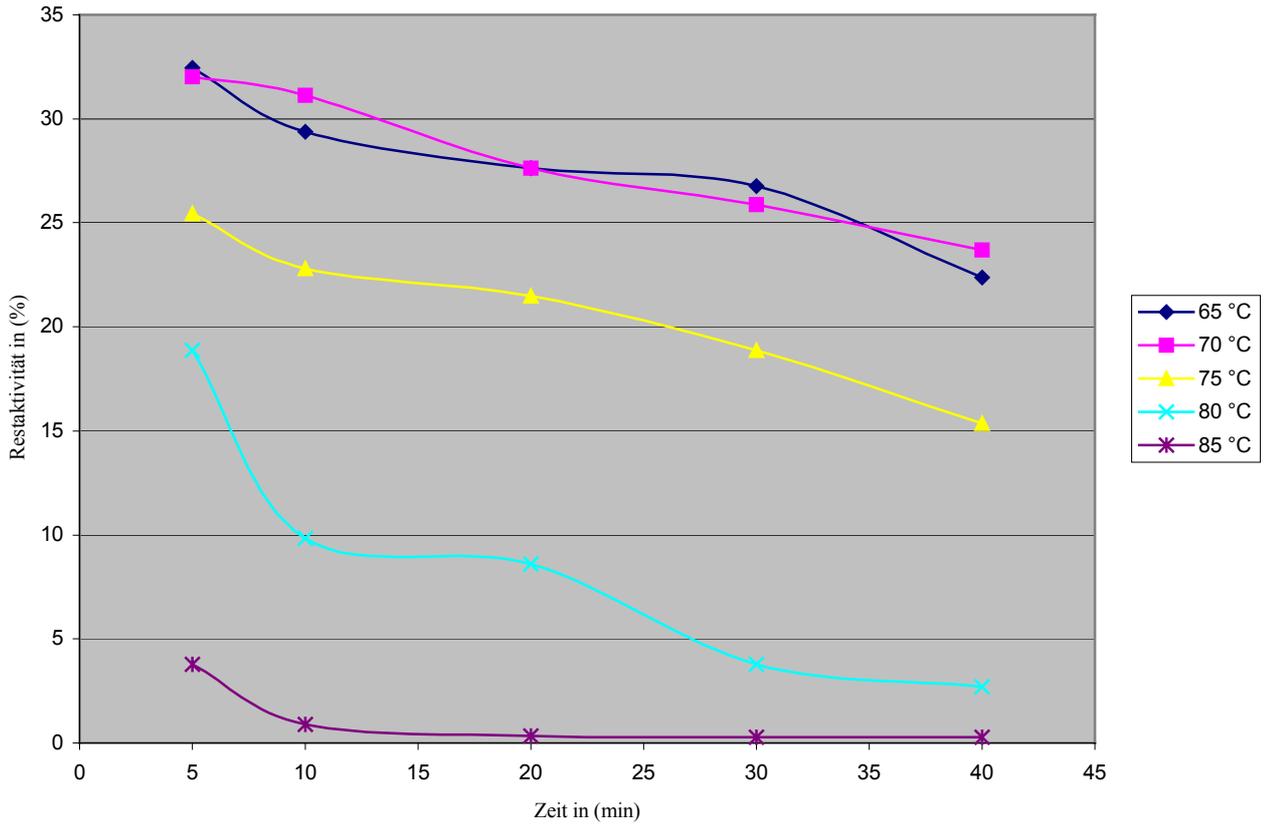


Diagramm 5 b: Inaktivierung der Topinambur-Polyphenoloxidase durch Temperatur und Zeit bei $\lambda = 470 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$, (Medius Lindhoop)

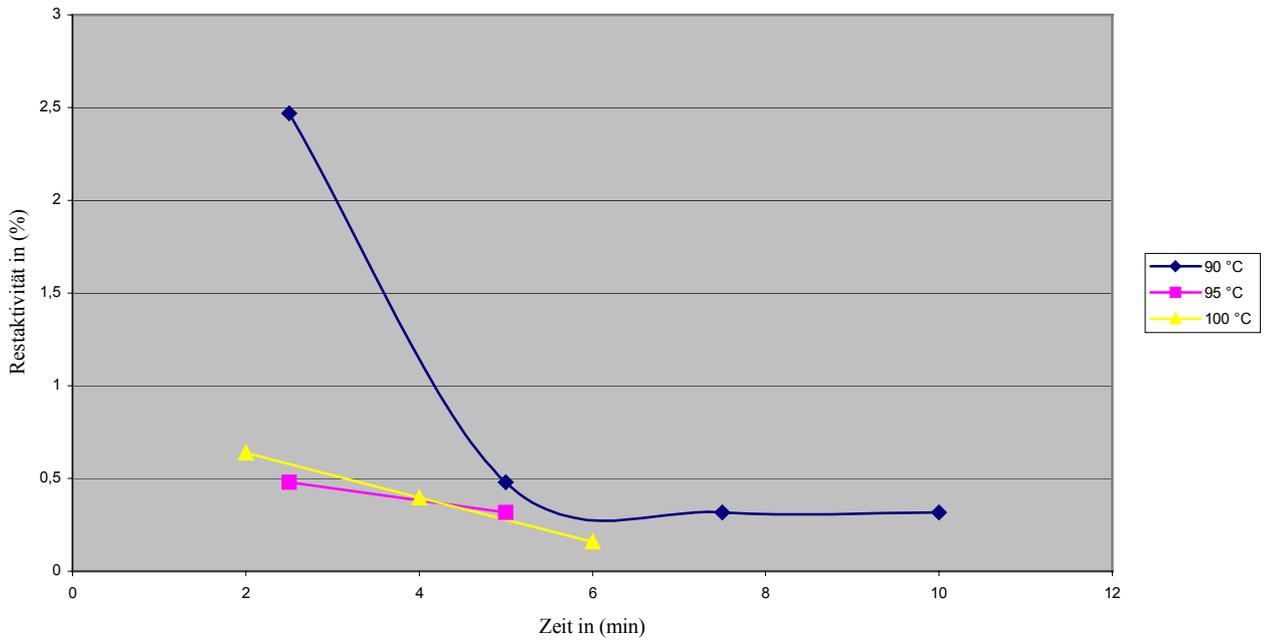


Diagramm 5 c: Inaktivierung der Topinambur-Polyphenoloxidase durch Temperatur und Zeit bei $\lambda = 470 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$, (Medius Lindhoop)

3.1.5 pH-Abhängigkeit der Topinambur-PPO

Die Topinambur-Polyphenoloxidaseaktivität in Abhängigkeit des pH-Wertes ist in Diagramm 6 dargestellt.

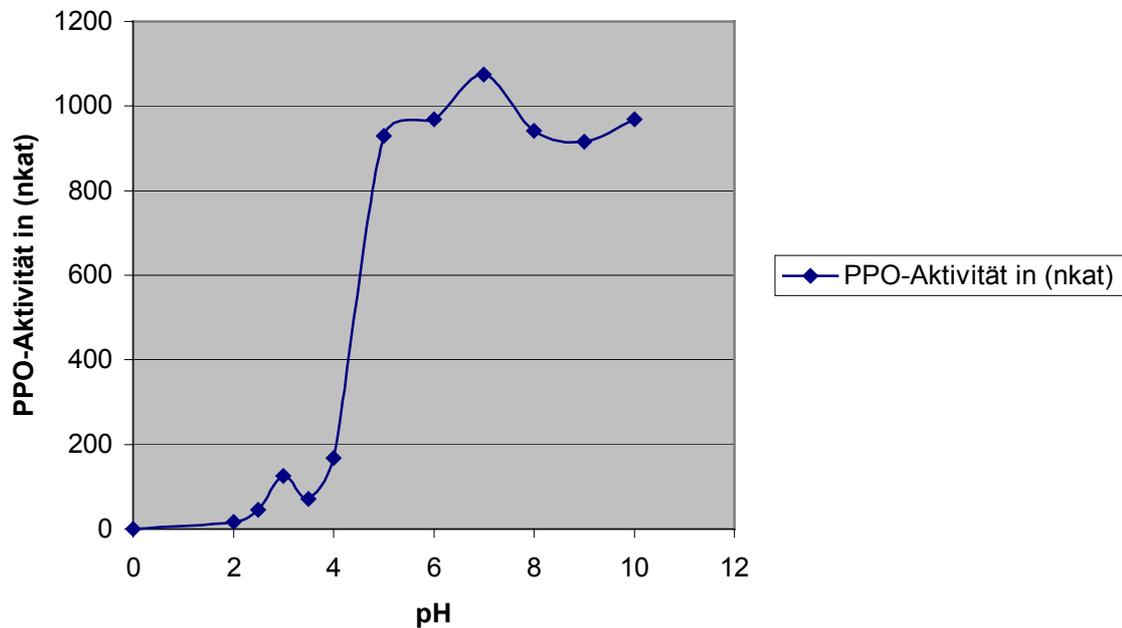


Diagramm 6: pH-Abhängigkeit der Topinambur-PPO bei $\lambda = 470 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$, (Medius Lindhoop)

Aus dem in Diagramm 6 dargestellten Ergebnis kann geschlossen werden, dass der optimale Bereich für Topinambur-PPO bei pH 7 liegt. Ein vergleichbarer optimaler pH-Bereich wurde für Bananen-Polyphenoloxidase (150) und Polyphenoloxidase von *Anethum graveolens* L. (143) gefunden. Das Optimum im Bereich von pH 7 entspricht genau dem Sørensenpuffer und die Messungen finden somit im Bereich optimaler Enzymaktivität statt. Ein weiteres kleineres Optimum im pH-Bereich von 3 deutet auf ein, im sauren Bereich wirkendes, Isoenzym hin. Eine spanische Untersuchung kommt ebenfalls zu solchen Ergebnissen bei Abwässern einer Olivenölmühle (359). Im alkalischen Bereich lässt sich keine Aktivitätshemmung erkennen. Bereiche über pH 10 sind im pflanzlichen Material in der Regel nicht erreichbar. Die Aktivitätsmessungen der Topinambur-Polyphenoloxidase erfolgte auch in pH-Bereichen, die in der Küche und der Industrie realistisch sind, d.h. überhaupt realisiert werden können im Hinblick auf Verarbeitung und Haltbarmachung. Der obere und untere pH-Wert sind dabei allerdings nicht realistisch, sie dienen zur Vervollständigung der Messung. Die völlige Inaktivierung im sauren Bereich ab pH-Werten von unter 2,5 ist ebenfalls kaum erreichbar. Die Polyphenoloxidaseaktivität

nimmt sehr stark im pH-Bereich zwischen 4 und 5 ab, durchaus pH-Werte, die in der Küche üblich sind und z.B. zur Konservierung mit Essig eingesetzt werden.

3.1.6 Topinambur-Polyphenoloxidaseaktivität bei unterschiedlichen Säuren und pH-Werten

Seitdem Bisulfit nicht mehr zur Hemmung der enzymatischen Bräunung zugelassen ist, gewinnt der Bedarf an neuen Naturstoffen, die eine Hemmungseigenschaft gegenüber Polyphenoloxidase aufweisen, immer mehr an Bedeutung. In diesen Zusammenhang wurde die Hemmungseigenschaft von Ascorbinsäure, Zitronensäure und Zitronensaft (frisch gepresst) gegenüber Topinambur-PPO untersucht. Die Topinambur-PPO gegenüber in der Lebensmittelindustrie verwendeten Säuren und die entsprechenden pH-Werte sind in Diagramm 7 dargestellt.

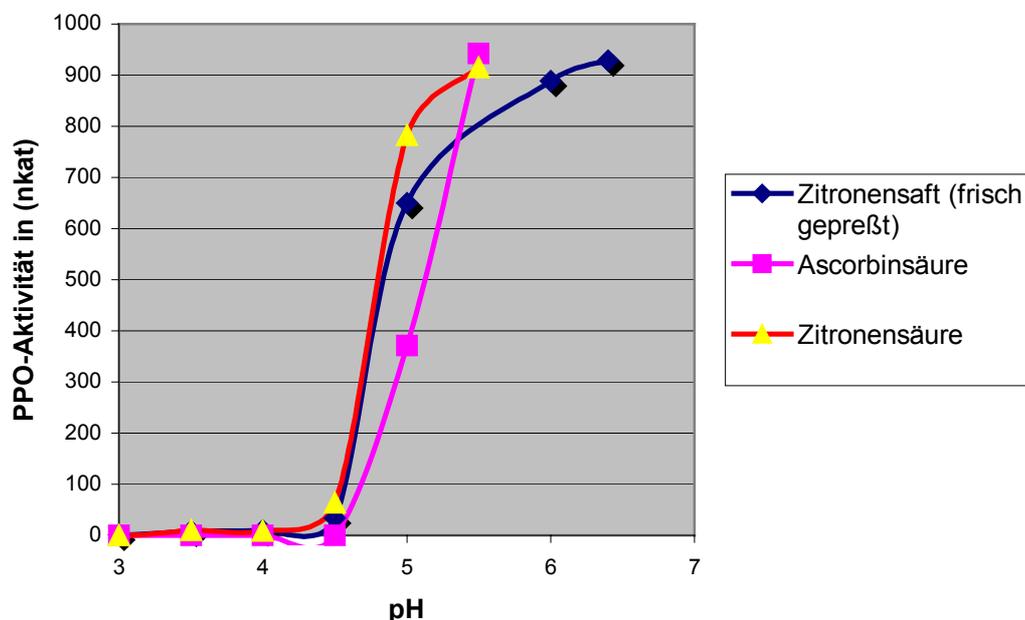


Diagramm 7: Topinambur-PPO gegenüber in der Lebensmittelindustrie verwendeten Säuren und die entsprechenden pH-Werte bei $\lambda = 470 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$, (Medius Lindhoop).

Aus den Ergebnissen in Diagramm 7 ist deutlich zu ersehen, dass bei einem sinkenden pH-Wert von unter 4,5 die Enzymaktivität nachlässt. Besonders die Ascorbinsäure mit ihrer sauerstoffmindernden Wirkung zeigt eine sehr gute Hemmung. Bei einem pH von 4,5 ist mit Ascorbinsäure keine Polyphenoloxidaseaktivität zu messen, mit Zitronensäure eine Restaktivität von 6 Prozent und mit Zitronensaft von 3 Prozent. Bei einem pH von 4 ist für alle getesteten Säuren keine Aktivität mehr vorhanden. Zitronensaft stellt eine ideale Kombination aus Ascorbinsäure und Zitronensäure zur Enzyminaktivierung dar. Zum ei-

nen minimiert die Ascorbinsäure als Antioxidationsmittel die Sauerstoffwirkung und zum anderen senkt die Zitronensäure den pH-Wert ab. Als Naturprodukt ist Zitronensäure auch unbedenklich in der Küche einzusetzen. Sie kommt in Zitronen, eine sehr oft verwendete Frucht, vor.

3.2 Gesamtphenol-Bestimmung

Eine umfassende Arbeit über Polyphenole sowie deren Bestimmungsmethoden in Getränken wurde 1974 veröffentlicht (360). In der Zusammenfassung dieser Arbeit wird eine Analysenmethode zur Bestimmung der Gesamtpolyphenole mit dem Folin Ciocalteu-Reagenz (kurz als FCR bezeichnet) vorgeschlagen. Diese Methode hat sich in den zurückliegenden 40 Jahren sowohl in der Wein als auch in der Fruchtsaftanalytik mit einigen Variationen durchgesetzt und ist allgemein verbreitet.

Der Gesamtphenolgehalt kann, konzentrationsabhängig (ergibt sich aus dem Lambert-Beerschen-Gesetz), mit zwei unterschiedlichen Methoden bestimmt werden: der MEBAK- und der Folin-Ciocalteu-Methode. Die chemische Verschiedenheit der phenolischen Substanzen, deren Zusammensetzung im Obst oder Gemüse und die Wahl einer geeigneten Bezugssubstanz lassen die gemessenen Werte nur bedingt miteinander vergleichen.

3.2.1 Überprüfung der Gesamtphenol-Bestimmungsmethode

Zwei verschiedene Gesamtphenol-Bestimmungsmethoden, und zwar die CMC-(MEBAK)(361) und die Folin-Ciocalteu Phenolreagens-Methode (362, 363, 364) wurden verglichen. In Übereinstimmung mit der Literatur wurde zunächst Gallussäure als Bezugssubstanz verwendet. Bei dem Vergleich wurden darüber hinaus die Konzentration an Gallussäure einerseits und die Wellenlänge bezüglich des Extinktionsmaximums andererseits als Kriterien eingesetzt. Eine Stammlösung, die 500 mg Gallussäure /l enthält, wurde durch Auflösen von 50 mg Gallussäure in 100 ml absolutem Alkohol erstellt. 100 µl; 200 µl; 1 ml und 2 ml der Stammlösung, die 0,05 mg; 0,1 mg; 0,5 mg und 1 mg entsprechen, wurden für jede Methode der Farbreaktion unterworfen und die Extinktionen bei vier verschiedenen Wellenlängen: 550 nm; 600 nm; 720 nm und 760 nm ermittelt. In den Diagrammen 8 und 9 sind die beiden Methoden graphisch dargestellt

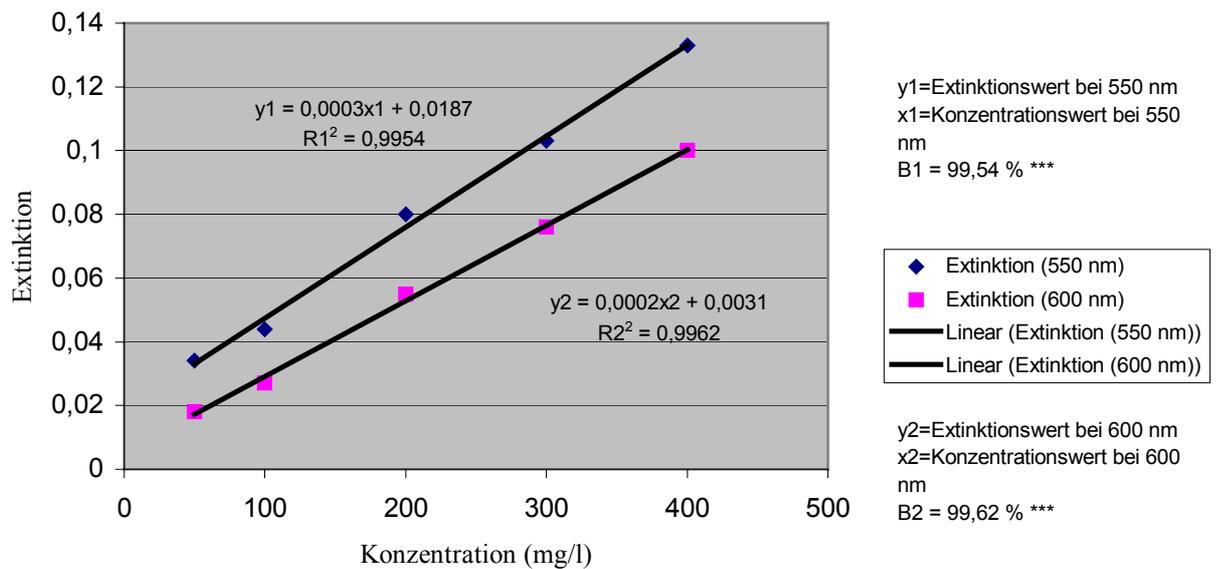


Diagramm 8: Graphische Darstellung Gallussäure-Äquivalenten (GAE) nach MEBAK

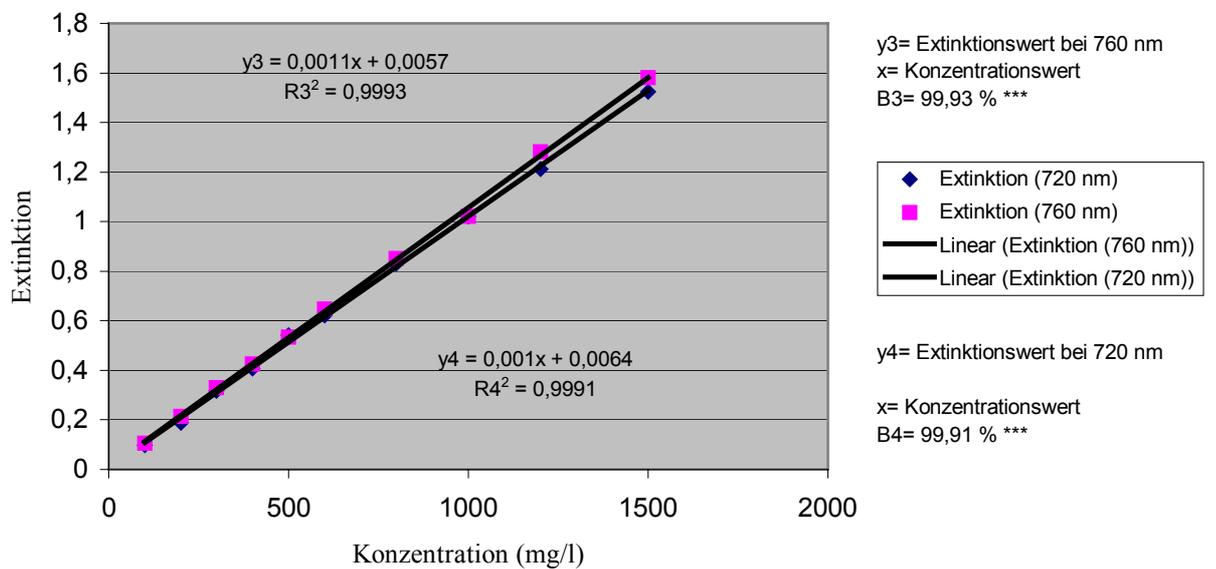


Diagramm 9: Graphische Darstellung Gallussäure-Äquivalenten GAE nach Folin-Ciocalteu

Die Tabelle 10 fasst die Ergebnisse der graphische Darstellung zusammen. Die aufgeführten Analysenwerte wurden durch Mehrfachuntersuchungen abgesichert. Die Schichtdicke $s=1$ cm wurde beibehalten.

Tabelle 10: Zusammenfassung der graphischen Darstellung der MEBAK- und Folin-Ciocalteu-Methode

MEBAK bei $\lambda = 550$ nm, $s = 1$ cm.	MEBAK bei $\lambda = 600$ nm, $s = 1$ cm.	Folin-Ciocalteu bei $\lambda = 720$ nm, $s = 1$ cm.	Folin-Ciocalteu bei $\lambda = 760$ nm, $s = 1$ cm.
y_1 =Extinktionswert bei $\lambda = 550$ nm	y_2 =Extinktionswert bei $\lambda = 600$ nm	y_4 = Extinktionswert bei $\lambda = 720$ nm	y_3 = Extinktionswert bei $\lambda = 760$ nm
x =Konzentrationswert	x =Konzentrationswert	x = Konzentrationswert	x = Konzentrationswert
$B_1 = 99,54$ % ***	$B_2 = 99,62$ % ***	$B_4 = 99,91$ % ***	$B_3 = 99,93$ % ***

Die Tabelle 11 fasst die Ergebnisse dieser Versuche zusammen. Die aufgeführten Analysenwerte wurden durch Mehrfachuntersuchungen abgesichert. Die Schichtdicke $s=1$ cm wurde beibehalten.

Tabelle 11: Überprüfung der Gesamtphenol-Bestimmungsmethoden

Methode	MEBAK							
Wellenlängen, nm	550	550	550	550	600	600	600	600
Gallussäure mg/25 ml	0,05	0,1	0,5	1	0,05	0,1	0,5	1
Extinktion	0,0420	0,053	0,197	0,402	0,018	0,025	0,147	0,316
Methode	Folin-Ciocalteu							
Wellenlängen, nm	720	720	720	720	760	760	760	760
Gallussäure mg/100 ml	0,05	0,1	0,5	1	0,05	0,1	0,5	1
Extinktion	0,055	0,103	0,523	1,013	0,055	0,111	0,544	1,028

Aus den Messergebnissen konnte folgendes geschlossen werden:

Die vorgeschriebene Wellenlänge von 600 nm bei der MEBAK-Methode sollte zur Ausnutzung des Extinktionsmaximums auf 550 nm geändert werden. Aber auch bei der Folin-Ciocalteu-Methode sollte die vorgeschriebene Wellenlänge von 720 nm zur Ausnutzung des Extinktionsmaximums auf 760 nm geändert werden. Die Extinktionsmaxima der gefärbten Lösungen sind für die beiden Methoden mit einer Sicherheit von 99 % dem Gehalt an Gallussäure als Bezugssubstanz proportional.

Die MEBAK-Methode ist empfindlicher als die Folin-Ciocalteu-Methode. Der Messbereich liegt zwischen 50 und 400 mg/l für die MEBAK-Methode und zwischen 100 und 1500 mg/l für die Folin-Ciocalteu-Methode. Bei beiden Messverfahren wird der Schluß gezogen, dass die Gallussäure dem Gesamtphenol summarisch gleichgesetzt ist. Eine Prüfung, ob in dem biologischen Material die Gallussäure in den phenolischen Substanzen die Leitfunktion, d.h. den höchsten Anteil besitzt, wurde allerdings bis heute nicht vorgenommen.

3.2.2 Überprüfung der Farbreaktion bei der Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes nach Folin-Ciocalteu mit Topinambur

Bei dieser Überprüfung wurde die Topinambursorte Stamm verwendet. Ein Knollenschalen-Extrakt, der nach der verbesserten Extraktionsmethode (Schema 4) hergestellt worden war, wurde in 10 Einzelmessungen mit dem Folin-Ciocalteus Phenolreagenz gefärbt und die Extinktionen bei 760 nm ermittelt. Die Proben wurden 1+2 verdünnt. In Tabelle 12 sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen zusammengefasst.

Tabelle 12: Überprüfung der Farbreaktion bei der Bestimmung der Gesamtphenole nach Folin-Ciocalteu mit Topinambur

Probe: Topinamburknollenschalen- Extrakt

Sorte: Stamm : 12 Tage Keimversuch im Labor

TM = 28,07 g/ 100 g Knollenschalen

Kalibrierkurve $y = 0,0007x + 0,0555$ (Chlorogensäure, B= 0,996)

$[\text{g}/100\text{gTrs}] = (0,2 * [\text{g}/\text{l}] * F * 400) / \text{TM} \%$

Probe Nr.	Extinktion	Konzentration (g /l)	Konzentration(g /100 g TM)
1	0,4915	0,62	5,33
2	0,4914	0,62	5,32
3	0,5071	0,65	5,52
4	0,5021	0,64	5,45
5	0,4966	0,63	5,39
6	0,4881	0,62	5,28
7	0,4989	0,63	5,42
8	0,4969	0,63	5,39
9	0,4912	0,62	5,32
10	0,4952	0,63	5,37
MW	0,50	0,63	5,38
STABW	0,01	0,01	0,07
VK %	1,16	1,59	1,31

Mittelwert der Extinktion $E = 0,5$

Abweichung der Messwerte = 0,010

Konzentration der Gesamtphenole im Extraktionsmittel (Verdünnungsfaktor 3 für Methanol) = 0,7 g/l

Konzentration der Gesamtphenole, bezogen auf die TM (g/100 g TM) = 5,38.

Aus diesen Messergebnissen konnte geschlossen werden, dass die Gesamtphenol-Bestimmungsmethode nach Folin-Ciocalteu mit einem Variationskoeffizienten (VK) von 1,31 % reproduzierbar ist.

3.2.3 Überprüfung der Farbstabilität bei der Gesamtphenol-Bestimmung nach Folin-Ciocalteu mit Chlorogensäure als Standard in Abhängigkeit von der Zeit

Die Überprüfung der Farbstabilität ist in Diagramm 10 dargestellt. Der Kurve liegen 5 Messreihen zugrunde. Die Stabilität ist zwischen 90 und 240 min gewährleistet, wobei die Extraktionslösung nach der Farbreaktion bei Raumtemperatur gehalten wurde. Die in der Literatur angegebenen 30 min zwischen dem Farb-Reaktionsansatz und der spektralphotometrischen Messung sind danach nicht haltbar, wenn mit höheren Polyphenol-Konzentrationen gearbeitet wird. Bisher wurde aber auch nicht im Bereich von Polyphenol-Konzentrationen, wie sie in Topinamburschalen vorliegen, bestimmt.

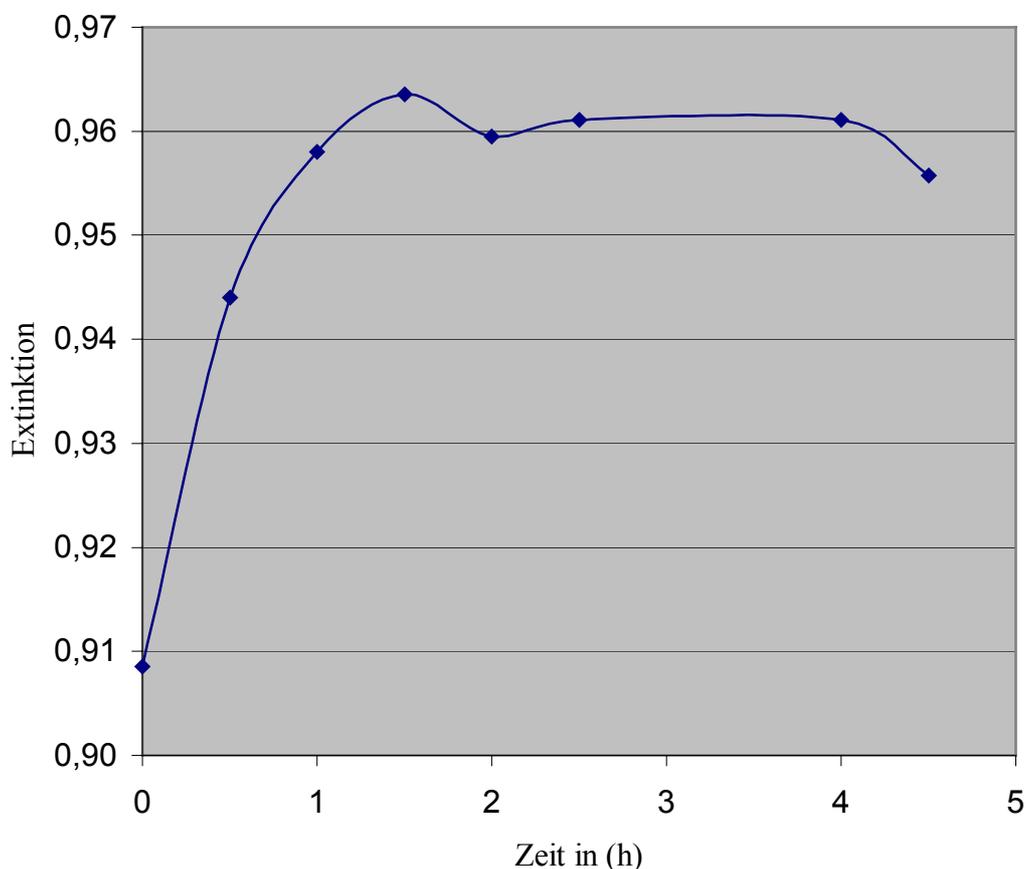


Diagramm 10: Überprüfung der Farbstabilität bei der Gesamtphenol-Bestimmung nach Folin-Ciocalteu, Chlorogensäure als Standard bezogen auf die Reaktionszeit. Durchschnitt aus 5 Messreihe; Chlorogensäure = 1500 mg/l Methanol.

3.2.4 Einfluss der Störungsfaktoren bei der Gesamtphenol-Bestimmung nach Folin-Ciocalteu

In der Arbeit von Möbius und Görtges (360) wird auf Versuche von Joslyn und Mitarbeitern (363, 365) hingewiesen, welche als Störfaktoren für die Bestimmung Eisen(II)-Salze,

Ascorbinsäure, Glukose, Harnstoff und Sulfit beschrieben haben. Diesen Untersuchungen wurde in der Zwischenzeit jedoch wenig Beachtung geschenkt.

In der Arbeit von Scholten und Kacprowski (60) ist eindeutig nachgewiesen worden, dass verschiedene Weininhaltsstoffe die Bestimmung nach Folin-Ciocalteu stören. Diese Störeinflüsse sind bei der Formulierung der verbindlichen EU-Methode in keiner Weise berücksichtigt worden. Als störende Weininhaltsstoffe sind zu nennen: freie und gesamte schweflige Säure, Zucker, Eisen(II)-Ionen, Ascorbinsäure, Nucleinsäure-Fragmente und aromatische Amine.

Aus den Literaturangaben ist zu entnehmen, dass die störenden Effekte von Nucleinsäure-Fragmenten und aromatischen Aminen weitgehend zu vernachlässigen sind. Nach Singleton, zitiert in der Arbeit von Scholten und Kacprowski (60), ergibt

1 mg/l Ascorbinsäure in etwa eine Verfälschung des Ergebnisses für Polyphenole um ca. 1 mg/l. Hieraus folgt, dass der Gehalt an Ascorbinsäure separat ermittelt und bei der Bestimmung des Polyphenolgehaltes berücksichtigt werden muss, wenn die Probe einen höheren Anteil an Ascorbinsäure aufweist. Die Beeinflussung des Polyphenolgehaltes durch Zucker ist für die im Wein vorkommenden Zucker Fruktose und Glukose unterschiedlich und wird von Donko und Phiniotis, zitiert in der Arbeit von Scholten und Kacprowski (60), mit ca. 3 % bei einem mittleren Zuckergehalt von 1-2,5 % beschrieben. Diese 3 % sind von dem analytisch ermittelten Polyphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu abzuziehen. In der Literatur wird bis heute keine Methode zur Eliminierung der Beeinflussung durch Zucker beschrieben. Im Gegensatz zu Donko und Phiniotis sowie Singleton hält Schneider, zitiert in der Arbeit von Scholten und Kacprowski (60), den Einfluß von Hexosen auf das Analysenergebnis nach Folin-Ciocalteu in Most und Wein für nicht signifikant. Nach Singleton steigt der Einfluß der Zucker auf die Folin-Ciocalteu-Reaktion mit zunehmender Temperatur und steigender Phenolkonzentration an. Hohe Zuckergehalte verstärken auch zusätzlich den Störeffekt der schwefligen Säure. Eigene Untersuchungen haben gezeigt, dass Hexosen nicht das Folin-Ciocalteu -Phenolreagenz reduzieren (keine blaue Farbe). Der störende Effekt der schwefligen Säure ist unter den genannten Störparametern eindeutig der wichtigste. Nach Erfahrungen von Scholten und Kacprowski kann der im Wein üblicherweise vorhandene Gehalt an schwefliger Säure das Messergebnis der Folin-Ciocalteu-Bestimmung in Weißweinen um bis zu 100 mg/l zu höheren Werten hin verschieben. In Rotweinen kann dieser Effekt noch größer sein. Aus diesem Grunde ist es sehr bedauerlich, dass bei der Formulierung der EU-Bestimmungsmethode dieser Einfluss nicht berücksichtigt worden ist. Da der SO₂-Gehalt in Weinen zwischen 50 und 400 mg/l variieren kann, ist das Ausmaß der Störung nicht abschätzbar. Ein linearer Zusammenhang zwi-

schen SO₂-Gehalt und Größe des Störeffekts ist bisher nicht erkennbar. Die Bestimmung der Polyphenole nach Folin-Ciocalteu ohne Berücksichtigung von SO₂ kann insbesondere für die Beurteilung eines Sekt-Grundweines zu falschen Ergebnissen führen. Hierdurch können Weine ungerechtfertigterweise von der Versektung ausgeschlossen werden. In der Anwendung auf Topinambur wurden vier der in Frage kommenden Störfaktoren überprüft:

1. SO₂-Gehalt,
2. Ascorbinsäuregehalt,
3. aromatische Aminosäuregehalt und
4. Eisen(II)-Gehalt.

Eine Modelllösung, die je 1g/l Catechin, Chlorogensäure, p-Cumarsäure, Epicatechin, Ferulasäure, Gallussäure, 4-Hydroxybenzoesäure, Kaffeesäure und Vanillinsäure enthält, wurde hergestellt. Eine Verdünnung (100 mg/l) dieser Modelllösung wurde mit steigenden Mengen des zu prüfenden Störfaktors versetzt und die Extinktionen nach Folin-Ciocalteu ermittelt. Die Extinktion der Modelllösung ohne Zusatz des Störfaktors diene als Referenz. Die Differenz zwischen der gemessenen Extinktion und der Referenzextinktion entspricht dann der „Störfaktorextinktion“.

3.2.4.1 Einwirkung der freien SO₂ bei der Gesamtphenol-Bestimmung nach Folin-Ciocalteu

Es wurde eine Stammlösung mit 1g/l Na-Disulfit hergestellt.

ml der Phenol-Modelllösung wurden mit 2,5; 5; 10; 20; 30 und 40 ml der Stammlösung in einen 50 ml Meßkolben versetzt und bis zur Marke mit dest. Wasser aufgefüllt. Die entsprechenden Mengen an freiem SO₂ wurden berechnet. Sie hatten 37,90; 75,58; 151,63; 303,25; 450,88 und 606,5 mg/l betragen. Nach 24 Stunden Standzeit wurden die Extinktionen bei $s=1$ cm und $\lambda=760$ nm gemessen.

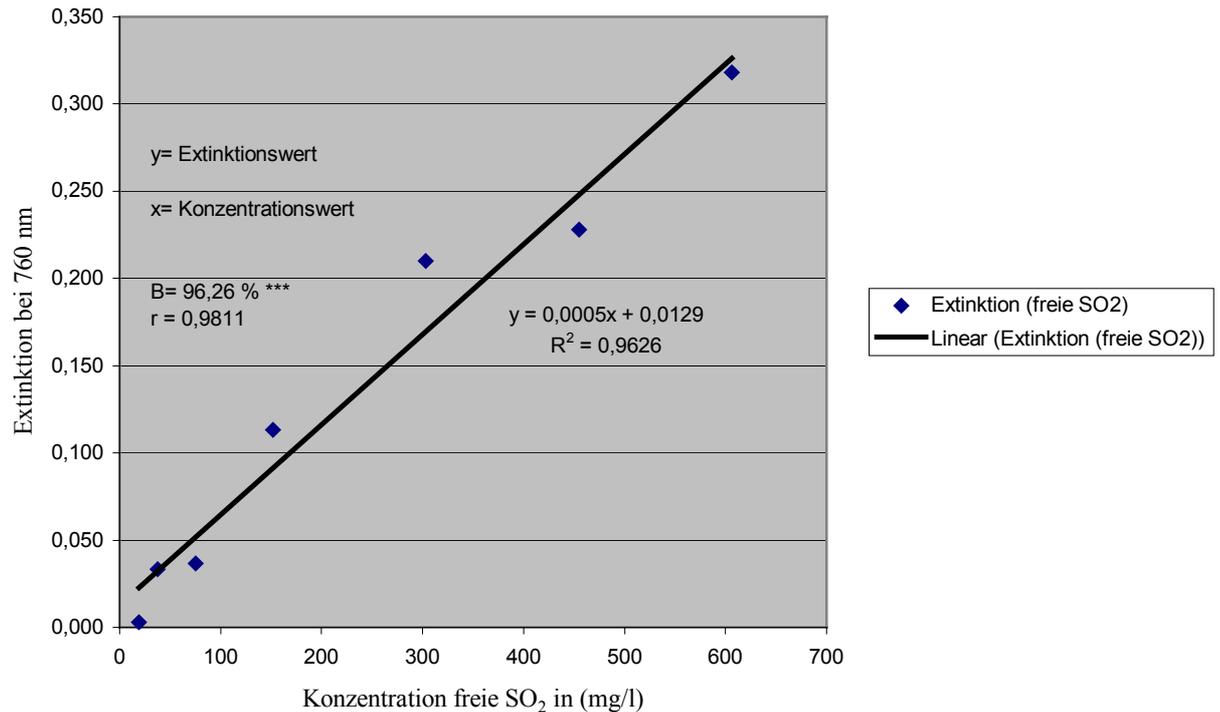


Diagramm 11: Graphische Darstellung: freie SO₂ in Polyphenol-Modelllösung, $\lambda=760$ nm, $s = 1$ cm, gefärbt nach Folin-Ciocalteu

Die Messwerte in Diagramm 11 zeigen, dass mit steigenden SO₂-Mengen auch die Extinktions- bzw. die als „Polyphenolwerte“ angesehenen Konzentrationen ansteigen. Eine lineare Regressionsgerade wurde ermittelt. In Diagramm 11 ist deutlich zu sehen, dass die Veränderungen von y zu 96 % durch die Veränderungen von x erklärbar sind. Anhand der in Diagramm 11 gegebenen Gleichung kann ein Korrekturfaktor für freies SO₂ berechnet werden. In der hier angewandten Extraktionsmethode wurden 250 mg/l Na-Disulfit eingesetzt, was 189,5 mg freiem SO₂/l entspricht. Diese Konzentration an freiem SO₂ ergibt 0,1 Extinktionseinheiten, die von den Ergebnissen abgezogen werden müssen. Das heißt, dass der ermittelte Polyphenolgehalt durch freies SO₂ um 14 % erhöht ist. Nach der Arbeit von Görtges (365) verändern sich die gemessenen Polyphenolgehalte bereits sehr deutlich in den Bereichen, wo üblicherweise noch eine Schwefelung erfolgt, z. B. 34 mg freies SO₂, ergibt eine Polyphenolerhöhung um 28%. Die Veränderung der Gesamt-SO₂-Werte wurde bei diesen Untersuchungen leider nicht berücksichtigt. Wie aus einer Pressemitteilung über die letzte Zusammenkunft des Internationalen Weinchemischen Kolloquiums in Wädenswil hervorgeht, wird für Wein ein Gesamtpolyphenolgehalt zwischen 150-300 mg/l als optimal bezeichnet. Im Fruchtsaftbereich ist der Polyphenolgehalt insbesondere durch Änderungen der Saftgewinnungsverfahren in den Mittelpunkt gerückt. Hier treten bei Direktextraktion deutlich höhere Gesamtpolyphenolgehalte auf, als sie bisher bei Säften gemess-

sen wurden. Wenn für Wein oder Fruchtsäfte nun wertbestimmende Polyphenolwerte vorgeschlagen werden, so ist es angebracht, nochmals die anderen störenden Faktoren zu kontrollieren bzw. sie unbedingt in der quantitativen Aussage zu berücksichtigen. Für Vergleichsuntersuchungen ist die Analysenmethode exakt zu definieren. Für die Erstellung der Kalibrierkurve ist eine einheitliche Bezugssubstanz festzulegen. Eventuelle Störfaktoren müssen berücksichtigt werden.

3.2.4.2 Einwirkung der Ascorbinsäure bei der Gesamtphenol-Bestimmung nach Folin-Ciocalteu

Der Einfluss von Ascorbinsäure (Vitamin C) wurde in der vorliegenden Arbeit zuerst an der beschriebenen Polyphenol-Modelllösung überprüft. Eine Stammlösung mit 1 g Ascorbinsäure/l wurde hergestellt. 5 ml der Modelllösung wurden mit 1; 2; 3; 4; 5 und 6 ml der Stammlösung (Ascorbinsäure) in einen 50 ml Messkolben pipettiert und bis zur Marke aufgefüllt, was einer Ascorbinsäure-Konzentration von 20 bis 120 mg/l entspricht. Die Messwerte in Diagramm 12 zeigen, dass mit steigenden Ascorbinsäure-Mengen auch die Extinktions- bzw. daraus abgeleitete „Polyphenolwerte“ ansteigen. Eine lineare Regressionsgerade wurde ermittelt. Aus Diagramm 9 ist deutlich zu ersehen, dass die Veränderungen von Extinktionen (y) zu 96 % durch Veränderungen von Ascorbinsäure-Konzentration (x) erklärbar sind. Anhand der in Diagramm 12 errechneten Gleichung kann ein Korrekturfaktor für Ascorbinsäure berechnet werden. Topinamburknollen enthalten etwa nur 4 mg Ascorbinsäure/100 g Knollen. Deshalb sind in dieser Arbeit die störenden Effekte von Ascorbinsäure zu vernachlässigen. In der Literatur wird an vielen Stellen darauf hingewiesen, dass die Zugabe von 1 mg Ascorbinsäure/l Wein in etwa einer Verfälschung des Ergebnisses für Polyphenole um ca. 1 mg Polyphenol/l (365) beträgt. Weitere Versuche an Apfelsaft haben eine geringere Beeinflussungen, und zwar 0,5 mg Polyphenol/1 mg Ascorbinsäure, gezeigt (365). In der Praxis wird empfohlen dem Saft 1 % Ascorbinsäure als Antioxidans zuzusetzen. Tabelle 13 zeigt die Gesamtphenol-Bestimmung eines Topinambursafte (aus Konzentrat rückverdünnt) mit oder ohne Zusatz von Ascorbinsäure.

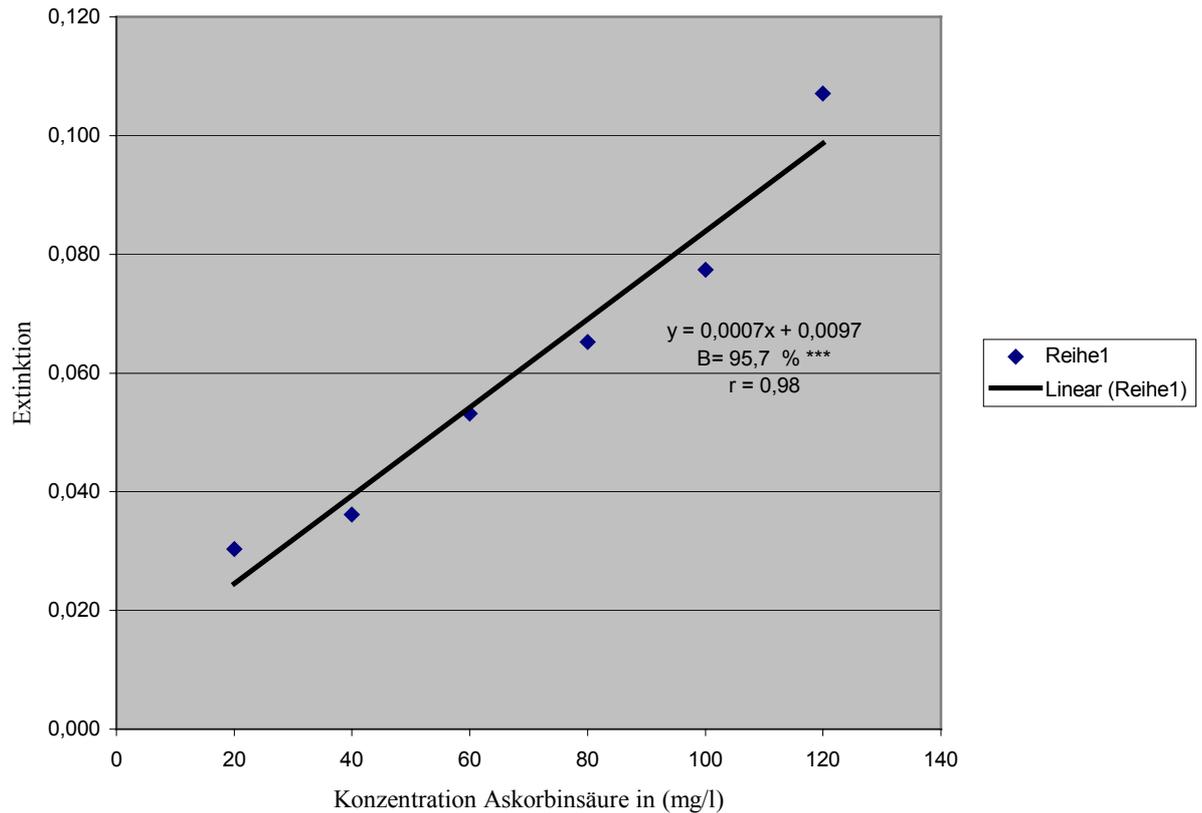


Diagramm 12: Graphische Darstellung: Ascorbinsäure in Polyphenol-Modelllösung, $\lambda = 760 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$, gefärbt nach Folin-Ciocalteu.

Tabelle 13: Gesamtphenole des Topinambursafte (aus Konzentrat) nach Folin-Ciocalteu

Topinambursaft	Extrakt (%)	pH	Gesamtphenole (mg/l)
Ohne Ascorbinsäure	14	4,94	506
Mit 1% Ascorbinsäure	15,4	4,20	2879

Aus der Tabelle 13 ist deutlich zu ersehen, dass die Zugabe von 1% Ascorbinsäure in der Analyse 569 % Polyphenol mehr anzeigt. Diese Erhöhung sollte nicht mehr als Störung bezeichnet werden. Es ist als Folge der Reduktion von oxidierten Polyphenolen durch Ascorbinsäure anzusehen.

3.2.4.3 Einwirkung von Aminosäuren bei der Gesamtphenol-Bestimmung nach Folin-Ciocalteu

Der Einfluss von aromatischen Aminosäuren wurden an der beschriebenen Polyphenol-Modelllösung überprüft. Eine Stammlösung mit Glutathion, Phenylalanin, Tryptophan und Tyrosin, je 1 g /l, wurde hergestellt. 5 ml der Modelllösung wurden mit 1; 2; 3; 4; 5 und 6 ml der Stammlösung (Aminosäure) in einen 50 ml Messkolben pipettiert und bis zur Mar-

ke aufgefüllt, was einer Aminosäure-Konzentration von 80 bis 480 mg/l entspricht. Die Messwerte in Diagramm 13 zeigen, dass mit steigender Aminosäure-Konzentration auch die Extinktions- bzw. „Polyphenolwerte“ ansteigen. Eine lineare Regressionsgerade wurde ermittelt. In Diagramm 13 ist deutlich zu ersehen, dass die Veränderungen von (y) zu 96 % durch die Veränderungen von (x) erklärbar sind. Mit der in Diagramm 13 angegebenen Gleichung kann der Korrekturfaktor für Aminosäuren berechnet werden.

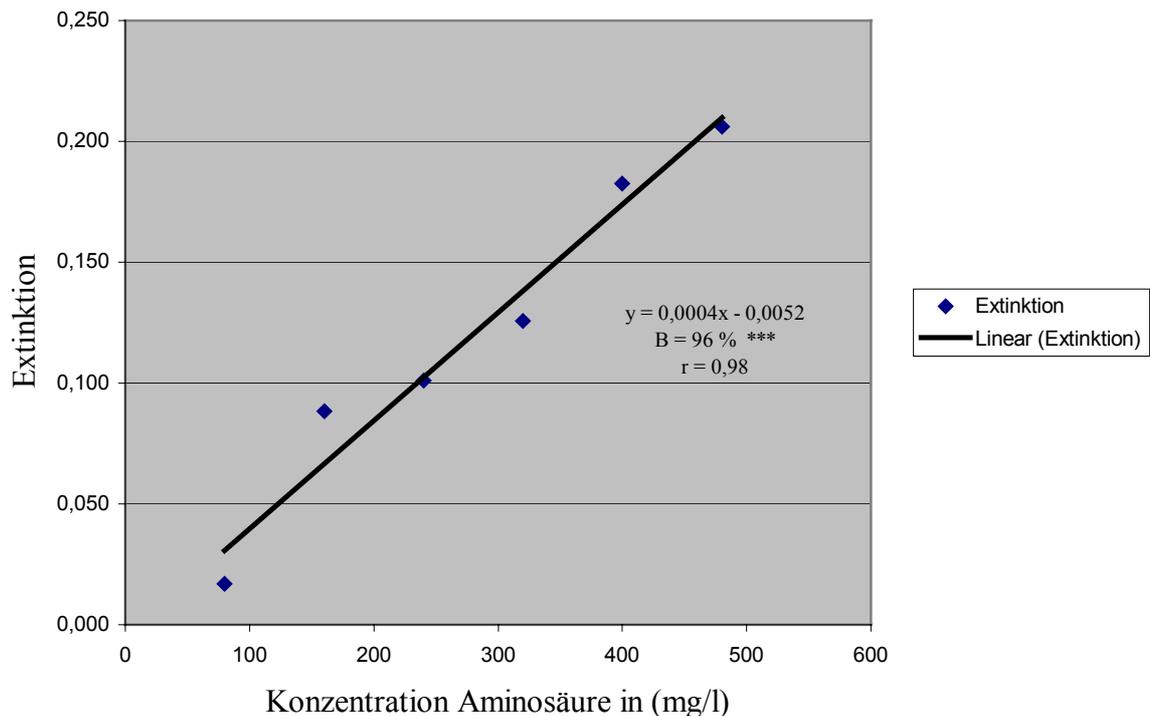


Diagramm 13: Graphische Darstellung: Aminosäuren in Polyphenol-Modelllösung, $\lambda=760$ nm, $s = 1$ cm, gefärbt nach Folin-Ciocalteu.

Angaben über Aminosäuren in Topinambur sind in der Fachliteratur nur selten veröffentlicht. Der Topinambursaft (TopinaVit) weist nach Angeli und Bärwald (166) mit einem Formolwert von 36 ml 0,1 m NaOH pro 100 ml einem sehr hohen Gehalt an Aminosäuren auf, der sich im Vergleich zum Grapefruitsaft innerhalb der Höchstwerte bewegt; er liegt sehr viel höher als bei Orangen- oder Apfelsaft gefunden wird. Der Eiweißgehalt beträgt nach Bärwald (174) für lufttrockene Knollen durchschnittlich 2,4 %, wobei die Grenzwerte bei 1,9 % bzw. 3,2 % liegen. Nach Untersuchungen besteht bei der Hydrolyse des Eiweißes die Hälfte der Aminosäuren aus den essentiellen, wobei der Lysingehalt an zweiter Stelle rangiert. Tabelle 14 stellt die prozentuale Verteilung der essentiellen Aminosäuren im Topinambur-Reineiweiß dar.

Tabelle 14: Prozentuale Verteilung der essentiellen Aminosäuren im Topinambur-Reineiweiß

Aminosäure-Bezeichnung	Aminosäure in % Reineiweiß
Leucin	17,3
Lysin	14,6
Valin	14,2
Isoleucin	11,8
Threonin	11,6
Arginin	11,4
Phenylalanin	11,0
Histidin	4,2
Methionin	3,2

3.2.4.4 Einwirkung der Eisen (II)-Ionen bei der Gesamtphenol-Bestimmung nach Folin-Ciocalteu

Im Falle der Störung durch Eisen(II)-Ionen ist das Verhältnis von Fe(II) zu Fe(III) zu berücksichtigen. Der Einfluss von Eisen(II) wurde an der beschriebenen Polyphenol-Modelllösung überprüft. Eine Stammlösung mit 1g Fe /l wurde hergestellt durch auflösen von 0,5 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ in Methanol / 100 ml. Damit wurde ein reduktiver wirkendes Milieu, das Fe (II) enthält, geschaffen. 5 ml der Modelllösung wurden mit 1; 2; 3; 4; 5 und 6 ml der Stammlösung (Fe) in einen 50 ml Messkolben pipettiert und bis Marke aufgefüllt, was einer Fe-Konzentration von 20 bis 120 mg/l entspricht. Die Messwerte in Diagramm 14 zeigen, dass mit steigenden Fe(II)-Ionen auch die Extinktions- bzw. „Polyphenolwerte“ ansteigen. Eine lineare Regressionsgerade wurde ermittelt. Aus Diagramm 14 ist deutlich zu ersehen, dass die Extinktionsveränderungen zu 99 % durch die Veränderungen der Fe(II)-Konzentration erklärbar sind. Anhand der in Diagramm 14 gegebenen Gleichung kann der Korrekturfaktor für Eisen (II) berechnet werden.

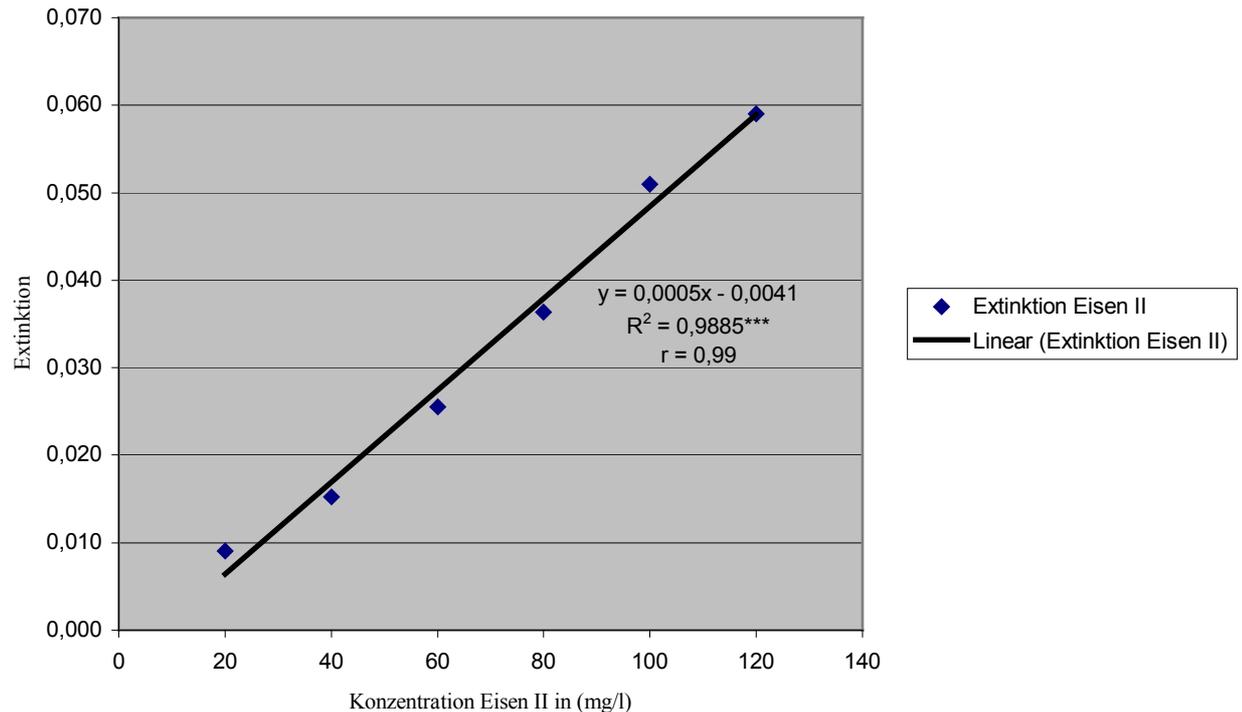


Diagramm 14: Graphische Darstellung Eisen (II) in Polyphenol-Modelllösung nach Folin-Ciocalteu bei $\lambda=760$ nm, $s = 1$ cm gemessen.

Im Rahmen des Weinausbaus wird der Eisengehalt durch oenologische Maßnahmen zur Prophylaxe von Trübungen auf max. ca. 5 - 6 mg/l reduziert (75). In diesen Konzentrationen ist die Beeinflussung der Folin-Ciocalteu-Reaktion vernachlässigbar.

Da die Topinamburknollen 3,7 mg Eisen/100 g Knollen enthalten, ist in der vorliegenden Arbeit der Störeffekt von Eisen(II) zu vernachlässigen. Wie aus diesen Untersuchungsergebnissen hervorgeht, dürfen die Störeinflüsse von SO_2 keinesfalls außer Acht gelassen werden. Die Überprüfung auf weitere Störfaktoren ist dann unumgänglich, wenn sich solche herausstellen lassen.

Die Gegenüberstellung der Störung durch freie SO_2 , Ascorbinsäure, Eisen(II)-Ionen und Aminosäure bei der Bestimmung der Polyphenole nach Folin-Ciocalteu ist in Tabelle 15 dargestellt.

Tabelle 15: Bestimmung der Polyphenole nach Folin-Ciocalteu: Gegenüberstellung der Störung durch freie SO₂, Ascorbinsäure, Eisen(II)-Ionen und Aminosäure

Konzentration (mg/l)	freie SO ₂	Ascorbinsäure	Eisen II	Aminosäure
	Extinktionen			
18,95	0,003			
20		0,030	0,009	
37,9	0,0334			
40		0,036	0,015	
60		0,053	0,026	
75,58	0,04			
80		0,065	0,036	0,017
100		0,077	0,051	
120		0,107	0,059	
151,63	0,12			
160				0,088
240				0,101
303,25	0,21			
320				0,126
400				0,183
454,88	0,23			
480				0,206
606,5	0,32			

Die Ergebnisse zeigen deutlich (Tabelle 15), dass die Extinktions- bzw. die als „Polyphenolwerte“ angesehenen Konzentrationen für Aminosäure und Eisen II geringer als bei SO₂ und Ascorbinsäure sind. Die Störung liegt innerhalb der Messungenauigkeit. Deshalb sind in dieser Arbeit die störenden Effekte durch Aminosäuren zu vernachlässigen.

3.2.5 Überprüfung der Gesamtphenol-Extraktionsmethode nach Paupardin

Die MEBAK- und Folin-Ciocalteu-Methoden wurden verwendet zur Überprüfung der Polyphenol-Extraktionsmethode von Paupardin (138). Dieser Forscher hat die Topinambur-Knollen zum Keimen gebracht und deren Polyphenolgehalte qualitativ mittels Papier-

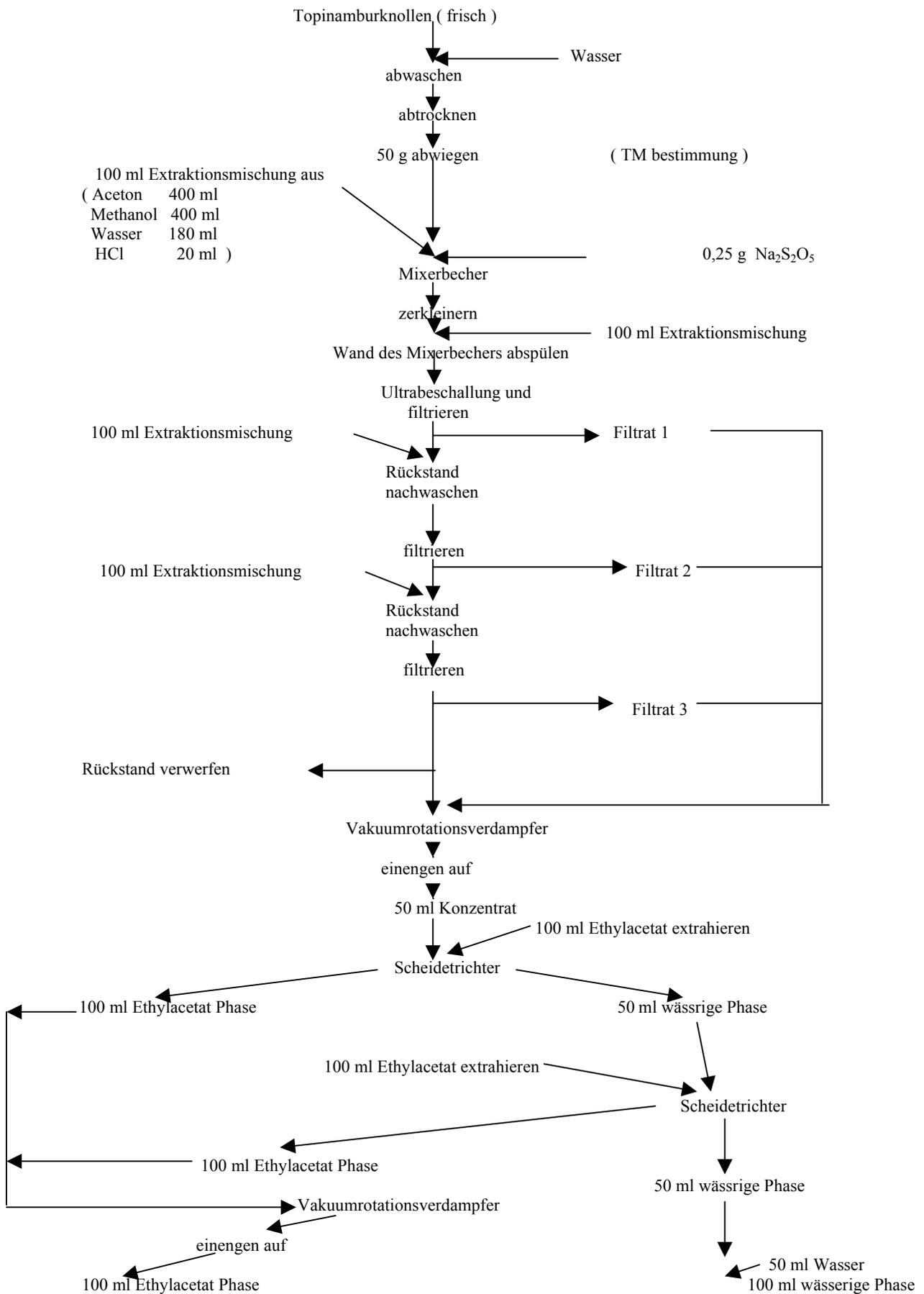
chromatographie nach 6, 8, 12 und 40 Tagen Keimung beobachtet. Schema 3 zeigt das Fließdiagramm welches den Arbeitsgang von Paupardin darstellt.

Von den gewaschenen und abgetrockneten Topinamburknollen werden etwa 50 g abgewogen und in einem Mixer mit 100 ml Extraktionsmittel 5 min lang zerkleinert. Mit weiteren 100 ml Extraktionsmittel wird die Wand des Mixerbechers abgespült. Im Mixerbecher wird das zerkleinerte Gewebe 10 min lang im Ultraschallbad bei 80°C behandelt. Anschließend wird die Mischung filtriert und der Rückstand zweimal mittels 100 ml Extraktionsmittel nachgewaschen. Das gesamte Filtrat wird mit dem Vakuumrotationsverdampfer auf 50 ml konzentriert. Das Konzentrat wird zweimal mit je 100 ml Ethylacetat in einem Schütteltrichter ausgeschüttelt. Die vereinigten Ethylacetat-Phasen werden unter Vakuum auf 100 ml eingeengt. Die wässrige Phase wird in einem Meßkolben mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt.

Beide Phasen werden im Kühlschrank gelagert. Sie dienen zur Bestimmung der Gesamtphenole und zur Bestimmung einzelner phenolischer Verbindungen mittels HPLC.

Das Extraktionsmittel besteht aus Aceton-Methanol-Wasser-Salzsäure (400:400:180:20) bzw. 20:20:9:1.

Über die Löslichkeit der Polyphenole in den Lösemitteln, die Paupardin anwandte, liegen differenzierte Ergebnisse vor. Die Verschiebung des pH-Wertes vom alkalischen in den neutralen bzw. sauren Bereich war ebenfalls noch nicht untersucht worden. Auch die Freisetzung der Polyphenole war bei Paupardin noch nicht schlüssig gelöst, weshalb die gesamte Extraktionsmethode gründlich für jede einzelne Stufe überprüft wurde. Die Ergebnisse sind unter Punkt 3.2.6 genauer beschrieben. Hinsichtlich der Erkenntnisse über die Aktivität der PPO, die Paupardin nicht vorgelegen hatten, war es notwendig, auch den Ausschluss und die Inaktivierung der PPO bei dem Zellaufschluss bis zu Gewinnung der mit den Pflanzenphenole angereicherten Lösemittelfraktion einerseits und den Ausschluss von reaktiven Sauerstoff aus dem für Analysezwecke verwendeten Extraktionsweg andererseits zu bewirken. Ein Begasen der Lösemittel und des zerstörten Zellmaterials z. B. mit N₂/CO₂-Schutzgasen in der Kälte war nicht möglich. Der Zusatz von Antioxidantien, wie SO₂ und/oder Ascorbinsäure, könnte den Red-Ox-Zustand der Verbindungen bzw. das reduktive Potential verändern und wurde aus diesen Gründen nicht vorgenommen. Sinnvoll erschien die Entfernung von Luft bzw. Luftsauerstoff durch eine Ultraschallbehandlung des zu extrahierenden Pflanzenmaterials analog zur Entgasung von Fließmitteln, die für die HPLC eingesetzt werden.



Schema 3: Fließdiagramm zur Extraktion der phenolischen Verbindungen aus Topinambur nach Paupardin (1965), modifiziert von Tchomé.

Die Ultraschallbehandlung in temperiertem Wasserbad hat dabei den weiteren Vorteil, dass neben der Sauerstoffentfernung der Aufschluss der Pflanzenzellen begünstigt wird. Im Diagramm 21 sind die Vorteile der Ultraschallbehandlung an den sehr unterschiedlichen Aufschlussraten der Proben 5 gegenüber 6 (unbeschallt) deutlich herausgestellt. Der Einfluss von Alkoholen auf die Inaktivierung von Enzymen ist bekannt. Die Aufschlussarbeit von Paupardin berücksichtigt das bereits. Dennoch ist diese Reaktion relativ träge, d. h., es können bei Anwesenheit von eingeschlossener Luft in dem Topinamburbrei durchaus noch Oxidationsvorgänge ablaufen, die das Bild der Einzelkomponenten in der LC-MS-Kopplung mittels ESI verfälschen. Paupardin ist darauf nicht weiter eingegangen. Ein Aufschluss oberhalb der Optimaltemperatur der PPO-Aktivität im temperierten Ultraschallbad hat zusätzlich den Effekt, dass sowohl die Temperatur (bis ca. 80 °C) als auch der Alkohol (Methanol) eine schnelle Inaktivierung der PPO bewirken, so dass Folgereaktionen bei der Aufarbeitung des Pflanzenmaterials eigentlich ausgeschlossen sind. Die massengekoppelten HPLC-Trennungen mussten deshalb ein unverfälschtes Bild der Zusammensetzung dieser Polyphenole zeigen.

Gegenüber der Paupardin-Extraktionsmethode wurden folgende Änderungen vorgenommen: Die alkalische Hydrolyse wurde weggelassen und die Ultraschallbehandlung wurde zusätzlich zum Aufschluss angewandt.

Diese Ausgangs-Extraktionsmethode wurde verwendet, um die Polyphenole in den Topinamburknollen zu erfassen, und zwar in Abhängigkeit von den Sorten, den Knollenfraktionen und der Extraktionsphase.

Die MEBAK-Methode ergibt bei der Gesamtphenol-Bestimmung einen Niederschlag, der möglicherweise aus Na-Phosphat besteht. Das ist der Grund, weshalb hier nur die Folin-Ciocalteu-Methode angewendet wurde. Tabelle 16 weist die Trockenmasse der unterschiedlichen Topinambursorten aus.

Tabelle 16: Trockenmasse von Topinambur geordnet nach Sorten, ganze Knollen und Schalen

Sorten	Ganze Knollen (%)	Schalen (%)
Gigant	22,1	28
Gute Gelbe	20	17
Large White	18,91	22
Medius Brückmann	20,28	22,73
Medius Lindhoop	21,81	23
Petit Blanc	19	14
RoZo	19,97	21
Stamm	20,99	28
Waldspindel	27,63	30,73

In den Diagrammen 15 und 16 sind die Ergebnisse der Gesamtphenolebestimmung nach Folin-Ciocalteu bezogen auf % Trockenmasse (Extraktion nach Paupardin) dargestellt. Es handelt sich dabei um ganze Topinamburknollen, Schalen und Fruchtfleisch.

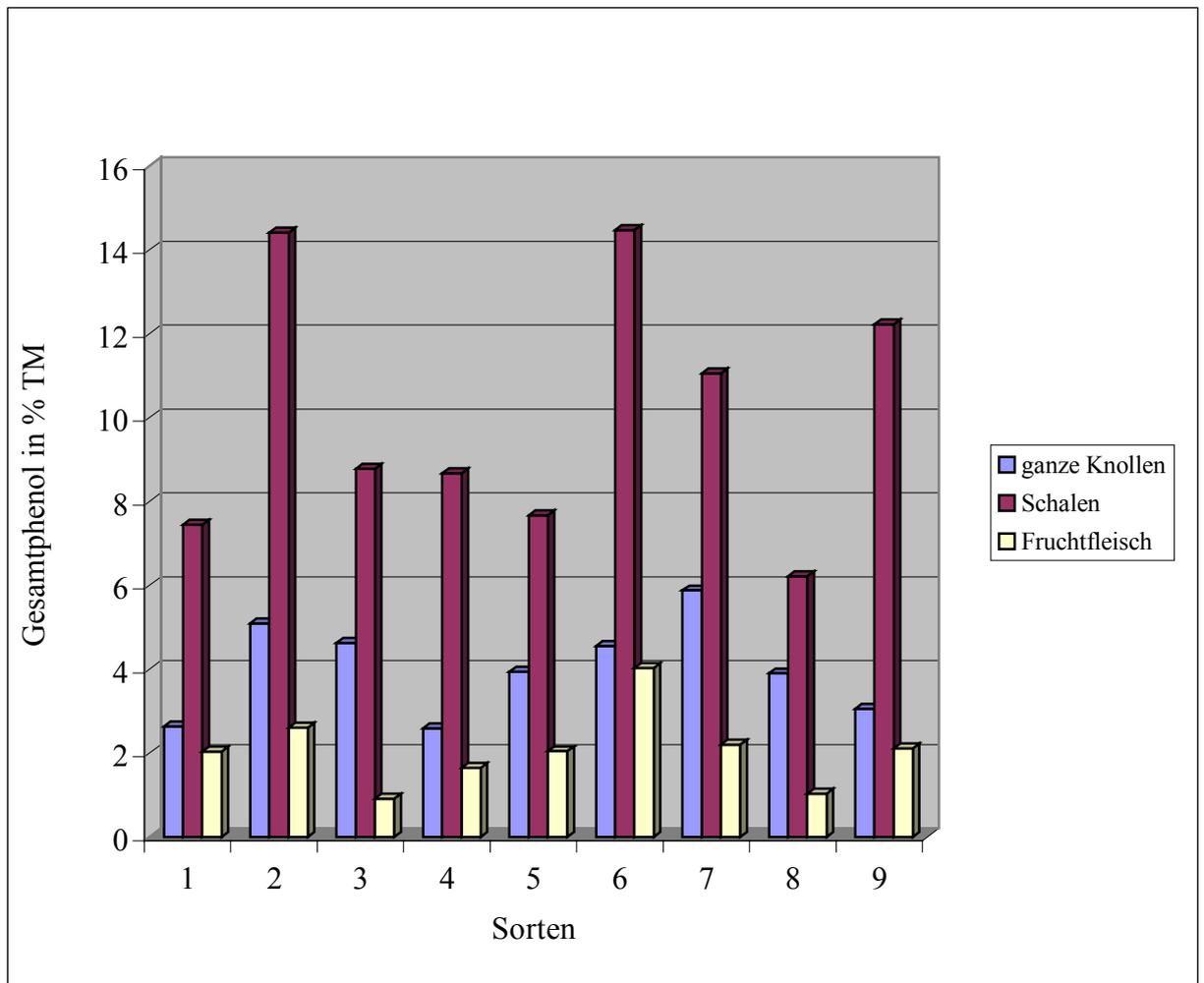


Diagramm 15: Verteilung der Gesamtphenole in der Topinamburfrucht nach Paupardin in % TM als GAE (eigene Untersuchungen).

- | | |
|---------------------|-----------------|
| 1: Gigant | 6 : Petit Blanc |
| 2: Gute Gelbe | 7: RoZo |
| 3: Large White | 8: Stamm |
| 4. Medius Brückmann | 9: Waldspindel |
| 5. Medius Linhoop | |

Man erkennt auf diesem Diagramm 15 eindeutige Verläufe. Während das Fruchtfleisch für alle untersuchten Sorten nur eine geringe Ausbeute an Polyphenolen von 0,9 bis 4 % bezogen auf TM erbringt, erzielt man aus den Schalen eine Ausbeute von 6 bis 14,5 % bezogen auf TM. Die Ursache hierfür scheint darin zu liegen, dass die Polyphenole fast ausschließlich in der äußeren Zellwand der Topinamburknollen lokalisiert sind. Sie sind möglicherweise von der Schalenmenge der Knollen abhängig. Die Schalenzusammensetzung spielt hier wahrscheinlich eine große Rolle.

Beim Vergleich der Ergebnisse von allen Versuche (ganze Knolle) fällt der besonders hohe Phenolgehalt der Sorte RoZo auf (6 % bezogen auf TM). Die Gute Gelbe folgt mit 5 % bezogen auf TM. Ein in vergleichbarer Weise hoher Wert ist in den Sorten Large White und Petit Blanc zu finden (4,6 bzw. 4,5 % bezogen auf TM).

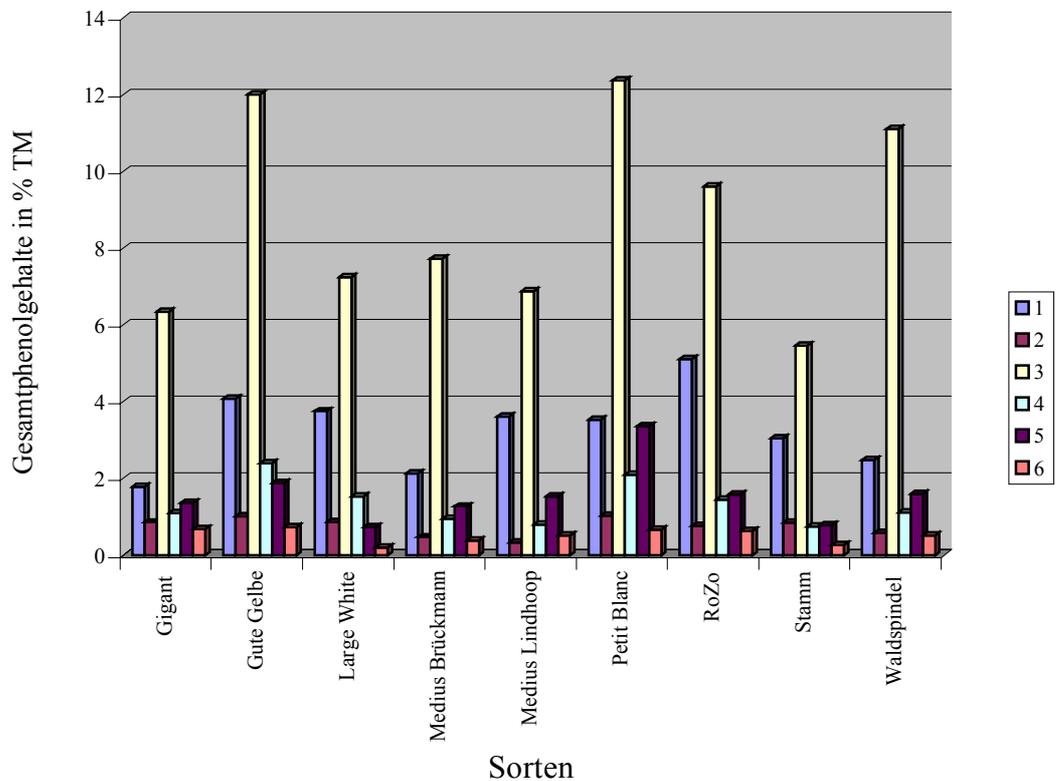


Diagramm 16: Verteilung der Gesamtphenolgehalte in der Topinamburfrucht geordnet nach den Extraktionsphasen in % TM als GAE.

1 = ganze Knollen Ethylacetat-Phase

2 = ganze Knollen wässrige Phase

3 = Schalen Ethylacetat-Phase

4 = Schalen wässrige Phase

5 = Fruchtfleisch Ethylacetat-Phase

6 = Fruchtfleisch wässrige Phase

Die Ergebnisse zeigen deutlich (Diagramm 16), dass die Polyphenole mehr in den Schalen zu finden sind und sich besser mit dem Lösemittel Ethylacetat extrahieren lassen.

Bezieht man die Ergebnisse wieder auf Frischgewicht und stellt man einen Schalenanteil von 20 % in Anrechnung, so ergeben sich für 100 g Knollen die Werte, die in Diagramm 17 dargestellt sind.

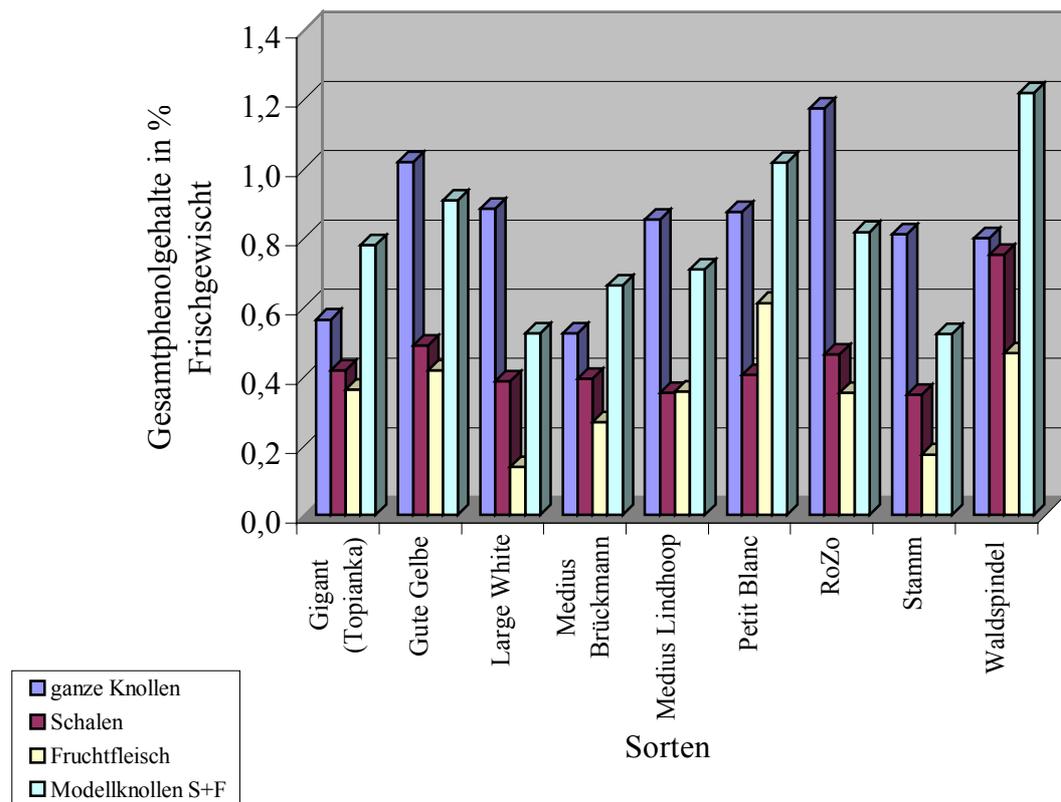


Diagramm 17: Verteilung der Gesamtphenolgehalte der Topinambur nach Paupardin extrahiert in % Frischgewicht als GAE (eigene Untersuchungen).

Die Summe der Polyphenole des Fruchtfleisches und der Schalen (Modellknollen) ist für die Sorten Gigant, Medius Brückmann, Petit Blanc und Waldspindel größer als in den ganzen Knollen. Diese Summe ist für die anderen Sorten kleiner als in den ganzen Knollen. Gründe hierfür kann durch die Polyphenol-Verteilung in den Knollen und deren Trockenmassen, welche nicht einheitlich sind, bedingt sein.

Über den Gesamtpolyphenolgehalt in Obst und Gemüse gibt es in der Fachliteratur nur wenig Angaben. Nach Untersuchungen von Böhm und Mitarbeitern (19) betragen die Gesamtpolyphenolgehalte als GAE 63 g/ kg TM rote Weintraube und 19 g/ kg TM schwarze Karotte. Bei Topinambur schwankt der Gehalt an Gesamtpolyphenol als GAE (eigenen Werten) von 26 bis 59 g/ kg TM. Zahlreiche Werte liegen jedoch für die einzelnen phenolischen Inhaltsstoffe vor. Bei Äpfeln schwankt der Gehalt an p-Cumarsäure von 5 bis 30 mg, an Ferulasäure von 2 bis 4 mg, an Kaffeesäure von 50 bis 500 mg, an Catechinen von 0 bis 15 mg, an Epicatechinen von 20 bis 80 mg und Quercetin von 30 bis 110 mg pro kg Frischgewicht (366). Möhren enthalten z.B. die Kaffeesäure in Menge von 20 bis 100 mg Frischgewicht (367).

3.2.5.1 Zusammenhang zwischen PPO und dem Polyphenolgehalt der Extrakten aus den Schalen (alle Sorten)

Die Korrelation charakterisiert den Zusammenhang zwischen zwei Größen. Zur zahlenmäßigen Erfassung dieses Zusammenhanges dient der Korrelationskoeffizient r ($-1 \leq r \leq +1$) bzw. das Bestimmtheitsmaß $B = r^2 \cdot 100\%$. Bei $r = +1$ ist der lineare Zusammenhang exakt erfüllt, wobei x und y gleichsinnig wachsen. Im diesem Fall soll die Frage beantwortet werden, mit welcher Gesetzmäßigkeit die Messwerte der PPO-Aktivität und den Gesamtphenolgehalten der Extrakten aus den Schalen der frisch geernteten Topinamburknollen, miteinander verbunden sind. Diagramm 18 stellt den Zusammenhang zwischen der PPO-Aktivität und dem Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu und nach Paupardin extrahiert) in Extrakten aus den Schalen der frisch geernteten Topinamburknollen (alle Sorten) dar.

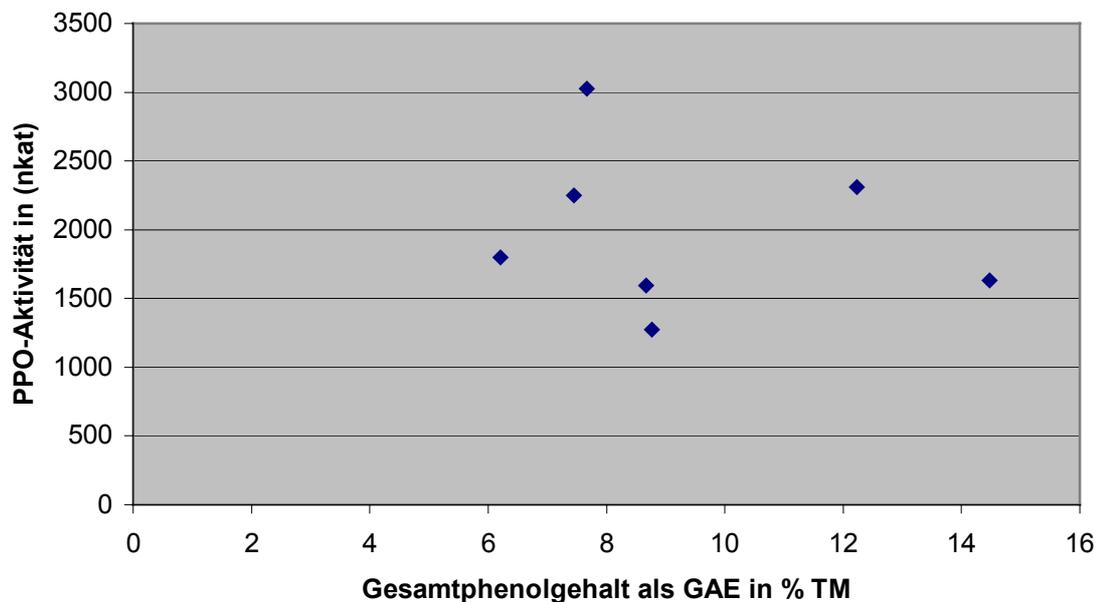
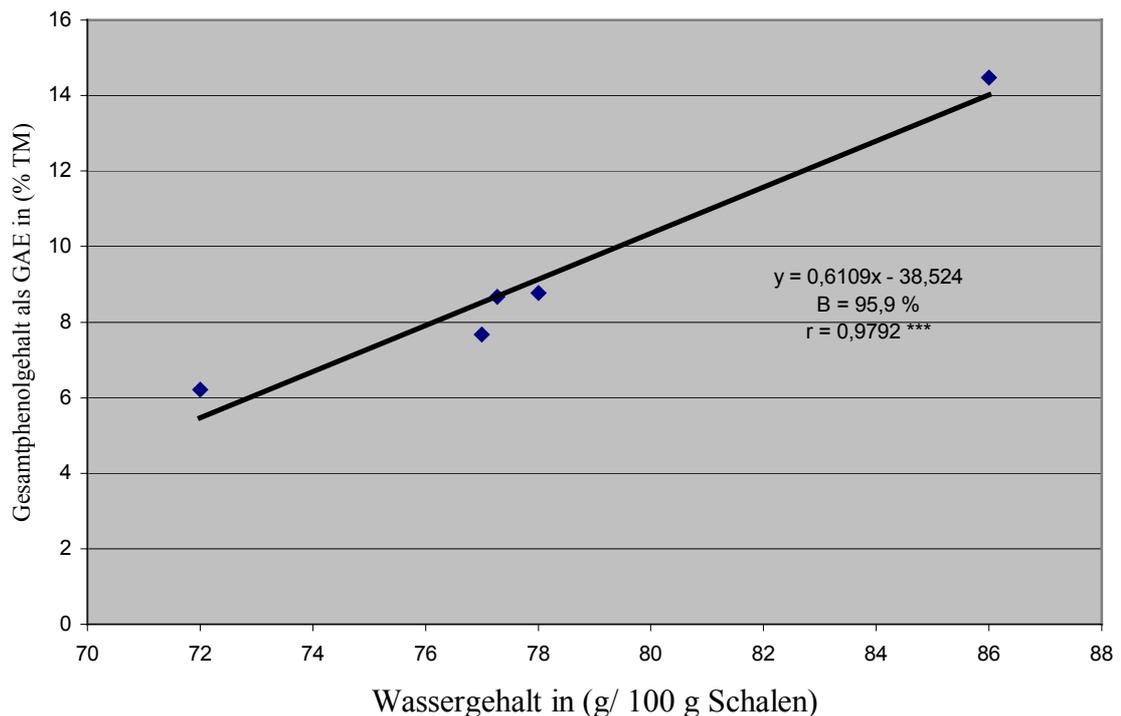


Diagramm 18: Zusammenhang zwischen dem Gesamtphenolgehalt als GAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu und nach Paupardin extrahiert) und der PPO-Aktivität (nkat) in den Schalen der frisch geernteten Topinamburknollen (alle Sorten)

Die Ergebnisse zeigen deutlich (Diagramm 18), dass kein Zusammenhang zwischen dem Gesamtphenolgehalt als GAE in % TM und der PPO-Aktivität (nkat) in Extrakten aus den Schalen der frisch geernteten Topinamburknollen besteht. Der Grund hierfür scheint in den Methoden zu liegen.

3.2.5.2 Zusammenhang zwischen dem Wassergehalt und dem Polyphenolgehalt der Extrakten aus den Schalen der frisch geernteten Topinamburknollen (alle Sorten)
Hier soll die Frage beantwortet werden, mit welcher Gesetzmäßigkeit die Messwerte des Wassergehaltes und den Gesamtphenolgehalten der Extrakten aus den Schalen der frisch geernteten Topinamburknollen, miteinander verbunden sind. Diagramm 19 stellt den Zusammenhang zwischen dem Wassergehalt und dem Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu und nach Paupardin extrahiert) in den Schalen der frisch geernteten Topinamburknollen (alle Sorten) dar.



y = Gesamtphenol-Werte

x = Wassergehalt

Diagramm 19: Zusammenhang zwischen dem Gesamtphenolgehalt als GAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu und nach Paupardin Extrahiert) und dem Wassergehalt (g/100 g Schalen) der Extrakten aus den Schalen der frisch geernteten Topinamburknollen (alle Sorten).

Wie aus Diagramm 19 hervorgeht, besteht eine Korrelation zwischen dem Gesamtphenolgehalt als GAE in % TM und dem Wassergehalt (g/100 g Schalen) der Extrakten aus den Schalen der frisch geernteten Topinamburknollen (alle Sorten). Wenn der Wassergehalt der Schalen steigt, (d.h. die Trockenmasse sinkt), sind die Gesamtphenol-Werte hoch und umgekehrt. Aus Diagramm 19 kann geschlossen werden, dass die Veränderungen des Ge-

samtphenolgehaltes zu 96 % durch die Veränderungen des Wassergehaltes (bzw. Trockenmasse) erklärbar sind.

3.2.5.3 Zusammenhang zwischen PPO und dem Wassergehalt der Extrakten aus den Schalen (alle Sorten)

Hier soll die Frage beantwortet werden, mit welcher Gesetzmäßigkeit die Messwerte der PPO-Aktivität und die des Wassergehaltes der Extrakten aus den Schalen der frisch geernteten Topinamburknollen, miteinander verbunden sind. Diagramm 20 stellt den Zusammenhang zwischen der PPO-Aktivität und dem Wassergehalt der Extrakten aus den Schalen der frisch geernteten Topinamburknollen (alle Sorten) dar.

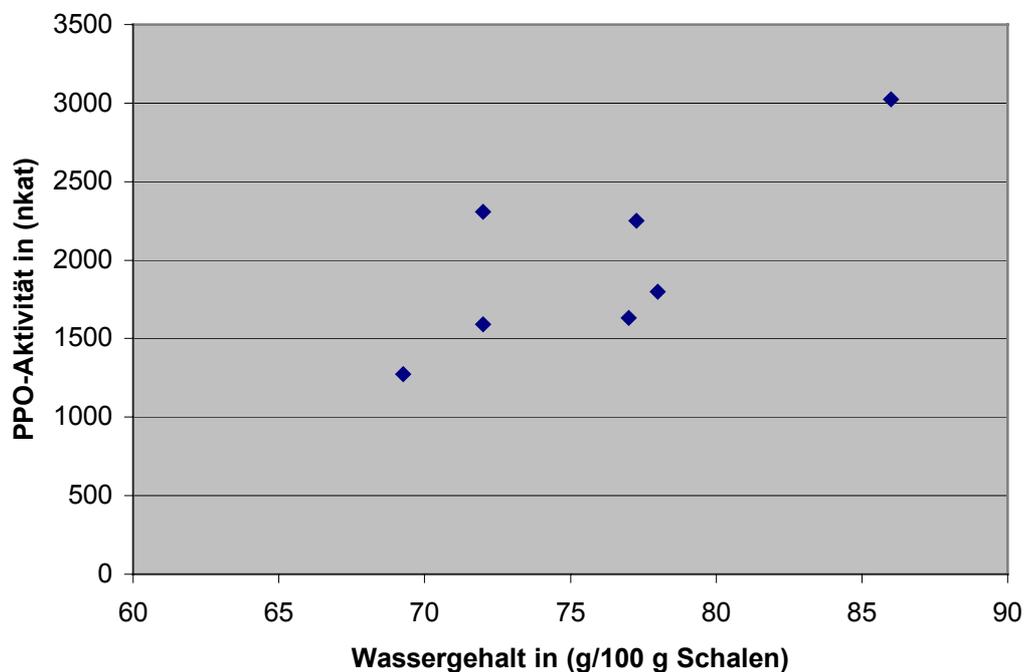


Diagramm 20: Zusammenhang zwischen der PPO-Aktivität (nkat) und dem Wassergehalt (g/ 100 g Schalen) der Extrakten aus den Schalen der frisch geernteten Topinamburknollen (alle Sorten)

Die Ergebnisse zeigen deutlich (Diagramm 20), dass kein Zusammenhang zwischen dem Wassergehalt (g/100 g Schalen) und der PPO-Aktivität (nkat) der Extrakten aus den Schalen der frisch geernteten Topinamburknollen besteht. Der Grund hierfür scheint in den Methoden zu liegen.

3.2.6 Weiterentwicklung der Gesamtphenol-Extraktionsmethode und Überprüfung der Anzahl der Extraktionsstufen

In dem Diagramm 16 ist deutlich zu sehen, dass die Polyphenole sich mit Ethylacetat besser extrahieren lassen. Aufgrund dieses Vorteils wurden verschiedene Extraktionsverfah-

ren in Abhängigkeit vom Extraktionsmittel einerseits und den Extraktionsstufen andererseits erprobt.

Im Diagramm 21 werden die Ergebnisse dieser Versuche dargestellt.

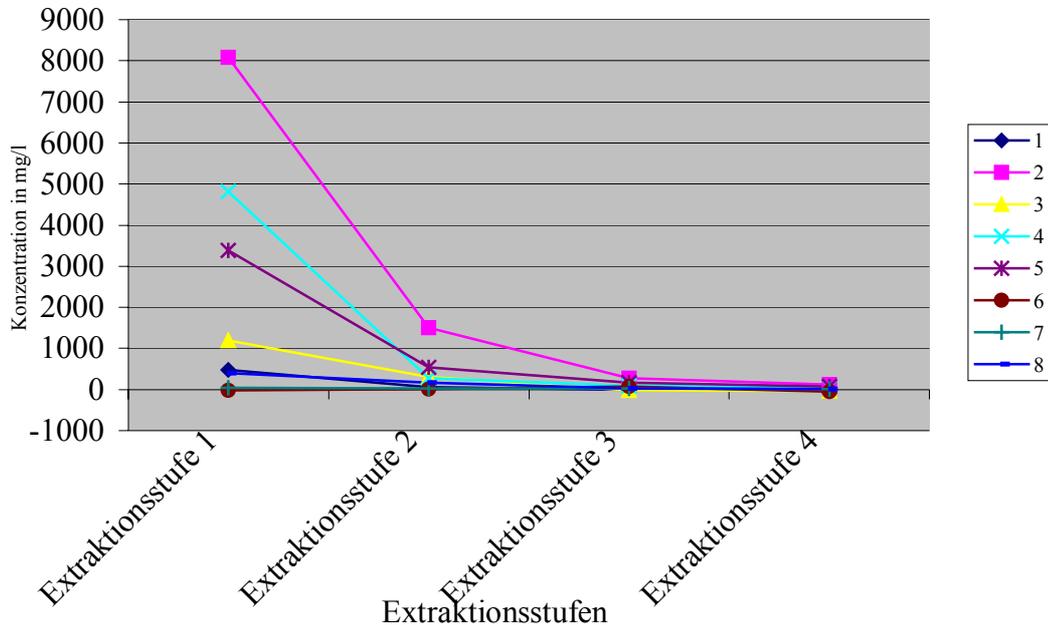


Diagramm 21: Ausbeuten an Gesamtphenolen in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren (RoZo)

1 = Wasser 90°C + Ultraschallung

2 = Ethylacetat - Methanol 1:1 + Ultraschallung

3 = Wasser 90°C + 1% Ascorbinsäure + Ultraschallung

4 = Methanol - Aceton - Wasser (2:2:1) + Ultraschallung

5 = Methanol - Aceton - Wasser - HCl (20:20:9: 1) + Ultraschallung

6 = Methanol - Aceton - Wasser - HCl (20:20:9: 1), ohne Ultraschallung

7 = Preß Rückstand + Wasser 90 °C, ohne Ultraschallung

8 = verdampft + Wasser 90°C, ohne Ultraschallung

Im Diagramm 21 ist deutlich zu sehen, dass die Mischung Ethylacetat- Methanol (1:1) das beste Extraktionsmittel ist. Die Ausbeute an Gesamtphenol ist in der 1. Extraktionsstufe am höchsten. Auch die 2. Extraktion zeigte gegenüber den anderen Versuchen die größte Ausbeute. Wenn man die Summe aller Stufen bei der Ethylacetat-Methanol-Extraktion als 100 % extrahierbares Polyphenol einschätzt, so ist deutlich zu sehen, dass die Extraktion mit Heißwasser nur 5% der extrahierbaren Polyphenole erbringt. Die Extraktionsmischung Methanol-Aceton-Wasser 2:2:1 führt ohne HCl zu 53 % und mit HCl zu 42 % Ausbeute.

Betrachtet man die erste Extraktionsstufe, so werden schon mit Ethylacetat-Methanol (eigene entwickelte Extraktionsmethode) 81 % der extrahierbaren Polyphenole gewonnen (Tabelle 17). Die Extraktionsmischung Methanol-Aceton-Wasser 2:2:1 hingegen zeigt ohne HCl eine Gewinnung von 48 % und mit HCl-Aufschluss (20:20:9:1) (Extraktionsmethode nach Paupardin) von 34 % der Polyphenole.

Tabelle 17: Prozentualtabelle der Extraktionsverfahren mit der Sorte RoZo

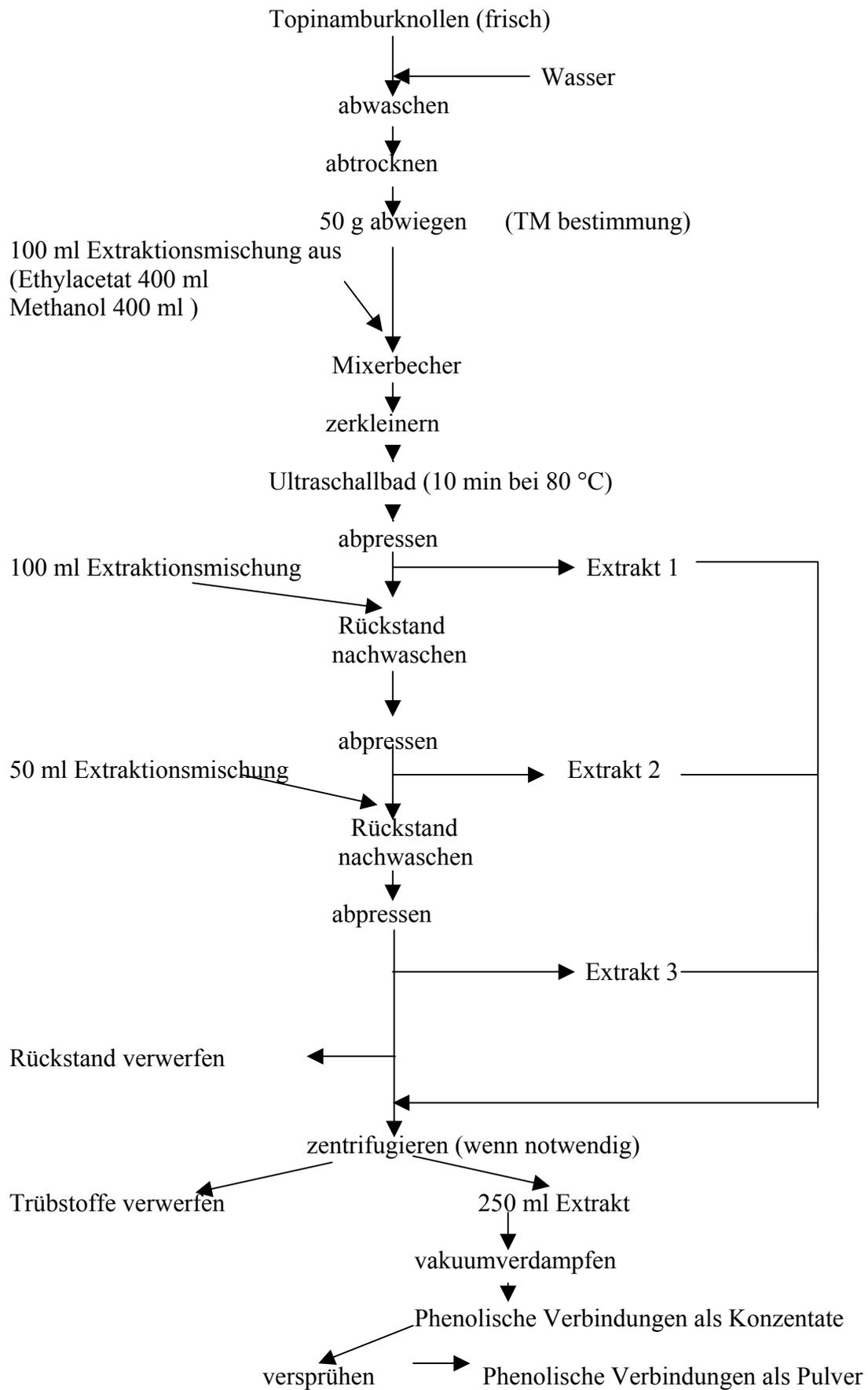
Extraktionsverfahren	Konzentration in %				
	Extraktionsstufe 1	Extraktionsstufe 2	Extraktionsstufe 3	Extraktionsstufe 4	Summe
2	80,98	15,00	2,77	1,25	100
4	48,27	2,80	0,91	0,63	52,61
5	33,86	5,39	1,71	0,73	41,69

2= Ethylacetat - Methanol 1:1 + Ultrabeschallung

4= Methanol - Aceton - Wasser (2:2:1) + Ultrabeschallung

5= Methanol - Aceton - Wasser - HCl (20:20:9: 1) + Ultrabeschallung

Aufgrund dieser Beobachtungen der Ergiebigkeit der Extraktion wurde die im Schema 4 dargelegte Extraktionsmethode in dieser Arbeit weiter angewandt.



Schema 4: Eigene entwickelte und abgesicherte Methode zur weitgehenden Erfassung phenolischer Verbindungen

Diese verbesserte Extraktionsmethode ist gegenüber den in der Literatur beschriebenen dadurch gekennzeichnet, dass die Ausbeute an Polyphenolen aus der rohen Knolle praktisch verdoppelt werden konnte und die Analyse vereinfacht wird, weil sich nur eine Phase bei den Extraktionsmitteln Ethylacetat-Methanol 1:1 ausbildet, weil die Ultraschallanwendung die Extraktionsausbeute erhöht und weil das Abpressen anstelle einer Filtration die Ausbeute ebenfalls erhöht.

Negativ wirken sich auf die spektralphotometrische Messung bei 760 nm nur die Trübeilchen aus, die vor der Farbreaktion entfernt werden müssen, und zwar durch Zentrifugation (20 min bei 3220 g).

3.2.7 Überprüfung der Reproduzierbarkeit der vorgeschlagenen Extraktionsmethode zur Bestimmung der phenolischen Verbindungen

Zur Überprüfung wurde Topinambur-Trockenpulver aus der Sorte Medius achtmal in Einzelversuchen mit der vorgeschlagenen Methode extrahiert. Jede Extrakt wurde fünfmal gemessen. Die Analysenwerten sind in der Tabelle 18 angegeben.

Tabelle 18: Überprüfung der Reproduzierbarkeit der vorgeschlagenen Extraktionsmethode zur Bestimmung phenolischer Verbindungen.

Probe Nr.	Konzentration g/ 100 g TM)
1	22,7
2	23
3	23,4
4	23,6
5	24
6	25
7	26
8	26,5
MW	24,3
STABW	1,4
CK %	6

Aus diesen Messergebnissen konnte geschlossen werden, dass die vorgeschlagene Extraktionsmethode zur Erfassung phenolischer Verbindungen mit einem Variationskoeffizienten

VK von 6 % reproduzierbar ist. Dieser Variationskoeffizient könnte geringer sein, wenn die Verteilung der phenolischen Verbindungen im Topinambur gleichmäßig wäre.

3.2.8 Keimversuch der Topinamburknollen im Labor

3.2.8.1 Labor-Kultivierung von Topinamburknollen

Um den Stoffwechsel in den Knollen zu aktivieren und dessen Wirkung auf den Gesamtphenolgehalt zu beobachten, wurden die Topinamburknollen im Labor nach der Ernte durch Züchtung in 5 l Plastikeimern unter aufgedüngt-pflanzfertiger Blumenerde bei 20 °C und pH im Boden von 5,6 zum Keimen gebracht. Die Beleuchtung erfolgte mittels komplettem Lichtkasten mit Philips-Spezial-Leuchtstoffröhren und langwelligem UV Strahlenanteil. Die Probe wurden alle drei Tage bewässert. Die phenolischen Verbindungen wurden mit der selbst entwickelten Methode extrahiert und der Gesamtphenolgehalt wurde nach 12; 21; 33 und 52 Keimversuchstagen mit der Folin-Ciocalteu-Methode erfasst. Die Bilder von 3 bis 8 zeigen die Ergebnisse dieses Keimversuchs im Labor.



Bild 3: Keimversuch der Topinamburknollen im Labor (Zichorie im Vordergrund)



Bild 4: Sorte Stamm nach 12 Keimversuchstagen



Bild 5: Gigant am Anfang des Keimversuchs im Labor

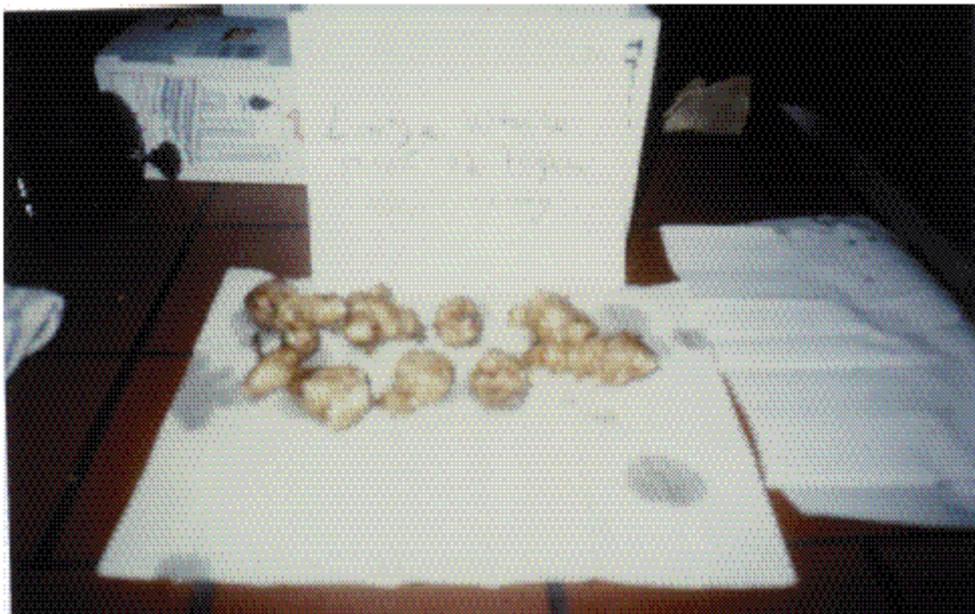


Bild 6: Sorte Large White nach 12 Keimversuchstagen



Bild 7: Sorte Gute Gelbe nach 21 Keimversuchstagen



Bild 8: Sorte Medius Lindhoop nach 21 Keimversuchstagen

Aus diesen Bildbeispielen ist deutlich zu ersehen, dass die Geschwindigkeit der Stoffwechsel-Aktivierung, welche durch Bildung von Wurzeln und neuen Knollen gekennzeichnet ist, für die untersuchten Topinamburknollen unterschiedlich ist

(siehe Bild 5; 7; 8 und 9). Die weißschaligen Sorten bilden neuen Wurzeln und Knollen schneller aus als die rotschaligen Sorten.

3.2.8.2 Trockenmassen der im Labor kultivierten Topinamburknollen und einer Zichorienwurzel im Vergleich zwischen der ganzen Frucht und den Fruchtschalen

Tabelle 19 zeigt diese Trockenmasse der ganzen Früchte. In Tabelle 20 ist die Trockenmasse der Schalen verdeutlicht. Die Ergebnisse sind als Funktion der Keimversuchstage dargestellt.

Tabelle 19: Trockenmassen in % (g/100 g Knollen) der Topinamburknollen und Zichorienwurzeln als Funktion der Keimversuchstage (Ernte von Oktober bis Dezember 2000)

ganze Knollen	Dauer unter Erde nach Ernte (Tage)				
	0	12	21	33	52
Sorte					
Gigant	22,10	21,76	21,03	19,94	19,90
Gute Gelbe	20,00	19,23	14,18	20,40	12,45
Large White	18,91	16,18	14,66	16,14	16,39
Medius Brückmann	20,28	19,45	13,1	11,01	14,00
Medius Lindhoop	21,81	20,03	17,34	18,39	5,66
Petit Blanc	19,00	19,90	14,77	16,67	17,41
RoZo	19,97	18,39	17,23	16,67	19,60
Stamm	20,99	21,40	24,88	21,83	22,06
Waldspindel *	27,63	25,00		19,76	
Zichorien *	25,89	26,97		26,40	

*Ernte vom November 2000

Tabelle 20: Trockenmassen in % (g/100 g Schalen) der Topinambur- und Zichorienschalen als Funktion der Keimversuchstage (Ernte von Oktober bis Dezember 2000)

Schalen	Dauer unter Erde nach Ernte (Tage)				
	0	12	21	33	52
Sorte					
Gigant	28,00	27,36	18,57	21,43	20,00
Gute Gelbe	17,00	16,67	16,95	22,16	16,23
Large White	22,00	22,09	14,89	18,27	16,67
Medius Brückmann	22,73	22,80	14,77	15,00	15,20
Medius Lindhoop	23,00	23,08	18,57	19,09	17,76
Petit Blanc	14,00	20,93	21,51	20,37	19,00
RoZo	21,00	20,90	17,13	16,05	18,85
Stamm	28,00	28,07	22,77	24,30	24,79
Waldspindel *	30,73	26,53		24,10	
Zichorien *	22,30	19,05		20,83	

* Ernte vom November 2000

Aus diesen Tabellen kann geschlossen werden, dass die Trockenmassen je nach Sorten bzw. Schalen unterschiedlich sind und sich im Laufe des Keimversuchs im Labor ändern. Diese Änderungen sind nicht einheitlich. Bis auf die Sorte Petit Blanc nehmen die Schalenmassen deutlich ab, d.h., die Schalen werden dünner oder wenig Schalen wurden eingewogen, weil der Wassergehalt steigt.

Wegen der möglichen Störungen durch Ethylacetat bei der HPLC-Trennung der Polyphenole und deren Auswirkung auf die massenspektrometrische Analyse wurde versucht, das Lösemittel zusammen mit dem Methanol mittels Rotationsverdampfers im Vakuum abzdampfen. Zur Polyphenol-Bestimmung wurde der Rückstand aus der Verdampfung mit Methanol wieder aufgenommen und die Extinktionen nach der Folin-Ciocalteu-Methode bestimmt. Gallussäure-Äquivalente sind bei Topinambur nicht anwendbar, da nach HPLC-Untersuchungen deren Konzentration uneinheitlich und zu gering ist. Es muß wie Punkt 3.5.9 zeigt „Salicylsäure“ sein.

3.2.8.3 Gesamtphenolgehalte in den Schalen der Topinambursorte Stamm in Abhängigkeit von den Bezugsubstanzen

Der Gesamtphenolgehalt in den Schalen der Topinambursorte Stamm, ausgedrückt als Gallussäure, Chlorogensäure, Catechin, Gentisinsäure und Salicylsäure ist in Tabelle 21 dargestellt.

Tabelle 21: Gesamtphenolgehalte in % TM der Schalen der Topinambursorte Stamm (nach 12 Keimversuchstagen) in Abhängigkeit von den Bezugsubstanzen

Probe Nr.	Extinktion	A	B	C	D	E
1	0,492	2,9	5,3	3,6	4,7	7,0
2	0,491	2,9	5,3	3,6	4,7	7,0
3	0,507	3,0	5,5	3,7	4,8	7,2
4	0,502	3,0	5,5	3,6	4,8	7,2
5	0,497	2,9	5,4	3,6	4,7	7,1
6	0,488	2,9	5,3	3,5	4,7	7,0
7	0,499	2,9	5,4	3,6	4,8	7,1
8	0,497	2,9	5,4	3,6	4,7	7,1
9	0,491	2,9	5,3	3,6	4,7	7,0
10	0,495	2,9	5,4	3,6	4,7	7,1
MW	0,496	2,9	5,4	3,6	4,7	7,1
STABW	0,006	0,04	0,07	0,05	0,05	0,08
VK %	1,16	1,29	1,31	1,37	1,16	1,16

A: Gallussäure $y = 0,0013x + 0,0516$

B: Chlorogensäure $y = 0,0007x + 0,0555$

C: Catechin $y = 0,001x + 0,0757$

D: Gentisinsäure $y = 0,0009x - 0,0015$

E: Salicylsäure $y = 0,0006x - 0,0005$

Verdünnungsfaktor $F = 3$ TM = 28,07 %

$[g/100 \text{ g TM}] = ([g/l] \cdot F \cdot 80) / \text{TM} \%$

Wie aus Tabelle 21 hervorgeht, führen die gleichen Extinktionswerte bei unterschiedlichen phenolischen Verbindungen als Bezugsubstanzen zu unterschiedlichen Gesamtphenol-Werten. Der Grund hierfür scheint darin zu liegen, dass jede phenolische Verbindung einen eigenen dekadischen molaren Absorptionskoeffizienten hat. Aufgrund dieser Beobachtungen der Ausbeute an Gesamtphenolen wurde der Gesamtphenolgehalt einer Modelllösung, die 22 Vergleichssubstanzen enthält, bei zwei Konzentrationen und zwei Wellenlängen

bestimmt und auf signifikante Unterschiede zwischen o.g. phenolischen Verbindungen geprüft. In den Tabellen 22 a und 22 b sind die Ergebnisse dieser Versuche dargestellt.

Tabelle 22 a und 22 b (siehe Anlagen)

Den Ergebnissen, dargestellt in Tabellen 22 a und Tabelle 22 b, liegen 16 Messreihen zu Grunde und bestätigen, dass unterschiedliche phenolische Verbindungen als Bezugsubstanzen zu unterschiedlichen Gesamtphenol-Werten führen. Eine einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) ergibt, dass mit einer Sicherheit von 95 % bei $\lambda = 760 \text{ nm}$ ein signifi-

kanter Unterschied der Extinktionen zwischen Gallussäure, Chlorogensäure, Catechin, Gentisinsäure und Salicylsäure besteht (Tabelle 23 a und 23 b). Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, dass die gemessenen Gesamtphenol-Werte nicht den Sollwerten entsprechen und dass diese Abweichung konzentrationsabhängig ist. Bis auf Chlorogensäure und Catechin sind die Messwerte bei den beiden untersuchten Konzentrationen höher bei $\lambda = 720$ nm als bei $\lambda = 760$ nm, d.h. die Abweichung von den Sollwerten sind bis auf Chlorogensäure und Catechin größer bei $\lambda = 720$ nm als bei $\lambda = 760$ nm.

Tabelle 23 a: Einfaktorielle Varianzanalyse: Gesamtphenole der Modelllösung (440 mg/ l) einer Mischung von unterschiedlichen Vergleichssubstanzen bei $\lambda = 760$ nm, $s = 1$ cm, ausgedrückt als Gallussäure bzw. Chlorogensäure, Catechin, Gentisinsäure und Salicylsäure

Streuungsursache	Quadratsummen (SS)	Freiheitsgrade (df)	Mittlere Quadratsummen (MS)	Prüfgröße (F)	Kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	1857921,680	4	464480,420	3785,948	2,494
Innerhalb der Gruppen	9201,403	75	122,685		
Gesamt	1867123,082	79			

Tabelle 23 b: Einfaktorielle Varianzanalyse: Gesamtphenole der Modelllösung (880 mg/ l) einer Mischung unterschiedlicher Vergleichssubstanzen bei $\lambda = 760$ nm, $s = 1$ cm, ausgedrückt als Gallussäure bzw. Chlorogensäure, Catechin, Gentisinsäure und Salicylsäure

Streuungsursache	Quadratsummen (SS)	Freiheitsgrade (df)	Mittlere Quadratsummen (MS)	Prüfgröße (F)	Kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	6084557,838	4	1521139,459	1911,979	2,494
Innerhalb der Gruppen	59668,759	75	795,583		
Gesamt	6144226,596	79			

Bei den beiden Konzentrationen zeigen Gallussäure und Catechin weniger als den Sollwert und der Rest mehr Gesamtphenole als den Sollwert. Tabelle 24 fasst die Abweichung der Gesamtphenolgehalte der Modelllösung von den Sollwerten zusammen.

Tabelle 24: Gesamtphenol-Abweichung von unterschiedlichen Bezugssubstanzen, gefärbt nach Folin-Ciocalteu, von den Sollwerten bei $\lambda = 760$ nm, $s = 1$ cm, bezogen auf den Sollwert

Konzentration	Bezugssubstanzen	Abweichung %	Bemerkungen
440 mg/l	A	47	weniger
	B	20	mehr
	C	21	weniger
	D	10	mehr
	E	40	mehr
880 mg/ l	A	32	weniger
	B	27	mehr
	C	14	weniger
	D	6	mehr
	E	58	mehr

A: Gallussäure
 B: Chlorogensäure
 C: Catechin
 D: Gentisinsäure
 E: Salicylsäure

Da die Bezugssubstanz Salicylsäure nach der HPLC-Trennung im Spektrum der phenolischen Substanzen von Topinambur dominiert, wurde auf diese Verbindung bezogen und

mit einem Unterschiedstest eine Prüfung durchgeführt, ob die Abweichungen konzentrationsabhängig sind. In der Tabelle 25 sind die Ergebnisse dieser Prüfung dargestellt.

Tabelle 25: Prüfung auf signifikanten Unterschied zweier Stichproben

Soll-Werte	440 mg/ l	880 mg/ l
MW	736,434	1393,859
Varianz	222,889	1445,382
Freiheitsgrad	15	15
F _{ber}	2,63	
F _{Tab (5%)}	2,40	
F _{Tab (1%)}	3,52	
t _{ber}	1,639	
t _{Tab (5%)}	2,04	
t _{Tab (1%)}	2,75	
Freiheitsgrad	30	

Da $F_{ber} > F_{Tab 5\%} < F_{Tab 1\%}$, besteht zwischen den beiden Varianzen ein signifikanter Unterschied. Da $t_{ber} = 1,639 < t_{Tab 1\%} = 2,75$ ist (Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha = 1\%$, statistische Sicherheit $P = 99\%$ und Freiheitsgrad $FG = 30$), liegt kein signifikanter Unterschied zwischen den Abweichungen von den Sollwerten bei den beiden Konzentrationen vor. Das ist der Grund, weshalb bei der Berechnung der Gesamtphenolgehalte als Salicylsäure bei $\lambda = 760\text{ nm}$, $s = 1\text{ cm}$, 40% von den berechneten Werten abgezogen werden.

3.2.8.4 Gesamtphenolgehalte der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln bzw. deren Schalen als Salicylsäure-Äquivalent in Methanolextrakten nach Folin-Ciocalteu

Wegen der möglichen Störungen durch Ethylacetat bei der HPLC-Trennung der Polyphenole und deren Auswirkung auf die massenspektrometrische Analyse wurde versucht, das Lösemittel zusammen mit dem Methanol mittels Rotationsverdampfers im Vakuum abzdampfen. Zur Polyphenol-Bestimmung wurde der Rückstand aus der Verdampfung mit Methanol wieder aufgenommen und die Extinktionen nach der Folin-Ciocalteu-Methode bestimmt. Der Versuch mittels Wasserstrahlpumpe bei einer Badtemperatur von 70 °C die Lösemittel abzuziehen, führte zu sehr hohen Verlusten an Polyphenolen. Das Verfahren wurde deshalb umgestellt, und zwar wurde die Badtemperatur auf 45 °C und das Vakuum auf ca. $0,02\text{ bar}$ mittels einstufiger Vakuumpumpe abgesenkt.

Die Resultate dieses Versuchs sind in Tabelle 26 dargestellt. Wie aus dieser Tabelle hervorgeht, ändern sich die Gesamtphenolgehalte aller Sorten im Laufe des Keimversuchs im Labor. Diese Änderungen sind vom Stoffwechsel-Aktivierungsgrad, welcher uneinheitlich

ist, abhängig. Man erkennt aus Tabelle 26 unterschiedliche Verläufe. Während die Gesamtphenolgehalte der Sorten Gigant, Petit Blanc, Medius Lindhoop und Zichorie im Laufe des Keimversuchs im Labor zunehmen, nimmt das Salicylsäure-Äquivalent bei den Sorten RoZo und Large White im Laufe des Keimversuchs im Labor zu, erreicht ein Maximum und nimmt dann wieder ab. Der Gesamtphenolgehalt der Sorte Waldspindel nimmt im Laufe des Keimversuchs im Labor ab, erreicht ein Minimum und nimmt dann wieder zu. Bei den restlichen untersuchten Sorten ist der Verlauf uneinheitlich. Die Sorte Medius Brückmann erbringt die höchsten Gesamtpolyphenolwerte nach 33 Keimversuchstagen im Labor (8 % der TM). Die Sorten Gute Gelbe, Medius Lindhoop, Gigant und Petit Blanc weisen nach 52 Keimversuchstagen im Labor einen höchsten Gesamtpolyphenolgehalt Salicylsäure-Äquivalent (6,0 %; 4,9 %; 3,5 % und 5,4 % der TM) auf. Die höchsten Gesamtpolyphenolgehalte wurden mit den Sorten Waldspindel, RoZo, Zichorie, Large White und Stamm (5,4 %; 4,1 %; 2,4 %; 5,5 % und 4,7 % der TM) nach 33 Keimversuchstagen im Labor erzielt. Die Sorte Medius wird in Deutschland in der Industrie verarbeitet. Betrachtet man beide Herkünfte (Lindhoop und Brückmann), so merkt man, dass die Gesamtpolyphenolgehalte von dem Boden abhängig sind und dass die Novemberernte für Medius Brückmann und die Dezemberernte für Medius Lindhoop günstig für die Gewinnung phenolischer Verbindungen sind.

Tabelle 26: Gesamtphenolgehalt der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln als Salicylsäure-Äquivalent in Methanol. Angabe in g/ 100 g TM

Keimungsdauer in Tage	0	12	21	33	52
ganze Knolle					
Knollensorten					
RoZo	0,6	1,8	2,6	4,1	3,7
Stamm	0,7	1,0	0,7	4,8	4,2
Gigant	0,6	0,9	2,0	2,3	3,5
Medius Lindhoop	0,5	0,8	4,0	4,8	4,9
Medius Brückmann	1,2	5,2	3,5	8,0	5,0
Gute Gelbe	0,6	1,1	4,2	4,0	6,1
Petit Blanc	0,4	1,0	4,4	5,2	5,4
Large White	0,5	2,0	4,4	5,5	4,4
Waldspindel	5,1	0,8		5,4	
Zichorie	1,2	2,2		2,4	

3.2.8.5 Gesamtphenolgehalte der Schalen von im Labor kultivierteten Topinambur und Zichorien in Methanolextrakten als Salicylsäure-Äquivalent nach Folin-Ciocalteu

Die Gesamtphenolgehalte der Schalen von im Labor gezüchtetem Topinambur und Zichorien in Methanol sind in Tabelle 27 dargestellt.

Aus den Ergebnissen, die in Tabelle 27 dargestellt sind, kann geschlossen werden, dass der Gehalt an Polyphenolen sich im Laufe des Keimversuchs im Labor in den Schalen ändert. Verschiedene Verläufe sind aus dieser Tabelle erkennbar. Während der Gesamtphenolgehalt der Sorten Stamm und Petit Blanc im Laufe des Keimversuchs im Labor in den Schalen ständig zunimmt, ist der Verlauf für die Sorten Waldspindel und Zichorie anders. Ihre Gesamtphenolgehalte nehmen im Laufe des Keimversuchs im Labor zu, erreichen ein Maximum und nehmen dann wieder ab. Der Verlauf ist für die restlichen untersuchten Sorten uneinheitlich. Die Sorte RoZo erbringt die höchsten Gesamtpolyphenolwerte nach 52 Keimversuchstagen im Labor (23 % der TM). Ein vergleichbarer Wert wurde mit der Sorte Large White nach 21 Keimversuchstagen im Labor erzielt (21 % der TM). Die Sorten Medius Lindhoop, Medius Brückmann, Gigant, Gute Gelbe, Large White und Petit Blanc weisen nach 52 Keimversuchstagen im Labor den höchsten Gesamtpolyphenolgehalt als Salicylsäure-Äquivalent (19,9 %; 19,9 %; 19,1 %; 19,1 % und 20,4 % der TM) auf. Die höchsten Gesamtpolyphenolgehalte wurden mit der Sorte Stamm nach 33 Keimversuchstagen (20,6 % der TM) und mit den Sorten Waldspindel und Zichorie (21,1 % und 18,1 % der TM) nach 21 Keimversuchstagen im Labor erzielt. Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, dass der Gesamtphenolgehalt in Zichorienschalen geringer als in den Topinamburschalen ist.

Vergleicht man die höchsten Gesamtphenol-Werte der Knollen aller Sorten mit denen der Schalen, so merkt man, dass die Polyphenole mehr in den Schalen zu finden sind, was mit den Ergebnissen der Extraktionsmethode nach Paupardin übereinstimmt. Bei den Sorten Stamm, Gigant, Gute Gelbe, Petit Blanc und Medius Lindhoop wurden an den identischen Keimversuchstagen im Labor die höchsten Gesamtphenolwerte in den Knollen und in den Schalen gefunden. In der Tendenz wandern im Laufe des Keimversuchs im Labor die Polyphenole vom Fruchtfleisch in die Schalen, erreichen ein Maximum in den Schalen und verteilen sich dann zwischen neuen gebildeten Wurzeln und Knollen, wo sie eine Schutzrolle während der Knollenbildung spielen.

Tabelle 27: Gesamtphenolgehalt der Schalen von im Labor kultivierten Topinambur und Zichorien als Salicylsäure-Äquivalent in Methanol. Angabe in g/ 100 g TM

Keimungsdauer in Tage	0	12	21	33	52
Knollenschalen					
Knollensorten					
RoZo	2,4	6,3	1,6	19,7	23,1
Stamm	1,9	5,2	5,5	20,6	20,6
Gigant(Topianka)	1,0	3,7	14,2	9,9	19,1
Medius Lindhoop	1,6	4,9	17,5	8,2	19,9
Medius Brückmann	3,2	10,2	2,8	13,4	19,9
Gute Gelbe	1,8	4,8	18,7	17,8	19,1
Petit Blanc	1,8	3,9	14,2	17,3	20,4
Large White	1,0	14,4	4,6	20,7	21,0
Waldspindel	17,2	21,1		18,6	
Zichorie	6,8	18,1		17,3	

3.2.8.6 Vergleichende physikalische Messungen an Topinambur und Zichorie

3.2.8.6.1 pH

3.2.8.6.1.1 pH-Messung an Extrakten aus verschiedenen Topinamburknollen und an der Zichorienwurzel nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorte und Keimdauer

Die Resultate der pH-Messung in den Extrakten von verschiedenen Topinamburknollen und in der Zichorienwurzel nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorte und Keimdauer sind in der Tabelle 28 dargestellt.

Tabelle 28: pH-Werte der Extrakte aus verschiedenen Topinamburknollen und der Zichorienwurzel nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorten und Keimdauer

Keimdauer (Tage)	0	12	21	33	52
Probebezeichnung					
RoZo	6,37	8,04	7,69	7,83	5,43
Stamm	6,57	6,14	8,93	5,39	5,32
Gigant	5,87	7,02	8,2	8,35	5,79
Medius Lindhoop	5,89	6,14	4,69	5,20	5,32
Medius Brückmann	6,22	6,69	4,82	5,38	5,25
Gute Gelbe	6,67	7,39	4,56	5,39	5,09
Petit Blanc	6,00	6,83	6,64	6,42	5,24
Large White	6,21	6,68	5,65	5,73	5,16
Waldspindel	4,93	8,97		5,25	
Zichorie	5,33	6,32		5,6	

Aus der Tabelle 28 geht hervor, dass die pH-Werte in den Extrakten sich im Laufe des Keimversuchs im Labor ändern. Sie sind von den Sorten abhängig. Die gemessenen pH-Werte lagen zwischen 4,93 und 8,93. Die Verläufe sind uneinheitlich. In der Tendenz nimmt der pH-Wert im Laufe des Keimversuchs zu, erreicht ein Maximum und nimmt dann ab.

3.2.8.6.1.2 pH-Messung in den Extrakten von verschiedenen Topinambur- und Zichorienschalen nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorte und Keimdauer

Die Resultate der pH-Messung von Extrakten verschiedener Topinambur- und Zichorienschalen nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorte und Keimdauer sind in der Tabelle 29 dargestellt.

Wie aus der Tabelle 29 hervorgeht, ändern sich die pH-Werte im Laufe des Keimversuchs im Labor. Sie sind von den Sorten abhängig. Die gemessenen pH-Werte lagen zwischen 5,33 und 9,16. Die Verläufe sind uneinheitlich. In der Tendenz nimmt der pH-Wert im Laufe des Keimversuchs zu, erreicht ein Maximum und nimmt dann ab. Die gemessenen pH-Werte der Schalenextrakte sind etwas höher als die der Knollen.

Tabelle 29: pH-Werte in den Extrakten von verschiedenen Topinambur- und Zichorienschalen nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorte und Keimdauer

Keimdauer (Tage)	0	12	21	33	52
Probebezeichnung					
RoZo	6,01	6,39	9,15	8,67	5,33
Stamm	6,4	6,17	9,66	5,85	5,78
Gigant	6,44	6,33	8,16	8,99	5,99
Medius Lindhoop	6,44	6,51	5,61	8,86	6,89
Medius Brückmann	6,30	8,10	9,28	7,37	5,55
Gute Gelbe	6,21	6,61	5,38	5,30	6,44
Petit Blanc	5,98	6,38	5,88	5,82	6,27
Large White	6,21	7,04	9,16	5,56	6,16
Waldspindel	5,87	5,75		6,00	
Zichorie	9,05	6,64		6,27	

3.2.8.6.2 Extrakt

3.2.8.6.2.1 Extrakt-Messung an verschiedenen Topinamburknollen und an Zichorienwurzeln nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorten und Keimdauer

Die Ergebnisse der Extrakt-Messung verschiedener Topinamburknollen und

Zichorienwurzeln nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorten und Keimdauer sind in der Tabelle 30 dargestellt.

Aus der Tabelle 30 kann geschlossen werden, dass die Extrakt-Werte sich im Laufe des Keimversuchs im Labor ändern. Sie sind von den Sorten abhängig. Die gemessenen Extrakt-Werte lagen zwischen 0 und 13,80. Der Verlauf ist uneinheitlich. Keine deutliche Tendenz lässt sich aus der Tabelle 30 ersehen.

Tabelle 30: Extraktkonzentration verschiedener Topinamburknollen und Zichorienwurzeln in Methanol in % als Funktion der Keimversuchstage (Ernte Oktober bis Dezember 2000)

Probebezeichnung	ganze Knollen				
	Keimdauer (Tage)				
	0	12	21	33	52
RoZo	10,6	8,4	8	8	11,8
Stamm	11,4	9,6	< 0	10	11
Gigant	12	12	5,2	6	11,6
Medius Lindhoop	10,2	10,6	11	9,8	12
Medius Brückmann	15	12	11	10	10,6
Gute Gelbe	10,6	8,4	11	11	11,6
Petit Blanc	12	7,8	11,2	13,8	12
Large White	11,8	10	12	12	12,2
Waldspindel	12,8	1		10,4	
Zichorie	10	9,8		9,8	

3.2.8.6.2.2 Extrakt-Messung verschiedener Topinambur- und Zichorienschalen nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorten und Keimdauer

Die Ergebnisse der Extrakt-Messung verschiedener Topinambur- und Zichorienschalen nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorten und Keimdauer sind in der Tabelle 31 dargestellt.

Aus Tabelle 31 geht hervor dass die Extrakt-Werte sich im Laufe des Keimversuchs im Labor ändern und sind von den Sorten abhängig.

Die gemessenen Extrakt-Werte lagen zwischen 0 und 11. Die Verläufe sind uneinheitlich. Keine deutliche Tendenz lässt sich aus der Tabelle 31 ersehen. Bei den Sorten Medius Linhoop und Petit Blanc wurde ein höherer Gesamtphenolgehalt, in Verbindung mit einem höheren Extrakt extrahiert. Zwischen der Ethylacetat-Methanol-Extraktion und der durch Vakuumbehandlung erhaltenen Proben ergeben sich hinsichtlich gelöster,extraktbildender Stoffe deutliche Unterschiede, und zwar tritt nach Aufnahme des Rückstandes aus der Vakuumdestillation in Methanol ein Verlust ein. Dieser beruht auf das Ausscheiden hochmo-

lekularer, in Methanol unlöslicher Stoffe, wie beispielweise Inulin, Pektin, Hemizellulose usw. Diese verblieben auch im Destillierkolben als klebriger, viskoser Rückstand.

Tabelle 31: Extraktkonzentration verschiedener Topinambur- und Zichorienknollenschalen in Methanol in % als Funktion der Keimversuchstage (Ernte Oktober bis Dezember 2000)

Probebezeichnung	Knollenschalen				
	Keimdauer (Tage)				
	0	12	21	33	52
RoZo	8,2	6,6	<0	4	9,8
Stamm	6	4,2	<0	8,4	9,8
Gigant	4	6	5,2	3	10,8
Medius Lindhoop	8,4	2	8	2,4	8
Medius Brückmann	8	7	0,2	6	10
Gute Gelbe	6,8	5,6	8,8	10,4	8
Petit Blanc	8,2	6,2	9	10	9
Large White	7,8	7,6	<0	10	10
Waldspindel	8,4	11		9,8	
Zichorie	4	7		7,6	

3.2.8.6.3 Spezifische elektische Leitfähigkeit K_{20}

Alle Stoffe, seien es Feststoffe, Flüssigkeiten oder Gase, die bewegliche Ladungsträger aufweisen, wie z.B. Elektronen oder Ionen, besitzen einen endlichen ohmschen Widerstand und damit einen messbaren elektrischen Leitwert oder eine spezifische elektrische Leitfähigkeit. Zur Bestimmung von Konzentrationen interessiert die spezifische Leitfähigkeit K , das ist der Kehrwert des spezifischen Widerstandes ρ : $K = 1/\rho$

$$K = 1/R \cdot k \text{ [Siemens. cm}^{-1}\text{].}$$

k stellt der Zellenkonstante und

ρ den spezifischen Widerstand dar.

3.2.8.6.3.1 Spezifische elektrische Leitfähigkeitsmessung K_{20} verschiedener Extrakte von Topinamburknollen und der Zichorienwurzel nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorte und Keimdauer

Die Ergebnisse der Messung der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit (K_{20}) in Abhängigkeit von der Keimdauer der Extrakte aus ganzen Knollen (Extrakt nach 3.2.6) sind in Tabelle 32 dargestellt.

Verschiedene Verläufe sind aus der Tabelle 32 erkennbar. Während K_{20} bei den Sorten RoZo und Medius Brückmann im Laufe des Keimversuchs zunimmt, ein Maximum erreicht, wieder abnimmt und nimmt dann wieder zu, bei der Zichorie nimmt sie zu, erreicht ein Maximum und nimmt dann ab. Bei den Sorten Gigant, Large White, Stamm, Medius Lindhoop, Medius Brückmann, Gute Gelbe und Waldspindel nimmt K_{20} im Laufe des Keimversuchs ab, erreicht ein Minimum, und nimmt dann zu. Die Sorte Medius Brückmann weist den höchsten K_{20} -Wert nach 12 Keimversuchstagen auf ($9,51 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), gefolgt von dem entsprechenden Wert der Sorte Waldspindel nach 33 Keimversuchstagen ($8,4 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$). Die Sorten Large White, Gute Gelbe, Stamm, RoZo, Medius Lindhoop, Gigant und Zichorie weisen die höchsten K_{20} -Werte ($8,33$; $8,18$; $6,24$; $5,68$; $4,93$; $4,27$ und $5,49 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), nach 52 Keimversuchstagen auf. Bis auf die Sorten RoZo, Stamm, Gigant, Medius Lindhoop und die Zichorie liegen die K_{20} -Werte in den Knollen höher als die der Schalen. Große Tendenz ist die Zunahme der Leitfähigkeit bis 52 Keimdauertagen, schneller Anstieg bis 21. Tage, dann langsamer mit Schwankungen bis zum 52. Tage.

Tabelle 32: Spezifische elektrische Leitfähigkeit K_{20} [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$] der Extrakte aus ganzen Knollen und Wurzeln in Abhängigkeit von der Keimdauer (Tage)

Keimdauer (Tage)	0	12	21	33	52
Probebezeichnung					
RoZo	1,44	1,89	4,25	4,02	5,68
Stamm	1,43	1,37	2,52	3,97	6,24
Gigant	1,47	1,4	3,1	3,16	4,27
Medius Lindhoop	1,35	1,27	5,4	4,88	4,93
Medius Brückmann	1,7	9,51	6,05	6,15	7,25
Gute Gelbe	1,58	1,28	6,94	4,34	8,18
Petit Blanc	1,51	1,22	3,91	6,32	5,97
Large White	1,87	1,56	4,28	6,5	8,33
Waldspindel	6,22	2,34		8,4	
Zichorie	5,05	5,49		4,91	

3.2.8.6.3.2 Spezifische elektrische Leitfähigkeitsmessung K_{20} verschiedener Extrakte von Topinambur- und Zichorienschalen nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorten und Keimdauer

Die Ergebnisse der Leitfähigkeitsmessungen K_{20} in verschiedenen Topinambur- und Zichorienschalenextrakten sind in der Tabelle 33 dargestellt. Zwei Verläufe sind hier erkennbar. Während K_{20} bei den Sorten RoZo, Stamm, Waldspindel und Zichorie im Laufe des Keimversuchs zunimmt, nimmt sie bei den Sorten Medius Lindhoop, Gigant, Medius

Brückmann, Petit Blanc, Large White und Gute Gelbe zu, erreicht ein Maximum und nimmt dann ab. Die Sorte RoZo, Stamm, Medius Brückmann und Petit Blanc weisen den höchsten spezifischen Leitfähigkeitswert nach 52 Keimversuchstagen auf (8,88; 7,78; 7,04 und 4,65 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$). Zichorien, Waldspindel, Gute Gelbe und Large White weisen die höchsten K_{20} -Werte (6,82; 6,80; 6,74 und 5,41 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) nach 33 Keimversuchstagen auf. Bei den Sorten Gigant und Medius Linhoop wurde der höchste K_{20} -Wert (5,44 und 4,98 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) nach 21 Keimversuchstagen gemessen. Die Abgabe an Mineralstoffen in das Lösemittel verlief also uneinheitlich.

Tabelle 33: Spezifische elektrische Leitfähigkeit K_{20} [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$] der Extrakte aus Schalen in Abhängigkeit von der Keimdauer (Tage)

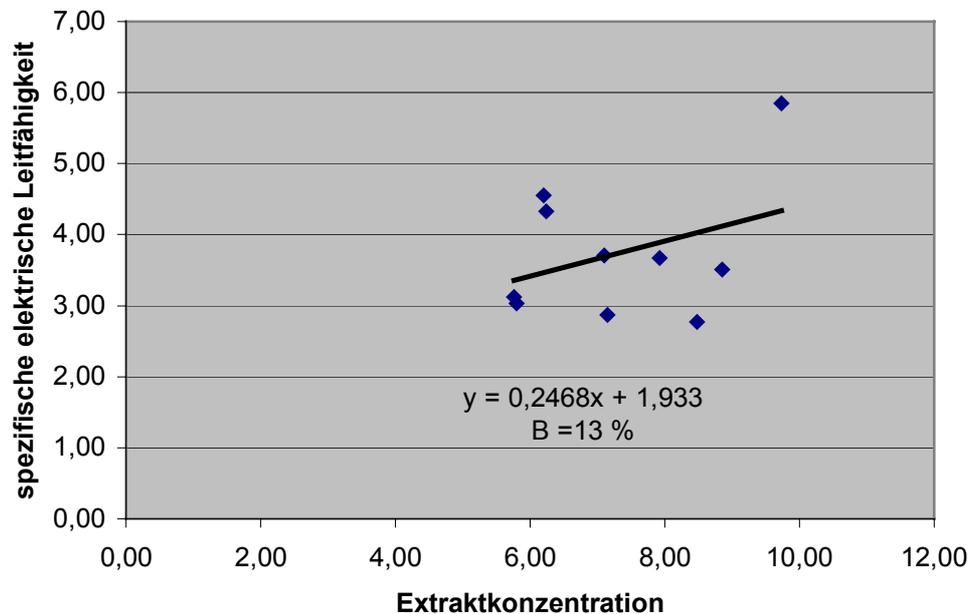
Keimdauer (Tage)	0	12	21	33	52
Probebezeichnung					
RoZo	0,70	1,03	1,26	2,47	8,88
Stamm	0,76	1,02	3,44	5,54	7,78
Gigant	0,66	0,74	5,44	3,18	5,16
Medius Lindhoop	0,81	0,91	4,98	4,04	4,85
Medius Brückmann	0,81	6,70	2,38	4,70	7,04
Gute Gelbe	0,69	0,90	6,43	6,74	3,59
Petit Blanc	0,68	0,77	4,52	3,23	4,65
Large White	0,79	4,29	2,36	5,41	4,71
Waldspindel	5,10	5,64		6,80	
Zichorie	3,10	3,73		6,82	

3.2.8.6.3.3 Zusammenhang zwischen der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit (K_{20}) und der Extraktkonzentration der Extrakte aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen

In diesem Fall soll die Frage beantwortet werden, mit welcher Gesetzmäßigkeit die Messwerte der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit ausgedrückt durch die Mittelwerte der Messreihe während der Keimversuche und den Extraktkonzentrationen der Extrakte aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen, miteinander verbunden sind. Diagramm 22 stellt den Zusammenhang zwischen der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit und der Extraktkonzentration (alle Sorten) dar.

Die Ergebnisse zeigen deutlich (Diagramm 22), dass kein Zusammenhang zwischen der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit, ausgedrückt durch die Mittelwerte der Messreihe während der Keimversuche und der Extraktkonzentration, ausgedrückt durch die Mittelwerte der Messreihe während der Keimversuche der Extrakte aus den Schalen der im La-

bor kultivierten Topinamburknollen besteht. Der Grund hierfür scheint in den Methoden zu liegen. In Diagramm 22 ist zu ersehen, dass die Veränderungen der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit nur zu 13 % durch die Veränderungen der Extraktkonzentration erklärbar sind.



y = spezifische elektrische Leitfähigkeit K_{20} [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$]

x = Extraktkonzentration in g/ 100 ml

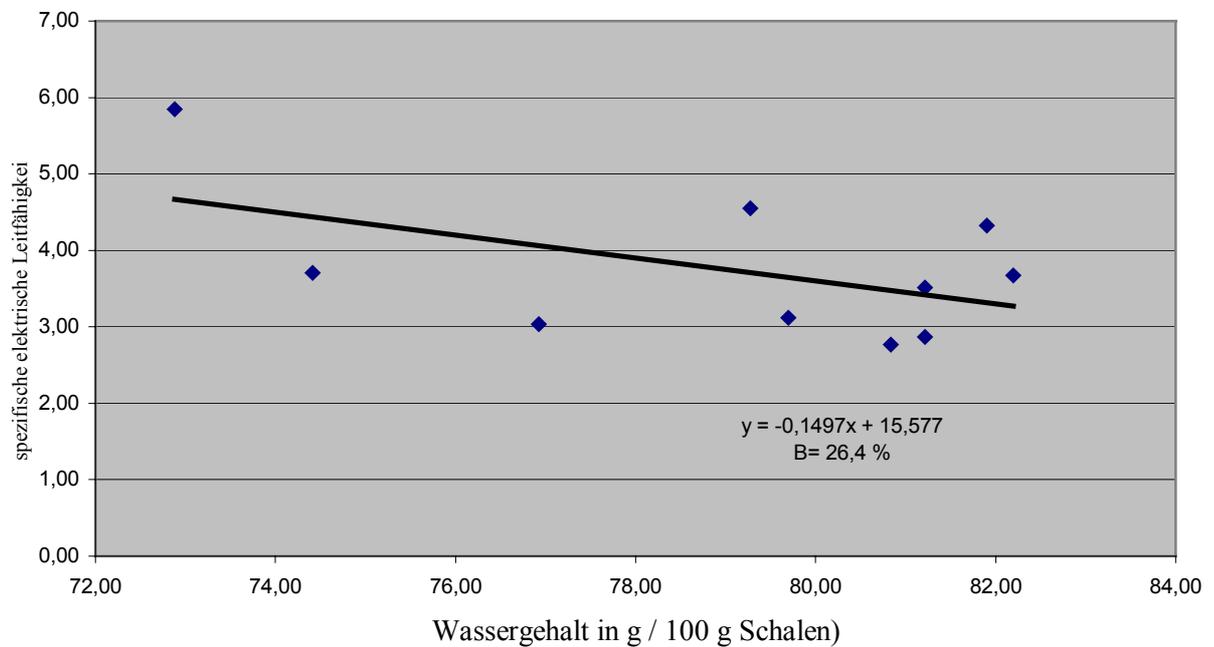
Diagramm 22: Zusammenhang zwischen der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$] und der Extraktkonzentration (g/ 100 ml) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen (alle Sorten).

3.2.8.6.3.4 Zusammenhang zwischen spezifischer elektrischer Leitfähigkeit (K_{20}) und Wassergehalt der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen

Hier soll die Frage beantwortet werden, mit welcher Gesetzmäßigkeit die Messwerte der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit, ausgedrückt durch die Mittelwerte der Messreihe während der Keimversuche und den Wassergehalten der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen, miteinander verbunden sind. Diagramm 23 stellt den Zusammenhang zwischen der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit und dem Wassergehalt (alle Sorten) dar.

Die Ergebnisse zeigen deutlich (Diagramm 23), dass kein Zusammenhang zwischen der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit, ausgedrückt durch die Mittelwerte der Messreihe während der Keimversuche und dem Wassergehalt, ausgedrückt durch die Mittelwerte der Messreihe während der Keimversuche der Extrakten aus den Schalen der im Labor

kultivierten Topinamburknollen besteht. Der Grund hierfür scheint in den Methoden zu liegen. In Diagramm 23 ist deutlich zu ersehen, dass die Veränderungen der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit nur zu 26 % durch die Veränderungen des Wassergehaltes erklärbar sind.



y = spezifische elektrische Leitfähigkeit K_{20} [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$]

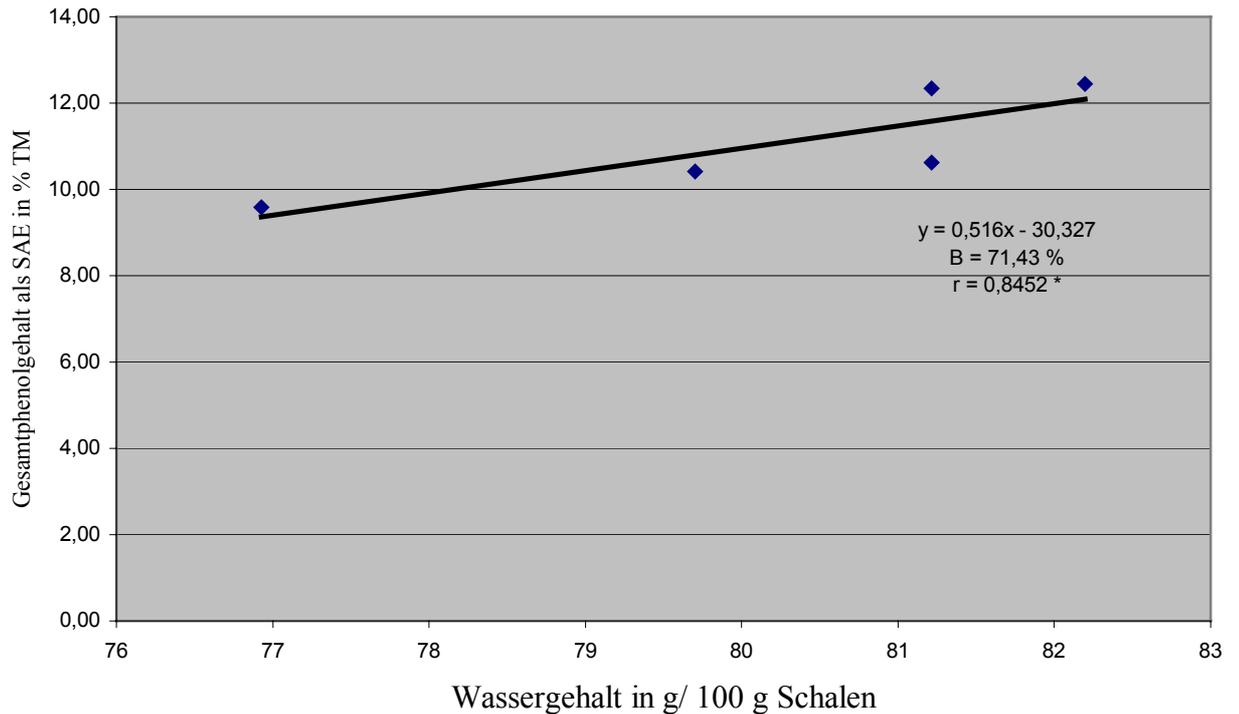
x = Wassergehalt-Werte in g / 100 g Schalen

Diagramm 23: Zusammenhang zwischen spezifischer elektrischer Leitfähigkeit [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$] und Wassergehalt (g/ 100 Schalen) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen (alle Sorten)

Die Zunahme der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit lässt sich durch die Mineralisierung im Laufe des Keimversuche erklären. Die Knollen nehmen durch Wurzeln Makro- und Mikroelemente aus dem aufgedüngt-pflanzfertige Blumenerde auf und speichert diese nur in einem kürzeren Zeitraum.

3.2.8.6.3.5 Zusammenhang zwischen dem Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu als SAE) und dem Wassergehalt der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen

In diesem Fall soll die Frage beantwortet werden, mit welcher Gesetzmäßigkeit die Messwerte des Gesamtphenolgehaltes als SAE, ausgedrückt durch die Mittelwerte der Messreihe während der Keimversuche und den Wassergehalten der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen, miteinander verbunden sind. Diagramm 24 stellt den Zusammenhang zwischen dem Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu als SAE) und dem Wassergehalt (alle Sorten) dar.



y = Gesamtphenol-Werte

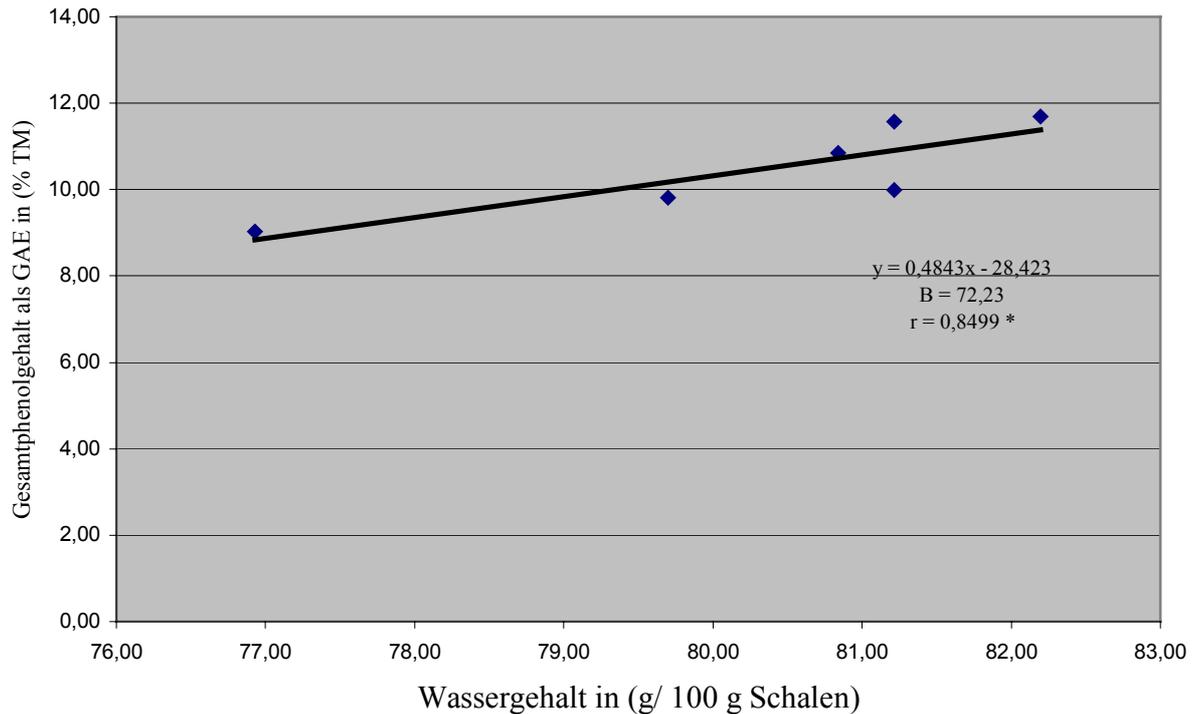
x = Wassergehalt-Werte

Diagramm 24: Zusammenhang zwischen dem Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu als SAE) und dem Wassergehalt der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen (alle Sorten)

Wie aus Diagramm 24 hervorgeht, besteht eine Korrelation ($r = 0,8452$) zwischen dem Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM und dem Wassergehalt (g/100 g Schalen) (alle Sorten). Wenn der Wassergehalt der Schalen steigt, (d.h. die Trockenmasse sinkt), sind die Gesamtphenolwerte hoch und umgekehrt. Aus Diagramm 24 kann geschlossen werden, dass die Veränderungen des Gesamtphenolgehaltes zu 71 % durch die Veränderungen des Wassergehaltes (bzw. Trockenmasse) erklärbar sind.

3.2.8.6.3.6 Zusammenhang zwischen Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu als GAE) und Wassergehalt der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen

In diesem Fall soll die Frage beantwortet werden, mit welcher Gesetzmäßigkeit die Messwerte des Gesamtphenolgehaltes als GAE, ausgedrückt durch die Mittelwerte der Messreihe während der Keimversuche und den Wassergehalten der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen, miteinander verbunden sind. Diagramm 25 stellt den Zusammenhang zwischen Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu als GAE) und Wassergehalt (alle Sorten) dar.



y = Gesamtphenol-Werte

x = Wassergehalt-Werte

Diagramm 25: Zusammenhang zwischen Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu als GAE) und Wassergehalt der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen (alle Sorten)

Wie aus Diagramm 25 hervorgeht, besteht eine Korrelation ($r = 0,8499$) zwischen dem Gesamtphenolgehalt als GAE in % TM und dem Wassergehalt (g/100 g Schalen) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen (alle Sorten).

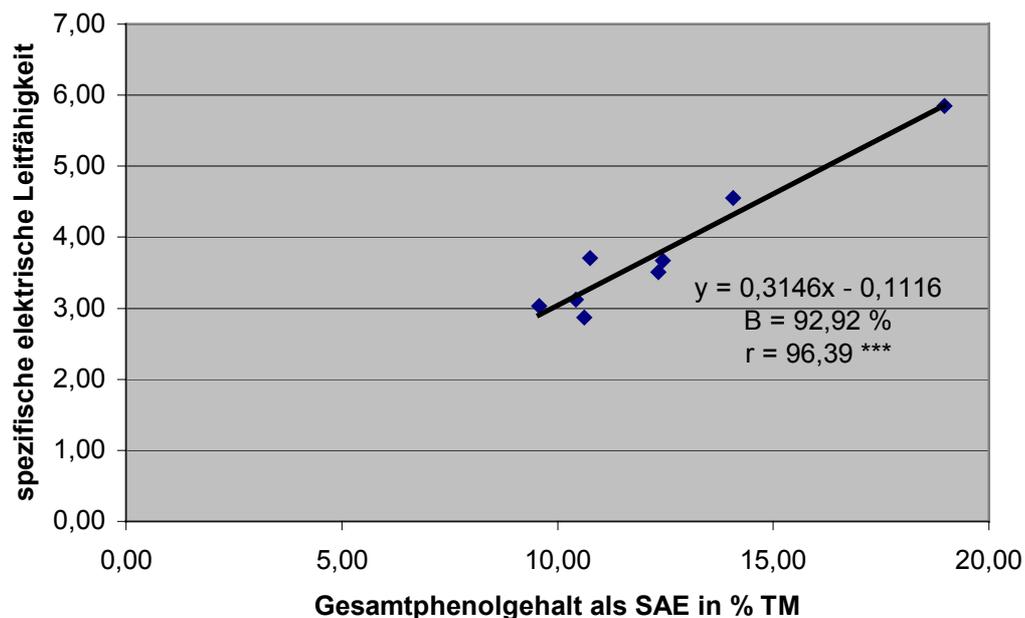
Wenn der Wassergehalt der Schalen steigt, (d.h. die Trockenmasse sinkt), sind die Gesamtphenol-Werte hoch und umgekehrt. Aus Diagramm 25 kann geschlossen werden, dass die Veränderungen des Gesamtphenolgehaltes zu 72 % durch die Veränderungen des Wassergehaltes (bzw. Trockenmasse) erklärbar sind.

Der Zusammenhang zwischen Wassergehalt (g/ 100 Schalen) und Gesamtphenolgehalt (alle Sorten) ist nicht abhängig von der Bezugs substanz. Die Korrelationskoeffizienten sind fast gleich ($r = 0,84$ und $r = 0,85$), egal ob der Gesamtphenolgehalt als Gallussäure-Äquivalent (GAE) oder Salicylsäure-Äquivalent (SAE) ausgedrückt ist (Diagramm 24 und Diagramm 25). Der lineare Zusammenhang ist zwischen dem Wassergehalt (g/ 100 Schalen) und dem Gesamtphenolgehalt als GAE (nach Folin-Ciocalteu und nach Paupardin extrahiert) in den Schalen der frisch geernteten Topinamburknollen (alle Sorten, Diagramm 19, $r = 0,9792$) besser erfüllt als zwischen dem Wassergehalt (g/ 100 Schalen) und dem

Gesamtphenolgehalt als GAE (nach Folin-Ciocalteu und nach eigener Extraktionsmethode erfasst, alle Sorten, Diagramm 25, $r = 0,85$). Die Ursache liegt in der Anzahl der Messpunkte. Die gewonnenen Messwerte bei den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen (nach eigener Extraktionsmethode erfasst) nähern sich als Mittelwerte besser der Realität.

3.2.8.6.3.7 Zusammenhang zwischen spezifischer elektrischer Leitfähigkeit K_{20} und Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu als SAE)

In diesem Fall soll die Frage beantwortet werden, mit welcher Gesetzmäßigkeit die Messwerte der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit, ausgedrückt durch die Mittelwerte der Messreihe während der Keimversuche und den Gesamtphenolgehalten der Extrakten aus den Schalen, miteinander verbunden sind. Diagramm 26 stellt den Zusammenhang zwischen der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit und dem Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu) (alle Sorten) dar.



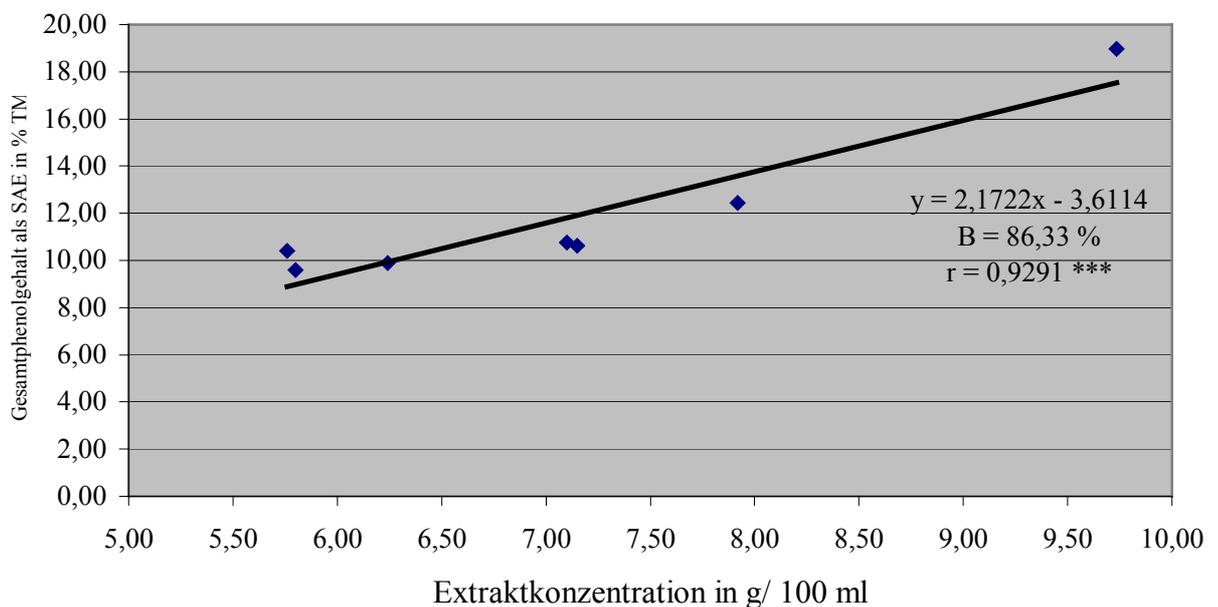
$y =$ spezifische elektrische Leitfähigkeit K_{20} [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$] $x =$ Gesamtphenol-Werte

Diagramm 26: Zusammenhang zwischen spezifischer elektrischer Leitfähigkeit K_{20} [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$] und Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) (alle Sorten)

Wie aus Diagramm 26 hervorgeht, besteht eine Korrelation ($r = 0,9639$) zwischen der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit K_{20} [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$] und dem Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (alle Sorten). Aus Diagramm 26 kann geschlossen werden, dass die Veränderungen der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit K_{20} zu 93 % durch die Veränderungen des Gesamtphenolgehaltes erklärbar sind.

3.2.8.6.3.8 Zusammenhang zwischen der Extraktkonzentration und dem Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu als SAE) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen

In diesem Fall soll die Frage beantwortet werden, mit welcher Gesetzmäßigkeit die Messwerte der Extraktkonzentration, ausgedrückt durch die Mittelwerte der Messreihe während der Keimversuche und den Gesamtphenolgehalten der Extrakten aus den Schalen, miteinander verbunden sind. Diagramm 27 stellt den Zusammenhang zwischen der Extraktkonzentration und dem Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen (alle Sorten) dar.



y = Gesamtphenol-Werte
x = Extraktkonzentration-Werte

Diagramm 27: Zusammenhang zwischen Extraktkonzentration (g/ 100 ml) und Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) (alle Sorten)

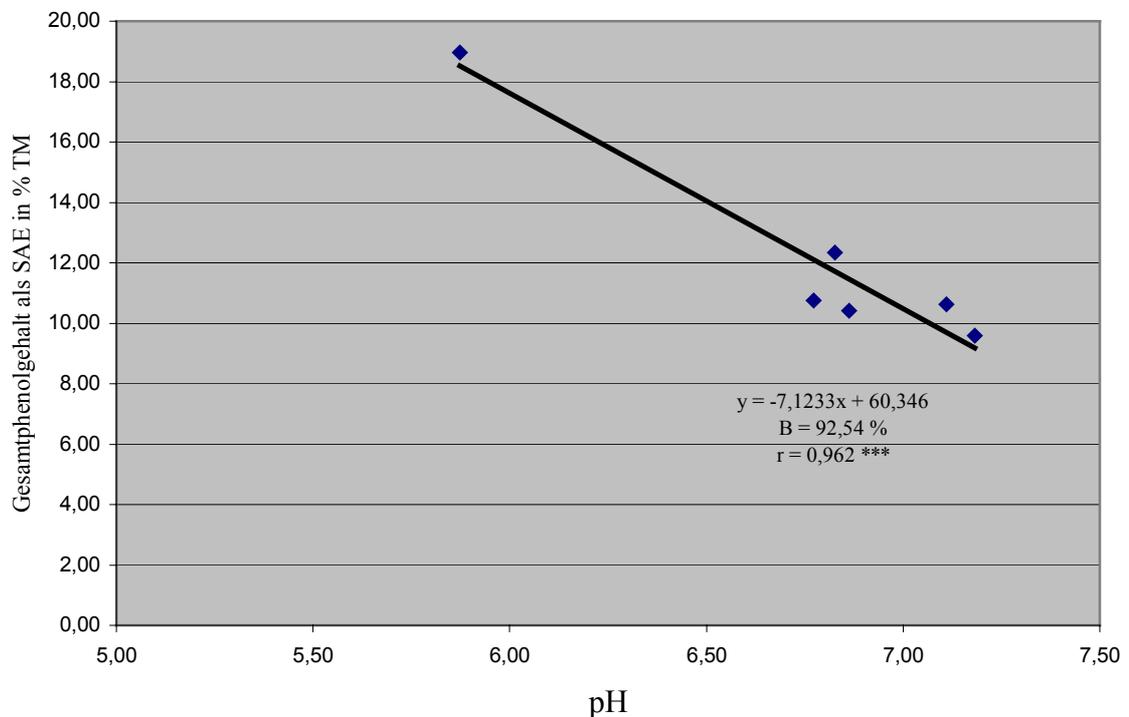
Wie aus Diagramm 27 hervorgeht, besteht eine Korrelation ($r = 0,9291$) zwischen Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM und Extraktkonzentration (g/100 ml) (alle Sorten).

Aus Diagramm 27 kann geschlossen werden, dass die Veränderungen des Gesamtphenolgehaltes zu 86 % durch die Veränderungen der Extraktkonzentration erklärbar sind.

3.2.8.6.3.9 Zusammenhang zwischen den pH-Werten und dem Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu als SAE)

In diesem Fall soll die Frage beantwortet werden, mit welcher Gesetzmäßigkeit die Messwerte der pH, ausgedrückt durch die Mittelwerte der Messreihe während der Keimversuche und den Gesamtphenolgehalten der Extrakten aus den Schalen, miteinander verbunden

sind. Diagramm 28 stellt den Zusammenhang zwischen pH und Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen (alle Sorten) dar.



y = Gesamtphenol-Werte
x = pH-Werte

Diagramm 28: Zusammenhang zwischen pH und Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen (alle Sorten)

Wie aus Diagramm 28 hervorgeht, besteht eine Korrelation ($r = 0,962$) zwischen Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM und pH (alle Sorten). Der Gesamtphenolgehalt sinkt mit zunehmendem pH. Der Grund hierfür scheint darin zu liegen, dass die phenolische Verbindungen nicht stabil bei zunehmendem pH sind. Aus Diagramm 28 kann geschlossen werden, dass die Veränderungen des Gesamtphenolgehaltes zu 92 % durch die Veränderungen des pHs erklärbar sind.

3.2.8.6.4 Physikalische Messungen an verschiedenen frisch geernteten Topinamburknollen in Abhängigkeit von den Extraktionsstufen

Es sollte überprüft werden, ob sich durch die erforderliche mehrstufige Extraktion der frischen Knollen Veränderungen in pH und rH einstellen. Es könnten Oxidationsvorgänge die Aussage verfälschen und die Qualität der Polyphenole beeinflussen, z.B. Oxidation und Polymerisation. Dabei ist zu berücksichtigen, dass die Knolle zwischen 72 und 85 %

an freier Feuchte enthält (siehe Tabelle 19) und das Wasser teilweise in das Lösemittel übergeht. Die Ergebnisse der physikalischen Messungen an frisch geernteten Topinamburknollen in Abhängigkeit von den Extraktionsstufen sind in der Tabelle 34 dargestellt.

Tabelle 34: Physikalische Messungen an frisch geernteten Topinamburknollen in Abhängigkeit von den Extraktionsstufen Ethylacetat-Methanol = 1:1 (Ernte November 2000)

Sorten	pH			RH (mV)			K ₂₀ [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$]		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Gigant	6,67	6,52	6,67	244	250	248	1,74	0,69	0,22
Gute Gelbe	6,64	6,58	6,66	240	240	250	1,74	0,65	0,24
Medius Lindhoop	6,74	6,62	6,89	240	249	246	1,47	0,53	0,32
RoZo	6,74	6,65	6,83	242	244	246	1,55	0,55	
Stamm	6,30	6,40	6,50	254	242	246	1,89	0,83	0,53
Wildacker	6,19	6,64	6,78	260	234	262	1,65	0,72	0,46

1; 2; 3: Extraktionsstufe

Aus der Tabelle 34 ist zu ersehen, dass der pH-Wert in der 3. Extraktion noch sehr stabil bleibt. Die rH-Werte, die im schwach oxidierten Bereich liegen, weisen mit steigender Extraktion keine einheitliche Tendenz auf. Deutlich verringert sich die Abgabe an Mineralstoffen in das Lösemittel mit steigender Extraktionsstufe (Abhängigkeit von Extraktkonzentration). Das kann auch mit dem Übertritt des knolleneigenen Wassers als Transportmittel zusammenhängen.

3.2.8.6.5 Gesamtphenolbestimmung in einer Lösung unterschiedlicher Konzentration an Vergleichssubstanzen mit oder ohne 1 % iger Ascorbinsäure.

Eine Modelllösung, die 1 g/l Gallussäure, Catechin, Chlorogensäure, Epicatechin, 4-Hydroxibenzoesäure, Vanillinsäure, Kaffeesäure, p-Cumarsäure und Ferulasäure alles gesamt enthält, wurde hergestellt. Steigenden Konzentrationen dieser Lösung wurden 1 % Ascorbinsäure zugesetzt. Es sollte überprüft werden, ob sich durch einen Ascorbinsäurezusatz Veränderungen im Ergebnis an Gesamtphenolen, pH, rH und K₂₀ einstellen. Die Ergebnisse der Gesamtphenole und der physikalischen Messungen in Abhängigkeit von der Modelllösung-Konzentration sind in der Tabelle 35 dargestellt.

Tabelle 35: Gesamtphenole, pH, rH, K_{20} und ihre Veränderungen durch 1 % Ascorbinsäure.

Konzentration der Modelllösung (mg/l)	Ohne Ascorbinsäure				mit 1% Ascorbinsäure			
	100	200	300	400	100	200	300	400
Gesamtphenole (mg GAE/l)	834,60	1453,20	1815	2223,15	1495,65	2439,75	2555,1	2871,6
spez. elek. Leitfähigkeit K_{20} ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	6,00	6,00	5,00	6,5	5,60	5,80	6,50	10,8
rH (mV)	490	490	490	490	400	400	400	400
pH	4,34	4,43	4,16	4,1	4,33	3,54	3,50	3,79

Aus der Tabelle 35 kann geschlossen werden, dass ein Zusatz von 1 % Ascorbinsäure die Extinktion bei der Folin-Ciocalteu-Bestimmung den Gesamtphenolwert erhöht. Diese Zunahme hat sich bei der Modelllösung (100 mg/l) fast verdoppelt. Während der spezifische elektrische Leitfähigkeitswert bei der Modelllösung mit steigender Konzentration ohne Ascorbinsäure sehr stabil bleibt, nimmt er nach Zusatz von Ascorbinsäure mit steigender Konzentration an Vergleichssubstanzen zu. Der spezifische elektrische Leitfähigkeitswert hat sich in der Modelllösung (400 mg/l) mit 1 % Ascorbinsäure fast verdoppelt. Die rH-Werte, die im schwach oxidierten Bereich liegen, bleiben jedoch mit steigender Konzentration an Vergleichssubstanzen stabil. Die Ascorbinsäure hat nur einen geringen Einfluss auf die spezifische elektrische Leitfähigkeit. Der pH-Wert bleibt bei der Modelllösung ohne Ascorbinsäure stabil und verringert sich erwartungsgemäss nach dem Zusatz von Ascorbinsäure.

3.2.8.7 Linearität der Extinktionen verschiedener phenolischer Verbindungen bei $\lambda = 720 \text{ nm}$ ($s = 1 \text{ cm}$) und $\lambda = 760 \text{ nm}$ ($s = 1 \text{ cm}$) (eigene Messungen)

Die Linearität der Extinktionen verschiedener phenolischer Verbindungen bei $\lambda = 720 \text{ nm}$ ($s = 1 \text{ cm}$) und $\lambda = 760 \text{ nm}$ ($s = 1 \text{ cm}$) ist in Tabelle 36 a und Tabelle 36 b dargestellt. Tabelle 36 a und 36 b (siehe Anlagen)

Aus den Ergebnissen, dargestellt in Tabelle 36 a und Tabelle 36 b, kann geschlossen werden, dass jede phenolische Verbindung ihr UV-Absorptionsverhältnis hat und dass dieses UV-Absorptionsverhältnis konzentrations- und wellenlängenabhängig ist.

3.2.8.8 Dekadische molare Extinktionskoeffizienten der untersuchten phenolischen Verbindungen in Methanol in Abhängigkeit von der Wellenlänge (eigene Messungen)

Die dekadischen molaren Extinktionskoeffizienten der untersuchten phenolischen Verbindungen in Methanol in Abhängigkeit von der Wellenlänge sind in Tabelle 37 a und Tabelle 37 b dargestellt.

Tabelle 37 a (mit Fortsetzung): Dekadische molare Extinktionskoeffizienten der untersuchten phenolische Verbindungen in Methanol in Abhängigkeit der Wellenlänge

Reihe Folge	Verbindung	χ_n bei λ_{\max}	Verbindung	χ_n bei λ_{280}
1	Chlorogensäure	$\lambda_{\max} = 341$ M = 354,32 $\chi_n = 13934$	Chlorogensäure	$\lambda = 280$ M = 354,32 $X_{280} = 5474$
2	Aesculin	$\lambda_{\max} = 350$ M = 340,31 $\chi_n = 11656$	Ellagsäure	$\lambda = 280$ M = 338,23 $X_{280} = 4964$
3	Sinapinsäure	$\lambda_{\max} = 341$ M = 224,32 $\chi_n = 9904$	Epicatechin	$\lambda = 280$ M = 290,28 $X_{280} = 4028$
4	Scopoletin	$\lambda_{\max} = 346$ M = 192,17 $\chi_n = 9719$	Protocatechusäure	$\lambda = 280$ M = 154,12 $X_{280} = 3206$
5	Ellagsäure	$\lambda_{\max} = 364,5$ M = 338,23 $\chi_n = 9572$	Gallussäure	$\lambda = 280$ M = 170,13 $X_{280} = 3203$
6	Salicylsäure	$\lambda_{\max} = 344,5$ M = 138,12 $\chi_n = 7241$	Sinapinsäure	$\lambda = 280$ M = 224,32 $X_{280} = 2922$
7	Umbelliferon	$\lambda_{\max} = 341$ M = 162,14 $\chi_n = 7223$	Syringasäure	$\lambda = 280$ M = 198,18 $X_{280} = 2779$
8	2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoessäure	$\lambda_{\max} = 341$ M = 228,12 $\chi_n = 6353$	2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoessäure	$\lambda = 280$ M = 228,12 $X_{280} = 2635$
9	Cumarin-3-Carbonsäure	$\lambda_{\max} = 341$ M = 190,16 $\chi_n = 6024$	Ferulasäure	$\lambda = 280$ M = 194,19 $X_{280} = 2476$
10	Kaffeensäure	$\lambda_{\max} = 350$ M = 180,16 $\chi_n = 5828$	4-Hydroxicumarin	$\lambda = 280$ M = 162,15 $X_{280} = 2347$
11	Gentisinsäure	$\lambda_{\max} = 341$ M = 154,12 $\chi_n = 4323$	p-Cumarsäure	$\lambda = 280$ M = 164,16 $X_{280} = 2265$
12	Epicatechin	$\lambda_{\max} = 286,5$ M = 290,28 $\chi_n = 4231$	Salicylsäure	$\lambda = 280$ M = 138,12 $X_{280} = 2144$
13	Protocatechusäure	$\lambda_{\max} = 233,2$ M = 154,12 $\chi_n = 3595$	3-Hydroxizimtsäure	$\lambda = 280$ M = 164,16 $X_{280} = 2105$
14	Ferulasäure	$\lambda_{\max} = 257,8$ M = 194,19 $\chi_n = 3423$	Cumarin-3-Carbonsäure	$\lambda = 280$ M = 190,16 $X_{280} = 2008$
15	Syringasäure	$\lambda_{\max} = 220$ M = 198,18 $\chi_n = 3384$	Umbelliferon	$\lambda = 280$ M = 162,14 $X_{280} = 1990$
16	Gallussäure	$\lambda_{\max} = 270$ M = 170,13 $\chi_n = 3275$	Catechin	$\lambda = 280$ M = 290,28 $X_{280} = 1981$

Tabelle 37 a (Fortsetzung): Dekadische molare Extinktionskoeffizienten der untersuchten phenolischen Verbindungen in Methanol in Abhängigkeit von der Wellenlänge

Reihe Folge	Verbindung	χ_n bei λ_{\max}	Verbindung	χ_n bei λ_{280}
17	4-Hydroxicumarin	$\lambda_{\max} = 217$ M = 162,15 $\chi_n = 2874$	Vanillinsäure	$\lambda = 280$ M = 168,14 $X_{280} = 1358$
18	p-Cumarsäure	$\lambda_{\max} = 304,8$ M = 164,16 $\chi_n = 2491$	Kaffeensäure	$\lambda = 280$ M = 180,16 $X_{280} = 1333$
19	3-Hydroxizimtsäure	$\lambda_{\max} = 265$ M = 164,16 $\chi_n = 2343$	4-Hydroxibenzoessäure	$\lambda = 280$ M = 138,12 $X_{280} = 1032$
20	Catechin	$\lambda_{\max} = 256$ M = 290,28 $\chi_n = 2213$	Scopoletin	$\lambda = 280$ M = 192,17 $X_{280} = 841$
21	Vanillinsäure	$\lambda_{\max} = 256,5$ M = 168,14 $\chi_n = 1530$	Gentisinsäure	$\lambda = 280$ M = 154,12 $X_{280} = 493$
22	4-Hydroxibenzoessäure	$\lambda_{\max} = 260$ M = 138,12 $\chi_n = 1174$	Aesculin	$\lambda = 280$ M = 340,31 $X_{280} = 238$

χ_n = Dekadische molare Extinktionskoeffizienten in $\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

λ = Wellenlänge in nm

λ_{\max} = Wellenlänge der Absorptionsmaximum in nm M = Molmasse in $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$

Tabelle 37 b (mit Fortsetzung): Dekadische molare Extinktionskoeffizienten der untersuchten phenolischen Verbindungen in Methanol in Abhängigkeit von der Wellenlänge (bei $\lambda = 720$ nm und $\lambda = 760$ nm)

Reihe Folge	Verbindung	χ_n bei λ_{720}	χ_n bei λ_{760}
1	Ellagsäure	$y = 329,73x + 0,113$ B = 0,9897 r = 0,9948 $\chi_{720} = 330$	$y = 325,12x + 0,1448$ B = 0,9879 r = 0,9939 $\chi_n = 325$
2	Epicatechin	$y = 296,32x + 0,062$ B = 0,9989 r = 0,9994 *** $X_{720} = 296$	$y = 291,19x + 0,0861$ B = 0,9987 r = 0,9993 $\chi_{760} = 292$
3	Catechin	$y = 276,83x + 0,0543$ B = 0,9987 r = 0,9993 *** $\chi_{720} = 277$	$y = 276,19x + 0,0757$ B = 0,9969 r = 0,9984 *** $\chi_{760} = 276$
4	Chlorogensäure	$y = 267,77x + 0,0249$ B = 0,9984 r = 0,9992 *** $X_{720} = 268$	$y = 282,19x + 0,0367$ B = 0,9977 r = 0,9988 *** $X_{760} = 282$
5	Sinapinsäure	$y = 217,77x + 0,1094$ B = 0,9868 r = 0,9934 $\chi_{720} = 218$	$y = 322,88x - 0,0175$ B = 0,9988 r = 0,9994 *** $X_{760} = 323$
6	Gallussäure	$y = 210,29x + 0,0249$ B = 0,9994 r = 0,9997 *** $\chi_{720} = 210$	$y = 218,3x + 0,0516$ B = 0,9992 r = 0,9996 *** $\chi_{760} = 218$

Tabelle 37 b (Fortsetzung): Dekadische molare Extinktionskoeffizienten der untersuchten phenolischen Verbindungen in Methanol in Abhängigkeit von der Wellenlänge

Reihe Folge	Verbindung	χ_n bei λ_{720}	χ_n bei λ_{760}
7	Kaffeesäure	$y = 208,42x + 0,037$ B = 0,9992 $r = 0,9996$ *** $\chi_{720} = 208$	$y = 210,04x + 0,0628$ B = 0,998 $r = 0,9990$ *** $\chi_{760} = 210$
8	Ferulasäure	$y = 159,55x + 0,0482$ B = 0,9987 $r = 0,9993$ *** $\chi_{720} = 160$	$y = 166,61x + 0,0685$ B = 0,9980 $r = 0,9990$ *** $\chi_{760} = 167$
9	Protocatechusäure	$y = 154,12x - 0,0055$ B = 0,9978 $r = 0,9989$ *** $\chi_{720} = 154$	$y = 161,4x + 0,0139$ B = 0,9979 $r = 0,9989$ *** $\chi_{760} = 161$
10	Scopoletin	$y = 150,79x + 0,022$ B = 0,9994 $r = 0,9997$ *** $\chi_{720} = 151$	$y = 152,13x + 0,0335$ B = 0,9992 $r = 0,9996$ *** $\chi_{760} = 152$
11	Vanillinsäure	$y = 145,54x + 0,0713$ B = 0,9943 $r = 0,9771$ *** $\chi_{720} = 146$	$y = 149,7x + 0,0926$ B = 0,9923 $r = 0,9961$ *** $\chi_{760} = 150$
12	Aesculin	$y = 135,01x - 0,0008$ B = 0,9971 $r = 0,9998$ *** $\chi_{720} = 135$	$y = 147,59x + 0,0053$ B = 0,9926 $r = 0,9963$ *** $\chi_{760} = 147$
13	Gentisinsäure	$y = 125,92x - 0,0185$ B = 0,9994 $r = 0,9997$ *** $\chi_{720} = 126$	$y = 133,52x - 0,0015$ B = 0,9995 $r = 0,9997$ *** $\chi_{760} = 133$
14	p-Cumarsäure	$y = 116,89x + 0,0413$ B = 0,9974 $r = 0,9987$ *** $\chi_{720} = 117$	$y = 124,23x + 0,0574$ B = 0,9964 $r = 0,9982$ *** $\chi_{760} = 124$
15	3-Hydroxizimtsäure	$y = 88,46x + 0,0191$ B = 0,9882 $r = 0,9941$ *** $\chi_{720} = 88$	$y = 95,463x + 0,0302$ B = 0,9885 $r = 0,9942$ *** $\chi_{760} = 95$
16	4-Hydroxibezoensäure	$y = 82,357x + 0,0426$ B = 0,9932 $r = 0,9966$ *** $\chi_{720} = 82$	$y = 87,933x + 0,0629$ B = 0,9934 $r = 0,9967$ *** $\chi_{760} = 88$
17	Syringasäure	$y = 66,358x + 0,0201$ B = 0,9846 $r = 0,9923$ *** $\chi_{720} = 66$	$y = 76,316x + 0,0236$ B = 0,9836 $r = 0,9918$ *** $\chi_{760} = 76$

Tabelle 37 b (Fortsetzung): Dekadische molare Extinktionskoeffizienten der untersuchten phenolischen Verbindungen in Methanol in Abhängigkeit von der Wellenlänge

Reihe Folge	Verbindung	χ_n bei λ_{720}	χ_n bei λ_{760}
18	Salicylsäure	$y = 56,349x + 0,0254$ B = 0,995 $r = 0,9975$ *** $\chi_{720} = 56$	$y = 77,672x - 0,0005$ B = 0,9997 $r = 0,9998$ *** $\chi_{760} = 78$
19	Umbelliferon	$y = 44,218x + 0,0697$ B = 0,9811 $r = 0,9905$ *** $\chi_{720} = 44$	$y = 45,438x + 0,0788$ B = 0,9763 $r = 0,9880$ *** $\chi_{760} = 46$
20	Cumarin-3-Carbonsäure	ergibt keine blaue Farbe mit Folin-Ciocalteu Phenol-Reagenz	ergibt keine blaue Farbe mit Folin-Ciocalteu Phenol-Reagenz
21	2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoesäure	ergibt keine blaue Farbe mit Folin-Ciocalteu Phenol-Reagenz	ergibt keine blaue Farbe mit Folin-Ciocalteu Phenol-Reagenz
22	4-Hydroxicumarin	ergibt keine blaue Farbe mit Folin-Ciocalteu Phenol-Reagenz	ergibt keine blaue Farbe mit Folin-Ciocalteu Phenol-Reagenz

y = Extinktionswerte

x = Konzentrationswerte

Wie aus den Tabellen 37 a und 37 b hervorgeht, hat jede phenolische Verbindung ihren dekadischen molaren Absorptionskoeffizienten, welcher nach Beilstein lösemittel- und geräteabhängig ist. Alle untersuchten phenolischen Verbindungen absorbieren bei 280 nm. Einige phenolische Verbindungen, wie 4-Hydroxicumarin, 2-Hydroxi-3-5 Dinitrobenzoesäure und Cumarin-3-Carbonsäure, ergeben keine Farbreaktion mit der Folin-Ciocalteu Phenolreagenz. Tabelle 38 stellt die eigenen Messungen der dekadischen molaren Absorptionskoeffizienten den aus der Beilstein-Datenbank gegenüber.

Tabelle 38: Vergleich der dekadischen molaren Absorptionskoeffizienten in Methanol.

Verbindung	eigene Messungen		Beilstein-Datenbank	
	λ_{\max} in nm	χ_n bei λ_{\max} in $\text{l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$	λ_{\max} in nm	χ_n bei λ_{\max} in $\text{l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$
Chlorogensäure	341 280	13934 5474		nicht vorhanden
Aesculin	350 280	11656 238		nicht vorhanden
Sinapinsäure	341 280	9904 2922		nicht vorhanden
Scopoletin	346 280	9719 841	228 252 297 394	10000 3467 3631 8318
Ellagsäure	364,5 280	9572 4964	369 380	10160 11100
Salicylsäure	344,5 280	7241 2144		nicht vorhanden
Umbelliferon	341 280	7223 1990	204 324	21380 12589
2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoesäure	341 280	6353 2635		nicht vorhanden
Cumarin-3-Carbonsäure	341 280	6024 2008		nicht vorhanden
Kaffeesäure	350 280	5828 1333		nicht vorhanden
Gentisinsäure	341 280	4323 493		nicht vorhanden
Epicatechin	286,5 280	4231 4028	280,5	2630
Protocatechusäure	233,2 280	3595 3206		nicht vorhanden
Ferulasäure	257,8 20	3423 2476		nicht vorhanden
Syringasäure	220 280	3384 2779		nicht vorhanden
Gallussäure	270 280	3275 3203		nicht vorhanden
4-Hydroxicumarin	217 280	2874 2347	217 268 280 305	25119 10000 12589 10000
p-Cumarsäure	304,8 280	2491 2265	230 312 226 288	10233 18197 10471 19055
3-Hydroxizimtsäure	265 280	2343 2105		nicht vorhanden
Catechin	256 280	2213 1981		nicht vorhanden
Vanillinsäure	256,5 280	1530 1358	262 293	11749 5888
4-Hydroxibenzoessäure	260 280	1174 1032		nicht vorhanden

Die Werte sind nicht vergleichbar, weil sie möglicherweise geräteabhängig sind.

3.3 Schnellbestimmung der reduzierenden Kräfte, nach MEBAK (DPI)

Die MEBAK-Methode bestimmt die wirksame reduktive Eigenschaft des abgefüllten Bieres und teilt diese ein in:

> 60	sehr gut
50-60	gut
45-50	befriedigend
< 45	schlecht.

Das gemessene Reduktionsvermögen ist eine dimensionslose Zahl und gibt an, wieviel Prozent der zugegebenen DPI-Menge in 4 ml Probe innerhalb von 60 sec reduziert werden. Im Vergleich zu dieser Angabe hätten die frisch geernteten Knollen unter Schutzgas ausgepresst und das Reduktionsvermögen direkt im Presssaft bestimmt werden müssen. Die hier in Tabellen 39 und Tabelle 40 getroffenen Aussagen beziehen sich auf die Analysemethode (ohne Schutzgas), wobei die Ultrabeschallung, die Temperatur und das Vakuum grundsätzlich Gase austreiben.

3.3.1 Reduzierende Kräfte der Topinamburknollen und der Zichorienwurzeln

Die Resultate der Schnellbestimmung der reduzierenden Kräfte nach MEBAK an Topinamburknollen und Zichorienwurzeln sind in Tabelle 39 dargestellt.

Tabelle 39: Reduktionsvermögen nach MEBAK [%] der Extrakte aus Topinamburknollen und Zichorienwurzeln nach Extraktion, Vakuumverdampfung und Auswaschen des Rückstandes mit Methanol (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Sorten	Keimversuchsdauer (Tage)				
	0	12	21	33	52
Gute Gelbe	87,60		97,50	95,80	96,70
Petit Blanc	86,30		84,80	97,00	96,50
Waldspindel	97,00	76,40		nicht meßbar	
Zichorie	90,40	93,50		86,50	

Der Verlauf ist für alle untersuchten Sorten uneinheitlich im sehr guten Bereich. Die Sorten Gute Gelbe, Waldspindel und Petit Blanc weisen die höchsten Reduktionsvermögen mit 97 [%] auf. Die Maxima unterscheiden sich nach den Keimversuchstagen. Es könnte einen Hinweis auf die Reifeausbildung sein, so dass die frühreifen Sorten, wie Waldspindel, das Maximum zuerst erreichen. Trotz mehrfacher Sauerstoff-Kontakte bei der dreimaligen Extraktion ist noch ein hohes reduktives Potential in der untersuchten Methanol-

Extraktionsstufe vorhanden. Bei gefärbten Proben: gelb durch die Farbstoffe der Sorte „Gute Gelbe“ bzw. rot bei den Sorten RoZo, Stamm und Waldspindel stellen sich Mischfarben ein, welche das Reduktionsvermögen verfälschen können. Ähnliche Verhältnisse der Farbbeeinflussung wurden in analogen Messversuchen bei dunklen und schwarzen Bieren beobachtet. Die gemessenen Werte an Topinamburknollen und Zichorienwurzeln im Verlauf der Keimversuche liegen über 70 %, was „sehr gut“ auf der Skala entspricht.

3.3.2 Reduzierende Kräfte der Topinambur- und Zichorienschalen, nach MEBAK bestimmt

Die Ergebnisse der Schnellbestimmung der reduzierenden Kräfte nach MEBAK an Topinambur- und Zichorienschalen sind in Tabelle 40 dargestellt.

Tabelle 40: Reduktionsvermögen [%] der Extrakte aus Topinambur- und Zichorienschalen nach Extraktion, Vakuumverdampfung und Auswaschen des Rückstandes mit Methanol (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Topinambursorte	Keimversuchsdauer (Tage)				
	0	12	21	33	52
Gute Gelbe	37,70		79,60	84,00	47,30
Petit Blanc	69,80		75,30	55,60	46,20
Waldspindel	43,30	56,80		88,00	
Zichorie	46,50	76,40		63,00	

Zwei Verläufe sind aus der Tabelle 40 erkennbar. Während das Reduktionsvermögen des Schalenanteils der Sorte Waldspindel im Laufe des Keimversuchs stetig zunimmt, nimmt es bei den restlichen untersuchten Sorten zu, erreicht ein Maximum und nimmt dann ab. Die Sorte Waldspindel weist in den Schalen das höchste Reduktionsvermögen nach 33 Keimversuchstagen auf (88 %), gefolgt von der Schalenfraktion der Sorte Gute Gelbe nach 33 Keimversuchstagen (84 %), Zichorie nach 12 Keimversuchstagen (76 %) und Petit Blanc nach 21 Keimversuchstagen (75 %). Das Maximum liegt für alle Sorten über 70 %, was „sehr gut“ auf der Skala entspricht. Betrachtet man die Tabellen 39 und 40, so merkt man, dass sich das Reduktionsvermögen bei den untersuchten Sorten mehr in den ganzen Knollen und ganzen Zichorienwurzeln befindet. Da DPI auch Reduktone und Melanoidine in die Reaktion einbezieht, sind die in Tabelle 39 und 40 getroffenen Aussagen relativierbar. Reduktone als Reaktionsprodukte, die wie auch Melanoidine in der Wärme entstehen, können kaum bei gewachsenen Pflanzen im 20 °C-Klima entstehen, so dass diese Annah-

me zu vernachlässigen wäre. Je größer dieser Wert ist, um so besser ist die Reduktionsausstattung der Probe. Hellen Bieren, die sehr hohe Werte (über 80 %) aufweisen, sind möglicherweise Antioxidantien (z.B. Ascorbinsäure) zugesetzt worden. Dunkle Biere können auch ohne Zusatz von Reduktionsmitteln Werte um 90 % erreichen. Das Reduktionsvermögen der Weine scheint deutlich vom Gehalt an Gerbstoffen, dem pH, des SO₂-Gehaltes und von dem hohen Ethanolgehalt abzuhängen. Zeigen Weißweine kaum höhere Werte als die Biere, so erzielen Rotweine Werte um die 97 %. Beim Vergleich von weißem und rotem Traubensaft zeigt sich ein großer Unterschied. Roter Traubensaft erreichte einen Wert von 97 %, der weiße von nur 65 % (226). Dies bestätigt wieder den Einfluss der Polyphenole auf das Reduktionsvermögen.

Es ist zu beachten, dass das Tannometer, mit dem die Messung durchgeführt wurde, bei einem pH von 4,35 kalibriert wurde. Der hohe pH-Wert der Topinambur-Extrakte (siehe Tabellen 28 und 29) ergab somit etwas andere Ergebnisse.

3.3.3 Reduktionsvermögen [%] üblicher deutscher Biere

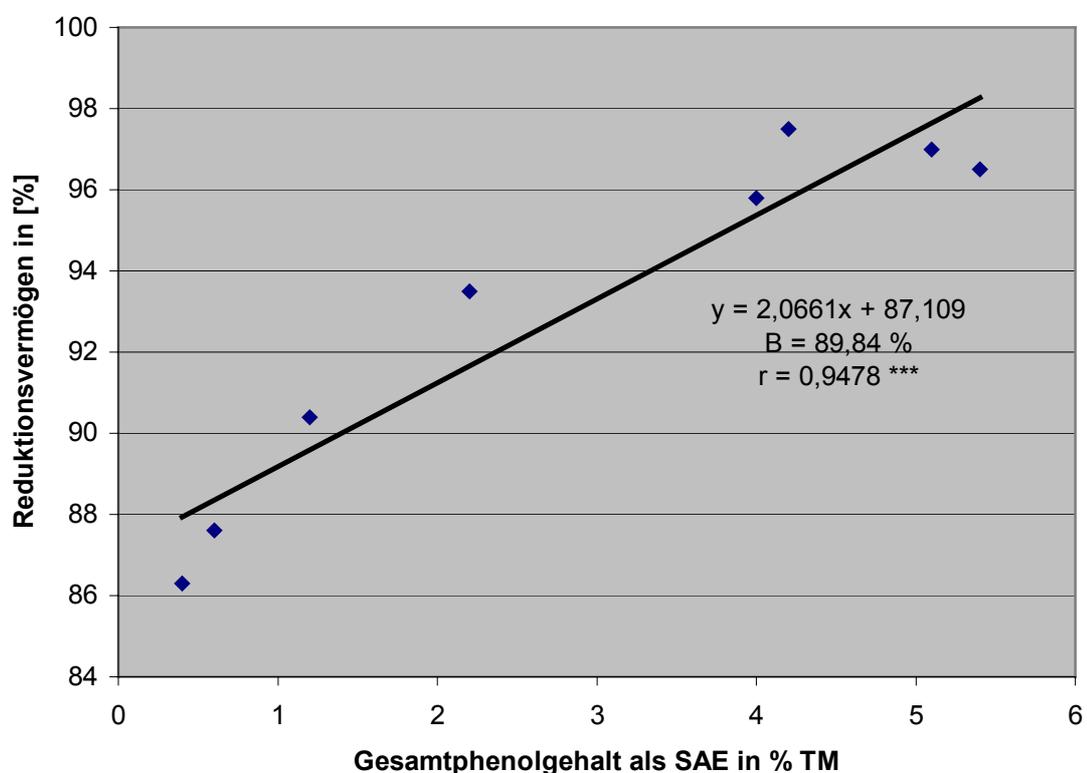
Tabelle 41 stellt das Reduktionsvermögen üblicher deutscher Biere und Topinamburknollen gegenüber. Wie aus Tabelle 41 hervorgeht, weisen die Topinamburknollen ein ausgezeichnetes Reduktionsvermögen auf. Die gemessenen Werte sind bei allen untersuchten Topinamburknollen größer als bei Schwarzbier.

Tabelle 41: Gegenüberstellung des Reduktionsvermögens von Bier und Topinamburknollen (eigene Messungen)

Biersorte	Reduktionsvermögen [%]	Topinambursorte	Reduktionsvermögen [%]
Eibauer Schwarzbier	95	Gute Gelbe	97
Krombacher Pils	64	Petit Blanc	97
Mönchspils	24	Waldspindel	97
Eibauer Pils	18		
Berliner Pilsner	15		

3.3.4 Zusammenhang zwischen Reduktionsvermögen und Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) der Extrakten aus der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln

In diesem Fall soll die Frage beantwortet werden, mit welcher Gesetzmäßigkeit die Messwerte des Reduktionsvermögens, ausgedrückt durch die Messreihe während der Keimversuche und den Gesamtphenolgehalten, miteinander verbunden sind. Diagramm 29 stellt den Zusammenhang zwischen Reduktionsvermögen und Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu) der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln (vier Sorten) dar.



y = Reduktionsvermögen-Werte

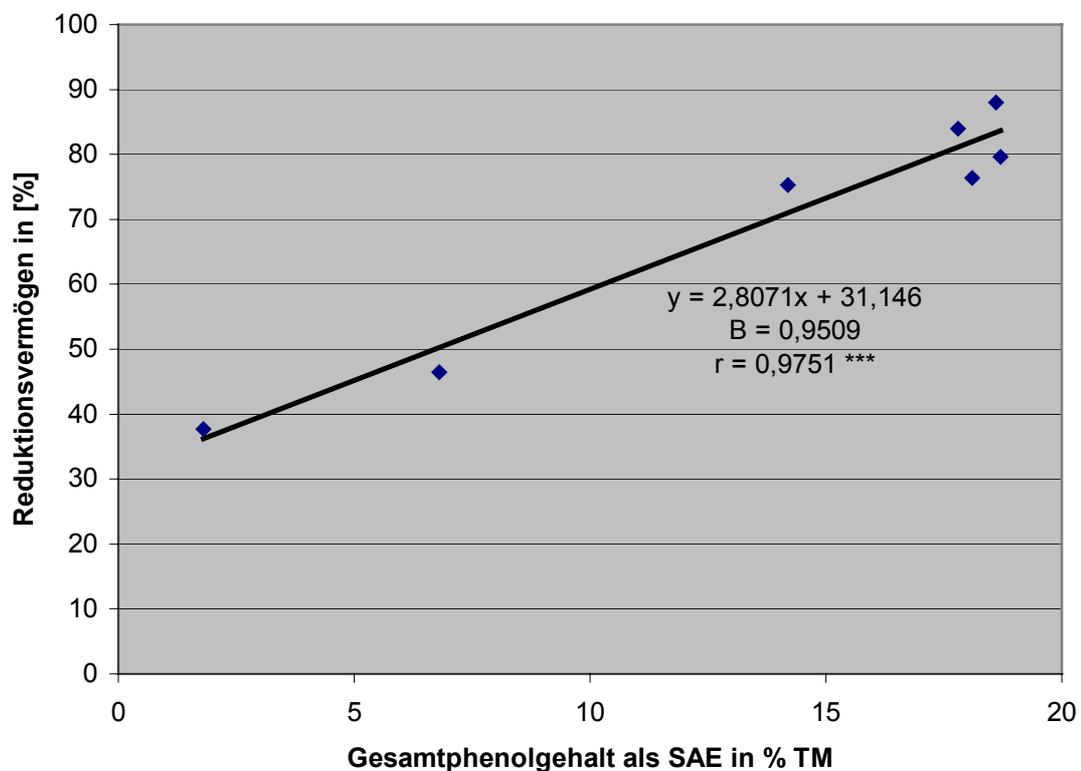
x = Gesamtphenol-Werte

Diagramm 29: Zusammenhang zwischen dem Reduktionvermögen und dem Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) (vier Sorten)

Wie aus Diagramm 29 hervorgeht, besteht eine Korrelation ($r = 0,9478$) zwischen dem Reduktionsvermögen und dem Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (vier Sorten). Aus Diagramm 29 kann geschlossen werden, dass die Veränderungen des Reduktionsvermögens zu 90 % durch die Veränderungen des Gesamtphenolgehaltes erklärbar sind.

3.3.5 Zusammenhang zwischen Reduktionsvermögen und Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln

In diesem Fall soll die Frage beantwortet werden, mit welcher Gesetzmäßigkeit die Messwerte des Reduktionsvermögens, ausgedrückt durch die Messreihe während der Keimversuche und den Gesamtphenolgehalten der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen, miteinander verbunden sind. Diagramm 30 stellt den Zusammenhang zwischen Reduktionsvermögen und Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln (vier Sorten) dar.



y = Reduktionsvermögen-Werte

x = Gesamtphenol-Werte

Diagramm 30: Zusammenhang zwischen Reduktionsvermögen und Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) in den Extrakten aus Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln (vier Sorten)

Wie aus Diagramm 30 hervorgeht, besteht eine Korrelation ($r = 0,9751$) zwischen dem Reduktionsvermögen und dem Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM in den Extrakten aus Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln (vier Sorten). Aus Diagramm 30 kann geschlossen werden, dass die Veränderungen des Reduk-

tionsvermögens zu 95 % durch die Veränderungen des Gesamtphenolgehaltes erklärbar sind.

Der lineare Zusammenhang ist in den Schalen besser erfüllt ($r = 0,9751$) als in den ganzen Knollen ($r = 0,9478$).

3.4 Chemolumineszenz-Messungen

Die Chemolumineszenz-Messung stellt eine weitere Möglichkeit dar, die antioxidativen Reaktionen in Flüssigkeit zu beurteilen. Diese Methode wurde an Topinambur- und Zichorienextrakten angewendet.

3.4.1 Antioxidative Kapazität der Extrakten aus Topinamburknollen und Zichorienwurzeln

Es wurde die antioxidative Kapazität der Topinamburknollen (drei Sorten) und Zichorienwurzeln im Laufe des Keimversuchs im Labor untersucht. Tabelle 42 zeigt die Ergebnisse dieser Versuche an. Die ermittelten antioxidativen Kapazitäten lagen zwischen 0,70 und 39,30 g Ascorbinsäure/kg TM. Verschiedene Verläufe sind aus der Tabelle 42 ersichtlich. Die Sorte Petit Blanc weist die höchste antioxidative Kapazität nach 21 Keimversuchstagen auf (39,30 g Ascorbinsäure/kg TM), gefolgt von der Sorte Waldspindel am Anfang des Keimversuchs (27,90 g Ascorbinsäure/kg TM), Gute Gelbe am Anfang des Keimversuchs (22,70 g Ascorbinsäure/kg TM) und Zichorie nach 33 Keimversuchstagen (19,70 g Ascorbinsäure/kg TM).

Tabelle 42: Antioxidative Kapazität (g Ascorbinsäure/kg TM) der Extrakten aus Topinamburknollen und Zichorienwurzel (ACW-Methode) nach Extraktion, Vakuumverdampfung und Auswaschen des Rückstandes mit Methanol (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Sorten	Keimversuchsdauer (Tage)				
	0	12	21	33	52
Gute Gelbe	22,70		14,30	18,80	19,40
Petit Blanc	38,90		39,30	9,20	27,70
Waldspindel	27,90	0,70		20,00	
Zichorie	4,30	4,70		19,70	

3.4.2 Antioxidative Kapazität der Extrakten aus Topinambur- und Zichorienschalen

Die Ergebnisse der antioxidativen Kapazität der Topinambur- und Zichorienschalen sind in Tabelle 43 dargestellt. Aus den Messwerten kann geschlossen werden, dass die antioxidativen Kapazitäten der Topinambur- und Zichorienschalen sich im Laufe des Keimversuchs ändern.

Tabelle 43: Antioxidative Kapazität (g Ascorbinsäure/kg TM) der Extrakten aus Topinambur- und Zichorienschalen (ACW-Methode) nach Extraktion, Vakuumverdampfung und Auswaschen des Rückstandes mit Methanol (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Sorten	Keimversuchsdauer (Tage)				
	0	12	21	33	52
Gute Gelbe	70,50		39,10	61,00	48,60
Petit Blanc	90,60		44,50	36,00	25,40
Waldspindel	25,70	82,90		43,00	
Zichorie	13,90	30,30		22,00	

Verschiedene Verläufe lassen sich aus der Tabelle 43 erkennen. Während die antioxidative Kapazität bei der Sorte Petit Blanc im Laufe des Keimversuchs abnimmt, nimmt sie bei den Sorten Waldspindel und Zichorie zu, erreicht ein Maximum nach 12 Keimversuchstagen und nimmt dann ab. Der Verlauf ist bei der Sorte Gute Gelbe uneinheitlich. Die ermittelten antioxidativen Kapazitäten lagen zwischen 13,90 und 90,60 g Ascorbinsäure/kg TM. Die Sorte Petit Blanc weist die höchste antioxidative Kapazität am Anfang des Keimversuchs auf (90,60 g Ascorbinsäure/kg TM), gefolgt von der Sorte Waldspindel nach 12 Keimversuchstagen auf (82,90 g Ascorbinsäure/kg TM), Gute Gelbe am Anfang des Keimversuchs (70,50 g Ascorbinsäure/kg TM), und Zichorie nach 12 Keimversuchstagen (30,30 g Ascorbinsäure/kg TM).

Aus den Tabellen 42 und 43 ist zu ersehen, dass sich die antioxidative Kapazität von den Knollen in die Schalen verlagert und umgekehrt.

3.4.3 Gegenüberstellung der antioxidativen Kapazität der Topinambur- und Zichorienschalen (Maximalwerte sind angegeben) mit denjenigen von anderem Gemüse (Analytik Jena)

Die Ergebnisse der Vergleiche von antioxidativen Kapazitäten der Topinambur- und Zichorienschalen mit denjenigen von anderem Gemüse sind in Tabelle 44 dargestellt.

Tabelle 44: Gegenüberstellung der antioxidativen Kapazität der Extrakten aus Topinambur- und Zichorienschalen (Maximalwerte sind angegeben) mit denjenigen von anderem Gemüse (Analytik Jena)

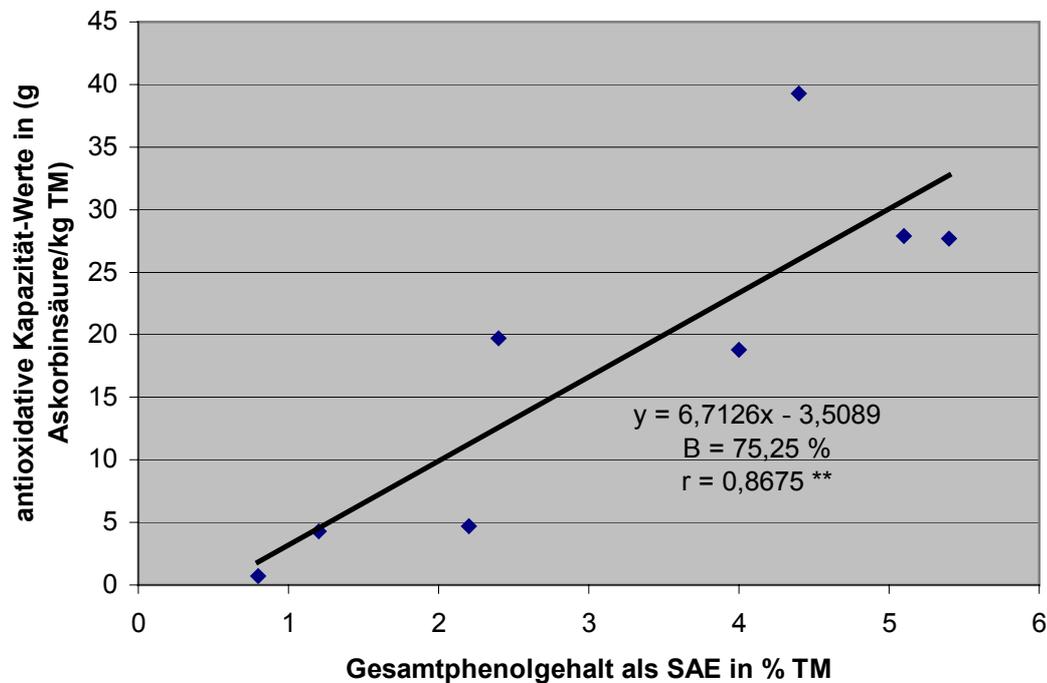
Sorten	Antioxidative Kapazität (g Ascorbinsäure/kg TM)	
Gute Gelbe	70,50	eigene Messung
Petit Blanc	90,60	
Waldspindel	82,90	
Zichorie	30,30	
Möhre	2,30	von Analytik Jena mitgeteilt
Brokkoli	11,00	
Paprika	33,80	
Tomate	10,50	
Zwiebel	4,00	

Aus Tabelle 44 ist zu ersehen, dass die Topinambur- und Zichorienschalen eine ausgezeichnete antioxidative Kapazität aufweisen. Die antioxidative Kapazität der Topinambur- und Zichorienschalen ist auf sehr unterschiedliche Inhaltsstoffe zurückzuführen. Allerdings wird das gesamte Lichtspektrum aufgenommen, d.h. es werden alle Oxidationsreaktionen registriert. Diese können pro- oder antioxidativ sein. In Abhängigkeit von der endogenen antioxidativen Aktivität einer Probe zeigen sich unterschiedlich lange Lag-Phasen, d.h. die Radikalentwicklung wird unterschiedlich lang unterdrückt. Es ist zu berücksichtigen, dass das Signal von verschiedenen Einflussfaktoren abhängt. So führt ein niedriger pH-Wert zu kleinen Signalen. Den gleichen Einfluss auf die Signale hat das Vitamin C, das in Topinambur-Extrakten enthalten ist. In Topinambur-Extrakten ist ein diesbezüglich ausgewogenes Spektrum an wertvollen antioxidativen und antiradikalischen Inhaltsstoffen vorhanden, z.B. diverse Vitamine und bioaktive Polyphenole, die ebenfalls von großer Bedeutung sind.

3.4.4 Zusammenhang zwischen antioxidativer Kapazität in (g Ascorbinsäure/kg TM) und Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) der Extrakten aus im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln

In diesem Fall soll die Frage beantwortet werden, mit welcher Gesetzmäßigkeit die Messwerte der antioxidativen Kapazität, ausgedrückt durch die Messreihe während der Keimversuche und denen des Gesamtphenolgehaltes der im Labor kultivierten Topinambur-

burknollen und Zichorienwurzeln, miteinander verbunden sind. Diagramm 31 stellt den Zusammenhang zwischen der antioxidativen Kapazität und dem Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu) der Extrakten aus im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln (vier Sorten) dar.



y = antioxidative Kapazität-Werte

x = Gesamtphenol-Werte

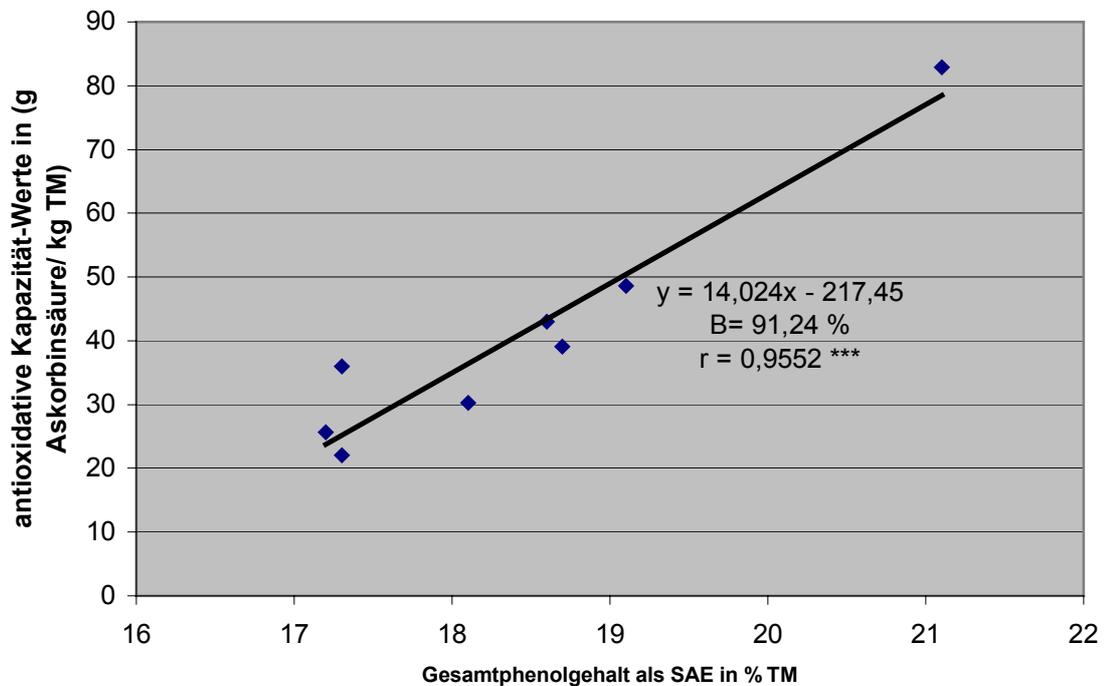
Diagramm 31: Zusammenhang zwischen antioxidativer Kapazität (g Ascorbinsäure/kg TM) und dem Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) der Extrakten aus im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln (vier Sorten)

Wie aus Diagramm 31 hervorgeht, besteht eine Korrelation ($r = 0,8675$) zwischen der antioxidativen Kapazität (g Ascorbinsäure/kg TM) und dem Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM der Extrakten aus im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln (vier Sorten). Aus Diagramm 31 kann geschlossen werden, dass die Veränderungen der antioxidativen Kapazität zu 75 % durch die Veränderungen des Gesamtphenolgehaltes erklärbar sind.

3.4.5 Zusammenhang zwischen antioxidativer Kapazität in (g Ascorbinsäure/kg TM) und Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln

Hier soll die Frage beantwortet werden, mit welcher Gesetzmäßigkeit die Messwerte der antioxidativen Kapazität, ausgedrückt durch die Messreihe während der Keimversuche

und den Gesamtphenolgehalten der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen, miteinander verbunden sind. Diagramm 32 stellt den Zusammenhang zwischen antioxidativer Kapazität und Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu) (vier Sorten) dar.



y = antioxidative Kapazität-Werte

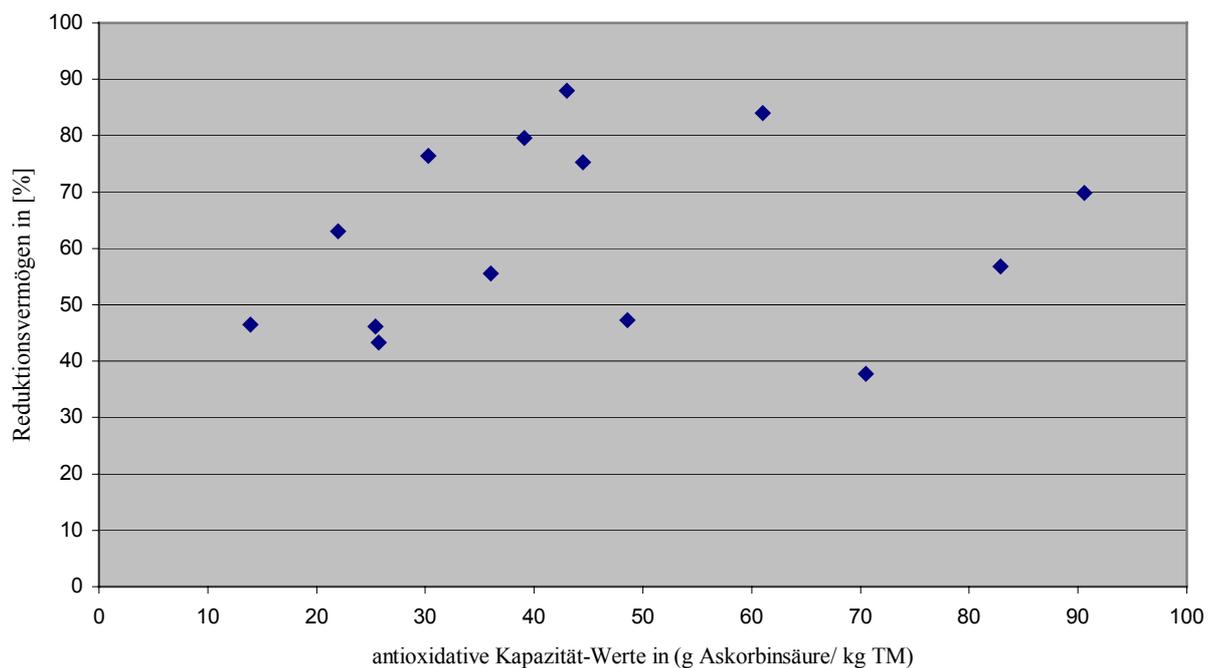
x = Gesamtphenol-Werte

Diagramm 32: Zusammenhang zwischen antioxidativer Kapazität (g Ascorbinsäure/ kg TM) und Gesamtphenolgehalt (als SAE in % TM nach Folin-Ciocalteu) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln (vier Sorten)

Wie aus Diagramm 32 hervorgeht, besteht eine Korrelation ($r = 0,9552$) zwischen antioxidativer Kapazität (g Ascorbinsäure/ kg TM) und Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM. Aus Diagramm 32 kann geschlossen werden, dass die Veränderungen der antioxidativen Kapazität zu 91 % durch die Veränderungen des Gesamtphenolgehaltes erklärbar sind. Der lineare Zusammenhang ist in den Schalen ($r = 0,9552$) als in den ganzen Knollen ($r = 0,8675$) besser erfüllt.

3.4.6 Zusammenhang zwischen Reduktionsvermögen [%] und antioxidativer Kapazität in (g Ascorbinsäure/kg TM) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln

In diesem Fall soll die Frage beantwortet werden, mit welcher Gesetzmäßigkeit die Messwerte des Reduktionsvermögens (DPI-Methode), ausgedrückt durch die Messreihe während der Keimversuche und denen der antioxidativen Kapazität (ACW-Methode), miteinander verbunden sind. Diagramm 33 stellt den Zusammenhang zwischen Reduktionsvermögen [%] und antioxidativer Kapazität in (g Ascorbinsäure/kg TM) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln (vier Sorten) dar.



y = Reduktionsvermögen-Werte

x = antioxidative Kapazität-Werte

Diagramm 33: Zusammenhang zwischen Reduktionsvermögen [%] und antioxidativer Kapazität (g Ascorbinsäure/ kg TM) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln (vier Sorten)

Die Ergebnisse zeigen deutlich (Diagramm 33), dass kein Zusammenhang zwischen Reduktionsvermögen [%] und antioxidativer Kapazität (g Ascorbinsäure/ kg TM), ausgedrückt durch die Messreihe während der Keimversuche besteht. Der Grund hierfür scheint in den Methoden zu liegen. Ein Vergleich der mit unterschiedlichen Testsystemen ermittelten antioxidativen Aktivität ist nicht möglich. Ebenso wenig kann angenommen werden, dass die Abläufe in diesen In-vitro Messungen mit den Vorgängen im menschlichen Organismus identisch sind. Die angewandten Methoden geben lediglich Hinweise auf ein mögliches protektives Potenzial von Topinamburextrakten.

Die ACW- und MEBAK-Methode sind indirekte Methoden, mit denen alle reduzierenden Inhaltsstoffe der Probe gemessen werden.

3.5 HPLC-Trennung von einzelnen phenolischen Verbindungen

3.5.1 Auswirkung der unterschiedlichen Strukturen von Phenolen auf die HPLC-Trennung bei einzelnen phenolischen Verbindungen, bestimmt bei $\lambda = 280$ nm mittels UV-Detektors

Der Einfluss der Molekülstruktur von Phenolen auf die HPLC-Trennung im System (Gradient, Acetonitril-Essigsäure, 1 ml/ min und R18-Hypersilsäule) ist in Tabelle 45 (siehe Anlagen) dargestellt. Aus den Ergebnissen ist zu erkennen, dass jede phenolische Verbindung eine eigene Quantität bei $\lambda = 280$ nm aufweist. In Tabelle 46 sind die dekadische molare Absorptionskoeffizienten der untersuchten phenolischen Verbindungen in gleicher Konzentration von 40 mg/ l in Methanol als Lösemittel dem entsprechenden Peakintegral gegenübergestellt. Diese Tabelle 46 zeigt, dass das UV-Absorptionsverhältnis phenolischer Verbindungen vom jeweiligen dekadischen molaren Absorptionskoeffizienten abhängig ist. Die Reinheit der Vergleichssubstanzen spielt ebenfalls eine Rolle.

Tabelle 46: Gegenüberstellung der gemessenen dekadischen molaren Absorptionskoeffizienten phenolischer Verbindungen (40 mg/l) in Methanol als Lösemittel bei $\lambda = 280$ nm und entsprechendem Peakintegral

Polyphenol-bezeichnung	Masse in mM	Flächenintegral [-]	mM/Fläche integral*10 ⁻⁶	dekadischer molarer Absorptionskoeffizient bei $\lambda = 280$ nm [l.cm.mol ⁻¹]
3-Hydroxizimtsäure	0,85	1221923	0,70	2105
p-Cumarsäure	0,85	943222	0,90	2265
4-Hydroxicumarin	0,86	868739	1,00	2347
Kaffeensäure	0,78	599499	1,30	1333
Cumarin-3-Carbonsäure	0,74	568246	1,30	2008
Ferulasäure	0,72	448319	1,61	2476
Syringasäure	0,71	514264	1,40	2779
Gallussäure	0,82	371078	2,20	3203
Vanillinsäure	0,83	329191	2,50	1358
Protocatechusäure	0,91	288061	3,20	3206
Chlorogensäure	0,40	230931	1,70	5474
Umbelliferon	0,86	294856	2,90	1990
Sinapinsäure	0,62	298477	2,00	2922
4-Hydroxibenzoessäure	1,00	254704	4,00	1032
Ellagsäure	0,41	230573	1,80	4964
Scopoletin	0,73	198864	3,70	841
2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoessäure	0,61	172992	3,50	2635
Aesculin	0,41	169499	2,40	238
Epicatechin	0,48	114445	4,20	4028
Catechin	0,48	117133	4,10	1981
Salicylsäure	1,00	106984	9,50	2144
Gentisinsäure	0,91	19104	47,50	493

3.5.2 Wiederfindung von phenolischen Verbindungen bei der HPLC-Trennung und UV-Detektion gegenüber dem Diode Array Detektor (DAD) bei $\lambda = 280$ nm

Der Wiederfindungsgrad bei der HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen bei $\lambda = 280$ nm mittels UV-Detektor und Diode Array Detektor (DAD) ist in Tabelle 47 dargestellt.

Tabelle 47: Wiederfindungsgrad der Säule bei der HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen in Methanol bei $\lambda = 280$ nm mittels UV-Detektor und Diode Array Detektor (DAD)

	UV-Detektor		DAD
	Anzahl der gelösten Verbindungen	9	22
Anzahl der wieder gefundenen Peaks	9	17	17
Wiederfindungsgrad, in %	100	77	77

Wie aus Tabelle 47 hervorgeht, ändert sich der Wiederfindungsgrad der Säule im Laufe des Versuchs. Der Wiederfindungsgrad der Säule liegt bei 100 % am Anfang der Versuche und bei 77 % am Ende der Versuche für UV-Detektor und DAD.

3.5.3 Retentionszeiten der Vergleichssubstanzen

Eine Kalibriergerade wurde für jeder Vergleichssubstanz hergestellt und die Retentionszeiten notiert. Der Schwankungsbereich der Retentionszeiten in Abhängigkeit von den Vergleichssubstanzen sind in Tabelle 48 dargestellt.

Tabelle 48: Retentionszeit der Vergleichssubstanzen

Verbindungsbezeichnung	Retentionszeit-Bereich (min)	Verbindungsbezeichnung	Retentionszeit-Bereich (min)
Gallussäure	3,24-3,45	2-Hydroxi-3-5 Dinitrobenzoesäure	10,78-11,67
Protocatechusäure	5,37-5,58	Umbelliferon	13,79-14,10
Aesculin	6,55-7,22	Scopoletin	14,16-14,64
Gentisinsäure	7,37-8,16	p-Cumarsäure	14,26-14,64
Catechin	7,92-8,78	Cumarin-3-Carbonsäure	15,10-15,39
4-Hydroxibenzoessäure	8,47-8,91	Sinapinsäure	15,07-15,68
Chlorogensäure	8,6-9,59	Ferulasäure	15,06-15,98
Vanillinsäure	10,04-10,55	3-Hydroxizimtsäure	15,32-15,86
Syringasäure	10,35-10,74	Ellagsäure	15,30-15,87
Kaffeensäure	10,39-10,96	Salicylsäure	16,58-17,80
Epicatechin	10,14-11,63	4-Hydroxicumarin	18,19-19,54

Die Trennungsbedingungen und die Konzentration der Vergleichssubstanzen führten zu Schwankungen der Retentionszeiten.

3.5.4 HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen einer Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen (440 mg/l) in Methanol bei $\lambda = 280$ nm (UV-Detektor)

Chromatogramm 1 zeigt die Resultate dieser Trennung an. Von den 22 Vergleichssubstanzen wurden nur 17 Peaks aufgenommen. Möglicherweise gab es bei der Retentionszeit 15,66 min Koellution. Cumarin-3-Carbonsäure, Sinapinsäure, Ferulasäure, 3-Hydroxizimtsäure und Ellagsäure eluieren zwischen 15 und 16 min. Die Retentionszeit 15,66 min näherte sich der Retentionszeit der Sinapinsäure (15,68 min) an. Vergleicht man Chromatogramm 2 und Chromatogramm 1 (siehe Anlagen), so wird deutlich, dass alle die in der Mischung der Vergleichssubstanzen getrennten phenolischen Verbindungen in Topinambur vorhanden sind.

3.5.5 Auswirkung der Lösemittel auf die HPLC-Trennung von einzelnen phenolischen Verbindungen bei $\lambda = 280$ nm (UV-Detektor)

Die Überprüfung der mittels Rotationsverdampfer konzentrierten und mit Methanol aufgenommenen Proben wurden zum Vergleich mittels HPLC ausgeführt. Chromatogramm 2 und Chromatogramm 3 zeigen die Resultate dieser Überprüfung an. Die Zahl der Polyphe-nol-Peaks hatte sich erhöht (17 Peaks bei der Ethylacetat-Methanolextraktion gegenüber 32 Peaks bei der konzentrierten und mit Methanol aufgenommene Probe), d.h. die Empfindlichkeit der Trennung wurde deutlich verstärkt.

3.5.6 Strukturaufklärung durch Kopplung LC/ MS

Die Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen und den Topinamburextrakten wurden für die Strukturaufklärung verwendet. Chromatogramm 4 und 5 (siehe Anlagen) zeigen die DAD und Massenspektren dieser Versuche an. Von den 22 Vergleichssubstanzen wurden nur 17 wieder gefunden. Das bedeutet, dass die Säule zu diesem Zeitpunkt schon „ausgeblutet“ war, d.h. die Trennschärfe hatte nachgelassen. Die Retentionszeiten sind dadurch etwas verkürzt worden. Im Topinamburextrakt (Chromatogramm 5) wurde beispielweise nur 13 Peaks aufgenommen weil die Probe möglicherweise zu dünn war. Besonderes Augenmerk entsprechen den Massenspektren-Peaks im Zusammenhang mit den DAD-Chromatogrammen.

3.5.6.1 Mittels LC-MS identifizierte phenolische Verbindungen in Methanol anhand einer Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen

Die Ergebnisse der mittels LC-MS identifizierten phenolischen Verbindungen in Methanol an einer Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen sind in Tabelle 49 qualitativ dargestellt.

Bei der Auswertung von Massenspektren lässt man sich gewöhnlich von der alten „Regel“ leiten, dass der höchste Peak im Massenspektrum (abgesehen von $[M+1]^+$ -Ionen, d.h. Ionen, die durch Gewinn einer Masseneinheit aus den Molekül-Ionen entstehen) dem Molekulargewicht selbst oder einem leichteren Zersetzungsprodukt entspricht.

Wie es aus Tabelle 49 hervorgeht, konnten in den Massenspektren nur die $[M+1]^+$ -Ionen identifiziert werden. Der Grund hierfür scheint darin zu liegen, dass Umwandlungsreaktionen stattgefunden haben.

Tabelle 49: Mittels LC-MS Kopplung identifizierte phenolische Verbindungen anhand einer Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen

Retentionszeiten bei ES (min)	m/z (Thomson)	Molmasse (g/ mol)	Retentionszeiten UV-Detektor (min)	identifizierte Verbindungen
5,01	155	154,12	5,37-5,58	Protocatechusäure
5,505	193	192,17	14,16-14,64	Scopoletin
5,505	341	367,31-340,31	6,55-7,22	Aesculin
6,056	341	367,31-340,32	6,55-7,23	Aesculin
6,734	155	154,12	7,37-8,16	Gentisinsäure
6,734	139	138,12	8,47-8,91	4-Hydroxibenzoesäure
6,734	291	290,28	7,92-8,78	Catechin
7,487	355	354,32	8,6-9,59	Chlorogensäure
7,523	355	355,32	8,6-9,60	Chlorogensäure
8,31	169	168,15	10,04-10,55	Vanillinsäure
8,386	169	168,15	10,04-10,55	Vanillinsäure
8,386	181	180,16	10,39-10,96	Kaffeensäure
8,606	181	180,16	10,39-10,96	Kaffeensäure
8,973	199	198,18	10,35-10,74	Syringasäure
8,973	291	290,28	10,14-11,63	Epicatechin
9,01	291	290,28	10,14-11,64	Epicatechin
9,028	155	154,12	7,37-8,16	Gentisinsäure
11,634	165	164,16	14,26-14,64	p-Cumarsäure
11,634	165	165,16	14,26-14,65	p-Cumarsäure
11,634	163	162,15	13,79-14,10	Umbelliferon
11,872	163	162,15	13,79-14,10	Umbelliferon
11,891	163	162,15	13,79-14,10	Umbelliferon
11,946	163	162,15	13,79-14,10	Umbelliferon
12,239	163	162,15	13,79-14,11	Umbelliferon
12,533	193	192,17	14,16-14,64	Scopoletin
12,551	193	192,17	14,16-14,64	Scopoletin
13,175	195	194,19	15,06-15,98	Ferulasäure
13,414	225	224,22	15,07-15,68	Sinapinsäure
13,487	165	164,16	14,26-14,64	p-Cumarsäure
13,561	165	164,16	14,26-14,65	p-Cumarsäure
13,579	165	164,16	14,26-14,66	p-Cumarsäure
13,634	165	164,16	14,26-14,67	p-Cumarsäure
13,487	191	190,16	15,10-15,39	Cumarin-3-Carbonsäure
13,561	191	190,16	15,10-15,39	Cumarin-3-Carbonsäure
13,579	191	190,16	15,10-15,40	Cumarin-3-Carbonsäure
13,634	191	190,16	15,10-15,39	Cumarin-3-Carbonsäure
13,799	303	338,23-302,23	15,30-15,87	Ellagsäure
15,212	139	138,12	16,58-17,80	Salicylsäure
15,231	139	138,12	16,58-17,80	Salicylsäure
15,249	139	138,12	16,58-17,81	Salicylsäure
15,25	139	138,12	16,58-17,82	Salicylsäure
15,43	139	138,12	16,58-17,83	Salicylsäure
16,552	163	162,15	18,19-19,54	4-Hydroxicumarin
16,607	163	162,15	18,19-19,55	4-Hydroxicumarin
16,61	163	162,15	18,19-19,56	4-Hydroxicumarin
16,625	163	162,15	18,19-19,56	4-Hydroxicumarin
15,662	163	162,15	18,19-19,57	4-Hydroxicumarin
18,111	163	162,15	18,19-19,58	4-Hydroxicumarin

3.5.6.2 Mittels LC-MS identifizierte phenolische Verbindungen in Methanol an Topinamburextrakten

Die Ergebnisse der mittels LC-MS identifizierten phenolischen Verbindungen in Methanol aus Topinamburextrakten sind in Tabelle 50 qualitativ dargestellt. In Topinamburextrakten dominieren die $[M+1]^+$ -Ionen. Da Topinamburextrakte ein komplexes Milieu sind, konnten nicht alle aufgenommenen Ionen identifiziert werden. Hierbei spielt die Umwandlungsreaktionen ebenfalls eine Rolle. Abbildung 22 (siehe Anlagen) zeigt ein Beispiel der mittels LC-MS identifizierten silylierten Molekül-Ionen aus der Mischung von 22 Vergleichssubstanzen, besonders ausgerechnet Aesculin und Salicylsäure. Abbildung 23 (siehe Anlagen) verdeutlicht ein Beispiel der mittels LC-MS identifizierten Molekül-Ionen aus Topinamburextrakten, besonders ausgerechnet Aesculin und Salicylsäure.

Tabelle 50: Mittels LC-MS Kopplung identifizierte phenolische Verbindungen aus Topinamburextrakten

Retentionszeiten bei ES (min)	m/z (Thomson)	Molmasse (g/ mol)	Retentionszeiten UV-Detektor (min)	identifizierte Verbindungen	Bemerkungen
12,203	369	367,31-340,31	6,55-7,22	Aesculin	M+2
12,239	369	367,31-340,32	6,55-7,23	Aesculin	M+2
12,276	341	367,31-340,31	6,55-7,22	Aesculin	M+1
5,799	156	154,12	7,37-8,16	Gentisinsäure	M+1
5,799	139	138,12	8,47-8,91	4-Hydroxibenzoesäure	M+1
7,45	355	354,32	8,6-9,59	Chlorogensäure	M+1
7,487	355	354,32	8,6-9,59	Chlorogensäure	M+1
7,52	355	354,32	8,6-9,60	Chlorogensäure	M+2
7,56	355	354,32	8,6-9,60	Chlorogensäure	M+1
8,331	169	168,15	10,04-10,55	Vanillinsäure	M+1
13,34	169	168,15	10,04-10,55	Vanillinsäure	M+1
8,569	155	154,12	7,37-8,16	Gentisinsäure	M+1
9,285	229	228,12	1078-11,67	2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoesäure	M+1
4,459	165	164,16	14,26-14,64	p-Cumarsäure	M+1
15,29	164	164,16	14,26-14,65	p-Cumarsäure	
7,56	163	162,15	13,79-14,10	Umbelliferon	M+1
12,203	163	162,15	13,79-14,11	Umbelliferon	M+2
12,239	163	162,15	13,79-14,11	Umbelliferon	M+1
14,552	163	162,15	13,79-14,12	Umbelliferon	M+1
3,358	139	138,12	16,58-17,80	Salicylsäure	M+1
3,376	139	138,12	16,58-17,80	Salicylsäure	M+1
15,267	132	138,12	16,58-17,80	Salicylsäure	M-6
17,726	132	138,12	16,58-17,80	Salicylsäure	M-6
16,625	163	162,15	18,19-19,56	4-Hydroxicumarin	M+1

3.5.7 Strukturaufklärung durch Kopplung GC-MS

Die Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen und Topinamburextrakte wurden für die Strukturaufklärung verwendet. Chromatogramm 6 (EI) und Chromatogramm 7 (CI) (siehe Anlagen) zeigen die Resultate der Kopplung GC-MS dieser Mischung an. Mit der „weichen“ chemischen Ionisierung und den entsprechenden positiven oder negativen Reagenz-Ionen können unterschiedliche Substanzklassen selektiv ionisiert werden. Die protonierte Moleküle $[M+1]^+$ und Ionen, die durch Verlust einer Masseneinheit aus den Molekül-Ionen $[M-1]^+$ entstehen, sind oft in CI-Spektren vorhanden, selbst wenn unter EI-Bedingungen kein Molekül-Ion gebildet wird. Das ist der Grund, weshalb nur die CI für die Strukturaufklärung mittels GC-MS angewendet wurde.

3.5.7.1 Mittels GC-MS identifizierte phenolische Verbindungen anhand einer Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen

Die Ergebnisse der mittels GC-MS identifizierten silylierte phenolischen Verbindungen in der Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen sind in Tabelle 51 (siehe Anlagen) dargestellt. Wie aus Tabelle 51 hervorgeht, dominieren zwar die $[M+1]^+$ -Ionen (Gewinn an ein H), aber die $[M+4]^+$ -Ionen (Reaktangas-Rest oder der Gewinn an 4 H), $[M+15]^+$ -Ionen (Gewinn an CH_3), $[M-15]^+$ -Ionen (Verlust an CH_3) und $[M-18]^+$ -Ionen (Verlust an H_2O) kommen in den CI-Spektren vor.

3.5.7.2 Mittels GC-MS identifizierte phenolische Verbindungen aus Topinamburextrakten

Die Ergebnisse der mittels GC-MS identifizierten silylierten phenolischen Verbindungen aus Topinamburextrakten sind in Tabelle 52 dargestellt. In Topinamburextrakten kommen unterschiedliche Molekül-Ionen vor. Ein Molekül-Ion, welches sich mit Trimethylsilylreagenz nicht umwandeln liess, wurde in Topinamburextrakten gefunden. Die störenden Stoffe sowie die Umwandlungsreaktionen und die Trennungs- und Derivatisierungsbedingungen haben dazu geführt, dass nicht alle getrennten Verbindungen in den Massenspektren wieder gefunden wurden.

Abbildung 24 (siehe Anlagen) zeigt ein Beispiel des mittels GC-MS identifizierten silylierten Molekül-Ions aus der Mischung von 22 Vergleichssubstanzen (Salicylsäure, Umbelliferon und Protocatechusäure/Gentisinsäure), und Abbildung 25 (siehe Anlagen) verdeutlicht ein Beispiel der mittels GC-MS identifizierten Ionen aus Topinamburextrakten (Umbelliferon und Salicylsäure).

3.5.8 Gehalte der mittels HPLC getrennten einzelnen phenolischen Verbindungen und deren Gesamtphenolgehalte berechnet als Salicylsäureäquivalente, anhand der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln sowie deren Schalen, jeweils aus der Methanolextraktion bei $\lambda = 280$ nm, im UV detektiert

3.5.8.1 HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Sorte Gigant, (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf die Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Die Resultate der HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambur-sorte Gigant nach Methanolextraktion, der Gehalt in % TM in Abhängigkeit von der Keimdauer sind in Tabelle 53 (siehe Anlagen) dargestellt. Wie aus Tabelle 53 hervorgeht, ändert sich der Polyphenolgehalt qualitativ and quantitativ im Laufe der Keimversuche im Labor. In der Tendenz migrieren die phenolischen Verbindungen nach 12 Tagen in die Schalen. Chlorogensäure, Salicylsäure und 4-Hydroxicumarin sind in den ganzen Knollen und deren Schalen im Verlauf der Keimung immer anwesend. Während der Gesamtphenolgehalt, berechnet als die Summe der einzelnen Verbindungen, in % TM während 33 Tagen Keimzeit in der ganze Knolle abnimmt, nimmt er in den Schalen bis zum 12. Tage zu und dann ab. Vergleicht man einzelne Verbindungen miteinander, so fällt der höchste Gehalt an Salicylsäure in allen Stadien der Keimversuche in den Knollen und den Schalen auf. Die Gesamtphenol-Werte, berechnet als Summe des Gehaltes an einzelnen Verbindungen, ergaben am Anfang der Keimversuche in den Knollen 0,85 % der TM und nach 12 Keimversuchstagen in den Schalen 8 % der TM. Die Gesamtphenol-Werte der unbekannt Peaks, berechnet als Salicylsäure und bezogen auf das Gesamtpeakintegral (ohne Lösemittelpeakintegral) schwanken in den Knollen zwischen 1 und 6 % der Gesamtphenolwerte. Während der Keimversuche schwanken sie in den Schalen zwischen 0,5 und 5 %. Die Gesamtphenolwerte, berechnet als Summe des Gehaltes einzelnen Verbindungen und als Salicylsäureäquivalente, sind in den Tabellen 63 und 66 zusammengefasst.

3.5.8.2 HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Sorte Gute Gelbe, (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf die Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Die Resultate der HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambur-sorte Gute Gelbe nach Methanolextraktion und deren Gehalt in % TM bei $\lambda = 280$ nm, in Abhängigkeit von der Keimdauer sind in Tabelle 54 dargestellt. Wie aus Tabelle 54 hervorgeht, ändert sich der Polyphenolgehalt qualitativ and quantitativ im Laufe der Keimversuche im Labor. Gallussäure, Protocatechusäure, Aesculin, Gentisinsäure, Catechin,

Chlorogensäure, Epicatechin, Umbelliferon, Salicylsäure und 4-Hydroxycumarin sind in allen Stadien der Keimversuche in den Knollen und deren Schalen vorhanden. Während 4-Hydroxibenzoessäure in den Knollen in allen Stadien der Keimversuche immer anwesend ist, verschwindet diese Verbindung zwischen dem 21. und 33. Keimversuchstag aus den Schalen. Salicylsäure weist die höchsten Gehalte nach 33 Keimversuchstagen auf: 0,4 % der TM in den Knollen und 3 % in den Schalen, gefolgt von Chlorogensäure 0,1 % in den Knollen und 0,8 % in den Schalen. Auch die höchsten Gesamtphenolwerte, berechnet als Summe des Gehaltes an einzelnen Verbindungen, wurden nach 33 Keimversuchstagen erzielt: 0,8 % der TM in den Knollen und 5 % in den Schalen. Die Gesamtphenolwerte der unbekannt Peaks, berechnet als Salicylsäure und bezogen auf das Gesamtpeakintegral (ohne Lösemittelpeakintegral) schwanken in den Knollen zwischen 1 und 5 % der Gesamtphenolgehalte. In den Schalen lagen sie zwischen 0,7 und 5 %.

3.5.8.3 HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Sorte Large White, (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf die Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Die Resultate der HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambur-sorte Large White nach Methanolextraktion und deren Gehalt in % TM bei $\lambda = 280$ nm, in Abhängigkeit von der Keimdauer sind in Tabelle 55 dargestellt. Wie aus Tabelle 55 hervorgeht, ändert sich der Polyphenolgehalt qualitativ and quantitativ im Laufe der Keimversuche im Labor. Gallussäure, Protocatechusäure, Catechin, Chlorogensäure, Salicylsäure und 4-Hydroxycumarin sind in allen Stadien der Keimversuche in den Knollen und deren Schalen vorhanden. Während Aesculin in den Knollen in allen Stadien der Keimversuche immer vorhanden ist, ist es in den Schalen am Anfang der Keimversuche nicht vorhanden. Gentisinsäure verschwindet in den Schalen nach 33 Keimversuchstagen, Epicatechin und Umbelliferon nach 21 Keimversuchstagen. Salicylsäure weist die höchsten Gehalte auf: 0,3 % der TM in den Knollen am Anfang der Keimversuchstage und 2,7 % in den Schalen nach 33 Keimversuchstagen, gefolgt von Chlorogensäure: 0,1 % in den Knollen am Anfang der Keimversuche und 0,7 % in den Schalen nach 12 Keimversuchstagen und Gentisinsäure: 0,2 % in den Knollen nach 33 Keimversuchstagen und 0,3 % in den Schalen nach 12 Keimversuchstagen. Die höchsten Gesamtphenolwerte, berechnet als Summe des Gehaltes an einzelnen Verbindungen, wurden auch am Anfang der Keimversuche in den Knollen mit 0,7 % der TM erzielt und nach 12 Keimversuchstagen in den Schalen mit 4 % der TM. Die Gesamtphenolwerte der unbekannt Peaks, berechnet als Salicylsäure und bezogen auf das Gesamtpeakintegral (ohne Lösemittelpeakintegral),

schwanken in den Knollen zwischen 2 und 4,5 % der Gesamtphenolgehalte. In den Schalen lagen sie zwischen 1 und 2 %.

3.5.8.4 HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Sorte Medius Brückmann, (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf die Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Die Resultate der HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambur-sorte Medius Brückmann nach Methanolextraktion und deren Gehalt in % TM bei $\lambda = 280$ nm, in Abhängigkeit von der Keimdauer sind in Tabelle 56 dargestellt. Wie aus Tabelle 56 hervorgeht, ändert sich der Polyphenolgehalt qualitativ and quantitativ im Laufe der Keimversuche im Labor. Protocatechusäure, Aesculin, Gentisinsäure, Chlorogensäure, Epicatechin, Umbelliferon, p-Cumarsäure, Salicylsäure und 4-Hydroxycumarin sind in allen Stadien der Keimversuche in den Knollen und deren Schalen nachzuweisen. Gallussäure hingegen fehlt in den Schalen zwischen dem 21. und dem 33. Keimversuchstag. Während Catechin in den Knollen in allen Stadien der Keimversuche immer vorhanden ist, fehlt es in den Schalen nach 12 Keimversuchstagen. Salicylsäure weist die höchsten Gehalte auf: 0,3 % der TM in den Knollen nach 21 Keimversuchstagen und sogar 2,5 % in den Schalen am Anfang der Keimversuche. Auch der höchste Gesamtphenolgehalt, berechnet als Summe des Gehaltes an einzelnen Verbindungen, wurde am 21. Keimversuchstag in den Knollen mit 0,7 % der TM festgestellt, in den Schalen mit 5 % der TM schon am 12. Tag.

Die Gesamtphenolwerte der unbekanntenen Peaks, berechnet als Salicylsäure und bezogen auf das Gesamtpeakintegral (ohne Lösemittel) schwanken in den Knollen zwischen 2,5 und 3,5 % der Gesamtphenolgehalte und zwischen 0,7 und 4 % in den Schalen.

3.5.8.5 HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Sorte Medius Lindhoop, (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf die Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Die Resultate der HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambur-sorte Medius Lindhoop nach Methanolextraktion und deren Gehalt in % TM bei $\lambda = 280$ nm, in Abhängigkeit von der Keimdauer sind in Tabelle 57 dargestellt. Wie Tabelle 57 zeigt, ändert sich der Polyphenolgehalt qualitativ and quantitativ: Protocatechusäure, Gentisinsäure, Chlorogensäure, Epicatechin, Umbelliferon, p-Cumarsäure, Salicylsäure und 4-Hydroxycumarin sind in allen Stadien der Keimversuche in den Knollen und deren Schalen nachzuweisen. Gallussäure hingegen fehlt in den Schalen nach dem 12. und dem 33.

Keimversuchstag. Während Aesculin in den Knollen in allen Stadien der Keimversuche immer vorgefunden wird, fehlt es in den Schalen nach dem 12. Keimversuchstage. Salicylsäure weist die höchsten Gehalte auf: 0,6 % der TM in den Knollen am Anfang der Keimversuche und sogar 5 % in den Schalen nach 12 Keimversuchstagen. Auch der höchste Gesamtphenolgehalt, berechnet als Summe des Gehaltes an einzelnen Verbindungen, wurde am Anfang der Keimversuche in den Knollen mit 1 % der TM und in den Schalen mit 6 % der TM schon am 12. Tag nachgewiesen. Die Gesamtphenolwerte der unbekannt phenolischen Verbindungen, berechnet als Salicylsäure, schwanken in den Knollen zwischen 1,5 und 7,5 % der Gesamtphenolgehalte und zwischen 0,7 und 4 % in den Schalen.

3.5.8.6 HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Sorte Petit Blanc, (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf die Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Die Resultate der HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambur-sorte Petit Blanc nach Methanolextraktion und deren Gehalt in % TM bei $\lambda = 280$ nm, in Abhängigkeit von der Keimdauer sind in Tabelle 58 dargestellt. Wie aus Tabelle 58 hervorgeht, ändert sich der Polyphenolgehalt qualitativ and quantitativ: Gallussäure, Protocatechusäure, Aesculin, Gentsisinsäure, Chlorogensäure, Umbelliferon, Scopoletin, Salicylsäure und 4-Hydroxicumarin sind in allen Stadien der Keimversuche in den Knollen und deren Schalen nachzuweisen. Catechin ist in den Schalen erst nach dem 21. Keimversuchstag vorhanden. Salicylsäure weist die höchsten Gehalte auf: 0,5 % der TM in den Knollen nach 52 Keimversuchstagen und 3,6 % der TM in den Schalen nach 52 Keimversuchstagen. Auch die höchsten Gesamtphenolwerte, berechnet als Summe des Gehaltes an einzelnen Verbindungen, wurden nach 52 Keimversuchstagen in den Knollen mit 1 % der TM und nach 33 Keimversuchstagen in den Schalen mit 6 % der TM nachgewiesen. Die Gesamtphenolwerte der unbekannt phenolischen Verbindungen, berechnet als Salicylsäure schwanken in den Knollen zwischen 1 und 4 % der Gesamtphenolgehalte bzw. zwischen 0,2 und 2,5 % in den Schalen

3.5.8.7 HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Sorte RoZo, (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf die Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Die Resultate der HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambur-sorte RoZo nach Methanolextraktion und deren Gehalt in % TM bei $\lambda = 280$ nm, in Abhängigkeit von der Keimdauer sind in Tabelle 59 dargestellt. Wie aus Tabelle 59 hervor-

geht, ändert sich der Polyphenolgehalt qualitativ and quantitativ: Protocatechusäure, Chlorogensäure, Salicylsäure und 4-Hydroxicumarin sind in allen Stadien der Keimversuche in den Knollen und deren Schalen vorhanden. Salicylsäure weist die höchsten Gehalte mit 0,2 % der TM in den Knollen nach 12 Keimversuchstagen und 4,4 % in den Schalen nach 12 Keimversuchstagen auf. Auch die höchsten Gesamtphenolwerte, berechnet als Summe des Gehaltes an einzelnen Verbindungen, wurden nach 12 Keimversuchstagen in den Knollen gefunden mit 0,7 % der TM und bis zum 12. Keimversuchstag in den Schalen mit 6,5 % der TM. Die Gesamtphenolwerte der unbekannt phenolischen Verbindungen, berechnet als Salicylsäure schwanken in den Knollen zwischen 2 und 5,5 % der Gesamtphenolgehalte bzw. zwischen 1 und 23 % in den Schalen

3.5.8.8 HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Sorte Stamm, (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf die Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Diese Sorte enthielt Protocatechusäure, Gentisinsäure, Catechin, Chlorogensäure, Epicatechin, Salicylsäure und 4-Hydroxicumarin in allen Stadien der Keimversuche in den Knollen und deren Schalen. Gallussäure war nach 21 Keimversuchstagen in den Knollen sowie in den Schalen nicht mehr nachzuweisen. Aesculin ist in den Knollen erst nach dem 12. Keimversuchstag entstanden. Salicylsäure weist die höchsten Gehalte mit 0,7 % der TM in den Knollen nach 33 Keimversuchstagen und 6,5 % in den Schalen nach 12 Keimversuchstagen auf. Auch die höchsten Gesamtphenolwerte, berechnet als Summe des Gehaltes an einzelnen Verbindungen, wurden nach 33 Keimversuchstagen in den Knollen mit 1,6 % der TM und nach 12 Keimversuchstagen in den Schalen mit 10 % der TM gefunden. Die Gesamtphenolgehalte der unbekannt Peaks, lagen in den Knollen zwischen 1 und 3 % bzw. zwischen 1,5 und 3 % in den Schalen. In der Tabelle 60 sind die Ergebnisse zusammengestellt.

3.5.8.9 HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Sorte Waldspindel, (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf die Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Die rotschalige Waldspindel enthält Gallussäure, Aesculin, Chlorogensäure, Kaffeesäure, Salicylsäure und 4-Hydroxicumarin in allen Stadien der Keimversuche in ihren Knollen und deren Schalen. Protocatechusäure ist bis zum 12. Keimversuchstag in den Knollen immer vorhanden. Gentisinsäure ist nach 12 Keimversuchstagen in den Knollen und am Anfang der Keimversuche in den Schalen nicht nachzuweisen gewesen. Salicylsäure weist mit 0,9 % der TM in den Knollen am Anfang der Keimversuche und mit 5 % in den Scha-

len nach 12 Keimversuchstagen die höchsten Gehalte auf. Auch die höchsten Gesamtphenolgehalte, berechnet als Summe des Gehaltes an einzelnen Verbindungen, wurden am Anfang der Keimversuche in den Knollen mit 2,6 % der TM und in den Schalen mit 10 % der TM gefunden. Die Gesamtphenolwerte der unbekanntenen Peaks, berechnet als Salicylsäure schwanken in den Knollen zwischen 0,6 und 1 % und zwischen 0,6 und 2 % in den Schalen.. Die Tabelle 61 enthält diese Ergebnisse.

3.5.8.10 HPLC-Trennung von phenolischen Verbindungen der Zichorie (Methanolextraktion), Angaben bezogen auf Trockenmasse in (%), in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Im Gegensatz zu den Topinambursorten enthält die Zichorie Protocatechusäure, Gentisinsäure, 4-Hydroxibenzoesäure, Epicatechin, Epicatechin, Umbelliferon, Salicylsäure und 4-Hydroxicumarin in allen Stadien der Keimversuche in der Wurzel und deren Schale. Gallussäure ist in den Schalen erst nach dem 12. Keimversuchstag zu finden. Während Aesculin in den Wurzeln nach 33 Keimversuchstagen verschwindet, ist es in den Schalen in allen Stadien der Keimversuche immer nachweisbar. Bis zum 33. Keimversuchstag ist Chlorogensäure in den Schalen immer vorhanden. Salicylsäure weist die höchsten Gehalte nach 33 Keimversuchstagen auf: 0,7 % der TM in der Wurzel und 2,5 % in den Schalen. Auch die höchsten Gesamtphenolwerte, berechnet als Summe des Gehaltes an einzelnen Verbindungen, wurden nach dem 33. Keimversuchstag mit 2,6 % der TM in der Wurzel und mit 5 % der TM in den Schalen nachgewiesen. Die Gesamtphenolwerte der unbekanntenen Peaks, berechnet als Salicylsäure und bezogen auf das Gesamtpeakintegral (ohne Lösemittel) schwanken in der Wurzel zwischen 0,7 und 4 % und liegen bei 1 % in den Schalen. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 62 zusammengestellt.

Die Gesamtphenolwerte berechnet als Salicylsäure und bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösemittel- und unbekanntem Peakintegral sind für alle untersuchten Sorten in den Knollen und deren Schalen in allen Stadien der Keimversuche höher als die Gesamtphenolwerte, berechnet als Summe der einzelnen Verbindungen. Der Grund hierfür liegt wahrscheinlich darin, dass das Gesamtpeakintegral außerhalb des Linearbereiches der Kalibriergeraden gelegen hatte.

3.5.8.11 Mittels HPLC bestimmte Gesamtphenolwerte (auch nicht identifizierte Verbindungen) der Topinamburknollen und Zichorienwurzeln sowie deren Schalen in Abhängigkeit von der Keimdauer: berechnet als Salicylsäure-Äquivalent

Die Ergebnisse der mittels HPLC bestimmte Gesamtphenolgehalte der Topinamburknollen und Zichorienwurzeln sowie deren Schalen im Methanolextrakt, berechnet als Salicylsäure-Äquivalent und aus dem summierten Peakintegral (auch nicht identifizierte Verbindungen) in Abhängigkeit von der Keimdauer sind in der Tabellen 63 (siehe Anlagen) zusammengestellt. Aus den Ergebnisse in der Tabelle 63 kann geschlossen werden, dass die Konzentrationsverläufe uneinheitlich für alle untersuchten Sorten sind. In der Tendenz nimmt der Gesamtphenolgehalt in den Knollen ab, während er in den Schalen zunimmt, erreicht schließlich ein Maximum und nimmt dann wieder ab. Vergleicht man alle Sorten miteinander, so fällt der Gesamtphenolgehalt der Sorte Waldspindel mit 5 % der TM in den Knollen und 20 % der TM in den Schalen auf.

3.5.8.11.1 Gegenüberstellung der mittels HPLC (auch nicht identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte der Topinamburknollen und Zichorienwurzeln

Die Gegenüberstellung der mittels HPLC (auch nicht identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte der Topinamburknollen und Zichorienwurzeln ist in Tabelle 64 (siehe Anlagen) dargestellt.

Aus den Ergebnisse in der Tabelle 64 kann geschlossen werden, dass die mittels HPLC (auch nicht identifizierte Verbindungen) bestimmten Gesamtphenolgehalte bis zum 12. Keimversuchstag unerwartungsmäßig bei den Topinambursorten Gigant, Gute Gelbe, Large White, Medius Lindhoop, Petit Blanc, RoZo und Stamm höher liegen als die nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehalte. Die summarische Bestimmung mit der HPLC-Methode erfasst nur die niedermolekularen Phenolsäuren und die Folin-Ciocalteu-Methode die nieder- und hochmolekularen Phenolsäuren. Ab dem 21. Keimversuchstag sind die nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehalte höher als die mittels HPLC (auch nicht identifizierte Verbindungen) bestimmten Gesamtphenolgehalte. Der Grund hierfür scheint darin zu liegen, dass der Gehalt an phenolischen Verbindungen sich im Laufe der Keimversuche qualitativ und quantitativ ändert und dass einige phenolische Verbindungen keine Farbreaktion mit dem Folin-Ciocalteu Phenolreagenz ergeben.

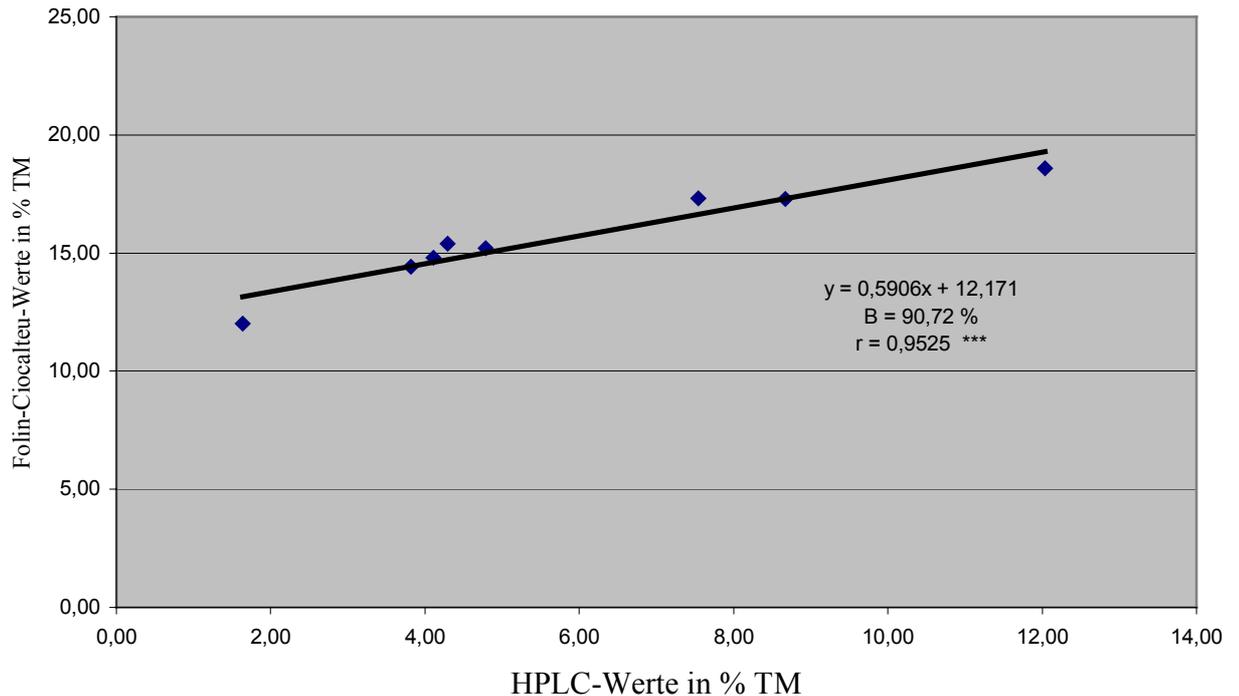
3.5.8.11.2 Gegenüberstellung der mittels HPLC (auch nicht identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte der Topinambur- und Zichorienschalen

Die Gegenüberstellung der mittels HPLC (auch nicht identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte der Topinambur- und Zichorienschalen ist in Tabelle 65 (siehe Anlagen) dargestellt.

Aus den Ergebnisse in der Tabelle 65 kann geschlossen werden, dass der mittels HPLC (auch nicht identifizierte Verbindungen) bestimmte Gesamtphenolgehalte bis zum 12. Keimversuchstag unerwartungsmäßig bei den Topinambursorten Gigant, Gute Gelbe, Large White, Medius Lindhoop, Petit Blanc, RoZo und Stamm höher liegt als die nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte. Ab dem 21. Keimversuchstag ist der nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte höher als die mittels HPLC (auch nicht identifizierte Verbindungen) bestimmten Gesamtphenolgehalte.

3.5.8.11.3 Zusammenhang zwischen des mittels HPLC (auch nicht identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehaltes der Topinambur- und Zichorienschalen

Im diesen Fall soll die Frage beantwortet werden, mit welcher Gesetzmäßigkeit die nach Folin-Ciocalteu und mittels HPLC gewonnenen Gesamtphenolwerte, ausgedrückt durch die Mittelwerte der Messreihen (alle Sorten ab dem 21. Keimversuchstag), miteinander verbunden sind. Die Auswertung der Messergebnisse (Diagramm 34) zeigt einen linearen Zusammenhang mit hoher Korrelation ($r = 0,9525$) zwischen den nach Folin-Ciocalteu und mittels HPLC (auch nicht identifizierte Verbindungen) gewonnenen Gesamtphenolwerten der Extrakten aus im Labor kultivierten Topinambur- und Zichorienschalen (alle Sorten ab dem 21. Keimversuchstag). Anhand der Gleichungsgerade ist es möglich, mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1 %, die Messwerte der eine Methode in die der anderen umzurechnen.



y = Folin-Ciocalteu-Werte

x = HPLC-Werte

Diagramm 34: Zusammenhang zwischen den mittels HPLC (auch nicht identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehalte der Topinambur- und Zichorienschalen

3.5.8.12 Mittels HPLC bestimmte Gesamtphenolwerte der Topinamburknollen und Zichorienwurzeln sowie von deren Schalen in Abhängigkeit von der Keimdauer: Summierung der individuellen Polyphenolverbindungen

Die Ergebnisse der mittels HPLC bestimmte Gesamtphenolgehalte der Topinamburknollen und Zichorienwurzeln sowie deren Schalen, berechnet als Summe der einzelnen Verbindungen, in Abhängigkeit von der Keimdauer sind in der Tabellen 66 (siehe Anlagen) zusammengestellt. Aus den Ergebnissen kann geschlossen werden, dass die Konzentrationsverläufe uneinheitlich für alle untersuchten Sorten sind. In der Tendenz nimmt der Gesamtphenolgehalt in den Knollen ab während er in den Schalen zunimmt, erreicht ein Maximum und verringert sich danach wieder. Vergleicht man alle Sorten miteinander, so fällt wieder der Gesamtphenolgehalt der Sorte Waldspindel auf: 2,5 % der TM in den Knollen und 10 % der TM in den Schalen wurden ermittelt.

3.5.8.12.1 Gegenüberstellung der mittels HPLC (nur identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte der Topinamburknollen und Zichorienwurzeln

Die Gegenüberstellung der mittels HPLC (nur identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte der Topinamburknollen und Zichorienwurzeln ist in Tabelle 67 (siehe Anlagen) dargestellt.

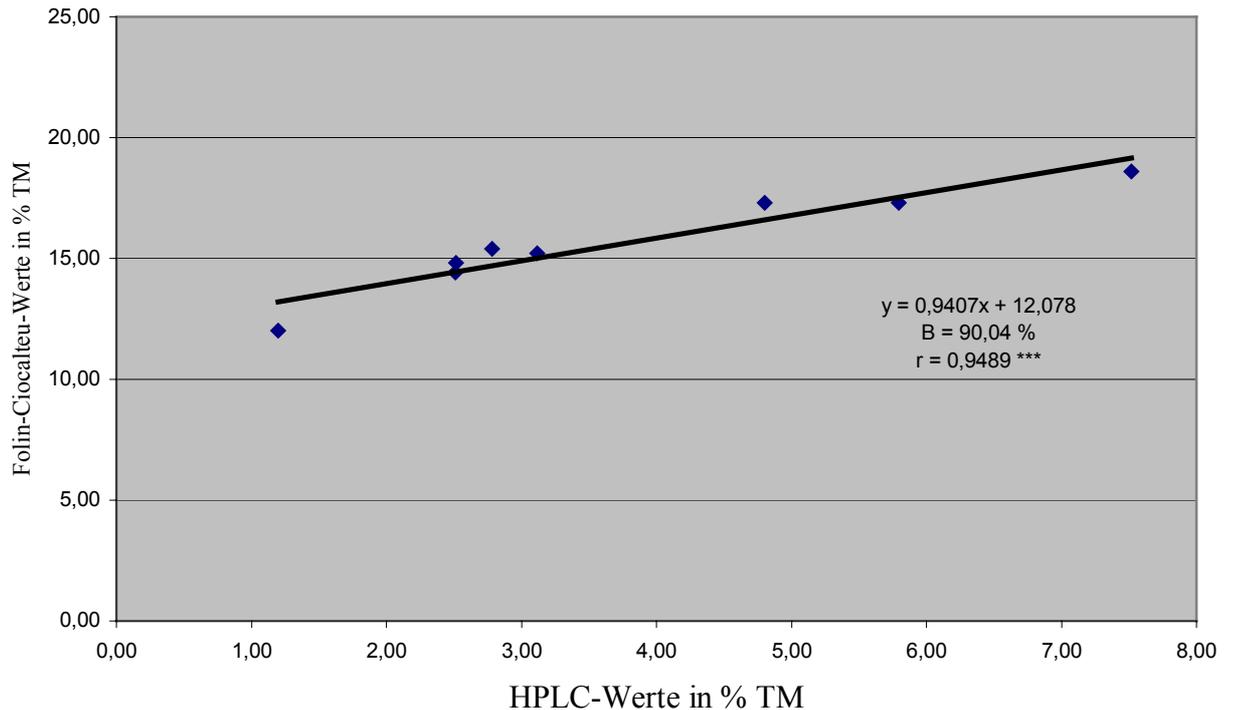
Aus den Ergebnisse in der Tabelle 67, kann geschlossen werden, dass der mittels HPLC (auch unbekannt) bestimmte Gesamtphenolgehalte am Anfang der Keimversuche unerwartungsmäßig bei den Topinambursorten Gigant, Gute Gelbe, Large White, Medius Lindhoop, Petit Blanc und Stamm höher liegt als die nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte. Ab dem 12. Keimversuchstag ist der nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte höher als die mittels HPLC (nur identifizierte Verbindungen) bestimmte Gesamtphenolgehalte.

3.5.8.12.2 Gegenüberstellung der mittels HPLC (nur identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte der Topinambur- und Zichorienschalen

Die Gegenüberstellung der mittels HPLC (nur identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte der Topinambur- und Zichorienschalen ist in Tabelle 68 (siehe Anlagen) dargestellt. Aus den Ergebnisse in der Tabelle 68, kann geschlossen werden, dass der mittels HPLC (nur identifizierte Verbindungen) bestimmte Gesamtphenolgehalte am Anfang der Keimversuche unerwartungsmäßig bei den Topinambursorten Gute Gelbe, Large White und Medius Brückmann und bis zum 12. Keimversuchstag bei den Sorten Gigant, Medius Lindhoop, Petit Blanc und Stamm höher liegt als die nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte. Ab dem 21. Keimversuchstag ist der nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalte höher als die mittels HPLC (nur identifizierte Verbindungen) bestimmte Gesamtphenolgehalte.

3.5.8.12.2.3 Zusammenhang zwischen den mittels HPLC (nur identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmte Gesamtphenolgehalten der Topinambur- und Zichorienschalen

Hier soll die Frage beantwortet werden, mit welcher Gesetzmäßigkeit die nach Folin-Ciocalteu und mittels HPLC (nur identifizierte Verbindungen) gewonnenen Gesamtphenolwerten, ausgedrückt durch die Mittelwerte der Messreihen (alle Sorten ab dem 21. Keimversuchstag), miteinander verbunden sind.



y = Folin-Ciocalteu-Werte

x = HPLC-Werte

Diagramm 35: Zusammenhang zwischen den mittels HPLC (nur identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehalten der Topinambur- und Zichorienschalen

Die Auswertung der Messergebnisse (Diagramm 35) zeigt einen linearen Zusammenhang mit hoher Korrelation ($r = 0,9489$) zwischen den nach Folin-Ciocalteu und mittels HPLC (nur identifizierte Verbindungen) gewonnenen Gesamtphenolwerten der Extrakten aus im Labor kultivierten Topinambur- und Zichorienschalen (alle Sorten ab dem 21. Keimversuchstag). Anhand der Gleichungsgerade ist es möglich, mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1 %, die Messwerte der eine Methode in die der anderen umzurechnen.

Die Folin-Ciocalteu-Bestimmungsmethode für phenolische Verbindungen ist auf die praktische Anwendung hin orientiert. Die HPLC-Methode, die auf einer Trennung der phenolischen Verbindungen und einer quantitativen Bestimmung der Einzelsubstanzen beruht, kommt der Realität am nächsten. Diese Verfahren hat jedoch bis heute, aufgrund des hohen Kostenaufwands hinsichtlich der apparativen Ausstattung und das weitergehende Fehlen von eindeutig definierten Bezugssubstanzen, wenig Eingang in die Praxis gefunden (60).

Die beiden Methoden führen zu unterschiedlichen Ergebnissen.

4. Diskussion

Das Ziel der Arbeit war:

9. Die Entwicklung einer abgesicherten Methode zur Gewinnung von phenolischen Verbindungen aus Topinambur,
10. die Bestimmung der PPO-Aktivität und die Extraktion der Polyphenole aus ganzen Knollen und der Schalenfraktion der physiologisch aktiven Topinamburknollen, wobei die Knollen auch zum Keimen gebracht werden und in Abhängigkeit von der Keimdauer die Gesamtpolyphenole sowie einzelne polyphenolische Verbindungen bewertet werden,
11. Vergleich der Absorptionsmaxima mit den Beilstein-Werten,
12. die Bestimmung der molaren Extinktionskoeffizienten aller Vergleichssubstanzen,
13. die Strukturklärung aller im Topinambur enthaltenen Polyphenole mittels LC-MS und GC-MS,
14. die Ermittlung der antioxidativen Aktivität der Topinamburproben nach der MEBAK-Methode und dem ACW-Test,
15. das Ziehen von Schlussfolgerungen für die Vorbereitung des Einsatzes von großtechnischen Anlagen zur Gewinnung von isolierten Polyphenolen aus der Schalenfraktion von Topinambur und
16. das Übertragen der Erkenntnisse auf andere Früchte.

Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Methode zur Gewinnung von phenolischen Verbindungen ist auf andere Früchte, Trester, Abwässer aus einer Ölmühle u.ä. übertragbar. Tabelle 69 zeigt die Schmelzpunkte der verwendeten phenolischen Verbindungen als Vergleichssubstanz und ihre Löslichkeit im Wasser an. Wie aus dieser Tabelle hervorgeht, sind alle untersuchten Verbindungen über 100 °C noch stabil. Einige sind aber im Wasser schwer- oder unlöslich. Mittels Vakuumverdampfers kann das eingesetzte Lösemittel abgetrennt, aufbereitet und wieder eingesetzt werden.

Die Trockenmassen je nach Sorten sind in den Knollen und den Schalen unterschiedlich und ändern sich im Laufe der Keimversuche im Labor. Die Gesamtphenolgehalte aller Sorten ändern sich im Laufe der Keimversuche im Labor. Diese Änderungen sind von dem Stoffwechsel-Aktivierungsgrad, welcher uneinheitlich ist, und von der Bewässerung abhängig.

Gallussäure-Äquivalente sind bei Topinambur nicht anwendbar, da nach den HPLC-Untersuchungen deren Konzentration uneinheitlich und zu gering ist. Die Bezugssubstanz Salicylsäure dominiert im Spektrum der phenolischen Substanzen von Topinambur, so dass auf diese Verbindung bezogen wurde.

Die enzymatische Verfärbung von Obst und Gemüse sowie der daraus hergestellten Getränke ist ein Problem der Lebensmittelindustrie und verursacht eine Qualitätsminderung während der Lagerung und des Verarbeitungsprozesses durch nachteilige Veränderungen des Lebensmittels. Verfärbungen jedweder Art sind bei der industriellen Herstellung, Zubereitung und Lagerung von Lebensmitteln ein häufiger Vorgang, der bisweilen erwünscht, meist jedoch unerwünscht ist. Am häufigsten treten Braunfärbungen auf, wobei die nichtenzymatische Bräunung (Maillard-Reaktion) und die enzymatische Bräunung zu unterscheiden sind. Bei vielen Obst- und Gemüsearten wird durch die enzymatische Bräunung das Lebensmittel nachteilig verändert. Die enzymatische Bräunung besteht in der Einwirkung von PPO in Gegenwart von Luftsauerstoff auf mehrwertige phenolische Inhaltsstoffe. Das Enzym Phenoloxidase gehört zur Gruppe der Oxidoreduktasen. Es ist weit verbreitet. So findet man es in verschiedenen Organismen, wie z.B. Pilzen, Kartoffeln, Bananen oder Insekten. Das Enzym besitzt als prosthetische Gruppe Kupferatome, ohne deren Vorhandensein es nicht in der Lage ist, seine katalytische Funktion auszuüben (368, 369). PPO ist ein genereller Begriff einer Gruppe von Enzymen, welche die verschiedenartigsten aromatischen Verbindungen oxidativ unter Verbrauch von O₂ verändern können. Je nach Substratspezifität wird PPO wie folgt unterteilt (368):

- EC 1.10.3.1 Laccase oder p-Diphenolsauerstoffoxidoreduktase

„Laccasen können die verschiedenartigsten aromatischen Verbindungen oxidativ unter Verbrauch von O₂ verändern, wobei es sich nicht nur um Phenole handeln muß, sondern auch um Amine handeln kann“.

- EC 1.10.3.2 : Diphenoloxidase, Katecholoxidase oder Diphenolsauerstoffoxidoreduktase

- EC 1.14.18.1 : Monophenoloxidase, Kreolase und Tyrosinase.

„Monophenoloxidasen (Tyrosinasen) oxidieren Monophenole (wiederum unter Verbrauch von O₂), wie z.B. Tyrosin zu Dihydrophenylalanin (DOPA) unter Einfügung einer zweiten Hydroxylgruppe, was dann wiederum Substrat einer Laccase wäre“.

In der vorliegenden Arbeit wurde festgestellt, dass DOPA ein Substrat für Topinambur-PPO ist. DOPA kann auch von Laccasen, Monoaminoxidasen, Cytochromoxidasen oder Peroxidasen oxidiert werden (150). Die Topinambur-PPO weist eine optimale Aktivität bei pH 7 auf. PPO aus Äpfeln, Birnen, Süßkirschen, Weintrauben, Bananen, Mango, Süßkartoffeln und grünen Paprika weisen auch eine optimale Aktivität bei pH 7 auf mit Katechol als Substrat (369). Aufgrund der Tatsache, dass die Topinambur-PPO, Katecholoxidasen (143) und Laccasen (359) ein gleiches pH-Optimum besitzen, und aufgrund des brei-

ten Spektrums der im Topinambur vorkommenden phenolischen Verbindungen kann geschlossen werden, dass Topinambur-PPO eine Laccase-, Katecholase- und Tyrosinaseaktivität aufweist. Je nach Enzymherkunft und Substrat schwankt das pH-Optimum der PPO zwischen pH 4 und pH 7. Im Vergleich zur Bananen-PPO weisen die Topinamburschalen eine höhere Polyphenoloxidaseaktivität auf. In Bananen wurden 78,35 nkat PPO-Aktivität in Detergentextrakt, 148,36 nkat in Acetonextrakt und 38,34 nkat in DEAE-Eluat nachgewiesen (150). Die in Topinamburschalen gemessene PPO-Aktivität (Tabelle 9) liegt höher als die in Bananen nachgewiesene PPO-Aktivität. Während die Topinambur-Polyphenoloxidaseaktivität sehr stark im pH-Bereich zwischen 4 und 5 abnimmt (Diagramm 6), wurde eine hohe Laccaseaktivität in diesem pH-Bereich mit 2, 2'-Azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonate (ABTS) als Substrat (359) festgestellt. Der Grund dafür scheint im Substrat zu liegen. Zu den Stoffen, die die enzymatische Verfärbung hemmen können, gehören

- reduzierende Stoffe, wie z.B. Bisulfit, Ascorbinsäure und ihre Derivate, Glutathion und Cystein,
- Enzym-Inhibitoren, wie z.B. aromatische Carbonsäure, aliphatische Alkohole, substituiertes Resorcinol, Anionen und Peptide,
- Chelatstoffe, wie z. B. Phosphat, EDTA und organische Säuren,
- einsäuernde Stoffe, wie z. B. Zitronensäure, Oxalsäure und Phosphorsäure sowie
- Komplexbildner, wie z. B. Cyclodextrin (140, 144, 149, 155).

Ascorbinsäure, Zitronensäure und Zitronensaft weisen Hemmungseigenschaften gegenüber Topinambur-Polyphenoloxidaseaktivität auf. Ab einem pH-Wert von $\leq 4,5$ lässt die Topinambur-Polyphenoloxidaseaktivität stark nach. Ascorbinsäure und Zitronensäure sind in der Literatur als Alternativen zur Hemmung der PPO statt SO_2 (140) beschrieben. Die Hemmungseigenschaft von Zitronensaft gegenüber der enzymatischen Bräunung im Küchenbereich ist zwar bekannt, aber es liegt leider keine wissenschaftliche Arbeit darüber vor. Das Temperaturoptimum für Topinambur-Polyphenoloxidaseaktivität liegt bei 60 °C. PPO aus Süßkartoffeln weist eine maximale Aktivität bei nur 22 °C auf (369). Die Temperaturoptima der PPO liegen bei 37 °C für Pfirsich, bei 25 °C für Aprikosen und bei 37 °C für Bananen. In der Fachliteratur liegen nur wenige Publikationen über das Temperaturoptimum der PPO vor. Diese ist, wie auch das pH-Optimum, von der Herkunft des Enzyms sowie des Substrats abhängig. Die PPO gehören nicht zu den extrem hitzestabilen Enzymen. Eine kurze Erhitzung der Frucht zwischen 70 °C und 90 °C reicht für die meisten Fälle aus, um die katalytische Funktion der PPO teilweise oder vollständig zu hemmen (369). Das Blanchieren bei niedriger Temperatur (45 min bei 50 °C) verringert schon die

PPO in Süßkartoffeln um 12 % (370). Die partielle Inaktivierung der Süßkartoffel-PPO bei solcher Temperatur weist auf verschiedene Enzyme oder Isoenzyme hin.

Mit Temperaturen von ≥ 80 °C ist eine deutliche Inaktivierung der Topinambur-PPO zu erreichen. Die Zeit, um Topinambur-PPO vollständig zu inaktivieren, beträgt 10 min bei 85 °C und 6 min bei 100 °C. Polyphenoloxidasen der *Anethum graveolens* L. sind nach einer Stunde bei 80 °C vollständig inaktiviert (143). Aus einer spanischen Untersuchung (359) konnte die Polyphenoloxidase in Abwässern einer Olivenölmühle bei Temperaturen von 60 °C bis 70 °C inaktiviert werden. Die Topinambur-PPO sind, wie auch die phenolischen Verbindungen als Substrat weniger im Fruchtfleisch der Knollen, sondern hauptsächlich in den äußeren Gewebeschichten der Schalen anzutreffen. Die gleiche Beobachtung gilt für Weinbeeren (371). Sie übt dort, zusammen mit den phenolischen Verbindungen, im Falle von Verletzungen und Infektionen eine wichtige Schutzfunktion aus.

Eine Methode zur Gewinnung phenolischer Verbindungen wurde in der vorliegenden Arbeit entwickelt und deren Reproduzierbarkeit geprüft. Der Variationskoeffizient dieses Extraktionsverfahrens beträgt 6 %. Der Variationskoeffizient stellt den relativen Fehler des Mittelwertes einer Stichprobe dar. Er ist von der Maßeinheit des Ergebnisses unabhängig und gibt die prozentuale Abweichung vom Mittelwert an. Je kleiner der Variationskoeffizient ist, desto präziser ist die Methode. Im biochemischen Übungspraktikum soll im allgemeinen mit einer Präzisionsvorgabe von etwa 5 % gerechnet werden (305). Die Auslaugung der frischen, geriebenen Knollen durch das Lösemittel-Gemisch Ethylacetat/Methanol in Verbindung mit dem freien Wasser in den Knollen erweist sich sehr vorteilhaft. Eine Ethylacetat-Phase, die zu erwarten war, bildete sich nicht aus, weil Methanol als Lösevermittler wirkt. In der Literatur gibt es vermehrt Publikationen über Polyphenole sowie deren Bestimmungsmethoden. So wird von den Behörden der Lebensmittelüberwachung in Deutschland häufig der von Rebelein (372) beschriebene "Catechin-Wert" zur Beurteilung von Weinen herangezogen. Die Bestimmung der Catechin-Werte beschränkt sich jedoch weitgehend auf das Gebiet der Bundesrepublik Deutschland. In den Gremien des Internationalen Weinamtes in Paris (O.I.V.) konnte sich diese Bestimmungsmethode nicht durchsetzen. Die EG-Verordnung Nr. 2676/90 zur Festlegung gemeinsamer Analysemethoden für den Weinsektor schreibt unter Ziff. 41 den Folin-Ciocalteu-Index als Verfahren zur quantitativen Bestimmung der phenolischen Bestandteile des Weines verbindlich vor. Bei der Durchführung der von der EG vorgeschriebenen Bestimmung der Polyphenole nach Folin-Ciocalteu ergeben sich zwei Problembereiche:

Die Bestimmung eines Indexes ohne Konzentrationsangabe ist nur von geringer Aussagekraft und wird von der Praxis heute nicht mehr akzeptiert. Aus diesem Grunde ist es erforder-

derlich, dass eine oder mehrere Bezugssubstanzen zur Umrechnung des Indexes auf eine sinnvolle Konzentrationsangabe herangezogen werden.

Es ist eindeutig nachgewiesen worden, dass verschiedene Weininhaltsstoffe die Bestimmung nach Folin-Ciocalteu stören. Eine zusätzliche Variante der Folin-Ciocalteu-Bestimmungsmethode für "kondensierbare Gerbstoffe" wird von Tanner und Brunner (362) beschrieben, wobei Gallussäure oder Catechin als Bezugssubstanzen verwendet werden sollen. Eigene Untersuchungen haben aber gezeigt, dass Gallussäure oder Catechin nicht immer die Bezugssubstanzen sein können. Im Apfelsaft, Apfelwein und Apfelessig dominiert Chlorogensäure im Spektrum der Polyphenole (373). In Kirschwein und schwarzem Johannisbeerwein ist Neochlorogensäure dominant (374). Bei einem Wein, der aus normalem Lesegut stammt, ist der Gehalt des Jungweines an Chlorogensäure hoch. Gallussäure ist in sehr geringen Mengen nach der Gärung vorhanden und verliert sich bei der Lagerung, d.h. sie wird mit der Trennung des Weines vom Trub beim ersten Abstich ausgeschieden. In ausgebauten Weinen aus normal behandelten Trauben ist Gallussäure nicht mehr nachweisbar (375). Diese Beispiele bestätigen, dass die Bezugssubstanz von dem Substrat abhängig ist. Eigene Untersuchungen haben gezeigt, dass die bisher nach Folin-Ciocalteu ermittelten Gesamtphenolwerte höher als der wirkliche Gesamtphenolgehalt ausfallen. Bei einer Modelllösung der Vergleichssubstanz weichen die nach Folin-Ciocalteu ermittelten Gesamtphenolgehalte von den gelösten Quantitäten der Einzelverbindungen als Summenwert ab. Je nach der verwendeten Bezugssubstanz ist diese Abweichung unterschiedlich. Gründe hierfür scheinen darin zu liegen, dass die gelöste Menge nicht immer der Menge der Teilchen, die an der Reaktion beteiligt sind, entspricht und dass jede Vergleichssubstanz ihre spezifische UV-Empfindlichkeit hat. Die Reinheit der Vergleichssubstanzen spielt möglicherweise auch eine Rolle. Aufgrund der Ergiebigkeit der Ergebnisse dieser Versuche wurden anhand einer Modelllösung die Gesamtphenol-Abweichungen von unterschiedlichen Bezugssubstanzen von den Sollwerten bei $\lambda = 760 \text{ nm}$, bezogen auf den Sollwert, zusätzlich ermittelt (Tabelle 24). Die Abweichung ist zwar konzentrationsabhängig, aber der Unterschied ist nicht signifikant. Wenn Gallussäure als Bezugssubstanz gewählt wird, müsste bei der Bestimmung des Gesamtphenolwertes nach Folin-Ciocalteu die ermittelte Konzentration um 47 % erhöht werden. Wenn Catechin Bezugssubstanz ist, müsste der Wert um 21 % erhöht werden. Wenn hingegen Chlorogensäure Bezugssubstanz ist, müssten bei der Bestimmung des Gesamtphenolwertes nach Folin-Ciocalteu 20 % der ermittelte Konzentration abgezogen werden; 10 %, wenn Gentisinsäure Bezugssubstanz ist und schliesslich 40 %, wenn Salicylsäure Bezugssubstanz ist. Die so korrigierten Gesamtphenolgehalte sind den Sollwerten am nächsten.

Die Einflüsse von freiem SO_2 , Eisen (II), aromatischen Aminen bzw. Ascorbinsäure als Störfaktoren bei der Polyphenolbestimmung mit Folin-Ciocalteu-Reagenz wurden in der vorliegenden Arbeit aufgezeigt. Der störende Effekt der schwefligen Säure ist unter den genannten Störparametern eindeutig der wichtigste. In der hier angewandten Extraktionsmethode wurden 250 mg Na-Bisulfit/l Extrakt eingesetzt, was 189,5 mg freiem SO_2 /l entspricht. Diese Konzentration an freiem SO_2 ergibt nach eigener ermittelter Gleichung (Diagramm 11), 0,1 Extinktionseinheiten, die von den Ergebnissen abgezogen werden müssen. Das heißt, dass der ermittelte Polyphenolgehalt durch freies SO_2 um 14 % erhöht ist. Aus den Literaturangaben ist zu entnehmen, dass bei der Folin-Ciocalteu Methode in Gegenwart von 34 mg freies SO_2 der Polyphenolgehalt um 28 % erhöht ist (365), was in dieser Arbeit nicht bestätigt werden konnte. Schweflige Säure hemmt sowohl das Wachstum von Mikroorganismen als auch die enzymatische und nichtenzymatische Bräunung (376-378).

Die Kalibriergerade ist je nach Vergleichssubstanzen bis zu 1,6 Extinktionseinheiten noch linear (Diagramm 9). Dadurch ist der bisher in der Literatur mit 1,2 Extinktionseinheiten als Grenze für das Lambert-Beersche Gesetz angegebene Wert nicht haltbar. Auch die von Tanner und Brunner (362) angegebenen 30 min zwischen dem Farbreaktionsansatz und der spektralphotometrischen Messung sind nach eigenen Untersuchungen nicht haltbar, weil die Farbstabilität zwischen 90 und 240 min gewährleistet ist.

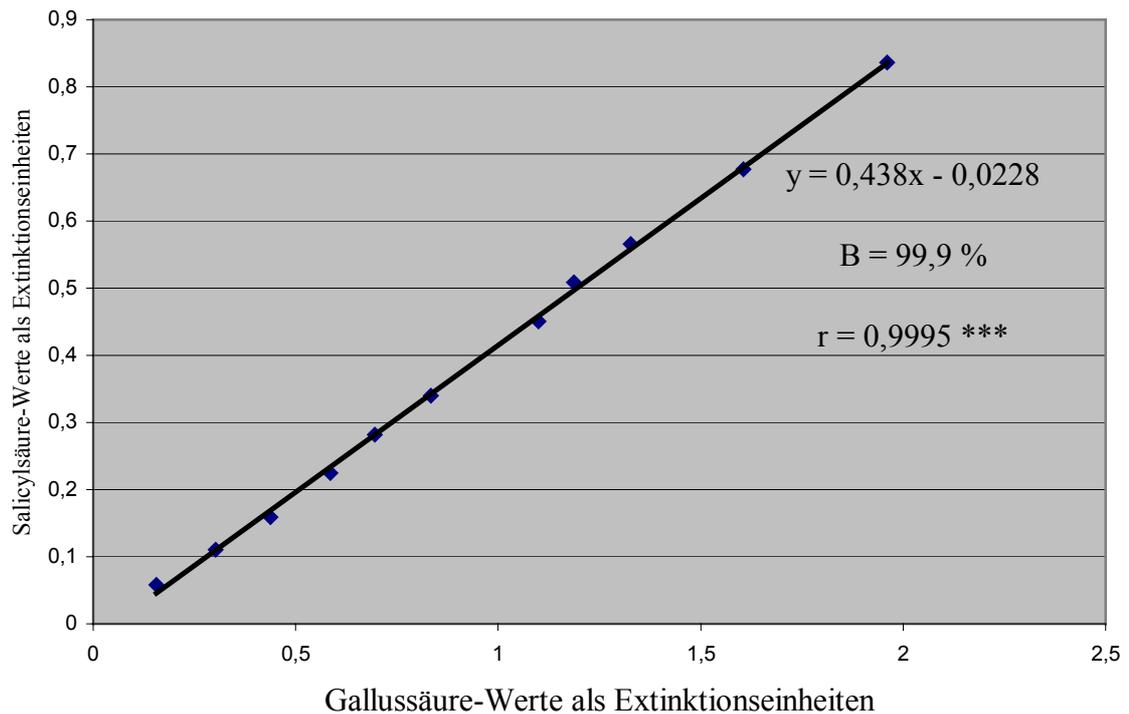
Der Gehalt an phenolischen Substanzen in Topinambur wird in hohem Maß von der verwendeten Sorte bestimmt. In Tabellen 26 und 27 sind die Phenolgehalte der Topinamburknolle als Salicylsäureäquivalente dargestellt.

Nach eigenen Untersuchungen wurde festgestellt, dass Cumarin-3-Carbonsäure, 2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoesäure und 4-Hydroxicumarin, die im Topinambur vorhanden sind, keine blaue Farbe mit Folin-Ciocalteu Phenol-Reagenz geben. Dadurch sind die Messwerte in Tabellen 26 und 27 etwas zu niedrig.

Leider konnte die Lichtstärke während der Keimversuche im Labor nicht berücksichtigt werden. Da die Lichtintensität (600 lx) positiv die Synthese phenolischer Verbindungen beeinflusst (137, 138), könnten diese Messwerte noch höher sein, wenn die Keimversuche im Freiland oder in einem Gewächshaus durchgeführt wären.

Aus den Literaturangaben ist zu entnehmen, dass der Gesamtphenolgehalt meist als Gallussäureäquivalente pro Liter Getränke ausgedrückt wird. Da in der vorliegenden Arbeit der Gesamtphenolgehalt als Salicylsäureäquivalente pro hundert Gramm Trockenmasse ausgedrückt wird, besteht bei fehlenden Trockenmassenangaben keine Vergleichsmöglichkeit.

Diagramm 36 zeigt den Zusammenhang zwischen dem nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehalt als GAE und dem nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehalt als SAE. Ein linearer Zusammenhang mit einem hohen Korrelationskoeffizienten ($r = 0,9995$) wurde zwischen beiden Ausdrücken gefunden. Anhand der Gleichungsgerade ist es möglich, mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1 % die Werte des Gesamtphenolgehaltes, ausgedrückt als Gallussäureäquivalente, in die Werte des Gesamtphenolgehaltes, ausgedrückt als Salicylsäureäquivalente, umzurechnen.



y = Salicylsäure-Werte als Extinktionseinheiten

x = Gallussäure-Werte als Extinktionseinheiten

Diagramm 36: Zusammenhang zwischen der nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehalte als GAE und der nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehalte als SAE

Neben den genannten Methoden, die auf die praktische Anwendung hin orientiert sind, werden differenziertere Methoden angewandt, die auf eine Trennung der Polyphenole mittels verschiedener chromatographischer Verfahren und einer quantitativen Bestimmung der Einzelsubstanzen beruhen. Diese Verfahren haben jedoch bis heute keinen Eingang in die Praxis gefunden. Ursache hierfür ist sicherlich der hohe Kostenaufwand hinsichtlich der apparativen Ausstattung und das weitgehende Fehlen von eindeutig definierten Bezugssubstanzen.

Paupardin hatte mittels Papierchromatographie 7 phenolische Verbindungen in Topinambur nachgewiesen. Mittels HPLC und LC-MS bzw. GC-MS wurden in dieser Arbeit

22 phenolische Verbindungen in Topinambur nachgewiesen, davon wurden 15 neue phenolische Verbindungen in Topinambur identifiziert. Das Spektrum der phenolischen Verbindungen in Topinambur ändert sich im Laufe des Keimversuchs und ist von den Wachstumsbedingungen abhängig. Polyphenoloxidasen und Peroxidasen sind vermutlich für diese Veränderungen verantwortlich. Obwohl Fruchtschalen auch Anthocyanidine (Pelargonidin, Cyanidin, Delphinidin, Päonidin und Malvidin) und Flavonole (Kämpferol, Quercetin, Isorhamnetin, Myricetin und Rutin) enthalten, konnten diese in den hier untersuchten Topinamburextrakten nicht quantifiziert werden. Hierzu sind vermutlich weitere Aufbereitungsschritte oder andere Trennsäulen erforderlich. Hier gibt es auch keine Vergleichswerte, weil die in der Literatur gefundenen HPLC-Analysen entweder nur qualitativ waren oder andere Einheiten hatten.

Das Reduktionsvermögen der Topinamburextrakte wurde mittels 2,6-Dichlorphenol-indolphenol (TR) bestimmt; das ist die am häufigsten gebrauchte Bestimmungsmethode für Vitamin C. Ihre Spezifität ist jedoch ungenügend, denn die Gegenwart anderer Substanzen, wie Phenole, Reduktone und unbekannte reduzierende Stoffe beeinflussen das Ergebnis.

Die Entfärbung des Indikators (TR) innerhalb von 15 Sekunden ist auf Reduktone, Sulfhydrylverbindungen sowie Anteile der Melanoidine und Sulfite zurückzuführen. Innerhalb weiterer 5 Minuten soll der Großteil der vorhandenen Melanoidine reagiert haben. Das weitere langsame Reduktionsvermögen bei der Bieranalyse ist vorwiegend den Gerbstoffen und Hopfenbitterstoffen zuzuschreiben (379).

Beim Tannometer wird die prozentuale Menge an Tillmanns-Reagenz (TR), welche gemäss dem Ansatz von Gray und Stone (ITT) innerhalb von 60 Sekunden reduziert wird, bei $\lambda = 520$ nm bestimmt. Die „antioxidative Wirkung“ ist von der Bestimmungsmethode abhängig (244, 246). Einleitend wurde festgestellt, dass das Reduktionsvermögen von Topinamburextrakten deutlich höher liegt als dasjenige von deutschem Bier. Die „antioxidative Wirkung“ der Topinamburextrakte ist komplex und setzt sich im wesentlichen aus den Beiträgen der einzelnen Polyphenole, Vitamin A, C und des Spurelementes Selen zusammen.

Zwischen den antioxidativ wirkenden Vitaminen C und E sowie Betacarotin bestehen synergistische Wechselwirkungen, das heißt, dass die kombinierte Wirkung dieser Stoffe stärker ist als die Summe ihrer Einzelwirkungen. Darüber hinaus kann Vitamin C Vitamin E im Körper regenerieren. Vitamin E wird nämlich beim Unterbrechen von Radikalreaktionen selbst zu einem Radikal. Vitamin C kann dieses Radikal neutralisieren und in Vitamin E zurück verwandeln, indem es selbst ein Elektron abgibt. Dadurch wird es

seinerseits zu einem Radikal, dem Ascorbylradikal, das vom Körper durch ein Enzymsystem wieder in Ascorbinsäure überführt wird. Diese Zusammenhänge machen deutlich, dass alle Vitamine in einer ausreichend hohen Konzentration vorliegen müssen, um die gewünschten antioxidativen Effekte zu erzielen.

Selen ist ein unverzichtbarer Bestandteil des antioxidativen Enzyms Glutathion-Peroxidase, das ebenfalls freie Radikale zerstört. Dieses Enzym wird im Gegensatz zu den antioxidativen Vitaminen A, C, E und Beta-Carotin - nach der Reaktion mit freien Radikalen wieder regeneriert. Aber der Organismus hat nur dann ausreichende Mengen von Glutathion-Peroxidase zur Verfügung, falls genügend Selen mit der Nahrung zugeführt wird.

Vitamin C kann Vitamin E teilweise im Organismus wieder regeneriert haben. Für eine optimale Wirkung von Vitamin E ist daher auch das Vorhandensein von Vitamin C wichtig. Bei Topinamburextrakten ist diese Wechselwirkung identisch, weil Glutathion-Peroxidase und die Vitamine A und C in Topinambur vorhanden sind.

Das von den einzelnen Vergleichssubstanzen ausgehende Reduktionsvermögen wurde erfolglos mit der Methode von Tillmanns-Reagenz erprobt. Die Entfärbung der TR erfolgt vermutlich später. Nach allen bisher vorliegenden Untersuchungen sind Stellung und Zahl der OH-Gruppen der Polyphenole von großer Bedeutung für deren antioxidative Wirkung (241). So sind z.B. häufig Inhaltsstoffe mit einer 3,4-Dihydroxikonfiguration am Benzolring (3,4-Dihydroxibenzol-Verbindungen) in der antioxidativen Stärke vergleichbar mit den in der Bundesrepublik Deutschland zugelassenen Antioxidantien BHA und BHT. Alle Flavonoide mit 3',4'-Dihydroxi-Konfiguration am Ring B, wie Quercetin, Catechin und Epicatechin, weisen eine relativ starke antioxidative Wirkung auf. Eine weitere OH-Gruppe am C₅, wie beim Myricetin und deren Gallocatechinen, erhöht die Wirkung, Methylierung von OH-Gruppen am Ring B vermindert sie. Ein Optimum an antioxidativer Wirkung wird erzielt durch das Vorkommen der CO-Gruppe am C₄, wie bei den Flavonolen und Flavonen, sowie einer freien OH-Gruppe am C₃, wie bei den Catechinen. Um eine Reihenfolge der „antioxidativen Wirkung“ zu ermitteln, sollten alle zu vergleichenden phenolischen Verbindungen mit der gleichen Methode untersucht werden, denn unterschiedliche Methoden führen verständlicherweise zu unterschiedlichen Ergebnissen.

Die Strukturaufklärung der in Topinambur isolierten und getrennten phenolischen Verbindungen mittels HPLC-MS-Kopplung wurde erprobt. Alle mittels UV-Detektion identifizierten Peaks waren mittels DAD-Detektion nicht zu trennen. Hier sollten die Trennungsbedingungen für DAD noch optimiert werden. Es konnten auch nicht sämtliche im Massenchromatogramm getrennten Peaks identifiziert werden. Ein Grund hierfür scheint darin zu liegen, dass es eine Fragmentierung in der Ionenquelle gab. Die Eluententfernung er-

folgte bei 250 °C. Bei dieser Temperatur sind einige phenolische Verbindungen zersetzt. Eine Derivatisierung und die Temperaturoptimierung und eine andere Ionisationstechnik sind vermutlich hier nötig. Die Thermospray HPLC-MS-Kopplungen sollen ein gutes Werkzeug bei der Strukturaufklärung und bei der Methodenentwicklung zur Bestimmung von Polyphenolen aus Lebensmitteln darstellen (380). ESI ist insbesondere bei hochmolekularen Komponenten interessant (381). Für eine effiziente Elektrospray-Ionisation spielt die „Chemie in der Lösung“ eine maßgebliche Rolle. So wird die Ionenausbeute zum Beispiel durch unpassende pH-Werte reduziert und die Freisetzung der Ionen aus den Aerosoltröpfchen durch nichtflüchtige Puffer oder Ionenpaarbildner behindert (382). Grundsätzlich gilt, dass die Probe bei einer Temperatur verdampfbar sein muß, bei der noch keine nennenswerte thermische Zersetzung eintritt, d.h. unterhalb des Schmelzpunktes. Bei manchen Verbindungstypen kommt es sehr leicht zu thermischen Umwandlungen (383). Die GC-MS-Kopplung als zweite Variante zur Strukturaufklärung der in Topinambur getrennten phenolischen Verbindungen wurde erprobt. Dabei wurden die Elektronenstoß-Ionisierung (EI) und die Chemische Ionisierung (CI) verwendet. Alle mittels UV-Detektion identifizierten Peaks konnten mittels GC nicht getrennt werden, obwohl die Proben derivatisiert wurden. Die Trennungsbedingungen sowie die Derivatisierungsstufen sind hier zu optimieren. Die Injektion erfolgte bei 250 °C und der Temperaturgradient in der Trennsäule lag zwischen 250 °C bis 280 °C. Bei diesen Temperaturen findet eine Zersetzung statt. Die GC-MS-Kopplung wurde verwendet, um Isoflavonoide in Lupinus-Extrakten (384) und flüchtige Phenole in Rotwein (385) zu identifizieren. Da die Trimethylsilyl-Derivate aus N, O-bis Trimethylsilylacetamide flüchtig und thermostabil sind, wurden sie verwendet, um nichtflüchtige Phenolsäure und Flavanone mittels GC zu identifizieren (386, 387).

Bei der bearbeiteten Thematik handelt es sich um eine universitäre Aufgabe. Sie leistet Beiträge für den Lebensmitteltechnologien, Ernährungswissenschaftler und Mediziner. Die in der Promotion gewonnenen Kenntnisse bilden eine Grundlage für die Bewertung von Topinambur und für die Entwicklung neuer funktioneller Lebensmittel.

5 Schlussfolgerung

Schwerpunkte der vorliegenden Arbeit waren Untersuchungen zur Bewertung von verschiedenen Topinambursorten bezüglich des Polyphenolspektrums, des Herausfindens einer Leitsubstanz x, der antioxidativen Kapazität und des Reduktionsvermögens sowie ihres Zusammenspiels mit den Polyphenoloxidasen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Verfahren zur Gewinnung phenolischer Verbindungen aus Pflanzenmaterial entwickelt, mit dessen Hilfe rund 23 % TM als phenolischen Verbindungen in den Schalen der Topinambursorte RoZo nach 52 Keimversuchstagen im Labor als Maximum erreicht werden konnte. Dieser Wert stellt einen deutlichen Fortschritt gegenüber bisher den von Paupardin beschriebenen Verfahren (138) dar, weil die Ausbeute an phenolischen Verbindungen aus der rohen Knolle praktisch verdoppelt werden konnte und die Analyse dabei vereinfacht wurde, weil sich nur eine Phase bei den Extraktionsmitteln Ethylacetat-Methanol 1:1 ausbildet. Diese Methode ist mit einem Variationskoeffizienten von 6 % reproduzierbar. Hier ist der Einsatz eines optimierten Lösemittelgemisches notwendig, weil einige phenolische Verbindungen, wie Vanillinsäure, Kaffeesäure, 3-Hydroxizimtsäure, p-Cumarsäure, 4-Hydroxicumarin und Umbelliferon im Wasser schwer löslich sind. Syringasäure ist in Wasser sogar unlöslich.

Eine generell zulösende neue Aufgabe ergibt sich aus der effektiven Verwertung von Schlempen und Abwässern, die reich an den ermittelten phenolischen Verbindungen sind. Topinamburbrände zählen zu den regionalen Spezialitäten Badens. Über 90 % der hier geernteten Knollen werden in Obstbrennereien verarbeitet (388). Im Allgemeinen werden Brennereiabwasser und Abwässern aus Olivenölmühle aufgrund ihrer hohen Gehalte an organischen Stoffen und ihrem Abbauverhalten als umweltschädigend angesehen. Möglichkeiten der Verwertung der anfallenden Schlempe liegen bisher beispielsweise in der Ausbringung als Düngemittel auf landwirtschaftliche Nutzflächen, wobei der hohe Anteil organischer Masse dem Humusaufbau zugute kommen soll, oder im Einsatz in der Tierfütterung. Allerdings ist der biologische Abbau von Polyphenolen begrenzt, weil einige dieser Verbindungen antibakteriell wirken. Das Abwasser aus Olivenölmühle ist sehr reich an phenolischen Verbindungen (bis 2 g/l Gesamtphenol, nach Folin-Ciocalteu bestimmt). Protocatechusäure, 4-Hydroxibenzoesäure, Vanillinsäure, Kaffeesäure, Chlorogensäure, Syringasäure, p-Cumarsäure, Ferulasäure und Sinapinsäure (Antioxidantien) wurden in Abwasser aus einer italienischen Olivenölmühle nachgewiesen (120). Bei der Herstellung von Frucht- und Gemüsesäften fallen grosse Mengen an Pressrückstände (bis rund ein Drittel der eingesetzten Rohwarenmengen als Trester), die reich an phenolischen Verbindungen und andere wertvolle Inhaltsstoffe sind an. Eine andere Option wird in der Ge-

winnung phenolischer Verbindungen gesehen. So kann das entwickelte Verfahren zur Gewinnung von phenolischen Verbindungen in bereits etablierte Produktionsprozesse der Obstbrennereien sowie in den Saftfabriken (Rückgewinnung aus Trester) und Olivenölmühlen integriert werden. Zur Vermeidung weiterer Umweltbelastungen sollen die eingesetzten Lösemittel abdestilliert (Ethylacetat siedet bei 77 °C und Methanol bei 64 °C), justiert und wiederverwendet werden. Bei diesen Temperaturen bleiben alle verwendete phenolischen Verbindungen als Vergleichssubstanzen stabil (Tabelle 69). Die gewonnenen phenolischen Verbindungen im Form von rückstandsfreien Konzentraten oder Pulver können als Bestandteile funktioneller Lebensmittel, als natürliche Farbstoffe bzw. als Antioxidantien verfügbar gemacht und damit einer hochwertigen Verwendung zugeführt werden. Sie entstammen nachwachsenden Rohstoffe und erfüllen damit den Wunsch des Verbrauchers nach natürlichen Lebensmittelzusätzen. Somit ist das Ziel der Arbeit erreicht.

Die bisher in der Literatur beschriebenen Methoden zur Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes (MEBAK- und Folin-Ciocalteu-Methode) wurden in der vorliegenden Arbeit überprüft:

Die MEBAK-Methode ist zwar empfindlicher als die Folin-Ciocalteu-Methode aber nicht aufgrund der Niederschlagbildung für alle Substrate anwendbar.

Bei der Gesamtphenolbestimmung nach Folin-Ciocalteu soll die Wellenlänge auf 760 nm geändert werden.

Die Kalibriergerade ist bis zu einer Extinktionseinheit von 1,6 linear. Dadurch ist der bisher mit 1,2 Extinktionseinheiten als Grenze für das Lambert-Beersche Gesetz angegebene Wert nicht haltbar.

Die in der Literatur angegebenen 30 min zwischen dem Farbreaktionseinsatz und der spektralphotometrische Messung sind nicht haltbar, weil die Stabilität der Farbreaktion (nach Folin-Ciocalteu gefärbt) zwischen 90 und 240 min gewährleistet ist.

Die Gesamtphenolbestimmung nach Folin-Ciocalteu ist mit einem Variationskoeffizienten von 1,3 % reproduzierbar.

In der vorliegenden Arbeit konnte bewiesen werden, dass einige phenolische Verbindungen, wie z.B. Cumarin-3-Carbonsäure, 2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoesäure und 4-Hydroxicumarin, die in Topinambur vorhanden sind, keine blaue Farbe mit Folin-Ciocalteu Phenolreagenz geben, und daher nicht erfasst werden.

Die schweflige Säure ist unter den Störparametern bei der Gesamtphenolbestimmung nach Folin-Ciocalteu eindeutig die wichtigste Verbindung. Eine Gleichung mit hohem Korrelationskoeffizienten ($r = 0,9998$) wurde ermittelt. Anhand der Gleichungsgerade ist es mög-

lich, diesen störenden Effekt durch schweflige Säure als konzentrationsabhängige Extinktion umzurechnen und zu berücksichtigen.

Salicylsäure hat sich in der vorliegenden Arbeit als beste Bezugssubstanz erwiesen, d.h. der Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu bestimmt) ist bezugssubstanzabhängig. Bevor die Methode auf andere Substrate übertragen wird, muss zuerst die Leitsubstanz z.B. mittels HPLC bestimmt werden. Eine Gleichungsgerade wurde in der vorliegenden Arbeit für jede verwendete phenolische Verbindung als mögliche Bezugssubstanz mit einem hohen Korrelationskoeffizienten ($r > 0,9$) ermittelt. Auch wurden anhand einer Modelllösung der Vergleichsubstanzen, gefärbt nach Folin-Ciocalteu, die Gesamtphenolabweichungen von den Sollwerten, ausgedrückt als Gallussäure, Chlorogensäure, Catechin, Gentisinsäure und Salicylsäure, ermittelt. Sie sind mit einer statistische Sicherheit von 99 % ($f = 30$) nicht konzentrationsabhängig. Die experimentell gefundenen Abweichungen in den Gesamtphenolgehalten, die bisher in der zur Verfügung stehenden Literatur nicht beschrieben worden sind, dienen als Korrekturfaktoren bei der Übertragung der Folin-Ciocalteu-Methode auf andere Substrate.

Aus den durchgeführten Untersuchungen ergibt sich, dass die unter Ziffer 41 in der EG-Verordnung Nr. 2676/90 beschriebenen Verfahren zur quantitativen Bestimmung der phenolischen Bestandteile des Weines sowie den entsprechenden modifizierten Varianten der romanischen Staaten (60), der von Rebelein und von den Behörden der Lebensmittelüberwachung in Deutschland häufig beschriebene „Catechin-Wert“ und die von Tanner und Brunner (362) beschriebene zusätzliche Variante der Folin-Ciocalteu Bestimmungsmethode nicht mehr haltbar sind.

Ein wichtiges Ergebnis der vorliegenden Arbeit ist der Nachweis der Veränderungen des Gesamtphenolgehaltes qualitativ und quantitativ im Laufe der Keimversuche von Topinambur im Labor. Weiterhin wurde die Lokalisation der phenolischen Verbindungen in den Schalen der Knollen ermittelt. Die Veränderungen des Gesamtphenolgehaltes lassen sich durch die Veränderungen des Wassergehaltes, der Extraktkonzentration, der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit K_{20} und des pH (der Gesamtphenolgehalt sinkt mit zunehmendem pH-Wert) erklären.

Ein linearer Zusammenhang mit einem Korrelationskoeffizienten ($r = 0,8499$) zwischen dem Gesamtphenolgehalt als GAE in % TM und dem Wassergehalt (g/100 g Schalen) sowie zwischen dem Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM und der Wassergehalt (g/100 g Schalen) (Korrelationskoeffizienten $r = 0,8452$) wurde in den Schalen der im Labor gezüchtete Topinamburknollen gefunden, d.h. der Zusammenhang ist nicht bezugssubstanzabhängig. Der Gesamtphenolgehalt steigt mit zunehmendem Wassergehalt.

Grundlage für diese Korrelationskoeffizienten bildeten die entsprechenden Mittelwerte während der Keimdauer bei 0, 12, 21, 33 und 52 Tagen sowie die dazugehörigen Werte, die bei diesen Keimtagen ermittelt wurden. Nach dieser Methode wurden auch alle weiteren im Folgenden ausgewiesenen Zusammenhänge bewertet.

Ein linearer Zusammenhang mit einem Korrelationskoeffizienten ($r = 0,9291$) zwischen dem Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM und der Extraktkonzentration (g/100 ml) wurde in den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen gefunden. Der Gesamtphenolgehalt steigt mit zunehmender Extraktkonzentration.

Ein linearer Zusammenhang mit einem Korrelationskoeffizienten ($r = 0,9639$) zwischen dem Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM und der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit K_{20} [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$] wurde in den Schalen der im Labor kultivierten Topinambur gefunden. Der Gesamtphenolgehalt steigt mit zunehmender spezifischen elektrischen Leitfähigkeit.

Ein Zusammenhang mit einem Korrelationskoeffizienten ($r = 0,962$) zwischen dem Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM und dem pH-Wert wurde in den Schalen der im Labor gezüchtete Topinamburknollen gefunden. Der Gesamtphenolgehalt sinkt mit zunehmendem pH-Wert. Die Veränderungen der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit lassen sich durch die Veränderungen der Extraktkonzentration, des Wassergehaltes und der Mineralisierung im Laufe der Keimversuche erklären.

Ein weiteres wichtiges Ergebnis der vorliegenden Arbeit ist die Lokalisation der Polyphenoloxidasen in den Schalen der Topinamburknollen und deren Inaktivierung. Topinamburknollen weisen eine hohe PPO-Aktivität in den Schalen (95-181 U/ml.min bei den untersuchten Sorten) auf. Um die Polyphenole möglichst unverändert für die Ernährung bereitstellen zu können, muss die PPO inaktiviert werden. Eine maximale Temperatur (60 °C) und ein pH (pH 7) für die optimale Aktivität der Topinambur-PPO wurden in der vorliegenden Arbeit ermittelt. Im alkalischen Bereich bleibt die hohe PPO-Aktivität erhalten, im sauren Bereich ist dagegen eine Inaktivierung möglich. Bei einem pH unter 4,5 lässt die Enzymaktivität nach. Als Naturprodukt stellt Zitronensaft eine ideale Kombination aus Ascorbinsäure und Zitronensäure zur Enzyminaktivierung dar. Zum einen minimiert die Ascorbinsäure als Antioxidationsmittel die Sauerstoffwirkung und zum anderen senkt die Zitronensäure den pH-Wert ab. Hier sei bereits eine der möglichen Übertragung der neuen Ergebnissen über Zitronensaft auf die Verarbeitung von Obst und Gemüse in der Küche und der Obst- und Gemüseindustrie hingewiesen. Durch das Schälen bzw. Blanchieren bei 100 °C bzw. eine pH-Verschiebung auf 4,5 kann eine PPO-Aktivität minimiert werden. Die für die menschliche Ernährung wichtigen Polyphenole bleiben bei dieser

Temperatur und diesem pH-Wert aber noch völlig intakt. Nach den hier beschriebenen Erkenntnissen sollte Gemüse immer frisch verarbeitet werden und entweder direkt verzehrt oder unter den genannten Bedingungen lagerfähig gemacht werden.

Die funktionellen Werte getrockneter Waren können durch die Bestimmung der PPO-Aktivität bewertet werden. Bei zu scharfer Trocknung ist die Enzymaktivität nicht mehr vorhanden. Dafür muss mit hohen Temperaturen bei schnellem Wasserentzug gearbeitet werden, um eine unerwünschte starke Veränderung von anderen Inhaltsstoffen zu vermeiden. Es kann davon ausgegangen werden, dass die meisten Vitamine bei zu intensiver Trocknung und hoher relativ Feuchte ebenfalls stark reduziert wurden.

Die Polyphenole und die entsprechenden PPO sind zwar in den Schalen der Topinamburknollen lokalisiert aber die Untersuchungen haben in der vorliegenden Arbeit keinen linearen Zusammenhang zwischen dem Gesamtphenolgehalt und der PPO-Aktivität gezeigt (Diagramm 18).

Die protektive Wirkung vieler sekundärer Pflanzenstoffe wird unter anderem auf ihre antioxidativen Eigenschaften zurückgeführt.

Um Topinamburextrakte auf ihre antioxidative Wirkung zu testen, wurden in der vorliegenden Arbeit das Reduktionsvermögen (MEBAK) und die antioxidative Kapazität (ACW) gemessen.

Das Reduktionsvermögen der Topinamburextrakte ändert sich im Laufe der Keimversuche im Labor. Die Topinamburextrakte haben je nach Sorte ein vergleichbares bei etwa 97 % liegendes Reduktionsvermögen wie Rotweine und roter Traubensaft gezeigt. Gegenüber deutschen dunklen Bieren liegen die Reduktionsvermögenswerte bei den Topinamburextrakten höher.

Ein linearer Zusammenhang mit einem Korrelationskoeffizienten ($r = 0,9478$) zwischen dem Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM und dem Reduktionsvermögen wurde in den Extrakten der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln sowie in den Schalen ($r = 0,9751$) gefunden. Anhand der Gleichungsgerade ($y = 0,4348x - 37,585$; $B = 89,84\% \text{ ***}$ für die Extrakten aus den Knollen sowie $y = 0,3388x - 9,8778$; $B = 95\% \text{ ***}$ für die Schalen) ist es möglich, mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit zwischen 0,1 und 0,2 % die Werte des Gesamtphenolgehaltes (y in % TM) in die Werte des Reduktionsvermögens (x in [%]) umzurechnen.

Der lineare Zusammenhang ist in den Schalen besser als in den ganzen Knollen erfüllt.

Die Extrakte aus Topinambur- und Zichorienschalen weisen je nach Sorte eine ausgezeichnete antioxidative Kapazität (entsprechend 30 –91 g Ascorbinsäure/kg TM) gegenüber anderen Gemüsen (entsprechend 2-34 g Ascorbinsäure/kg TM) auf.

Ein linearer Zusammenhang mit einem Korrelationskoeffizienten ($r = 0,8675$) zwischen dem Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM und der antioxidativen Kapazität wurde in den Extrakten der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln sowie in den Schalen ($r = 0,9552$) gefunden. Anhand der Gleichungsgerade ($y = 0,1121x + 1,1823$; $B = 75\% **$ für die Extrakte aus den Knollen sowie $y = 0,0651x + 15,761$; $B = 91\% ***$ für die Extrakte aus den Schalen) ist es möglich, mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit zwischen 1 und 2 % für die Extrakte aus den Knollen sowie zwischen 0,1 und 0,2 % für die Extrakte aus den Schalen die Werte des Gesamtphenolgehaltes (y in % TM) in die Werte der antioxidativen Kapazität (x in g Ascorbinsäure/kg TM) umzurechnen.

Der lineare Zusammenhang ist in den Schalen besser als in den ganzen Knollen erfüllt. In der vorliegenden Arbeit wurde kein Zusammenhang zwischen der antioxidativen Kapazität (g Ascorbinsäure/ kg TM) und dem Reduktionsvermögen [%] in den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln, ausgedrückt durch die Messreihe während der Keimversuche, gefunden (Diagramm 33).

Das Spurelement Selen, welches in relativer hoher Konzentration in Topinambur vorhanden ist (50 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ Topinamburpulver) unterstützt als der zentrale Bestandteil des antioxidativen Enzyms Glutathion-Peroxidase in Zusammenarbeit mit den Vitaminen A und C das Reduktionsvermögen sowie die antioxidative Kapazität.

Um die Einzelsubstanzen der phenolischen Verbindungen qualitativ und quantitativ bestimmen zu können, wurden Topinamburextrakte mittels HPLC, LC-MS und GC-MS untersucht. Dabei wurde ein bekannter Gradient aus der Literatur zur Trennung phenolischer Verbindungen modifiziert und die Bedingungen auf Topinamburextrakte angepasst. Insgesamt wurden 22 phenolische Verbindungen in den Topinamburextrakten identifiziert. Davon konnten 15 neue Verbindungen ermittelt werden. Das Spektrum der phenolischen Verbindungen in Topinamburknollen ändert sich qualitativ und quantitativ im Laufe der Keimversuche und ist von den Wachstumsbedingungen abhängig.

Ein linearer Zusammenhang mit einer Korrelation ($r = 0,9525$) wurde zwischen den unter gleichen Bedingungen nach Folin-Ciocalteu und mittels HPLC (auch nicht identifizierte Verbindungen sowie nur die identifizierte Verbindungen ($r = 0,9489$)) gewonnenen Gesamtphenolwerten der im Labor kultivierten Topinambur- und Zichorienschalen (alle Sorten ab dem 21. Keimversuchstag) gefunden. Anhand der Gleichungsgerade ($y = 0,5906x + 12,171$; $B = 91\% ***$ für auch nicht identifizierte Verbindungen sowie $y =$

0,9407x + 12,078; B = 90 % *** für nur die identifizierte Verbindungen) ist es möglich, mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit zwischen 0,1 und 0,2 % die Werte der einen Methode in die Werte der anderen Methode umzurechnen.

Die Trennungsbedingungen sind bei der LC-MS- und GC-MS-Kopplung noch zu optimieren, besonders die Derivatisierungsstufen. Eine quantitative Untersuchung mittels LC-MS- und GC-MS-Kopplung konnte nicht im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführt werden, weil die TU-fremden Geräte nur in einer geringen Zeit zu Verfügung standen. Dabei ist eine Kalibrierkurve erforderlich.

In der vorliegenden Arbeit konnte bewiesen werden, dass Topinambur einen hohen Gehalt an Antioxidantien aufweist. Aufgrund ihrer Zusammensetzung wird Topinambur einerseits als Heilpflanze und andererseits als Industriepflanze eingesetzt. Mit 1000 ha (389) Anbaufläche ist Topinambur hierzulande wenig verbreitet und in der deutschen Küche kaum bekannt.

Der Knollenertrag in Frischmasse verschiedener Topinambursorten und –herkünfte ist in Tabelle 70 dargestellt.

Tabelle 70: Knollenertrag in Frischmasse verschiedener Topinambursorten und –herkünfte (nach Stolzenburg 2002, LAP Forchheim) (389)

Topinambursorten	Knollenertrag in t FM/ha (mehrfähriges Mittel)	Knollenertrag in t FM/ha (2001)
Gute Gelbe	48,5	41,5
Waldspindel	39,9	19,8
Topianka	43	26,1
Medius	47,7	28,8
Bianka	46,1	43,4
Landsorte Weiß	43,1	26,4
Rote Zonenkugel (RoZo)	42,9	28,2
Violet de Rennes	43,7	50,7
Landsorte Rot	41,7	29
Fuseau 60	43,5	24,6
Dornburger	39,5	36,2
Henriette	30,8	29,6
Gigant	35	16,4
Topstar	38,1	26,3
Lola		35,7
Völkenroder Spindel		31,1

FM = Frischmasse

Wie aus Tabelle 70 hervorgeht liegen die Knollenerträge je nach Sorte durchschnittlich zwischen 31 und 48,5 t FM/ha (mehrfähriges Mittel) und zwischen 16,4 und 51 t FM/ha im Jahr 2001. Der Krautertrag erreicht mit ca. 20 t/ha im Mittel bei den Sorten Henriette, Waldspindel und Rote Zonenkugel (RoZo) im September sein Maximum (389).

Die Topinamburblätter und -stolonen werden bisher gepresst und als Futtermittel verwendet. Zu überprüfen ist die Sinnhaftigkeit der Erhöhung der Anbaufläche. Vor dem Pressen sind entsprechende phenolische Verbindungen aus den Blättern und Stolonen, genauso aus den Schalen, falls die Knollen zur Konservenverarbeitung werden, herauszunehmen. Sie werden z.B. als Lebensmittelstabilisatoren auf Naturbasis zur Konservierung von haltbar gemachten Lebensmitteln (Fertigkost), die heutzutage immer mehr an Bedeutung gewinnen, eingesetzt. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ermöglichen den gezielten Zusatz von Topinamburpulver als Antioxidantien oder Ergänzung in anderen Pulvern wie z.B. Kartoffelpüree.

6. Zusammenfassung

In Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) sind viele Inhaltsstoffe lokalisiert worden, die in der Medizin und bei Diäten angewandt werden. Die sekundären Inhaltsstoffe, wie phenolische Verbindungen, wurden bisher nicht wissenschaftlich untersucht. Ihnen werden u.a. eine erhöhte antioxidative Kapazität und die Fähigkeit der Beseitigung von freien Radikalen im menschlichen Stoffwechsel zugeschrieben. In der vorliegenden Arbeit wurden Methoden auf ihre Eignung zur Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes sowie der Aktivität der Polyphenoloxidase PPO bei Topinambur untersucht. Voraussetzung dazu war das Herausfinden der Leitsubstanz Salicylsäure, welche die mengenmäßig größte Polyphenolsäure ist. Mit dieser war die summarische Bestimmung der Gesamtphenole nach Folin-Ciocalteu neu festzulegen. Hierzu wurde eine neue Variante in der vorliegenden Arbeit entwickelt.

Die Trockenmasse von Topinamburknollen ist sortenabhängig. Die Polyphenole sind fast ausschließlich in der äußeren Zellwand der Topinamburknollen lokalisiert und möglicherweise von der Schalenmenge der Knollen abhängig. Die Mischung Ethylacetat-Methanol im Verhältnis 1:1 ist das beste Extraktionsmittel. Die selbst entwickelte Extraktionsmethode zur Gewinnung phenolischer Verbindungen ist mit einem Variationskoeffizienten VK von 6 % reproduzierbar.

Bei der Strukturaufklärung wurden die Elektrospray-Ionisation (ESI), die Elektronenstoß-Ionisierung (EI) und die Chemische Ionisierung (CI) erprobt. Die EI hatte nicht gut funktioniert. In der vorliegenden Arbeit wurden nur die Werte der ESI und CI angewendet. Die Ergebnisse der UV-Detektion wurden mit denen der LC-MS und GC-MS verglichen.

Insgesamt sind 22 phenolische Verbindungen in Topinamburextrakten identifiziert worden: Gallussäure mit 0,0009 bis 0,02 % der TM; Protocatechusäure mit 0,005 bis 0,2 % der TM; Aesculin mit 0,004 bis 0,25 % der TM; Gentisinsäure mit 0,03 bis 3 % der TM; Catechin mit 0,001 bis 0,3 % der TM; 4-Hydroxibenzoesäure mit 0,001 bis 0,09 % der TM; Chlorogensäure mit 0,02 bis 4,5 % der TM; Vanillinsäure mit 0,001 bis 0,5 % der TM; Syringasäure mit 0,001 bis 0,04 % der TM; Kaffeesäure mit 0,001 bis 0,05 % der TM; Epicatechin mit 0,004 bis 0,8 % der TM; 2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoesäure mit 0,002 bis 0,2 % der TM; Umbelliferon mit 0,002 bis 0,1 % der TM; Scopoletin mit 0,001 bis 0,08 % der TM; p-Cumarsäure mit 0,001 bis 0,04 % der TM; Cumarin-3-Carbonsäure mit 0,001 bis 0,03 % der TM; Ferulasäure mit 0,001 bis 0,04 % der TM; Sinapinsäure mit 0,001 bis 0,06 % der TM; 3-Hydroxizimtsäure (Spur); Ellagsäure mit 0,002 bis 0,04 % der TM; 4-Hydroxicumarin mit 0,004 bis 0,3 % der TM und Salicylsäure mit 0,03 bis 6,5 % der TM. Daraus ergibt sich Salicylsäure als Leitsubstanz für Topinambur. Von den identi-

fizierten phenolischen Verbindungen sind 15 neue Verbindungen ermittelt worden: Gallussäure, Protocatechusäure, Aesculin, Catechin, Syringasäure, Epicatechin, 2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoesäure, Umbelliferon, Scopoletin, Cumarin-3-Carbonsäure, Sinapinsäure, 3-Hydroxizimtsäure, Ellagsäure, 4-Hydroxicumarin und Salicylsäure.

Die Absorptionsmaxima und molaren Extinktionskoeffizienten aller Vergleichssubstanzen wurden bestimmt.

Die bisher vorgeschriebene Wellenlänge von 600 nm bei der MEBAK-Methode zur Bestimmung phenolischer Verbindungen im Bier sollte zur Ausnutzung des Extinktionsmaximums auf 550 nm geändert werden. Aber auch bei der amtlichen Folin-Ciocalteu-Methode für Wein und Saft sollte die vorgeschriebene Wellenlänge von 720 nm zur Ausnutzung des Extinktionsmaximums auf 760 nm geändert werden. Die MEBAK Methode ergibt bei der Gesamtphenolbestimmung in Topinambur einen Niederschlag, der möglicherweise aus Na-Phosphat besteht. Deshalb wurde in dieser Arbeit nur die Folin-Ciocalteu-Methode verwendet.

Die Gesamtphenol-Bestimmungsmethode nach Folin-Ciocalteu ist mit einem Variationskoeffizienten (VK) von 1,31 % reproduzierbar. Die Farbstabilität bei der Gesamtphenol-Bestimmung nach Folin-Ciocalteu ist zwischen 90 und 240 min gewährleistet. Der ermittelte Polyphenolgehalt ist je nach verwendeter Bezugssubstanz unterschiedlich. Die entsprechenden Umrechnungsfaktoren wurden ermittelt. Der Polyphenolgehalt erhöht sich scheinbar bei Anwesenheit von freiem SO₂ um 14 %.

Es wurde festgestellt, dass die PPO-Aktivität eine Reaktion gebrochener Ordnung ist. Sie erwies sich für alle untersuchten Sorten überwiegend in den Knollenschalen lokalisiert. Das pH-Optimum für die Topinambur-PPO liegt bei 7, ihr Temperaturoptimum ist bei 60 °C. Die Zeit, um die Topinambur-PPO vollständig zu inaktivieren, beträgt 10 min bei 85 °C und 6 min bei 100 °C.

Die antioxidative Kapazität der Topinambur- und Zichorienschalen sowie deren Reduktionsvermögen sind nicht konstant sondern ändern sich im Laufe der Keimung.

Bis auf 2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoesäure und Cumarin-3-Carbonsäure sind alle im Topinamburextrakten neu identifizierten phenolischen Verbindungen Antioxidantien. Salicylsäure ist eine Stammsubstanz der „Salicylsäuregruppe“ wie, z. B. Aspirin.

7. Literaturverzeichnis
1. Block, G.B., Patterson, A., Subar, A. (1992). Fruit, vegetable, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutrition and Cancer*, 18, S. 1–29.
2. Böhm, V., Schlesier, K., Bitsch, R. (1999). Gesund durch pflanzliche Phenole. *Deutsche Apotheker Zeitung*, 139 (22) S. 2217–2219.
3. Böhm, H. (2000). Das Französische Paradoxon – Gesundheit durch Phenole des Weins. Antioxidative und andere Wirkungen von Wein und Weinphenolen. *Ernährungs-Umschau*, 47 (3) S. 92–100.
4. Böhm, V., Schlesier, K., Bitsch, R. (2000). Kritische Betrachtung der protektiven Wirkung von Frucht- und Gemüsekonzentraten. *Lebensmittel*, 3, S. 280–282.
5. Will, F., Rechner, A., Dietrich, H. (1999). French Paradoxon: Phenolische Inhaltsstoffe und ihre antioxidative Wirkung in Fruchtweinen. *Getränkeindustrie* 11, S. 692–698.
6. Herrmann, K. (1990). Vorkommen und Gehalte der Flavonoide in Obst I. Catechine und Proanthocyanidine. *Erwerbsobstbau* 32, S. 4-7.
7. Herrmann, K. (1991). Vorkommen, Gehalte und Bedeutung von Inhaltsstoffen des Obstes und Gemüses II. Flavonoide: Catechine, Proanthocyanidine, Anthocyanine. *Industrielle Obst- und Gemüseverwertung*, 76 (5–6), S. 170–175.
8. Herrmann, K. (1991). Vorkommen, Gehalte und Bedeutung von Inhaltsstoffen des Obstes und Gemüses III. Flavonoide: Flavon- und Flavonolglykoside und weitere Flavonoide. *Industrielle Obst- und Gemüseverwertung* 76 (4), S. 156-160.
9. Herrmann, K. (1990). Vorkommen und Gehalte der Flavonoide in Obst II. Flavanolglycoside, Anthocyanine und Dihydrochalcone. *Erwerbsobstbau* 32, S. 32–37.
10. Herrmann, K. (1999). Gesundheitliche Bedeutung von antioxidativen Flavonoiden und Hydroxyzimtsäure im Obst und in Fruchtsäften. *Flüssiges Obst*, 10, S. 566–570.
11. Kanner, J., Frankel, E., Granit, R., German, B., Kinsella, J., E. (1994). Natural antioxidants in grapes and wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42, S. 64–69.
12. Kinsella, J.E., Frankel, E., Kanner, J., German, B. (1993). Possible mechanisms the protective role of antioxidants in wine and plant foods. *Food Technology*, 47, S. 85–89.
13. Romani, A., Pinelli, P., Mulinacci, N., Vincieri, F.f., Tattini, M. (1999). Identification and quantification of polyphenols in leaves of *Myrtus communis* L. *Chromatographia*, 49 (1/2) S. 17–20.
14. Garcia-Viguera, C., Tomás-Barberán, F., A., Ferreres, F., Artés, F., Tomás-Lorente, F. (1993). Determination of citrus jams genuineness by flavonoid analysis. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -forschung*, 197, S. 255–259.
15. Babic, I., Amiot, M.J., Nguyen-The, C., Aubert, S. (1993). Changes in phenolic content in fresh ready to use shredded carrots during storage. *Journal of Food Science*, 58 (2) S. 351–357.

16. Wucherpfenning, K., Millies, K., D., Landgraf, H. (1970). Einfluss der Polyphenole von schwarzen Johannisbeeren auf die Wirksamkeit von pektinspaltenden Fermenten und die Viskosität von Pektinlösungen. *Flüssiges Obst*; 37 (3) S. 87-97.
17. Pietta, P., Bruno, A. (1992). Separation of flavonol-2-O-glycosides from *Calendula officinalis* and *Sambucus nigra* by high-performance liquid and micellar electrokinetic capillary chromatography. *Journal of Chromatography*, 593, S. 165-170.
18. Gao, L., Mazza, G. (1994). Quantitation and Distribution of simple and acylated Anthocyanins and other Phenolics in Blueberries. *Journal of Food Science*, 59 (5), S. 1057-1059.
19. Häkkinen, S., H., Kärenlampi, S., O., Heinonen, I., M., Mykkänen, H., M., Törrönen, A., R. (1999). Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, S. 2274-2279.
20. Karadeniz, F., Durst, R., W., Wrolstad, R., E. (2000). Polyphenolic composition of raisins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, S. 5343-5350.
21. Sarni-Manchado, P., Le Roux, E., Le Guernevé, C., Lozano, Y., Cheynier, V. (2000), Phenolic composition of litchi fruit pericarp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, S. 5995-6002.
22. Parker, M., L., Annie, Ng., Smith, A., C., Waldron, K., W. (2000). Esterified phenolics of the cell walls of chufa (*Cyperus esculentus* L.) tubers and their role in texture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, S. 6284-6291.
23. Areias, F., Valentão, P., Andrade, P., B., Ferreres, F., Seabra, R., M. (2000). Flavonoids and phenolics acids of sage (*Salvia officinalis* L.): Influence of some agricultural factors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, S. 6081-6084.
24. Klump, S., P., Allred, M., C., MacDonald, J., L., Ballam, J., M. (2001). determination of isoflavones in soy and selected foods containing soy by extraction, saponification, and liquid chromatography: Collaborative study. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists International*, 84 (6), S. 1865-1883.
25. Hohl, U., Neubert, B., Pforte, H., Schonhof, I., Böhm, H. (2001). Flavonoid concentrations in the inner leaves of head lettuce genotypes. *European Food Research and Technology*, 213, S. 205-211.
26. Tal, B., Robeson, D., J. (1986). The induction by fungal inoculation, of ayapin and scopoletin biosynthesis in *Helianthus annuus* (sunflower). *Phytochemistry*, 25 (1), S. 77-79.
27. Clausen, S., Olsen, O., Sørensen, H. (1982). 4-Hydroxybenzoylcholine: a natural product present in *Sinapis alba* (Cruciferae). *Phytochemistry*, 21 (4), S. 917-922.
28. Yong-Soo, K., Kobayashi, A., Shin-Ichiro, K., Kazuyoshi, K., Hiroshi, K., ChangMin, K. (1997). Antimicrobial constituents of *Angelica dahurica* (Umbelliferae) roots. *Phytochemistry*, 44 (5), S. 887-889.
29. Ratnayake Bandara, B., M., Leslie Gunatilaka, A., A., Kithsiri wijeratne, E., M., MacLeod, J., K. (1990). Acridone alkaloids and coumarins from *Pleiospermium alatum* (Rutaceae). *Phytochemistry*, 29 (1), S. 297-301.

30. Dubois, M., A., Wierer, M., Wagner, H. (1990). Palustroside, a coumarin glucoside ester from *Ledum palustre* (Ericaceae). *Phytochemistry*, 29 (10), S. 3369-3371.
31. Achenbach, H., Benirschke, G. (1997). Joannesialactone and other compounds from *Joannesia princerps* (Euphorbiaceae). *Phytochemistry*, 45 (1), S. 149-157.
32. Tekel'ová, D., Felklová, M. (1993). *Salvia officinalis* cv. Krajová (Lamiaceae): Teil 5. Mitteilung: Gehalt an ätherischem Öl, Asche und Hydroxizimtsäurederivaten in einzelnen Blattinsertionen. *Pharmazie*, 48 (12), S. 938-940.
33. Siewek, F., Galensa, R., Herrmann K. (1984). Nachweis eines Zusatzes von roten zu schwarzen Johannisbeer-Erzeugnissen über die hochdruckflüssig-chromatographische Bestimmung der Flavonolglykoside. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -forschung*, 179, S. 315-321.
34. Mareck, U., Galensa, R., Herrmann, K. (1990). Identifizierung von Kiwi in Fruchtprodukten mittels HPLC. *Zeitschrift für Lebensmittel -untersuchung und -forschung*, 191, S. 194-198.
35. Larrauri, J., A., Rupérez, P., Fulgencio Saura, C. (1997). Pineapple shell as a source of dietary fiber with associated polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, S. 4028-4031.
36. Gao, L., Mazza, G. (1996). Extraction of Anthocyanin pigments from purple sunflower hulls (*Helianthus annus*). *Journal of Food Science*, 61 (3), S. 600-603.
37. Velioglu, Y., S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B., G. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetable, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, S. 4113-4117.
38. Friedman, M. (1997). Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, S. 1523-1540.
39. Cano, M., P., Begoña de Ancos, Gloria Lobo, M., Santos, M. (1997). Improvement of frozen banana (*Musa cavendishiicv. Enana*) colour by blanching: Relationship between browning, phenols and polyphenol oxidase and peroxidase activities. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -forschung /A* 204, S. 60-65.
40. Herrmann, K. (1989). Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 28 (4), S. 315-347.
41. Herrmann, K. (1987). Chemische Zusammensetzung von Obst und Fruchtsäften einschließlich wichtiger Gemüsesäfte sowie deren ernährungsphysiologische Bedeutung. In „Frucht- und Gemüsesäfte: Technologie, Chemie, Mikrobiologie, Analytik, Bedeutung, Recht“. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, S. 64-69.
42. Hrazdina, G. (1981). Anthocyanins and their role in food products. *Lebensmittelwissenschaft und Technologie*, 14, S. 283-286.
43. Cacho, J., Castells, J., E. (1991). Fractionation of phenolic compounds from grapes by size exclusion liquid chromatography with HPLC instrumentation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42 (3), S. 327-335.
44. Friedman, M., Jürgens, H., S. (2000). Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48, S. 2101-2110.

45. Jordão, A., M., Richardo-Da-Silva, J., M., Laureano, O. (2001). Evolution of proanthocyanidins in bunch stems during berry development (*Vitis vinifera* L.). *Vitis*, 40 (1), S. 17-22.
46. Troszyńska, A., Bednarska, A., Łatosz, A., Kozłowska, H. (1997). Polyphenolic compounds in the seed coat of legume seeds. *Polisch Journal of Food and Nutrition Science*, 6/47, (3), S. 37-44.
47. Senter, S., D., Horvat, R., J., Fotbus, W., R. (1988). Quantitative variation of total phenol in fresh market tomatoes at three stages of maturity. *Journal of Food Science*, 53 (2), 639-641.
48. Ola Lawal, R., Bassir, O., Oke, L. (1987). The polyphenol content of the overcoat of the mature fruit of *Treculia africana*. *Food Chemistry*, 23, S. 89-94.
49. Wucherpfennig, K., Semmler, G. (1972). Die Acetaldehydbildung im Verlauf der Gärung in Abhängigkeit vom Gehalt an Polyphenolen und vom pH-Wert. *Mitteilungen: Rebe, Wein, Obstbau und Früchteverwertung*; 22 (1) S. 38-52.
50. Simonetti, P., Pietra, P., Testolin, G. (1997). Polyphenol content and total antioxidant potential of selected Italian wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, S. 1152–1155.
51. Peri, C., Pompei, C. (1971). An assay of different phenolic fractions in wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 22, S. 55–58.
52. Singleton, V.L., Trousdale, E. (1983). White wine phenolics: Varietal and processing differences as shown by HPLC. *American Journal of Enology and Viticulture*, 34 (1) S. 27–34.
53. Rosa, M., Lamuela R., Waterhouse, A.L. (1994). A Direct HPLC separation of wine phenolics. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45 (1) S. 1–5.
54. Dumazert, G. (1974). Effects of pre- and post- fermentation operations on polyphenol contents of Mauzac white wines and musts. *Industries Alimentaires et Agricoles*; 91 (1) S. 3-9.
55. Will, F. (1999). Herstellung von Fruchtwein/Fruchtschaumwein auf Basis von Apfel und Aronia. *Flüssiges Obst*, 11, S. 615-624.
56. Peña, A., Garcia, V., de la Luz Romeo, Ma., Capella, S. (1997). Reversed-Phase Ion-Pair Chromatography of Anthocyanins in Red Weines. *Journal of Chromatographic Science*, 35, S. 161-164.
57. Rechner, A., Patz, C., D., Dietrich, H. (1998). Polyphenolanalytik von Fruchtsäften und Weinen mittels HPLC/UV/ECD an einer fluorierten RP-Phase. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 94 (11), S. 363-365.
58. Frankel, E., N., Waterhouse, A., L., Teissedre, P., L. (1995). Principal phenolic phytochemicals in selected california wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of Human Low-Density Lipoproteins (LDL). *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 43, S. 890-894.
59. Karagiannis, S., Economou, A., Lanaridis, P. (2000). Phenolic and volatile composition of wines made from *Vitis vinifera* cv. Muscat Lefko grapes from the Island of Samos. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48, S. 5369-5375.
60. Scholten, G., Kacprowski, M. (1993). Zur Analytik von Polyphenolen in Wein. *Die Weinwissenschaft*, 48, S. 33-38
61. Fabios, M., Lopez-toledano, A., Mayen, M., Merida, J., Medina, M. (2000). Phenolic compounds and browning in sherry wines subjected to oxidative and biological aging. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48, S. 2155-2159.
62. Carando, S., Teissedre, P., L., Canabis, J., C. (1999). HPLC coupled with fluorescence detection for the determination of procyanidins in white wines. *Chromatographia*, 50 (3/4), S. 253-254.

63. Kramling, T., E., Singleton, V., L. (1969). An estimate of the nonflavonoid phenols in wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 20, S. 86-92.
64. García-Viguera, C., Bakker, J., Bellworthy, S., J., reader, H., P., Watkins, S., J., bridle, P. (1997). The effect of some processing variables on non-coloured phenolic compounds in port wines. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -forschung/ A*. 205, S. 321-324.
65. Kantz, K., Singleton, V., L. (1991). Isolation and determination of polymeric polyphenols in wines using sephadex LH-20. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42 (4), S. 309-316.
66. Singleton, V. (1987). Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines, and model systems: Observations and practical implications. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38 (1), S. 69-77.
67. Singleton, V., Trousdale, E., K. (1992). Anthocyanin-Tannin interactions explaining differences in polymeric phenols between white and red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 43 (1), S. 63-70.
68. Gil, M., I., García-Viguera, C., Bridle, P., Tomás-Barberán, F., A. (1995). Analysis of phenolic compounds in spanish red wines by capillary zone electrophoresis. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -forschung*, 200, S. 278-281.
69. Wald, B., Galensa, R., Herrmann, K. (1986). Nachweis ein Zusatzes von Brombeersaft zu schwarzen Johannisbeererzeugnisse über die Bestimmung von Flavonoiden durch HPLC. *Flüssiges Obst*, 7, S. 349–352.
70. Wallrauch, S. (1999). Ausgewählte Probleme der Analytik von Fruchtsäften/nekturen –Shikimi- und Chinasäure als Beurteilungsparameter. *Flüssiges Obst*, 3, S. 107–113.
71. Suarez Vallés, B., Santamaía Victorero, J., Mangas Alonso, J., J., Blanco Gomis, D. (1994). HPLC of the Neutral phenolic compounds of low molecular weight in apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, S. 2732–2736.
72. Heimhuber, B., Galensa, R., Herrmann, K. (1988). High performance liquid chromatographic determination of polymethoxylated flavones in orange juice after solid phase extraction. *Journal of Chromatography*, 439, S. 481 – 483.
73. Galensa, R., Engelhardt, U., Bahadir, M., Böhm, H. (1995). Nachweis eines Grapefruitzusatzes zu Orangensaft. In: *Lebensmittel und Umweltanalytik mit der HPLC: Tips, Tricks und Beispiele für die Praxis*. New York, S. 151–154.
74. Greiner, G., Wallrauch, S. (1984). Naringin als Nachweis für den Zusatz von Grapefruitsaft zu Orange- und Tangerinensaft. *Flüssiges Obst*, 12, S. 626–628.
75. Buren, J.V., Vos, L. de, Pilnik, W. (1976). Polyphenols in golden delicious apple juice in relation to method of preparation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 24 (3) S. 448-451.
76. Mitek, M., Drzazga, B. (1989). Interrelation between the effect of enzymatic clarification of apple juices and the amount and quality of polyphenols. Part II. Changes in polyphenols during the production of apple juice and their effect on pectinolysis. *Acta Alimentaria Polonica*; 15 (1) S. 3-13.
77. Gasik, A., Horubala, A. (1985). Effect of modification of apple juice production technology on polyphenols content and sensory properties. *Acta Alimentaria Polonica*; 11 (4) S. 385-396.
78. Johnson, G., Donnelley, B., J., Johnson, D., K. (1969). Proanthocyanidins as related to apple juice processing and storage. *Food Technology*, 23, S. 13312-1317.

79. Gökmen, V., Artik, N., Acar, J., Kahraman, N., Poyrazoğlu, E. (2001). Effects of various clarification treatments on patulin, phenolic compound and organic acid compositions of apple juice. *European Food Research and Technology*, 213, S. 194-199.
80. Kallio, H., Pallasaho, S., Kärppä, J., Linko, R., R. (1986). Comparison of the half-lives of the anthocyanins in the juice of crowberry, *Empetrum nigrum*. *Journal of Food Science*, 51 (2), S. 408-411.
81. Oszmianski, J., Sapis, J., C. (1988). Anthocyanins in fruits of *Aronia melano carpa* (Chokeberry). *Journal of Food Science*, 53 (4), S. 1241-1243.
82. Dawes, H., M., Keene, J., B. (1999). Phenolic composition of kiwi juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, S. 2398-2403.
83. Cheynier, V., Osse, C., Rigaud, J. (1988). Oxidation of grape juice phenolic compounds in model solutions. *Journal of Food Science*, 53 (6), S. 1729-1731.
84. Wald, B., Galensa, R. (1989). Nachweis von Fruchtsaftmanipulationen bei Apfel- und Birnensaft. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -forschung*, 188, S. 107-114.
85. Rommel, A., Wrolstad, R., E. (1993). composition of flavonols in red raspberry juice as influenced by cultivar, processing, and environmental factors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 1941-1950.
86. Perfetti, G., A., Joe, F., L. (1988). Liquid chromatographic methodology for the characterisation of orange juice. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemist*, 71 (3), S. 469-473.
87. Galensa, R., Herrmann, K. (1980). Hochdruckflüssigkeitschromatographie Bestimmung von Hesperidin in Orangensaft. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 76 (8), S. 270-273.
88. Rouseff, R. (1988). Liquid chromatographic determination of naringin and neohesperidin as detector of grapefruit juice in orange juice. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemist*, 71 (4), S. 798-802.
89. Mouly, P., P., Arzouyan, C., R., Gaydou, E., M., Estienne, J., M. (1994). Differentiation of citrus juices by factorial discriminant analysis using liquid chromatography of flavanone glycosides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, S. 70-79.
90. Hsin-Yi-Chang, Reeck, G., R., Mitchell, H., L. (1978). A high-performance liquid chromatographic method for the quantitation of Hesperidin in orange juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26 (6), S. 1459-1464.
91. Ooghe, W., C., Ooghe, S., J., Detavenier, C., M., Huyghebaert, A. (1994). Characterization of orange juice (*Citrus sinensis*) by polymethoxylated flavones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, S. 2191-2195.
92. Sieweck, F., Galensa, R., Herrmann, K. (1985). Nachweis eines Zusatzes von Feigensaft zu Traubensaft und daraus hergestellten alkoholischen Erzeugnissen über HPLC-Bestimmung von Flavon-C-glycosiden. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 181, S. 391-394.
93. Nollet, M.L. (1992). Phenolic compounds in beers, wines, and spirits. In: *Food Analysis by HPLC*. Marcel Dekker, Inc. New York, S. 620-641.
94. Crompton, I., E., Hegarty, P., K. (1991). The importance of polyphenols in cold break formation. In: *European Brewery Convention: Proceedings of the 23 rd Congress, Lisbon*, S. 76.
95. Delcour, J., A., Verhulst, L., L., Geys, R., Deliever, H., Dondeyne, P. (1981). Trimeric and oligomeric flavonoids in beer: A joint application of sephadex LH-20 and reversed-phase gradient elution high-performance liquid chromatography. *Journal of the Institute of Brewing*, 87, S. 391-393.

96. Kretschmer, K., F. (1995). Bedeutung der Polyphenole für die Bierherstellung. *Brauwelt* 28/29, S. 1372-1379.
97. Gromus, J., Lustig, S. (1999). Einfluss von Polyphenolen und reduzierenden Verbindungen auf die Bierqualität und ihr Verhalten im Brauprozess. *Brauwelt*, 44, S. 2028-2034.
98. Herrmann, K. (1994). Die zum Flavour des Schwarzen Tees beitragenden nichtflüchtigen Verbindungen: Polyphenole. *Gordian*, 94/ 3, S. 28-30.
99. Bhatia, I., S., Ullah, M., R. (1968). Polyphenols of tea IV: qualitative and quantitative study of the polyphenols of different organs and some cultivated varieties of tea plant. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 19, S. 535-542.
100. Schlesier, K., Böhm, V., Bitsch, R. (2001). Unterschiede im protektiven Potential von Grün- und Schwarztee. *Ernährung im Fokus*, 2, S. 2-4.
101. Galensa, R., Engelhardt, U., Bahadir, M., Böhm, H. (1995). Bestimmung von Flavonolglykosiden in Tee und Teeprodukten oder ähnlichen Erzeugnissen. In: *Lebensmittel und Umweltanalytik mit der HPLC: Tips, Tricks und Beispiele für die Praxis*. New York, S. 121-125.
102. Galensa, R., Engelhardt, U., Bahadir, M., Böhm, H. (1995). Bestimmung von Catechinen und Alkaloiden in Tee oder ähnlichen Erzeugnissen. In: *Lebensmittel und Umweltanalytik mit der HPLC: Tips, Tricks und Beispiele für die Praxis*. New York, S. 125-129.
103. Engelhardt, U., H., Finger, A., Herzig, B., Kuhr, S. (1992). Determination of flavonol glycosides in black tea. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 3, S. 69-73.
104. Engelhardt, U., Finger, A., Kuhr, S. (1993). Determination of Flavone C-glycosides in tea. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -forschung*, 197, S. 239 - 244.
105. Kiehne, A., Engelhardt, U. (1996). Thermospray-LC-MS analysis of various groups of polyphenols in tea I. Catechin, flavonol O-glycosides and flavone C-glycosides. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -forschung*, 202, S. 48-54.
106. Steinhaus, B., Engelhardt, U. (1989). Theaflavins in black tea: comparison of the flavonol and HPLC analysis-preliminary in results. *Zeitschrift für Lebensmittel-untersuchung und -forschung* 188, S. 509-511.
107. Bailey, R., G., Nursten, H., E., McDowell, I. (1992). Isolation and analysis of polymeric thearubigin fraction from tea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 59, S. 365-375.
108. Opie, S., C., Robertson, A., Clifford, N., M. (1990). Black tea thearubigins- Their HPLC separation and preparation during in Vitro oxidation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 50, S. 547-561.
109. McDowell, I., Bailey, R., G., Howard, B. (1990). Flavonol glycosides in black tea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 53, S. 411-414.
110. Kuhr, S., Engelhardt, U., H. (1991). Determination of flavonols, theogallin, gallic acid and caffeine in tea using HPLC. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -forschung*. 192, S. 526-529.
111. Finger, A., Engelhardt, U., H., Wray, V. (1991). Flavonol triglycosides containing galactose in tea. *Phytochemistry*, 30 (6), S. 2057-2060.
112. Rabe, C., Steenkamp, J., A., Joubert, E., Burger, J., F., W., Ferreira, D., (1994). Phenolic metabolites from rooibos tea (*Aspalathus linearis*). *Phytochemistry*, 35 (6), S. 1559-1565.

113. Koeppen, B., H., Smit, C., J., B. (1962). The flavone C-glycosides and flavonol O-glycosides of *Aspalatus acuminatus* (Rooibos tea). *Biochemical Journal*, 83, S. 507-511.
114. Finger, A., Engelhardt, U., H. (1991). Flavonol glycosides in tea- kaempferol and quercetin rhamnoglucosides. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 55, S. 313-321.
115. Hodgson, J., M., Morton, L., W., Puddey, I., B., Beilin, L., J., Croft, K., D., (2000). Gallic acid metabolites are markers of black tea intake in humans. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48, S. 2276-2280.
116. Jen-Kun, L., Chih-Li, L., Yu-Chih, L., Shoen-Yn Lin-shiau, I-Ming, J. (1998). suvey of catechins , gallic acid, and methylxanthines in green oolong, puerh, and black teas. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 46, S. 3635-3642.
117. Herrmann, K. (1983). Wertgebende Bestandteil des Tees- eine Übersicht. *Lebensmittelchemie Gerichtliche Chemie*, 37, S. 30-35.
118. Brenes, M., Garcia, P., Duran, M., C., Garrido, A. (1992). Concentration of phenolic compounds change in storage brines of ripe olives. *Journal of Food Science*, S. 347-349.
119. Tsukamoto, H., Hisada, S., Nishibe, S., Roux, D., G. (1984). Phenolic glucosides from *Olea europaea* subsp. *Africana* (Oleaceae). *Phytochemistry*, 23, (12), S. 2839-2841.
120. Cecon, L., Saccù, D., Procida, G., Cardinali, S. (2001). Liquid chromatographic determination of simple phenolic compounds in waste waters from olive oil production plants. *Journal of the association of official Agricultural Chemist International*, 84 (6), S. 1739-1744.
121. Akasbi, M., Shoeman, D., W., Csallany, A., S. (1993). High-performance liquid chromatography of selected phenolic compounds in olive oils. *Journal of the American Oil Society*, 70(4), S. 367-370.
122. Owen, R., W., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W., E., Spiegelhalder, B., Bartsch, H. (2000). Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, scoiridoids, ligans and squalene. *Food and Chemical Toxicology*, 38, S. 647-659.
123. Tsimidou, M. (1998). Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. *Italian Journal of Food Science*, 2 (10), S. 99-116.
124. Zielinski, H., Kopzłowska, H. (2000). Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, S. 2008–2016.
125. Labat, E., Morel, M., H., Rouau, X. (2000). Wheat gluten phenolic acids: Occurence and fate upon mixing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, S. 6280-6283.
126. Galensa, R., Engelhardt, U., Bahadir, M., Böhm, H. (1995). HPLC– Untersuchungen über Chlorogensäurelactone in Röstkaffee. In: *Lebensmittel und Umweltanalytik mit der HPLC: Tips, Tricks und Beispiele für die Praxis*. New York, 171-177.
127. Bennat, C., Engelhardt, U., Kiehne, A., Wirries, F., M., Maier, H.G. (1994). HPLC Analysis of chlorogenic acid lactones in roasted coffee. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und –Forschung*, 199, S. 17 – 21.
128. Kirsten, S., Kiehne, A., Engelhardt, U., Maier, H.G. (1996). Determination of chlorogenic acid with lactones in roasted coffee. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 71, S. 392–398.

129. Kaluza, W., Z., McGrath, R., M., Roberts, T., C., Schröder, H., H. (1980). Separation of phenolics of sorghum bicolor (L. 9 Moench Grain). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28, S. 1191–1196.
130. Kock, J.L.F., Groenewald, E.G., Krueger, G.H.J., Lategan, P.M. (1986). Effect of duration of liquefaction on viscosity and polyphenol content of the mash and subsequent glucose recovery in bird-proof sorghum. *Journal of the Science of Food and Agriculture*; 37 (2) S. 147-150.
131. Bullard, R., W., York, J., O., Kilburn, S., R. (1981). Phenolic changes in ripening birdresistant sorghums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29, S. 973-981.
132. McMurrugh, I., Loughrey, M.J., Hennigan, G.P. (1983). Content of (+)-catechin and proanthocyanidins in barley and malt grain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34, S. 62–72.
133. Bonnely, S., Peyrat-Maillard, M., N., Masy, D., Loiez, A., Berset, C. (1999). Production of an antioxidant extract from malt rootlets. *EBC Congress*, 53, S. 469.-475.
134. Nasume, M., Osakabe, N., Yamagishi, M., Takizawa, T., Nakamura, T., Miyatake, H., Hatano, T., Yoshida, T. (2000). Analyse of polyphenols in cacao liquor, cacao, and chocolate by normal –phase and reversed-phase HPLC. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 64 (12), S. 2581-2587.
135. Sanbongi, C., Osakabe, N., Natsume, M., Takizawa, T., Gomi, S., Osawa, T. (1998). antioxidative polyphenols isolated from Theobroma cacao. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, S. 454-457.
136. Ferreres, F., Andrade, P., Tomás-Barberán, F., A. (1994). Flavonoids from portuguese heather honey. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -forschung*, 1991, S. 32-37.
137. Ibrahim, R.K., Thakur, M.L., Permanand, B. (1971). Formation of anthocyanins in callus tissue cultures. *LLOYDIA*, 34 (2) S. 175–182.
138. Paupardin, C., Gautheret, R. (1965). Sur la nature des acides–phenols présents dans les tissus de tubercules de Topinambur (*Helianthus tuberosus* L., variété Violet de Rennes) cultivés in vitro. *Comptes Rendus des Sceances de l' academie des Sciences*, 261, S. 4206–4208.
139. Bärwald, G. (1999). *Gesund abnehmen mit Topinambur*. Trias Verlag Stuttgart. S. 33–79.
140. Sapers, G., M., Hicks, K., B., Phillips, J., G., Garzarella, L., Pondish, D., L., Matulaitis, R., M., McCormack, T., J., Sondey, S., M., Seib, P., A., Ei-Atawy, Y., S. (1989). Control of enzymic browning in apple with ascorbic acid derivatives, polyphenol oxidase inhibitors, and complexing agents. *Journal of Food Science*, 54(4), S. 997-1001.
141. Hernández, A., Cano, M., P. (1998). High-pressure and temperature effects on enzyme inactivation in tomato puree. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (1), S. 267-273.
142. Madani, W., Kermasha, S., Goetghebeur, M., Tse, M. (1997). Partial purification and characterization of a polyphenol esterase from *Aspergillus niger*. *Process biochemistry*, 32 (1) S. 61-69.
143. Arslan, O., Tozlu, I. (1997). Substrate specificity, heat inactivation and inhibition of polyphenoloxidase from *Anethum graveolens* L. *Italian Journal of Food Science*, 3 (9), S. 249-253.
144. Son, S., M., Moon, K., D., Lee, C., Y. (2000). Kinetic study of oxalic acid inhibition on enzymatic browning. *Journal of Agricultural and Food Science*, 48, S. 2071-2074.

145. Lattanzio, V., Cardinali, A., Palmieri, S. (1994). The role of phenolics in the postharvest physiology of fruits and vegetables: Browning reactions and fungal diseases. *Italian Journal of Food Science*, 1, S. 3-22.
146. Amiot, M., J., Tacchini, M., Aubert, S., Nicolas, J. (1992). Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. *Journal of Food Science*.57 (4), S. 958-962.
147. Coseteng, M., Y., Lee, C., Y. (1987). Changes in apple polyphenoloxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browning. *Journal of Food Science*, 52 (4), S. 985-989
148. Uritani, I., Bailon, G., Ma., Samonte, J., L., Alvarez, A., M., Almario, M., A., R., Flores, D., M., Mendoza, E., M., T., Garcia, V., V. (1990). The relation of Polyphenoloxidase to the food quality of banana Bud. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 37 (9), S. 730-736.
149. McEvily, A., Iyengar, R., Otwell, W., S. (1992). Inhibition of enzymatic browning in food and beverages. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32 (3), S. 253-273.
150. Palmer, J.K. (1963). Banana polyphenoloxidase. Preparation and properties. *Plant Physiology* 38, S. 508-513.
151. Bamforth, C., W., Clarkson, S., P., Large, P., J. (1991). The relative importance of polyphenol oxidase, lipoxygenase and peroxidases during wort oxidation. *European Brewery Convention*, Lisbon, S. 617-624.
152. Morizaki, K., Fushimi, T., Kaneko, S., Kusakabe, I., Kobayashi, H. (2001). Screening for phenoloxidases from edible mushrooms. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 65 (10), S. 2334-2336.
153. Brenes-Balbuena, M., García-García, P., Garrido-Fernandez, A. (1992). Phenolic compounds related to the black color formed during the processing of ripe olives. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 40, S. 1192-1196.
154. Peri, C., Pompei, C., Monedoro, G., Cantarelli, C. (1971). Maderisation of white wines I:-Influence of pressing on the susceptibility of the grapes to oxidative browning. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 22, S. 24-28.
155. Sawistowski, J., Blank, G., Murray, E.D. (1987). Inhibition of enzymatic browning in extracts of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *Canadian Institute of Food Technology Journal*, 20 (3) S. 162–167.
156. Martinez-Cayuela, M., Sanchez de Medina, L., Faus, M., J., Gil, A., 1988 : Cherimoya (*Annona cherimola* Mill) polyphenoloxidase : Monophenolase and Dihydroxyphenolase activities. *Journal of Food Science*, 53 (4), S. 1191-1194.
157. Küppers-Sonnenberg, G., A. (1953). Topinambur – eine Rohstoffquelle für die Fruchtzuckerversorgung. *Deutsche Lebensmittel Rundschau*, 3/ 49, S. 65-68.
158. Küppers-Sonnenberg, G., A. (1957). Topinambur als Nahrungs- und Genussmittel. *Deutsche Lebensmittel Rundschau*, 2, S. 40-45.
159. Höhn, E. (1986). Topinambur – eine süsse Geschichte ? *Lebensmittel–Technologie*, 19 (2) S. 34–36.
160. Küppers-Sonnenberg, G., A. (1950). Zuckerrüben oder Topinambur. *Zucker*, 10, S. 208-210.
161. Klaushofer, H., Schiesser, E. (1985). Zur Lagerfähigkeit von Topinamburknollen. *Branntweinwirtschaft*, 125 (1), S. 2-8.

162. Klaushofer, H. (1986). Biotechnologie fructanhaltiger Pflanzen – Möglichkeiten und Probleme am Beispiel von Hochfruktosesirup aus Topinambur. *Ernährung*, 10, 1, 15-20.
163. Conti, F., W. (1953). Die Gewinnung der Kohlenhydrate der Topinambur. *Zucker*, 6, S. 120-125.
164. Margaritis, A., Bajpai, P., 1982: Continus ethanol production from Jerusalem artichoke tubers, 1. use of immobilized cells of *Kluyveromyces marxianus*. *Biotechnology and Bioengineering*, 24, S. 1483-1493.
165. Margaritis, A., Bajpai, P., Cannell, E. (1981). Optimization studies for the bioconversion of Jerusalem artichoke tubers to ethanol and microbial biomass. *Biotechnology Letters*, 3 (10), S. 595-602
166. Angeli, I., Bärwald, G. (1985). Vorläufige Ergebnisse über die Verwendung von Topinambursaft in Diät und bei Diabetikern, *Gordian*, 85, S. 239- 244.
167. Kadhim, F., K. (1993). Neue technologische und biotechnologische Aspekte der Verarbeitung von Topinambur (*Helianthus tuberosus*). Dissertation HU Berlin, S. 11-13
168. Seeger, P., G. (1980). Die biochemischen und therapeutischen Qualitäten von *Helianthus tuberosus* (Topinambur), *Erfahrungsheilkunde, Z.f.d. Ärztl. Praxis*, 29, S. 923-928.
169. Fleming, S., E., GrootWassink, J., W., D. (1979). Preparation of high-fructose syrup from the tubers of the Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*). *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, S. 1-28.
170. Seiler, G., J. (1990). Protein and mineral concentrations in tubers of selected genotypes of wild and cultivated Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*, Asteraceae). *Economic Botany*, 44, (3), S. 322
171. Chubey, B., B., Dorrell, D., G., (1974). Jerusalem artichoke, a potential fructose crop for the prairies. *Canadian Institute of Food Science and Technology*, 7 (2), S. 98.
172. Haluschan, M. (1987). Reifezeitpunkt und Ertragsleistung von Topinambur sorten, Symposium: Renaissance der Topinambur, Siófok, Bericht, S. 67-72
173. Dorrell, D., G., Chubey, B., B. (1977). Irrigation, fertilizer, harvest dates and storage effect on the reducing suger and fructose concentrations of Jerusalem artichoke tubers, *Canadian Institute of Food Science and Technology*, 57, S. 591.
174. Bärwald, G. (1987). Über die Verarbeitung von Topinamburknollen zu verschiedenen Produkten der Lebensmittelindustrie. *Die Industrielle Obst- und Gemüseverwertung*, 72 (9), S. 355-358.
175. Bartels, W. (1985). Über die Verarbeitung von Topinambur in der Abfindungsbrennerei. *Die Kleinbrennerei*, 37, S. 1-2.
176. Janssen, E., Werner, G., Bärwald, G., Olbrich, H. (1984). Zur Charakteristik von Topinamburschlempe. *Brantweinwirtschaft*, 124, S. 402-404.
177. Klaushofer, H. (1986). Zur Biotechnologie fructanhaltiger Pflanzen. *Starch/ Stärke*, 38 (3), S. 91-94.
178. Klaushofer, H., Wolfslehner, L. (1983). Bestimmung des vergärbaren Zuckers in Zichorienwurzeln und Topinamburknollen. *Zuckerindustrie*, 108 (6), S. 552-554.
179. Zittan, L., Bagsvaerd. (1981). Enzymic hydrolysis of inulin- an alternative way to fructose production. *Starch/ Stärke*, 33 (11), S. 373-377.
180. Klaushofer, H., Abraham, B., Liebhard, P., Bucnik, P. (1987). Ergebnisse der Untersuchung von neun Topinambursorten aus Herbst- und Frühjahrsernte. *Branntweinwirtschaft*, 127 (1), S. 2-6.

181. Klaushofer, H., Schiesser, E. (1984). Zur Lagerfähigkeit von Topinamburknollen. *Branntweinwirtschaft*, 124 (1), S. 414-420.
182. Conti, F., W. (1953). Versuche zur Gewinnung von Sirup aus Topinambur (*Helianthus tuberosus*). *Die Stärke*, 12, S. 310-318.
183. Cheftel, J., C., Cheftel, H., Desnuelle, P. (1984). *Introduction a la biochimie et la technologie des aliments*. Verlag Technique et Documentation-Lavoisier, 1, S. 353-363.
184. Schneider, V. (1988). Verhalten phenolischer Substanzen. *Weinwirtschaft-Technik*, 2, S. 12-16.
185. Herrmann, K. (1976).: Über Verfärbung des Gemüses durch phenolische Inhaltsstoffe. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 72 (3), S. 90-94.
186. Herrmann, K. (1978). Vorkommen und Bedeutung von phenolischen Substanzen in Lebensmitteln. *Lebensmittelindustrie*, 25 (7), S. 305-307.
187. Harborne, J., B., Mabry, T., J., Mabry, H. (1975). *The flavonoids*. Chapman and Hall, London.
188. Günzler, H., u.a., 1997: Analytik und Bedeutung von Polyphenolen in Lebensmitteln. In: *Analytiker- Taschenbuch Springer- Verlag Berlin Heidelberg*, 15, S. 148–175.
189. Wöldecke, G., Herrmann, K. (1974). Flavonole und Flavone der Gemüsearten II: Flavonole des Spargels. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -forschung*, 155, S. 151-154.
190. Huang, M., T., Ho, C., T., Lee, C., Y. (1992). Phenolic compounds in food and their effects on health I, ACS Symposium Series 507; American Chemical Society, Washington D.C.
191. Huang, M., T., Ho, C., T., Lee, C., Y. (1992). Phenolic compounds in food and their effects on health II, ACS Symposium Series 507; American Chemical Society, Washington D.C.
192. Meyer, A., S., Ock-Sook Yi; Pearson, D., A., Waterhouse, A., L., Frankel, E., N. (1997). Inhibition of human low Density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes (*Vitis vinifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45, S. 1638–1643.
193. Hurtado, I., Caldú, P., Gonzalo, A., Ramon, J., M., Mínguez, S., Fiol, C. (1997). Antioxidative Capacity of Wine on Human LDL Oxidation in Vitro: Effect of Skin Contact in Winemaking of White Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, S. 1283–1289.
194. Ghiselli, A., Nardini, M., Baldi, A., Scaccini, C. (1998). Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (2) S. 363–367.
195. Larrauri, J. A., Rupérez, P., Saura-Salito, F. (1997). Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, S. 1390–1393.
196. McClure, J.W. (1975). Physiology and functions of flavonoids. In: „*The Flavonoids*“, ed by Harborne J. B., Chapman and Hall. London. 970–1055.
197. Stich, H.F., Rosin, M.P., (1984). Naturally occurring phenolics as anti-mutagenic and anticancerogenic agents. In: Friedmann, M., *Nutritional and toxicological aspects of food safety*. Plenum Press, New York, London. S. 1–18.
198. Bracke, M.E., u.a. (1998). Flavonoids inhibit malignant tumor invasion in vitro. In: Cody, V., Middleton, Jr., E., Harborne J.B., Beretz, A. 1988. *Plant flavonoids in Biology and Medicine II*: A.R. Liss. New York. S. 219–233.

199. Herrmann, K. (1993). Phenolcarbonsäure pflanzlicher Lebensmittel als Antioxidantien. *Gordian*, 6, S. 92-96.
200. Nakosone, Y., Takara, K., Wada, K., Tanaka, J., Yogi, S., Nakatani, N. (1996). Antioxidative compounds isolated from Kokuto, non-centrifugal Cane sugar. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 60 (10), S. 1714-1716.
201. Lee, Y., Howard, L., R., Villalón, B. (1995). Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annuum*) cultivars. *Journal of Food Science*, 60 (3), S. 473-476.
202. Hudson, B., J., F. (1990). *Food antioxidants*. Ed.; Elsevier Applied Science, London.
203. Hudson, B., J., F., Lewis, J., I. (1983). Polyhydroxy flavonoid antioxidant for edible oils. Structural criteria for activity. *Food Chemistry*, 10, S. 47-55.
204. Dziedzic, S., Z., Hudson, B., J., F. (1983). Polyhydroxy Chalcones and flavanones as antioxidants for edible oils. *Food Chemistry*, 12, S. 205-212.
205. Cuvelier, M., E., Richard, H., Berset, C. (1992). Comparison of the antioxidative activity of some acids-phenols : Structure-activity relationship. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 56(2), S. 324-325.
206. Onyeneho, S., N., Hettiarachchy, N., S. (1992). Antioxidant activity of durumwheat bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40 (9), S. 1496-1501.
207. Kuei-long, L., Mei-chin, Y. (2000). Individual and combined antioxidant effects of seven phenolic agents in human erythrocyte membrane ghosts and phosphatidylcholine liposome systems: Importance of the partition coefficient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, S. 2266-2270.
208. Rechner, A., Dietrich, H., Platz, C., D. (1999). Antioxidative Wirkung von naturtrüben Apfelsäften: Einfluss der Apfelsorte und des Polyphenolgehaltes. *Flüssiges Obst*, 5, S. 227-230.
209. Pekkarinen, S., S., Stöckmann, H., Schwarz, K., Heinonen, I., M., Hopia, A., I. (1999). Antioxidant activity and partitioning of phenolic acids in bulk and emulsified methyl linoleate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, S. 3036-3043.
210. Mülleder, U. (2001). Einfluss der Polyphenole auf die Oxidation von Lebensmitteln. *Ernährung/ Nutrition*, 25 (3), S. 118-119.
211. Silva, F., A., M., Borges, F., Guimarães, C., Lima, J., L., F., C., Matos, C., Reis, S. (2000). Phenolic acids and derivatives: Studies on the relationship among structure, radical scavenging activity, and physiochemical parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, S. 2122-2126.
212. Krzanowski, J., J. (1991). Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. *Journal of the Florida Medical Association*, 78 (7), S. 435-438.
213. Back, W., Franz, O., Nakamura, T. (2001). Das antioxidative Potential von Bier. *Brauwelt*, 6/7, 209-215.
214. Piendl, A., Biendl, M. (2000). Über die Bedeutung der Polyphenole und Hopfenbitterstoffe des Bieres. *Brauwelt*, 13/14, S. 526-544.
215. Piendl, A., Schneider, G. (2000). Über die physiologischen Eigenschaften des Hopfens. *Brauwelt*, 13/14, S. 600-607.
216. Piendl, A. (2001). Studien zum Thema Polyphenole und Hopfenbitterstoffe. *Brauwelt*, 6/7, S. 216-219.
217. Forster, C., Back, W. (1999). Untersuchung über den Einfluss der Anstell- und Befüllungstechnik zylindrokonischer Gärtanks auf die antioxidative Aktivität von Bier. *European Brewery Convention, Cannes*, 84, S. 727-734.

218. Fantozzi, P., Montanari, L., Mancini, F., Gasbarrini, A., Addolorato, G., Simoncini, M., Nardini, M., Ghiseli, A., Scaccini, C. (1998). In vitro antioxidant capacity from wort to beer. *Lebensmittel- Wissenschaft und – Technologie*, 31, S. 221-227.
219. Gadow, A., Joubert, E., Hansmann, C., F. (1997). Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols rooibos tea (*Aspalathus linearis*), α -tocopherol, BHT, and BHA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45 (3), S. 632-638.
220. Anonyme (2001). Antioxidative Aktivität von grünem und schwarzem Tee – Einfluss der Extraktionszeit und der Extraktionsvorgänge. *Österreichisches Tee-Institut*, S. 1-4.
221. Ley, J. (2001): Grüntee. *Getränketechnologie & Marketing*, 2, S. 6-8.
222. Wiseman, S., A., Balentine, D., A., Frei, B. (1997). Antioxidants in tea. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37 (8), S. 705-718.
223. Balentine, D., A., Wiseman, S., A., Bouwens, L., C., M. (1997). The Chemistry of tea flavonoids. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37 (8), S. 693-704.
224. Suminori Kono, M., D., Koichi Shinchi, M., D., Nariaki Ikeda, M., D., Fumio Yanai, M., D., Koji Imanishi, M., D. (1992). Green tea consumption and serum lipid profiles: A cross-sectional study in northern kyushu, Japan. *Preventive Medecine*, 21, S. 526-531.
225. Wang, Z.Y., Agarwal , R., Bickers, D.R., Mukthar , H. (1991). Protection against ultraviolet B radiation–induced photocarcinogenesis in hairless mice by green tea polyphenols. *Carcinogenesis*, 12, S. 1527–1530.
226. Wang, Z.Y., Agarwal, R., Khan, W.A., Mukthar, H. (1992). Protection against benzo [a] pyrene- and N–nitrosodiethylamine- induced lung and forestomach tumorigenesis in A/J mice by water extracts of green tea and licorice. *Carcinogenesis*, 13, S. 1491–1493.
227. Wang, Z.Y., Hong, J.Y., Huang, M.T.; Reuhl, K.R.; Conney, A.H.; Yang, C.S., (1992). Inhibition of N–nitrosodiethylamine- and 4-(methylnitrosamino)-1-(3- pyridyl)-1-butanone–induced tumorigenesis in A/J Mice by green tea and black tea. *Cancer Research*, 52, S. 1943–1947.
228. Randall , J. R., Shu–jun C., Klaunig, J.E. (1989). Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*, 10 (6), S. 1003-1008.
229. Wang, Z.Y., Khan , W.A., Bickers, D.R., Muktha, H. (1989). Protection against polycyclic aromatic hydrocarbon-induced skin tumor initiation in mice by gree tea polyphenols. *Carcinogenesis* 10 (2), S. 411-415.
230. Wang, Z.Y., Khan , W.A., Agarwal, R., Bickers, D.R., Mukthar , H. (1991). Protection against ultraviolet B radiation – induced photocarcinogenesis in hairless mice by gree tea polyphenols. *Carcinogenesis* 12 (8), S. 1527-1530.
231. Agarwal , R., Wang, Z.Y., Mukthar, H. (1991). Inhibition of mouse skin tumor–Initiating activity of DMBA by chronic oral feeding of glycyrrhizin in drinking water. *Nutrition and Cancer*, 15 (3&4), S. 187–193.
232. Wang , Z.Y., u.a. (1992). Inhibitory effect of green tea in the drinking water on tumorigenesis by ultraviolet light and 12–O–tetradecanoyphorbol–13-acetate in the skin of SKH –1 mice. *Cancer Research*, 52, S. 1162–1170.
233. Yoshizawa, S., Horiuchi, T., Fujiki, H. (1987). Antitumor promoting activity of (-)-epigallocatechin gallate, the main constituent of tannin in green tea. *Phytherapy research*, 1 (1), S. 44-47.

234. Santosh, K., u.a. (1992). (-)- Epigallocatechin-3-gallate in *Camellia sinensis* leaves from Himalayan Region of Sikkim: Inhibitory effects against biochemical events and tumor initiation in Sencar mouse skin. *Nutrition and Cancer*, 18 (1) S. 73–83.
235. Newmark, H., L. (1992). plant phenolic compounds as inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. In Huang, H., T., Ho., C., T., Lee, C., Y.; Phenolic compounds in Food and thier effect on health II. Antioxidant and cancer prevention. American Chemistry Society, Symposium Series 507, S. 48-53.
236. Lietti, A., Cristoni, A., Picci, M. (1976). Studies on *Vaccinium myrtillus* anthocyanosides. I. Vasoprotective and anti-inflammatory activity. *Arzneimittel-Forschung*, 26, S. 829-832.
237. Van den Berghe, D., A., Vlietinck, A., J., Van Hoof, L. (1986). Plant products as potential antiviral agents. *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 81, S. 101-147.
238. Meyer, A.A., Heinonen, M., Frankel, E.N. (1998). Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation. *Food Chemistry*, 61, (1/2), S. 71–75.
239. Meyer, A., S., Donovan, J., L., Pearson, D., A., Waterhouse, A., L., Frankel, E., N. (1998). Fruit hydroycinnamic acids inhibit human low-density lipoprotein oxidation in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, S. 1783-1787.
240. Foti, M., Piattelli, M., Barata, M., T., Ruberto, G. (1996). Flavonoids, coumarins, and cinnamic acids as antioxidants in a micellar system. Structure-Activity relationship. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, S. 497-501.
241. Herrmann, K. (1993). In pflanzlichen Lebensmitteln vorkommende Flavonoide als Antioxidantien. *Gordian*, 7/8, S. 107-111.
242. Chuang-Ye, W., Chein-Ping, W., Shian-Suo, H., Feng-Lin, H. (1995). The inhibitory effect of tannins on lipid peroxidation of rat heart mitochondria. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 47, S. 138-142.
243. Kawase, M., Wang, R., Shiomi, T., Saijo, R., Yagi, K. (2000). Antioxidative activity of (-)-epigallocatechin-3-(3''-O-methyl)gallate isolated from fresh tea leaf and preliminary results on its biological activity. *Bioscience Bio technology and Biochemistry*, 64 (10), S. 2218-2220.
244. Takuo, O., Yoshiyuki, K., Takashi, Y., Tsutomu, H., Hiromichi, O., Shigeru, A. (1983). Studies on the activities of tannins and related compounds from medical plants and drugs. I. Inhibitory effect on lipid peroxidation in mitochondria and microsomes of liver. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 31 (5), S. 1625-1631.
245. Rigo, A., Vianello, F., Clementi, G., Rossetto, M., Scarpa, M., Vrhovšek, U., Mattivi, F. (2000). Contribution of proanthocyanidins to the peroxy radical scavenging capacity of some italian red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, S. 1996-2002.
246. Takahashi, H., Iuchi, M., Fujita, Y., Minami, H., Fukuyama, Y. (1999). Cumaroyl triterpenes from *Casuarina equisetifolia*. *Phytochemistry*, 51, S. 543-550.
247. Walters M., T., Hughes, P., S., Bamforth, C., W. (1996). The evaluation of natural antioxidants in beer and its raw materials. The Institute of Brewing-Asia Pacific Section: Proceedings of the twenty-fourth convention, Singapore, S. 103-109.

248. Torel, J., Cillard, J., Cillard, P. (1986). Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochemistry*, 25, S. 383-385.
249. Tagashira, M., Ohtake, Y. (1998). A new antioxidative 1, 3-benzodioxole from *Melissa officinalis*. *Planta Medica*, 64, S. 555-558.
250. Chen, J., H., Ho, C., T. (1997). Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2374-2378.
251. Toda, M., Okubo, S., Ikigai, H., Suzuki, T., Suzuki, Y., Shimamura, T., (1991). The protective activity of tea against infection by *Vibrio cholerae* O1. *Journal of Applied Bacteriology*, 70, S. 109-112.
252. McClure, J.W., 1975: Physiology and functions of flavonoids. In: „The Flavonoids“, ed by Harborne J. B u.a., Chapman and Hall. London. 970–1055.
253. Nguyen, V., C., Kurata, T., Kato, H., Fujimaki, M. (1982). Antimicrobial activity of kumazasa (*Sasa albo-marginata*). *Agricultural and Biological Chemistry*, 46 (4), S. 971-978.
254. Nishina, A., Kajishima, F., Matsunaga, M., Tezuka, H., Inatomi, H., Osawa, T. (1994). Antimicrobial substance, 3', 4'-Dihydroxyacetophenone, in coffee residue. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 58 (2), S. 293-296.
255. Tesaki, S., Tanabe, S., Ono, H., Fukushi, E., Kawabata, J., Watanabe, M. (1998). 4-Hydroxy-3-nitrophenylacetic and sinapinsäure as antibacterial compounds from mustard seeds. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 62 (5), S. 998-1000.
256. Cho, J., Y., Moon, J., H., Seong, K., Y. (1998). Antimicrobial activity of 4-Hydroxybenzoic acid and trans-4-Hydroxycinnamic acid isolated and identified from rice hull. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 62 (11), S. 2273-2276.
257. Chiang, M., T., Bittner, M., Silva, M., Mondaca, A., Zemelman, R., Sammes, P. (1982). A prenylated coumarin with antimicrobial activity from *Haplopappus multifolius*. *Phytochemistry*, 21 (11), S. 2753-2755.
258. Wie Guang Ma, Fukiharu, Y., Ducrey, B., Hostettmann, K., Tahara, S. (1999). Phenolic glycosides from *Eriosema tuberosum*. *Phytochemistry*, 51 (8), S. 1087-1093.
259. Tan, R., X., Lu, H., Wolfender, J., L., Yu, T., T., Zheng, W., F., Yang, L., Gafner, S., Hostettmann, K. (1999). Mono- and sesquiterpenes and antifungal constituents from *Artemisia* species. *Planta Medica*, 65, S. 64-67.
260. Selway, J.W.T., 1986: Antiviral activity of flavones and flavans. *plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological, and meeting plant flavonoids in biology and Medicine*, Liss & Progress in clinical and biological research., New York. 213, S. 521-536.
261. Elsohly, H., N., El-Ferally, F., S., Joshi, A., S., Walker, L., A. (1997). Antiviral flavonoids from *Alkanna orientalis*. *Planta Medica*, 63, S. 384.
262. Kubo, J., Lee, J., R., Kubo, I. (1999). Anti-*Helicobacter pylori* agents from the cashew apple. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, S. 533-537.
263. Boss, N., Jäckle, R. (1994). *Hexal Taschenlexikon Medizin*, Urban & Schwarzenberg Verlag, München, S. 671.
264. Bhalla, M., Hitkari, A., Gujrati, V., R., Bhalla, T., N., Shanker, K. (1994). Benzopyran-2-one derivatives: antiinflammatory, analgesic and antiproteolytic agents. *European Journal of Medical Chemistry*, 29, S. 713-717.
265. Singh, I.P., Gurtu, S., Kumar, A., Sinha, J., N., Bhargava, K., P., Shanker, K. (1984). Antiinflammatory activities of compounds derived from salicylic and benzoic acids. *Archiv der Pharmarmazie*, 317, S. 609-614.

-
266. Bhalla, T., N., Sinha, J., N., Kohli, R., P., Bhargava, K., P. (1969). Aconitine-induced writhing: A method for assessment of analgesic activity. *Japanese Journal of Pharmacology*, 19, S. 179-182.
267. Tsukamoto, H., Hisada, S., Nishibe, S. (1985). Coumarins from bark of *Fraxinus japonica* and *F. mandshurica*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 33 (9), S. 4069-4073.
268. Bergendorff, O., Sterner, O. (1995). Spasmolytic flavonols from *Artemisia abrotanum*. *Planta Medica*, 61, S. 370-371.
269. Chen, Y., F., Tsai, H., Y., Wu, T., S. (1994). Anti-inflammatory and analgesic activities from roots of *Angelica pubescens*. *Planta Medica*, 61, S. 2-8.
270. Ito, Y., Shimura, H., Watanabe, N., Tamai, M., Hanada, K., Kahashi, A., Tanaka, Y., Arai, I., Pei-Ling, Z., Chang, R., Wei-Ming, C., Yang, J., S., Su-Lun, Wang, Y., L. (1990). Hepathoprotective compounds from *Canarium album* and *Euphorbia nematocypa*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 38 (8), S. 2201-2203.
271. Kang, T., H., Pae, H., O., Jeong, S., J., Yoo, J., C., Choi, B., M., Jun, C., D., Chung, H., T., Miyamoto, T., Higuchi, R., Kim, Y., C. (1999). Scopoletin, and inducible nitric oxide synthesis inhibitory active constituent from *Artemisia feddei*. *Planta Medica*, 65, S. 400-403.
272. Edenharder, R., Tang, X. (1997). Inhibition of the mutagenicity of 2-Nitrofluorene, 3-Nitrofluoranthene and 1-Nitropyrene by Flavonoids, Coumarins Quinones and other phenolic compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 35, S. 357-372.
273. Kuroda, M., Yopshida, D., Mizusaki, S. (1986). Bio-antimutagenic effect of lactones on chemical mutagenesis in *Escherichia coli*. *Agricultural and Biological Chemistry* 50 (1), S. 243-245.
274. Roskopf, F., Kraus, J., Franz, G. (1992). Immunological and antitumor effects of coumarin and some derivatives. *Pharmazie*, 47 (2), S. 139-142.
275. Miller, C., Castonguay, A., Teel, R., W. (1996). Modulation of the mutagenicity and metabolism of the tobacco-specific nitrosamine 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) by phenolic compounds. *Mutation Research*, 368, S. 221-233.
276. Schimmer, O., Lindenbaum, M. (1995). Tannin with antimutagenic properties in the herb of *Alchemilla* species and *Potentilla anserina*. *Planta Medica*, 61, S. 141-145.
277. Watanabe, K., Ohta, T., Shirasu, Y. (1988). Antimutagenic effects of benzaldehyde and its derivatives on mutagenesis induced by 4-Nitroquinoline 1-oxide in *Escherichia coli*. *Agricultural and Biological Chemistry*, 52 (4), S. 1041-1045.
277. Masaki, H., Okamoto, N., Sakaki, S., Sakurai, H. (1997). Protective effects of Hydrobenzoic acid and their esters on cell damage induced by hydroxyl radicals and hydrogen peroxides. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 20 (4), S. 304-308.
279. Shimoi, K., Nakamura, Y., Tomita, I., Kada, T. (1985). Bio-antimutagenic effects of tannic acid on UV and chemically induced mutagenesis in *Escherichia coli* B/ r. *Mutation Research*, 149, S. 17-23.
280. Lin, W., L., Wang, C., J., Tsai, Y., Y., Liu, C., L., Hwang, J., M., Tseng, T., H. (2000). Inhibitory effect of esculetin on oxidative damage induced by t-butylhydroperoxide in rat liver. *Archiv of Toxicology*, 74, S. 467-472.

-
281. Dao, L., Friedmann, M. (1994). Chlorophyll, chlorogenic acid, glycoalkaloid, and protease inhibitor content of fresh and green potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42 (3), S.33-639.
 282. Payá, M., Ferrándiz, M., L., Miralles, F., Montesinos, C., Ubeda, A., Alcaraz, M., J. (1993). Effects of coumarin derivatives on superoxide anion generation. *Arzneimittel-Forschung*, 43 (1) Nr. 6, S. 655-658.
 283. Hermann, H. (2000). Schnell und automatisierbar Antioxidantien analysieren. *Laborpraxis*, 2, S. 24-27.
 284. Lechler, T. (1996). Reaktive Sauerstoffformen und Sauerstoffverbindungen. *Ernährungs-Umschau* 43 (11), S. 423-426.
 285. Halliwell, B. (1991). Reactive oxygen species in living Systems: Source, biochemistry and role in human disease. *The American Journal of Medicine*, 91 (Suppl. 3C), S. 14S-22S.
 286. Halliwell, B. (1991). The biological toxicity of free radicals and other reactive oxygen species. In "Free Radical and Food Additives". Verlag Taylor & Francis Ltd, London, S. 37-49.
 287. Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause, or consequence. *The Lancet*, 344, S. 721-724.
 288. Bast, A., Guido, R., M., Haenen, M., Doelman, C., J., A., (1991), Oxidants and antioxidants: State of the Art. *The American Journal of Medicine*, 91 (Suppl. 3C), S. 2S-13S.
 289. Nagy, I., Zs. (1994). Das Janusgesicht der freien Radikale. *Fortschritte der Medizin*, 112 (13), S. 177-179
 290. Reilly, P., M., Schiller, H., J., Bulkley, G., B. (1991). Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *The American Journal of Surgery*, 161, S. 488-503.
 291. Schimke, I., Haberland, A. (1993). Sauerstoff-Radikale und Herz-Kreislauf-Krankheiten: Pathogenetische Mechanismen, therapeutische Möglichkeiten. *Zeitschrift für Kardiologie*, 82, S. 601-609.
 292. Becker, B., F., Massoudy, P., Permanetter, B., Raschke, P., Zahler, S., (1993). Mögliche Bedeutung von Sauerstoffradikalen für den Reperfusionsschaden. *Zeitschrift für Kardiologie*, 82 (Suppl. 5), S. 49-58.
 293. Harparkash, Kaur und John Perkins, M. (1991). The free radicals chemistry of food additives. In "Free Radical and Food Additives". Verlag Taylor & Francis Ltd, London, S. 17-33.
 294. Gey, K., F. (1986). On the antioxidant hypothesis with regard to arteriosclerosis. *Bibliotheca Nutritio Dieta*, 37, S. 53-91.
 295. Sies, H., Stahl, W. (1995). Vitamin E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 62 (Suppl.), S. 1315S-1321S.
 296. Hanlon, M., C., Seybert, D., W. (1997). The pH dependence of Lipid peroxidation using water-soluble azo initiators. *Free Radical Biology & Medicine*, 23 (5), S. 712-719.
 297. Halliwell, B., Murcia, M., A., Chirico, S., Aruoma, O., I. (1995). Free radicals and antioxidants in food and in vivo: What they do and how they work. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, S. 7-16.
 298. Moslen, M., T. (1994). Reactive oxygen species in normal physiology, cell injury and phagocytosis. In: *Free radicals in diagnostic medicine*, eds D. Armstrong, Plenum Press, New York, S. 15-27.
 299. Pfaffendorf, M. (1996). Das Endothel als sekretorisches Organ. Möglichkeiten der therapeutischen Beeinflussung. *Med Mo Pharm* 19 (2), S. 42-53.

-
300. Biesalski, H. K., Frank, J., 1995: Antioxidantien in der Ernährung und ihre Bedeutung für die anti- prooxidative Balance im Immunsystem. *Immunität und Infektion* 23 (5) 166-173.
 301. Thomas, J., M. (1995). The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working? *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35 (1 & 2) S. 21-39.
 302. Bickers, G., A., Bärwald, G. (1994). Selen und Kobalt in Topinambur. *Die Industrielle Obst- und Gemüseverwertung*, 79, S. 151-155.
 303. Doerffel, K. (1986). *Statistik in der analytischen Chemie*. VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig, S. 115-116.
 304. Doerffel, K. (1986). *Statistik in der analytischen Chemie*. VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig, S. 150-152.
 305. Barth, J., A., Lorenz, I. (1986): *Praktikum der Biochemie für Studierende der Medizin und Stomatologie*. VEB Druckerei, Thomas Müntzer, Bad Langensalza, S. 38-61.
 306. Aurich, H., G., Rinze, P. (1999). *Chemisches Praktikum für Mediziner*. Verlag Teubner Studienbücher Chemie, Stuttgart, S. 96.
 307. Mandel, F. (2001). LC/MS (/MS)-Kopplung, Stand der Technik, Knackpunkte, Perspektiven, *LABO Trend*, S. 40-46.
 308. Bruins, A., P. (1998). Mechanistic of electrospray ionisation. *Journal of Chromatography A*, 794, S. 345-357.
 309. Kebarle, P., Tang, L. (1993). From ions in solution to ions in the gas phase: The mechanism of electrospray mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 65 (22), S. 972A-986A.
 310. Harrison, A., G. (1992). *Chemical ionisation mass spectrometry*. CRS Press Boca Raton, 2 ed.
 311. McLafferty, F., W., Tureček, F. (1995). *Interpretation von Massenspektren*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg-Berlin-Oxford, S. 3.
 312. Moll, M. (2001). Determination of antioxidants in brewing. *Monatsschrift für Brauwissenschaft*, 1/ 2, S. 28-32.
 313. Moll, M. (2001). Determination of antioxidants in brewing. *Monatsschrift für Brauwissenschaft*, 3/ 4, S. 64-69.
 314. Hartong, B., D. (1934). Oxydations-Reduktions-Potentiale während der Bierbereitung. *Wochenschrift für Brauerei*, 52, S. 409-411.
 315. Gray, P., P., Stone, I. (1939). Oxidation in beers 1: a simplified method for measurement. *Journal of the Institute of Brewing*, 45, S. 253-263.
 316. Owades, J., L., Zientara, F. (1960). determination of oxidizable substances in beer. *Proceedings American Society of Brewing Chemists*, S. 68-72.
 317. Kaneda, H., Kobayashi, N., Furusho, S., Sahara, H., Koshino, S. (1995). Reducing activity and flavor stability of beer. *Technical Quarterly, Master Brewers Association of the Americas*, 32, S. 90-94.
 318. Williams, R., S., Murray, D., W., Quittenton, R., C. (1967). Analytical approaches to strengthening product control. *Technical Quarterly, Master Brewers Association of the Americas*, 4 (1), S. 61-67.
 319. Kretschmer, K. F. (1970). Über Oxidations- und Reduktionsvorgänge beim Mälzen und Brauen. *Brauwelt*, 110 (96), S. 1827-1832.
 320. Chapon, L., Louis, C., Chapon, S. (1970). Estimation du pouvoir réducteur des bières par le complexe fer-dipyridyle. In : *Proceedings, European Brewery Convention, 13th Congress, Estoril, Elsevier, Amsterdam*, S. 307-322.

321. Karakus, M., Scriban, R. (1974). Les réactions de brunissement non enzymatique au touraillage du malt. *Bios*, 5, S. 498-519.
322. Lie, S., Grindem, T., Jacobsen, T. (1977). Oxygen absorption in the brew-house. A quantitative study. In : : Proceedings, European Brewery Convention, 16th Congress, Amsterdam, DSW, Dordrecht, S. 235-243.
323. Ohtsu, K., Hashimoto, N. (1986). Flavor stability of packaged beer in relation to the oxidation of wort. *Brewers Digest*, 61 (6), S. 18-21.
324. Muller, R. (1995). Use of 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) as a measure of oxidation during mashing. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 53, S. 53-56.
325. Ghiselli, A.M., Serafini, G., Maiani, E., Azzini, A., Ferro-Luzzi. (1995). A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. *Free Radical Biol. Med.* 18, S. 29-36.
326. Auerbach, B., J., Kiely, J., S., Cornicelli, J., A. (1992). A spectrometric microtiter-based assay for the detection of hydroperoxy derivatives of linoleic acid. *Analytical Biochemistry*, 201, S. 375-380.
327. Bright, D., Stewart, G., G., Patino, H. (1999). A novel assay for antioxidant potential of speciality malts. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 57, S. 133-137.
328. Pratt, E., Hudson, J., F. (1990). Natural antioxidants not exploited commercially. In: *Food antioxidants*, Elsevier, London, S. 171-191.
329. Goupy, P., Hugues, M., Boivin, P., Amiot, M., J. (1999). Antioxidant composition and activity of barley (*hordeum vulgare*) and malt extract and of isolated phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, S. 1625-1634.
330. Cao, G., Verdon, C., P., Wu, H., B., Wang, H., Prior, R., L. (1995). Automated assay of oxygen radical absorbance capacity with the cobas fara II. *Clinical Chemistry*, 41 (12), S. 1738-1744.
331. Cao, G., Booth, S., L., Sadowski, J., A., Prior, R., L. (1998). Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruit and vegetables. *American Journal of Clinical Nutrition*, 68, S. 1081-1087.
332. Cao, G., Russell, R., M., Lischner, N., Prior, R., L. (1998). Serum antioxidant capacity is increased by consumption of Strawberries, Spinach, red wine or vitamin C in elderly woman. *The Journal of Nutrition*, 128 (12), S. 2383-2390.
333. De Clerck, J. (1934). Die Theorie der Oxidations-Reduktions-Potentiale und ihre Bedeutung für den Brauprozess. *Bulletin de l' Association des Anciens Etudiants de l' Université de Louvain*, 34, S. 55-77.
334. Mendlik, F., 1934 : Oxidations-reduktionspotentiale im Bier. *Wochenschrift für Brauerei*, 51, (39), S. 305-307.
335. Chapon, L., Urion, E. (1953). L' Oxidation des bières. In : Proceedings European Brewery Convention, 4th Congress, Nice, Elsevier, Amsterdam, 195-213.
336. Van Gheluwe, G., E., A., Valyi, Z. (1974). Beer flavor and implications of oxidation during brewing. *Technical Quarterly, Master Brewers Association of the Americas*, 11, S. 184-192.
337. Drawert, F., Krempl, H., Sipos, S. (1977). Über das Redoxpotential des Bieres. *Brauwissenschaft*, 30, S. 197-204.

338. Van Strien, J. (1987). Direct measurement of the oxidation-reduction condition of wort and beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 45, S. 77-79.
339. Steiner, K., Länzlinger, U. (1986). Zur Redoxpotentialmessung von Würze und Bier. *Brauerei-Rundschau*, 97 (4), S. 69-75.
340. Bruckee, G., K., Mom, M., Nye, J., W., S., Hammond, R., V. (1997). Measurement and significance of oxidation-reduction levels in beer. In: *Proceedings European Brewery Convention, 26th Congress, Maastricht, IRL Press, Oxford*, S. 607-614.
341. Owades, J., L., Jakovac, J. (1966). Study of beer oxidation with O¹⁸. *Proceedings American Society of Brewing Chemists*, S. 180-183.
342. Collin, S., Noël, S., Bonte, S., Metais, N., Bodart, E., Peladan, F., Dupire, S. (1997). Utilisation d' ¹⁸O₂ pour évaluer l' impact du phénomène d' oxidation durant le brassage et le stockage de la bière. In: *Proceedings European Brewery Convention, 26th Congress, Maastricht, IRL Press, Oxford*, S. 535-544.
343. Van Gheluwe, J., E., A., Jamieson, A., M., Chen, E., C. (1969). Gel permeation studies of some oxidation changes in beer. *Proceedings American Society of Brewing Chemists*, S. 44-50.
344. André, J., C., Moll, M. (1986). A new approach in the kinetics of beer oxidation : from physical chemistry to industrial brewing. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 44, S. 151-157.
345. Moll, N., Moll, M. (1986). Additives and endogenous antioxidants countering the oxidation of beer. *Proceedings of the 4th International Flavor conference, Rhodes, Greece; G. Charalambous, Ed, Elsevier Science Publisher, Amsterdam*, S. 97-140.
346. Moll, M. (1990). New investigations in the analysis of beer reducing substances. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 48, S. 51-57.
347. Bovin, P., Allain, D., Clamagirant, V., Maillard, M., N., Cuvelier, M., E., Berset, C., Richard, H., Nicolas, J., Forget-Richard, F. (1993). Mesure de l'activité antioxygène de l' orge et du malt : approche multiple. In: *Proceedings European Brewery Convention, 24th Congress, Oslo, Oxford University Press, Oxford*, S. 397-404.
348. Kaneda, H., Kano, Y., Kamimura, M. (1991). A study of beer staling using chemiluminescence analysis. *Journal of the Institute of Brewing*, 97, S. 105-109.
349. Kaneda, H., Kano, Y., Osawa, T., Kawakishi, S., Koshino, S. (1994). Role of beer components on chemiluminescence production during beer storage. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 52, S. 70-75.
350. Kaneda, H., Kobayashi, N., Tsuchiya, Y., Munekata, M., Koshino, S. (1994). Some applications of chemiluminescence analysis in brewing. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 52, S. 163-168.
351. Kobayashi, N., Kaneda, H., Kano, Y., Koshino, S. (1993). Determination of fatty acid hydroperoxides produced during the production of wort. *Journal of the Institute of Brewing*, 99, S. 143-146.
352. Uchida, M., Ono, M. (1999). Determination of hydrogen peroxide in beer and its role in beer oxidation. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 57, S. 145-150.
353. Kaneda, H., Kano, Y., Kamimura, M., Osawa, T., Kawakishi, S., Kamada, K. (1988). Detection of free radical in beer oxidation. *Journal of Food Science*, 53, S. 885-888.

-
354. Uchida, M., Ono, M. (1996). Improvement for oxidative flavor stability of beer: Role of OH-radical in beer oxidation. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 54, S. 198-204.
355. Andersen, M., L., Skibsted, L., H. (1998). Electron spin resonance spin trapping identification of radicals formed during aerobic forced aging of beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, S. 1272-1275.
356. Andersen, M., L., Outtrup, H., Skibsted, L., H. (2000). Potential antioxidants in beer assessed by ESR spin trapping. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, S. 3106-3111.
357. Andersen, M., L., Outtrup, H., Riis, P., Skibsted, L., H. (1999). Do polyphenols influence the flavour stability of beer? In: *Proceedings European Brewery Convention, 27th Congress, Cannes, IRL Press Oxford*, S. 133-140.
358. Höner, K., Cervellati, R., Neddens, C. (2002). Measurements of the in vitro antioxidant activity of German white wines using a novel method. *European Food Research and Technology*, 214, S. 356-360.
359. Robles, A. (2000). Phenoloxidase activity in strains of the hyphomycete *Chalara paradoxa* isolated from olive mill wastewater disposal ponds. *Enzyme and Microbial Technology*, 26, S. 484-490.
360. Möbius, C., H., Görtges, S. (1974). Polyphenolbestimmung für die Praxis. *Die Weinwissenschaft*, 29 (5), S. 241-253.
361. Pfenninger, H. (1993). Gesamtpolyphenole (EBC-Methode). In: *Brautechnische Analysenmethoden, Band II. Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK)*. 3. Auflage, S. 169-170.
362. Tanner, H., Brunner, H.R. (1979). Bestimmung der Gesamtphenole (Folin-Ciocalteu Methode). In: *Getränke-Analytik: Untersuchungsmethoden für die Labor- und Betriebspraxis*. 2. Auflage. Verlag Heller Chemie- und Verwaltungsgesellschaft mbH, Schwäbisch Hall, S. 91-92.
363. Joslyn, M.A., Morris, M., Hugenberg, G. (1968). Die Bestimmung der Gerbsäure und verwandter Phenolsubstanzen mittels des Phosphormolybdat-Phosphorwolframat-Reagenz. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 18 (1) S. 17-34.
364. Singleton V.L., Rossi, J.R. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, S. 144-158.
365. Goertges, S. (1981). Störfaktoren bei der Polyphenolbestimmung mit Folin-Ciocalteu-Reagenz (FCR). *Flüssiges Obst*, 48 (11) S. 522-523; 514-515.
366. Herrmann, K. (2001). Chemische Zusammensetzung von Obst und Fruchtsäften einschließlich wichtiger Gemüsesäfte sowie deren ernährungsphysiologische Bedeutung. Aus: *Frucht und Gemüsesäfte*, Schobinger, U., Verlag E. Ulmer, Stuttgart, S. 69.
367. Herrmann, K. (1976). Über Verfärbungen des Gemüses durch phenolische Inhaltsstoffe. *Deutsche Lebensmittel Rundschau*, 72 (3), S. 90-94.
368. Whitaker, J.,R., Chang, Y., Lee. (1995). Recent advances in chemistry of enzymatic browning. "In" *Enzymatic Browning and its Prevention*. ACS Symposium Series 600, Whitaker, J.,R., Chang, Y., Lee (Hrg), American Chemical Society, Washington, S. 2.
369. Lilly Vámos-Vigyázó. (1981). Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *CRC Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*, 15 (1) S. 49-127.

-
370. Yemenicioğlu, A. (2002). Control of Polyphenoloxidase in whole potatoes by low temperature blanching. *European Food Research and Technology*, 214: S. 313-319.
371. Rhein, O.,H., 1989: Schaumwein, Perlwein, Likörwein und weinhaltige Getränke. „In“ *Chemie des Weines*. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, S. 707
372. Rebelein, H. (1965). Beitrag zur Bestimmung des Catechingehaltes in Wein. *Deutsche Lebensmittel Rundschau*, 61 (6) S. 182-183.
373. Müller, C., Treutter, D. (2001). Phenolische Verbindungen in Apfelsaft, Apfelwein und Apfelessig. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 51, S. 138-147
374. Czyzowska, A., Pogorzelski, E. (2002). Changes to polyphenols in the process of production of must and wines from blackcurrants and cherries. Part I. Total polyphenols and phenolic acids. *European Food Research and Technology*, 214 (2) S. 148-154.
375. Hennig, K., Burkhardt, R. (1958). Der Nachweis phenolartiger Verbindungen und Hydroaromatischer Oxycarbonsäure in Traubenbestandteilen, Wein und Weinähnlichen Getränke II. *Weinberg und Keller*, 5, S. 593-600.
376. Lambrecht, H., S. (1995). Recent advances in chemistry of enzymatic browning. “In“ *Enzymatic Browning and its Prevention*. ACS Symposium Series 600, Whitaker, J.,R., Chang , Y., Lee (Hrg), American Chemical Society, Washington, S. 313-323
377. Santerre, C., R., Leach, T., F., Cash, J., N. (1991). Bisulfite alternatives in processing abrasion-peeled russet burbank potatoes. *Journal of Food Science*, 56 (1) S. 257-259
378. Mayén, M., Mérida, J., Medina, M. (1996). Influence of the addition of Sulfur dioxide and must hyperoxidation on phenolic fractions during vinification of sherry wines. *Food Chemistry*, 56 (1) S. 7-13
379. Steiner, K. (1964). Über die Reduzierenden Substanzen in Würze und Bier. *Schweizer Brauerei-Rundschau*, 75 (9) S. 167-172.
380. Engelhardt, U., H., Kiehne, A.,Wagner-Redeker W. (1994). HPLC-MS-Kopplungen: Technik und Anwendungen: Teil 2: Anwendungen von Thermospray HPLC-MS bei der Analytik phenolischer Lebensmittelinhaltsstoffe. *GIT Fachzeitschrift für Labor*, 8, S. 831-836
381. Engelhardt, U., H., Wagner-Redeker W. (1994). HPLC-MS-Kopplungen: Technik und Anwendungen: Teil 1: Übersicht über die gebräuchlichsten LC-MS-Kopplungen. *GIT Spezial*, 1, S. 5-9.
382. Mandel, F. (2001). LC/MS (/MS)-Kopplung, Stand der Technik, Knackpunkte, Perpektiven, *Labo Trend*, S. 40-46
383. Fehlhaber, H., W. (1973). Massenspektrometrie. In *Methodicum Chemicum: Kritische Übersicht bewährter Arbeitsmethoden und ihre Anwendung in Chemie, Naturwissenschaft und Medizin*, Band 1: Analytik, Teil 1: Reindarstellung, Nassverfahren, Strukturbestimmung, Friedhelm Korte (Hrsg), Thieme Verlag, Stuttgart, S. 496-529.
384. Stobiecki, M., Wojtaszek, P. (1990). Application of gas chromatographie-masspectrometry to the identification of isoflavonoids in lupine root extracts. *Journal of Chromatography*, 508, S. 391-398.
385. Gelbmann, D., Praeceptor, A., Salzbrunn, W., Eder, R. (1997). Quantitative Bestimmung flüchtiger Phenole in Rotweinen mittels Gaschromatographie-Massenspektroskopie. *Mitteilungen Klosterneuburg* 47, S. 95-103

-
386. Dallos, F., C., Koepl, K., G. (1969). Gas chromatographic identification of the TMS-Derivatives of non-volatile phenolic acids. *Journal of Chromatographic Science*, 7, S. 565-568.
 387. Coffin, D., E., Dupont, J., E. (1974). Gas chromatography of trimethylsilyl derivatives of flavanones. *Journal of the Association of Official Analytical chemists*, 54, S. 1211-1214.
 388. Stolzenburg, K. (2002). Topinambur II: Speicherkapazität der Knollen beeinflusst die Alkoholausbeute. *Kleinbrennerei*, 6, S. 11-12
 389. Stolzenburg, K. (2002). Topinambur III: Die Zusammensetzung der Schlempe. *Kleinbrennerei*, 7, S. 10-11.
 390. Stolzenburg, K. (2002). Topinambur I: Die Zusammensetzung der Schlempe. *Kleinbrennerei*, 5, S. 7-8.

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Stufen der enzymatischen und nichtenzymatischen Verfärbung (nach Cheftel 1984)
- Abbildung 2: Pyrocatechol
- Abbildung 3: 3, 4-Dihydroxyphenylalanin
- Abbildung 4: 3, 4-Dihydroxyphenylethylamin (Dopamin)
- Abbildung 5: Gallussäure
- Abbildung 6: Chlorogensäure
- Abbildung 7: Hauptklasse der Flavonoide
- Abbildung 8: Cyanidolblau
- Abbildung 9: Leucocyanidol
- Abbildung 10: Quercetin
- Abbildung 11: Naringenol
- Abbildung 12: Synthese der Polyphenole nach Engelhardt und Galensa (188)
- Abbildung 13: Hydroxibenzoesäure-Verbindungen
- Abbildung 14: Depsid Typ I und II
- Abbildung 15: Hydroxizimtsäure- und Hydroxicumarin-Verbindungen
- Abbildung 16: Intrazelluläre Quellen freier Radikale (Biesalski 1995)
- Abbildung 17: ESI-Quelle nach www.jeol.com/ms/ionize.html
- Abbildung 18: Taylor cone nach www.jeol.com/ms/ionize.html
- Abbildung 19: CI-Quelle nach www.jeol.com/ms/ionize.html
- Abbildung 20: Originalmesskurve ACW für die Bestimmung der wasserlöslichen antioxidativen Kapazität einer Probe:
- Abbildung 21: Beispielhafter Verlauf der Kalibrationskurve (lineare Regression) mit Ascorbinsäure
- Abbildung 22: Beispiel der mittels LC-MS identifizierten silylierten Molekül-Ionen aus der Mischung von 22 Vergleichssubstanzen (Aesculin und Salicylsäure)
- Abbildung 23: Beispiel der mittels LC-MS identifizierten Molekül-Ionen aus Topinamburextrakten (Aesculin und Salicylsäure).
- Abbildung 24: Beispiel des mittels GC-MS identifizierten silylierten Molekül-Ions aus der Mischung von 22 Vergleichssubstanzen (Salicylsäure, Umbelliferon und Protocatechusäure/ Gentisinsäure)
- Abbildung 25: Beispiel der mittels GC-MS identifizierten Ionen aus Topinamburextrakten (Umbelliferon und Salicylsäure)

Abkürzungsverzeichnis

AAPH:	2, 2'- Azobis (2-Amidopropan) Dihydrochloride
ABAP:	(2,2'-Azobis-(2-Amidinopropan))
Abb :	Abbildung
absol:	absolut
ABTS:	(2,2'-Azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure))
ACW:	antioxidativen Kapazität von wasserlöslichen Stoffen
AL:	Arbeitslösungen
amu:	atomare Masseneinheit, Dalton (bezogen auf ^{16}O)
ANOVA:	Varianz Analyse
AOXP:	Antioxidans Potential von Spezialmalz
BHA :	Butylhydroxyanisol
BHT :	Butylhydroxytoluol
bzw:	beziehungsweise
C:	Coulomb
ca:	circa
CI:	Chemischen Ionisation
CMC:	Carboximethylcellulose
CRM:	charged residue model
Dalton:	atomare Masseneinheit ($^{12}\text{C} = 12$ Daltons; $1,66 \cdot 10^{-27}$ kg)
DCI:	Desorption durch chemische Ionisation bzw. direkte chemische Ionisation
dest.:	destilliertes
DMPO:	5,5 Dimethyl-1-Pyrrolin-N-oxid
DNS:	Desoxiribonucleinsäure
DOPA:	3,4-Dihydroxyphenylalanine
DPI:	2,6-Dichlorphenol-Indophenol
DPPH:	1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl
DTNB:	5, 5'-Dithiobis (2-Nitrobenzoesäure)
DTPA:	Diethyltriamin-Pentaessigsäure
EA:	endogene Antioxidans-Aktivität
EA ₁ :	volumetrische Enzymaktivität
EA ₂ :	prozentuale Enzymaktivität
EC:	Enzyme Commission
ED:	Elektrochemische Detektion
EDTA:	Ethylendiamintetraessigsäure
EI:	Elektronenstoßionisation (früher: electron impact, heute: electron ionization)
ESI:	Elektrospray-Ionisation
ESR:	Elektronenspinresonanz
EU:	European Union
eV:	Elektronvolt
FAB:	Fast Atom Bombardment Ionization
FD:	Felddesorption
FG:	Freiheitsgrad
FI:	Feldionisation
FID:	Flammenionisationsdetektor
FM:	Frischmasse
FTZ:	„freie“ fermentierbare Zucker
GAE:	Gallussäure Äquivalent
gem.:	gemäß
ha:	Hektare

HPLC:	Hochdruckflüssigchromatographie
IEM:	ion emission model
IP:	Ionisierungspotentiale
K ₂₀ :	spezifische elektische Leitfähigkeit
kat:	Katal (katalytische Einheit)
KeV:	Kilo-Elektronvolt
kV:	Kilovolt
LAP:	Landesanstalt für Pflanzenbau Forchheim
LC:	Flüssigchromatographie
lx:	Lux oder Beleuchtungsstärke
M ⁺ :	Molekül-Ion
m/z:	Quotient aus der Masse eines Ions in amu und seiner Ladung (gewöhnlich 1); Einheit: Thomson; früher: m/e
MALDI:	Matrix Assisted Laser Desorption Ionisierung
MEBAK:	Mitteuropäische Brautechnische Analysenkommission
MDA:	Malonaldehyd
min:	Minute
MNP:	2-Methyl-2-Nitrosopropan
MS:	Massenspektrometrie
mnu:	Millimasse; 0,001 atomare Masseneinheiten = Millidalton
nkat:	Nannokatal
nm:	Nanometer
O.I.V.:	Office International du Vin oder Gremien des internationalen Weinamtes in Paris
ORAC:	Oxygen Radical Absorbing Capacity oder Oxygen Radical Absorption Capa- city).
Pa:	Pascal
PA:	Protonenaffinität
PBN:	N-Terbutyl- α -Phenylnitron
POBN:	4-Pyridyl-1-Oxid-N-Tertbutylnitron
PP:	Polyphenole
PPO:	Polyphenoloxidasen
PVPP:	Polyvinylpolypyrrolydon
Q:	Überschußladung (elektrische Ladung)
RE:	Rohextrakt
ROS:	reaktive Sauerstoffspezies
S:	Seite
SIM:	selected ion monitoring (selektive Messung einzelner, ausgewählter Massen (Ionen)
SIMS:	secondary ions mass spectrometry (Sekundär-Ionen-Massenspektrometrie)
SOD:	Superoxiddismutase
t:	Tonne
TBA:	Thiobarbitursäure
TCA:	Trichloressigsäure
TEAC:	Trolox equivalent antioxidant capacity
TFZ:	„total“ fermentierbare Zucker
TM:	Trockenmasse
TRAP:	Total radical trapping antioxidant parameter
Trolox:	6-Hydroxy-2, 5, 7, 8-Tetramethylchroman-2-carboxylsäure
TSI:	Thermospray-Ionisation
TU:	Technische Universität Berlin
u:	atomare Masseneinheit (bezogen auf ¹² C): 1 u = 1,67.10 ⁻²⁷ kg

u.a:	und andere
u.ä:	und ähnlich (e)
usw:	und so weiter
VK:	Variationskoeffizienten
z:	Anzahl der Ladungen eines Ions (früher: e)
z.B:	zum Beispiel
z.T:	zum Teil

Bildverzeichnis

- Bild 1: Die Topinamburpflanze im Garten in Berlin-Frohnau
- Bild 2: Die Topinamburknollen (weißschalige Sorte „Gigant“)
- Bild 3: Keimversuch der Topinamburknollen im Labor (Zichorie im Vordergrund)
- Bild 4: Sorte Stamm nach 12 Keimversuchstagen
- Bild 5: Gigant am Anfang des Keimversuchs im Labor
- Bild 6: Sorte Large White nach 12 Keimversuchstagen
- Bild 7: Sorte Gute Gelbe nach 21 Keimversuchstagen
- Bild 8: Sorte Medius Lindhoop nach 21 Keimversuchstagen

Chromatogrammverzeichnis

- Chromatogramm 1: HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen einer Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen in Methanol bei $\lambda = 280$ nm mittels UV-Detektor
- Chromatogramm 2: HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte RoZo (Schalen) nach Methanolextraktion bei $\lambda = 280$ nm mittels UV-Detektor
- Chromatogramm 3: HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte RoZo (Schalen) nach Ethylacetat-Methanolextraktion bei $\lambda = 280$ nm mittels UV-Detektor
- Chromatogramm 4: Trennung von einzelnen phenolischer Verbindungen anhand einer Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen in Methanol bei $\lambda = 280$ nm mittels LC-MS-Kopplung: Peaks entsprechend dem Leitchromatogramm 1 benennen
- Chromatogramm 5: Trennung einzelner phenolischer Verbindungen von Topinambur nach Methanolextraktion bei $\lambda = 280$ nm mittels LC-MS-Kopplung
- Chromatogramm 6: Trennung einzelner phenolischer Verbindungen anhand einer Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen in Methanol mittels GC-MS-Kopplung (EI)
- Chromatogramm 7: Trennung einzelner phenolischer Verbindungen anhand einer Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen in Methanol mittels GC-MS-Kopplung (CI)

Diagrammverzeichnis

- Diagramm 1: Prüfung der Reaktionsordnung von PPO aus den Schalen der Topinambur Sorte Waldspindel bei $\lambda = 470 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$.
- Diagramm 2: Extinktionsverlauf zur Bestimmung der PPO-Aktivität von Topinamburknollen-Schalen (S) bzw. –Fleisch (F) (Ernte Oktober/ Dezember 2000)
- Diagramm 3: Polyphenoloxidase-Aktivität der Topinamburknollenschalen bzw. Knollenfleisch in Abhängigkeit von Sorten (Ernte Oktober/ Dezember 2000)
- Diagramm 4: Topinambur-Polyphenoloxidase bei unterschiedlichen Temperaturen und bei $\lambda = 470 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$, (Medius Lindhoop).
- Diagramm 5 a: Inaktivierung der Topinambur-Polyphenoloxidase durch Temperatur und Zeit bei $\lambda = 470 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$, (Medius Lindhoop).
- Diagramm 5 b: Inaktivierung der Topinambur-Polyphenoloxidase durch Temperatur und Zeit bei $\lambda = 470 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$, (Medius Lindhoop)
- Diagramm 5 c: Inaktivierung der Topinambur-Polyphenoloxidase durch Temperatur und Zeit bei $\lambda = 470 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$, (Medius Lindhoop)
- Diagramm 6: pH-Abhängigkeit der Topinambur-PPO bei $\lambda = 470 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$, (Medius Lindhoop)
- Diagramm 7: Topinambur-PPO gegenüber in der Lebensmittelindustrie verwendeten Säuren und die entsprechenden pH-Werte bei $\lambda = 470 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$, (Medius Lindhoop).
- Diagramm 8: Graphische Darstellung Gallussäure-Äquivalenten (GAE) nach MEBAK
- Diagramm 9: Graphische Darstellung Gallussäure-Äquivalenten GAE nach Folin-Ciocalteu
- Diagramm 10: Überprüfung der Farbstabilität bei der Gesamtphenol-Bestimmung nach Folin-Ciocalteu, Chlorogensäure als Standard bezogen auf die Reaktionszeit. Durchschnitt aus 5 Messreihe; Chlorogensäure = 1500 mg/ l Methanol.
- Diagramm 11: Graphische Darstellung: freie SO_2 in Polyphenol-Modelllösung, $\lambda=760 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$, gefärbt nach Folin-Ciocalteu
- Diagramm 12: Graphische Darstellung: Ascorbinsäure in Polyphenol-Modelllösung, $\lambda= 760 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$, gefärbt nach Folin-Ciocalteu.
- Diagramm 13: Graphische Darstellung: Aminosäuren in Polyphenol-Modelllösung, $\lambda=760 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$, gefärbt nach Folin-Ciocalteu.
- Diagramm 14: Graphische Darstellung Eisen (II) in Polyphenol-Modelllösung nach Folin-Ciocalteu bei $\lambda=760 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$ gemessen.
- Diagramm 15: Verteilung der Gesamtphenole in der Topinamburfrucht nach Paupardin in % TM als GAE (eigene Untersuchungen).
- Diagramm 16: Verteilung der Gesamtphenolgehalte in der Topinamburfrucht geordnet nach den Extraktionsphasen in % TM als GAE.
- Diagramm 17: Verteilung der Gesamtphenolgehalte der Topinambur nach Paupardin extrahiert in % Frischgewicht als GAE (eigene Untersuchungen).
- Diagramm 18: Zusammenhang zwischen dem Gesamtphenolgehalt als GAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu und nach Paupardin extrahiert) und der PPO-Aktivität (nkat) in den Schalen der frisch geernteten Topinamburknollen (alle Sorten)

- Diagramm 19: Zusammenhang zwischen dem Gesamtphenolgehalt als GAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu und nach Paupardin Extrahiert) und dem Wassergehalt (g/100 g Schalen) in den Schalen der frisch geernteten Topinamburknollen (alle Sorten).
- Diagramm 20: Zusammenhang zwischen der PPO-Aktivität (nkat) und dem Wassergehalt (g/ 100 g Schalen) der Extrakten aus den Schalen der frisch geernteten Topinamburknollen (alle Sorten)
- Diagramm 21: Ausbeuten an Gesamtphenolen in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren (RoZo)
- Diagramm 22: Zusammenhang zwischen der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$] und der Extraktkonzentration (g/ 100 ml) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen (alle Sorten)
- Diagramm 23: Zusammenhang zwischen spezifischer elektrischer Leitfähigkeit [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$] und Wassergehalt (g/ 100 Schalen) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen (alle Sorten)
- Diagramm 24: Zusammenhang zwischen dem Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu als SAE) und dem Wassergehalt der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen (alle Sorten)
- Diagramm 25: Zusammenhang zwischen Gesamtphenolgehalt (nach Folin-Ciocalteu als GAE) und Wassergehalt der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen (alle Sorten)
- Diagramm 26: Zusammenhang zwischen spezifischer elektrischer Leitfähigkeit K_{20} [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$] und Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) (alle Sorten)
- Diagramm 27: Zusammenhang zwischen Extraktkonzentration (g/ 100 ml) und Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) (alle Sorten)
- Diagramm 28: Zusammenhang zwischen pH und Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen (alle Sorten)
- Diagramm 29: Zusammenhang zwischen dem Reduktionsvermögen und dem Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) (vier Sorten)
- Diagramm 30: Zusammenhang zwischen Reduktionsvermögen und Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) in den Extrakten aus Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln (vier Sorten)
- Diagramm 31: Zusammenhang zwischen antioxidativer Kapazität (g Ascorbinsäure/kg TM) und dem Gesamtphenolgehalt als SAE in % TM (nach Folin-Ciocalteu) der Extrakten aus im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln (vier Sorten)
- Diagramm 32: Zusammenhang zwischen antioxidativer Kapazität (g Ascorbinsäure/ kg TM) und Gesamtphenolgehalt (als SAE in % TM nach Folin-Ciocalteu) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln (vier Sorten)
- Diagramm 33: Zusammenhang zwischen Reduktionsvermögen [%] und antioxidativer Kapazität (g Ascorbinsäure/ kg TM) der Extrakten aus den Schalen der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln (vier Sorten)

- Diagramm 34: Zusammenhang zwischen den mittels HPLC (auch nicht identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehalte der Topinambur- und Zichorienschalen
- Diagramm 35: Zusammenhang zwischen den mittels HPLC (nur identifizierte Verbindungen) und nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehalten der Topinambur- und Zichorienschalen
- Diagramm 36: Zusammenhang zwischen der nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehalte als GAE und der nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehalte als SAE

Schemaverzeichnis

- Schema 1: Reduktion der Chinone zu Diphenole
- Schema 2: Angriffspunkte von ROS an biologischem Material und deren Folgen nach Lechler 1996 (1)
- Schema 3: Fließdiagramm zur Extraktion der phenolischen Verbindungen aus Topinambur nach Paupardin (1965), modifiziert von Tchoné.
- Schema 4: Eigene entwickelte und abgesicherte Methode zur weitgehenden Erfassung phenolischer Verbindungen

Tabelleverzeichnis

- Tabelle 1: Inhaltsstoffe der Topinamburknollen nach Bärwald u.a 1989
- Tabelle 2: Wichtige Vertreter reaktiver Sauerstoffmetabolite (nach Sies 1995, Schimke 1993)
- Tabelle 3: Geschätzte Halbwertszeiten verschiedener ROS (12) (Sies und Stahl 1995)
- Tabelle 4: Absorptionskoeffizienten der Polyphenole (Quelle Beilstein-Datenbank)
- Tabelle 5: Reaktantgase für CI-MS: Protonierungsreaktionen
- Tabelle 6: Reaktantgase für CI-MS : Ladungsaustauschreaktionen
- Tabelle 7: Pipetierschema der ACW-Methode
- Tabelle 8: Methodenparameter der ACW-Methode
- Tabelle 9: Polyphenoloxidase-Aktivität verschiedener Topinambursorten
- Tabelle 10: Zusammenfassung der graphischen Darstellung der MEBAK- und Folin-Ciocalteu-Methode
- Tabelle 11: Überprüfung der Gesamtphenol-Bestimmungsmethoden
- Tabelle 12: Überprüfung der Farbreaktion bei der Bestimmung der Gesamtphenole nach Folin-Ciocalteu mit Topinambur
- Tabelle 13: Gesamtphenole des Topinambursafte (aus Konzentrat) nach Folin-Ciocalteu
- Tabelle 14: Prozentuale Verteilung der essentiellen Aminosäuren im Topinambur-Reineiweiß
- Tabelle 15: Bestimmung der Polyphenole nach Folin-Ciocalteu: Gegenüberstellung der Störung durch freie SO₂, Ascorbinsäure, Eisen(II)-Ionen und Aminosäure
- Tabelle 16: Trockenmasse von Topinambur geordnet nach Sorten, ganze Knollen und Schalen
- Tabelle 17: Prozentualtabelle der Extraktionsverfahren mit der Sorte RoZo
- Tabelle 18: Überprüfung der Reproduzierbarkeit der vorgeschlagenen Extraktionsmethode zur Bestimmung phenolischer Verbindungen
- Tabelle 19: Trockenmassen in % (g/100 g Knollen) der Topinamburknollen und Zichorienwurzel als Funktion der Keimversuchstage (Ernte von Oktober bis Dezember 2000)
- Tabelle 20: Trockenmassen in % (g/100 g Schalen) der Topinambur- und Zichorienschalen als Funktion der Keimversuchstage (Ernte von Oktober bis Dezember 2000)
- Tabelle 21: Gesamtphenolgehalte in % TM der Schalen der Topinambursorte Stamm (nach 12 Keimversuchstagen) in Abhängigkeit von den Bezugsstoffen
- Tabelle 22 a: Gesamtphenolgehalte der Modelllösung, gefärbt nach Folin-Ciocalteu bei $\lambda = 720$ nm, s = 1 cm, in Abhängigkeit der Konzentration und von den Bezugsstoffen
- Tabelle 22 b: Gesamtphenolgehalte der Modelllösung, gefärbt nach Folin-Ciocalteu bei $\lambda = 760$ nm, s = 1 cm, in Abhängigkeit der Konzentration und von den Bezugsstoffen
- Tabelle 23 a: Einfaktorielle Varianzanalyse: Gesamtphenole der Modelllösung (440 mg/l) einer Mischung von unterschiedlichen Vergleichssubstanzen bei $\lambda = 760$ nm, s = 1 cm, ausgedrückt als Gallussäure bzw. Chlorogensäure, Catechin, Gentsinsäure und Salicylsäure
- Tabelle 23 b: Einfaktorielle Varianzanalyse: Gesamtphenole der Modelllösung (880 mg/l) einer Mischung unterschiedlicher Vergleichssubstanzen bei $\lambda = 760$ nm, s = 1cm, ausgedrückt als Gallussäure bzw. Chlorogensäure, Catechin, Gentsinsäure und Salicylsäure

- Tabelle 24: Gesamtphenol-Abweichung von unterschiedlichen Bezugssubstanzen, gefärbt nach Folin-Ciocalteu, von den Sollwerten bei $\lambda = 760$ nm, $s = 1$ cm, bezogen auf den Sollwert
- Tabelle 25: Prüfung auf signifikanten Unterschied zweier Stichproben
- Tabelle 26: Gesamtphenolgehalt der im Labor kultivierten Topinamburknollen und Zichorienwurzeln als Salicylsäure-Äquivalent in Methanol Angabe in g/100 g TM
- Tabelle 27: Gesamtphenolgehalt der Schalen von im Labor kultivierten Topinambur und Zichorien als Salicylsäure-Äquivalent in Methanol Angabe in g/100 g TM
- Tabelle 28: pH-Werte der Extrakte aus verschiedenen Topinamburknollen und der Zichorienwurzel nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorten und Keimdauer
- Tabelle 29: pH-Werte in den Extrakten von verschiedenen Topinambur- und Zichorienschalen nach Verdampfung, Auswaschen des Rückstandes mit Methanol in Abhängigkeit von Sorte und Keimdauer
- Tabelle 30: Extraktkonzentration verschiedener Topinamburknollen und Zichorienwurzeln in Methanol in % als Funktion der Keimversuchstage (Ernte Oktober bis Dezember 2000)
- Tabelle 31: Extraktkonzentration verschiedener Topinambur- und Zichorienknollenschalen in Methanol in % als Funktion der Keimversuchstage (Ernte Oktober bis Dezember 2000)
- Tabelle 32: Spezifische elektrische Leitfähigkeit K_{20} [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$] der Extrakte aus ganzen Knollen und Wurzeln in Abhängigkeit von der Keimdauer (Tage)
- Tabelle 33: Spezifische elektrische Leitfähigkeit K_{20} [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$] der Extrakte aus Schalen in Abhängigkeit von der Keimdauer (Tage)
- Tabelle 34: Physikalische Messungen an frisch geernteten Topinamburknollen in Abhängigkeit von den Extraktionsstufen Ethylacetat-Methanol = 1:1 (Ernte November 2000)
- Tabelle 35: Gesamtphenole, pH, rH, K_{20} und ihre Veränderungen durch 1 % Ascorbinsäure
- Tabelle 36 a : Linearität der Extinktionen unterschiedlicher phenolische Verbindungen bei $\lambda = 720$ nm, $s = 1$ cm, in Abhängigkeit der Konzentration
- Tabelle 36 b : Linearität der Extinktionen unterschiedlicher phenolische Verbindungen bei $\lambda = 760$ nm, $s = 1$ cm, in Abhängigkeit der Konzentration
- Tabelle 37 a (mit Fortsetzung): Dekadische molare Extinktionskoeffizienten der untersuchten phenolischen Verbindungen in Methanol in Abhängigkeit von der Wellenlänge
- Tabelle 37 b (mit Fortsetzung): Dekadische molare Extinktionskoeffizienten der untersuchten phenolischen Verbindungen in Methanol in Abhängigkeit von der Wellenlänge (bei $\lambda = 720$ nm und $\lambda = 760$ nm)
- Tabelle 38: Vergleich der dekadischen molaren Absorptionskoeffizienten in Methanol
- Tabelle 39: Reduktionsvermögen nach MEBAK [%] der Topinamburknollen und Zichorienwurzeln nach Extraktion, Vakuumverdampfung und Auswaschen des Rückstandes mit Methanol (Ernte Oktober/Dezember 2000)

- Tabelle 40: Reduktionsvermögen [%] der Topinambur- und Zichorienschalen nach Extraktion, Vakuumverdampfung und Auswaschen des Rückstandes mit Methanol (Ernte Oktober/Dezember 2000)
- Tabelle 41: Gegenüberstellung des Reduktionsvermögens von Bier und Topinamburknollen (eigene Messungen)
- Tabelle 42: Antioxidative Kapazität (g Ascorbinsäure/kg TM) der Topinamburknollen und Zichorienwurzel (ACW-Methode) nach Extraktion, Vakuumverdampfung und Auswaschen des Rückstandes mit Methanol (Ernte Oktober/Dezember 2000)
- Tabelle 43: Antioxidative Kapazität (g Ascorbinsäure/kg TM) der Topinambur- und Zichorienschalen (ACW-Methode) nach Extraktion, Vakuumverdampfung und Auswaschen des Rückstandes mit Methanol (Ernte Oktober/Dezember 2000)
- Tabelle 44: Gegenüberstellung der antioxidativen Kapazität der Topinambur- und Zichorienschalen (Maximalwerte sind angegeben) mit denjenigen von anderem Gemüse (AnalytikJena)
- Tabelle 45: Überprüfung der Linearität der in Pflanzmaterial gefundene phenolischen Substanzen bestimmt bei einer Absorption von $\lambda = 280$ nm mit UV-Detektor im Vergleich von 1 bis 400 mg PP/l in Methanol bei der HPLC-Trennung an R18-Hypersilsäule und 1 ml/min Fließrate. Auswertung in Flächeintegral [-]
- Tabelle 46: Gegenüberstellung der gemessenen dekadischen molaren Absorptionskoeffizienten phenolischer Verbindungen (40 mg/l) in Methanol als Lösemittel bei $\lambda = 280$ nm und entsprechendem Peakintegral
- Tabelle 47: Wiederfindungsgrad der Säule bei der HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen in Methanol bei $\lambda = 280$ nm mittels UV-Detektor und Diode Array Detektor (DAD)
- Tabelle 48: Retentionszeit der Vergleichssubstanzen
- Tabelle 49: Mittels LC-MS Kopplung identifizierte phenolische Verbindungen anhand einer Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen
- Tabelle 50: Mittels LC-MS Kopplung identifizierte phenolische Verbindungen aus Topinamburextrakten
- Tabelle 51: Mittels der Kopplung GC-MS identifizierte phenolische Verbindungen der Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen
- Tabelle 52: Mit GC-MS-Kopplung identifizierte phenolische Verbindungen aus Topinamburextrakten
- Tabelle 53: HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte Gigant (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM; ($\lambda = 280$ nm) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)
- Tabelle 54: HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte Gute Gelbe (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM; ($\lambda = 280$ nm) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)
- Tabelle 55: HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte Large White (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM; ($\lambda = 280$ nm) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

- Tabelle 56: HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte Medius Brückmann (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM; ($\lambda = 280$ nm) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)
- Tabelle 57: HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte Medius Lindhoop (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM; ($\lambda = 280$ nm) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)
- Tabelle 58: HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte Petit Blanc (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM; ($\lambda = 280$ nm) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)
- Tabelle 59: HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte RoZo (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM; ($\lambda = 280$ nm) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)
- Tabelle 60: HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte Stamm (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM; ($\lambda = 280$ nm) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)
- Tabelle 61: HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte Waldspindel (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM; ($\lambda = 280$ nm) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)
- Tabelle 62: HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Zichorie (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM ($\lambda = 280$ nm) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)
- Tabelle 63: Gesamtphenolgehalte der Topinamburknollen, Zichorienwurzeln und deren Schalen in Methanolextrakt, berechnet als Salicylsäureäquivalente und bezogen auf das Gesamtpeakintegral (auch unbekanntes) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000):
HPLC-Trennung bei $\lambda = 280$ nm
- Tabelle 64: Gegenüberstellung des mittels HPLC (auch unbekanntes) und nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehaltes als Salicylsäure-Äquivalent der Topinamburknollen und Zichorienwurzeln, Angaben in % TM, in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober bis Dezember 2000)
- Tabelle 65: Gegenüberstellung des mittels HPLC (auch unbekanntes) und nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehaltes als Salicylsäure-Äquivalent der Topinambur- und Zichorienschalen, Angaben in % TM, in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober bis Dezember 2000)
- Tabelle 66: Gesamtphenolgehalte der Topinamburknollen, Zichorienwurzeln und deren Schalen in Methanolextrakt, berechnet als Summe der einzelnen Verbindungen (nur bekannten) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000):
HPLC-Trennung bei $\lambda = 280$ nm

- Tabelle 67: Gegenüberstellung des mittels HPLC (nur bekannten) und nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehaltes als Salicylsäure-Äquivalent der Topinamburknollen und Zichorienwurzeln, Angaben in % TM, in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober bis Dezember 2000)
- Tabelle 68: Gegenüberstellung des mittels HPLC (nur bekannten) und nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehaltes als Salicylsäure-Äquivalent der Topinambur- und Zichorienschalen, Angaben in % TM, in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober bis Dezember 2000)
- Tabelle 69: Schmelzpunkten und Wasserlöslichkeiten der verwendeten Vergleichs-substanzen aus den Merck- und Flukakatalog
- Tabelle 70: Knollenertrag verschiedener Topinambursorten und herkünfte (nach Stolzenburg, LAP Forchheim 2002)

Danksagung

All jenen, die durch ihre materielle, ideelle und moralische Hilfe das Entstehen dieser Arbeit ermöglichten, möchte ich hiermit herzlich danken.

Die experimentellen Arbeiten für die vorliegende Dissertation wurden am Fachgebiet Grundlagen der Gärungs- und Getränketechnologie der Technischen Universität Berlin und Analytik Jena durchgeführt.

Meinem Doktorvater, Prof. Dr. Ing. G. Bärwald, meinen Betreuern Prof. Dr. sc. techn. G. Annemuller und Prof. Dr. sc. techn. L. G. Fleischer, meinem Vorsitzenden Prof. Dr. rer. nat. L. Kroh, danke ich herzlich für die Betreuung der Arbeit, für die ständige Bereitschaft zu konstruktiven fachlichen Diskussionen sowie für die großzügige Unterstützung in wissenschaftlichen, materiellen und organisatorischen Fragen.

Den guten Geistern des Fachgebietes, Frau Ekrut, Frau Haeusler, Frau Dahlmann und Herrn Hagemeyer sei an dieser Stelle für die freundliche und konstruktive Arbeitsatmosphäre gedankt.

Mein spezieller Dank gilt auch Dr. H. Buhr, Dr. Idler, Dr. B. Seidel und Frau Seidel für stetige Unterstützung während dieser Zeit und das Korrekturlesen.

Mein Dank gilt auch den lieben Seelen Frau Schulz (Institut für Lebensmitteltechnologie), Frau Krämer, Frau Seifert, Frau Fischer und Herrn Lurz (Zuckerinstitut) sowie den Mitarbeitern der Fachgebiet Hygiene der TU Berlin besonders Dipl.-Ing L. Vigelahn für ihr Verständnis und ihre wichtige Unterstützung in allen Belangen.

Des weiteren möchte ich mich bei Frau R. Scheer und Herrn W. Meier bedanken für die freundliche und gute Zusammenarbeit im Labor.

Mein Dank gilt ferner dem Geschäftsführer der Analytik Jena, Herrn Dr. W. Link und Dr. M. Rohe für die Unterstützung zur Analyse der antioxidativen Kapazität.

Den Mitarbeitern der Kommission zur Vergabe von Promotionsstipendien gem. Nachwuchsförderungsgesetz möchte ich herzlich für das Ablußstipendium danken.

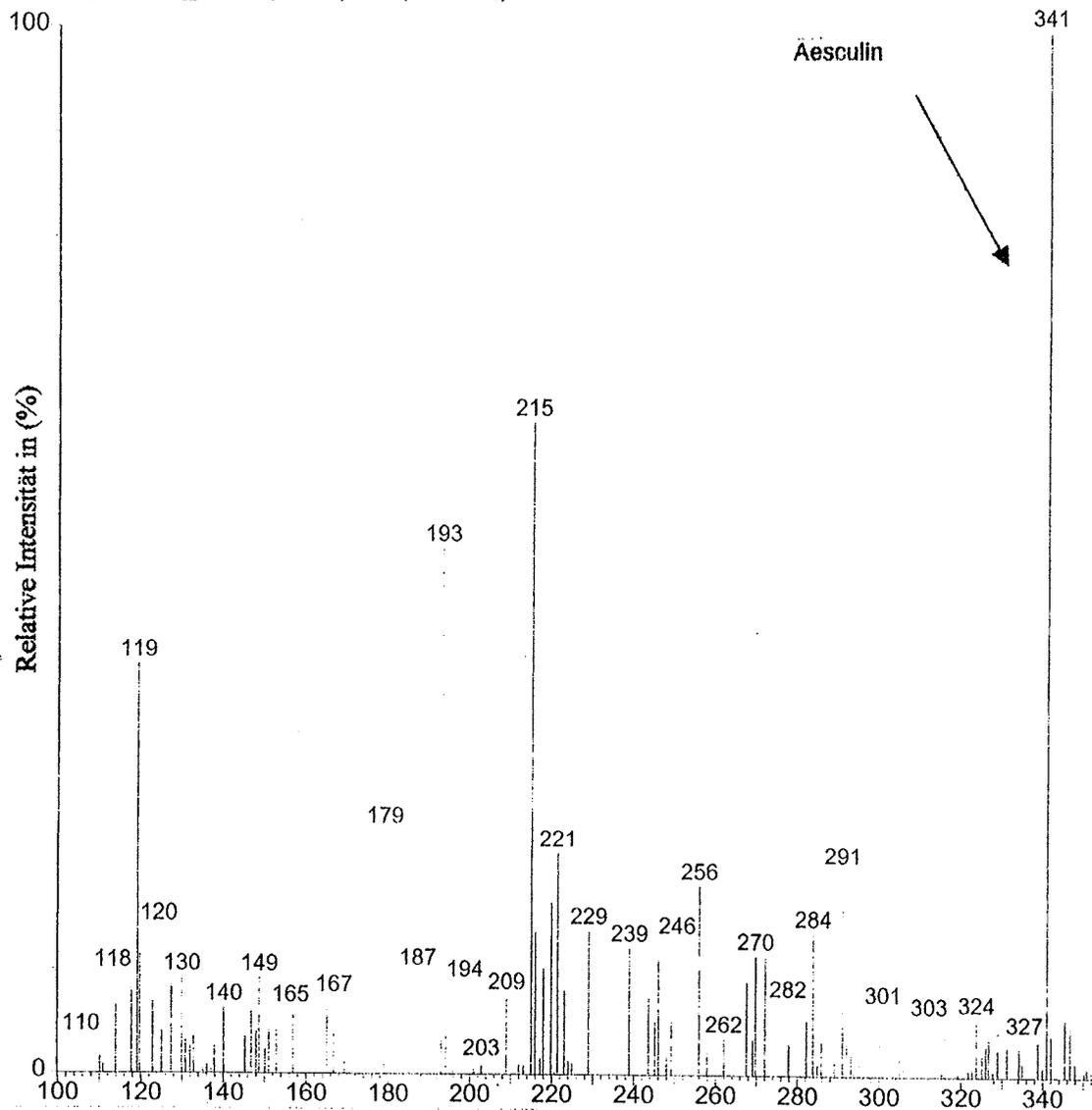
Weiterhin möchte ich mich bei Herrn H. Latta und G. Baude, Frau B. Lewerenz-Leschnitzer herzlichst für die freundliche Unterstützung bedanken.

Den Mitarbeitern und Mitarbeitererinen der katholischen Studentinnen- und Studentengemeinde St. Thomas Morus, besonders Patern A. Sebastien und M. Rosner, M. Romünder (Ausländerreferent) sei an dieser Stelle für die freundliche Unterstützung gedankt.

Ein besonders herzliches Dankeschön geht an meine Eltern, an Freunde und Verwandte, an Frau Beata Koegel die mir auch in schwierigen Zeiten Geborgenheit und Rückhalt gaben.

8. Anlagen

MISCHUNG THOME/TU
ES_LC_THOME_2 300 (5.505) Cm (300-283)

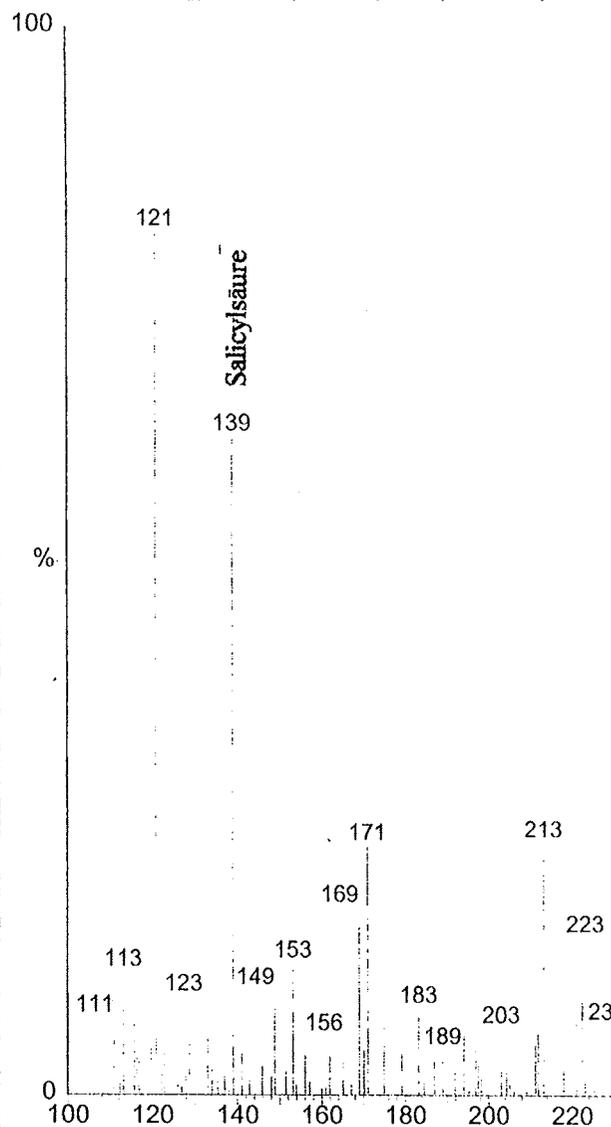


3:A,2

Aesculin



MISCHUNG THOME/TU
ES_LC_THOME_14 831 (15.249) Cm (831-807)



Salicylsäure

m/z: Quotient aus der Masse eines Ions in amu und seiner Ladung in (Thomson)

Abbildung 22: Beispiel der mittels LC-MS identifizierten silylierten Molekül-Ionen aus der Mischung 22 Vergleichssubstanzen (Aesculin und Salicylsäure)

PROBE 126 THOME/TU

ES_LC_THOME_3 184 (3.376) Cm (184-175)

1: Scan ES+
9.11e6

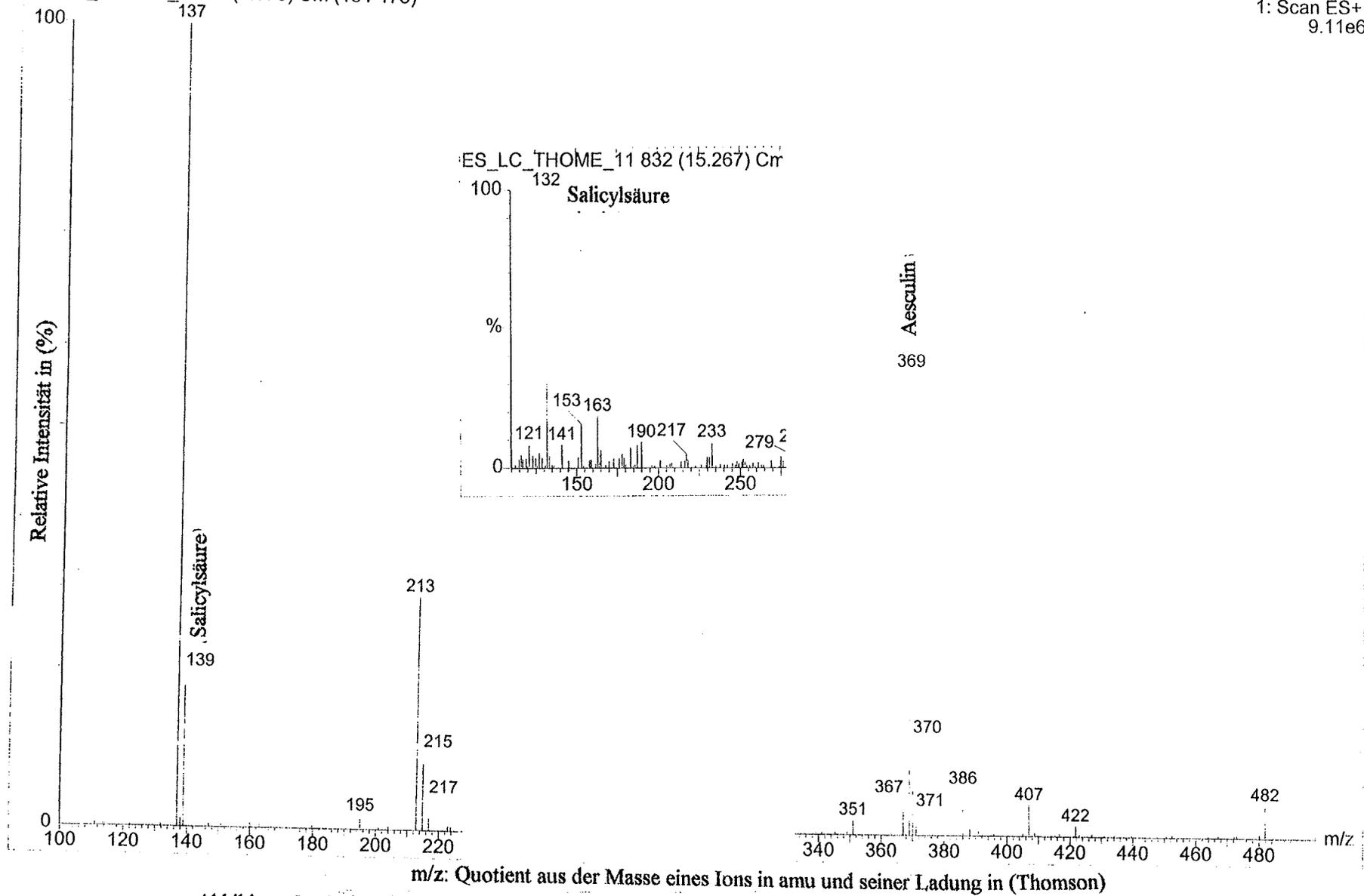


Abbildung 23: Beispiel der mittels LC-MS identifizierten Molekül-Ionen aus Topinamburextrakten (Aesculin und Salicylsäure).

gthome1b.dat (07-JAN-02 17:48:16)
 Mischung TMSI
 10m Optima-5 N56 025/0.25 40(3)-12-280-(3) 60 kPa He
 Bd Study: TSQ700
 282.97 Masses: 54.00 > 850.01
 1000.0 mmu Intensity: 550693
 54 @ 8.89 min (CI +Q3MS LMR UP LR)

SPEC: gthome1b.dat (07-JAN-02 17:48:16)
 Samp: Mischung TMSI
 Comm: 10m Optima-5 N56 025/0.25 40(3)-12-280-(3) 60 kPa He
 Oper: Bd Study: TSQ700
 Base: 370.98 Masses: 54.00 > 850.01
 Peak: 1000.0 mmu Intensity: 524238
 Scan 512 @ 10.02 min (CI +Q3MS LMR UP LR)

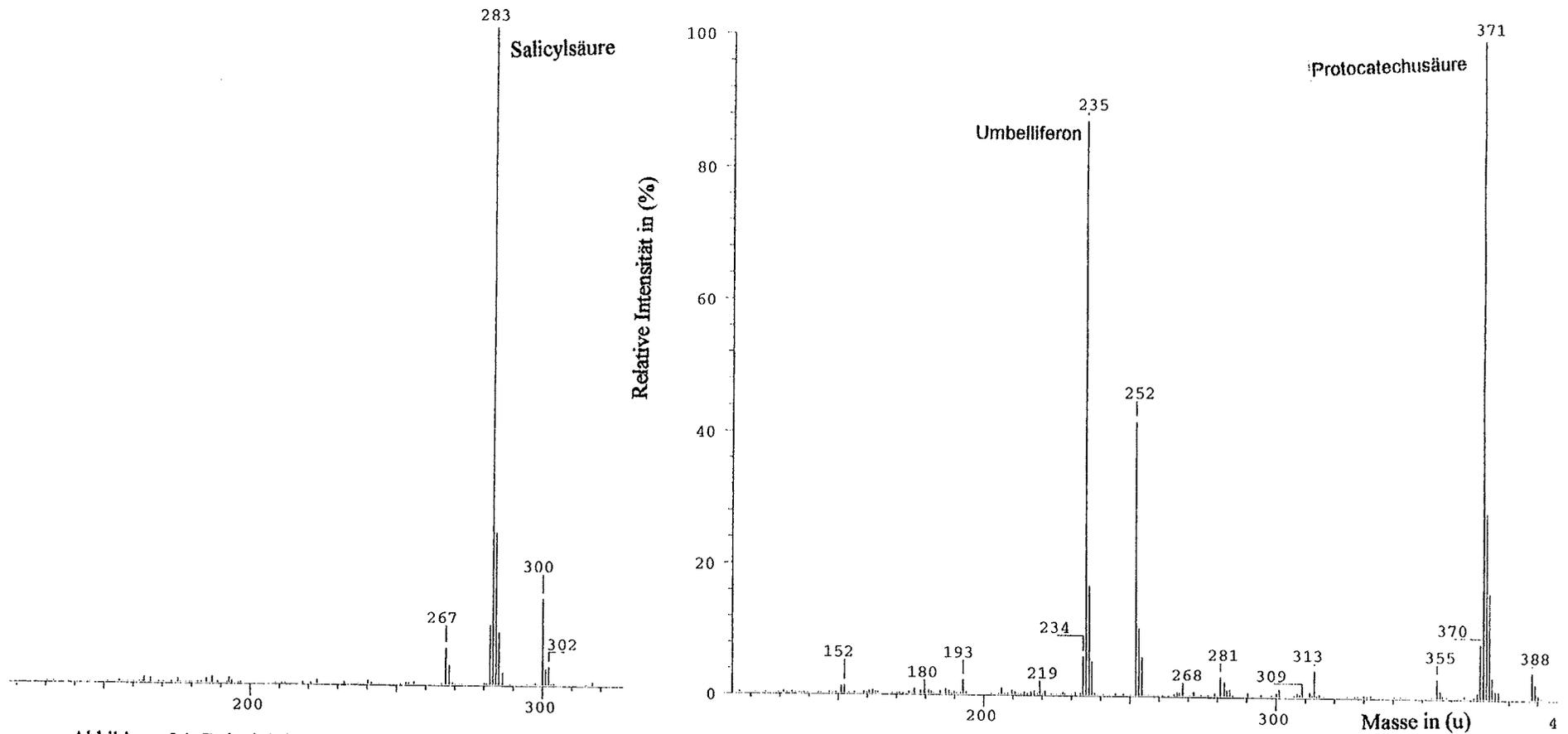
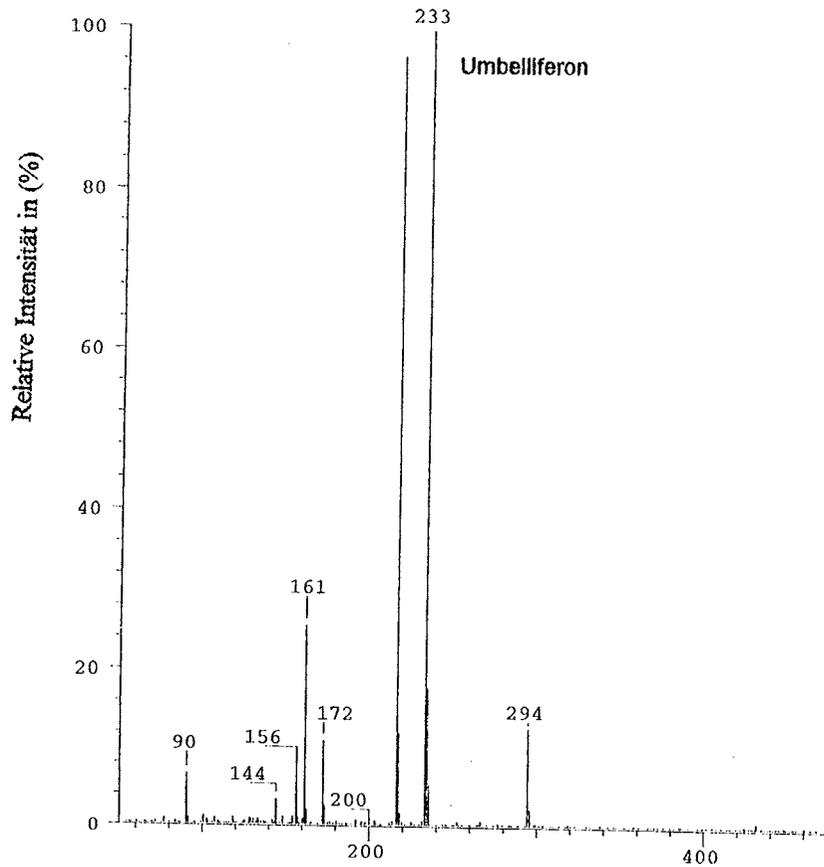


Abbildung 24: Beispiel des mittels GC-MS identifizierten silylierten Molekül-Ions aus der Mischung von 22 Vergleichssubstanzen (Salicylsäure, Umbelliferon und Protocatechusäure/Gentisinsäure)

SPEC: gtcho_04.dat (15-FEB-02 19:59:47)
Samp: Probe 95 TMSI
Comm: 30m HP-1MS 025/0.25 80(2)-20-280-13 100 kPa He
Oper: Bd Study: TSQ700
Base: 233.13 Masses: 54.00 > 850.01
Peak: 1000.0 mmu Intensity: 41894
Scan 332 @ 6.50 min (CI +Q3MS LMR UP LR)



SPEC: gtcho_02.dat (15-FEB-02 18:54:42)
Samp: Probe 88 TMSI
Comm: 30m HP-1MS 025/0.25 80(2)-20-280-13 100 kPa He
Oper: Bd Study: TSQ700
Base: 280.20 Masses: 54.00 > 599.99
Peak: 1000.0 mmu Intensity: 2482
Scan 277 @ 5.43 min (CI +Q3MS LMR UP LR)

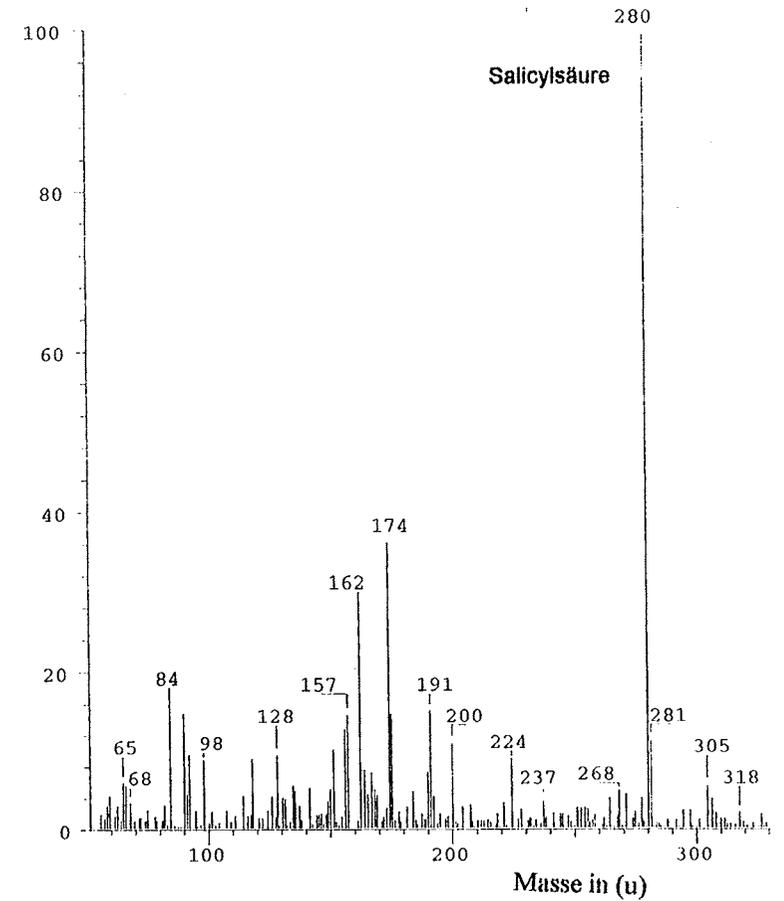
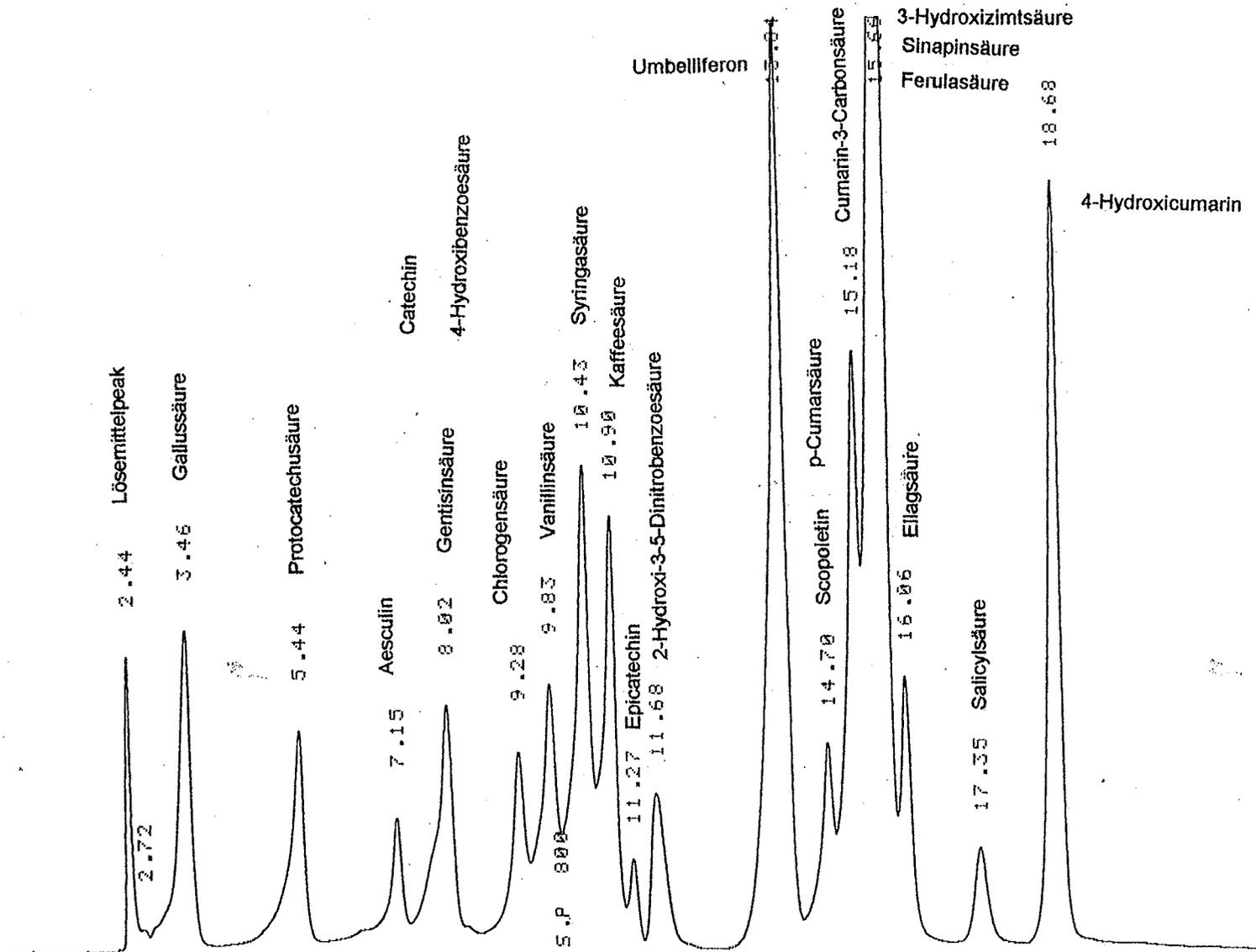
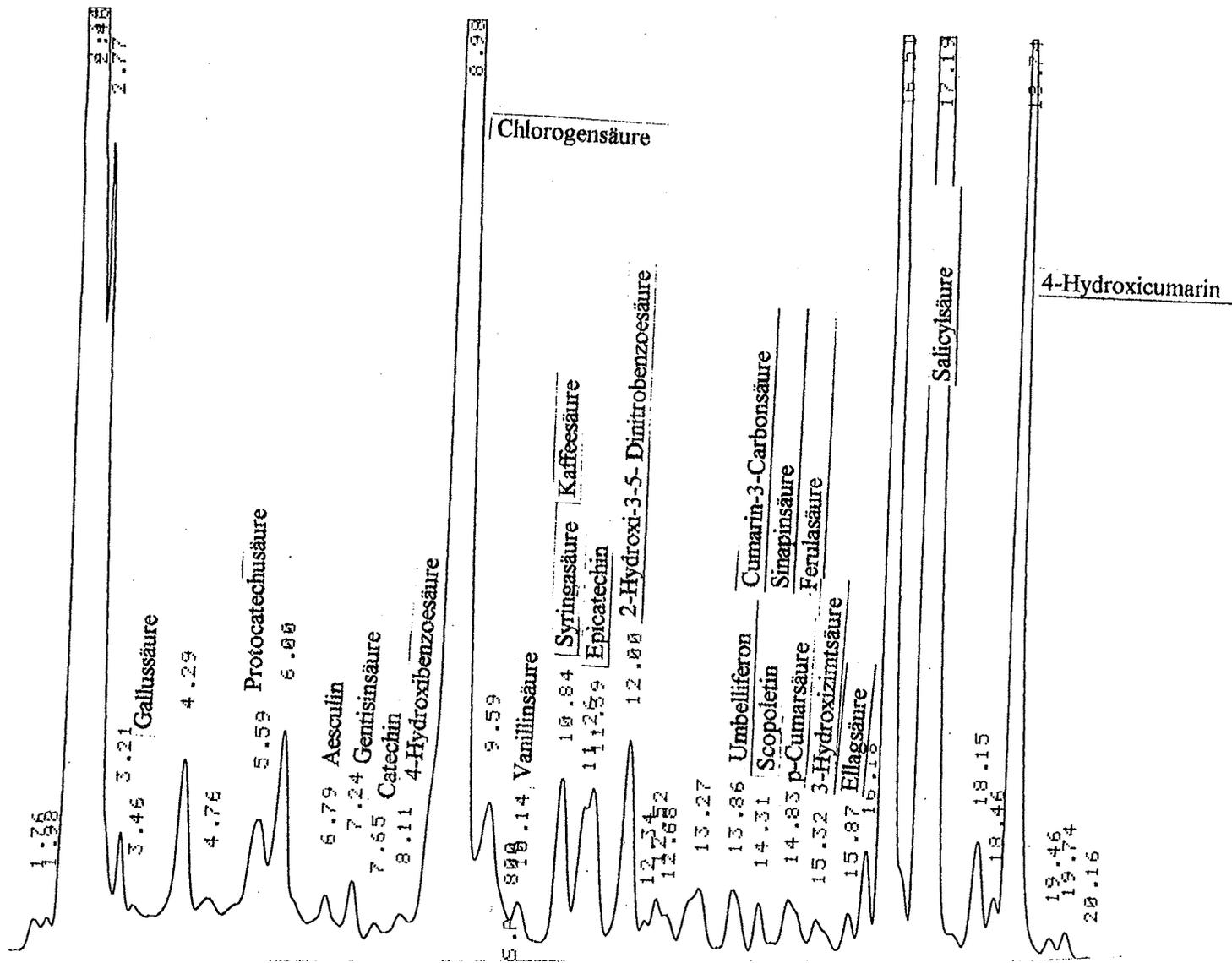


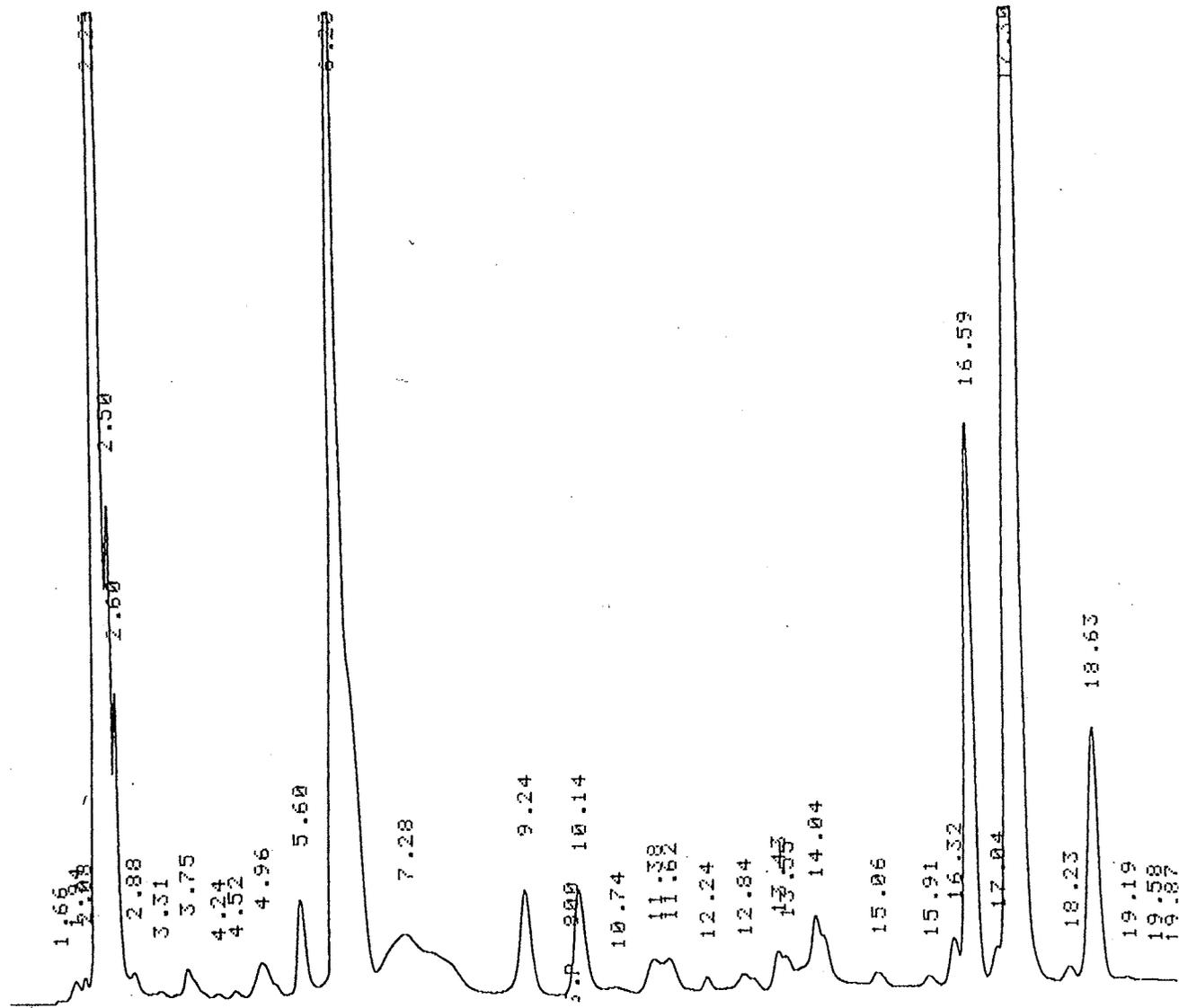
Abbildung 25: Beispiel der mittels GC-MS identifizierten Ionen aus Topinamburextrakten (Umbelliferon und Salicylsäure)



Chromatogramm 1: HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen einer Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen in Methanol bei $\lambda = 280 \text{ nm}$ mittels UV-Detektor



Chromatogramm 2: HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte RoZo (Schalen) nach Methanolextaktion bei $\lambda = 280 \text{ nm}$ mittels UV-Detektor

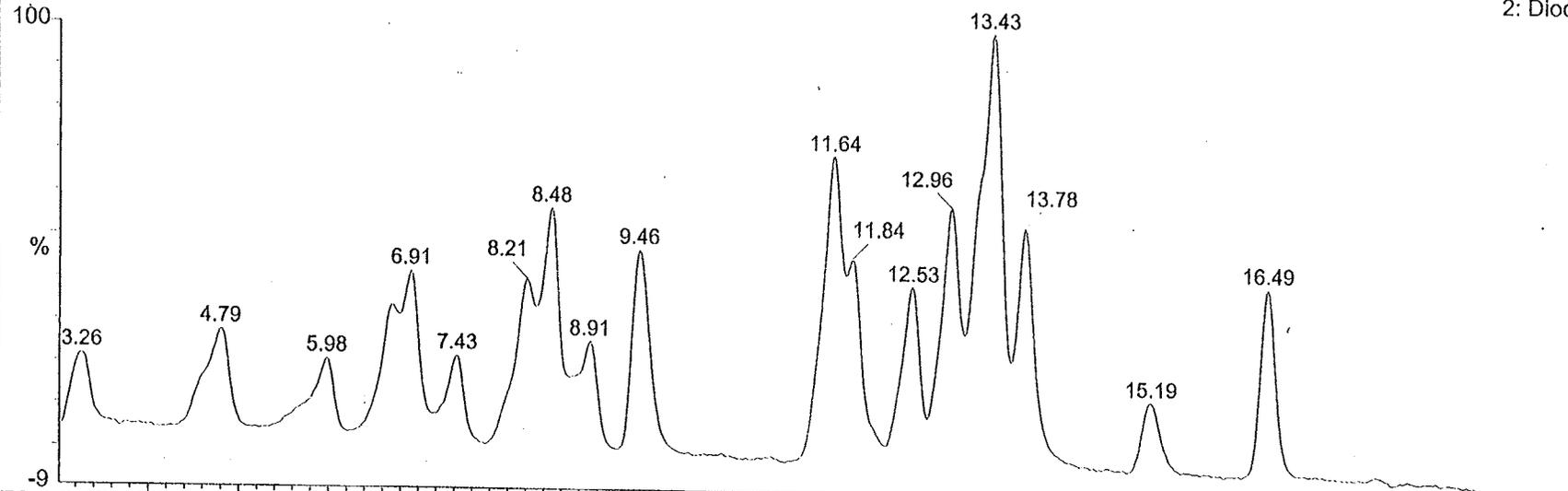


Chromatogramm 3: HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte RoZo (Schalen) nach Ethylacetat-Methanolextraktion bei $\lambda = 280 \text{ nm}$ mittels UV-Detektor

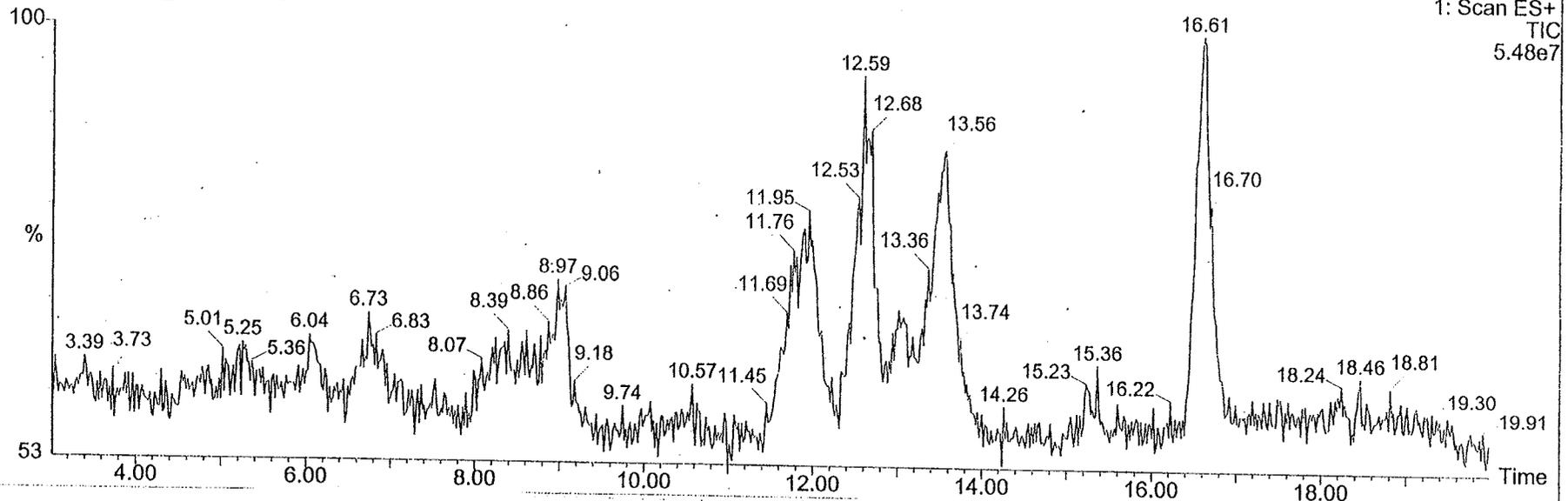
MISCHUNG AKSU/TU

PLCZ
12-Nov-2001
12:40:32
2: Diode Array
TIC
1.51e7

ES_LC_THOME_2



ES_LC_THOME_2



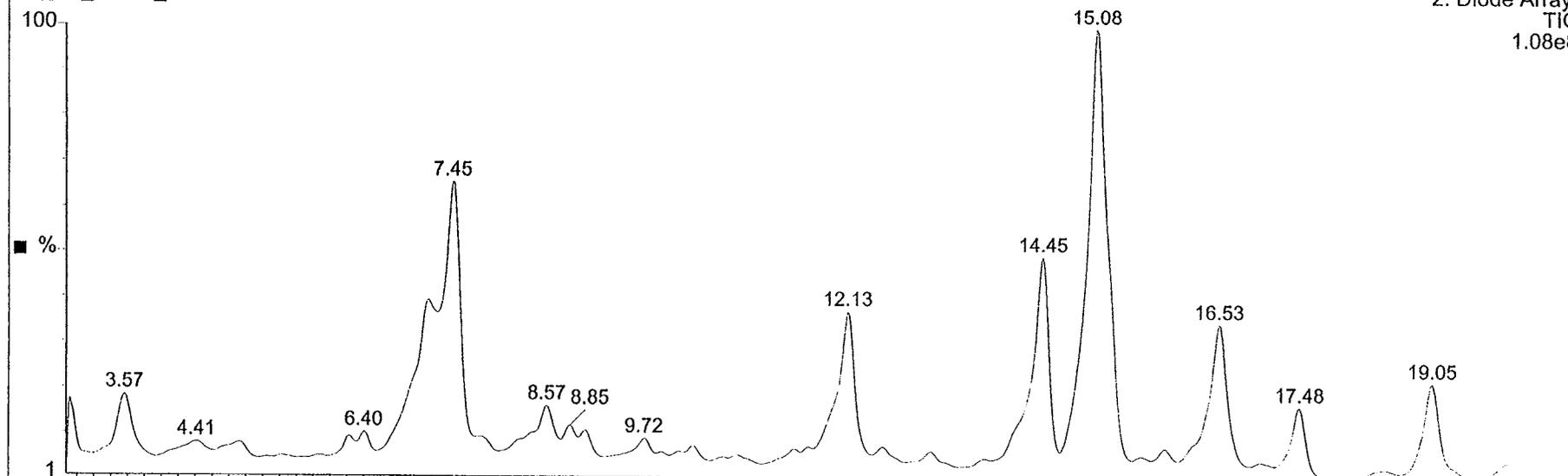
Chromatogramm 4: Trennung von einzelnen phenolischen Verbindungen anhand einer Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen in Methanol bei $\lambda = 280$ nm mittels LC-MS-Kopplung: Peaks entsprechend dem Leitchromatogramm 1 benennen

PROBE 102 AKSU/TU
ES_LC_AKSU_6

3:A,6

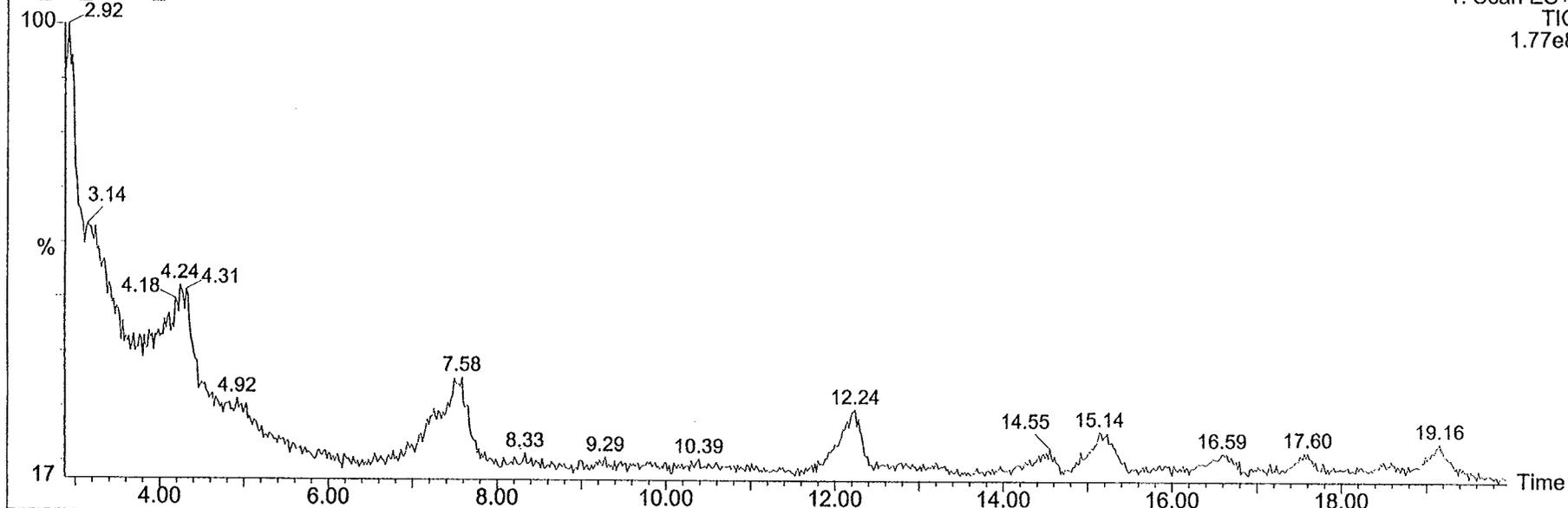
ZQ 12-Nov-2001 14:38:33

2: Diode Array
TIC
1.08e8



ES_LC_AKSU_6

1: Scan ES+
TIC
1.77e8



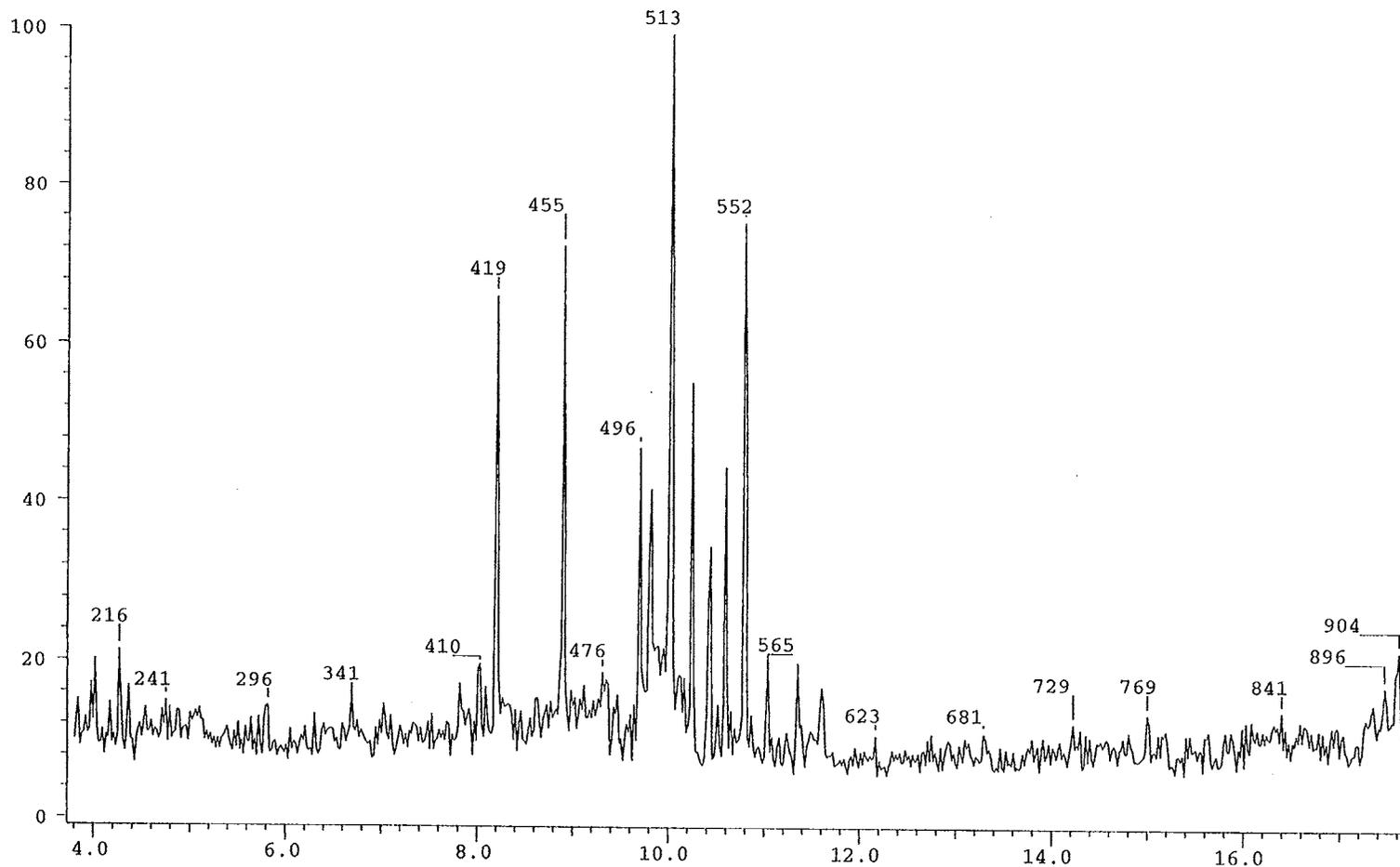
Chromatogramm 5: Trennung von einzelnen phenolischen Verbindungen der Topinambur nach Methanolextraktion bei $\lambda = 280$ nm mittels LC-MS-Kopplung

CHRO: gthomela.dat (07-JAN-02 17:18:15)
Samp: Mischung TMSI
Comm: 10m Optima-5 N56 025/0.25 40(3)-12-280-(3) 60 kPa He
Mode: EI +Q3MS LMR UP LR
Oper: Hi Study: TSQ700
Peak: 1000.0 mmu RIC: 129350

Elapse: 1 @ 0.08
Times: 0.1 > 18.0
Inlet: GC Vial: 1
Client: Thome
Masses: 35 > 850

RIC

1.3E+05



Date: Thu Feb 7 10:27:15 2002 ICIS: 8.3.0 SP2 for OSF1 (V4.0) build 98-238 from 26-Aug-98

Chromatogramm 6: Trennung von einzelnen phenolischen Verbindungen anhand einer Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen in Methanol mittels GC-MS-Kopplung (EI)

CHRO: gtcho_01.dat (15-FEB-02 18:22:12)
 Samp: Mischung TMSI alt
 Comm: 30m HP-1MS 025/0.25 80(2)-20-280-13 100 kPa He
 Mode: CI +Q3MS LMR UP LR
 Oper: Bd
 Peak: 1.0 amu

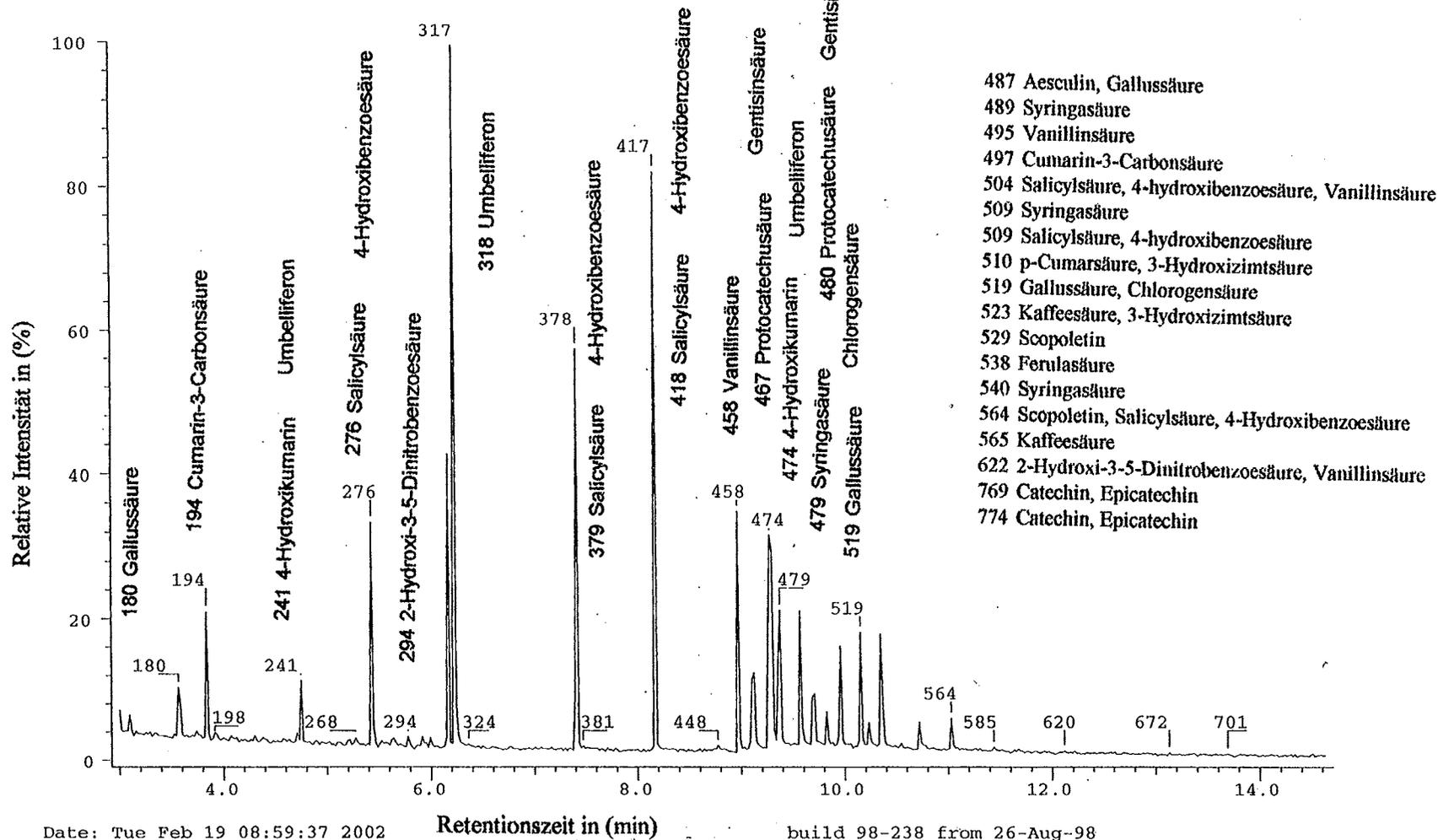
Study: TSO700
 RIC: 1646590

Elapse: 716 @ 13.98
 Times: 0.1 > 25.0

Inlet: GC Vial: 1
 Client: Juschka/Mundry
 Masses: 53 > 599

RIC

1.6E+06



Chromatogramm 7: Trennung von einzelnen phenolischen Verbindungen anhand einer Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen in Methanol mittels GC-MS-Kopplung (CI)

Tabelle 4 : Absorptionskoeffizienten der Polyphenole (Quelle: Beilstein-Datenbank)

Phenolbezeichnung	Lösungsmittel	Maxima (nm)	Absorptionskoeffizient (l*mol-1*cm-1)
Epicatechin	Äthanol	282	1995
		231	11910
		279	3830
		281	
		280	
Epicatechin	Methanol	280.5	2630
		276	
Ferulasäure	Äthanol-Wasser	286	16300
		310	17100
		320	
	Äthanol	330; 320; 236	
		320	17783
		321	18653
		235	3769
		217; 233; 320	
		323	
		235; 320	
		218 322	
233.5; 296; 323			
Methanol	235; 324		

Tabelle 4 : Absorptionskoeffizienten der Polyphenole (Quelle: Beilstein-Datenbank)

Phenolbezeichnung	Lösungsmittel	Maxima (nm)	Absorptionskoeffizient (l*mol-1*cm-1)
Gallussäure	Äthanol	216; 273	
		208; 274	
		208; 274	
		218; 275	
	Methanol	272	
		217; 272	
		240	
		272; 220	
	Wasser	257	7780
		219	13500
269		9370	
219		13300	
Kaempferol	Acetonitril	265; 366	
	Methanol	370	
		266; 367	
		278; 316; 416	
		268; 368	
		266; 365	
		267; 322; 370	
268; 320; 370			

Tabelle 4 : Absorptionskoeffizienten der Polyphenole (Quelle: Beilstein-Datenbank)

Phenolbezeichnung	Lösungsmittel	Maxima (nm)	Absorptionskoeffizient (l*mol-1*cm-1)
Kaempferol	Methanol	274; 310; 383	
		278 318 414	
	Äthanol	269; 305; 352; 425	
		275; 305; 360	
		255; 270; 310; 350	
		265; 370	
HCl	266	9772	
	370	14454	
	269; 348; 421		
	270; 305; 349; 424		
p-Cumarsäure	Äthanol	310	
		228; 310	
		290	
	Methanol	230	10233
		312	18197
		226; 310	
		336	

Tabelle 4 : Absorptionskoeffizienten der Polyphenole (Quelle: Beilstein-Datenbank)

Phenolbezeichnung	Lösungsmittel	Maxima (nm)	Absorptionskoeffizient (l*mol-1*cm-1)
p-Cumarsäure	Methanol	227; 312	
		226	10471
		288	19055
Chlorogensäure	Äthanol	245	7586
		301	9772
		328	3183
Chlorogensäure	Äthanol	240; 300; 329	
		242; 298; 325	
		243; 330	
		325; 240	
Chlorogensäure	Methanol	328	
		240; 325	
		261; 377	
		261; 377	
Kaffeesäure	Äthanol	216	10965
		242	8318
		326	2882
		240; 300; 325	
		235; 299; 325	

Tabelle 4 : Absorptionskoeffizienten der Polyphenole (Quelle: Beilstein-Datenbank)

Phenolbezeichnung	Lösungsmittel	Maxima (nm)	Absorptionskoeffizient (l*mol-1*cm-1)
Kaffeesäure	Methanol	240; 300; 325	
		250; 358	
		281; 312	
		299; 326	
		315; 363	
		214; 286; 315	
Vanillinsäure	Äthanol	230; 310	
		261; 292	
		211	15136
		220	16218
		260	11749
Vanillinsäure	Äthanol	290	5888
Vanillinsäure	Methanol	262	11749
		293	5888
	Wasser	240; 340	
Catechin	Äthanol	280	
	Wasser	278	4500
		260	
		340	

Tabelle 4 : Absorptionskoeffizienten der Polyphenole (Quelle: Beilstein-Datenbank)

Phenolbezeichnung	Lösungsmittel	Maxima (nm)	Absorptionskoeffizient (l*mol-1*cm-1)
Cyanidin Cyanidin	Methanol	310	1479
	Methanol	400	575
		565	5754
Quercetin	Äthanol	375	
	Acetonitril	255; 372	
	Wasser	256	28300
		374	28400
		402	
	377		
Quercetin	Wasser	368	
	Methanol	372	14500
		256; 269; 270; 324; 305	
Rutin	Äthanol	264; 272; 273; 274; 358	
		378; 390; 410; 412	
	Methanol	257	15488
		358	11749
	256; 260; 268; 271; 272		
	277; 323; 327; 360; 439		

Tabelle 22 a: Gesamtphenolgehalte der Modelllösung, gefärbt nach Folin-Ciocalteu bei $\lambda = 720 \text{ nm}$,
 $s = 1 \text{ cm}$,
in Abhängigkeit der Konzentration und von den Bezugsstoffen

Soll-Werte	440 mg/l					880 mg/l				
Messungsnummer	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
1	332,26	515,57	346,90	524,63	939,50	627,34	1021,43	701,00	967,25	1824,75
2	331,05	513,50	345,45	522,81	935,88	649,26	1059,00	727,30	1000,13	1890,50
3	329,05	510,07	343,05	519,81	929,88	644,09	1050,14	721,10	992,38	1875,00
4	333,13	517,07	347,95	525,94	942,13	647,93	1056,71	725,70	998,13	1886,50
5	336,63	523,07	352,15	531,19	952,63	638,05	1039,79	713,85	983,31	1856,88
6	328,97	509,93	342,95	519,69	929,63	636,63	1037,36	712,15	981,19	1852,63
7	328,55	509,21	342,45	519,06	928,38	635,43	1035,29	710,70	979,38	1849,00
8	337,84	525,14	353,60	533,00	956,25	634,97	1034,50	710,15	978,69	1847,63
9	327,68	507,71	341,40	517,75	925,75	633,55	1032,07	708,45	976,56	1843,38
10	350,05	546,07	368,25	551,31	992,88	633,38	1031,79	708,25	976,31	1842,88
11	338,97	527,07	354,95	534,69	959,63	672,97	1099,64	755,75	1035,69	1961,63
12	376,97	592,21	400,55	591,69	1073,63	669,68	1094,00	751,80	1030,75	1951,75
13	346,59	540,14	364,10	546,13	982,50	675,76	1104,43	759,10	1039,88	1970,00
14	347,88	542,36	365,65	548,06	986,38	681,34	1114,00	765,80	1048,25	1986,75
15	349,76	545,57	367,90	550,88	992,00	663,55	1083,50	744,45	1021,56	1933,38
16	343,34	534,57	360,20	541,25	972,75	688,18	1125,71	774,00	1058,50	2007,25
MW	339,92	528,71	356,09	536,12	962,48	652,01	1063,71	730,60	1004,25	1898,74
STABW	12,67	21,72	15,21	19,01	38,01	19,99	34,28	23,99	29,99	59,98
VK %	3,73	4,11	4,27	3,55	3,95	3,07	3,22	3,28	2,99	3,16

- A = Gesamtphenol berechnet als Gallussäure in (mg/ l)
- B = Gesamtphenol berechnet als Chlorogensäure in (mg/ l)
- C = Gesamtphenol berechnet als Catechin in (mg/ l)
- D = Gesamtphenol berechnet als Gentisinsäure in (mg/ l)
- E = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure in (mg/ l)

Tabelle 22 b: Gesamtphenolgehalt der Modelllösung, gefärbt nach Folin-Ciocalteu bei $\lambda = 760 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$,
in Abhängigkeit der Konzentration und von den Bezugsubstanzen

Soll-Werte	440 mg/l					880 mg/l				
Messungsnummer	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
1	296,35	544,79	361,15	487,06	728,92	582,00	1075,29	732,50	899,67	1347,83
2	295,04	542,36	359,45	485,17	726,08	601,31	1111,14	757,60	927,56	1389,67
3	293,00	538,57	356,80	482,22	721,67	596,69	1102,57	751,60	920,89	1379,67
4	296,38	544,86	361,20	487,11	729,00	600,23	1109,14	756,20	926,00	1387,33
5	299,96	551,50	365,85	492,28	736,75	592,23	1094,29	745,80	914,44	1370,00
6	292,88	538,36	356,65	482,06	721,42	589,50	1089,21	742,25	910,50	1364,08
7	292,50	537,64	356,15	481,50	720,58	588,42	1087,21	740,85	908,94	1361,75
8	302,92	557,00	369,70	496,56	743,17	584,35	1079,64	735,55	903,06	1352,92
9	291,38	535,57	354,70	479,89	718,17	589,50	1089,21	742,25	910,50	1364,08
10	312,96	575,64	382,75	511,06	764,92	588,35	1087,07	740,75	908,83	1361,58
11	299,27	550,21	364,95	491,28	735,25	620,81	1147,36	782,95	955,72	1431,92
12	295,62	543,43	360,20	486,00	727,33	617,69	1141,57	778,90	951,22	1425,17
13	306,69	564,00	374,60	502,00	751,33	623,69	1152,71	786,70	959,89	1438,17
14	308,62	567,57	377,10	504,78	755,50	628,92	1162,43	793,50	967,44	1449,50
15	310,15	570,43	379,10	507,00	758,83	610,88	1128,93	770,05	941,39	1410,42
16	303,62	558,29	370,60	497,56	744,67	637,31	1178,00	804,40	979,56	1467,67
MW	299,83	551,26	365,68	492,09	736,47	603,24	1114,74	760,12	930,35	1393,86
STABW	6,89	12,80	8,96	9,95	14,93	17,55	32,59	22,81	25,35	38,02
VK %	2,30	2,32	2,45	2,02	2,03	2,91	2,92	3,00	2,72	2,73

- A = Gesamtphenol berechnet als Gallussäure in (mg/ l)
- B = Gesamtphenol berechnet als Chlorogensäure in (mg/ l)
- C = Gesamtphenol berechnet als Catechin in (mg/ l)
- D = Gesamtphenol berechnet als Gentisinsäure in (mg/ l)
- E = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure in (mg/ l)

Tabelle 36 a : Linearität der Extinktionen unterschiedlicher phenolische Verbindungen bei $\lambda = 720 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$, in Abhängigkeit der Konzentration

Konzentration in mg/l	100	200	300	400	500	600	800	900	1000	1200	1500	Gleichungen
Sinapinsäure	0,151	0,260	0,377	0,507	0,655	0,805	0,889	0,974	1,090	1,237	1,540	$y = 0,1287x - 0,0008$ $B = 98,51 \%$; $r = 0,9992$ ***
Epicatechin	0,148	0,277	0,390	0,464	0,553	0,677	0,890	0,975	1,100	1,266	1,599	$y = 0,001x + 0,062$ $B = 99,89 \%$; $r = 0,9994$ ***
Ellagsäure	0,145	0,298	0,426	0,545	0,638	0,747	0,886	0,988	1,051	1,211	1,622	$y = 0,001x + 0,113$ $B = 98,97 \%$; $r = 0,9948$ ***
Gallussäure	0,140	0,274	0,392	0,536	0,640	0,771	1,027	1,112	1,249	1,527	1,875	$y = 0,0012x + 0,0249$ $B = 99,94 \%$; $r = 0,9997$ ***
Kaffeensäure	0,133	0,258	0,378	0,517	0,625	0,748	0,958	1,084	1,212	1,408	1,763	$y = 0,0012x + 0,037$ $B = 99,92 \%$; $r = 0,9996$ ***
Catechin	0,129	0,228	0,330	0,460	0,547	0,636	0,836	0,917	1,003	1,190	1,472	$y = 0,001x + 0,0543$ $B = 99,87 \%$; $r = 0,9993$ ***
Ferulasäure	0,122	0,201	0,292	0,379	0,477	0,559	0,705	0,790	0,869	1,006	1,291	$y = 0,0008x + 0,0482$ $B = 99,87 \%$; $r = 0,9993$ ***
Vanillinsäure	0,120	0,229	0,331	0,422	0,509	0,600	0,788	0,889	0,967	1,111	1,311	$y = 0,0009x + 0,0713$ $B = 99,43 \%$; $r = 0,9971$ ***
Scopoletin	0,097	0,177		0,347		0,492	0,642		0,810			$y = 0,0008x + 0,022$ $B = 99,94 \%$; $r = 0,9987$ ***
p-Cumarsäure	0,095	0,175	0,248	0,336	0,405	0,467	0,630	0,696	0,778	0,876	1,089	$y = 0,0007x + 0,0413$ $B = 99,74 \%$; $r = 0,9987$ ***
Protocatechusäure	0,092	0,198	0,321	0,394	0,486	0,551	0,822	0,908	0,978	1,182	1,508	$y = 0,001x - 0,0055$ $B = 99,78 \%$; $r = 0,9989$ ***
Chlorogensäure	0,088	0,159	0,244	0,322	0,396	0,485	0,619	0,689	0,769	0,926	1,104	$y = 0,0007x + 0,0249$ $B = 99,84 \%$; $r = 0,9992$ ***
Gentisinsäure	0,068	0,145	0,223	0,316	0,387	0,468	0,648	0,707	0,789	0,953	1,221	$y = 0,0008x - 0,0185$ $B = 99,94 \%$; $r = 0,9997$ ***
Umbelliferon	0,067	0,119	0,144	0,191	0,222	0,243	0,300	0,323	0,348	0,407	0,448	$y = 0,0003x + 0,0697$ $B = 98,11 \%$; $r = 0,99$ ***
3-Hydroxizimtsäure	0,059	0,134	0,187	0,253	0,306	0,362	0,393	0,476	0,577	0,651	0,854	$y = 0,0005x + 0,0191$ $B = 98,82 \%$; $r = 0,9941$ ***
4-Hydroxibenzoessäure	0,057	0,157	0,221	0,311	0,350	0,421	0,547	0,581	0,630	0,742	0,925	$y = 0,0006x + 0,0426$ $B = 99,32 \%$; $r = 0,9966$ ***
Salicylsäure	0,055	0,105	0,152	0,213	0,229	0,256	0,361	0,386	0,441	0,495	0,647	$y = 0,0004x + 0,0254$ $B = 99,5 \%$; $r = 0,9975$ ***
Syringasäure	0,036	0,071	0,123	0,159	0,192	0,223	0,319	0,355	0,342	0,406	0,506	$y = 0,0003x + 0,0201$ $B = 98,46 \%$; $r = 0,9923$ ***
Aesculin	0,035	0,075	0,114	0,151	0,200	0,238	0,324	0,376	0,404	0,471	0,579	$y = 0,0004x - 0,0008$ $B = 99,71 \%$; $r = 0,9985$ ***

Tabelle 36 b : Linearität der Extinktionen unterschiedlicher phenolische Verbindungen bei $\lambda = 760 \text{ nm}$, $s = 1 \text{ cm}$, in Abhängigkeit der Konzentration

Konzentration in mg/l	100	200	300	400	500	600	800	900	1000	1200	1500	2000	Gleichungen
Sinapinsäure	0,162	0,276	0,395	0,526	0,685	0,848	1,123	1,285	1,452	1,728	2,122		$y = 0,0014x - 0,0175$ $B = 99,88 \%$; $r = 0,9994$ ***
Epicatechin	0,158	0,292	0,406	0,490	0,575	0,697	0,904	0,986	1,108	1,267	1,587		$y = 0,1316x - 0,0194$ $B = 97,61 \%$; $r = 0,9880$ ***
Ellagsäure	0,159	0,321	0,453	0,576	0,670	0,778	0,916	1,011	1,075	1,226	1,617		$y = 0,1263x + 0,0425$ $B = 96,87 \%$; $r = 0,9842$ ***
Gallussäure	0,156	0,302	0,437	0,585	0,695	0,833	1,099	1,188	1,327	1,606	1,960		$y = 0,0013x + 0,0516$ $B = 99,92 \%$; $r = 0,9996$ ***
Kaffeensäure	0,146	0,279	0,405	0,549	0,662	0,788	0,989	1,141	1,250	1,438	1,787		$y = 0,1535x - 0,0636$ $B = 98,33 \%$; $r = 0,9916$ ***
Catechin	0,139	0,244	0,350	0,479	0,571	0,661	0,880	0,940	1,024	1,204	1,477		$y = 0,001x + 0,0757$ $B = 99,69 \%$; $r = 0,9984$ ***
Ferulasäure	0,136	0,225	0,323	0,417	0,522	0,607	0,759	0,846	0,927	1,067	1,359		$y = 0,1127x - 0,0225$ $B = 97,76 \%$; $r = 0,9887$ ***
Vanillinsäure	0,133	0,251	0,360	0,454	0,548	0,641	0,835	0,938	1,018	1,158	1,360		$y = 0,1181x - 0,0089$ $B = 99,18 \%$; $r = 0,9959$ ***
Scopoletin	0,106	0,190		0,364		0,510	0,659		0,825				$y = 0,0008x + 0,0335$ $B = 99,92 \%$; $r = 0,9996$ ***
p-Cumarsäure	0,108	0,197	0,277	0,373	0,446	0,513	0,686	0,756	0,843	0,943	1,166		$y = 0,0008x + 0,0574$ $B = 99,64 \%$; $r = 0,9982$ ***
Protocatechusäure	0,106	0,223	0,356	0,434	0,532	0,602	0,886	0,976	1,047	1,257	1,587		$y = 0,001x + 0,0139$ $B = 99,79 \%$; $r = 0,9989$ ***
Chlorogensäure	0,098	0,175	0,267	0,352	0,430	0,526	0,666	0,738	0,822	0,985	1,168	1,490	$y = 0,0007x + 0,0555$ $B = 99,6 \%$; $r = 0,9980$ ***
Gentisinsäure	0,083	0,169	0,254	0,355	0,432	0,519	0,709	0,771	0,857	1,028	1,306		$y = 0,0009x - 0,0015$ $B = 99,95 \%$; $r = 0,9997$ ***
Umbelliferon	0,073	0,128	0,155	0,205	0,236	0,258	0,317	0,341	0,367	0,426	0,463		$y = 0,0003x + 0,0788$ $B = 97,63 \%$; $r = 0,9881$ ***
3-Hydroxizimtsäure	0,067	0,153	0,212	0,285	0,342	0,403	0,436	0,525	0,632	0,712	0,927		$y = 0,0006x + 0,0302$ $B = 98,85 \%$; $r = 0,9942$ ***
4-Hydroxibenzoessäure	0,084	0,178	0,251	0,349	0,391	0,468	0,603	0,639	0,691	0,809	1,004		$y = 0,0006x + 0,0629$ $B = 99,34 \%$; $r = 0,9967$ ***
Salicylsäure	0,058	0,111	0,159	0,224	0,282	0,340	0,451	0,508	0,566	0,677	0,836		$y = 0,0006x - 0,0005$ $B = 99,97 \%$; $r = 0,9998$ ***
Syringasäure	0,043	0,083	0,140	0,185	0,215	0,250	0,355	0,397	0,440	0,482	0,559		$y = 0,0004x + 0,0236$ $B = 98,36 \%$; $r = 0,9918$ ***
Aesculin	0,040	0,086	0,130	0,171	0,225	0,267	0,360	0,437	0,446	0,516	0,632		$y = 0,0004x + 0,0053$ $B = 99,26 \%$; $r = 0,9963$ ***

Tabelle 45:

Überprüfung der Linearität der in Pflanzmaterial gefundene phenolischen Substanzen bestimmt bei einer Absorption von $\lambda = 280$ nm mit UV-Detektor im Vergleich von 1 bis 400 mg PP/l in Methanol bei der HPLC-Trennung an R18-Hypersilsäule und 1 ml/min Fließrate. Auswertung in Flächeintegral [-]

Konzentration in mg/l	1	5	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	200	300	400	Gleichungen
3-Hydroxyzimtsäure	31734	158669	317338	634675,5		1221923		1842849		2514321		2872910				$y = 29614x + 29551$ $B = 99,65 \%, r = 0,9982$ ***
p-Cumarsäure	23269	116343,5	232687	469779,5	707694,5	943222	1209815	1413082	1730425,5	1979963,5	2187368	2388263				$y = 24350x - 11406$ $B = 99,91 \%, r = 0,9995$ ***
4-Hydroxykumarin	22248	111241	222482,5	444965		868739		1148769,5		1582903,5		1839501	3679002			$y = 18223x + 57403$ $B = 99,83 \%, r = 0,9991$ ***
Kaffeensäure	14171	70855,5	141711	296461,5	442485	599499,5	753681	933541,5	1071044,5	1206061,5	1338566,5	1511470,5	3022941			$y = 15139x - 3279,9$ $B = 99,98 \%, r = 0,9999$ ***
Cumarin-3-Carbonsäure	13750	68751	137502,5	275005		568246,5		966476		1124067		1374559				$y = 14150x + 7121,2$ $B = 99,22 \%, r = 0,9961$ ***
Ferulasäure	15372	76859	153718,5	260392	398865	448319,5	537164,5	682564,5	923687,5	1064450,5	1175165	1296611				$y = 12866x - 10010$ $B = 98,8 \%, r = 0,9940$ ***
Syringasäure	12537	62686	125372	250744		514264,5		807122,5		1023488		1400084				$y = 13659x - 14988$ $B = 99,67 \%, r = 0,9983$ ***
Gallussäure	10260	51301,5	101361	205346	282128,5	371078	468727	622335,5	734599,5	762584,5	762584,5	904277	967671,5			$y = 9816,2x + 90,718$ $B = 99,53 \%, r = 0,9976$ ***
Vanillinsäure	8129	40645,5	81291	160258	243130,5	329191	416065	496293,5	603890	712392	782500	842873				$y = 8673,1x - 8799$ $B = 99,82 \%, r = 0,9991$ ***
Protocatechusäure	6411	32053	71894	143028		288061		434527,5		598217		741623	1483246			$y = 7442,6x - 4589,9$ $B = 99,99 \%, r = 0,9999$ ***
Chlorogensäure		36166	72331,5	136780,5	190574	230931	357153	464359,5	511625,5	583791,5	645225	765375,5	1356124	2048734	2921515,5	$y = 7674,1x - 50818$ $B = 99,9 \%, r = 0,9995$ ***
Umbelliferon	6738	33689	67378	134756,5		294856		452304		595561		755133	1510266			$y = 7587,6x - 7168,7$ $B = 99,99 \%, r = 0,9999$ ***
Sinapsinsäure	6326,7	31633,5	63267	126534		298477		400980,5		502669,5		619242,5				$y = 6275,7x + 8251$ $B = 99,38 \%, r = 0,9969$ ***
4-Hydroxybenzoesäure	6367	31835	63670	124462,5	195899	254704	323922	400530	452448,5	513900	585242	650209,5				$y = 6511,2x - 1418,2$ $B = 99,96 \%, r = 0,9998$ ***
Ellagsäure	5801	29007	58014,5	116029		230573		355696,5		484524		653087				$y = 6360,8x - 9661,8$ $B = 99,61 \%, r = 0,998$ ***
Scopoletin	4829	24147	48295	96589,5		198864,5		284237		387353,5		486792	973584			$y = 4865,4x - 652,7$ $B = 99,99 \%, r = 0,9999$ ***
2-Hydroxy-3-5-Dinitrobenzoesäure	4378	21889,5	43779	87558		172992,5		264356,5		384169,5		450427	900854			$y = 4530,2x - 796,5$ $B = 99,9 \%, r = 0,9995$ ***
Aesculin	3819	19096	38191,5	76383		169499		271059,5		355111,5		423110	846220			$y = 4263,4x + 284,9$ $B = 99,9 \%, r = 0,9995$ ***
Epicatechin	3090	15450	30900	63223,5	85930	114445	138356,5	173569	213486,5	244365	270918,5	313921	627842	941763	1255684	$y = 3155,4x - 6839,2$ $B = 99,97 \%, r = 0,9998$ ***
Catechin	2236	11182	22364	58286	74343	117133	155712	171759	181792,5	225368	225368	247441	278085			$y = 2800x - 748,67$ $B = 99,4 \%, r = 0,9970$ ***
Salicylsäure		13754	27508	55016		106984		179457		230111		285271	564591	855059,5	1076155,5	$y = 2852,4x - 6609,9$ $B = 99,99 \%, r = 0,9999$ ***
Gentisinsäure			4162	8322,5		19104,5		29097,5		38462,5		48050	95196		192200	$y = 478,02x - 7,9802$ $B = 99,99 \%, r = 0,9999$ ***

Tabelle 51: Mittels der Kopplung GC-MS identifizierte phenolische Verbindungen der Mischung aus 22 Vergleichssubstanzen

Verbindung	Anzahl der OH-Gruppe	I	II	III	IV	V	Bemerkungen
		Masse der OH-Gruppe (silyliert)	Molmasse in g / mol	Molmasse Silyliert	Molmasse Silyliert ohne COOH	Masse (Molekülion) (u)	
Scopoletin	1	72	192,17	264,17		265	M+1
Scopoletin						265	M+1
Umbelliferon	1	72	162,15	234,15		235	M+1
Umbelliferon						235	M+1
Umbelliferon						235	M+1
Cumarin-3-.Carbonsäure	1	72	190,16	262,16	190,16	229	M-15-18
Cumarin-3-.Carbonsäure	1	72	190,16	262,16		263	M+1
4-Hydroxikumarin	1	72	162,15	234,15		252	M-18
4-Hydroxikumarin						252	M-18
4-Hydroxikumarin						235	M+1
4-Hydroxikumarin						218	M-18
Salicylsäure	2	144	138,12	282,12	210,12	282	
Salicylsäure						282	
4-Hydroxibenzoessäure	2	144	138,12	282,12	210,12	283	M+1
4-Hydroxibenzoessäure						280	M+1
4-Hydroxibenzoessäure						283	M+1
4-Hydroxibenzoessäure						283	M+1
4-Hydroxibenzoessäure						283	M+1
2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoessäure	2	144	228,12	372,12	300,12	376	M+4
Ferulasäure	2	144	194,19	338,19	266,19	339	M+1
Ferulasäure						339	M+1
Ferulasäure						339	M+1
Syringasäure	2	144	198,18	342,18	270,18	328	M-15
Syringasäure						358	M+15
Syringasäure						328	M-15
Syringasäure						343	M+1
Syringasäure						343	M+1
p-Cumarsäure	2	144	164,16	308,16	236,16	309	M+1
p-Cumarsäure						309	M+1
p-Cumarsäure						309	M+1
3-Hydroxizimtsäure	2	144	164,16	308,16	236,16	309	M+1
3-Hydroxizimtsäure						309	M+1
3-Hydroxizimtsäure						309	M+1
Vanillinsäure	2	144	168,15	312,15	240,15	313	M+1
Vanillinsäure						313	M+1
Vanillinsäure						313	M+1
Vanillinsäure						313	M+1
Kaffeensäure	3	216	180,16	396,16	324,16	397	M+1
Kaffeensäure						397	M+1
Kaffeensäure						397	M+1
Gentisinsäure	3	216	154,12	370,12	298,12	371	M+1
Protocatechusäure	3	216	154,12	370,12	298,12	371	M+1
Protocatechusäure						371	M+1
Protocatechusäure						371	M+1
Protocatechusäure						371	M+1
Protocatechusäure						371	M+1
Gallussäure	4	288	188,14	476,14	404,14	388	M-15
Gallussäure						477	M+1
Gallussäure						459	M-18
Gallussäure						388	M-15
Epicatechin	5	360	290,28	650,28		651	M+1
Catechin	5	360	290,28	650,28		651	M+1
Catechin						651	M+1

I: Masse der Trimethylsilyl-. Anzahl der OH-Gruppe

II: Molmasse der entsprechenden phenolische Verbindung

III = I + II

IV = III - 72

V: Masse des Molekülions

Tabelle 52: Mit GC-MS-Kopplung identifizierte phenolische Verbindungen aus Topinamburextrakten

Verbindung	Anzahl der OH-Gruppe	Masse der OH-Gruppe (syliliert)	Molmasse in g / mol	Molmasse Syliliert	Molmasse Syliliert ohne COOH	Masse (Molekülion) (u)	Bemerkungen
Umbelliferon						235	M+1
Umbelliferon	1	72	162,15	234,15		242	M+8
Umbelliferon						233	M-1
Umbelliferon						219	M-15
Cumarin-3-.Carbonsäure	1	72	190,16	262,16	190,16	271	M+9
4-Hydroxikumarin	1	72	162,15	234,15		235	M+1
Salicylsäure	2	144	138,12	282,12	210,12	280	M-2
Salicylsäure						280	M-2
4-Hydroxibenzoessäure	2	144	138,12	282,12	210,12	280	M-2
4-Hydroxibenzoessäure						280	M-2
4-Hydroxibenzoessäure						280	M-2
4-Hydroxibenzoessäure						280	M-2
4-Hydroxibenzoessäure						288	M+6
2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoessäure	2	144	228,12	372,12	300,12	376	M+4
2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoessäure						376	M+4
Syringasäure	2	144	198,18	342,18	270,18	346	M+4
p-Cumarsäure	2	144	164,16	308,16	236,16	309	M+1
p-Cumarsäure						309	M+1
3-Hydroxizimtsäure	2	144	164,16	308,16	236,16	309	M+1
Vanillinsäure	2	144	168,15	312,15	240,15	316	M+4
Vanillinsäure						297	M-15
Kaffeesäure	3	216	180,16	396,16	324,16	392	M-4
Kaffeesäure						392	M-4
Kaffeesäure						396	
Kaffeesäure						391	M-5
Gentisinsäure	3	216	154,12	370,12	298,12	298	M-72
Gallussäure	4	288	188,14	476,14	404,14	408	M-68
Gallussäure						468	M-8
Gallussäure						188	nicht syliliert
Aesculin	5	360	367,31	727,31		728	M+1
Chlorogensäure	6	432	354,32	786,32	714,32	768	M-18

Tabelle 53:

HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte Gigant (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM; ($\lambda = 280 \text{ nm}$) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Verbindung	Konzentration in % TM									
	ganze Knollen					Schalen				
Keimdauer in Tagen	0	12	21	33	52	0	12	21	33	52
Gallussäure	0,019	0,020		0,003	0,003	0,005	0,024	0,026		0,013
Protocatechusäure	0,064	0,029	0,006	0,013	0,042	0,054	0,116		0,020	0,113
Aesculin	0,030	0,009	0,012	0,026	0,054	0,071		0,093	0,066	0,223
Gentisinsäure	0,063	0,043	0,122	0,074	0,137		0,729	0,948	0,569	0,053
Catechin	0,020	0,006	0,006	0,009	0,011	0,043		0,035	0,032	0,020
4-Hydroxibenzoessäure	0,010	0,008			0,008	0,014		0,091	0,008	0,015
Chlorogensäure	0,155	0,050	0,033	0,042	0,136	0,778	1,151	0,089	0,103	1,135
Vanillinsäure	0,006	0,007			0,005	0,022	0,023			0,008
Syringasäure	0,004									
Kaffeesäure	0,004	0,009	0,001	0,001	0,003			0,004	0,003	0,019
Epicatechin	0,058	0,038	0,011	0,004	0,053	0,634	0,482	0,037		0,162
2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoessäure	0,039	0,009	0,002				0,048	0,009		
Umbelliferon	0,005	0,034	0,004	0,005	0,008	0,027	0,071	0,007		0,034
Scopoletin	0,019	0,003	0,008			0,022				0,057
p-Cumarsäure		0,008		0,004	0,003	0,027	0,032	0,013	0,009	0,006
Cumarin-3-Carbonsäure					0,001					0,007
Ferulasäure				0,003						
Sinapinsäure					0,002					0,020
3-Hydroxizimtsäure	0,001	0,000					0,009			
Ellagsäure	0,005		0,002		0,003	0,024		0,007		
Salicylsäure	0,322	0,217	0,063	0,030	0,314	2,187	5,075	0,265	0,277	2,623
4-Hydroxicumarin	0,022	0,015	0,011	0,014	0,016	0,096	0,218	0,062	0,119	0,136
1	0,847	0,505	0,280	0,227	0,801	4,003	7,977	1,685	1,206	4,645
Gesamtpeakintegral	7812642	4653807	1767057	2475754	7249005	6534378	12259119	2626114	2226182	11508429
unbekannte Peakintegral	275841	158191	53316	35857	455577	109530	524156	47136	17074	315407
2	1,512	0,886	0,324	0,432	1,263	6,408	11,753	1,705	1,668	8,065
3	3,449	3,262	2,653	1,185	6,199	1,577	4,224	1,547	0,471	2,685
4	1,459	0,856	0,315	0,425	1,184	6,300	11,250	1,675	1,655	7,844

1= Gesamtphenol berechnet als Summe der einzelnen Verbindungen in % TM

2 = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel-Peakintegral in % TM

3 = Gesamtphenol des Peakintegrals der unbekanntenen Substanzen, berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel-Peakintegral in % TM

4 = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel- und Peakintegral der unbekanntenen Substanz, in % TM

Tabelle 54:

HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte
Gute Gelbe (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM (Lamda = 280 nm) in Abhängigkeit
von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Verbindung	Konzentration in % TM									
	ganze Knollen					Schalen				
	0	12	21	33	52	0	12	21	33	52
Keimdauer in Tagen										
Gallussäure	0,0468	0,0084	0,0009	0,0025	0,0078	0,0167	0,0135	0,0037	0,0042	0,0053
Protocatechusäure	0,0343	0,0236	0,0181	0,0216	0,0298	0,0384	0,0509	0,0522	0,1284	0,1168
Aesculin	0,0048	0,0290	0,0042	0,0252	0,0277		0,0708	0,0058	0,0286	0,1088
Gentisinsäure	0,0347	0,0637	0,0422	0,1112	0,0751	0,1302	0,3577	0,5239	0,2145	0,2566
Catechin	0,0119	0,0185	0,0057	0,0202	0,0012	0,0131	0,0255	0,0600	0,0591	0,0252
4-Hydroxibenzoesäure	0,0067	0,0066	0,0013	0,0068	0,0025	0,0182	0,0251			0,0190
Chlorogensäure	0,0819	0,0560	0,0548	0,1226	0,0661	0,5588	0,3919	0,5817	0,8563	0,6006
Vanillinsäure	0,0102		0,0106			0,0127	0,0205	0,0059	0,0058	0,0035
Syringasäure			0,0022		0,0029					0,0318
Kaffeesäure	0,0026		0,0017	0,0045			0,0166	0,0030	0,0380	
Epicatechin	0,0537	0,0512	0,0236	0,0413	0,0213	0,2462	0,2123	0,1947	0,2449	0,1723
2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoesäure	0,0197	0,0116	0,0057	0,0204	0,0132			0,0374		
Umbelliferon	0,0067	0,0039	0,0055	0,0155	0,0061	0,0189	0,0367	0,0082	0,0500	0,0776
Scopoletin	0,0132	0,0063	0,0047	0,0107	0,0034		0,0165	0,0323	0,0593	
p-Cumarsäure	0,0020	0,0014	0,0009		0,0012	0,0121	0,0028		0,0119	0,0034
Cumarin-3-Carbonsäure			0,0015				0,0167		0,0026	
Ferulasäure	0,0027	0,0056				0,0060			0,0148	0,0177
Sinapinsäure			0,0013			0,0041		0,0317		
3-Hydroxizimtsäure	0,0002		Spur							
Ellagsäure				0,0089	0,0052		0,0123			0,0285
Salicylsäure	0,2723	0,1729	0,1758	0,3759	0,1698	2,0447	1,6180	2,2378	3,2014	1,9652
4-Hydroxicumarin	0,0259	0,0153	0,0081	0,0154	0,0086	0,0691	0,0964	0,0793	0,1536	0,1261
1	0,6304	0,4777	0,3687	0,8028	0,4420	3,1894	2,9843	3,8666	5,0733	3,5585
Gesamtpeaksfläche	6788164	4545020	4769401	6498527	6141367	7863773	7621322	8754432	10433496	10343101
unbekannte Peaksfläche	279834	244134	231288	171213	88448	67740	242733	260702	356801	546610
2	1,1887	0,7649	0,5919	1,1607	0,6694	4,6828	4,4502	5,1983	8,1005	5,8814
3	4,0289	5,2336	4,7174	2,5355	1,3340	0,7780	3,1009	2,9046	3,3585	5,2242
4	1,1397	0,7238	0,5632	1,1301	0,6598	4,6424	4,3083	5,0434	7,8233	5,5704

1= Gesamtphenol berechnet als Summe der einzelnen Verbindungen in % TM

2 = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel-Peakintegral in % TM

3 = Gesamtphenol des Peakintegrals der unbekannt Substanzen, berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel-Peakintegral in % TM

4 = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel- und Peakintegral der unbekannt Substanz, in % TM

Tabelle 55:

HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte Large White (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM (Lamda = 280 nm) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Verbindung	Konzentration in % TM									
	ganze Knollen					Schalen				
	0	12	21	33	52	0	12	21	33	52
Keimdauer in Tagen										
Gallussäure	0,0119	0,0084	0,0013	0,0071	0,0183	0,0162	0,0069		0,0034	0,0046
Protocatechusäure	0,0160	0,0356	0,0268	0,0404	0,0409	0,0474	0,0883	0,0057	0,0572	0,0618
Aesculin	0,0245	0,0161	0,0114	0,0386	0,0346		0,1569	0,0108	0,0759	0,0812
Gentisinsäure	0,0729	0,1118	0,0802	0,2409	0,1215	0,2180	0,3319	0,0901		0,2714
Catechin	0,0151	0,0058	0,0036	0,0167	0,0138	0,0167	0,0790	0,0102	0,0265	0,0449
4-Hydroxibenzoesäure	0,0073	0,0046	0,0033		0,0029	0,0169	0,0156		0,0243	0,0317
Chlorogensäure	0,1060	0,0242	0,0560	0,0574	0,0490	0,6153	0,6596	0,0233	0,6200	0,6547
Vanillinsäure	0,0079	0,0033	0,0065			0,0113	0,0242		0,0487	0,0420
Syringasäure	0,0023	0,0024	0,0023		0,0021		0,0079			
Kaffeensäure		0,0050	0,0016	0,0021		0,0398	0,0258		0,0356	
Epicatechin	0,0870	0,0274	0,0366	0,0214	0,0170	0,0281	0,1813		0,0864	0,1819
2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoesäure			0,0094	0,0091	0,0086			0,0040		0,0958
Umbelliferon	0,0063	0,0041	0,0052	0,0100	0,0079	0,0300	0,0348		0,0577	0,0686
Scopoletin	0,0053	0,0056	0,0067	0,0027		0,0086	0,0150	0,0127	0,0103	
p-Cumarsäure	0,0016	0,0007	0,0007	0,0010	0,0017	0,0158	0,0070		0,0108	0,0123
Cumarin-3-Carbonsäure	0,0011		0,0015						0,0076	0,0031
Ferulasäure	0,0041	0,0020		0,0019	0,0013		0,0125		0,0137	0,0048
Sinapinsäure	0,0043			0,0010					0,0123	
3-Hydroxizimtsäure			0,0005				0,0001			
Ellagsäure		0,0068		0,0210	0,0029	0,0162				0,0190
Salicylsäure	0,3195	0,0971	0,1741	0,0780	0,0989	1,5670	2,5516	0,0717	2,7059	2,5163
4-Hydroxicumarin	0,0242	0,0116	0,0101	0,0056	0,0099	0,0719	0,1231	0,0230	0,0992	0,1022
1	0,7174	0,3642	0,4379	0,5547	0,4312	2,7192	4,3216	0,2516	3,8954	4,1963
Gesamtpeakintegral	7713526	3911142	5153874	4915914	4558945	5782456	8408203	670915	9764024	10773468
unbekannte Peakintegral	228105	175117	239419	215487	107359	66349	149653	13248	181875	177095
2	1,2773	0,5537	0,6614	0,6945	0,6539	4,4548	6,5065	0,3468	6,2498	6,2924
3	2,8740	4,3157	4,5230	4,2547	2,2131	1,0343	1,7026	0,9993	1,7962	1,5834
4	1,2395	0,5289	0,6306	0,6640	0,6385	4,4036	6,3906	0,3399	6,1333	6,1889

1= Gesamtphenol berechnet als Summe der einzelnen Verbindungen in % TM

2 = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel-Peakintegral in % TM

3 = Gesamtphenol des Peakintegrals der unbekanntesten Substanzen, berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel-Peakintegral in % TM

4 = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel- und Peakintegral der unbekanntesten Substanz, in % TM

Tabelle 56:

HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte
Medius Brückmann (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM (Lamda = 280 nm) in Abhängigkeit
von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Verbindung	Konzentration in % TM									
	ganze Knollen					Schalen				
Keimdauer in Tagen	0	12	21	33	52	0	12	21	33	52
Gallussäure	0,0220	0,0030	0,0118	0,0014	0,0015	0,0160	0,0087			0,0026
Protocatechusäure	0,0683	0,0221	0,0348	0,0233	0,0311	0,0645	0,0935	0,0098	0,0367	0,0716
Aesculin	0,0371	0,0552	0,0620	0,0225	0,0075	0,0703	0,1816	0,0060	0,0596	0,0108
Gentisinsäure	0,1061	0,0893	0,1065	0,0459	0,0379	0,2194	2,7786	0,0366	0,6830	0,2102
Catechin	0,0256	0,0283	0,0380	0,0078	0,0047	0,0260		0,0062	0,0115	0,0236
4-Hydroxibenzoesäure	0,0113	0,0027	0,0059	0,0026	0,0036	0,0221	0,0217	0,0063	0,0035	
Chlorogensäure	0,0455	0,0225	0,0742	0,0554	0,0747	1,0033	0,3925	0,0124	0,0560	0,3467
Vanillinsäure	0,0058	0,0043	0,0159	0,0006	0,0034	0,0188	0,0055			0,0042
Syringasäure	0,0045									
Kaffeesäure	0,0070	0,0007	0,0054		0,0035		0,0170	0,0017	0,0023	0,0165
Epicatechin	0,0432	0,0087	0,0391	0,0227	0,0282	0,3755	0,1030	0,0079	0,0160	0,1054
2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoesäure	0,0079		0,0029	0,0057	0,0171					0,0591
Umbelliferon	0,0119	0,0033	0,0082	0,0092	0,0116	0,0409	0,0194	0,0053	0,0040	0,0448
Scopoletin	0,0035	0,0040	0,0046	0,0015	0,0040	0,0344	0,0336	0,0033	0,0276	
p-Cumarsäure	0,0011	0,0005	0,0012	0,0011	0,0015	0,0162	0,0054	0,0015	0,0028	0,0091
Cumarin-3-Carbonsäure				0,0003						
Ferulasäure	0,0052	0,0016	0,0031	0,0005	0,0015	0,0130	0,0069			
Sinapinsäure	0,0023	0,0012		0,0013	0,0004	0,0161	0,0046			
3-Hydroxizimtsäure			0,0004					Spur		
Ellagsäure			0,0023		0,0028		0,0105			0,0259
Salicylsäure	0,0959	0,0753	0,2943	0,1216	0,2474	2,5402	1,0783	0,1164	0,1543	1,2738
4-Hydroxicumarin	0,0213	0,0079	0,0175	0,0107	0,0096	0,1057	0,1197	0,0203	0,0181	0,0886
1	0,5256	0,3305	0,7280	0,3340	0,4920	4,5823	4,8804	0,2326	1,0752	2,2927
Gesamtpeakintegral	5401661	2578773	7337286	5797574	6618265	9335546	5590401	699362	1619095	6939890
unbekannte Peakintegral	186107	71864	246386	291730	181100	344201	177961	11379	74205	242879
2	0,9589	0,4385	1,1122	0,5588	0,8113	7,4340	4,4633	0,3587	0,8480	3,6946
3	3,3271	2,5369	3,2709	4,9235	2,6391	3,6188	3,0687	0,6884	4,1920	3,4078
4	0,9259	0,4262	1,0748	0,5307	0,7891	7,1597	4,3210	0,3528	0,8089	3,5652

1= Gesamtphenol berechnet als Summe der einzelnen Verbindungen in % TM

2 = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel-Peakintegral in % TM

3 = Gesamtphenol des Peakintegrals der unbekannt Substanzen, berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel-Peakintegral in % TM

4 = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel- und Peakintegral der unbekannt Substanz, in % TM

Tabelle 57: HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte Medius Lindhoop (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM (Lamda = 280 nm) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Verbindung	Konzentration in % TM									
	ganze Knollen					Schalen				
Keimdauer in	0	12	21	33	52	0	12	21	33	52
Gallussäure	0,0042	0,0182	0,0151	0,0021	0,0021	0,0134		0,0046		0,0092
Protocatechus	0,0158	0,0217	0,0657	0,0356	0,0468	0,0775	0,0530	0,0866	0,0203	0,0664
Aesculin	0,0253	0,0111	0,0317	0,0362	0,0477	0,0856		0,0708	0,0359	0,1222
Gentisinsäure	0,0514	0,0312	0,1026	0,0821	0,1362	0,3212	0,3458	0,3288	0,1182	0,3760
Catechin	0,0093	0,0106	0,0057	0,0161	0,0255	0,0408		0,0885	0,0213	0,0484
4-Hydroxiben	0,0069	0,0081	0,0036	0,0036	0,0067	0,0252				0,0416
Chlorogensäu	0,2406	0,0464	0,0809	0,1170	0,1269	1,0115	0,8263	0,6042	0,0445	0,6994
Vanillinsäure	0,0134	0,0020	0,0152	0,0189	0,0010	0,0231	0,0116	0,0524		0,0043
Syringasäure		0,0034	0,0040	0,0041				0,0177		
Kaffeesäure	0,0012	0,0036	0,0028	0,0027	0,0054	0,0069	0,0733	0,0118		0,0267
Epicatechin	0,0447	0,0139	0,0438	0,0518	0,0485	0,4151	0,0172	0,3080	0,0145	0,1824
2-Hydroxi-3-5	0,0132	0,0099	0,0119	0,0137	0,0277			0,0686		0,1363
Umbelliferon	0,0154	0,0074	0,0087	0,0108	0,0172	0,0430	0,0274	0,0390	0,0064	0,0733
Scopoletin	0,0103			0,0110		0,0435		0,0513		
p-Cumarsäure	0,0036	0,0067	0,0019	0,0015	0,0033	0,0047	0,0107	0,0030	0,0077	0,0045
Cumarin-3-Carbonsäure			0,0006			0,0103		0,0172		
Ferulasäure	0,0037			0,0033	0,0016	0,0316			0,0052	0,0182
Sinapinsäure	0,0023			0,0055	0,0016		0,0079			0,0024
3-Hydroxizimt	0,0006						0,0070			
Ellagsäure		0,0065	0,0079		0,0042			0,0425		
Salicylsäure	0,6393	0,2904	0,2170	0,3760	0,3866	2,9799	4,9021	2,7222	0,1351	2,3048
4-Hydroxicum	0,0396	0,0167	0,0101	0,0239	0,0190	0,1723	0,1428	0,1275	0,0397	0,1396
1	1,1409	0,5078	0,6292	0,8159	0,9081	5,3058	6,4251	4,6449	0,4487	4,2555
Gesamtpeakin	10008889	5162131	6771254	8326160	9842211	10463965	11076021	10710954	1136955	10646593
unbekannte P	146847	397777	234549	400577	196016	231792	79797	354989	53174	187578
2	1,9120	0,9051	1,0281	1,3409	1,3500	8,4322	8,9567	6,9689	0,7565	6,6248
3	1,4021	7,5873	3,3696	4,7354	1,9257	2,1533	0,6612	3,2546	4,1195	1,7008
4	1,8839	0,8352	0,9924	1,2764	1,3231	8,2453	8,8922	6,7377	0,7209	6,5080

Tabelle 58:

HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte Petit Blanc (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM ($\lambda = 280 \text{ nm}$) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Verbindung	Konzentration in % TM									
	ganze Knollen					Schalen				
Keimdauer in Tage	0	12	21	33	52	0	12	21	33	52
Gallussäure	0,0088	0,0216	0,0006	0,0009	0,0028	0,0047	0,0042	0,0041	0,0134	0,0053
Protocatechusäure	0,0323	0,0211	0,0211	0,0304	0,0328	0,0188	0,0414	0,1247	0,1429	0,0717
Aesculin	0,0174	0,0088	0,0202	0,0147	0,0595	0,0264	0,0355	0,0999	0,1417	0,1473
Gentisinsäure	0,0570	0,0935	0,2802	0,1517	0,1875	0,1216	0,1241	1,0028	0,7007	0,3483
Catechin	0,0064	0,0164	0,0049	0,0114	0,0256			0,0751	0,0691	0,0552
4-Hydroxibenzoesäure	0,0011	0,0114		0,0020	0,0076		0,0109		0,0411	
Chlorogensäure	0,1306	0,0426	0,0561	0,0370	0,1475	0,4138	0,4922	0,7546	0,8791	0,8806
Vanillinsäure	0,0069	0,0039		0,0035	0,0011	0,0037		0,0220	0,5201	
Syringasäure	0,0018		0,0009		0,0074			0,0046		0,0411
Kaffeesäure		0,0077		0,0032		0,0302		0,0034	0,0543	
Epicatechin	0,0360	0,0280	0,0190	0,0100	0,0521	0,0084	0,1856		0,1071	0,2370
2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoesäure	0,0121	0,0091	0,0040		0,0265		0,0350	0,2186		0,1185
Umbelliferon	0,0063	0,0073	0,0022	0,0029	0,0195	0,0164	0,0234	0,0514	0,0943	0,0823
Scopoletin	0,0034	0,0020	0,0048	0,0014	0,0030	0,0045	0,0148	0,0493	0,0195	0,0176
p-Cumarsäure	0,0071	0,0051		0,0007	0,0018	0,0119		0,0049	0,0101	0,0085
Cumarin-3-Carbonsäure			0,0006					0,0105	0,0060	
Ferulasäure				0,0008	0,0030					0,0076
Sinapinsäure				0,0020	0,0042		0,0559		0,0193	0,0065
3-Hydroxizimtsäure		0,0012						0,0025	0,0025	0,0001
Ellagsäure					0,0051	0,0109				0,0238
Salicylsäure	0,4393	0,3979	0,1406	0,0783	0,5478	1,2592	2,9743	2,9085	3,1286	3,6073
4-Hydroxicumarin	0,0199	0,0248	0,0113	0,0045	0,0250	0,0441	0,1189	0,1393	0,1393	0,1504
1	0,7864	0,7025	0,5664	0,3552	1,1601	1,9747	4,1230	5,4762	6,0891	5,8091
Gesamtpeakintegral	7514371	6226842	4324452	2944763	10687663	6385290	7986782	9904681	13843978	13033281
unbekante Peakintegral	110828	269726	133737	102018	184047	16490	200321	205180	226172	267224
2	1,2502	1,0849	0,5590	0,4293	1,6298	3,1308	5,8556	7,4642	9,8818	8,6771
3	1,3881	4,2300	2,9442	3,2472	1,6612	0,1549	2,4274	2,0061	1,5867	2,0006
4	1,2318	1,0379	0,5416	0,4144	1,6017	3,1227	5,7086	7,3094	9,7202	8,4991

1= Gesamtphenol berechnet als Summe der einzelnen Verbindungen in % TM

2 = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel-Peakintegral in % TM

3 = Gesamtphenol des Peakintegrals der unbekannt Substanzen, berechnet als Salicylsäure, bezogen auf der Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel-Peakintegral in % TM

4 = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure, bezogen auf der Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel- und Peakintegral der unbekannt Substanz, in % TM

Tabelle 59:

HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte
RoZo (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM (Lambda = 280 nm) in Abhängigkeit
von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Verbindung	Konzentration in % TM									
	ganze Knollen					Schalen				
Keimdauer in Tage	0	12	21	33	52	0	12	21	33	52
Gallussäure	0,0591	0,0220		0,0015	0,0031		0,0547		0,0456	0,0060
Protocatechusäure	0,0092	0,0308	0,0088	0,0084	0,0345	0,1219	0,1048	0,0038	0,1866	0,0900
Aesculin		0,0179	0,0159	0,0256	0,0323		0,0616		0,0673	0,1383
Gentisinsäure		0,1822	0,1616	0,0980	0,0566	0,2599	0,1952		0,6933	0,1730
Catechin		0,0169	0,0069	0,0020	0,0179	0,0635			0,0634	0,0487
4-Hydroxibenzoesäure	0,0025			0,0040	0,0071		0,0310	0,0042	0,0190	
Chlorogensäure	0,0617	0,0595	0,0268	0,0295	0,1279	1,1734	0,9208	0,0196	0,2557	0,8908
Vanillinsäure	0,0053	0,0029		0,0011	0,0055	0,0170	0,0058			0,0056
Syringasäure	0,0051	0,0037	0,0019				0,0032		0,0088	
Kaffeesäure	0,0022	0,0081		0,0015	0,0042	0,0088	0,0610		0,0106	0,0258
Epicatechin	0,0336	0,0459	0,0083	0,0091	0,0344	0,4576	0,1709		0,0553	0,1809
2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoesäure	0,0289	0,0116			0,0017		0,0710			
Umbelliferon		0,0141	0,0036	0,0020	0,0101	0,0404	0,1125		0,0108	0,0680
Scopoletin				0,0075	0,0118	0,0257				
p-Cumarsäure	0,0024		0,0004	0,0006	0,0007	0,0111	0,0305		0,0295	0,0160
Cumarin-3-Carbonsäure					0,0012					
Ferulasäure		0,0105	0,0028			0,0152	0,0272	0,0065		0,0140
Sinapinsäure							0,0167			
3-Hydroxizimtsäure										
Ellagsäure					0,0104			0,0090		0,0206
Salicylsäure	0,1709	0,2696	0,0665	0,0853	0,4232	4,1306	4,3769	0,0769	0,9268	3,0582
4-Hydroxicumarin	0,0082	0,0385	0,0138	0,0095	0,0239	0,1361	0,2111	0,0180	0,1390	0,1574
1	0,3889	0,7341	0,3174	0,2855	0,8064	6,4612	6,4550	0,1380	2,5116	4,8934
Gesamtpeakintegral	4503485	7321188	2314314	2504808	7685653	13078537	14335060	602525	7040321	12114262
unbekante Peakintegral	152587	412755	55384	106717	354240	139512	460447	143688	241218	186922
2	0,7871	1,1790	0,3485	0,3650	1,3191	9,6238	10,4987	0,3579	3,9578	8,0013
3	3,2462	5,5525	2,1135	4,0072	4,5270	1,0167	3,1674	23,0030	3,3355	1,4892
4	0,7604	1,1124	0,3401	0,3494	1,2583	9,5211	10,1613	0,2716	3,8220	7,8778

1= Gesamtphenol berechnet als Summe der einzelnen Verbindungen in % TM

2 = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel-Peakintegral in % TM

3 = Gesamtphenol des Peakintegrals der unbekannt Substanzen, berechnet als Salicylsäure, bezogen auf der Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel-Peakintegral in % TM

4 = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure, bezogen auf der Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel- und Peakintegral der unbekannt Substanz, in % TM

unbekante Peaksfläche %	3,3882	5,6378	2,3931	4,2605	4,6091	1,0667	3,2120	23,8476	3,4262	1,5430
-------------------------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	---------	--------	--------

Tabelle 60:

HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte
Stamm (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM (Lamda = 280 nm) in Abhängigkeit
von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Verbindung	Konzentration in % TM									
	ganze Knollen					Schalen				
Keimdauer in Tage	0	12	21	33	52	0	12	21	33	52
Gallussäure	0,0267	0,0305		0,0160	0,0065	0,0135	0,0036		0,0041	0,0121
Protocatechusäure	0,0889	0,0211	0,0055	0,0926	0,0772	0,0802	0,0743	0,0479	0,0946	0,1406
Aesculin		0,0046	0,0090	0,0907	0,0934	0,1032	0,1142	0,0478	0,1849	0,2445
Gentisinsäure	0,0569	0,0755	0,0518	0,1809	0,2732	0,2902	0,4583	0,7530	0,6968	0,3925
Catechin	0,0101	0,0099	0,0036	0,0098	0,0299	0,0416	0,0343	0,0234	0,2986	0,0736
4-Hydroxibenzoesäure	0,0067	0,0076		0,0077						
Chlorogensäure	0,1917	0,1382	0,0233	0,3473	0,2796	2,1493	2,1073	0,0617	1,7553	2,3789
Vanillinsäure	0,0034	0,0025		0,0075					0,0242	0,0066
Syringasäure	0,0012	0,0120			0,0036	0,0152		0,0054	0,0073	
Kaffeensäure	0,0023			0,0097	0,0019		0,1624			0,0265
Epicatechin	0,0928	0,0237	0,0050	0,0668	0,0750	0,8008	0,0320	0,0192	0,4227	0,2387
2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoesäure		0,0038		0,0014	0,0029					
Umbelliferon	0,0089	0,0108		0,0258	0,0147	0,0534	0,1128		0,0457	0,0468
Scopoletin	0,0109				0,0174	0,0530			0,0837	
p-Cumarsäure	0,0037	0,0079		0,0036	0,0023	0,0321	0,0431			0,0389
Cumarin-3-Carbonsäure			0,0047		0,0048			0,0349		
Ferulasäure	0,0028			0,0044		0,0441			0,0255	0,0363
Sinapinsäure	0,0025						0,0633			0,0379
3-Hydroxizimtsäure				0,0005					0,0038	
Ellagsäure	0,0037	0,0066			0,0075					0,0341
Salicylsäure	0,4225	0,5225	0,0329	0,7101	0,4137	3,6650	6,4493	0,1440	5,0370	4,8881
4-Hydroxicumarin	0,0349	0,0255	0,0111	0,0330	0,0294	0,1814	0,2639	0,1768	0,2561	0,2689
1	0,9706	0,9026	0,1468	1,6078	1,3330	7,5229	9,9187	1,3142	8,9402	8,8649
Gesamtpeakintegral	9641174	7894540	1035190	13827511	10787657	13291324	16635445	2454951	15845729	17395537
unbekante Peakintegral	231132	150039	0,0000	195249	343924	375436	443038	0,0000	249935	264931
2	1,7725	1,4795	0,2243	2,6444	2,0845	13,0407	16,3642	1,9544	13,4936	15,1126
3	2,3304	1,8183		1,3649	3,1288	2,7763	2,6245		1,5362	1,4855
4	1,7299	1,4513	0,2243	2,6070	2,0180	12,6721	15,9282	1,9544	13,2806	14,8823

1= Gesamtphenol berechnet als Summe der einzelnen Verbindungen in % TM

2 = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel-Peakintegral in % TM

3 = Gesamtphenol des Peakintegrals der unbekanntten Substanzen, berechnet als Salicylsäure, bezogen auf der Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel-Peakintegral in % TM

4 = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure, bezogen auf der Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel- und Peakintegral der unbekanntten Substanz, in % TM

unbekante Peaksfläche % 2,40 1,90 0,00 1,41 3,19 2,82 2,66 0,00 1,58 1,52

Tabelle 61:

HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Topinambursorte Waldspindel (Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM (Lamda = 280 nm) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Verbindung	Konzentration in % TM					
	ganze Knollen			Schalen		
	0	12	33	0	12	33
Gallussäure	0,0162	0,0010	0,0199	0,1457	0,0063	0,0109
Protocatechusäure	0,1221		0,0716	0,1418	0,1172	0,1364
Aesculin	0,0948	0,0046	0,0661	0,0831	0,2652	0,1875
Gentisinsäure	0,2830		0,2816		0,2298	0,6275
Catechin	0,0154	0,0057	0,0200	0,0386	0,0626	
4-Hydroxibenzoesäure	0,0072		0,0047		0,0229	0,0720
Chlorogensäure	0,9388	0,0299	0,2016	4,5165	3,2101	1,7400
Vanillinsäure					0,0675	0,0523
Syringasäure	0,0017					
Kaffeesäure	0,0072		0,0027	0,0250	0,0287	0,0461
Epicatechin		0,0048	0,0294	0,2141	0,2617	0,0717
2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoesäure	0,0449		0,0117	0,0105		0,0120
Umbelliferon	0,0155		0,0141	0,0395	0,0917	0,0352
Scopoletin	0,0119		0,0049	0,0635		0,0831
p-Cumarsäure	0,0050		0,0019	0,0031	0,0221	0,0052
Cumarin-3-Carbonsäure		0,0112		0,0167		
Ferulasäure	0,0053		0,0022	0,0110	0,0077	0,0160
Sinapinsäure			0,0026		0,0599	0,0191
3-Hydroxizimtsäure						
Ellagsäure					0,0411	0,0358
Salicylsäure	0,9467	0,0391	0,2052	4,5593	4,9497	4,2046
4-Hydroxicumarin	0,0482	0,0103	0,0153	0,1738	0,2538	0,1622
1	2,5638	0,1066	0,9555	10,0420	9,6981	7,5175
Gesamtpeakintegral	19198851	1173003	8237260	18238329	18775004	14257214
unbekante Peakintegral	209001	13809	114259	108243	136762	335431
2	4,6477	0,2556	1,4254	19,6417	17,4564	12,0404
3	1,0545	0,6172	1,3079	0,5575	0,6935	2,3074
4	4,5971	0,2525	1,4057	19,5251	17,3292	11,7570

1= Gesamtphenol berechnet als Summe der einzelnen Verbindungen in % TM

2 = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel-Peakintegral in % TM

3 = Gesamtphenol des Peakintegrals der unbekanntenen Substanzen, berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel-Peakintegral in % TM

4 = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel- und Peakintegral der unbekanntenen Substanz, in % TM

unbekante Peaksfläche %

1,09

1,18

1,39

0,59

0,73

2,35

Tabelle 62:

HPLC-Trennung einzelner phenolischer Verbindungen der Zichorie
(Methanolextraktion) und deren Gehalt in % TM (Lamda = 280 nm) in Abhängigkeit
von der Keimdauer (Ernte Oktober/Dezember 2000)

Verbindung	Konzentration in % TM					
	ganze Knollen			Schalen		
Keimdauer in Tagen	0	12	33	0	12	33
Gallussäure	0,001	0,004	0,006		0,003	0,006
Protocatechusäure	0,020	0,021	0,021	0,056	0,065	0,084
Aesculin	0,005	0,035		0,149	0,090	0,118
Gentisinsäure	0,070	0,148	0,176	0,567	0,239	0,414
Catechin		0,032	0,015	0,067	0,058	
4-Hydroxibenzoesäure	0,005	0,004	0,009	0,011	0,036	1,289
Chlorogensäure	0,109	0,053	0,154	0,164	0,608	
Vanillinsäure			0,010		0,007	0,040
Syringasäure	0,004		0,010	0,005		0,012
Kaffeesäure		0,002			0,025	
Epicatechin	0,016	0,015	0,048	0,027	0,201	0,106
2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoesäure	0,002				0,042	
Umbelliferon	0,003	0,005	0,011	0,005	0,055	0,083
Scopoletin			0,005			0,013
p-Cumarsäure			0,002		0,004	0,005
Cumarin-3-Carbonsäure			0,002		0,005	
Ferulasäure						0,012
Sinapinsäure	0,000	0,000	0,005			
3-Hydroxizimtsäure					0,001	
Ellagsäure						
Salicylsäure	0,210	0,213	0,689	0,220	2,181	2,531
4-Hydroxicumarin	0,011	0,011	0,019	0,141	0,067	0,084
1	0,457	0,544	1,183	1,413	3,687	4,796
Gesamtpeakintegral	3116882	2763950	6990180	2756602	8191808	10334529
unbekante Peakintegral	60101	36387	264367	28636	84684	74323
2	0,706	0,652	1,616	2,150	5,467	7,542
3	1,720	0,652	3,691	0,801	0,954	0,656
4	0,692	0,643	1,555	2,128	5,410	7,488

1= Gesamtphenol berechnet als Summe der einzelnen Verbindungen in % TM

2 = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel-Peakintegral in % TM

3 = Gesamtphenol des Peakintegrals der unbekannt Substanzen, berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel-Peakintegral in % TM

4 = Gesamtphenol berechnet als Salicylsäure, bezogen auf das Gesamtpeakintegral ohne Lösungsmittel- und Peakintegral der unbekannt Substanz, in % TM

Tabelle 63: Gesamtphenolgehalte der Topinamburknollen, Zichorienwurzeln und deren Schalen in Methanolextrakt, berechnet als Salicylsäureäquivalente und bezogen auf das Gesamtpeakintegral (auch unbekannt) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/ Dezember 2000): HPLC-Trennung bei $\lambda = 280 \text{ nm}$

Verbindung	Konzentration in % TM									
	ganze Knollen					Schalen				
Keimdauer in Tagen	0	12	21	33	52	0	12	21	33	52
Gigant (Topianka)	1,51	0,89	0,32	0,43	1,26	6,41	11,75	1,71	1,67	8,06
Gute Gelbe	1,19	0,76	0,59	1,16	0,67	4,68	4,45	5,20	8,10	5,88
Large White	1,28	0,55	0,66	0,69	0,65	4,45	6,51	0,35	6,25	6,29
Medius Brückmann	0,96	0,44	1,11	0,56	0,81	7,43	4,46	0,36	0,85	3,69
Medius Lindhoop	1,91	0,91	1,03	1,34	1,35	8,43	8,96	6,97	0,76	6,62
Petit Blanc	1,25	1,08	0,56	0,43	1,63	3,13	5,86	7,46	9,88	8,68
RoZo	0,79	1,18	0,35	0,36	1,32	9,62	10,50	0,36	3,96	8,00
Stamm	1,77	1,48	0,22	2,64	2,08	13,04	16,36	1,95	13,49	15,11
Waldspindel	4,65	0,26		1,43		19,64	17,46		12,04	
Zichorie	0,71	0,65		1,62		2,15	5,47		7,54	

Tabelle 64: Gegenüberstellung des mittels HPLC (auch unbekannt) und nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehaltes. als Salicylsäure-Äquivalent der Topinamburknollen und Zichorienwurzeln , Angaben in % TM, in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober bis Dezember 2000)

Methode	HPLC					Folin-Ciocalteu				
	0	12	21	33	52	0	12	21	33	52
Keimdauer in Tagen	0	12	21	33	52	0	12	21	33	52
Gigant	1,51	0,89	0,32	0,43	1,26	0,60	0,92	2,00	2,27	3,55
Gute Gelbe	1,19	0,76	0,59	1,16	0,67	0,57	1,15	4,20	3,96	6,08
Large White	1,28	0,55	0,66	0,69	0,65	0,53	2,03	4,37	5,50	4,41
Medius Brückmann	0,96	0,44	1,11	0,56	0,81	1,17	5,15	3,51	8,05	5,04
Medius Lindhoop	1,91	0,91	1,03	1,34	1,35	0,46	0,80	4,03	4,85	4,92
Petit Blanc	1,25	1,08	0,56	0,43	1,63	0,40	0,98	4,39	5,22	5,42
RoZo	0,79	1,18	0,35	0,36	1,32	0,63	1,77	2,65	4,14	3,73
Stamm	1,77	1,48	0,22	2,64	2,08	0,75	1,03	0,67	4,79	4,18
Waldspindel	4,65	0,26		1,43		5,12	0,82		5,43	
Zichorie	0,71	0,65		1,62		1,18	2,23		2,44	

Tabelle 65: Gegenüberstellung des mittels HPLC (auch unbekannt) und nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehaltes. als Salicylsäure-Äquivalent der Topinambur- und Zichorienschalen, Angaben in % TM, in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober bis Dezember 2000)

Methode	HPLC					Folin-Ciocalteu				
	0	12	21	33	52	0	12	21	33	52
Keimdauer in Tagen	0	12	21	33	52	0	12	21	33	52
Gigant	6,41	11,75	1,71	1,67	8,06	1,0	3,7	14,2	9,9	19,1
Gute Gelbe	4,68	4,45	5,2	8,1	5,88	1,8	4,8	18,7	17,8	19,1
Large White	4,45	6,51	0,35	6,25	6,29	1,0	14,4	4,6	20,7	21,0
Medius Brückmann	7,43	4,46	0,36	0,85	3,69	3,2	10,2	2,8	13,4	19,9
Medius Lindhoop	8,43	8,96	6,97	0,76	6,62	1,6	4,9	17,5	8,2	19,9
Petit Blanc	3,13	5,86	7,46	9,88	8,68	1,8	3,9	14,2	17,3	20,4
RoZo	9,62	10,5	0,36	3,96	8	2,4	6,3	1,6	19,7	23,1
Stamm	13,04	16,36	1,95	13,49	15,11	1,9	5,2	5,5	20,6	20,6
Waldspindel	19,64	17,46		12,04		17,2	21,1		18,6	
Zichorie	2,15	5,47		7,54		6,8	18,1		17,3	

Tabelle 66: Gesamtphenolgehalte der Topinamburknollen, Zichorienwurzel und deren Schalen in Methanolextrakt, berechnet als Summe der einzelnen Verbindungen (nur bekannten) in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober/ Dezember 2000):
HPLC-Trennung bei $\lambda = 280 \text{ nm}$

Verbindung	Konzentration in % TM									
	ganze Knollen					Schalen				
Keimdauer in Tagen	0	12	21	33	52	0	12	21	33	52
Gigant (Topianka)	0,85	0,50	0,28	0,23	0,80	4,00	7,98	1,68	1,21	4,64
Gute Gelbe	0,63	0,48	0,37	0,80	0,44	3,19	2,98	3,87	5,07	3,56
Large White	0,72	0,36	0,44	0,55	0,43	2,72	4,32	0,25	3,90	4,20
Medius Brückmann	0,53	0,33	0,73	0,33	0,49	4,58	4,88	0,23	1,08	2,29
Medius Lindhoop	1,14	0,51	0,63	0,82	0,91	5,31	6,43	4,64	0,45	4,26
Petit Blanc	0,79	0,70	0,57	0,36	1,16	1,97	4,12	5,48	6,09	5,81
RoZo	0,39	0,73	0,32	0,29	0,81	6,46	6,46	0,14	2,51	4,89
Stamm	0,97	0,90	0,15	1,61	1,33	7,52	9,92	1,31	8,94	8,86
Waldspindel	2,56	0,11		0,96		10,04	9,70		7,52	
Zichorie	0,46	0,54		1,18		1,41	3,69		4,80	

Tabelle 67:

Gegenüberstellung des mittels HPLC (nur bekannten) und nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehaltes. als Salicylsäure-Äquivalent der Topinamburknollen und Zichorienwurzeln , Angaben in % TM, in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober bis Dezember 2000)

Methode	HPLC					Folin-Ciocalteu				
	0	12	21	33	52	0	12	21	33	52
Keimdauer in Tagen	0	12	21	33	52	0	12	21	33	52
Gigant	0,85	0,5	0,28	0,23	0,8	0,60	0,92	2,00	2,27	3,55
Gute Gelbe	0,63	0,48	0,37	0,8	0,44	0,57	1,15	4,20	3,96	6,08
Large White	0,72	0,36	0,44	0,55	0,43	0,53	2,03	4,37	5,50	4,41
Medius Brückmann	0,53	0,33	0,73	0,33	0,49	1,17	5,15	3,51	8,05	5,04
Medius Lindhoop	1,14	0,51	0,63	0,82	0,91	0,46	0,80	4,03	4,85	4,92
Petit Blanc	0,79	0,7	0,57	0,36	1,16	0,40	0,98	4,39	5,22	5,42
RoZo	0,39	0,73	0,32	0,29	0,81	0,63	1,77	2,65	4,14	3,73
Stamm	0,97	0,9	0,15	1,61	1,33	0,75	1,03	0,67	4,79	4,18
Waldspindel	2,56	0,11		0,96		5,12	0,82		5,43	
Zichorie	0,46	0,54		1,18		1,18	2,23		2,44	

Tabelle 68:

Gegenüberstellung des mittels HPLC (nur bekannten) und nach Folin-Ciocalteu bestimmten Gesamtphenolgehaltes. als Salicylsäure-Äquivalent der Topinambur- und Zichorienschalen , Angaben in % TM, in Abhängigkeit von der Keimdauer (Ernte Oktober bis Dezember 2000)

Methode	HPLC					Folin-Ciocalteu				
	0	12	21	33	52	0	12	21	33	52
Keimdauer in Tagen	0	12	21	33	52	0	12	21	33	52
Gigant	4	7,98	1,68	1,21	4,64	1,0	3,7	14,2	9,9	19,1
Gute Gelbe	3,19	2,98	3,87	5,07	3,56	1,8	4,8	18,7	17,8	19,1
Large White	2,72	4,32	0,25	3,9	4,2	1,0	14,4	4,6	20,7	21,0
Medius Brückmann	4,58	4,88	0,23	1,08	2,29	3,2	10,2	2,8	13,4	19,9
Medius Lindhoop	5,31	6,43	4,64	0,45	4,26	1,6	4,9	17,5	8,2	19,9
Petit Blanc	1,97	4,12	5,48	6,09	5,81	1,8	3,9	14,2	17,3	20,4
RoZo	6,46	6,46	0,14	2,51	4,89	2,4	6,3	1,6	19,7	23,1
Stamm	7,52	9,92	1,31	8,94	8,86	1,9	5,2	5,5	20,6	20,6
Waldspindel	10,04	9,7		7,52		17,2	21,1		18,6	
Zichorie	1,41	3,69		4,8		6,8	18,1		17,3	

Tabelle 69: Schmelzpunkten und Wasserlöslichkeiten der verwendeten Vergleichssubstanzen.
aus den Merck- und Flukakatalog

Verbindungsbezeichnung	Schmelzpunkten in °C	Bemerkungen	Löslichkeit in Wasser bei 20 °C (g/ l)
Gallussäure	255-265		15
Gentisinsäure	202-206		löslich
Protocatechusäure	202-204	Zersetzung	20
4-Hydroxibenzoesäure	212-215	Zündtemperatur, 250 °C	8
Salicylsäure	158-161		2
Vanillinsäure	208-210		schwer löslich
Syringasäure	204-207		unlöslich
Ellagsäure	>350		
Kaffeesäure	234-237	Zersetzung	schwer löslich
Ferulasäure	169-175		
Sinapinsäure	195-200	Zersetzung, 202 °C	
Chlorogensäure	203-205	Zersetzung, 208-210 °C	
3-Hydroxizimtsäure	192-195		schwer löslich
p-Cumarsäure	219-222	Zersetzung, 214-217 °C	schwer löslich
4-Hydroxicumarin	211-214		schwer löslich
Umbelliferon (7-Hydroxicumarin)	226-229		schwer löslich
Cumarin-3-Carbonsäure	188-191		13
Aesculin (6,7-Dihydroxicumarin-6 Beta-D-glucopyranosid)	200		1,5
Scopoletin (7-hydroxi-6-Methoxicumarin)	204-206		
2-Hydroxi-3-5-Dinitrobenzoesäure (3,5-Dinitrosalicylsäure)	170-174		löslich
Catechin	200	Zersetzung	
Epicatechin	240-245	Zersetzung	

Tabellarischer Lebenslauf

Name : TCHONE Michel
geboren am 16. Juni 1958 in Bandjoun-Djiogo Kamerun
Vater: TUECHE Joseph, Farmer
Mutter: MOCHE , Hausfrau

Ausbildung

Secondary School:1972-1980 Lycée Classique de Bafoussam Kamerun
Abschluß : Baccalauréat série „D“

Universitätsstudien

1980-1983: Université de Yaoundé Kamerun
Abschluß: Licence de Sciences Naturelles option Botanique
1983-1984: Université de Yaoundé Kamerun
Abschluß: Maîtrise de Biochimie
1984-1985 Studium der Lebensmitteltechnologie an der „ Ecole Nationale Supérieure des Industries Alimentaires“ ENSIA-SIARC, Paris-Montpellier, Frankreich
1985-1986 Studium der Brauereitechnologie mit den Nebenfächern Getränketechnologie und Verpackungstechnologie an der „ Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires“, ENSAIA, Nancy, Frankreich
Abschluß: Diplom-Ingenieur
1992-1994 Qualifikationsstudium an der“ Département de Biochimie de l'Université Nationale de Côte d'Ivoire, Elfenbeinküste
Abschluß: Diplôme d'Etudes Approfondies de Biotechnologie et d'Amélioration des Productions Végétales (D.E.A) .
Seit 1996 befinde ich mich an der Technische Universität Berlin als Doktorand.

Praktische Tätigkeiten

1987-1988 als Lebensmittelingenieur bei der Firma „Société Anonyme des Brasseries du Cameroun“ SABC, Douala, Kamerun.
1988-1989 in der Ölmühle „Société des Palmerais de la Ferme Suisse“ Edéa- Ongué, Kamerun.
1990-1992 Als technischer Betriebskontrolleur in ETS KA ET FILS Douala, Kamerun.
1994-1995 Gymnasiallehrer in Physik und Chemie (Präparanden Kurs für spätere Universitätsstudenten) an der Université Nationale de Côte d' Ivoire, Elfenbeinküste.
1996-1997 Deutsche Kurs an der Hartnachs Schule, Berlin
Abschluss: DSH
1997-1998: Herstellung von Vitamin B12 mittels zwei Bakterien, TU Berlin
1998-1999: Milchsäure Konservierung von frischen Tomaten, TU Berlin
1999-2002: spektralphotometrische und HPLC-Trennung von phenolische Verbindungen in Topinamburextrakten, Strukturaufklärung der Polyphenole mittels LC-MS und GC-MS Kopplung, TU Berlin

Publikation

Nutrient Content of Some Traditionally Prepared Diets Ann. Fac. Biol.-Biochim.,III
No. 3. p 107-113; 1985.

Sprache

Französisch
Englisch
Deutsch

Computer Erfahrung

MS Office, Visual Basic, Windows

Michel TCHONE, Dipl.-Ing., D.E.A.