

Fachgebiet Züchtung und angewandte Genetik
Technische Universität München

Charakterisierung des Phenolstoffwechsels von
Buchweizensamen (*Fagopyrum esculentum* Moench) als
Grundlage für die Züchtung von flavonoidreichen
Genotypen

Dipl.-Ing. agr. (Univ.) Carolin Ölschläger

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.) genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. G. Forkmann

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. F. J. Zeller, i.R.
2. Univ.-Prof. Dr. D. R. Treutter

Die Dissertation wurde am 27.09.2006 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 26.10.2006 angenommen.



Inhaltsverzeichnis

1.0 Einleitung	7
<hr/>	
2.0 Literaturübersicht	9
<hr/>	
2.1 Biologie und Herkunft	9
2.2 Anbau und Produktion	10
2.3 Genetische Ressourcen	11
2.4 Inhaltsstoffe	13
2.4.1 Ernährungsphysiologie	13
2.4.2 Pharmakologische Aspekte	14
2.4.3 Sekundäre Inhaltsstoffe	16
2.4.3.1 Flavonole	16
2.4.3.2 Benzoe- und Hydroxyzimtsäuren	18
2.4.3.3 Flavone	18
2.4.3.4 Flavanole, Procyanidine und Anthocyane	19
2.4.4 Naphtodianthrone	20
<hr/>	
3.0 Pflanzenmaterial	21
<hr/>	
3.1. Verwendete Sorten und Wildarten	21
3.2 Anzucht der Pflanzen	24
3.3 Probennahme	24
3.4 Kreuzungen	25
<hr/>	
4.0 Methodik	26
<hr/>	
4.1 Methode zur Extraktion von Rutin und Flavanolen aus Buchweizen- samen	26
4.1.1 Vorversuche Extraktion	26
4.1.2 Optimierte Extraktion von phenolischen Inhaltsstoffen aus Buchweizen- samen und -schale	27
4.1.3 Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC)	28
4.1.3.1 HPLC-Gerätekonfiguration	28
4.1.3.2 Quantitative Bestimmung	29
4.1.3.3 Ratio (640 nm/280 nm)	31
4.1.4 Ergebnisse	32
4.2 Verwendung photometrischer Methoden zur schnelleren Bestimmung des Flavanol- und Procyanidingehaltes in Samen und -schale von Buchweizen	37



4.2.1 Photometrische Messung der Gesamtcatechine in Buchweizenkorn und -schale	37
4.2.1.1 Methode	37
4.2.1.2 Ergebnisse	38
4.2.2 Photometrische Messungen von löslichen und gebundenen Proantho- cyanidinen in Samen und -schale von Buchweizen	40
4.2.2.1 Methode zur Bestimmung der löslichen Proanthocyanidine im Buchweizen- samenextrakt	40
4.2.2.2 Methode zur Bestimmung der gebundenen Proanthocyanidine im Extraktionsrückstand	41
4.2.2.3 Ergebnisse	42
4.3 Zusammenhänge zwischen den getesteten Methoden	44
4.4 Diskussion	47
5.0 Analytik	53
<hr/>	
5.1 Methode zur Aufreinigung von Buchweizen-extrakt und Auftrennung mit Sephadex-LH20	53
5.1.1 Extraktion und Reinigung des Buchweizensamens	53
5.1.2 Vorbereitung der Sephadex-LH20-Säule und Aufgabe der Probe	54
5.1.3 Auftrennung und Fraktionierung des gereinigten Buchweizenextraktes	54
5.1.4 Weitere Aufreinigung der Fraktionen C und F mittels Sephadex-LH20 und MeOH-Gradient	55
5.1.4.1 Fraktion C	55
5.1.4.2 Fraktion F	55
5.2 Methoden zur Identifizierung von phenolischen Verbindungen	56
5.2.1 Qualitative Bestimmung	56
5.2.2 Cochromatographie	56
5.2.3 Dünnschichtchromatographie	56
5.2.4. Sprühreagenzien für Dünnschichtchromatographie	57
5.2.5 Hydrolysen	57
5.2.5.1. Saure Hydrolyse	57
5.2.5.2 Enzymatische Hydrolyse	57
5.2.6 LC-MS/MS-Technik	58
5.2.6.1 Probenvorbereitung	58
5.2.6.2 HPLC-Gerätekonfiguration	58
5.2.6.3 HPLC-Gradientenverlauf der Lösungsmittel	58
5.2.6.4 MS-MS-Modul	59
5.2.6.5 Ionisierungs- und Fragmentierungsparameter	59
5.3 Ergebnisse und Diskussion	60
5.3.1 Benzoesäuren	61
5.3.2 Hydroxyzimtsäuren	62
5.3.3 Flavone	64



5.3.4 Flavonole	64
5.3.5 Flavanole	65
5.3.5.1 Flavanole: Gruppe 1	67
5.3.5.2 Flavanole: Gruppe 2	70
5.3.5.3 Flavanole: Gruppe 3	71
5.3.5.4 Flavanole: Gruppe 4	74
5.3.5.5 Strukturvorschlag für die Flavanole unter Berücksichtigung der Stereochemie	79
5.3.6 Unbekannte Phenole	81
6.0 Kreuzung	82
6.1 Biosynthese der Phenylpropanoide und Flavonoide	82
6.2 Ziele und Fragestellung	84
6.3 Biosynthesecode	84
6.3.1 Eliminierung der Buchstaben „B“ und „b“ aus dem Code	86
6.3.2 Definition der Züchtungsziele anhand des Biosynthesecodes	87
6.3.3 Erklärung der Ergebnisdarstellung der analysierten Buchweizenlinien und Kreuzungsnachkommen	87
6.4 Charakterisierung von Buchweizenlinien hinsichtlich des Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Flavonol- und Flavanolgehaltes im Samen mit HPLC	88
6.5 Phenolgehalte in der Buchweizenschale	98
6.6 Auswahl von Buchweizenlinien als Elterngeneration für die Kreuzungsversuche	104
6.6.1 Hydroxyzimtsäure-Typen	104
6.6.2 Rutin-Typen	105
6.6.3 Flavanol-Typen	107
6.7 Kreuzungen und Beschreibung der Nachkommen	110
6.7.1 „Sobano x Sumchanka“ (9510x619) - Geringer Gesamtphenolgehalt	112
6.7.2 „Sumchanka x Sobano“ (619x9510) - Geringer Gesamtphenolgehalt	116
6.7.3 „Siva x Pulanska“ (15x852) - Gleichzeitig hoher Rutin- und Flavanolgehalt	118
6.7.4 „Sun Rutin x Demetra“ (15517x158) - Gleichzeitig hoher Rutin- und Flavanolgehalt	122
6.7.5 „Sun Rutin x [Sobano x (Ballada x F. homotropicum)]“ (15514x954) - Gleichzeitig hoher Rutin- und Flavanolgehalt	124
6.7.6 „Sun Rutin x Pulanska“ (15514x852) - Viel Rutin und wenig Flavanole	126



6.7.7 „Pulanska x Sun Rutin“ (852x15514) - Viel Rutin und wenig Flavanole	130
6.7.8 „Sun Rutin x Pulanska“ (1556x852) - Viel Rutin und wenig Flavanole	134
6.7.9 „Demetra x Hyuszowska“ (158(12)x26) - Viel Flavanole und wenig Rutin	138
6.7.10 „Sumchanka x Sun Rutin“ (615x1556) - Viel Flavanole und wenig Rutin	142
6.8 Diskussion	144
<u>7.0 Gesamtdiskussion</u>	<u>156</u>
<u>8.0 Zusammenfassung</u>	<u>162</u>
<u>9.0 Datenanhang</u>	<u>164</u>
<u>10.0 Chemikalienverzeichnis</u>	<u>180</u>
<u>11.0 Geräteverzeichnis</u>	<u>181</u>
<u>12.0 Literaturverzeichnis</u>	<u>182</u>
<u>13.0 Lebenslauf</u>	<u>195</u>
<u>14.0 Danksagung</u>	<u>197</u>



Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ANR	Anthocyanidinreduktase
ANS	Anthocyanidinsynthase
BuOH/HCL	Buthanol/Salzsäure
CHI	Chalkonisomerase
CHS	Chalkonsynthase
DC	Dünnschichtchromatographie
DFR	Dihydroflavonol 4-Reduktase
DMAZA	p-Dimethylaminozimtaldehyd
EtOH	Ethanol
FHT	Flavanon 3-Hydroxylase
FLS	Flavonolsynthase
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie
LAR	Leucoanthocyanidin 4-Reduktase
LC-MS/MS	Liquid Chromatography / Tandem Mass Spectrometry
MeOH	Methanol
NMR	Kernresonanzspektroskopie
sw	schwarz-weiß
Tab.	Tabelle
TS	Trockensubstanz

Zahlenkürzel der Buchweizenlinien in Kapitel 3.1

Buchstabenkürzel A/a-E/e in Kapitel 6.3



1.0 Einleitung

Im letzten Jahrzehnt haben phenolische Inhaltsstoffe in Verbindung mit einem veränderten Ernährungs- und Gesundheitsbewusstsein an Bedeutung gewonnen.

Zu dem Begriff „Qualität“ von Lebensmitteln zählen inzwischen nicht mehr nur äußere Merkmale wie Form, Farbe, Größe oder Gewicht. Die innere Qualität, d.h. die Inhaltsstoffe, haben einen ebenso hohen Stellenwert eingenommen. Der Buchweizen (*Fagopyrum esculentum*, Familie *Polygonaceae*) besitzt ein großes Spektrum an Inhaltsstoffen in Form hoher B-Vitamin-, Stärke- und Proteingehalte sowie bioaktiver Stoffe (FRANKE, 1989; REICHLING und HORZ, 1993; KÖTTER, 1998). Dabei ist vor allem das antioxidativ wirksame Flavonol Rutin zu nennen, welches nach HAGELS (1996) in Pflanzen selten in so hohen Konzentrationen vorkommt wie im Buchweizen. Der Buchweizensamen enthält bis zu 1% Rutin. In noch höheren Mengen kommt Rutin in den Buchweizenblüten (4-10% (TS)) und den Blättern (8-10% (TS)) vor.

Das aus Buchweizenkraut gewonnene Rutin wird zu Tabletten und Tee verarbeitet und im medizinischen Bereich zur Behandlung venöser Erkrankungen eingesetzt (GRÜTZNER und PATZ, 1998).

Das Korn enthält außer Rutin verschiedene Hydroxyzimtsäuren und zahlreiche Flavanole (HAGELS, 1996; WATANABE, 1998).

Im Besonderen wird den Flavanolen eine stabilisierende Wirkung auf die Blutgefäße und positive Effekte auf die Herzkranzgefäße nachgesagt (AUGER et al., 2003). Darüber hinaus besitzen sie eine antioxidative, antimutagene Wirkung (DAUER et al., 1998; KAUR und KAPOOR, 2001).

In Japan, China und Polen gehört der Buchweizen zu den so genannten „funktionellen Lebensmitteln“, also Nahrungsmitteln mit vermeintlich gesundheitsfördernder Wirkung (QINGGUO T. et al., 2002).

China, Polen, Russland und die Ukraine gehören zu den Hauptproduzenten und gleichzeitig auch zu den Hauptkonsumenten. Trotzdem zählt der Buchweizen mit einer weltweiten Produktion von 2,5 Mio. t (FAO, 2005) zu den züchterisch und anbaumäßig eher vernachlässigten Pflanzenarten.

Diese „Vernachlässigung“ geht auf die geringen Kornerträge zurück, hervorgerufen durch die Selbstinkompatibilität der Blüten, die einen geringen Kornansatz von nur 12% mit sich bringt (ZELLER, 2001). Diese Heterostylie kann mit Hilfe der vor kurzem neu entdeckten Wildart *F. homotropicum*



(OHNISHI und ASANO, 1998), welche homostyl und damit selbstfertil ist, züchterisch behoben werden. Der Selbstfertilitätsmechanismus wird durch ein einziges Gen bedingt und kann von der Wildart auf die Kulturart übertragen werden (ZELLER und HSAM, 2004).

Züchterisch gesehen ist der Buchweizen eine sehr junge Kulturpflanze mit noch zahlreichen Wildpflanzenmerkmalen. Der in der Sorte „Sumchanka“ natürlich vorkommende determinierte Wuchs gilt wie die Korngröße und das Korngewicht sowie Frosttoleranz als wichtige Züchtungsziele. Ein weiteres wichtiges Züchtungsziel stellt die Verbesserung der inneren Qualität, d. h. die Erhöhung des Phenolgehaltes und im Speziellen des Rutingehaltes dar. Bei den Flavanolen ist noch nicht ausreichend geklärt, in wie weit die Procyanidine Einfluss auf die Verdaulichkeit des Korns beim Menschen und beim Tier hinsichtlich ihrer proteinbindenden Eigenschaften nehmen (BUTLER, 1988; KOLODZIEJ, 1994; MC MAHON et al., 1999).

Diese Erkenntnisse lassen den Schluss zu, dass niedrige Procyanidingehalte im Buchweizen für die tierische Ernährung vorteilhaft sind, um eine vollständige Verdauung des Buchweizenproteins und damit die Gewichtszunahme bei den Tieren gewährleisten zu können, während bei der menschlichen Ernährung hohe Flavonol- und Procyanidingehalte wichtig sind, um die gesundheitsfördernden Wirkungen dieser Verbindungen zu nutzen.

Das Ziel dieser Arbeit bestand in der Selektion neuer Buchweizenlinien mit optimierten Phenolgehalten und -zusammensetzungen. Dazu wurden Linien selektiert, die eine auffällige Phenolmatrix aufwiesen, d. h. Formen mit hohen Rutin- und hohen Flavanolgehalten oder mit einem hohen Gesamtphenolpotential, die gleichzeitig große Mengen Rutin und Flavanole aufwiesen.

Diese Linien wurden miteinander gekreuzt und die Nachkommen mittels Einzelkornanalysen untersucht, um die Vererbung der Phenole zu untersuchen und Möglichkeiten zukünftiger Züchtungsstrategien aufzuzeigen. Gleichzeitig wurden die phenolischen Inhaltsstoffe im Buchweizenkorn aufgereinigt und identifiziert. Auf diese Weise wurden neue Procyanidinstrukturen gefunden, die zusammen mit den übrigen in großen Mengen im Korn enthaltenen Flavanolen, neben dem bekannten Rutin, positiven Einfluss auf die menschliche Gesundheit nehmen können.



2.0 Literaturübersicht

2.1 Biologie und Herkunft

Buchweizen (*Fagopyrum esculentum* MOENCH) gehört nicht, wie aufgrund des Namens anzunehmen ist, zu den einkeimblättrigen Getreidearten (Fam. *Poaceae*), sondern zu den zweikeimblättrigen Pseudogetreiden in die Familie der Knöterichgewächse (Fam. *Polygonaceae*) und ist mit Rhabarber und Sauerampfer verwandt.

Es handelt sich um eine einjährige, krautige Pflanze mit aufrechtem Wuchs und wechselständigen, herzpfeilförmig zugespitzten Blättern. Das glänzende Laub sitzt an mehrfach verzweigten Stängeln, die hohl und glatt sind. Die Pflanzen erreichen eine Höhe von bis zu 1,20 m. Charakteristisch für die Polygonaceen sind die zu einer Blattscheide, der sog. Ochrea, verwachsenen Nebenblätter (KUHLMANN, 1998; FRIEDRICH et al., 2000; MCCLEMENT und JACKSON, 1971).

Die zwittrigen Blüten sitzen blattwinkel- und endständig an doldenähnlichen Rispen. Die Blütenhülle ist blumenkronartig und fünfteilig. Die weiß bis pinkfarbenen Blüten besitzen 8 freistehende Staubblätter, die in einem inneren Kreis von 3 und einem äußeren Kreis von fünf um den Griffel angeordnet sind. Der Fruchtknoten besteht aus 3 Fruchtblättern, die von einem drüsigen, nektarenhaltenden Ring umgeben sind (ZELLER und HSAM, 2004).

Der Buchweizen ist selbstinkompatibel und besitzt zwei Blütenformen, eine mit langem Griffel und kurzen Staubblättern, die zweite mit kurzem Griffel und langen Staubblättern. Dadurch können sich die Blüten nicht selbst bestäuben. Die Blüten werden hauptsächlich über Insekten bestäubt, da die Windbestäubung nach ADHIKARI und CAMPBELL (1998) keine bedeutende Rolle spielt. Die Nüsse sind dreikantig, 4 bis 6 Millimeter lang und erinnern in ihrem Aussehen an Bucheckern. Die Farbe ist variabel von silbergrau bis schwarz bis hin zu marmorierten Samen. Die Nussfrüchte werden als Getreideersatz verwendet. Die gemahlene Nüsse haben dabei eine fast so weiße Farbe wie Weizenmehl.

Die Herkunft des Buchweizens wird im Nordwesten Chinas in der Provinz Yunnan vermutet. Dort wurde eine Wildform von *Fagopyrum esculentum* ssp. *ancestralis* von OHNISHI (1991, 1998b) gefunden. Danach ist die Subspezies auch einjährig, heterostyl mit einem ähnlichen Habitus und besitzt den gleichen Chromosomensatz ($2n=16$) wie die Kulturform.



2.2 Anbau und Produktion

Die FAO[STAT] (Food and Agriculture Organisation) ermittelte 2005 die in Tab. 1 aufgeführten Produktionsdaten. Insgesamt wurden im Jahr 2005 2.529.794 t auf einer Fläche von 2.520.358 ha angebaut. China war im Jahre 2005 mit 1.300 000 t auf einer Fläche von 920.000 ha der größten Buchweizenproduzent. Russland lag mit 605.000 t und einer Fläche von 1.330.700 ha darunter. Die Ukraine produzierte 210.000 t, Frankreich 85.000 t. Die USA, Kasachstan, Brasilien, Japan, Weißrussland und Litauen produzierten Mengen zwischen 15.000 t und 65.000 t. In Kanada wurden 2005 1.000 t Buchweizen auf einer Fläche von 3.000 ha produziert.

Land	Produktion (t)	Fläche (ha)
China	1.300.000	920.000
Russland	605.000	1.330.700
Ukraine	210.000	369.000
Polen	90.204	74.363
Frankreich	85.000	31.000
USA	65.000	65.000
Kazakhstan	58.000	40.000
Brasilien	48.000	45.000
Japan	20.000	43.000
Weißrussland	15.000	15.000
Litauen	15.000	17.000
Kanada	1.000	3.000
Welt	2.529.794	2.520.358

Tab. 1: Produktion (t) und Anbauflächen (ha) von Buchweizen (nach FAO, 2005)



2.3 Genetische Ressourcen

Der gewöhnliche Buchweizen variiert in zahlreichen Merkmalen, wie Korngröße und -form, der Schalen- und Blütenfarbe, der Wuchshöhe oder der Blattgröße und -form. Die Blütenfarbe ist in Europa, Nordamerika und Japan normalerweise weiß, in Südost-Asien und Südchina dagegen oft pink. Die genetische Vielfalt ist sehr groß, doch die Kommerzialisierung und der damit verbundene Austausch von Buchweizensorten, die züchterisch untereinander weiter verbessert wurden, hat zu einer Verengung der genetischen Diversität geführt. Die Dokumentation dieser Züchtungsarbeiten ist lückenhaft und lässt nur wenige Schlüsse über die ursprünglichen Sorten zu (CAMPBELL, 1997).

In den Bergregionen Südchinas existieren zahlreiche lokale Sorten, die aufgrund der abnehmenden Produktion bedroht sind und durch produktivere Getreidearten ersetzt werden. In Europa wurde dies mit dem Verschwinden des hellrosa blühenden Buchweizens dokumentiert, der innerhalb von 100 Jahren durch weißblühende Sorten ersetzt wurde (OHNISHI, 1993).

Letztlich besteht die Gattung *Fagopyrum* aus 15 Buchweizenarten, von denen nur zwei als Nahrungs- und Futtermittel verwendet werden (CAMPBELL, 1997).

Der tatarische Buchweizen (*Fagopyrum tataricum*), eine verwandte Art des Echten Buchweizens (*Fagopyrum esculentum*), besitzt homostyle Blüten und ist selbstfertil. Zudem verfügt er über eine höhere Frosttoleranz als der empfindliche Echte Buchweizen. Der tatarische Buchweizen erzielt doppelt so hohe Samenerträge und der Rutingehalt liegt weit über dem von Echem Buchweizen. Das Problem des tatarischen Buchweizens ist jedoch der bittere Geschmack, der in zahlreichen Ländern abgelehnt wird (ZELLER und HSAM, 2004). Der Versuch, Echten mit tatarischem Buchweizen zu kreuzen schlug fehl. Einzig eine Embryo-In-vitro-Vermehrung brachte Nachkommen hervor, die jedoch alle steril waren (ADACHI et al., 1989; CAMPBELL, 1997). In Mittel- und Ostasien existieren noch zahlreich *Fagopyrum*-Wildarten, die jedoch alle nicht mit dem Echten Buchweizen kreuzbar sind (CAMPBELL, 1997)

1990 fand OHNISHI (1991) in Südchina eine weitere Wildart, *F. homotropicum*. Diese stellte sich als sehr wertvoll heraus, da sie homostyl ist, selbstfertile Blüten aufweist und außerdem mit *F. esculentum* kreuzbar ist. Diese Entdeckung eröffnete für die Buchweizenzüchtung ganz neue Möglichkeiten, da nun Homostylie, d.h. Selbstfertilität in *F. esculentum* übertragen



werden konnte und damit der Samenertrag des bisher ertragschwachen Echten Buchweizens gesteigert werden kann.

Der Genpool von *Fagopyrum* wird nach HARLAN (1975) in 3 Kategorien eingeteilt. Zum primären Genpool zählen die 3 Arten *esculentum*, *esculentum* ssp. *ancestrale* und *homotropicum*. *Esculentum* und *esculentum* ssp. *ancestrale* besitzen einen diploiden Chromosomensatz ($2n=16$) und sind selbststeril-heterostyl.

Bei der Art *Fagopyrum homotropicum*, welche selbstfertil und homostyl ist, wurden bisher Populationen mit einer diploiden Chromosomenzahl, sowie 3 tetraploide Populationen gefunden (OHNISHI und MATSUOKA, 1996). *Homotropicum* hat kleine, meist rosa-farbene kleistogame Blüten (OHNISHI, 1998a). Der Ertrag ist jedoch gering und die Körner haben keinen festen Sitz.

Der sekundäre Genpool setzt sich aus den Arten *F. tataricum*, *F. tataricum* ssp. *potanini*, *F. cymosum* (2x), *F. cymosum* (4x) und *F. giganteum* (=4x *F. tataricum* × 4x *F. cymosum*) zusammen.

F. tataricum und *F. tataricum* ssp. *potanini* haben jeweils 16 Chromosomen und sind selbstfertil und gleichzeitig homostyl. *F. cymosum* (4x) besitzt wie *F. giganteum* 32 Chromosomen, ist jedoch im Gegensatz zu *F. giganteum* selbststeril sowie heterostyl, ebenso wie *F. cymosum* (2x) (16 Chromosomen).

Zum tertiären Genpool zählen Arten wie *F. gracilipes*, *F. capillatum*, *F. pleioramosum* und *F. callianthum*, welche selbstfertil sind, von denen aber nur *F. gracilipes* gleichzeitig auch homostyl ist, alle anderen sind heterostyl. Die 4 Arten *F. urophyllum*, *F. leptopodum*, *F. lineare* und *F. statice* sind selbststeril und heterostyl zugleich. Alle 8 Arten besitzen 16 Chromosomen, bei *F. gracilipes* kommen gleichzeitig Formen mit 32 Chromosomen vor (ZELLER, 2001).



2.4 Inhaltsstoffe

2.4.1 Ernährungsphysiologie

Stärke stellt das wichtigste Kohlenhydrat im Buchweizensamen dar und macht mit bis zu 70% den größten Anteil aus. Die enthaltene Stärke besteht aus bis zu 25% aus Amylose und zu 75% aus Amylopektin (POMERANZ, 1985).

Die Proteine im Buchweizen machen einen Anteil von 11 bis 15% aus. Dieser Wert variiert je nach Sorte und Umwelteinflüssen. Wasserlösliche Globuline sind mit fast 70% die am stärksten vertretenen Proteine. Der übrige Anteil liegt mit 25% bei den Albuminen und mit etwa 4% bei den Prolaminen (CAMPBELL, 1997).

Die Buchweizenproteine zeichnen sich durch einen hohen Anteil essentieller Aminosäuren aus, der fast doppelt so hoch ist wie bei Getreidearten. Der Lysingehalt hat einen Anteil von 6,1%, Methionin liegt bei 2,5%, Tryptophan bei 1,4% und Leucine bei 6,4%. Aufgrund der Proteinzusammensetzung und des enthaltenen hohen Lysingehaltes weist Buchweizenprotein eine höhere biologische Wertigkeit als z.B. Weizen, Mais oder Soja auf (POMERANZ, 1985).

Das Buchweizenprotein besitzt eine geringe Verdaulichkeit, die nach EGGUM et al. (1981) auf die Ballaststoffe und bei IKEDA et al. (1991) auf die enthaltenen Tannine zurückzuführen ist. Buchweizen hat im Vergleich zu Getreide keine Kleberproteine und stellt daher für zöliakieerkrankte Menschen ein interessantes Nahrungsmittel dar.

Der Fettanteil im geschälten Buchweizensamen liegt bei 1,5-3,7%. Die Buchweizenschale hat den geringsten Fettanteil mit 0,4-0,9%, während im Embryo der höchste Gehalt mit 7-14% zu finden ist. Beim geschälten Samen wurden 2,1-2,6% ermittelt, von denen die einfach ungesättigte Ölsäure zu 36,5%, die mehrfach ungesättigte α -Linolensäure zu 35,5% und die gesättigte Palmitinsäure zu etwa 14,8% vorkommt (MAZZA, 1993).

Der Mineralgehalt liegt laut LOUMING et al. (2001) bei 24,3 mg/kg Zink, 12,1 mg/kg Kupfer, 17,4 mg/kg Mangan, 472,3 mg/kg Magnesium und 200-1000 mg/kg Eisen. Diese Werte sind sortenabhängig. Auch BONAFACCIA (2003) analysierte Spurenelemente in Buchweizenmehl und wies Se, Cr, Rb, Zn, Fe, Co, Sb, Ba, Ni, Ag, Hg und Sn nach.

Einen weiteren wichtigen ernährungsphysiologischen Aspekt stellen die hohen Vitamin-B (B1, B2, B6) und Vitamin E-Gehalte (alpha, beta, gamma) im Buchweizensamen dar (KÖTTER, 1998; HONDA, 2001; BONAFACCIA,



2003). Vor allem im Embryo und in der Aleuronschicht wurden verschiedene Fagopyritole, Galactosylderivate des *D-chiro*-Inositols, festgestellt, von denen die wichtigsten nach STEADMAN et al. (2000) A1, A2, A3 und B1, B2, B3 sind. B1 machte vom Gesamtfagopyritolgehalt den Hauptanteil mit 70% aus. *D-chiro*-inositol könnte nach PRZYBYLSKI (2004) möglicherweise als Therapeutikum in der diätischen Ernährung eingesetzt werden.

Beim Verzehr von Buchweizen kommt es bei einigen Menschen zu allergischen Reaktionen. Nach WANG et al. (2004) handelt es sich bei den Allergie-auslösenden Proteinen im Buchweizensamen um ein IgE bindendes Protein mit einer Molekülmasse von 24 kDa. Diese Antikörperaktivität der Immunglobulin Klasse E (IgE) löst Sofortreaktionen Typ (-1-Reaktionen) in Form von Nesselsucht, Magen-Darm-Erkrankungen, Asthma-Anfällen, Symptomen in Nase und Augen bis hin zu anaphylaktischen Schocks aus (WIESLANDER und NORBÄCK, 2001).

YOSHIMASU et al. (2000) sprechen von Proteinen mit Molekülmassen zwischen 14 und 18 kDa, die als Hauptallergene im Serum von Patienten gefunden wurden, die auf Buchweizen allergisch reagierten. MORITA et al. (2006) untersuchten das Vorkommen von Proteinen in verschiedenen Bereichen des Buchweizensamens, um das allergene Potential in Buchweizenmehl zu bestimmen, und fanden heraus, dass im Inneren des Samens nur sehr geringe Mengen der allergieauslösenden Proteine zu finden waren. Damit eröffnet sich die Möglichkeit, Mehl mit einem geringeren Allergenanteil zu produzieren.

2.4.2 Pharmakologische Aspekte

Buchweizen wird nicht nur als Nahrungs- oder Futterpflanze für Mensch und Tier angebaut, sondern auch verstärkt als Arzneipflanze, denn Buchweizen enthält ein breites Spektrum an phenolischen Verbindungen, allen voran das bekannte und quantitativ stark vertretene Flavonol Rutin. Buchweizenblätter enthalten Rutin in Mengen von 8-10% der Trockenmasse, der Samen bis zu 1%, so dass die Buchweizenpflanze als natürlich vorkommende Rutinquelle verwendet wird (OHSAWA und TSUTSUMI, 1995; WATANABE, 1998; KREFT et al., 1999).

Rutin werden zahlreiche positive Effekte auf die menschliche Gesundheit zugeschrieben. Dazu zählt die Verbesserung von Veneninsuffizienz, die Senkung von Gefäßpermeabilität und Blutdruck, sowie Arterioskleroseprophylaxe (KNEKT et al., 1996; OOMAH und MAZZA, 1996; CHAO et al. 2002;



FABJAN, 2003). Für medizinische Zwecke wird das Buchweizenkraut zu Tees und Tabletten verarbeitet, den Samen allein wird, abgesehen von ihrem Nährwert, keine arzneiliche Wirkung zugeschrieben (FRIEDRICH, 2000).

HOLASOVA et al. (2002) untersuchten die antioxidative Kapazität von Buchweizenkörnern mit und ohne Schale sowie Blättern im Vergleich zu Hafer und Gerste. Dabei wurde bei den Blättern die höchste antioxidative Kapazität gemessen, gefolgt von geschältem Buchweizensamen, ungeschältem Korn, Gerste und Hafer. BRIGGS et al. (2004) verglichen den Rutingehalt von *Fagopyrum esculentum* und *Fagopyrum tataricum* und fanden höhere Gehalte in tatarischem Buchweizen, der gleichzeitig höheres antioxidatives Potential aufwies. QUIAN et al. (1999) verglichen 5 Buchweizensorten hinsichtlich ihres Flavonoidgehaltes und ihrer Radikalfängereigenschaften und kamen zu dem Schluss, dass die Sorte der bestimmende Faktor für die antioxidative Kapazität ist. PU et al. (2004) fanden signifikante neuroprotektive Effekte bei der Untersuchung des Einflusses von Buchweizenphenolen auf ischämische Prozesse von Nervenzellen im Rattengehirn.

PARK und PARK (2004) untersuchten den Einfluss von tatarischem Buchweizenextrakt auf Hautkrebs- und Gehirntumorzellen und fanden toxische Wirkungen des Buchweizenextraktes auf Hautkrebszellen. IHME et al. (1996) stellten bei Patienten mit chronischer Veneninsuffizienz nach der Einnahme von Buchweizenkraut-Tee geringere Durchmesser der Oberschenkelvenen und eine reduzierte Gefäßpermeabilität fest. GUARDIA et al. (2001) untersuchten die entzündungshemmende Wirkung von Rutin, Quercetin und Hesperidin bei arthritiskranken Ratten und stellten fest, dass Rutin die effektivste Wirkung bei der Reduzierung von Ödemen, Kalkablagerungen und Gelenkversteifungen aufwies. HE et al. (1995) untersuchten den Einfluss von Buchweizen in der Nahrung auf Herzinfarkttrisiken. Dabei wurden mit dem Verzehr von Buchweizen ein verringerter Blutdruck und niedrigere Werte des LDL-Cholesterin im Blut beobachtet.

ARCHIMOWICZ-CYRYLOWSKA et al. (1996) verglichen den Effekt von Buchweizenkraut, *Ruscus*-Extrakt und dem Präparat Troxerutin bei sich entwickelnder diabetischer Retinopathie und fanden die stärksten Effekte nach Einnahme von Buchweizenkraut.



2.4.3 Sekundäre Inhaltsstoffe

2.4.3.1 Flavonole

Das Flavonol Rutin kommt in den Buchweizenblättern in Konzentrationen von 8-10% (TS), in den Blüten zwischen 4-10% (TS) und in den Stängeln in Mengen von bis zu 1% (TS) vor. Die Samen enthalten Konzentrationen von 1% (TS) Rutin in der Art *Fagopyrum tataricum*, bei *esculentum* liegt der prozentuale Anteil bei 0,4 (TS) (REICHLING und HORZ, 1993).

STEADMAN et al. (2001) untersuchten die Rutinkonzentrationen innerhalb des Buchweizenkorns und fanden heraus, dass die höchsten Konzentrationen in der Samenschale zu finden waren (0,8-4,4 g/kg). Weiterhin wurde festgestellt, dass in den Samen von *esculentum* geringere Rutinkonzentrationen von 0,2 bis 0,3 g/kg enthalten sind, während die Werte bei *tataricum* bei 81,0 g/kg im geschälten Korn lagen. In Tab. 2 wurden die Rutinkonzentrationen im geschälten Buchweizen Samen und der Schale verschiedener Sorten und Anbauländer anhand von Literaturdaten zum Vergleich wiedergegeben.

YAN et al. (2004) berichteten von einer sortenbedingten Variabilität des Rutingehaltes, verbunden mit einem sichtbaren Unterschied des Gehaltes in Zusammenhang mit dem Anbau in verschiedenen Regionen Chinas. Nach KÖTTER (1998) ist der Rutingehalt abhängig von den Wachstumsbedingungen der Pflanze und unterliegt tagesperiodischen Schwankungen. Zudem steht die Rutinbiosynthese in engem Zusammenhang mit der Photosynthese und wird im Licht stark gefördert. Im frühen Blühstadium der Pflanze wird die maximale Rutinkonzentration erreicht. FABJAN et al. (2003) stellten auch einen Zusammenhang zwischen dem Rutingehalt und der physiologischen Entwicklung der Pflanze fest. Der höchste Rutingehalt wurde im Kraut während der Blüte mit beginnendem Kornansatz beobachtet. OHSAWA und TSUTSUMI (1995) untersuchten den Einfluss der Jahreszeit auf den Rutingehalt und stellten einen höheren Gehalt unter Langtagbedingungen fest. Sie beobachteten außerdem große Schwankungen des Rutingehaltes zwischen den verwendeten Sorten. Nach KREFT et al. (2002), GERM (2004) und SUZUKI et al. (2005) besteht die Möglichkeit durch erhöhte UV-B Bestrahlung den Rutingehalt in den Blättern zu erhöhen.

Erhöhte Stickstoffdüngung zwischen 60 und 90 kg/ha hatte eine Reduzierung des Rutingehaltes mit einer gleichzeitigen Erhöhung der Blattmasse zur Folge (HAGELS et al., 2001). KALINOVA und DADAKOVA (2004) fanden dagegen mit



einer Stickstoffdüngung von 50 kg/ha keine Beeinflussung des Rutingehaltes.

Nach LEE et al. (2004) lässt sich der Rutingehalt nach siebentägiger Keimung von Buchweizensamen bei 25 °C im Vergleich zu ungekeimtem Buchweizensamen erhöhen.

Das Buchweizenkraut enthält β -Glucosidasen, die nach der Ernte, während der Trocknung des Krautes, Rutin zu Quercetin hydrolysieren können. Optimal ist deswegen eine kurze Trocknung bei höheren Temperaturen, um die Enzyme zu deaktivieren. Quercetin ist in der erntereifen Pflanze nicht mehr nachweisbar. Bei unsachgemäßer Trocknung erscheint es als Artefact (HAGELS, 1996). Mit präparativer HPLC fanden WATANABE et al. (1997) in der Buchweizenschale 5,0 mg/100 g (TS) Hyperin. HAGELS et al. (2001) stellten Quercitrinkonzentrationen von 0,35% (TS) in den Buchweizenblüten fest. In den Blättern lagen die Werte zwischen 0,005 und 0,03% (TS).

Literatur	Rutingehalt in Buchweizenmehl (mg/100 g (TS))	Rutingehalt in der Buchweizenschale (mg/100 g (TS))	Herkunft bzw. Land	Sorte
QUETTIER-DELEU et al. (2000)	2,3		Frankreich	La Harpe
QUIAN et al. (1999)	3,8 - 10,1		Deutschland	Astra/Lileja/Hruszowska/La Harpe/Prego
DIETRYCH-SZOSTAK (1999)	17,8		Polen	Hruszowska
KITABAYASHI et al. (1995)	14,5-18,9		Japan	
HOLASOVA et al. (2002)	18,4		Tschechien	Mischprobe
PARK et al. (2004)	22,6		Korea	Suwon 1
OOHMAH und MAZZA (1996)	34,3-62,3		Kanada	Manor/Manisoba
BRIGGS et al. (2004)	58,4		Kanada	Mischprobe
STEADMAN et al. (2001)	0,2-0,3	0,8-4,4	USA	Manor/Mancan
WATANABE et al. (1997)		4,3	Japan	Iwate zairai

Tab. 2: Literaturdaten über den Rutingehalt in Buchweizenmehl und -schalen verschiedener Buchweizensorten und Anbauregionen



2.4.3.2 Benzoe- und Hydroxyzimtsäuren

Im Buchweizenkraut wurden nach KÖTTER (1998) Benzoesäure, Hydroxybenzoesäuren, Gallussäure, Salicylsäure, Protocatechussäure, p,m-Hydroxybenzoesäure, Gallussäure-3-O-glykosid, Gentisinsäure-3-O-glykosid, sowie die Hydroxyzimtsäuren Zimtsäure, p-Cumarsäure, Sinapinsäure und Vanillinsäure nachgewiesen. Kaffeoyl-Chinasäureester wie die Chlorogensäure sind die quantitativ am stärksten vertretenen Komponenten im Buchweizenkraut (POMERANZ, 1985).

Die Blüten enthalten die größten Mengen Chlorogensäure mit einem Anteil von 0,25% (TS). In den Blättern wurden nur 0,01-0,03% (TS) gefunden. Neochlorogensäure kann in Mengen von bis zu 0,3% (TS) in den Blättern und 0,025% (TS) in den Blüten vor. In jungen Blättern waren die Konzentrationen höher als in älteren Blättern. Weiterhin wurden Gentisinsäure-5-O-glucosid in allen Pflanzenteilen und Ferulasäure in der Fruchtschale und im Kraut, Vanillin-, Homovanillin- und Homogentisinsäure identifiziert (HAGELS, 1996; HAGELS, 2001).

Bei Untersuchungen zu sorten- und umweltbedingten Effekten auf phenolische Säuren, fanden OOMAH et al. (1996) einen konstanten Gesamtgehalt zwischen 12 und 16 g/kg, von denen 3 g/kg veresterte Säuren und 8-13 g/kg Säureglykoside darstellen. Es wurde festgestellt, dass die Umwelt keinen signifikanten Einfluss auf die Phenolsäuregehalte hat, sehr wohl aber der Genotyp. Weiterhin wurde herausgefunden, dass kein Zusammenhang zwischen Kornfarbe, Proteingehalt und Phenolsäuregehalt besteht. DURKEE (1977) identifizierte in der Aleuronschicht des Buchweizenkorns Syringasäure, p-Hydroxybenzoesäure, Vanillinsäure und p-Cumarsäure in gebundener Form. Bei IQBAL et al. (2003) wurde das allelopathische Potential von Buchweizen untersucht. Dabei wurden stark hemmende Effekte auf Weizen und Salat festgestellt, die von im Buchweizen enthaltener Gallussäure ausgehen sollen.

2.4.3.3 Flavone

In den Keimblättern und den Samen wurden die Flavon-Glykosyle Apigenin-8-C-glucosid (Vitexin), Apigenin-6-C-glucosid (Isovitexin, Saponaretin), Luteolin-6-C-glucosid (Isoorientin, Homoorientin) und Luteolin-8-C-glucosid (Lutexin, Orientin) identifiziert (HAGELS, 1996; KÖTTER, 1998). WATANABE et al. (1997) und DIETRYCH-SZOSTAK und OLESZEK (1999) wiesen Orientin, Isoorientin, Glykoside des Luteolins, Vitexin und Isovitexin, sowie Apigenin-glycoside in der Buchweizenschale nach. Ausschließlich Isovitexin



kam auch im Samen vor.

2.4.3.4 Flavanole, Procyanidine und Anthocyane

Flavanole, Procyanidine und Anthocyane wurden im Buchweizen beobachtet, ihnen wurde jedoch keine große Beachtung zugemessen. Speziell für die Gehalte im Korn existieren nur wenige Angaben. Angaben zur Identifizierung der im Korn enthaltenen Flavanole finden sich bei WATANABE (1998) und QUETTIER-DELEU et al. (2000).

QUETTIER-DELEU et al. (2000) untersuchten den Flavanolgehalt sowie den Gehalt oligomerer Proanthocyanidine in Buchweizenmehl und -schale. Im Mehl wurde ein höherer Flavanolgehalt von 220 mg/100 g (TS) und 159,3 mg/100 g (TS) Procyanidinen als in der Schale mit 169,5 mg/100 g (TS) Flavanole und 137,5 mg/100 g (TS) Procyanidine gefunden. Die Hauptkomponente in Mehl und Schale stellte das dimere Procyanidin B2 mit Werten von 51,8 mg/100 g (TS) im Mehl und 48,9 mg/100 g (TS) in der Schale dar. Epicatechin kam in Mengen von 4,0 mg/100 g (TS) im Mehl und 1,1 mg/100 g (TS) in der Schale vor. Epicatechin-gallat und B2-3'-O-gallat wurden nur im Mehl in Mengen von 0,9 mg/100 g (TS) bzw. 0,5 mg/100 g (TS) gefunden. Procyanidin B5 wurde im Mehl nachgewiesen. WATANABE (1997) isolierte und identifizierte Phenole aus der Buchweizenschale und fand mit Dünnschichtchromatographie nach saurer Hydrolyse Cyanidin und Pelargonidin. WATANABE (1998) isolierte auch aus Buchweizensamen mittels Sephadex-LH20 und präparativer HPLC 4 Catechine, (-)-Epicatechin, (+)-Catechin-7-O- β -D-glucopyranosid, (-)-Epicatechin 3-O-p-hydroxybenzoate und (-)-Epicatechin 3-O-(3,4-di-O-methyl)gallat. In den Keimlingen sowie den Blüten waren nach REICHLING et al. (1993) Anthocyane enthalten. Nach Behandlung von Wurzelhaaren von *esculentum* mit *Agrobacterium rhizogenes* wurde von MOUMOU et al. (1992) und TROTIN et al. (1993) die Synthese der 5 Flavano- le (+)-Catechin, (-)-Epicatechin, (-)-Epicatechin-3-O-gallat, Procyanidin B2 und Procyanidin B2-3'-O-gallat beobachtet.



2.4.4. Naphtodianthron

Diese Stoffgruppe wurde in Form der Fagopyrine bei Buchweizen und der Hypericine bei Johanniskraut (*Hypericum perforatum*) beschrieben. Vor allem junge Blüten enthalten Fagopyrin in Mengen von 0,01-0,03%, in den Blättern kommt es nur in sehr geringen Mengen vor, in den Samen ist es nicht nachzuweisen (FRIEDRICH et al., 2000; HAGELS, 2001). Es ist bekannt, dass Buchweizen, in großen Mengen als Futtermittel eingesetzt, bei Pferden, Rindern und Schweinen zu phototoxischen Reaktionen in Form von Entzündungen, Schwellungen und blasigen Verbrennungen an hellen Hautpartien kommen kann (REICHLING, 1993; HAGELS, 1996). Da Naphtodianthron lipophil sind, lösen sie sich nicht in Wasser und stellen damit kein Problem im Teeaufguss aus getrockneten Buchweizenblättern dar (BROCKMANN et al., 1950; KOETTER und THEURER, 1996).



3.0 Pflanzenmaterial

3.1. Verwendete Sorten und Wildarten

Für diese Arbeit stand ein umfangreicher Genpool von Buchweizenlinien und Wildarten zur Verfügung, der in Tab. 3 aufgeführt ist. Aus diesem Sortiment wurden Pflanzen selektiert, rückgekreuzt und geselbstet.

Daraus entstanden zahlreiche Linien, deren neu eingekreuzte äußeren Merkmale, wie Homostylie, determinierter Wuchs, fester Samensitz, großes Korn und hoher Ertrag, durch Selbstung stabil etabliert werden und zu homozygoten Linien führen sollten. Die verschiedenen Buchweizenlinien befanden sich zu Beginn der vorliegenden Arbeit in unterschiedlichen Stadien der Rückkreuzung und Selbstung. Die Homostylie der Blüten konnte jedoch nicht bei allen Linien aufgrund des äußeren Erscheinungsbildes als vollständig stabil eingestuft werden, da Aufspaltungen innerhalb einer Nachkommenschaft beobachtet wurden. Die folgende Tabelle 3 enthält die auf ihre phenolischen Inhaltsstoffe hin analysierten Buchweizenlinien. Darin sind die Kurzbezeichnungen in Form von Buchstaben und Ziffern, das Herkunftsland der verwendeten Sorten sowie das Stadium der Rückkreuzung und Selbstung mit ausgewählten Kreuzungspartnern aufgeführt. Im Falle eines wichtigen äußeren Merkmals wurde dieses vermerkt.

Nr.	Kurzbezeichnung	Kreuzung der Sorten	Herkunft	Merkmal	Rückkreuzung	Selbstung
1	FE 02	<i>F. homotropicum</i>	Japan	homostyl	Wildart	-
2	FE 01	<i>F. tataricum</i>			Wildart	-
3	B24 K2/K26/61S6	Sumchanka SUN x <i>F. homotropicum</i>		determinierter Wuchs, homostyl	6	6
4	11gx02	Skorospelaja x <i>F. homotropicum</i>	Rußland/ Japan	homostyl	6	2
5	11S6	Skorospelaja	Rußland	homostyl	6	6
6	15x02	Siva x <i>F. homotropicum</i>	Slovenien/ Japan	homostyl	3	2
7	19x61/02	La Harpe x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	Frankreich/ Rußland/ Japan	homostyl	5	1
8	FE 26	Hruszowska	Polen	heterostyl	Sorte	
9	26x02	Hruszowska x <i>F. homotropicum</i>	Polen/Japan	determinierter Wuchs, homostyl	6	2
10	38x61/02	FAG 43/87 Silverhull x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	USA/ Rußland/ Japan	homostyl	3	2

Tab. 3, Teil 1: Verwendete Buchweizenlinien mit vollständigem Namen, Kürzel, Herkunft, phänotypischen Merkmalen und Anzahl der bereits vorgenommenen Rückkreuzungen und Selbstungen



Nr.	Kurzbezeichnung	Kreuzung der Sorten	Herkunft	Merkmal	Rückkreuzung	Selbstung
11	42x61/02	FAG 72/87 Serebristaja x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	-/Rußland/ Japan	homostyl	3	2
12	44x61S6	FAG 80/84 x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	-/Rußland/ Japan	homostyl	1	3
13	46x02	FAG 83 var. emarginatum x <i>F. homotropicum</i>	-/Japan	homostyl	4	2
14	48x61/02	Tankinskaya var. emarginatum x <i>F. homotropicum</i>	Rußland/ Japan	homostyl	3	2
15	59x61S6	Kora x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	Polen/Japan	homostyl	4	5
16	60S6	Krupinka SUN x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	Tschechien/ Rußland/ Japan	determinierter Wuchs, ho- mostyl	6	6
17	60(10)x[60x01/02]	Krupinka SUN x [(Krupinka SUN x <i>F. esculentum</i> ssp. <i>ancestralis</i>) x <i>F. homotropicum</i>]	Tschechien/ Japan	homostyl, determinierter Wuchs	3	3
18	FE 61	Sumchanka SUN	Rußland	heterostyl, determinierter Wuchs	Sorte	-
19	61S6 3/2 C32	Sumchanka SUN	Rußland	homostyl, determinierter Wuchs	6	6
20	61S6 3/2 C19	Sumchanka SUN	Rußland	homostyl, determinierter Wuchs	6	6
21	61S6 3/2 a34	Sumchanka SUN	Rußland	homostyl, determinierter Wuchs	6	6
22	67x61/02	Luba x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	Polen/ Rußland/ Japan	homostyl	6	2
23	70x02	Panda x <i>F. homotropicum</i>	Polen/Japan	homostyl	5	1
24	71x02	Mancan x <i>F. homotropicum</i>	Kanada/ Japan	homostyl	2	2
25	75x02	Harkönen x <i>F. homotropicum</i>	-/Japan	homostyl		
26	77x02	unbekannte Sorte x <i>F. homotropicum</i>	Brasilien/ Japan	homostyl	6	6
27	78x61/02	Rutina Smith Kline x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	-/Rußland/ Japan	homostyl	3	2
28	80x02	Ukrainka x <i>F. homotropicum</i>	Rußland/ Japan	homostyl	3	2
29	FE 85	Pulanska/PA054	-	heterostyl	Sorte	
30	85x02	Pulanska/PA054 x <i>F. homotropicum</i>	-/Japan	homostyl	3	4
31	88x02	NSL83124 x <i>F. homotropicum</i>	China/Japan	homostyl	3	2
32	FE 90	Ballada	-	heterostyl	Sorte	
33	90x02	Ballada x <i>F. homotropicum</i>	-/Japan	homostyl	6	3
34	93x61/02	Khazanckaya x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	-/Japan	homostyl	5	2
35	94x61/02	Chirminskaya x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	-/Japan	homostyl	2	2
36	FE 95	Sobano	-	heterostyl	Sorte	

Tab. 3, Teil 2: Verwendete Buchweizenlinien mit vollständigem Namen, Kürzel, Herkunft, phänotypischen Merkmalen und Anzahl der bereits vorgenommenen Rückkreuzungen und Selbstungen



Nr.	Kurzbezeichnung	Kreuzung der Sorten	Herkunft	Merkmal	Rückkreuzung	Selbstung
37	95x90/02	Sobano x [Ballada x <i>F. homotropicum</i>]	-/-/Japan	homostyl	6	3
38	144x60S6	Kazanka x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	Rußland/ Rußland/ Japan	homostyl	5	4
39	FE 155	Sun Rutin	Korea	heterostyl	Sorte	
40	155xß4	Sun Rutin x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	Korea/ Rußland	homostyl	1	3
41	156xß4	Koghan x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	Pakistan/ Rußland	homostyl	4	1
42	FE 158	Demetra	Rußland	homostyl	Sorte	
43	158xK2	Demetra x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	Rußland/ Rußland/ Japan	homostyl, determinierter Wuchs	5	3
44	158(12)xK2	Demetra x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	Rußland/ Rußland/ Japan	homostyl, determinierter Wuchs	5	2
45	159xß2	Dicul x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	Rußland/ Rußland/ Japan	homostyl, determinierter Wuchs	4	6
46	160xß2	Dozdik x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	Rußland/ Rußland/ Japan	homostyl, determinierter Wuchs	5	2
47	164xK26	unbekannte Sorte x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	-/Rußland/ Japan	homostyl	6	1
48	165xK26	Manor x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	Kanada/ Rußland/ Japan	homostyl	3	1
49	166xß2	Manisoba x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	Kanada/ Rußland/ Japan	homostyl	4	1
50	167(2)xK26	Pavle Komar x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	-/Rußland/ Japan	homostyl	1	2
51	169xß7	Kazanskix [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	Tadschikistan urspr. Rußland	homostyl	3	2
52	[169(11)xß7]	Kazanski x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	Tadschikistan, urspr. Rußland	homostyl	5	2
53	170xß19	Astra x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	Deutschland	homostyl	1	3
54	172xß24	Kitawase x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	Japan/ Rußland/ Japan	homostyl	4	1
55	FE 173a	Irmenka	Tadschikistan	heterostyl	Sorte	1
56	173axß26	Irmenka x [Sumchanka x <i>F. homotropicum</i>]	Tadschikistan/ Rußland/ Japan	homostyl	6	3

Tab.. 3, Teil 3: Verwendete Buchweizenlinien mit vollständigem Namen, Kürzel, Herkunft, phänotypischen Merkmalen und Anzahl der bereits vorgenommenen Rückkreuzungen und Selbstungen



Nr.	Kurzbezeichnung	Kreuzung der Sorten	Herkunft	Merkmal	Rückkreuzung	Selbstung
57	174axβ17	Kaliminskiy x [SumchankaxF. <i>homotropicum</i>]	Rußland/ Rußland/ Japan	homostyl	3	2
58	FE 178	Mite Phapal	Nepal	heterostyl	Sorte	-
59	FE 179	Phapal	Nepal	heterostyl	Sorte	-
60	180xβ24	unbekannte Sorte x [Sumchanka x F. <i>homotropicum</i>]	Rumänien/ Rußland/ Japan	homostyl	6	1
61	FE 184	-	Ungarn	heterostyl	Sorte	-

Tab.. 3, Teil 4: Verwendete Buchweizenlinien mit vollständigem Namen, Kürzel, Herkunft, phänotypischen Merkmalen und Anzahl der bereits vorgenommenen Rückkreuzungen und Selbstungen

3.2 Anzucht der Pflanzen

Die Samen wurden in einer 1%igen Kalium-Nitrat-Lösung ausgelegt, um die Keimruhe zu verkürzen und dadurch ein schnelleres Keimen der Körner innerhalb weniger Tage zu erreichen. Nach Sichtbarwerden der Wurzeln wurden die Körner in schwach aufgedüngte Erde in Töpfen (18x18 cm) zu je 2 Pflanzen pro Topf ausgepflanzt.

Die im Gewächshaus stehenden Pflanzen wurden nach Bedarf gestäbt. Kurz vor der Blüte wurden die Pflanzen in insektensichere Glashäuser überführt, um eine Fremdbestäubung durch Insekten zu vermeiden. Die Aufzucht der Pflanzen konnte im Sommer aufgrund der hohen Temperaturen nicht im Gewächshaus weitergeführt werden, da sie zu geringem Kornansatz und Ertragseinbußen führte.

Daher wurden die Pflanzen im Freiland aufgezogen.

3.3 Probennahme

Bei den untersuchten Pflanzen handelte es sich teilweise um Buchweizenlinien, in die bereits fester Samensitz eingekreuzt war. Die übrigen Pflanzen, bei denen dieses Merkmal noch nicht stabil war, werfen Samen bereits im unreifen Zustand ab. Im Falle festen Samensitzes konnten die Körner an der Pflanze vollständig ausreifen und anschließend beerntet werden. Bei Pflanzen ohne festen Samensitz mussten die Samen in regelmäßigen Abständen beerntet werden, um ein unkontrolliertes Abfallen und damit einen Samenverlust zu vermeiden. Die Samen reiften nach der Ernte aus.

Bei Pflanzen mit Samenabwurf konnte beobachtet werden, dass nicht alle Körner vollständig abreiften, d.h. die für die Linie typische Samenausfärbung erreichten. Diese unreifen Körner wurden separiert und nicht für den Vergleich der Phenolgehalte der einzelnen Buchweizenlinien herangezogen.



Die Körner der beernteten Pflanzen wurden kurzfristig bei Zimmertemperatur in Papiertüten gelagert und längerfristig bei -18°C tiefgefroren.

3.4 Kreuzungen

Nach Eintreten der Blüte konnte eine Unterscheidung von selbststerilen und selbstfertilen Pflanzen aufgrund des unterschiedlichen Blütenbaus vorgenommen werden. Die Blüten der als „Mütter“ verwendeten Pflanzen zeigten einen ausgeprägt langen Griffel und kurze Staubgefäße, die Pflanzen, die als „Väter“ verwendet wurden, hatten homostyle Blüten, d.h. mit gleich langen Griffeln und Staubgefäßen. Die Kreuzungspartner einer Kombination wurden zusammen gruppiert und von den übrigen Pflanzen separiert. Die Bestäubung erfolgte täglich, morgens, nach Aufgehen der Blüten, immer zur gleichen Tageszeit. Zur Einzelkornanalyse der Elterngeneration dienten Körner, deren Geschwister als Elterngeneration ausgepflanzt und gekreuzt wurden. Die aus der Kreuzung entstandenen Körner wurden als F_1 -Generation bezeichnet.

Diese Körner wurde angebaut und die Pflanzen anschließend geselbstet. Die Nachkommenschaft dieser Pflanzen war die F_2 -Generation. Diese Körner wurden wiederum ausgepflanzt und die Blüten geselbstet. Die daraus hervorgegangenen Körner wurden als F_3 -Generation definiert.



4.0 Methodik

4.1 Methode zur Extraktion von Rutin und Flavanolen aus Buchweizensamen

4.1.1. Vorversuche Extraktion

Um eine möglichst erschöpfende Extraktion der im Buchweizen enthaltenen löslichen phenolischen Komponenten zu erreichen, wurden mehrere Lösungsmittel getestet. Das Ziel bestand darin, das im Buchweizen bekannte Flavonol Rutin, sowie die zahlreichen Flavanole optimal aus dem Samenmehl und der Schale zu extrahieren.

Um die verschiedenen Lösungsmittel miteinander vergleichen zu können, wurden 3 Buchweizenlinien analysiert.

Bei allen Linien wurde mit Mischproben von geschältem Korn gearbeitet. Korn und Schale wurden getrennt voneinander analysiert. Die Korn- und Schalenproben wurden in einer Kugelmühle pulverisiert. 100 mg des Pulvers wurden in 2,0 ml Eppendorffgefäße überführt.

1. Methanolisch/wässrige Extraktion:

Das Probenpulver wurde mit 50%, 80% und 100% MeOH versetzt. Dazu wurden 500 µl des jeweiligen Methanolgemisches auf 100 mg Probenpulver gegeben und kurz mit dem Vortexer gemischt. Anschließend kamen die Proben in ein auf 7 °C gekühltes Ultraschallbad mit einer variierenden Extraktionszeit von 15, 30, 45 und 60 min, um eine optimale Extraktionsdauer zu ermitteln.

Der so gewonnene Extrakt wurde anschließend für 10 min bei 10.000 U/min und 4 °C zentrifugiert und der Überstand in ein zweites Eppendorffgefäß überführt.

Der Rückstand wurde zweimal mit 250 µl des jeweiligen Methanolgemisches gewaschen und die Überstände nach Ultrazentrifugation (10.000 U/min) vereinigt. Der phenolische Extrakt wurde in einer Vakuumzentrifuge bis zur Trockne eingengt und bei -18° gelagert.

2. Ethanolische Extraktion:

Dabei wurde das unter 1. verwendete Lösungsmittel durch 100% Ethanol ersetzt. Die dort beschriebene Extraktion wurde ansonsten nicht verändert.



3. Wässrige Extraktion:

Bei der Extraktion mit Wasser wurden zwei Varianten getestet. Bei der Ersten wurden 100 mg Probenpulver mit H₂O reinst extrahiert und anschließend wie zuvor bei der methanolisch-wässrigen Extraktion verfahren.

Bei der zweiten Variante wurden 100 mg (TS) in 500 µl H₂O reinst für 30 min im Wasserbad gekocht und anschließend bei 4 °C und 10.000 U/min in 10 min abzentrifugiert. Der Überstand wurde in einer Vakuumzentrifuge bis zur Trockne eingengt und anschließend in 100 µl H₂O reinst wieder aufgenommen, im Ultraschall (4 °C) gelöst, abermals bei 4 °C und 10.000 U/min für 10 min zentrifugiert.

4.1.2 Optimierte Extraktion von phenolischen Inhaltsstoffen aus Buchweizensamen und -schale

Die Buchweizenproben wurden bei einem Gewicht von mehr als 150 mg (TS) in der Kugelmühle zu Mehl gemahlen. 100 mg des Probenpulvers wurden nach dem Mahlen in 2,0 ml Eppendorffgefäße überführt. Für die Extraktion wurde 80% MeOH in H₂O (reinst) verwendet, dem zuvor der interne Standard Flavon (0,02 mg/ml) zugegeben wurde. Die Zugabe des internen Standards diente der Berechnung der Wiederfindungsrate um später die Phenolgehalte quantitativ ermitteln zu können. Weiterhin wurden 100 mg Trockensubstanz mit 500 µl Lösungsmittel extrahiert.

Bei Proben mit einem Gewicht unter 150 mg (TS) wurde das geschälte Korn in einem Mörser mit einem Pistill und einer Spatelspitze Quarzsand fein zermahlen.

Um Verluste der Trockensubstanz zu vermeiden, wurde der Mörser mehrmals mit 80% Methanol gereinigt und die im Mörser verbliebenen Reste in ein Eppendorffgefäß gespült.

Sowohl die im Mörser, als auch die in der Schwingmühle gemahlene Proben wurden anschließend mit dem Vortexer gemischt und das Korn für 15 min, die Schale für 30 min, in einem auf etwa 7 °C gekühlten Ultraschallbad extrahiert.

Der so gewonnene Extrakt wurde anschließend für 10 min bei 10000 U/min und 4 °C abzentrifugiert und der Überstand in ein zweites Eppendorffgefäß überführt.

Der Rückstand wurde zweimal mit 250 µl 80% MeOH gewaschen und die Überstände nach Ultrazentrifugation (10.000 U/min) vereinigt. Der phenolische Extrakt wurde in der Vakuumzentrifuge bis zur Trockne eingengt und bei -18 °C gelagert.

Für die HPLC-Analyse wurden die getrockneten Proben wieder mit einem Fünftel des Ausgangsvolumens in 80% MeOH aufgenommen, mit der Endkonzentration des



internen Standards von 0,1 mg/ml. Das Gemisch wurde dann im gekühlten Ultraschallbad gelöst, bei 10.000 U/min 10 min zentrifugiert und anschließend 70 µl in Probengeberggefäße überführt. Davon wurden 10 µl in die HPLC zur Analyse injiziert.

4.1.3 Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die Analyse des Buchweizenkorns, d.h. die qualitative und quantitative Bestimmung der enthaltenen löslichen Phenole erfolgte über Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) mit Nachsäulenderivatisierung. Die von TREUTTER (1989, 1991) entwickelte empfindliche Methode der Nachsäulenderivatisierung dient speziell dem selektiven Nachweis von Flavanolen, die während der konventionellen Auftrennung und Detektion bei 280 nm häufig von Hydroxyzimtsäuren überlagert werden. Die nach der Säule aufgetrennten phenolischen Substanzen reagieren mit dem Reagens p-Dimethylaminozimtaldehyd (DMAZA), welches selektiv an Flavanole bindet. Die dabei entstehenden blauen Reaktionsprodukte können nach einer Reaktionszeit von 2,1 min bei 640 nm selektiv erfasst werden. Dies bewirkt eine Verschiebung der Retentionszeit bei 640 nm mit Nachsäulenderivatisierung um 2,1 min im Vergleich zur vorgeschalteten Detektion bei 280 nm.

4.1.3.1 HPLC-Gerätekonfiguration

HPLC-Anlage mit Nachsäulenderivatisierung (HPLC-CRD-Technik) und Dioden-Array-Detektor:

Gerätekonfiguration:	
Probengeber	Gilson-Abimed Modell 231
Lösungsmittelpumpen	Kontron Modell 422
Flussrate	0,5 ml/min
Pumpe für Nachsäulenderivatisierung	Gynkotheke Modell 300C
Flussrate	0,5 ml/min
Detektor I	Diodenarray-Detektor, BioTek Kontron 540+ (DAD), für den Wellenlängenbereich von 200-600 nm
Säule I	250 mmx4 mm; gefüllt mit Shandon ODS Hypersil; Partikelgröße 3 µm
Säulentemperatur	Raumtemperatur
Säule II	Macherey-Nagel; 250 mmx4 mm; gefüllt mit Nucleosil 120-3 C18 Partikelgröße 3 µm



Säulentemperatur	Raumtemperatur
Lösungsmittel	A: 5%-ige Ameisensäure B: MeOH gradient grade
Nachsäulenderivatisierung	gestrickte PTFE-Kapillare, Länge 10m, Innendurchmesser 0,5 mm
Reagenz zur Nachsäulen- derivatisierung	1% DMAZA (Dimethylamino- zimtaldehyd) in MeOH/ H2SO4 (konz. 95-97%); Mischungsverhältnis 11 : 1
Detektor II	Kontron Detektor 432, eingestellt auf die feste Wellenlänge 640 nm
Injiziertes Probenvolumen	10 µl
Datenverarbeitung	Geminix

Tab. 4: HPLC - Gerätekonfiguration

Zeit (min)	% B in A	
0-5	5	Isokratisch
5-10	5-10	
10-15	10	Isokratisch
15-35	10-15	
35-55	15	Isokratisch
55-70	15-20	
70-80	20	Isokratisch
80-95	20-25	
95-125	25-30	
125-145	30-40	
145-160	40-50	
160-175	50-90	
175-195	90	isokratisch
Regeneration: 195-210	90-5	
Äquilibration: 210- 235	5	isokratisch
Analysendauer DAD	195 min	
Analysendauer Detektor II nach Nachsäulenderi- vatisierung bei 640 nm	160 min	
Analysendauer und Regeneration der Säule	235 min	

Tab. 5: HPLC-Gradientenverlauf der Lösungs-
mittel

4.1.3.2 Quantitative Bestimmung

Die Formel zur Berechnung der quantitativen Phenolgehalte setzt sich aus 3 Rechenschritten zusammen. Die detektierten Peakflächen, der zu berechnenden Substanzen, werden mit Hilfe des Responsefaktors in Masse umgerechnet. Der Responsefaktor stellt dabei das Verhältnis von mg Substanz/ 1 Peakflächeneinheit einer Reinsubstanz dar, die zuvor in definierter Konzentration in die HPLC injiziert wird. Der zweite Schritt stellt die Angleichung an die feste Bezugsgröße 1 g Trockensubstanz dar und mit dem dritten Schritt wird die Konzentrationsänderung mit dem internen Standard ausgeglichen.

Als interner Standard wurde Flavon mit einer Endkonzentration von 0,1 mg/ml verwendet. In Abb. 1 wurde eine konzentrationsabhängige Kalibrationsgerade des Flavonstandards abgebildet. Daraus war erkennbar, dass die verwendete Konzentration von 0,1 mg/ml im linearen Bereich lag.

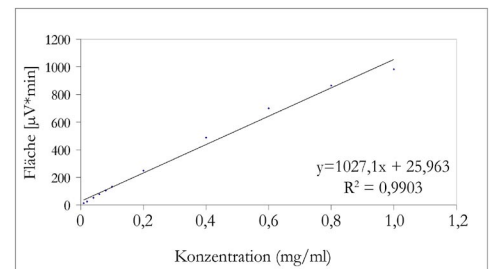


Abb. 1: Flavon-Kalibrationsgerade zur Be-
stimmung des linearen Bereichs des verwen-
deten internen Standards



Berechnungsformel:

$$\text{Gehalt (i)} = \frac{\text{RF(i)} * \text{A(i)}}{\text{RF(iS)} * \text{A (iS)}} * \text{MF} * \text{Konz(iS)}$$

Gehalt (i)	=	Gehalt der Einzelsubstanz in der Trockensubstanz der Probe
RF (i)	=	Responsfaktor des Einzelpeaks (mg/Area)
A(i)	=	Peakfläche des Einzelpeaks
MF	=	Multiplikationsfaktor, der Konzentration auf 1 g Trockensubstanz bezieht
Konz (iS)	=	Konzentration des internen Standards
RF (iS)	=	Responsfaktor des internen Standards
A (iS)	=	Peakfläche des internen Standards

Die Bestimmung der Responsfaktoren erfolgte anhand der definierten Konzentration einer Reinsubstanz im Verhältnis zur erhaltenen Peakfläche nach Injektion in die HPLC.

Durch den Wechsel des Säulenmaterials kam es zu keiner bedeutenden Veränderung des Responsfaktors.

Die im Buchweizenextrakt detektierten Peaks wurden anhand ihrer UV-Spektren und Absorptionsmaxima in phenolische Stoffklassen unterteilt.

Die als Hydroxyzimtsäuren identifizierte Substanzen, bei denen es sich um Derivate und nicht um Aglycone handelte, wurden als Chlorogensäure bei einer Wellenlänge von 320 nm berechnet, da diese Verbindung aufgrund ihrer Struktur eine Unterschätzung der Gehalte verminderte.

Weitere Substanzen, die der Stoffgruppe der Flavonole zugeordnet werden konnten wurden als Rutin bei 360 nm berechnet.

Flavanole wurden, wenn bekannt, mit dem jeweiligen Responsfaktor berechnet, ansonsten als Epicatechin bei einer Wellenlänge von 640 nm. Als Flavanole identifizierte Substanzen, die aufgrund ihrer Struktur nicht mit dem selektiv wirkenden Reagenz Dimethylaminozimtaldehyd (DMAZA) reagierten und bei 640 nm detektiert werden konnten, wurden als Catechin bei einer Wellenlänge von 280 nm berechnet. Nicht weiter in Stoffgruppen einzuordnende Verbindungen, die weiterhin als unbekannt galten, wurden als Chlorogensäure bei 280 nm berechnet.



Substanz	Wellenlänge (nm)	RF (mg/A)
Chlorogensäure	280	1,76x10 ⁻⁵
	320	1,03x10 ⁻⁵
Rutin	360	2,23x10 ⁻⁵
Catechin	280	4,46x10 ⁻⁵
	640	0,13x10 ⁻⁵
Epicatechin	280	4,65x10 ⁻⁵
	640	0,09x10 ⁻⁵
Procyanidin B2	640	0,18x10 ⁻⁵
Epicatechin 3-O-(3,4-di-O-methyl)gallat	640	0,29x10 ⁻⁵
Flavon (interner Standard)	280	0,76x10 ⁻⁵

Tab. 6: Responsfaktoren

Stoffgruppen	Peak	berechnet als	Wellenlänge (nm)
Benzoessäuren	1,2,3	Chlorogensäure	280
Hydroxyzimtsäuren	4,5,6,7,8,9,10	Chlorogensäure	320
Flavonole	11,12	Rutin	360
Flavanole	13	Catechin	640
	19,20,21	Catechin	280
	14,16,17,18, 23,24, 25,26,27, 28,29,30,31,33, 34,35,36,37,38	Epicatechin	640
	15	Procyanidin B2	640
	22	Epicatechin-gallat	640
	32	Epicatechin-3-O-(3,4-Di-O-Methyl) Gallat	640
Unbekannte Phenole	39,40	Chlorogensäure	280

Tab. 7: Zuordnung der Responsfaktoren

4.1.3.3 Ratio (640 nm/280 nm)

Das Ratio gibt das Verhältnis einer Peakfläche bei 640 nm zur Fläche des gleichen Peaks bei 280 nm an. Mit diesem Verhältnis können Rückschlüsse auf den Polymerisierungsgrad von Catechinen und Proanthocyanidinen geschlossen werden (TREUTTER et al., 1994).

Bei Ratios über 30 wurde von einer monomeren Struktur ausgegangen, bei Ratios zwischen 18 und 30 von einer dimeren Struktur und bei Ratios unter 19 von einer mindestens trimeren Struktur. Zwischen 18 und 20 wurde keine klar definierte Grenze gefunden. Für die Definition dieser Grenzen wurden bekannte Standards verwendet.



4.1.4 Ergebnisse

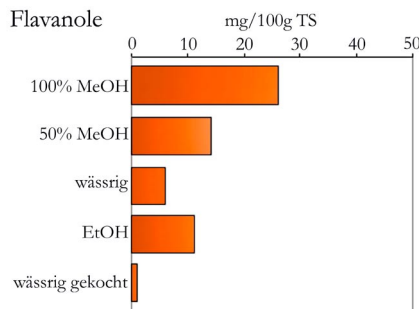
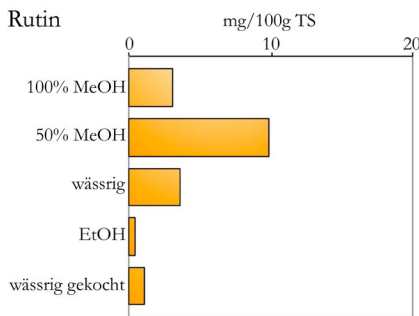
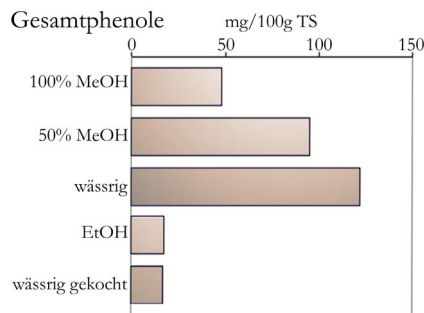


Abb. 2: Gesamtphenol-, Rutin- und Flavanolgehalt der Linie 184 unter Verwendung verschiedener Lösungsmittel zur Extraktion

Buchweizensamen enthielten neben Rutin und verschiedenen Hydroxyzimtsäuren zahlreiche Flavanole. Da bei den folgenden Analysen speziell auf diese Substanzgruppen Wert gelegt wurde, musste eine Extraktionsmethode etabliert werden, die diese Stoffgruppen gleich gut extrahieren konnte. Aus diesem Grund wurden an 3 Buchweizenlinien unterschiedliche Lösungsmittel und verschiedene Extraktionszeiten getestet.

In Abbildung 2 wurde der extrahierte Gesamtphenol-, Rutin- und Flavanolgehalt der Buchweizenlinie 184 unter Verwendung verschiedener Lösungsmittel dargestellt. Bei der Quantifizierung des Gesamtphenolgehaltes war deutlich zu erkennen, dass die wässrige Extraktion das beste Ergebnis mit 121,7 mg/100 g (TS) erreichte.

Unter Verwendung von 50% MeOH konnten 95,3 mg/100 g (TS) extrahiert werden, mit 100% MeOH nur noch 47,8 mg/100 g (TS). Die ethanolische, sowie die wässrig-gekochte Extraktion zeigten deutlich schlechtere Ergebnisse als die anderen 3 Methoden.

Rutin ließ sich am Besten mit 50% Methanol extrahieren. Mit 100% Methanol wurde nur noch ein Drittel dieser Rutinmenge extrahiert, bei der wässrigen Extraktion konnte auch nur noch ein Drittel festgestellt werden. Die ethanolische sowie die wässrig-gekochte Methode konnten Rutin nur sehr schlecht aus dem Buchweizenmehl lösen.

Diese Reihenfolge blieb bei der Extraktion der löslichen Flavanole nicht bestehen. Die Extraktion mit 100% Methanol brachte mit 26,1 mg/100 g (TS) das beste Ergebnis. Mit 50%-igem Methanol konnten ein wenig über die Hälfte extrahiert werden, mit Ethanol nur noch 11,1 mg/100 g (TS). Die wässrige und wässrig-gekochte Methode erreichten wiederum nur sehr geringe Werte.

Insgesamt wurden bei der Extraktion mit 100% MeOH bei den Flavanolen die besten Ergebnisse beobachtet, mit 50%-igem Methanol wurden dagegen die höchsten Werte bei der Rutinextraktion festgestellt. Weiter wurde untersucht, ob sich eine Verbesserung der extrahierbaren Rutinmenge unter Beibehaltung von 100% MeOH mit einer veränderten Extraktionsdauer erreichen lässt. In Abbildung 3 ist deutlich zu erkennen, dass eine unterschiedlich lange Extraktion im Ultraschallbad und 100% MeOH als Lösungsmittel kaum einen Einfluss auf eine Extrahierbarkeit der phenolischen Verbindungen hatte. Die bisher verwendeten 30 min zeigten geringfügig bessere Ergebnisse bei der Menge der Gesamtphenole. Die übrigen Extraktionszeiten von 15, 45 und 60 min lagen dicht darunter. Eine geringfügig bessere Extraktion konnte auch bei der Rutinmenge mit 30 min



Ultraschallbad festgestellt werden. Die Flavanolgehalte waren den Ergebnissen nach bei 30 min geringfügig niedriger als bei den übrigen 3 Zeiten.

Weiterhin wurde geprüft, ob es bei der Verwendung von 50% MeOH als besserem Lösungsmittel für Rutin möglich ist, die Extraktion der Flavanole durch Variation der Extraktionsdauer zu verbessern. In Abbildung 3 ist deutlich zu sehen, dass es keinerlei Unterschiede beim Gesamtphenolgehalt bei den Zeiten von 15, 30 und 45 min Ultraschallbad gab. Die Werte bewegten sich zwischen 95,0 und 95,4 mg/100 g (TS).

Im Vergleich zur Extraktion mit 100% MeOH wurde mit 50% MeOH eindeutig mehr extrahiert. Bei Rutin wurden ähnlich geringe Unterschiede zwischen den Extraktionszeiten festgestellt. Die Mengen lagen zwischen 8,5 und 9,8 mg/100 g (TS), wobei im Vergleich zur Extraktion mit 100% MeOH (Abb. 4) deutlich höhere Rutingehalte zu verzeichnen waren. Bei den Flavanolen konnte mit einer Extraktionsdauer von 15 min ein geringfügig besserer Wert erreicht werden als bei 30 oder 45 min. Außerdem war zu sehen, dass die Menge der extrahierbaren Flavanole deutlich geringer war als bei 100%igem MeOH. Von diesen Ergebnissen ausgehend wurde versucht, mit 80%igem Methanol sowohl Flavanole als auch Rutin optimal zu extrahieren.

In Abbildung 5 werden die Gesamtphenol-, Flavanol- und Rutingehalte mit der Extraktion von 80% MeOH als Lösungsmittel und variierenden Ultraschallzeiten von 15, 30 und 45 min gegenübergestellt. Bei der Extraktion der phenolischen Verbindungen gab es wiederum nur geringe Unterschiede zwischen den einzelnen Extraktionszeiten. Aus Abbildung 5 wird ersichtlich, dass die höchsten Werte bei 15 min Ultraschallbad erreicht werden konnten. Im Vergleich zu 50%igem Methanol konnten mit 80% zwar geringere Gesamtphenolgehalte extrahiert werden, bei den Flavanolen wurden mit 80%igem MeOH jedoch höhere Werte als bei 50% MeOH erreicht.

Die Flavanolgehalte glichen zudem annähernd den Werten, die mit 100% MeOH als optimalem Extraktionsmittel erreicht wurden. Der Rutingehalt bei der Extraktion mit 80%igem MeOH entsprach den Werten mit 50%igem MeOH.

Zur weiteren Überprüfung wurden die Buchweizenlinien 60S6 und 90x02 mit 50%, 80% und 100% Methanol extrahiert, 60S6 zusätzlich noch ethanolisch und wässrig (Ultraschallzeit jeweils 15 min). Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 6 und 7 dargestellt.

Bei der Extraktion von Kornmehl der Buchweizenlinie 60S6

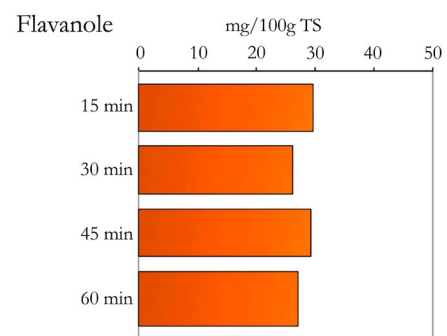
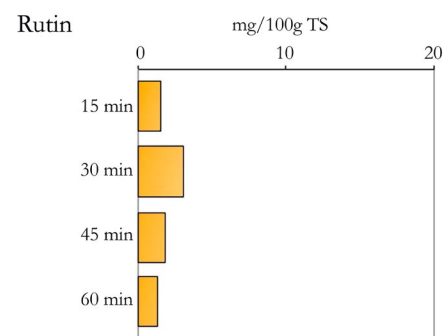
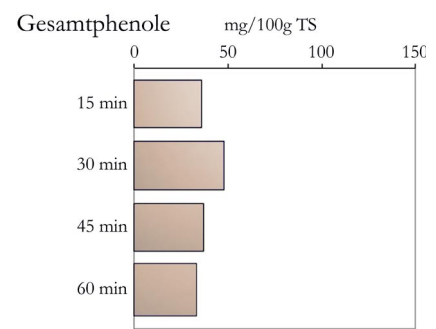


Abb. 3: Gesamtphenol-, Rutin- und Flavanolgehalt der Linie 184 unter Verwendung von 100% MeOH als Lösungsmittel zur Extraktion und einer unterschiedlichen Extraktionsdauer

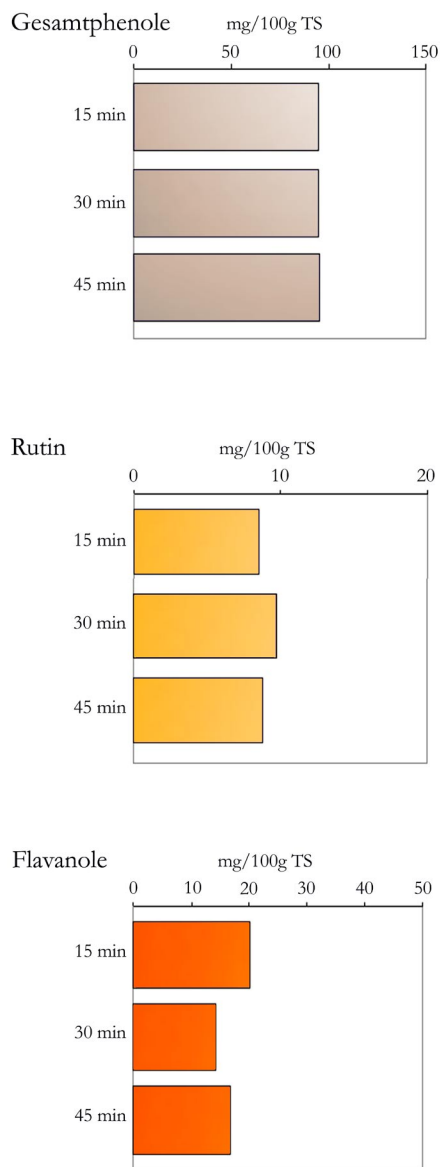


Abb. 4: Gesamtphenol-, Rutin- und Flavanolgehalt der Linie 184 unter Verwendung von 50% MeOH als Lösungsmittel zur Extraktion und einer unterschiedlichen Extraktionsdauer

mit den Lösungsmitteln 50%, 80%, 100% MeOH, EtOH und H₂O reinst konnten die bisherigen Ergebnisse bestätigt werden. Bei der Linie 90x02 erreichte die Extraktion mit 100% MeOH die höchsten Flavanolwerte. Dagegen wurden mit 80% MeOH sowohl Rutin als auch die Gesamtphenole besser herausgelöst.

Um die Reproduzierbarkeit der Extraktion mit 80% MeOH zu überprüfen, wurden jeweils 3 Proben der Linien 184, 60S6 und 90x02 unter gleichen Bedingungen extrahiert und verglichen. Die Ergebnisse sind in Abb. 8 dargestellt. Dabei zeigten sich nur geringe Standardabweichungen vom Mittelwert, die bei der Linie 184 zwischen 2,4 und 5% lagen, bei der Linie 90x02 zwischen 0,4 und 4,0% und bei der Linie 60S6 zwischen 3,0 und 5,0%.

In den Tab. 8-10 wurde der prozentuale Rutinanteil dargestellt, der bei der Extraktion mit 80%igem MeOH im Vergleich zu 50% verloren ging. Das Gleiche wurde bei der Flavonolextraktion mit 80% MeOH im Vergleich zur optimalen Variante mit 100% MeOH geprüft.

Aus den Tabellen wird ersichtlich, dass der Rutinverlust bei der Extraktion mit 80%igem MeOH bis zu 28% im Vergleich zu 50% MeOH betrug. Bei der Buchweizenlinie 90x02 wurde mit 80%igem MeOH sogar eine Verbesserung der Extraktion um 17 Prozentpunkte im Vergleich zu 50% MeOH beobachtet. Mit 100% MeOH wurde ein Extraktionsverlust von bis zu 69% festgestellt.

Bei den Flavanolen wurde mit der Extraktion mit 80% MeOH im Vergleich zum 100%igen MeOH ein Verlust von bis zu 13% beobachtet. Bei den zwei Buchweizenlinien wurde kein Verlust, sondern vielmehr eine Verbesserung der extrahierten Menge im Vergleich zu 100% MeOH festgestellt. Mit 50% MeOH war im Vergleich zu 100% ein Verlust von bis zu 45% zu erkennen.

Für die Extraktion der folgenden Kornproben wurde eine Extraktion mit 80% MeOH und einer Extraktionsdauer von 30 min gewählt, da die Verwendung eines der anderen Lösungsmittel zu negativ für eine der Phenolgruppen ausgefallen wäre.

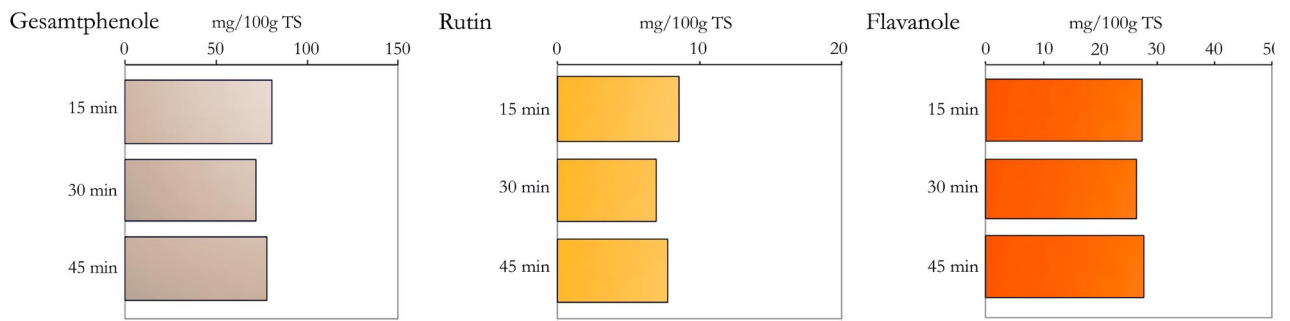


Abb. 5: Gesamtphenol-, Rutin- und Flavanolgehalt der Linie 184 unter Verwendung von 80% MeOH als Lösungsmittel zur Extraktion und einer unterschiedlichen Extraktionsdauer

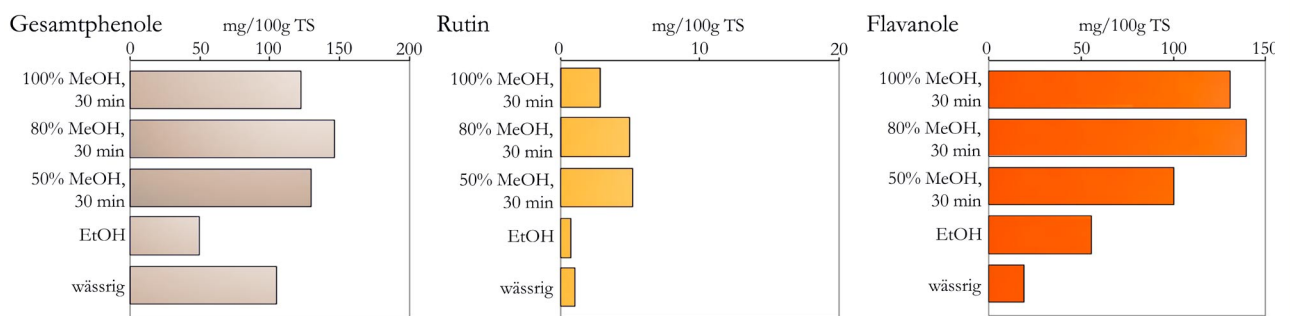


Abb. 6: Gesamtphenol-, Rutin- und Flavanolgehalt der Linie 60S6 unter Verwendung von 100%, 80% und 50% MeOH als Lösungsmittel zur Extraktion mit einer Extraktionsdauer von 30 min

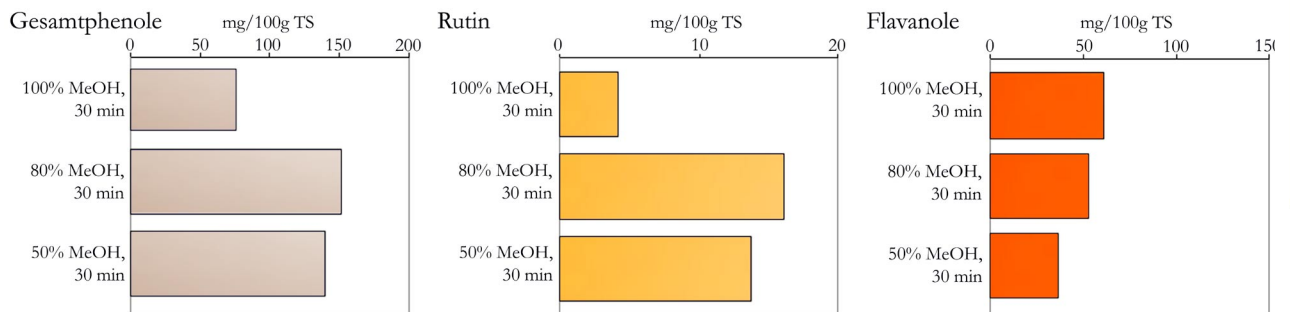


Abb. 7: Gesamtphenol-, Rutin- und Flavanolgehalt der Linie 90x02 unter Verwendung von 100%, 80% und 50% MeOH als Lösungsmittel zur Extraktion mit einer Extraktionsdauer von 30 min

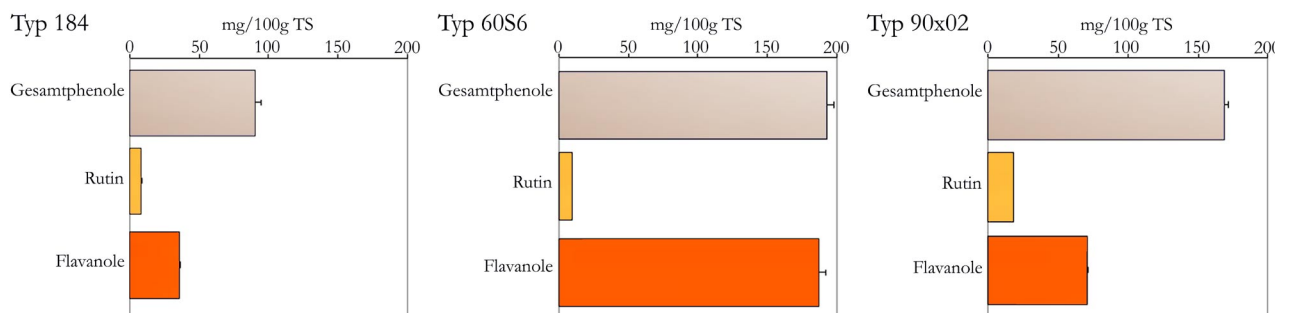


Abb. 8: Mittelwert mit Standardabweichung/2 von Gesamtphenolen, Rutin und Flavanolen der Buchweizenlinien 184, 60S6, 90x02 zur Sicherstellung der Reproduzierbarkeit der Methode



Sorte 184	Extraktionsausbeute		
Lösungsmittel	mg/100 g TS	%	Verlust
Rutin			
100% MeOH	3,0	31,0	69,0
80% MeOH	7,0	71,8	28,2
50% MeOH	9,8	100,0	-
Flavanole			
100% MeOH	26,1	100,0	-
80% MeOH	26,3	100,8	-
50% MeOH	14,3	54,9	45,1

Tab. 8: Prozentuale Extraktionsausbeute von Rutin und Flavanolen mit den verwendeten Lösungsmitteln 50%, 80% und 100% MeOH der Linie 184

Sorte 90x02	Extraktionsausbeute		
Lösungsmittel	mg/100 g (TS)	%	Verlust
Rutin			
100% MeOH	4,1	30,1	69,9
80% MeOH	15,9	117,0	-
50% MeOH	13,6	100,0	-
Flavanole			
100% MeOH	60,8	100	-
80% MeOH	52,9	87,0	13,0
50% MeOH	36,4	59,9	40,1

Tab. 9: Prozentuale Extraktionsausbeute von Rutin und Flavanolen mit den verwendeten Lösungsmitteln 50%, 80% und 100% MeOH der Linie 90x02

Sorte 60S6	Extraktionsausbeute		
Lösungsmittel	mg/100 g TS	%	Verlust
Rutin			
100% MeOH	2,8	53,8	46,2
80% MeOH	5,0	96,2	3,8
50% MeOH	5,2	100,0	-
Flavanole			
100% MeOH	131,1	100,0	-
80% MeOH	139,3	106,3	-
50% MeOH	100,0	76,3	23,7

Tab. 10: Prozentuale Extraktionsausbeute von Rutin und Flavanolen mit den verwendeten Lösungsmitteln 50%, 80% und 100% MeOH der Linie 60S6



4.2 Verwendung photometrischer Methoden zur schnelleren Bestimmung des Flavanol- und Procyanidingehaltes in Samen und -schale von Buchweizen

4.2.1 Photometrische Messung der Gesamtcatechine in Buchweizenkorn und -schale

4.2.1.1 Methode

2-10 µl Extrakt wurden je nach Konzentration mit 1490-1498 µl MeOH in einer Einmalküvette gemischt, um ein Endvolumen von 1,5 ml zu erhalten. Zu diesem Gemisch wurden 300 µl einer 1% DMAZA-Lösung gegeben, die aus einer Mischung aus 6 M HCL und Ethanol im Verhältnis 1:2 bestand. Für die Messung wurde diese Stammlösung wiederum in einem Verhältnis 1:5 mit Ethanol verdünnt und mit einem Rührstäbchen homogenisiert.

Die Bestimmung der Gesamtcatechinkonzentration erfolgte bei 640 nm am Spektralphotometer nach einer Reaktionszeit von 30 min im Dunkeln. Bei jeder Probe wurde eine Zweifachbestimmung durchgeführt.

Die Kalibration der Messungen erfolgte mit einem Catechinstandard, der parallel gemessen wurde. Die Ergebnisse der Kalibration sind in Abbildung 9 dargestellt.

Der Gesamtcatechingehalt wurde wie folgt berechnet:

$$\frac{\text{Ext.} * \text{Responsfaktor} * \text{Phenolischer Extrakt} (\mu\text{l})}{\text{EW (TS)} (\text{g}) * \text{Probevolumen} (\mu\text{l})} = \text{mg Catechin} / \text{g Trockensubstanz}$$

Ext.	=gemessene Extinktion
Phenolischer Extrakt	= Aufnahme (z.B. Methanol) gesamt
EW (TS) (g)	= Einwaage Trockensubstanz
Probevolumen	= Extrakt in µl

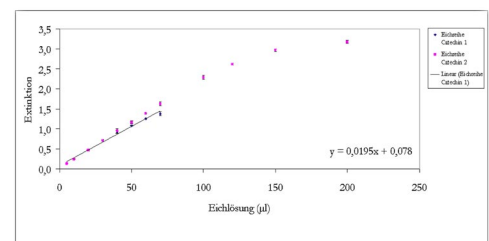


Abb. 9: Catechin-Kalibrationsgerade



4.2.1.2 Ergebnisse

Die photometrische Messung mit dem selektiv färbenden Reagenz Dimethylaminozimtaldehyd (DMAZA), stellt eine schnelle Methode zur Erfassung von Flavanolen mit einem hohen Probendurchsatz dar. Es sollte geprüft werden, ob die aufwändige HPLC-Methode durch die Photometermethode ersetzt werden könnte. Bei der photometrischen Methode bilden vor allem monomere Flavanole mit dem sensitiven Reagenz DMAZA „blaue Komplexe“, die mit dem Photometer bei 640 nm gemessen werden konnten. Oligomere Procyanidine werden mit dieser Methode schlechter erfasst.

In Abb. 10 sind die Ergebnisse der Gesamtcatechinmessungen von 53 verschiedenen Buchweizenlinien abgebildet.

Zu den Buchweizenlinien mit den höchsten gemessenen Flavanolwerten gehörte die Linie 93x61/02 mit einem hohen Gesamtcatechingehalt von 383,0 mg/100 g (TS). Der Gesamtcatechingehalt von 95x90/02 befand sich bei 356,9 mg/100 g (TS).

Desweiteren wurde bei der Wildart *F. homotropicum* ein hoher Gesamtcatechingehalt von 205,0 mg/100 g (TS) gefunden. Bei den Buchweizenlinien 38x61/02, 93x61/02 und 85x02 wurden Gehalte bei 223,1, 246,0 und 206,3 mg/100 g (TS) gefunden.

Die Sorten FE 26, 61, 85, 90, 95, 155 und 158, sowie die Buchweizenlinien β 24, 61S6 3/2 C32, C19 und a 34 wiesen die niedrigsten Gesamtcatechingehalte zwischen 40,8 und 66,1 mg/100 g (TS) auf. Der Wert der Wildart *F. tataricum* lag mit 42,1 mg/100g (TS) auch im unteren Bereich. Die übrigen überprüften Buchweizenlinien wurden zwischen 100 und 200 mg/100 g (TS) ermittelt.

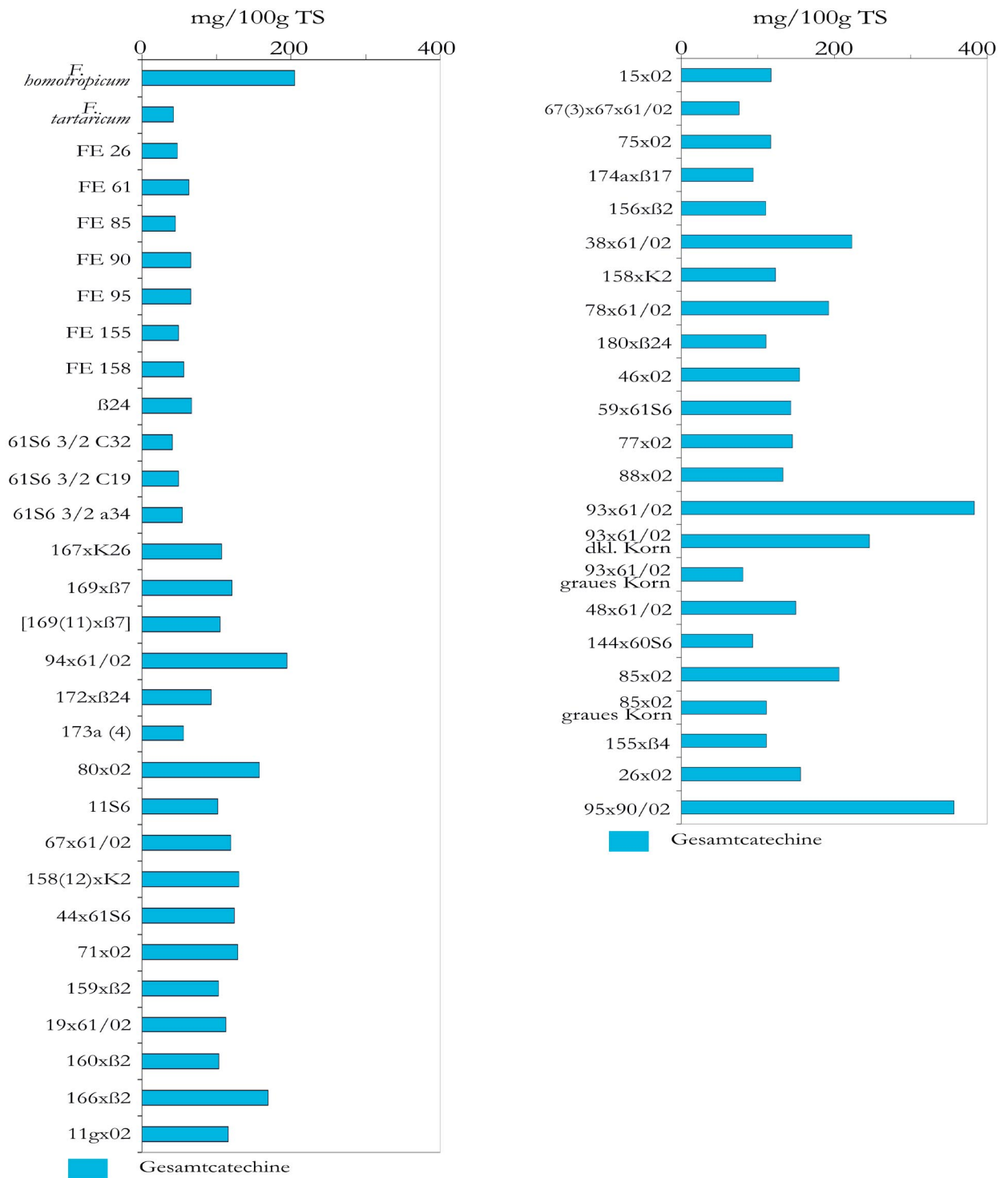


Abb.10: Gesamtcatechingehalte (mg/100 g (TS)) im Samen unterschiedlicher überprüfter Buchweizenlinien



4.2.2 Photometrische Messungen von löslichen und gebundenen Proanthocyanidinen in Samen und -schale von Buchweizen

4.2.2.1 Methode zur Bestimmung der löslichen Proanthocyanidine im Buchweizensamenextrakt

Die BuOH/HCL-Methode stellt ein schnelles photometrisches Verfahren zur Bestimmung von löslichen Proanthocyanidinen dar. Dazu wurden 10 µl Extrakt in ein Reagenzglas gegeben und mit 2 ml BuOH/HCL-Gemisch (4+1(6M)) am Glasrand heruntergespült.

Diese Lösung wurde 20 min im Wasserbad gekocht und anschließend 20 min zum Abkühlen stehen gelassen. Das Gemisch wurde in eine Einmalküvette überführt und am Photometer bei 540 nm gemessen. Von jeder Probe wurde eine Zweifachmessung durchgeführt. In Abb. 11 ist die Cyanidin-Kalibrationsgerade zur Bestimmung des linearen Bereichs dargestellt.

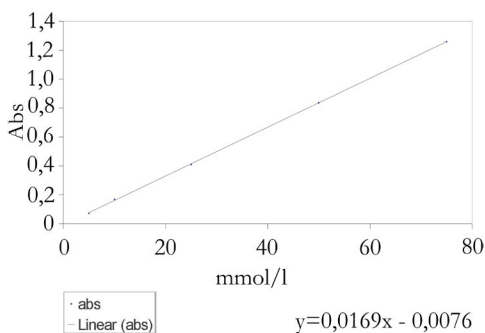


Abb.11: Cyanidin-Kalibration zur Bestimmung der linearen Bereiche

Die am Photometer gemessene Extinktion des durch Kochen mit HCL entstandenen Cyanidins wurde mit folgender Formel in mg/g Cyanidinchlorid (TS) umgerechnet:

$$\frac{\text{Ext. (Probe)} * \text{Konz. (Std. in Küvette)} [\text{mmol/l}] * M(\text{CyCl}) * \text{Phen. Extrakt} [\mu\text{l}] * \text{Kochvol.} [\text{ml}]}{\text{Ext. (Standard Cyanidin.)} * \text{Probevol.} [\mu\text{l}] * \text{EW}(\text{TS f. Extr.}) [\text{mg}]}$$

= mg Cyanidinchlorid / g Trockensubstanz

Ext. [mabs]	= Extinktion
Küv.vol. [µl]	= Probevolumen + BuOH/HCL
Kochvolumen [ml]	= BuOH/HCL
Probevolumen [µl]	= Volumen, das aus den Eppendorffgefäßen abgenommen wurde
EW (TS f. Extr.) [mg]	= ursprüngliche Einwaage extrahierte Trockensubstanz
Phen. Extrakt [µl]	= Aufnahme der extrahierten Trockensubstanz
M(CyCl) [g/mol]	= Molare Masse Cyanidinchlorid



4.2.2.2 Methode zur Bestimmung der gebundenen Proanthocyanidine im Extraktionsrückstand

50 mg des zuvor getrockneten Extraktionsrückstandes wurden mit 2 ml BuOH/HCL (4+1(6M)) in einem Reagenzglas versetzt. Dieses Gemisch wurde 60 min im Wasserbad gekocht und anschließend 20 min zum Abkühlen stehen gelassen. Eine Blindprobe wurde mitgekocht, gegen die später im Photometer gemessen wurde. Das abgekühlte Gemisch wurde in ein 2 ml Eppendorffgefäß überführt und 20 min bei 10 °C und 10.000 U/min zentrifugiert.

Danach wurden 1.800 µl BuOH/HCL in Einmalküvetten vorgelegt, dann 200 µl des Probevolumens zugegeben und mit einem Rührstäbchen gemischt.

Die Bestimmung des entstandenen Cyanidins erfolgte bei 540 nm am Photometer. Von jeder Probe wurde eine Wiederholung durchgeführt.

Die am Photometer gemessene Extinktion des durch Kochen mit BuOH/HCL entstandenen Cyanidins wurde mit folgender Formel in mg/g (TS) Cyanidinchlorid umgerechnet:

$$\frac{\text{Ext. (Probe)} * \text{Konz. (Standard Cyanidin in Küvette)} [\text{mmol/l}] * M(\text{Cyanidinchlorid}) [\text{mg/g}] * \text{Küv.vol.} [\mu\text{l}] * \text{Kochvol.} [\text{ml}]}{\text{Ext. (Std)} * \text{Probevol.} [\mu\text{l}] * \text{EW (Extraktionsrückstand)} [\text{mg}]}$$

= mg Cyanidinchlorid / g Trockensubstanz

Ext. [mabs]	= Extinktion
Küv.vol. (µl)	= Probevolumen + BuOH/HCL
Kochvolumen (ml)	= BuOH/HCL (ml)
Probevolumen (µl)	= Volumen, das aus den Eppendorffgefäßen abgenommen wurde
EW (TS f. Extr.) [mg]	= ursprüngliche Einwaage extrahierte Trockensubstanz
M(CyCl) [g/mol]	= Molare Masse Cyanidinchlorid



4.2.2.3 Ergebnisse

Bei der mit dem Photometer durchgeführten Methode zur Messung der Gesamtcatechine und der HPLC-Methode wurden lösliche Catechine und Proanthocyanidine erfasst.

Mit dieser Methode werden vor allem oligomere Proanthocyanidine nach dem Kochen mit BuOH/HCL als Anthocyanidin im Photometer bei einer Wellenlänge von 550 nm gemessen. Diese Methode wurde mit den HPLC-Ergebnissen verglichen, um, wenn möglich, die HPLC-Methode durch die schnellere Methode am Photometer zu ersetzen. Mit dieser Methode wurde außerdem überprüft, ob es sich bei den enthaltenen flavanolischen Verbindungen um Proanthocyanidinstrukturen handelt, die sich mit der BuOH/HCL-Methode besser erfassen und erklären lassen würden. Zusätzlich wurde mit den Extraktionsrückständen der Gehalt wandgebundener Proanthocyanidine ermittelt, um umfassendere Informationen über den Flavanolgehalt im Buchweizensamen zu erhalten.

In Abb. 12 sind die Gehalte gebundener und löslicher Proanthocyanidine im Samen der verschiedenen Buchweizenlinien dargestellt. Dabei wurde festgestellt, dass die Menge löslicher Proanthocyanidine geringer als die der wandgebundenen war und zwischen 15,6% und 42,2% vom Gesamtgehalt beider Werte ausmachte. Hohe Gehalte löslicher Proanthocyanidine wurden bei 94x61/02 mit 105,5 mg/100 g (TS), bei 78x61/02 mit 119,2 mg/100 g (TS), bei 88x02 mit 106,9 mg/100 g (TS), bei beiden Varianten von 93x61/02 mit 148,6 und 136,5 mg/100 g (TS) und der hellen Kornvariante von 85x02 mit 115,5 mg/100 g (TS) festgestellt. Die niedrigsten Gehalte wurden bei 61S6 3/2 C32 und 158xK2 mit 35,7 und 36,6 mg/100 g (TS) gefunden. Die übrigen Buchweizenlinien lagen zwischen 42,1 und 95,6 mg/100 g (TS). Bei den gebundenen Proanthocyanidinen wurde der höchste Wert bei dem Linie 48x61/02 mit 483,7 mg/100 g (TS) gefunden. Darunter befanden sich mit hohen Gehalten die Buchweizenlinien 80x02, 26x02 und 95x90/02 mit 323,3, 316,5 und 308,0 mg/100 g (TS). Zwischen 143,1 und 197,6 mg/100 g (TS) befanden sich die Gehalte der Linien *F. homotropicum*, *F. tataricum*, FE 26, FE 90, FE 95, FE 155, FE 158, 61S6 3/2 C32 und C19, 44x61S6, 19x61/02, 11gx02, 158xK2, 46x02, 59x61S6, 77x02, 93x61/02, 93x61/02 gr. Korn, 144x 60S6, 85x02 und 155xß4. Die übrigen Linien befanden sich zwischen 202,3 und 266,9 mg/100 g (TS). Der geringste Gehalt gebundener Proanthocyanidine wurde bei dem Buchweizenlinien 38x61/02 mit 107,9 mg/100 g (TS) ermittelt.

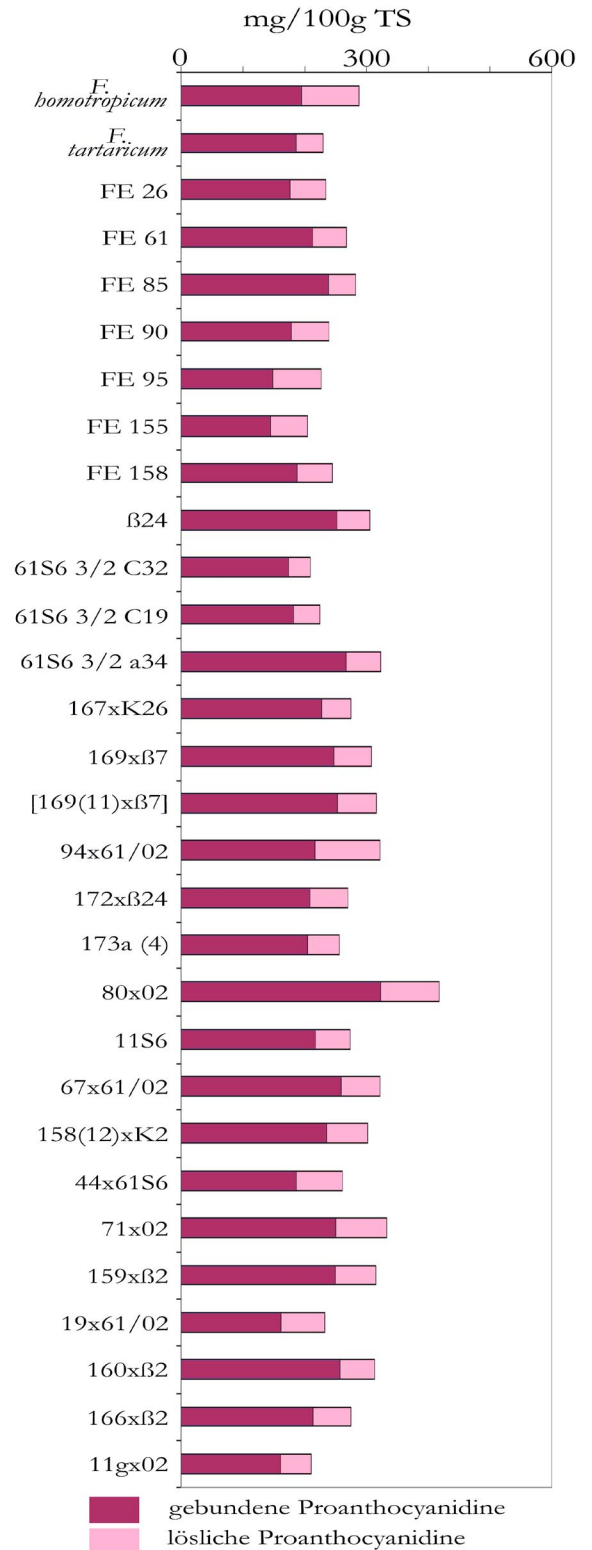
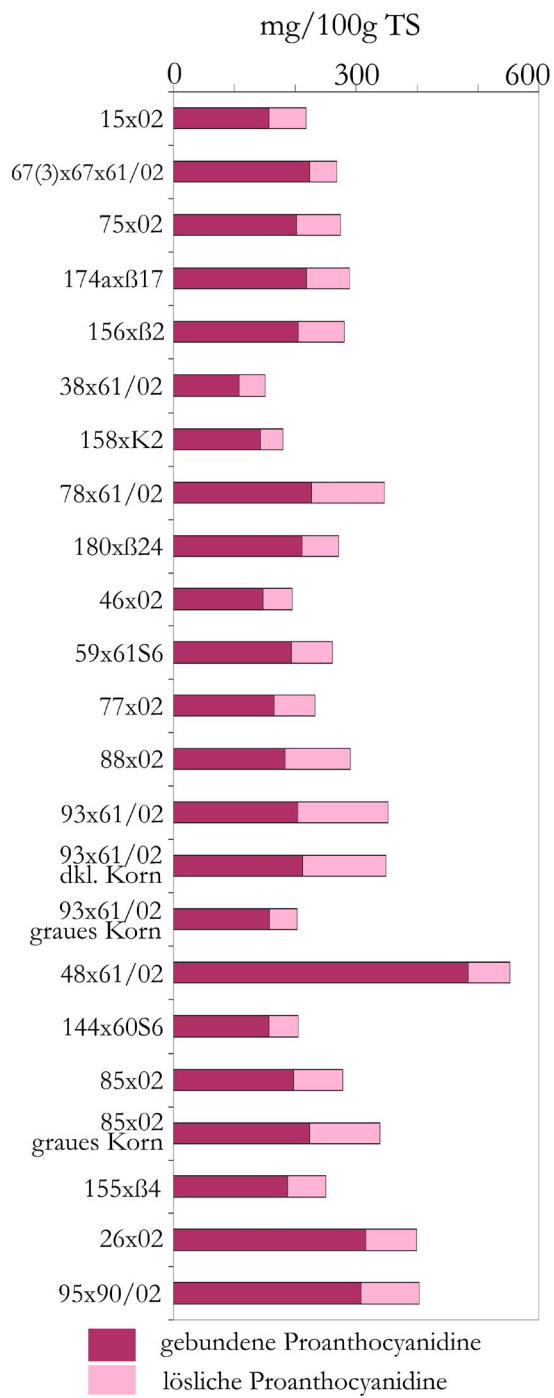


Abb. 12: Gehalte der löslichen und gebundenen Proanthocyanidine verschiedener untersuchter Buchweizenlinien (mg/100 g TS)

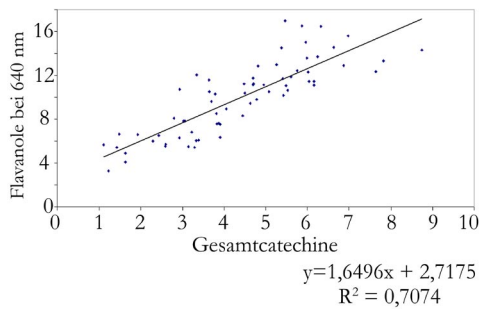


Abb. 13: Lineare Regression zwischen Flavanolen (HPLC) und Gesamtcatechinen (Photometer) im Buchweizensamen

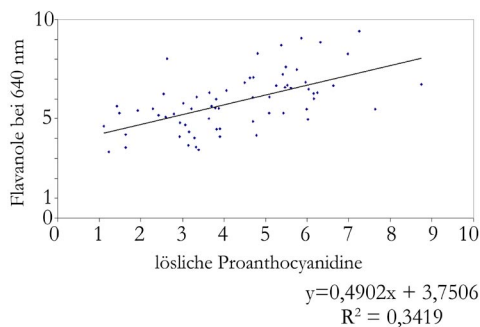


Abb. 14: Lineare Regression zwischen Flavanolen (HPLC) und löslichen Proanthocyanidinen (Photometer) im Buchweizensamen

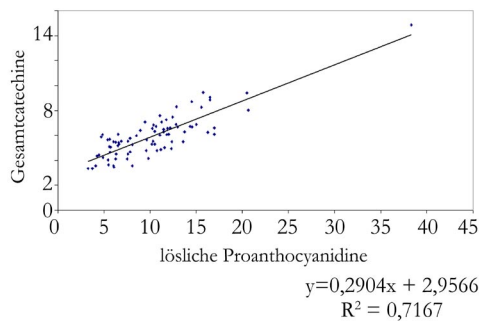


Abb. 15: Lineare Regression zwischen Gesamtcatechinen (Photometer) und löslichen Proanthocyanidinen (Photometer) im Buchweizensamen

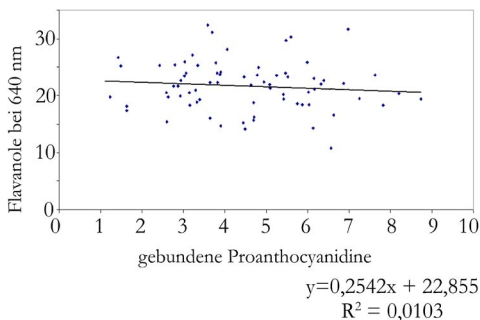


Abb. 16: Lineare Regression zwischen Flavanolen (HPLC) und gebundenen Proanthocyanidinen (Photometer) im Buchweizensamen

4.3 Zusammenhänge zwischen den getesteten Methoden

Die Werte der Methoden wurden miteinander korreliert um festzustellen, ob ein Zusammenhang zwischen HPLC-Werten und den mit Photometer ermittelten Ergebnissen bestand. Für die in Abb. 13 dargestellte Regression der mit HPLC bestimmten Flavanole und der am Photometer gemessenen Gesamtcatechine wurde ein Bestimmtheitsmaß von $R^2=0,71$ berechnet, das einen deutlichen Zusammenhang erkennen ließ, jedoch nicht ausreichte, um die HPLC-Methode durch die photometrische zu ersetzen. Mit dem Vergleich der absoluten Werte sowie der Regression wurde deutlich, dass mit der Gesamtcatechinmessung Verbindungen erfasst wurden, die mit der HPLC-Methode nicht quantifiziert wurden.

Die Regression der mit Hochdruckflüssigkeitschromatographie und Nachsäulenderivatisierung bestimmten Flavanole (640 nm) und der löslichen Proanthocyanidine mit dem Photometer sind in Abb. 14 dargestellt. Dabei wurde ein geringeres Bestimmtheitsmaß von $R^2=0,34$ berechnet, das erkennen ließ, dass sich die mit HPLC quantifizierten Werte nur zu 34% durch die photometrische Bestimmung von löslichen Proanthocyanidinen aus Buchweizenextrakt erklären ließen.

Bei der Korrelation der Gesamtcatechine mit den löslichen Proanthocyanidinen, die in Abb. 15 dargestellt sind, wurde ein Bestimmtheitsmaß von $R^2=0,72$ festgestellt. Mit knapp 72% konnte bei beiden Methoden ein erkennbarer Zusammenhang nachgewiesen werden.

Bei den HPLC-Werten und den gebundenen Proanthocyanidinen wurde mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2=0,01$ (Abb. 16) keine Korrelation bezüglich eines linearen Zusammenhanges gefunden.

Abbildung 17 zeigt, dass mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2=0,0012$ keinerlei Zusammenhang zwischen den im Photometer gemessenen Gesamtcatechinen und gebundenen Proanthocyanidinen bestand. Das gleiche Ergebnis konnte bei löslichen und gebundenen Proanthocyanidinen mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2=0,0004$ (Abb. 18) gefunden werden.

In der Schale wurde zwischen den HPLC-Werten und den mit dem Photometer ermittelten Gesamtcatechinen ein im Vergleich zum Korn etwas höheres Bestimmtheitsmaß von $R^2=0,85$ gefunden. Die berechnete Regression ist in Abb. 19 dargestellt. Auffällig war auch das Ergebnis in Abb. 20 zwischen den HPLC-Werten und löslichen Proanthocyanidinen mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2=0,72$, das bei den Ergebnissen der Kornanalysen bei $R^2=0,34$ lag.



In Abb. 21 ist die Regression zwischen Gesamtcatechinen und löslichen Proanthocyanidinen berechnet, mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2=0,90$, das im Vergleich zum Korn etwas höher lag und insgesamt einen deutlichen Zusammenhang der Werte beider Methoden widerspiegelte. Zwischen den HPLC-Werten und den gebundenen Proanthocyanidinen in Abb. 22 wurde erwartungsgemäß ein geringes Bestimmtheitsmaß von $R^2=0,19$ gefunden, welches im Vergleich zum Korn etwas besser abschnitt. Das gleiche Ergebnis fand sich für die Gesamtcatechine und gebundenen Proanthocyanidine in Abb. 23 mit einem Bestimmtheitsmaß von 12,9%.

In Abb. 24 wurde die Korrelation zwischen löslichen und gebundenen Proanthocyanidinen dargestellt mit einem errechneten Bestimmtheitsmaß von $R^2=0,14$. Letztendlich wurde sowohl mit dem Vergleich der absoluten Werte als auch mit den Korrelationen deutlich, dass die mit Hochdruckflüssigkeitschromatographie gewonnenen Werte nicht durch die photometrischen Messungen beider Methoden zu ersetzen waren. Es wurde nicht sichergestellt, dass die identischen Verbindungen oder zusätzlich Strukturen in der Küvette gemessen werden, die in die Quantifizierung mit eingerechnet werden.

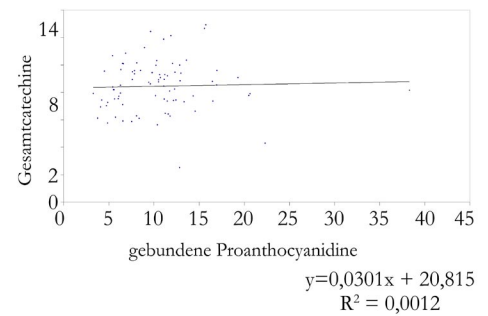


Abb. 17: Lineare Regression zwischen Gesamtcatechinen (Photometer) und gebundenen Proanthocyanidinen (Photometer) im Buchweizensamen

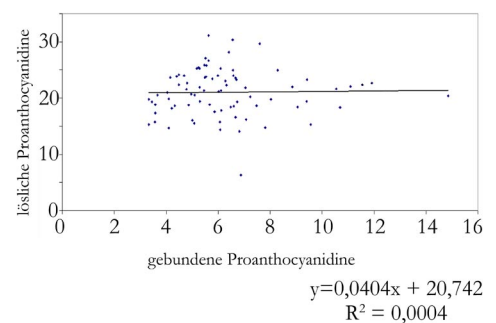


Abb. 18: Lineare Regression zwischen löslichen und gebundenen Proanthocyanidinen (Photometer) im Buchweizensamen

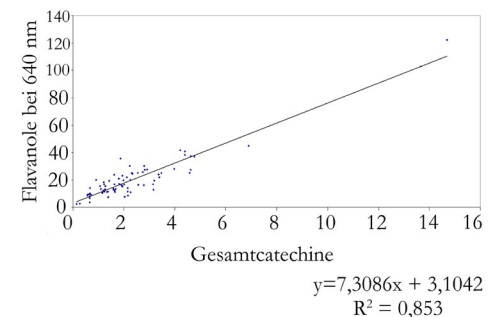


Abb. 19: Lineare Regression zwischen Flavanolen (HPLC) und Gesamtcatechinen (Photometer) in der Buchweizenschale

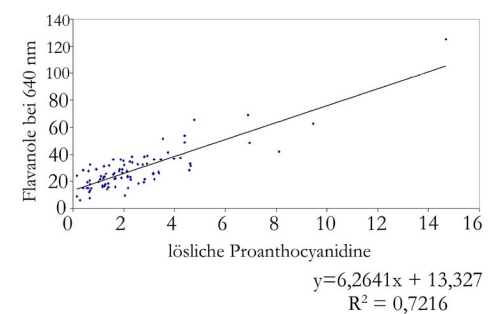


Abb. 20: Lineare Regression zwischen Flavanolen (HPLC) und lösliche Proanthocyanidine (Photometer) in der Buchweizenschale

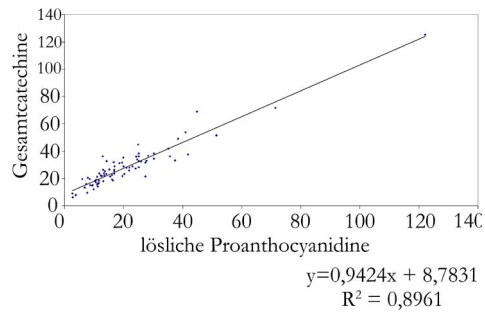


Abb. 21: Lineare Regression zwischen Gesamtcatechinen (Photometer) und löslichen Proanthocyanidinen (Photometer) in der Buchweizenschale

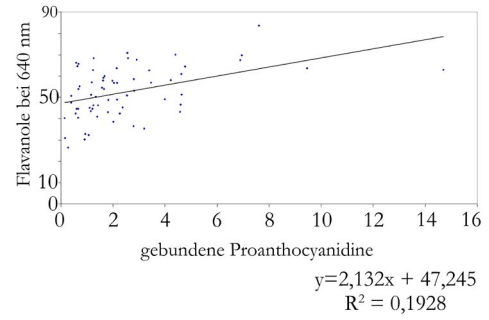


Abb. 22: Lineare Regression zwischen Flavanolen (HPLC) und gebundenen Proanthocyanidinen (Photometer) in der Buchweizenschale

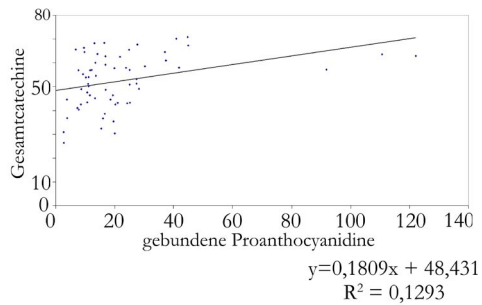


Abb. 23: Lineare Regression zwischen Gesamtcatechinen (Photometer) und gebundenen Proanthocyanidinen (Photometer) in der Buchweizenschale

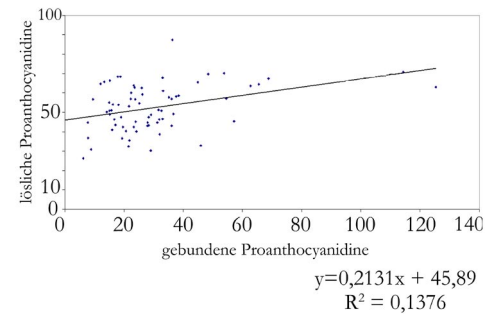


Abb. 24: Lineare Regression zwischen löslichen und gebundenen Proanthocyanidinen (Photometer) in der Buchweizenschale



4.4 Diskussion

Das Ziel der Arbeit, phenolische Inhaltsstoffe aus Buchweizensamen zu extrahieren und anschließend sowohl qualitativ als auch quantitativ zu erfassen, galt als Vorgabe für die Wahl der Extraktionsmethode. Unter den enthaltenen phenolischen Inhaltsstoffen lag ein besonderer Schwerpunkt auf dem im Buchweizen bekannten Flavonol Rutin und den im Samen vorkommenden Flavanolen. Die Herausforderung lag in der Entwicklung eines Extraktes, der einen hohen Anteil der beiden gewünschten Flavonoidgruppen enthielt und gleichzeitig durch ein möglichst einfaches Verfahren hergestellt werden konnte, um eine hohe Zahl an Kreuzungsnachkommen analysieren zu können. Zusätzlich sollte die Reproduzierbarkeit der hergestellten Extrakte gewährleistet sein. Die wichtigsten Extraktionfaktoren, d.h. Lösungsmittel, Extraktionsdauer und Extraktionstemperatur, sollten auf die zu extrahierende Buchweizenmatrix mit dem enthaltenen Rutin und den Flavanolen abgestimmt werden.

Als Grundverfahren wurde die Phenolextraktion nach MAYR (1995) gewählt. Diese Methode wird bereits seit Jahren erfolgreich für die Flavanolextraktion am Fachgebiet Obstbau der TUM eingesetzt. Eine dazu optimale Rutinextraktion sollte vor allem mit der Variation des Lösungsmittels und der Extraktionsdauer erreicht werden.

Die Extraktionstemperatur hat nach GRIFFITH et al. (1955), HINNEBURG (2004) und KIM et al. (2005) einen deutlichen Einfluss auf die Rutinextraktion und bei Lösungsmitteltemperaturen bis 60 °C werden steigende Rutinmengen im Extrakt festgestellt. Dennoch wurde die bei MAYR (1995) verwendete Extraktionstemperatur von 5 - 10 °C als unveränderlicher Parameter beibehalten, da Flavanole hitzeempfindlich sind und bei höheren Temperaturen oxidieren (KEINÄNEN, 1993).

Die verwendeten Lösungsmittel Wasser (Zimmertemperatur), kochendes Wasser (90-100°C), 100% Ethanol, 100% Methanol und 50% Methanol wurden mit Buchweizenmehl extrahiert und anschließend verglichen.

Ethanol sowie die beiden wässrigen Lösungsmittelvarianten schnitten bei der Extraktion der gewünschten Phenolkomponenten schlechter ab als 100 und 50% Methanol.

Da aufgrund der Hitzestabilität von Rutin auch mit heißem Wasser extrahiert wird, wurde diese Methode trotz der hohen Temperatur als Vergleich herangezogen. Die wässrige Extraktion wird vor allem bei der Gewinnung von Rutin aus Buchweizenblättern verwendet, im Speziellen bei der Zubereitung von rutinhaltigem Buchweizentee als Therapeutikum (SCHNEIDER-LEUKEL et al., 1992).



Die bei den Vorversuchen gefundenen Ergebnisse zeigten jedoch, dass bei der wässrig gekochten Variante die zweitniedrigsten Rutingehalte zu finden waren. Ein Grund dafür könnte die Extraktionszeit von 30 min gewesen sein. KIM et al. (2005) verwiesen bei der Rutinextraktion aus der gesamten Buchweizenpflanze auf eine Stunde (1h).

Die Überprüfung der Extraktionsdauer mit 100%igem Methanol als Lösungsmittel brachte jedoch bei Zeiten zwischen 15 min und 1 h weder bei Rutin noch bei den Flavanolen eine sichtbare Verbesserung. Um jedoch genauere Aussagen machen zu können, hätte mit Wasser 1 h extrahiert werden müssen. Dies wurde aber aufgrund der geringen Löslichkeit der Flavanole in Wasser wegen deren lipophiler Struktur nicht weiter verfolgt.

Auffallend waren auch die geringen Rutin- und Flavanolgehalte, die mit Ethanol extrahierten Proben. Aufgrund der ähnlichen Lösungseigenschaften von Ethanol und Methanol wären höhere Gehalte erwartet worden. KREWSON und COUCH (1949) beschrieben ein ähnliches Problem bei der Verwendung von kaltem Ethanol bei der Extraktion von Rutin. Sie erklärten die geringen extrahierten Rutinmengen durch das Unvermögen des Ethanols, die Zellwände zu durchdringen und dabei die am Rutinabbau beteiligten Enzyme zu blockieren.

Als bestes Lösungsmittel für die Extraktion von Rutin stellte sich bei den durchgeführten Extraktionsversuchen 50% Methanol heraus.

Zu diesem Ergebnis kommen auch GRIFFITH et al. (1955), die eine bessere Rutinlöslichkeit in Methanol und Ethanol im Vergleich zu Wasser (Raumtemperatur) und kochendem Wasser feststellten. Rutin wurde zudem bei erhitztem Methanol besser extrahiert als mit Methanol bei Raumtemperatur. Diese Variante wurde aber aufgrund der zu extrahierenden hitzempfindlichen Flavanole nicht weiter verfolgt.

Bei HINNEBURG und NEUBERT (2005) wurde bei Buchweizenblättern eine hohe Rutinausbeute bei einer Extraktion mit 30%igem Ethanol als Lösungsmittel und einer Temperatur von 60 °C und 2h erreicht. Ethanol wurde anstatt Methanol aufgrund der geringeren Toxizität der Vorzug gegeben, ansonsten wiesen beide Lösungsmittel eine hohe Ähnlichkeit der Lösungseigenschaften auf.

Hohe Temperaturen bei der Extraktion von Phenolen stellten nach HINNEBURG (2004) in sofern ein Problem dar, als dass es zu Zersetzungsprozessen kommen und sich das Inhaltsstoffspektrum während der Extraktion verändern kann. Zudem wurde auf die Notwendigkeit des Wasseranteils im Lösungsmittel hingewiesen, der zu einem besseren Quellen



der Zellwände führt, die sich dann besser extrahieren lassen. Das beste Lösungsmittel für die Extraktion von Flavanolen aus Buchweizenmehl stellte bei den Vorversuchen 100%iges Methanol dar (Abb.2 und 7). Dieses Ergebnis wurde durch PRIOR et al. (2001) bestätigt, bei denen eine Wiederfindungsrate von 98,4% bei der Extraktion von Epicatechin mit 100%igem Methanol und eine deutlich schlechtere Wiederfindungsrate von nur noch 4% bei der Extraktion mit 60%igem Methanol festgestellt wurde. Rutin ließ sich hingegen mit 60%igem Methanol (Wiederfindungsrate 72%) besser extrahieren als mit 100%igem Methanol (Wiederfindungsrate von 29,0%). Nach HASLAM (1989) sind Monomere und oligomere Flavanole leicht mit Methanol zu extrahieren.

Die Variation der Extraktionsdauer von 15 min bis zu 1 h mit 100% oder 50% igem Methanol, brachte keine Verbesserung der jeweils schlechter löslichen phenolischen Komponente. Um dennoch eine optimale Extraktion beider Phenolgruppen zu gewährleisten, wurde die Extraktion mit 80% Methanol überprüft. 80% iges Methanol zeigte eine gute Extrahierbarkeit beider Substanzgruppen bei 3 verschiedenen Buchweizenlinien. Bei der Buchweizenlinie 90x02 wurde keinerlei Verlust von Rutin im Vergleich zu 50% MeOH beobachtet, bei der Linie 60S6 wurden 3,8% Rutinverlust gefunden. Ein deutlicherer Verlust zeigte sich aber bei der Sorte FE 184 bei dem im Vergleich zu 50% Methanol ein Extraktionsverlust von 28,2% Rutin festgestellt wurde (Abb. 8-10). Bei den Flavanolen lag der Verlust bei 13% bei der Linie 90x02 im Vergleich zu 100% Methanol. Die beiden anderen Buchweizenlinien wiesen keinerlei Flavanolverlust bei der Extraktion von 80% Methanol auf.

Die Effizienz der Extraktion mit 80% Methanol wurde von SIDDHURAJU und BECKER (2003) bestätigt, die den Gesamtphenolgehalt sowie den Flavonoid-, Quercetin- und Kämpferolgehalt unter Verwendung verschiedener Lösungsmittel aus *Moringa oleifera* Blättern untersuchten. ZIELINSKI und KOZLOWSKA (2000) verglichen einen wässrigen Buchweizenextrakt aus Korn mit einem 80%igen Methanolextrakt und stellen fest, dass 80% Methanol das bessere Lösungsmittel zur Extraktion der Phenole ist. Zu dem gleichen Ergebnis kamen ARTS et al. (2000) bei der Extraktion von Catechinen aus verschiedenen Nahrungsmitteln. ZUO et al (2002) verglichen verschiedene Lösungsmittel bei der Extraktion von Catechinen aus Tee und verwiesen auf 80% MeOH mit 0,15% HCL als effektivstes Lösungsmittel.

KEINÄNEN (1993) verglich die Lösungsmittel Aceton, Ethanol und Methanol mit einer jeweils 100%



und einer 80%igen Variante bei der Extraktion von Phenolen aus Birkenblättern. Darüber hinaus werden alle Lösungsmittelvarianten unter Verwendung eines Ultra-Turrax, der Extraktion mit einer Soxhlet-Apparatur und unter Reflux getestet. Als beste Lösungsmittel bei der Extraktion von Catechin wurden 100 und 80% MeOH genannt und darauf hingewiesen, dass sich Soxhlet und Reflux aufgrund der Verwendung höherer Temperaturen als ungeeignet herausstellen. KREFT et al. (1999) erhielten Extraktionsergebnisse, die in Abhängigkeit zur Konzentration des verwendeten Lösungsmittels stehen. Höhere Ethanolkonzentrationen als 60% bewirkten einen Abfall der extrahierten Rutinmenge. Dies konnte bei den verwendeten 80% Methanol nur bei der Buchweizenlinie 184 mit 28,2% beobachtet werden, die anderen überprüften Linien zeigten bei 80% Methanol keinen Verlust. Die Reproduzierbarkeit der verwendeten Methode konnte mit einer zweimaligen Wiederholung mit geringen Standardabweichungen zwischen 0,4 und 5% bewiesen werden. Das gleiche galt für den internen Standard Flavon, der in verschiedenen Konzentrationen und zeitlichen Abständen mehrmals injiziert und auf seine Stabilität überprüft wurde.

Aufgrund der hohen Anzahl von Kreuzungsnachkommen, wurde untersucht, ob die von TREUTTER (1989) und TREUTTER et al. (1994) etablierte HPLC-Methode durch eine photometrische Methode mit höherem Probendurchsatz pro Zeit ersetzt werden kann. Dazu wurden die photometrischen Methoden zur Bestimmung der Gesamtcatechine sowie löslicher und gebundener Procyanidine verwendet. Der Vergleich von HPLC- und Photometermethode wies jedoch keine ausreichende Übereinstimmung auf. Die höchste Übereinstimmung von 70,7% wurde zwischen der HPLC-Methode und den am Photometer gemessenen Gesamtcatechinen gefunden. Bei beiden Methoden wurde das Reagenz DMAZA zur selektiven Erfassung der Flavanole verwendet. Dieses reagiert vor allem mit monomeren Flavanolen, was im Buchweizensamen Epicatechin entspricht. Die DMAZA-Methode reagierte auch mit den oligomeren Procyanidinen, jedoch in geringerem Umfang als die monomeren Einheiten. Aufgrund der großen Menge löslicher Procyanidine im Buchweizensamen, die mit dieser Methode schlecht oder gar nicht mehr erfasst wurden, konnte davon ausgegangen werden, dass die Quantifizierung der im Buchweizensamen enthaltenen Proanthocyanidine nicht möglich ist. Der Vorteil der HPLC-Methode besteht jedoch darin, dass eine Quantifizierung der mono- wie z.T. auch oligomeren Einzelsubstanzen möglich ist, während



die Küvettenmessung ausschließlich einen Gesamtgehalt wiedergibt.

Der Vergleich zwischen HPLC-Methode und der Messung der photometrisch bestimmten löslichen Procyanidine fiel mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2=0,34$ gering aus.

Mit HPLC ist die Detektion von mono- di- und trimeren Flavanolen gut möglich. Höher polymere Procyanidine können nicht mehr erfasst werden und spiegeln sich als unaufgetrennter „Berg“ im Chromatogramm wieder bzw. verschwinden unter der Basislinie und werden nicht mehr detektiert.

Bei der colorimetrischen Bestimmung mit BuOH/HCL wurden dagegen auch die höher polymeren Procyanidinstrukturen säurekatalytisch in ihre Untereinheiten gespalten, oxidiert und als Cyanidinäquivalente im Photometer gemessen (PORTER et al., 1986; HAGERMAN und BUTLER, 1989). Die Problematik besteht jedoch darin, dass bei der Spaltung ausschließlich die Erweiterungseinheiten zu Cyanidin oxidieren, die Basiseinheiten (Abb. 45) jedoch nicht in der Messung erfasst werden. Zu diesen Basiseinheiten sind auch die monomeren Catechin und Epicatechin zu zählen, die während einer längeren Kochzeit von vornherein zerstört werden. Der Kochprozess läuft als unkoordinierte Abfolge von Spaltungen ab, die nicht vorhersehbar sind und nicht in den kleinsten Untereinheiten enden müssen. Die Kochzeit ist entscheidend, wie weit der Spaltungsprozess in Basis- und Erweiterungseinheiten fortgeschritten ist.

Ein weiteres Problem stellte nach GINER-CHAVEZ et al. (1997) die Quantifizierung mit dem externen Standard Cyanidin dar, wenn es sich bei den zu messenden Verbindungen um Prodelphinidine oder Propelargonidine handelte. Dass es sich bei einem Großteil der im Buchweizensamen enthaltenen Procyanidine um Propelargonidinstrukturen handelte, konnte zu diesem Zeitpunkt noch nicht abgeschätzt werden. Um genaue Werte zu erhalten, ist es nach GINER-CHAVEZ et al. (1997) außerdem wichtig, den externen Standard direkt aus der Pflanze zu isolieren und zu verwenden, ansonsten kommt es leicht zu Über- oder Unterschätzungen der Werte.

Da die unlöslichen, d.h. gebundenen Proanthocyanidine nicht erfasst wurden, wurde der Extraktionsrückstand mit BuOH/HCL gekocht und diese dann separat gemessen, um den Gesamtproanthocyanidingehalt im Buchweizenkorn nicht zu unterschätzen.

Der Zusammenhang zwischen den Ergebnissen der gebundenen Proanthocyanidine und mit HPLC gemessenen Flavanole, sowie den Werten der Gesamtcatechinmessung oder der mit BuOH/HCL gemessenen löslichen Procyanidine



fiel sehr gering aus. Die Bestimmtheitsmaße befanden sich zwischen 0,0004 und 0,01. Damit wurde deutlich, dass bei den verschiedenen Methoden unterschiedliche Verbindungen in Form von mono- und oligomeren Strukturen erfasst wurden und ein Vergleich unmöglich ist.

Die Verwendung anderer photometrischer Methoden, wie der Vanillinmethode sind auch keine Lösung für den Ersatz der HPLC-Methode, denn diese lässt nicht nur Flavanole in die Messung mit einfließen. SARKAR und HOWARTH (1976) stellen Reaktionen mit Phloretin, Phloridzin oder Dihydroquercetinen fest. Die Preussisch Blau-Methode oder der Folin-Ciocalteu-Test können je nach Bedingungen mit allen in der Probe enthaltenen Phenolen reagieren (SCHOFIELD et al. 2001).

Eine für die Anforderungen funktionierende photometrische Methode zur schnellen Bestimmung der im Buchweizensamen enthaltenen Monomeren sowie der Procyanidine wurde nicht gefunden. Die unterschiedlichen Substanzen, die bei den verschiedenen Methoden erfasst wurden, machten das Ersetzen der HPLC-Methode unmöglich.



5.0 Analytik

5.1 Methode zur Aufreinigung von Buchweizenextrakt und Auftrennung mit Sephadex-LH20

5.1.1 Extraktion und Reinigung des Buchweizensamens

500 g geschälte Buchweizenkörner wurden in einer Kaffeemühle grob und anschließend in der Schwingmühle bei 70 Hz 5 min lang zu feinem Pulver gemahlen und in einem 2 Liter Becherglas gesammelt. Anschließend wurden 1.200 ml eiskaltes MeOH und 300 ml H₂O reinst zugegeben (80% MeOH) und über Nacht gekühlt stehen gelassen. Am anderen Tag wurde das Gemisch in einem auf 7 °C gekühlten Ultraschallbad für 30 min extrahiert und mehrmals während dieser Zeit mit einem Glasstab umgerührt. Die so erhaltene Lösung wurde in Zentrifugenröhrchen aus Teflon überführt und 10 min bei 15.000 U/min und -10 °C abzentrifugiert. Die Überstände wurden vereinigt, die Rückstände aus den Zentrifugenröhrchen gekratzt und in einem weiteren Becherglas gesammelt. Insgesamt wurden die gesammelten Rückstände noch zwei Mal mit jeweils 1 Liter 80% MeOH versetzt und 30 min im Ultraschallbad extrahiert, anschließend wieder zentrifugiert und die Überstände wiederum vereinigt. Die aus 3 Extraktionsschritten gewonnenen Überstände wurden dann im Vakuumrotationsverdampfer auf ca. 1.400 ml eingeengt.

Um Chlorophyll, Lipide oder Proteine zu entfernen, wurde der Extrakt 3 Mal mit eisgekühltem Petroleumbenzin (60-80 °C) ausgeschüttelt. Dazu wurde der gesamte Extrakt in mehreren kleineren Portionen im Verhältnis 1:1 im Scheidetrichter mit dem Petroleumbenzin jeweils für 2 min ausgeschüttelt. Die insgesamt 4.200 ml Petroleumbenzin wurden im Vakuumrotationsverdampfer bis zur Trockne eingeengt und mit ca. 100 ml Wasser in einen Erlenmeyer-Kolben gespült, eingefroren und in der Lyophile getrocknet und anschließend ausgewogen. Die wässrig-methanolische Phase wurde wieder auf 1.400 ml eingeengt.

Um den Extrakt von Zucker zu befreien, wurde dieser 7 mal mit Ethylacetat ausgeschüttelt. Dabei wurde erreicht, dass die phenolischen Substanzen in die Ethylacetatphase übergangen und die enthaltenen Zucker in der methanolisch-wässrigen Phase verblieben. Von den insgesamt 1.400 ml Extrakt wurden die 200 ml Portionen mit 200 ml H₂O reinst im Scheidetrichter gemischt und anschließend mit 400 ml Ethylacetat versetzt. Um eine bessere Trennung beider Phasen zu bewirken, wurde der Extrakt mit 2 ml HCL (6 N) auf pH 2 eingestellt. Die

3xExtraktion mit 80% MeOH
Rückstand getrocknet 409,3 g

3xAusschütteln mit Petroleum-
benzin
Petroletherphase getrocknet 1,9 g

7xAusschütteln mit Ethylacetat
Ethylacetatphase getrocknet 6,1 g
Wasserphase getrocknet 9,7 g



Fraktion	Gläser (Füllvolumen 20-25 ml)	Gewicht getrocknet (mg)
A	1-8	555,42
B	9-12	216,60
C	13-14	141,48
D	15	42,20
E	16-20	157,30
F	21-29	159,93
G	32-45	162,45
H	46-180	312,5
Aceton	181-190	45,75

Tab. 11: Einteilung der mit Sephadex LH-20 aufgetrennten Fraktionen in A-H, mit den ermittelten Trockengewichten (mg)

Fraktion C	Gläser (Füllvolumen 20-25 ml)	Gewicht getrocknet (mg)
A	1-2	-
B	3	1,51
C	4	1,59
D	5	1,15
E	6	1,16
F	7	1,39
G	8-9	1,66
H	10-20	5,92
I	21-24	2,88
J	25-26	1,31
K	27-28	1,48
L	29-30	0,62
M	31-34	5,10
N	35-36	3,18
O	37-38	9,60
P	39-40	8,90
Q	41-45	9,18
R	46-54	9,55
S	55-57	1,08
T	58-63	2,30
U	64-76	4,83
V	77-82	6,46
W	83-100	6,08
X	101-109	1,07

Tab. 12: Einteilung der mit Sephadex LH-20 aufgetrennten Fraktionen in A-X von Fraktion C (Tab. 11), mit den ermittelten Trockengewichten (mg)

obere Phase im Scheidetrichter wurde als Ethylacetatphase gelagert, die untere wässrige Phase wurde insgesamt 7 mal ausgeschüttelt und alle dabei entstandenen Ethylacetatphasen vereinigt und gesammelt. Danach wurden beide Phasen mit dem Vakuum-rotationsverdampfer bis zur Trockne eingengt, mit H₂O reinst in 100 ml Erlenmeyerkolben gespült und lyophilisiert. Nach jedem Schritt der Aufreinigung wurden die gewonnenen Phasen und Extrakte mit HPLC auf die enthaltenen Phenole überprüft.

5.1.2 Vorbereitung der Sephadex-LH20-Säule und Aufgabe der Probe

Für das Packen der Säule wurden 49 g Sephadex-LH20 in 300 ml Ethanol mindestens 3 h stehen gelassen. Anschließend wurde das gequollene Material in eine Glassäule mit 2,5 cm Durchmesser gefüllt und dann einmal vollständig aufgeschüttelt, damit es sich zonenlos absetzen konnte. Die Säule hatte am Ende eine Länge von 36 cm. Abschließend wurde die Säule mit 600 ml Ethanol equilibriert.

Nach Trocknung der phenolreichen Ethylacetatphase wurden 6,1 g Trockensubstanz gewogen. Diese wurden in 25 ml Ethanol im Ultraschallbad gelöst und auf die Säule gegeben. Nachdem der Extrakt vollständig in das Trennmaterial eingezogen war, wurde die Säule wieder mit Ethanol eluiert.

5.1.3 Auftrennung und Fraktionierung des gereinigten Buchweizenextraktes

Der Extrakt wurde mit dem Säulenmaterial Sephadex-LH20 aufgetrennt und anschließend mit einem Fraktionensammler in Gläsern (nummeriert von 1-190) mit einem Füllvolumen von jeweils 20-25 ml aufgefangen. Die in den einzelnen Gläsern enthaltenen phenolischen Substanzen wurden mittels Photometer und Dünnschichtchromatographie (DC) überprüft und zu Fraktionen vereinigt, die im Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingengt und mit Wasser reinst in Erlenmeyerkolben überführt wurden. Diese wurden dann lyophilisiert und anschließend gewogen. Die Fraktionen und deren Gewichte sind in Tab. 11 dargestellt.



5.1.4 Weitere Aufreinigung der Fraktionen C und F mittels Sephadex-LH20 und MeOH-Gradient

5.1.4.1 Fraktion C

Da in Fraktion C mittels HPLC und DC Flavanole festgestellt wurden, die bisher unbekannt und für die qualitative Beurteilung der phenolischen Inhaltsstoffe im Buchweizensamen interessant waren, wurde diese Fraktion weiter mit Sephadex-LH20 aufgetrennt.

Für Fraktion C wurde eine mit Sephadex-LH20 gepackte Säule mit 36 cm Länge und 2 cm Durchmesser vorbereitet und mit H₂O reinst eluiert. Die zuvor getrocknete Fraktion (141,48 mg (TS)) wurde in 3 ml H₂O reinst gelöst und auf die Säule gegeben. Fraktion C war in Wasser nicht vollständig löslich.

Der unlösliche Teil wurde zurückbehalten, in 10% MeOH gelöst und später auf die Säule gegeben. Der Methanolgradient wurde wie folgt durchgeführt:

250 ml Wasser reinst, 100 ml 10% MeOH, 300 ml 20% MeOH, 300 ml 30% MeOH, 300 ml 40% MeOH, 300 ml 50% MeOH.

5.1.4.2 Fraktion F

In Fraktion F waren ausschließlich Flavanole enthalten, die für die qualitative Beurteilung der phenolischen Inhaltsstoffe im Buchweizensamen interessant waren. Für Fraktion F wurde ebenfalls eine mit Sephadex-LH20 gepackte Säule mit 36 cm Länge und 2 cm Durchmesser vorbereitet, um die enthaltenen Flavanole weiter aufzutrennen. Das Säulenmaterial wurde in H₂O reinst quellen gelassen, in die Säule gespült und dann mit 15% MeOH equilibriert.

Fraktion F (159,93 mg (TS)) wurde mit 15% MeOH soweit möglich gelöst. Der Teil, der nicht in Lösung ging, wurde zurückbehalten, in 50% MeOH gelöst und später auf die Säule gegeben. Der Methanolgradient verlief wie folgt:

300 ml 15% MeOH, 200 ml 20% MeOH, 200 ml 30% MeOH, 200 ml 40% MeOH, 200 ml 50% MeOH, 200 ml 60% MeOH, 200 ml 70% MeOH, 200 ml 80% MeOH.

Fraktion F	Gläser (Füllvolumen 20-25 ml)	Gewicht getrocknet (mg)
A	1-5	2,81
B	6-8	1,52
C	9-13	1,28
D	14-16	0,60
E	17-20	1,15
F	21-24	1,57
G	25-28	2,35
H	29	0,78
I	30-31	4,15
J	32-35	2,06
K	36-41	4,60
L	42-46	13,69
M	48-49	4,44
N	50-52	8,61
O	53-54	2,12
P	55-57	10,03
Q	58-61	3,80
R	62-63	1,81
S	64-87	6,36
T	90-96	4,83
U	97	0,44
V	98-100	5,29
W	101-102	2,51
X	103-104	7,24
Y	105-110	4,29

Tab. 13: Einteilung der mit Sephadex LH-20 aufgetrennten Fraktionen in A-Y von Fraktion F (Tab. 11), mit den ermittelten Trockengewichten (mg)



5.2 Methoden zur Identifizierung von phenolischen Verbindungen

5.2.1 Qualitative Bestimmung

Die qualitative Bestimmung der im Buchweizen enthaltenen Substanzen erfolgte anhand der mit HPLC ermittelten Retentionszeiten, UV-Absorptionsspektren und Cochromatographie im Vergleich mit Reinsubstanzen. Die Verbindungen wurden außerdem mit Dünnschichtchromatographischen Verfahren überprüft. Einzelne isolierte Verbindungen wurden mit Massenspektroskopie weiter identifiziert.

5.2.2 Cochromatographie

Die zu untersuchenden Proben werden mit einzelnen Reinsubstanzen gemischt und mit HPLC analysiert. Bei Übereinstimmung einer Verbindung in der Probe mit der beigemischten Reinsubstanz kommt es aufgrund gleicher chromatographischer Eigenschaften zu einer Vergrößerung des zu identifizierenden Peaks. Diese Identifizierungsmethode allein gilt jedoch nicht als hinreichend für die Identifizierung einer Substanz.

5.2.3 Dünnschichtchromatographie

Eine sehr leistungsfähige Methode zur Auftrennung und Identifizierung phenolischer Substanzen stellte die Dünnschichtchromatographie (DC) dar. Bei den im Buchweizen vorkommenden Verbindungen konnten klare Trennungen mit Cellulose- und Kieselgelplatten erreicht werden.

Bei Celluloseplatten diente ein Gemisch bestehend aus Butanol : Eisessig : Wasser im Verhältnis 4:1:2,2 als Laufmittel. Der Nachweis der aufgetrennten Phenole erfolgte unter UV-Licht, den Farbreaktionen nach Bedampfen mit Ammoniak, Besprühen mit Naturstoffreagenz und DMAZA im Vergleich zu den aufgetragenen Reinsubstanzen.

Eine verbesserte Auftrennung von Flavanolen wurde mit Kieselgelplatten 60 mit Fluoreszenzindikator F_{254} erzielt. Diese wurden in einem Laufmittelgemisch aus Toluol : Aceton : Ameisensäure (96-98%) im Verhältnis 30:60:10 getrennt. Die getrockneten Kieselgelplatten wurden sofort mit DMAZA-Sprühreagenz zur sofortigen Visualisierung der Flavanole besprüht. Die Auftrennung mit Kieselgel erfolgte nach dem Polymerisationsgrad sowie der vorhandenen Anzahl OH-Gruppen der flavanolischen Verbindungen. Die RF-Werte lagen bei monomeren Verbindungen höher als bei oligomeren.



5.2.4. Sprühreagenzien für Dünnschichtchromatographie

1. Naturstoffreagenz

1 g Naturstoff und 5 g Polyethylenglycol werden in einem 100 ml Kolben mit 100% MeOH vollständig gelöst und als Sprühreagenz verwendet.

2. DMAZA-Sprühreagenz

Zur Herstellung des DMAZA-Sprühreagenz für die Dünnschichtchromatographie wurde 1% DMAZA mit einem Gemisch aus HCL (6N) und Ethanol im Verhältnis 1:1 im Ultraschallbad gelöst.

5.2.5 Hydrolysen

5.2.5.1. Saure Hydrolyse

Die saure Hydrolyse dient dem Abspalten glycosidischer Bindungen zur weiteren Identifizierung von Substanzen anhand des entstandenen Aglycons. Dazu wurden 100 µl eines Extraktes oder einer gelösten vorgereinigten Substanz in ein Glasgefäß mit Schraubdeckel überführt, 100 µl HCL (1 mol/L) zugegeben und kurz mit dem Vortexer gemischt. Diese Mischung wurde anschließend im Wasserbad für 5, 10 und 20 min gekocht. Nach dem Kochen wurden die Gefäße aus dem Wasserbad herausgenommen und kurz zum Abkühlen stehen gelassen. Anschließend wurde jede Probe 3 Mal mit 300 µl Ethylacetat 2 min mit dem Vortexer ausgeschüttelt und 1 min bei 10.000 U/min bei 4 °C zentrifugiert. Die Ethylacetatphasen wurden jeweils mit einer Pipette abgezogen, in einem weiteren Eppendorffgefäß gesammelt und anschließend im Vakuumrotationsverdampfer bis zur Trockne eingengt. Die Probe wurde anschließend wieder in 100 µl 100% MeOH im Ultraschallbad gelöst, bei 10.000 U/min und 4 °C abzentrifugiert und anschließend in die HPLC zur Analyse injiziert.

5.2.5.2 Enzymatische Hydrolyse

Die enzymatische Hydrolyse wurde mit dem Enzym Tannase durchgeführt. Dieses Enzym kann sowohl glycosidische als auch Esterbindungen lösen. Für die Hydrolyse wurden 100 µl Probe in 1,5 ml Eppendorffgefäße überführt und im Vakuumrotationsverdampfer bis zur Trockne eingengt. Anschließend wurden ca. 2 mg Tannase eingewogen und zusammen mit der Probe in 300 µl Natriumacetatpuffer (0,1 Mol pH=4,6) gelöst. Die so vorbereitete Probe kam anschließend für 3 h, 7



h und 17 h in ein 37 °C warmes Wasserbad. Danach wurde die Enzymreaktion mit 100 µl 100% MeOH abgestoppt und 3 Mal mit jeweils 500 µl Ethylacetat ausgeschüttelt. Die einzelnen Ethylacetatphasen wurden in einem weiteren Eppendorffgefäß vereinigt und im Vakuumrotationsverdampfer bis zur Trockne eingengt. Die hydrolysierte Probe wurde in 100 µl 100% MeOH wieder aufgenommen und bei 10.000 U/min bei 4 °C und 10 min abzentrifugiert. Danach konnte die Probe in die HPLC zur Analyse injiziert werden.

5.2.6 LC-MS/MS-Technik

5.2.6.1 Probenvorbereitung

0,5 mg der verwendeten aufgereinigten Fraktionen wurden in 1 ml 100% MeOH gelöst und mit dem Vortexer gemischt. Von diesen Stammlösungen wurden die notwendigen Verdünnungen hergestellt.

5.2.6.2 HPLC-Gerätekonfiguration

Die für die HPLC-MS/MS-Technik verwendete HPLC-Gerätekonfiguration wurde in Tab. 14 aufgeführt.

Gerätekonfiguration RP-HPLC; LC - 10A Serie (Shimadzu, Hannover)	
Pumpe	LC - 10ADvp Gradient Pumpe
Degasser	DGU-14A
System Controller	SCL-10Avp
Autosampler	SIL-HTC
Säulenofen	CTO-10ASvp
Chromatographische Bedingungen	
Säule	Phenomenex Synergy Fusion - RP 18, 80 Å, 50x2 mm, 4 µm (Phenomenex, Aschaffenburg)
Lösungsmittel	A: Wasser/Essigsäure (99,9/0,1; v/v) B: Methanol/Essigsäure (99,9/0,1; v/v)
Flußrate	0,2 ml/min
Injektionsvolumen	20 µl
Säulentemperatur	30 °C
Autosamplertemperatur	20 °C

Tab. 14: Gerätekonfiguration RP-HPLC der HPLC - MS/MS

5.2.6.3 HPLC-Gradientenverlauf der Lösungsmittel

Zeit (min)	Fließmittel A (%)	Fließmittel B (%)
0	80	20
17,2	0	100
23,2	80	20
25	80	20

Tab. 15: HPLC-Gradientenverlauf der Lösungsmittel



5.2.6.4 MS-MS-Modul

Tripple-Quadrupol Massenspektrometer API 3000 (Applied Biosystems, Darmstadt)

Gerätekonfiguration MS-MS	
Ionisierungsquelle	Turbo Spray
Inonisierungsmodi	Positiv, Negativ
Spritzenpumpe	Model 11 (Harvard, Hollisten, USA) Injektion kontinuierlich mittels Spritzenpumpe mit 0,01 ml/min oder mittels Autosampler
Stickstoffgenerator	Model NGM- 22 (CMC Instruments, Eschborn)
Datenregistrierung und Auswertung	Software Analyst 1.4.1 (Applied Biosystems, Darmstadt)

Tab. 16: Gerätekonfiguration MS-MS-Modul

5.2.6.5 Ionisierungs- und Fragmentierungsparameter

Parameter			ESI ⁻	ESI ⁺
Nebuliser Gas	NEB	(psi)	12	12
Curtain Gas (N ₂)	CUR	(psi)	10	10
Collisions Gas (N ₂)	CAD	(psi)	4	4
Heater Gas temperature	TEM	(°C)	375	375
Ion spray voltage	IS	(V)	4200	-4200

Tab. 17: Ionisierungs- und Fragmentierungsparameter

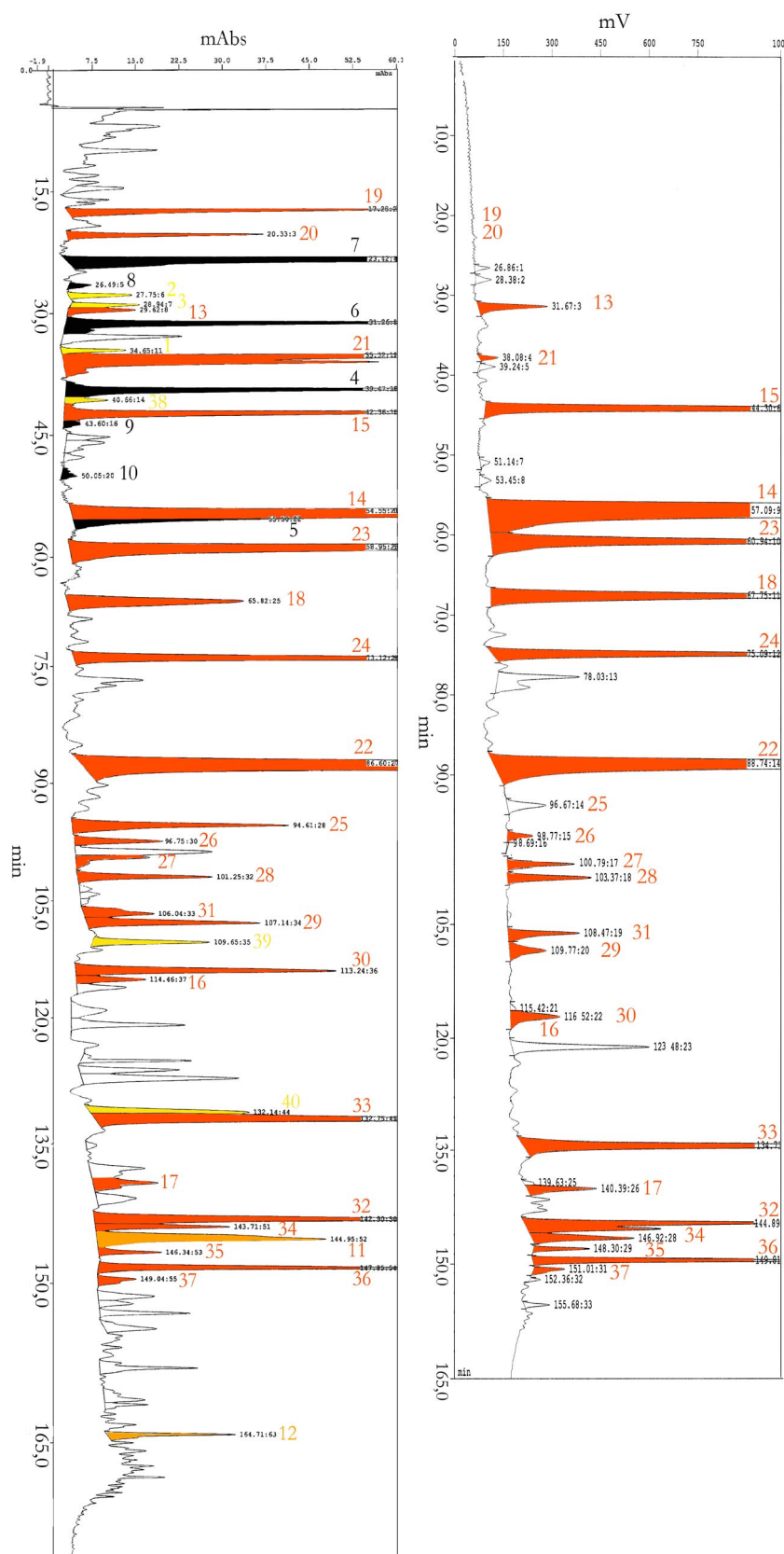


Abb. 25: Chromatogramme eines Buchweizenkornextraktes der Buchweizenlinie 95x90/02, detektiert bei 280 nm (rechts) und bei 640 nm (links) mit Nachsäulenderivatisierung

5.3 Ergebnisse und Diskussion

In der Abb. 25 sind exemplarisch zwei Chromatogramme eines Buchweizensamenextraktes der Linie 95x90/02 bei Wellenlängen von 280 nm und 640 nm mit Nachsäulenderivatisierung dargestellt.

Die in den Abbildungen farblich markierten Peaks wurden bei allen analysierten Proben im Wellenlängenbereich ihrer maximalen Absorption in den Phenolgehalt jeder Kornprobe eingerechnet.

Mit Hilfe der Retentionszeiten und Absorptionsspektren im Vergleich zu Standards, saurer und enzymatischer Hydrolyse, konnten die insgesamt 40 quantifizierten Peaks den Klassen Hydroxyzimtsäuren, Flavonolen und Flavanolen zugeordnet werden.

Die gelb gekennzeichneten Peaks 1-3 konnten aufgrund ihrer Merkmale als einfache Phenolsäuren identifiziert werden und wurden bei einer Wellenlänge von 280 nm detektiert und anschließend quantifiziert.

Die schwarz markierten Peaks 4-10 wurden aufgrund ihrer Merkmale den Hydroxyzimtsäuren zugeordnet und bei einer Wellenlänge von 320 nm erfasst.

Die hell-orange gekennzeichneten Peaks 11 und 12 konnten aufgrund ihrer typischen Absorptionsspektren als Flavonole identifiziert werden und wurden bei einer Wellenlänge von 360 nm detektiert und ausgewertet.

Die dunkel-orange markierten Flavanole 13-37 wurden aufgrund ihrer chromatographischen Merkmale als Flavanole identifiziert. Zudem wurden sie mit Nachsäulenderivatisierung selektiv erfasst



und bei 640 nm detektiert.

Die gelb markierten Peaks 38-41 konnten keiner phenolischen Substanzgruppe zugeordnet werden und wurden als „unbekannte“ Phenole bezeichnet und bei 280 nm ausgewertet.

Dazu wurde der Buchweizenextrakt aufgereinigt, über Sephadex-LH20 und HPLC aufgetrennt und anschließend einige Peaks mit LC-MS/MS identifiziert.

5.3.1 Benzoessäuren

Die Peaks 1-3 wurden anhand ihrer chromatographischen Merkmale den Benzoessäuren zugeordnet.

Bei Peak 1 wurde eine Retentionszeit von 34,7 min zusammen mit einem Absorptionsmaximum von 265 nm festgestellt. Das UV-Spektrum (Abb. 26) wies im Vergleich Ähnlichkeiten zu den Spektren der Standards 4-Hydroxybenzoessäure (Abb. 28) und Benzoessäure (Abb. 29) auf.

Das Spektrum in Abb. 26 und das Maximum der 4-Hydroxybenzoessäure zeigten eine stärkere Übereinstimmung als die Benzoessäure, welche ein Maximum von 273 nm aufwies.

Peak 2 und 3 zeigten jeweils zwei Maxima bei 250/285 nm, den Spektren der Standards Protocatechussäure (258/293 nm) in Abb. 31, Vanillinsäure (259/291 nm) in Abb. 32 und 2,4 Dihydroxybenzoessäure (254/294 nm) in Abb. 30 ähnlich. Das Spektrum der 2,4 Dihydroxybenzoessäure wies die größte Ähnlichkeit auf. Die enzymatische Hydrolyse mit dem Enzym Tannase konnte keine weiteren Informationen über die Peaks 2 und 3 liefern, da keine deutliche Spaltung der ursprünglichen Verbindung

UV-Absorptionsspektren der Peaks 1-3, Benzoessäuren

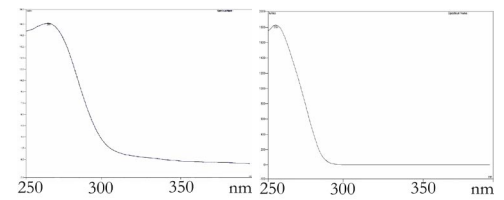


Abb. 26
Peak 1

Abb. 28
4-Hydroxybenzoessäure

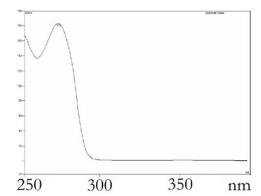


Abb. 29
Benzoessäure

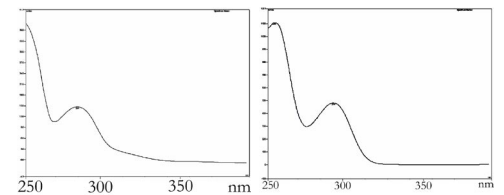


Abb. 27
Peak 2

Abb. 30
2,4 Dihydroxybenzoessäure

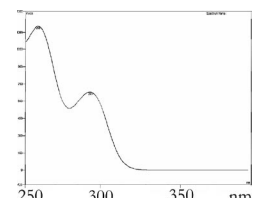


Abb. 31
Protocatechussäure

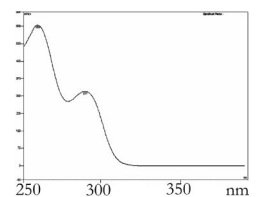


Abb. 32
Vanillinsäure

Peak Nr.	Retentionszeit (min)	Absorptionsmaximum (nm)
1	34,7	265
2	27,8	250/285
3	28,9	250/285
Standards Benzoessäuren		
4-Hydroxy-benzoessäure	25,9	255
2,4-Dihydroxy-benzoessäure	34,1	254/294
Benzoessäure	65,5	273
Vanillinsäure	38,9	259/291
Protocatechussäure	16,37	258/293

Abb. 26-32: UV-Absorptionsspektren der Peaks 1-3 (Benzoessäuren) und Standards

Tab. 18: Retentionszeit und Absorptionsmaximum, der als Benzoessäuren identifizierten Peaks 1-3 im Vergleich zu den Reinsubstanzen, detektiert bei der Wellenlänge 280 nm und 640 nm



zu erkennen war.

DURKEE (1977) identifizierte in der Aleuronschicht des Buchweizenkorns sowohl p-Hydroxybenzoesäure (4-Hydroxybenzoesäure), als auch Vanillinsäure. Die Vermutung, dass es sich bei Peak 1 um eine 4-Hydroxybenzoesäure handeln könnte, wurde bestätigt. Bei den Peaks 2 und 3 wurde Vanillinsäure oder 2,4 Dihydroxybenzoesäure vermutet, die beide möglich wären, aber aufgrund der vorhandenen Informationen nicht eindeutig identifiziert werden konnten. HAGELS (1996, 2001) fand Vanillinsäure in der Fruchtschale.

5.3.2 Hydroxyzimtsäuren

Die Peaks 4-10 konnten aufgrund ihrer Absorptionsspektren den Hydroxyzimtsäuren zugeordnet werden. Alle Peaks wurden bei einer Wellenlänge von 320 nm ausgewertet.

Die Peaks 4 und 5 wiesen Retentionszeiten von 39,5 und 55,5 min mit einem Absorptionsmaximum bei 314 nm auf (Tab. 19). Bei beiden Verbindungen wurde ein den Hydroxyzimtsäuren typisches UV-Absorptionsspektrum gefunden (Abb. 33 und 34).

Nach enzymatischer Hydrolyse von Peak 5 wurde das abgespaltene Aglycon Kaffeesäure bei 42,3 min mit einem Maximum bei 323 nm ermittelt (Abb. 37), das mit dem der Reinsubstanz identisch war. Eine Cochromatographie mit der Reinsubstanz bestätigte das Ergebnis.

Bei Peak 10 wurde das gleiche Spektrum wie bei den Peaks 4 und 5 mit dem identischen Maximum von 314 nm festgestellt. Aufgrund des gleichen Absorptionsspektrums (Abb. 41) wur-

UV-Absorptionsspek- Standard
tren der Peaks 4-10,
Hydroxyzimtsäuren

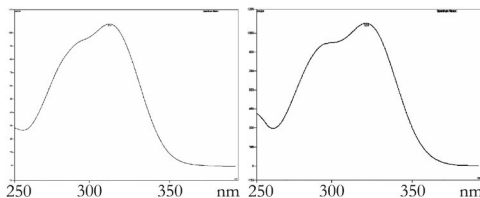


Abb. 33
Peak 4

Abb. 37
Kaffeesäure

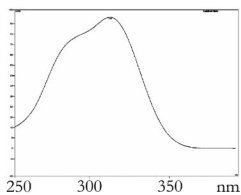


Abb. 34
Peak 5

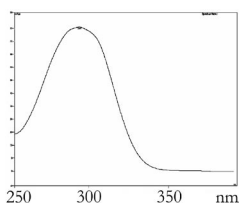


Abb. 35
Peak 6

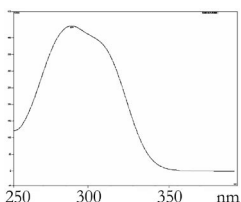


Abb. 36
Peak 7

Abb. 33-38: UV-Absorptionsspektren der Peaks 4-7 (Hydroxyzimtsäuren) und Standard

Peak Nr.	Retentionszeit (min)	Absorptionsmaximum (nm)
4	39,5	314
5	55,5	314
6	31,3	294
7	23,4	289
8	26,5	307
9	43,6	301
10	50,1	314
Standards Hydroxyzimtsäuren		
Kaffeesäure	42,7	323
Chlorogensäure	44,4	325
p-Cumarsäure	69,2	309

Tab. 19: Retentionszeit und Absorptionsmaximum, der als Hydroxyzimtsäuren identifizierten Peaks 4-10 im Vergleich zu den Reinsubstanzen, detektiert bei den Wellenlängen 320 nm und 640 nm



de auch von einem Kaffeesäurederivat ausgegangen.

Peak 6 und 7 wiesen Retentionszeiten bei 31,1 und 23,4 min mit einem Maximum bei 290 nm und 289 nm auf. Nach enzymatischer Hydrolyse wurde p-Cumarsäure identifiziert. Die Retentionszeit und UV-Absorptionsspektrum dieser Säure waren identisch mit denen der Reinsubstanz.

Die Peaks 8 und 9 wiesen Retentionszeiten bei 26,5 und 43,6 min zusammen mit einem der p-Cumarsäure (Abb. 38) ähnlichen Absorptionsspektrum (Abb. 39 und 40) mit Maximas bei 307 bzw. 301 nm auf. Mit dünn-schichtchromatographischen Verfahren wurde nach Bedampfen mit Ammoniak und Besprühen mit Naturstoff eine der Reinsubstanz entsprechende Violettfärbung dieser Verbindungen bei Betrachten unter UV (Anregung 360 nm) beobachtet.

DURKEE (1977) fand in der Aleuronschicht des Buchweizenkorns Syringasäure und p-Cumarsäure. Syringasäure konnte weder mit HPLC noch mit Dünnschichtchromatographie nachgewiesen werden. Derivate der p-Cumarsäure wurden in den Peaks 6, 7, 8 und 9 wiedergefunden. Nach POMERANZ (1985) stellen die Kaffeoyle-Chinasäureester, wie die Chlorogensäure, eine quantitativ starke Komponente im Buchweizenkraut dar. Die Peaks 4 und 5 waren im Buchweizenkorn ebenfalls quantitativ stark vertretene Hydroxyzimtsäuren. Die Vermutung, dass es sich bei den Peaks 4, 5 oder 10 um Chlorogensäure handeln könnte, wurde jedoch aufgrund der abweichenden Retentionszeiten und der UV-Absorptionsmaxima zwischen den Peaks und der Reinsubstanz nicht bestätigt. HAGELS (1996, 2001) fand in Blättern und Blüten Neochlorogensäure, die jedoch nach ÖLSCHLÄGER (2002) eine frühe Retentionszeit von 14,7 min mit einem Absorptionsmaximum von 326 nm mit der gleichen Gerätekonfiguration und dem gleichen Lösungsmittelgradienten aufweist und nicht mit den Ergebnissen der Peaks 4, 5 und 10 übereinstimmten.

UV-Absorptionsspek- Standard
tren der Peaks 4-10,
Hydroxyzimtsäuren

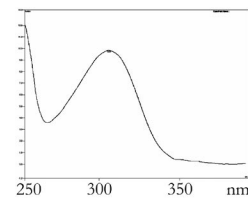


Abb. 39
Peak 8

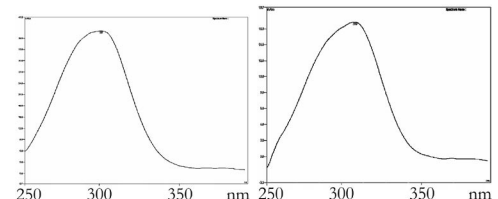


Abb. 40
Peak 9

Abb. 38
p-Cumarsäure

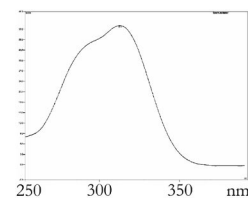


Abb. 41
Peak 10

Abb. 39-41: UV-Absorptionsspektren der Peaks 8-10 (Hydroxyzimtsäuren) und Standard



5.3.3 Flavone

DIETRYCH-SZOSTAK und OLESZEK (1999) identifizierten Orientin, Vitexin, Isoorientin und Isovitexin im Buchweizensamen. Diese Verbindungen konnten im Buchweizensamen mit Hilfe der Reinsubstanzen dagegen nicht nachgewiesen werden.

5.3.4 Flavonole

Rutin ist das bekannteste Phenol im Buchweizensamen und dementsprechend oft identifiziert und nachgewiesen worden. Bei einigen Buchweizensorten stellt das Flavonol eine Hauptkomponente im Samen dar und ist daher in großen Mengen nachzuweisen.

Peak 11 wurde als Rutin mit einer Retentionszeit von 145,2 min (Tab. 20) identifiziert. Die zwei Absorptionsmaxima dieser Substanz lagen wie bei der Reinsubstanz Rutin bei 255 und 354 nm. Das in Abb. 42 dargestellte Absorptionsspektrum von Peak 11 war identisch mit dem des Standards in Abb. 44.

Die in Tab. 21 mit LC-MS/MS ermittelte Masse des „Precursor-Ion“ wurde bei m/z 609 im Negativ-Ionisierungsmodus festgestellt, welche mit der Molekülmasse des Standards identisch war. Das im Q3 nachgewiesene Fragment wurde bei

UV-Absorptionsspektrum von Peak 11 und Standard

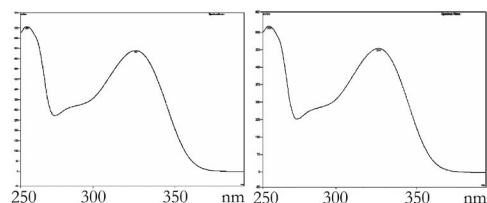


Abb. 42
Peak 11

Abb. 44
Rutin

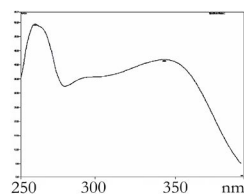


Abb. 43
Peak 12

Abb. 42-44: UV-Absorptionsspektren der Peaks 11-12 (Flavonole) und Standard

Peak Nr.	Retentionszeit (min)	Absorptionsmaximum (nm)
11	146,2	255/354
12	164,7	258/348
Standards		
Flavonole		
Rutin	147,95	255/354
Hyperin	143,1	256/354
Quercitrin	155,9	256/348

Tab. 20: Retentionszeit und Absorptionsmaximum, der Peaks 11 und 12 im Vergleich zu den Reinsubstanzen

	Ions full scan MS (Q1) (m/z) [M-H] ⁻	Declustering Potential (V)	Collision energy (V)	MS/MS Fragmente (m/z)
Peak 11	609			300
Standard				
Rutin	609	-101	-52	300; 271

Tab. 21: LC-MS/MS. Ion full scan und MS/MS Fragmentierung im Negativ-Ionisierungsmodus [M-H]⁻ von Peak 11



m/z 300 gefunden und stimmte mit der Fragmentmasse der Reinsubstanz überein.

DIETRYCH-SZOSTAK und OLESZEK (1999); HAGELS (1996); REICHLING UND HORZ (1993); STEADMAN et al. (2001) sowie TIAN et al. (2002) wiesen im Buchweizensamen Rutin nach. CHARROUF et al. (2006); LIU und ZHU (2005); SANCHEZ-RABANEDA et al. (2003) und SEERAM et al. (2006) identifizierten Rutin mit MS/MS mit der identischen Molekülmasse von m/z 609 im Negativ-Ionisierungsmodus. Aufgrund der Literaturdaten und der Überprüfung mit der Reinsubstanz wurde Peak 11 eindeutig als Rutin bestätigt.

Bei Peak 12 wurde eine Retentionszeit von 164,7 min mit einem Absorptionsspektrum bei 258/348 nm festgestellt. Mit Dünnschichtchromatographie wurde bei dieser Verbindung ein Farbumschlag nach Besprühen mit Naturstoffreagenz unter UV-Licht von Schwarz nach Orange beobachtet, unter UV-Licht nach Bedampfen mit Ammoniak von Schwarz nach Gelb. Diese Farbveränderungen sind charakteristisch für Flavonole. Quercetin konnte jedoch ausgeschlossen werden, da diese Substanz unter UV-Licht gelb fluoresziert, was hier nicht der Fall war. Das Gleiche gilt für Myricitrin und Kämpferol.

Die Standards Quercitrin, Isoquercitrin, Avicularin und Hyperin reagieren dagegen wie der gefundene Peak 12, d.h. schwarz unter UV-Licht, gelb nach Bedampfen mit Ammoniak und orange nach Besprühen mit Naturstoffreagenz. HAGELS (1996) fand in der reifen Pflanze und unreifen Körnern Hyperosid, Hyperin und Quercitrin. WATANABE (1997) identifizierte in der reifen Buchweizenschale Hyperin.

5.3.5 Flavanole

Über die Identifizierung von Flavanolen im Buchweizenkorn gibt es nur wenige Angaben (WATANABE, 1997; WATANABE, 1998). Obwohl diese Substanzgruppe, neben Rutin, die zweite Hauptkomponente im Samen darstellte, wurde bisher nur eine geringe Anzahl der vorhandenen Flavan-3-o-Strukturen aufgeklärt.

In der mit Sephadex-LH20 aufgereinigten Fraktion F wurde mit HPLC und DC nachgewiesen, dass sich darin der Großteil der im Buchweizenextrakt vorkommenden Flavanole befand. Fraktion F wurde mit BuOH/HCL gekocht und anschließend im Photometer gemessen, um festzustellen, welche Art von Proanthocyanidinen, d.h. welche Struktur-Grundbausteine, im Extrakt zu finden waren.

Die Ergebnisse sind in Abb. 46 und Tab. 22 dargestellt. Der Extrakt zeigte ein Absorptionsspektrum, das hauptsächlich

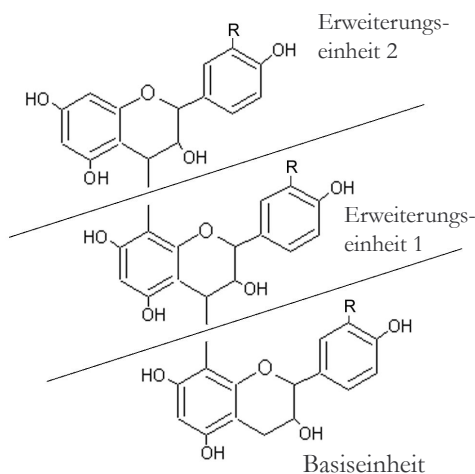


Abb. 45: Proanthocyanidinstruktur. R=OH, Procyanidin (Erweiterungseinheit=Catechin und /oder Epicatechin). R=H, Propelargonidin (Erweiterungseinheit=Afzelechin und /oder Epiäpfelzechin). (nach WATANABE, 1997).

der Reinsubstanz Pelargonidin entspricht. Eine Tendenz in Richtung Cyanidin war zu erkennen. Die gemessenen Standards Cyanidin und Luteolinidin wiesen mit einem Absorptionsmaximum von 548 bzw. 507 nm deutliche Unterschiede auf.

WATANABE (1997) fand in der Buchweizenschale Proanthocyanidin-Strukturen, bei denen er die Erweiterungseinheiten, die in Abb. 45 dargestellt sind, als Catechin und/oder Epicatechin bzw. als Afzelechin und/oder Epiäpfelzechineinheiten identifizierte.

Mit dem Ergebnis der mit BuOH/HCL gekochten Fraktion F und der Literaturangabe von WATANABE (1997), die sich lediglich auf die Buchweizenschale bezieht, aber grundsätzlich auf das Vorkommen von Propelargonidinen im Buchweizen aufmerksam macht, wurde auf das Vorkommen von Propelargonidinen in den unbekanntenen Flavanolstrukturen geschlossen. Mit dem Spektrum von Fraktion F war jedoch auch zu erkennen, dass aufgrund der leichten Tendenz in Richtung des Cyanidins, Procyanidinstrukturen enthalten sind.

Die im Buchweizensamen gefundenen Flavanole wurden nach gleichem Aussehen der UV-Absorptionsspektren in Gruppen eingeteilt. Insgesamt wurden 4 Gruppen gebildet.

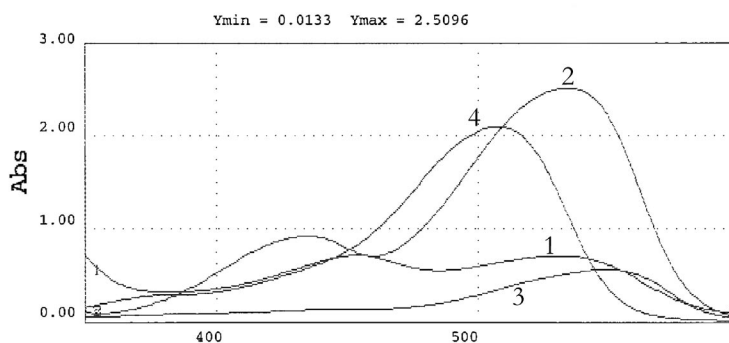


Abb. 46: Absorptionsspektren der mit BuOH/HCL gekochten Fraktion F und den Reinsubstanzen Pelargonidin, Cyanidin, und Luteolinidin

Nr.	Verbindung	Absorptionsmaximum (nm)
1	Fraktion F	530
2	Pelargonidin	534
3	Cyanidin	548
4	Luteolinidin	507

Tab. 22: Name und Absorptionsmaximum (nm), der in Abb. 46 verwendeten Anthocyan-Standards



5.3.5.1 Flavanole: Gruppe 1

Die Verbindungen dieser Gruppe konnten mit Nachsäulen-derivatisierung und der Detektion bei einer Wellenlänge von 640 nm selektiv erfasst werden.

Gruppe 1 setzte sich aus Flavanolen mit einem schmalen Absorptionsspektrum um das Maximum von 278 nm zusammen. Der in Tab. 23 aufgeführte Peak 13 wies eine Retentionszeit von 29,2 min auf. Zudem zeigte er ein flavanoltypisches Absorptionsmaximum bei 278 nm und ein entsprechendes Spektrum (Abb. 47). Die ermittelten Charakteristika waren mit denen der Reinsubstanz Catechin identisch. Mit Dünnschichtchromatographie konnte dieses Ergebnis bestätigt werden. WATANABE (1998) bestätigte dieses Ergebnis bei der Identifizierung antioxidativ wirksamer Catechine im Buchweizenkorn, bei der er geringe Mengen Catechin fand.

Peak 14 konnte als Epicatechin identifiziert werden. Es stimmten sowohl die Retentionszeit von 54,5 min, als auch das Absorptionsspektrum (Abb. 48) von 278 nm, im Vergleich zur Reinsubstanz überein. Mit Dünnschichtchromatographie konnte dieses Ergebnis bestätigt werden. WATANABE (1998) identifizierte mit NMR im Vergleich zur Reinsubstanz (-) Epicatechin im Buchweizenkorn.

Für Peak 15 wurde eine Retentionszeit von 42,4 min mit einem Absorptionsmaximum von 278 nm gefunden. Diese Merkmale stimmten mit denen der Reinsubstanz Procyanidin B2 überein. Mit Cochromatographie konnte diese Vermutung

Peak Nr.	Retentionszeit (min)	Absorptionsmaximum (nm)	Ratio 640 nm/280 nm
13	29,2	278	32,8
14	54,5	278	45,2
15	42,4	278	26,6
16	114,5	278	34,9
17	139,3	276	56,3
18	65,8	276	43,7
Standards Flavanole			
Catechin	30,6	278	33,1
Epicatechin	55,6	278	54,4
Procyanidin B2	40,9	278	27,4
Procyanidin B5	116,0	278	31,0

Tab. 23: Retentionszeit, Absorptionsmaximum und Ratio (640 nm/280 nm) der als Flavanole identifizierten Peaks 13-18 im Vergleich zu den Reinsubstanzen

UV-Absorptionsspektren der Peaks 13-18, Flavanole: Gruppe 1

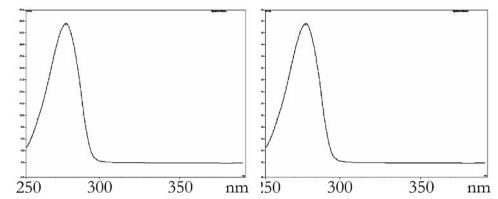


Abb. 47
Peak 13

Abb. 53
Catechin

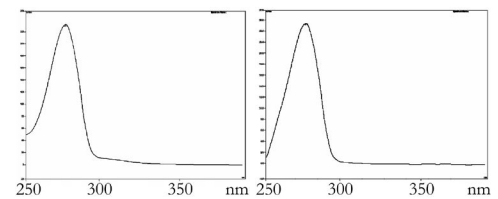


Abb. 48
Peak 14

Abb. 54
Epicatechin

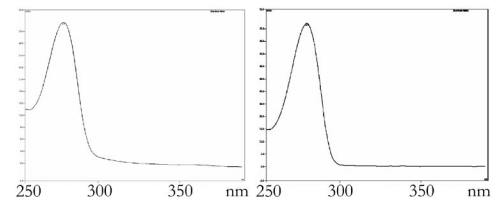


Abb. 49
Peak 15

Abb. 55
Procyanidin B2

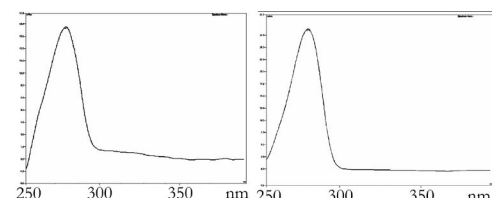


Abb. 50
Peak 16

Abb. 56
Procyanidin B5

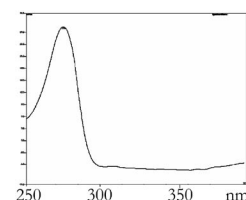


Abb. 51
Peak 17

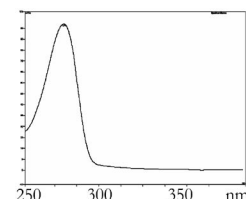


Abb. 52
Peak 18

Abb. 47-56: UV-Absorptionsspektren der Peaks 13-18 (Flavanole) und Standards

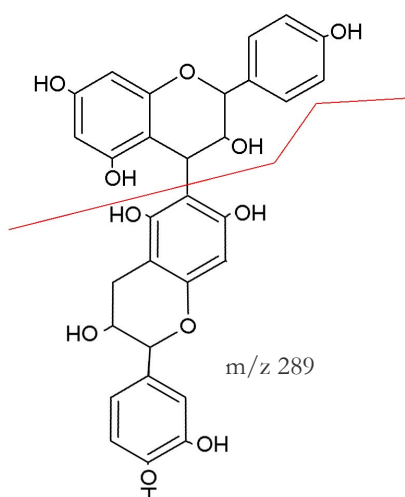


Abb. 57: Struktur von Peak 17 mit Molekülmasse 562, sowie die mit MS/MS gefundenen Fragmente. Der Struktur nach handelt es sich um (Epi)-Afzelechin-[-]-(Epi)-Catechin

bestätigt werden.

Peak 16 hatte eine Retentionszeit von 114,5 min. Das UV-Absorptionsspektrum, welches in Abb. 50 dargestellt ist, zeigte einen Catechin-typischen Verlauf mit einem Absorptionsmaximum bei 278 nm. Mit Cochromatographie konnte die Vermutung bestätigt werden, dass es sich bei Peak 15 um das dimere Procyanidin B5 handelt. Die Ergebnisse der Peaks 15 und 16 wurden von QUÉTTIER-DELEU et al. (2000) bestätigt, die sowohl das dimere Procyanidin B2 als auch das dimere Procyanidin B5 nachwies.

Peak 17 wies eine Retentionszeit von 139,3 min auf. Das Absorptionsmaximum lag bei 276 nm. Das Ratio wurde bei 56,3 ermittelt (Tab. 23).

Peak 17 wurde mit Sephadex-LH20 aufgereinigt und mit MS/MS identifiziert. Die Verbindung zeigte eine Precursor-Ion Masse von m/z 561 im Negativ-Ionisierungsmodus (Tab. 24). Diese Masse wurde im Q3 weiter fragmentiert, wodurch die Bruchstücke m/z 289, 125, 271, 245, 407 und 435 gefunden wurden. Das Masse/Ladungsverhältnis 289 konnte den Monomeren Catechin oder Epicatechin aufgrund der mit MS/MS überprüften Standards in Tab. 24 zugeordnet werden. Das Fragment m/z 245, wies die gleiche Fragmentmasse wie die Fragmente der Standards Catechin oder Epicatechin im Q3 auf.

CHARROUF et al. (2006) und SANCHEZ-RABANEDA et al. (2003) fanden für die Reinsubstanz Epicatechin die identische Molekülmasse m/z 289 im Negativ-Ionisierungsmodus, sowie das Fragment m/z 245 im Q3. SEERAM et al. (2006) und CHARROUF et al. (2006) wiesen für Catechin die Masse m/z 289 im Negativ-Ionisierungsmodus sowie die Fragmentmasse m/z 245 nach. Diese Befunde bestätigen die Vermutung, dass Catechin oder Epicatechin in der Struktur von Peak 17 vorkommt. Das Fragment m/z 407 war eindeutig das gleiche Fragment wie das in Tab. 24 aufgeführte Bruchstück der Reinsubstanz Procyanidin B2. CORREIA et al. (2005) erhielten bei der Fragmentierung des Procyanidins B2 mit MS das Bruchstück m/z 409 im Positiv-Ionisierungsmodus, welches m/z 407 im Negativ-Ionisierungsmodus entspricht und damit das Vorkommen eines B2-Gerüsts in dieser Verbindung bestätigte. GU et al. (2003a) und GU et al. (2003b) fanden in Erdbeeren, Pflaumen, Zimt und einer gefleckten Feldbohne mit LC-MS/MS ein dimeres Proanthocyanidin, mit einer identischen Masse von m/z 561 im Negativ-Ionisierungsmodus. Gleichzeitig fanden sie die identischen Fragmente m/z 425, 407, 271, 289 und 435. Das Fragment m/z 271 wurde auch als (Epi)-afzelechin gedeutet. Bei Peak 17 konnte mit MS/MS nicht geklärt werden, ob es sich um Catechin oder



Epicatechin bzw. Afzelechin oder Epiafzelechin handelt. Die in Abb. 57 dargestellte Struktur zeigt die aus der gesamten Molekülmasse und den Fragmenten errechnete Struktur, die eine dimere Verbindung aus einer Afzelechin/Epiafzelechin-Einheit sowie einer Catechin oder Epicatechin-Einheit darstellt. Bei der Struktur handelt es sich um (Epi)-Afzelechin-[-](Epi)-Catechin.

Peak 18 wies eine Retentionszeit von 65,8 min auf. Das Absorptionsmaximum wurde bei 276 nm gefunden. Das UV-Absorptionsspektrum in Abb. 52 glich den anderen aufgeführten UV-Absorptionsspektren (Abb. 47-51) dieser Gruppe. Das Ratio wurde bei 43,7 ermittelt.

Die mit Sephadex-LH20 aufgereinigte Verbindung wurde mit MS/MS analysiert. Dabei wurde eine Precursor-Ion Masse von m/z 833 im Negativ-Ionisierungsmodus festgestellt, die in Tab. 24 aufgeführt wurde. Die mit MS/MS erhaltenen Fragmentmassen lagen bei m/z 289, 271, 164 und 543. Die Fragmentmasse m/z 289 wies eindeutig im Vergleich zum Standard auf Catechin/Epicatechin hin (CHARROUF et al., 2006; SANCHEZ-RABANEDA et al., 2003; SEERAM et al.; 2006).

Die Fragmentmasse m/z 543 wurde nochmals mit einer CE Param Ramp fragmentiert und ergab im Q3 die Fragmente m/z 271, 164 und 125. m/z 271 stellte dabei die Masse des in Abb. 58 gezeigten mittleren Teils dar, der aufgrund der alleinigen OH-Gruppe am B-Ring auf Afzelechin oder Epiafzelechin schließen ließ (GU et al., 2003). Es wurde vermutet, dass sich die vollständige trimere Struktur aus einer Einheit Catechin und zwei Einheiten Afzelechin oder Epiafzelechin zusammensetzte.

GU et al. (2003) gaben für ein in der Erdbeere gefundenes trimeres Procyanidin die identische Masse von m/z 833 im

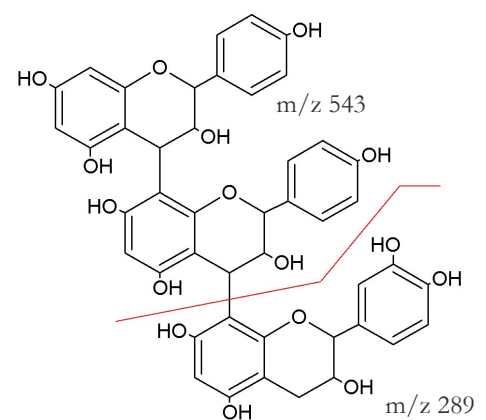


Abb. 58: Struktur von Peak 18 mit Molekülmasse 834, sowie die mit MS/MS gefundenen Fragmente. Der Struktur nach handelt es sich um (Epi)-Afzelechin-[-](Epi)-Afzelechin-[-](Epi)-Catechin

	Ions full scan MS (Q1) (m/z) [M-H] ⁻	Declustering Potential (V)	Collision energy (V)	MS/MS Fragmente (m/z)	Weitere Frag- mentierung
Peak 17	561			289; 271; 407; 245; 435; 125	
Peak 18	833			289; 271; 164; 543	271, 164, 125
Standard					
Catechin	289	- 46	- 20, - 38	245; 109	
Epicatechin	289	- 66	- 20, - 32	245; 109	
Procyanidin B2	577	- 66	- 22, - 34	407; 425	

Tab. 24: LC-MS/MS. Ion full scan und MS/MS Fragmentierung im Negativ-Ionisierungsmodus [M-H]⁻ der Peaks 17 und 18



UV-Absorptionsspektren der Peaks 19-21, Flavanole: Gruppe 2

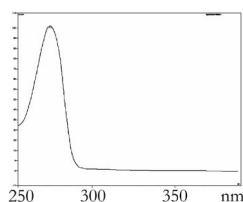


Abb. 59
Peak 19

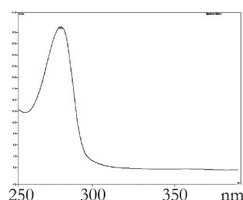


Abb. 60
Peak 20

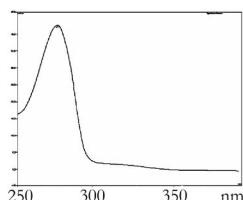


Abb. 61
Peak 21

Abb. 59-61: UV-Absorptionsspektren der Peaks 19-21 (Flavanole)

Negativ-Ionisierungsmodus an. Zudem wurde das identische Fragment von m/z 543 im Q3 gefunden, das die für Peak 18 gefundene Struktur bestätigt.

Das Ratio von 43,7 wies im Vergleich zu den Ratios der Monomeren Catechin oder Epicatechin in Tab. 23 einen hohen Wert für eine trimere Struktur auf. Trimere Strukturen, bestehend aus Catechin- und Epicatechineinheiten, besitzen ein Ratio unter 20. Aufgrund der Analyse von bekannten Standards und der Bestimmung der Ratios dieser Reinsubstanzen wurde festgestellt, dass sich monomere Verbindungen normalerweise in einem Bereich von 35-50 befinden.

Die Afzelechin- bzw. Epiafzelecheneinheiten scheinen das Ratio deutlich in höhere Bereiche zu verschieben.

5.3.5.2 Flavanole: Gruppe 2

Die Substanzen dieser Gruppe konnten mit Nachsäulenderivatisierung bei der Wellenlänge 640 nm nicht detektiert werden, zeigten aber flavanoltypische Absorptionsspektren, die in den Abbildungen 59-61 dargestellt sind.

Bei Peak 20 konnte ein UV-Absorptionsmaximum bei 277 nm festgestellt werden. Bei 300 nm wurde das Absorptionseende beobachtet, welches für die Monomeren Catechin und Epicatechin und für Procyanidine typisch ist.

Die Peaks 19 und 21 zeigten eine leichte Verschiebung des UV-Absorptionsmaximums in den niedrigeren Bereich mit 272 und 270 nm. Ab 300 nm war auch bei diesen Substanzen keine Absorption mehr zu beobachten. Die Absorptionsspektren von Peak 19 und 21 wurden in den Abb. 59 und 61 dargestellt und glichen deutlich Peak 20.

Bei Peak 20 wurde eine enzymatische Hydrolyse durchgeführt, die eine Spaltung der ursprünglichen Verbindung in Catechin und einen weiteren unbekanntem Peak mit einer Retentionszeit von 34,2 min zur Folge hatte. Das Ergebnis der Hydrolyse bestätigte die Vermutung, dass es sich bei den Verbindungen um Flavanole handelte. Aufgrund der identischen UV-Spektren der Peaks 19 und 21 im Vergleich zu Peak

Peak Nr.	Retentionszeit (min) 280 nm	Retentionszeit (min) 640 nm	Absorptionsmaximum (nm)
19	17,3	-	272
20	20,3	-	277
21	35,3	-	270

Tab. 25: Retentionszeit und Absorptionsmaximum, der als Flavanole identifizierten Peaks 19-21



20, wurde davon ausgegangen, dass es sich bei diesen Peaks auch um Catechinderivate handelt.

WATANABE (1998) identifizierte mit NMR ein (+)Catechin-7-O- β -D-glucopyranosid, bei dem sich der Glucoserest an Position 7 des A-Rings befindet. Da DMAZA an die Positionen 6 und 8 des A-Rings bindet, könnte es sein, dass das Glucopyranosid die Bindungsstellen des DMAZAs überlagert und es so zu keiner oder einer nur schwachen Detektion bei 640 nm kommt.

5.3.5.3 Flavanole: Gruppe 3

Im Unterschied zu den Flavanolgruppen 1 und 2 wurde bei den Substanzen von Gruppe 3 eine Schulter im Absorptionsspektrum beobachtet.

Die Retentionszeit von **Peak 22** wurde bei 86,6 min gefunden (Tab. 26). Das UV-Absorptionsmaximum lag bei 276 nm mit einem den übrigen Peaks dieser Gruppe sehr ähnlichen Absorptionsspektrum (Abb. 62). Das Ratio wurde bei 9,3 ermittelt.

Peak 22 wurde über Sephadex-LH20 aufgereinigt und anschließend mit MS/MS identifiziert. In Tab. 27 ist die Molekülmasse im Negativ-Ionisierungsmodus bei m/z 441 aufgeführt. Die MS/MS Fragmente wurden bei m/z 289 und 169 festgestellt. Das Fragment m/z 289 entsprach der Masse von Catechin oder Epicatechin im Negativ-Ionisierungsmodus (CHARROUF et al., 2006; SANCHEZ-RABANEDA et al., 2003; SEERAM et al., 2006). Das zweite Fragment mit dem Masse/Ladungsverhältnis 169 [M/H]⁻ wurde aufgrund der identischen Merkmale des Standards als Gallussäure identi-

Peak Nr.	Retentionszeit (min)	Absorptionsmaximum (nm)	Ratio 640 nm/280 nm
22	86,6	276	9,3
23	59,0	276	11,9
24	73,1	275	43,7
25	94,6	277	9,7
26	96,8	275	26,2
27	98,8	274	18,6
28	101,3	276	14,6
29	107,1	276	13,7
Standard Flavanole			
Epicatechingallat	90,5	276	9,7

Tab. 26: Retentionszeit, Absorptionsmaximum und Ratio (640 nm/280 nm) der als Flavanole identifizierten Peaks 22-29

UV-Absorptionsspektren der Peaks 22-29, Flavanole: Gruppe 3

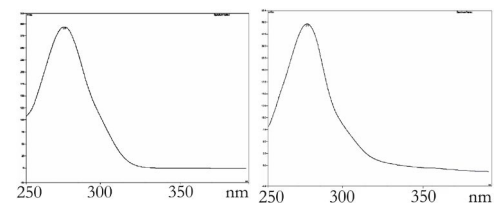


Abb. 62
Peak 22

Abb. 66
Peak 26

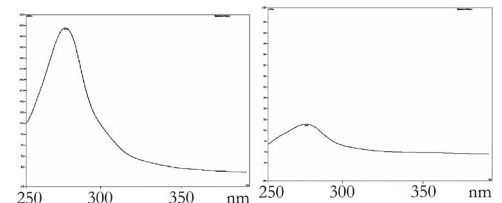


Abb. 63
Peak 23

Abb. 67
Peak 27

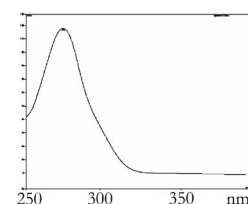


Abb. 64
Peak 24

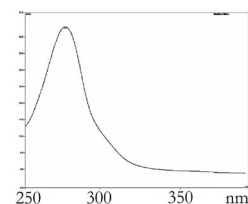


Abb. 65
Peak 25

Abb. 62-67: UV-Absorptionsspektren der Peaks 22-25 (Flavanole) und Standards



UV-Absorptionsspektren der Peaks 22-29, Flavanole: Gruppe 3

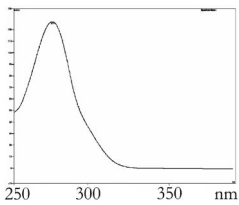


Abb. 68
Peak 28

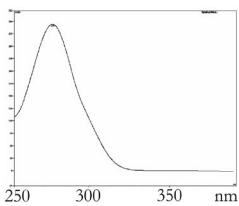


Abb. 69
Peak 29

Abb. 68-69: UV-Absorptionsspektren der Peaks 22-29 (Flavanole)

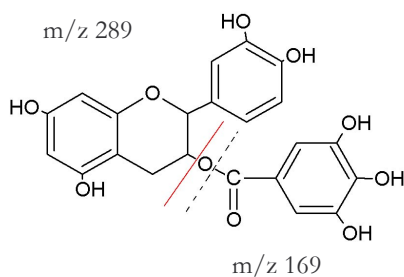


Abb. 70: Struktur von Peak 22 (Epicatechingallat) m/z 441 $[M-H]^-$, sowie die mit MS/MS gefundenen Fragmente

fiziert. Beide Fragmente konnten zur vollständigen Molekülmasse von 441 $[M/H]^-$ kombiniert werden. Die Masse 442 entsprach der Molekülmasse von Catechingallat oder Epicatechingallat. In Abb. 70 wurde das komplette Molekül sowie die MS/MS Fragmente aufgeführt.

Die chromatographischen Daten des Standards Epicatechingallat in Tab. 26 waren identisch mit den Daten von Peak 22. QUETTIER-DELEU et al. (2000) konnten Epicatechingallat im Buchweizensamen quantifizieren und somit das Ergebnis der Analyse von Peak 22 bestätigen. Aufgrund der eindeutigen Ergebnisse von HPLC und MS/MS wurde Peak 22 als Epicatechingallat identifiziert.

Der in Tab. 26 aufgeführte Peak 23 hatte eine Retentionszeit von 59,0 min und ein Absorptionsmaximum von 276 nm. Das Absorptionsspektrum wurde in Abb. 63 dargestellt. Das Ratio von Peak 23 lag bei 11,9.

Das UV-Absorptionsspektrum dieser Verbindung wies wie die übrigen Peaks dieser Gruppe eine Schulter auf, die jedoch nicht identisch mit denen der anderen Substanzen war. Die als Epicatechingallat identifizierte Substanz (Peak 22) zeigte ein ähnliches UV-Absorptionsspektrum, das durch die angehängte Gallussäure am C-Ring hervorgerufen wurde. Daraus war zu schließen, dass das UV-Absorptionsspektrum von Peak 23 auch auf einem Acylrest am C-Ring beruhte. Der Verlauf des UV-Absorptionsspektrums ließ keinen eindeutigen Schlüsse über den angehängten Rest oder die Struktur zu. Die Spektrenüberlagerung einer Procyanidinstruktur und eines acylierten Restes mit variierendem Maximum des Procyanidins aufgrund der Anzahl der OH-Gruppen am B-Ring bzw. variierendem acylierten Rest am C-Ring verändert das Aussehen des UV-Absorptionsspektrums der gesamten

	Ions full scan MS (Q1) (m/z) $[M-H]^-$	Declustering Potential (V)	Collision energy (V)	MS/MS Fragmente (m/z)	Weitere Fragmentierung
Peak 22	441			289; 169	
Peak 29	728			289; 455	289, 165, 245, 125, 109
Standard					
Gallussäure	169	- 46	- 20, - 32	125; 79	
Catechin	289	- 46	- 20, - 38	245; 109	
Epicatechin	289	- 66	- 20, - 32	245; 109	
Procyanidin B2	577	- 66	- 22, - 34	407; 425	

Tab. 27: LC-MS/MS. Ion full scan und MS/MS Fragmentierung im Negativ-Ionisierungsmodus $[M-H]^-$ der Peaks 22 und 29



Struktur.

Der Polymerisationsgrad von 11,9 hätte bei einer „Procyandin-Grundstruktur“ auf eine trimere Struktur hingedeutet. Durch den stärker bei 280 nm absorbierenden acylierten Rest des Epicatechingallates verschob sich dessen Ratio in den Bereich in dem eigentlich die Ratios von trimeren Strukturen liegen, so dass davon ausgegangen werden konnte, dass es sich auch bei Peak 23 um eine dimere Verbindung handelt.

Die Retentionszeit von Peak 25 lag bei 94,6 min. Das Absorptionsspektrum ist in Abb. 65 dargestellt mit einem UV-Absorptionsmaximum bei 277 nm. Das Ratio lag bei 9,7. Das Absorptionsspektrum deutete aufgrund der sichtbaren Schulter auf eine Struktur mit einem Acylrest hin. Weitere Aussagen über die Struktur von Peak 25 waren mit den vorhandenen Informationen nicht möglich.

Die Retentionszeit von Peak 26 wurde bei 96,8 min festgestellt. Das Maximum lag bei 275 nm mit dem in Abb. 66 abgebildeten Absorptionsspektrum.

Peak 27 hatte eine Retentionszeit von 98,8 min mit einem Maximum bei 276 nm. Das Ratio wurde bei 18,6 ermittelt. Das Absorptionsspektrum wies wie die anderen Peaks dieser Gruppe eine Schulter auf, die in Abb. 67 ca. zwischen 280 und 330 nm liegt. Um weitere Aussagen über die Struktur von Peak 27 machen zu können, müsste diese Substanz weiter aufgereinigt und analysiert werden.

Bei Peak 28 wurde eine Retentionszeit von 101,3 min ermittelt (Tab. 26). Das Maximum wurde bei 276 nm zusammen mit dem in Abb. 68 dargestellten Absorptionsspektrum gefunden. Das Ratio von Peak 28 lag bei 14,6.

Peak 29 hatte eine Retentionszeit von 107,1 min. Das Absorptionsmaximum wurde bei 276 nm festgestellt (Abb. 69). Das berechnete Ratio lag bei 13,7. Das UV-Spektrum von Peak 29 zeigte das gleiche Absorptionsvermögen wie die übrigen Substanzen dieser Gruppe. Peak 29 wurde mit Sephadex-LH20 aufgereinigt und mit MS/MS identifiziert.

In Tab. 27 wurde die Precursor-Ion Masse von m/z 728 im Negativ-Ionisierungsmodus ermittelt. Mit MS/MS wurden die Fragmente m/z 289, 125, 455 und 561 gefunden. M/z 289 deutete auf ein Fragment Catechin oder Epicatechin hin, da der Standard von Catechin/Epicatechin eine Precursor-Ion Masse von m/z 289 im Negativ-Ionisierungsmodus aufwies (CHARROUF et al., 2006; SANCHEZ-RABANEDA et al., 2003; SEERAM et al., 2006).

Das Bruchstück m/z 455 wurde nochmals fragmentiert. Dabei wurden Masse/Ladungsverhältnisse von 289, 165, 245, 125 und 109 gefunden. M/z 245 und m/z 109 stellen entsprechend dem Standard Fragmente von Catechin/

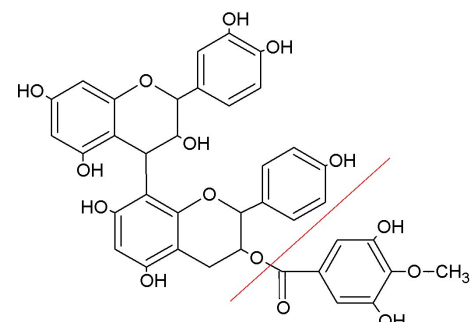


Abb. 71: Struktur von Peak 29 m/z 727 $[M-H]^-$; sowie die mit MS/MS gefundenen Fragmente. Der Struktur nach handelt es sich um (Epi)-Catechin-[-]-(Epi)-Afzelechin-3-O-4-Methylgallat



UV-Absorptionsspek- Standard
 tren der Peaks 30-37,
 Flavanole: Gruppe 4

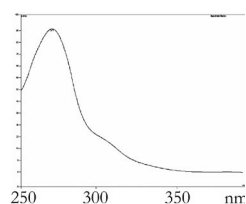


Abb. 72
 Peak 30

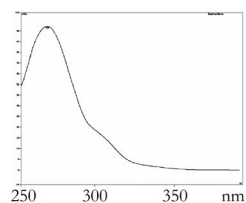


Abb. 73
 Peak 31

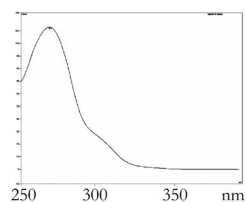


Abb. 74
 Peak 32

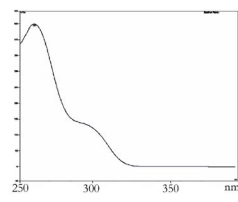


Abb. 78
 3-Hydroxy 3,4-Dime-
 thoxybenzoessäure

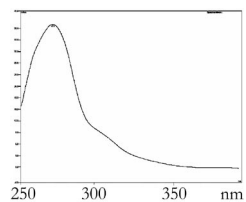


Abb. 75
 Peak 33

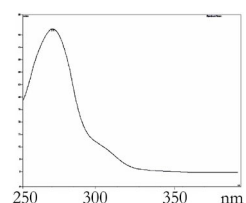


Abb. 76
 Peak 34

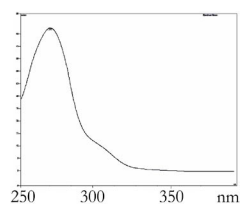


Abb. 77
 Peak 35

Abb. 72-78: UV-Absorptionsspektren der
 Peaks 30-35 (Flavanole) und Standard

Epicatechin dar. Die Fragmentmasse m/z 561 wurde bei Peak 17 als gesamte Precursor-Ion Masse ermittelt, deren Struktur in Abb. 57 dargestellt ist (GU et al., 2003). Die Differenz von Gesamtmasse und Fragment m/z 561 lag bei 166, was auf eine Gallussäure mit einer Methylgruppe hindeutete. In Abb. 71 ist die vermutete Struktur von Peak 29 dargestellt. Dabei handelt es sich um ein (Epi)-Catechin-[-]-(Epi)-Afzelechin-3-O-4-Methylgallat.

5.3.5.4 Flavanole: Gruppe 4

Zu dieser Gruppe wurden 8 Verbindungen gezählt, die Absorptionsmaxima zwischen 264 und 272 nm aufwiesen. Wie in den Abb. 72-80 zu sehen ist, war bei 300 nm der Beginn einer Schulter zu erkennen, die bei 320 nm endete.

Peak 30 hatte eine Retentionszeit von 113,2 min. Das UV-Absorptionsmaximum lag bei 264 nm. Das Ratio wurde bei 18,1 berechnet (Tab. 28).

Peak 30 wurde mit Sephadex-LH20 aufgereinigt und mit MS/MS identifiziert. Die Ergebnisse sind in Tab. 29 aufgeführt. Die Precursor-Ion Masse wurde bei m/z 681 im Negativ-Ionisationsmodus festgestellt. Die mit MS/MS durchgeführte Fragmentierung lieferte die Bruchstücke m/z 271, 289, 561 und 407.

Das Fragment m/z 289 war ein deutlicher Hinweis auf das Vorhandensein von Catechin oder Epicatechin, welche im Negativ-Ionisationsmodus das Masse/Ladungsverhältnis m/z 289 aufwiesen (Tab. 29) (CHARROUF et al., 2006; SANCHEZ-RABANEDA et al., 2003; SEERAM et al., 2006). Das Fragment m/z 561 hatte die gleiche Masse wie die

Peak Nr.	Retentionszeit (min)	Absorptionsmaximum (nm)	Ratio 640nm/280 nm
30	113,2	264	18,2
31	106,0	271	16,8
32	142,9	268	16,7
33	132,8	269	16,6
34	143,7	272	15,7
35	146,3	271	15,2
36	147,9	271	17,5
37	149,0	270	18,0
Standard			
3-Hydroxy 3,4-Dime- thoxybenzoessäure	61,8	260	-

Tab. 28: Retentionszeit, Absorptionsmaximum und Ratio (640 nm/280 nm) der als Flavanole identifizierten Peaks 30-37



Gesamtmasse von Peak 17 (GU et al., 2003). Das Fragment m/z 407 ließ auf eine Procyanidin B2 - Struktur schließen, da die Fragmentierung im Q3 das gleiche Bruchstück m/z 407 wie der Standard von B2 aufwies (Tab. 29) (CORREIA et al., 2005). Die Differenz von Gesamtmolekülmasse und des Fragments m/z 561 ergab eine Restmasse von 120. Diese deutete auf eine *p*-Hydroxybenzoesäure hin, die eine Masse von 138 hat.

Der Vorschlag für die vollständige Struktur ist in Abb. 81 dargestellt. Daraus ist ersichtlich, dass es sich bei Peak 30 um eine dimere Verbindung mit einer Afzelechin/Epi-afzelechin- und einer Catechin/Epicatechin Einheit sowie einer *p*-Hydroxybenzoesäure handelt. WATANABE (1998) fand mit NMR und FAB-MS ein (-)Epicatechin-3-O-*p*-hydroxybenzoat. Die NMR Daten weisen dabei auf Epicatechin hin, die Masse der Struktur wird bei m/z 411 im Positiv-Ionisierungsmodus ermittelt. Die Differenz der Gesamtmolekülmasse 682 von Peak 30 und dem identifizierten Monomer von WATANABE (1998) ergab eine Restmasse von m/z 271, was auf Afzelechin/Epi-afzelechin-Einheit hinweist. Bei dieser Verbindung handelt es sich um ein (Epi-)Catechin-[(Epi-)Afzelechin-3-benzoat].

Die Retentionszeit von Peak 31 lag bei 106,0 min. Das UV-Absorptionsmaximum befand sich wie bei den Peaks 35 und 36 bei 271 nm (Tab. 28). Das Absorptionsspektrum ist in Abb. 73 dargestellt und zeigt deutliche Ähnlichkeiten mit den Spektren der übrigen Substanzen dieser Gruppe. Das Ratio lag bei 11,8.

Peak 31 wurde mit Sephadex-LH20 aufgereinigt und mit MS/MS identifiziert. Die ermittelte Precursor-Ion Masse lag bei m/z 757 im Negativ-Ionisierungsmodus (Tab. 29).

Im Q3 wurden die Fragmente m/z 605, 125 und 271 gefunden. Mit Hilfe der ähnlichen Precursor-Ion Masse von Peak 33 von m/z 741 im Negativ-Ionisierungsmodus, wurde die Struktur von Peak 31 ermittelt, die mit einer Gesamtmolekülmasse von m/z 757 [M/H]⁻ ein Sauerstoff (Masse 16) mehr als Peak 33 aufzuweisen hatte. In Abb. 82 ist die vermutete Struktur abgebildet, die ein Dimer aus zwei Einheiten Epicatechin, sowie einer Hydroxy-di-Methylgallussäure darstellt. Der Struktur nach handelte es sich um ein (Epi-)Catechin-(Epi-)Catechin-3-O-dimethylgallat oder Procyanidin B2-3-O-dimethylgallat.

Die Retentionszeit von Peak 32 lag bei 142,9 min (Tab. 28). Das UV-Absorptionsspektrum ist in Abb. 74 mit einem Absorptionsmaximum bei 268 nm abgebildet. Das berechnete Ratio wurde bei 35,5 ermittelt und deutete auf eine monomere Struktur hin.

UV-Absorptionsspektren der Peaks 30-37, Flavanole: Gruppe 4

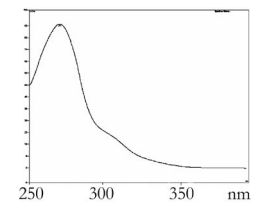


Abb. 79
Peak 36

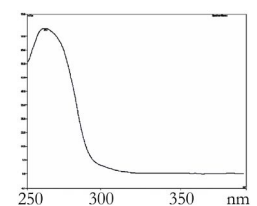


Abb. 80
Peak 37

Abb. 79-80: UV-Absorptionsspektren der Peaks 36-37 (Flavanole)

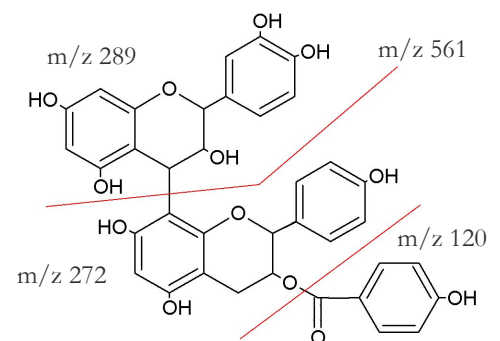


Abb. 81: Struktur von Peak 30 m/z 681 [M-H]⁻, sowie die mit MS/MS gefundenen Fragmente. Der Struktur nach handelt es sich um (Epi-)Catechin-[(Epi-)Afzelechin-3-benzoat]

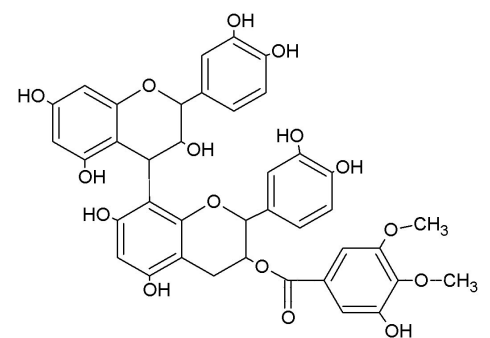


Abb. 82: Struktur von Peak 31 m/z 757 [M-H]⁻, Der Struktur nach handelt es sich um (Epi-)Catechin-(Epi-)Catechin-3-O-dimethylgallat oder Procyanidin B2-3-O-dimethylgallat

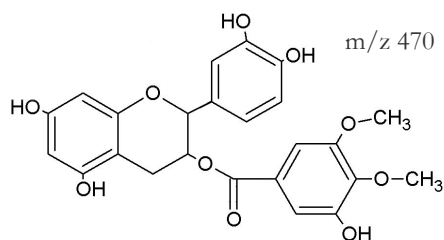


Abb. 83: Struktur von Peak 32 m/z 469 [M-H]. Der Struktur nach handelt es sich um (-)-epicatechin-3-O-(3,4-dimethylgallat

Die enzymatische Hydrolyse spaltete Peak 32 in zwei Substanzen. Ein Peak mit einer Retentionszeit von 59,1 min, der die gleiche Retentionszeit und das gleiche UV-Absorptionsspektrum wie die Reinsubstanz Epicatechin aufwies. Die Cochromatographie mit dem Standard Epicatechin bestätigte dieses Ergebnis. Die Retentionszeit des zweiten Hydrolyseproduktes wurde bei 64,3 min gefunden. Die Retentionszeit und das Absorptionsspektrum dieser Verbindung stimmten mit denen des Standards 3-Hydroxy-4,5-Dimethoxybenzoesäure überein. Eine Cochromatographie bestätigte das Ergebnis.

Peak 32 wurde mit Sephadex-LH20 aufgereinigt und mit MS/MS identifiziert. Die Precursor-Ion Masse wurde bei m/z 469 im Negativ-Ionisierungsmodus festgestellt. Die mit MS/MS durchgeführte Fragmentierung lieferte die in Tab. 29 aufgeführten Bruchstücke m/z 271, 125, 319. Die Fragmentierung mit MS/MS brachte bei dieser Verbindung keine eindeutigen Ergebnisse für die Identifizierung wie die mit HPLC, Cochromatographie und Hydrolyse gewonnenen Daten. Die Gesamtmolekülmasse m/z 469 im Negativ-Ionisierungsmodus bestätigte das HPLC-Ergebnis und trug entscheidend für die Identifizierung weiterer Strukturen bei, die diese Masse als Fragment im Q3 aufwiesen. Die vollständige Struktur ist in Abb. 83 mit einer Einheit Epicatechin und einem 3-Hydroxy-(3,4-Dimethylgallat) an Position 3 des C-Rings dargestellt. WATANABE (1998), der die gleiche Struktur mit m/z 471 im Positiv-Ionisierungsmodus als (-)-epicatechin-3-O-(3,4-dimethylgallat) identifizierte, konnte das Ergebnis damit bestätigen.

Peak 33 wies eine Retentionszeit von 132,8 min auf (Tab. 28). Das UV-Spektrum ist in Abb. 75 dargestellt mit einem Maximum bei 269 nm. Das Ratio lag bei 16,6.

Peak 33 wurde mit Sephadex-LH20 aufgereinigt und mit MS/MS identifiziert. In Tab. 29 ist die Precursor-Ion Masse aufgeführt, die bei m/z 741 im Negativ-Ionisierungsmodus festgestellt wurde.

Die Fragmentierung dieser Gesamtmasse führte zu den Bruchstücken m/z 469, 271, 319 und 407. Das Fragment m/z 469 wies eindeutig auf die Masse von Peak 32 im Negativ-Ionisierungsmodus hin, der als (-)-epicatechin 3-O-(3,4-dimethylgallat) identifiziert wurde. Aufgrund des berechneten Ratios und der Molekülmasse wurde von einer dimeren Struktur ausgegangen, die mit den MS/MS Fragmentmassen auf ein Epicatechin-dimethylgallat in der Struktur schließen ließ.

Das Fragment mit dem Masse/Ladungsverhältnis 271 wurde als der fehlende Teil der dimeren Struktur ermittelt. Dieser ist im oberen Teil der Abb. 84 dargestellt. Fragment m/z 407



	Ions full scan MS (Q1) (m/z) [M-H] ⁻	Declustering Potential (V)	Collision energy (V)	MS/MS Fragmente (m/z)	Weitere Fragmentierung
Peak 30	682			289; 561; 407; 271	
Peak 31	757			605; 125; 271	
Peak 32	469			271; 125; 319	125; 145 80
Peak 33	741			469; 271; 319; 407	
Peak 36	1013			271; 125; 164; 137 469 543 741 407	164; 271; 125 469; 125; 271; 137; 407 363; 125
Standards					
Gallussäure	169	- 46	- 20, - 32	125, 79	
Catechin	289	-46	-20	245, 109	
Epicatechin	289	-66	-20	245, 109	
Procyanidin B2	577	-66	-22	407, 425	

Tab. 29: LC-MS/MS. Ion full scan und MS/MS Fragmentierung im Negativ-Ionisierungsmodus [M-H]⁻ der Peaks 30-36

wurde mit Hilfe des Standards und dessen Fragmentierung als ein Bruchstück von Procyanidin B2 identifiziert (CORREIA et al., 2005). Das Fragment m/z 319 wurde auch bei Peak 32 als Fragment des (-)Epicatechin-3-O-(3,4-dimethyl)gallats gefunden (Tab. 29).

Die enzymatische Hydrolyse von Peak 33 zeigte die Aufspaltung in zwei Peaks, von denen einer eine Retentionszeit bei 59,3 min und einem Absorptionsmaximum bei 260 nm aufwies. Das Spektrum des zweiten Peaks entsprach dem in Abb. 78 abgebildeten Spektrums des Standards, 3-Hydroxy-3,4-dimethoxybenzoesäure (Tab. 28).

Anhand der MS/MS und HPLC-Ergebnisse setzte sich die vollständige Struktur von Peak 33 aus einer Einheit Afzelechin/Epiafzelechin, einer Einheit Catechin/Epicatechin sowie einer Einheit 3-Hydroxy-(3,4-dimethyl)gallat zusammen.

Bei der in Abb. 84 dargestellten Struktur handelt es sich um ein (Epi-)Afzelechin-[-]-Epicatechin-3-O-(3,4-dimethyl)gallat.

Die Retentionszeit von Peak 34 wurde bei 143,7 min festgestellt. Das UV-Maximum wurde bei 272 nm gefunden. Das Ratio lag bei 15,7 (Tab. 28).

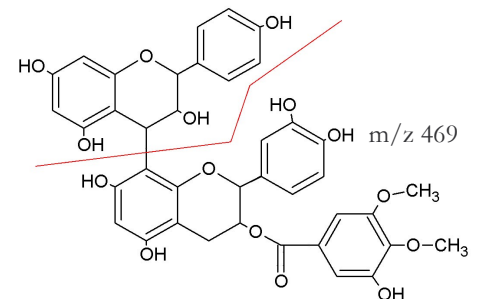


Abb. 84: Struktur von Peak 33 m/z 741 [M-H]⁻; sowie die mit MS/MS gefundenen Fragmente. Der Struktur nach handelt es sich um (Epi-)Afzelechin-[-]-Epicatechin-3-O-(3,4-dimethyl)gallat



Peak 35 wies eine Retentionszeit von 146,3 min (Tab.28). Das Absorptionsspektrum ist in Abb. 77 mit einem Maximum bei 271 nm dargestellt. Das Ratio wurde bei 15,2 berechnet.

Peak 36 hatte eine Retentionszeit von 147,9 min (Tab. 28). Das UV-Absorptionsmaximum lag bei 271 nm mit einem dieser Gruppe typischen Spektrum, welches in Abb. 79 dargestellt ist. Das Ratio befand sich bei 19,1.

Peak 36 wurde mit Sephadex-LH20 aufgereinigt und mit MS/MS identifiziert. Die Precursor-Ion Masse lag bei m/z 1013 im Negativ-Ionisierungsmodus (Tab. 29). Die Fragmentierung im Q3 brachte die Bruchstücke m/z 271, 125, 164, 137, 469, 543, 741 und 407.

Das große Fragment m/z 469 entsprach der Masse von Peak 32, welcher als Epicatechin 3-O-(3,4-dimethyl)gallat identifiziert wurde (WATANABE, 1998). Das Fragment m/z 741 wurde als Gesamtmasse von Peak 33 gefunden. Dieses Bruchstück wurde nochmals fragmentiert in m/z 469, 125, 271, 137 und 407. M/z 407 stellte wiederum im Vergleich zum Standard ein Fragment des Procyanidins B2 dar. Das Fragment m/z 271 verwies wiederum auf das Vorhandensein von Afzelechin/Epi-afzelechin. Aus den Q3-Fragmenten wurde die in Abb. 85 dargestellte Struktur zusammengesetzt. Diese stellt ein Trimer aus zwei Einheiten Afzelechin/Epi-afzelechin, einer Einheit Catechin oder Epicatechin und einer Hydroxy-Dimethoxy-Benzoessäure dar. Die in Abb. 85 dargestellte Struktur zeigt ein (Epi-)Afzelechin-[-](Epi-)Afzelechin-[-]Epicatechin-3-O-(3,4-Dimethyl)gallat.

Die Retentionszeit von Peak 37 wurde bei 149,0 min festgestellt (Tab. 28). Das UV-Absorptionsmaximum lag bei 270 nm, das UV-Absorptionsspektrum ist in Abb. 80 dargestellt. Das Ratio befand sich bei 18,0.

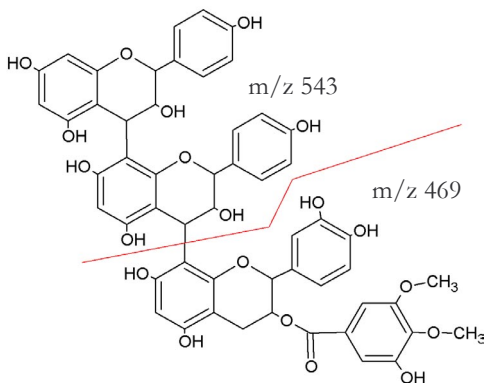


Abb. 85: Struktur von Peak 36 m/z 1013 [M-H]⁻; sowie die mit MS/MS gefundenen Fragmente. Der Struktur nach handelt es sich um (Epi-)Afzelechin-[-](Epi-)Afzelechin-[-]Epicatechin-3-O-(3,4)-Dimethylgallat



5.3.5.5 Strukturvorschlag für die Flavanole unter Berücksichtigung der Stereochemie

In Abb. 86 sind die identifizierten Strukturen zusammen mit den Retentionszeiten, dem Ratio und der definierten Peak Nr. aufgeführt. Mit dieser Aufstellung sollten zum einen die bisherigen Ergebnisse verifiziert werden und zum anderen anhand der Retentionszeiten herausgefunden werden, an welchen Stellen die Basis- und Erweiterungseinheiten verknüpft sind. Die Retentionszeiten der einzelnen Substanzen, die aufgrund der unterschiedlichen Struktur jeder Verbindung unterschiedlich ausfielen, gaben dabei Aufschluss. Weiterhin wurde geklärt, ob es sich bei den Basis- und Erweiterungseinheiten um Epicatechin oder Catechin und Epiafzelechin bzw. Afzelechin handelt.

Die Standards Catechin und Epicatechin wiesen aufgrund ihrer verschiedenen Stereochemie unterschiedliche Retentionszeiten auf. Während Catechin bei einer Retentionszeit von 29 min zu finden war, lag Epicatechin bei knapp 54 min. Die Retentionszeiten der identifizierten Flavanole befanden sich alle hinter der von Epicatechin.

Catechinglycoside, wie z.B. Lentechin, weisen frühere Retentionszeiten als Catechin auf. Die gleichen frühen Retentionszeiten haben die dimeren Procyanidine B1 und B3, deren Erweiterungseinheiten Catechin sind. Auch die als Catechinglykoside eingestuft Peaks 19 und 20 zeigten frühere Retentionszeiten als Catechin. Dies deutet darauf hin, dass es sich aufgrund der späteren Retentionszeiten der identifizierten Flavanole, die nach Epicatechin detektiert wurden, um Epicatechin- und nicht um Catechinderivate handeln dürfte.

Ein weiterer bisher ungeklärter Punkt betraf die Verknüpfungsstellen der Basis- und Erweiterungseinheiten, die an den zwei bekannten Positionen 4→8 oder 4→6 binden können. Aufgrund des chromatographischen Verhaltens von Reinstoffen und Angaben bei TREUTTER et al. (1994) war bekannt, dass die Retentionszeiten des trimeren Procyanidins C1 und des darauffolgenden Tetramers, bestehend aus drei und vier Epicatechineinheiten mit einer 4→8-Verknüpfung, sowie das dimere Procyanidin B2, vor der Retentionszeit des dimeren Procyanidins B5 mit einer 4→6-Verknüpfung lagen. Daher wurde davon ausgegangen, dass eine 4→6-Verknüpfung aufgrund der daraus resultierenden Struktur eine sehr viel spätere Retentionszeit aufweist. Dies würde bei den dimeren Peaks 18, 29, 30 und 31 aufgrund ihrer früheren Retentionszeit im Vergleich zum Procyanidin B5 für eine 4→8-Bindung sprechen.

Peak 32 wurde als ein monomeres Epicatechin-3-O-Dimethylgallat identifiziert, dessen Acylrest zu einer im Vergleich



Peak Nr.	Retentionszeit	Struktur
13	29	Catechin
15	42	Epicatechin-[4→8]-Epicatechin <small>dimer</small>
14	54	Epicatechin <small>monomer</small>
18	65	Epicatechin-[4→8]-Epicatechin-[4→8]-Epicatechin
22	86	Epicatechin-[4→8]-Epicatechin
31	106	Epiatzelechin-[4→8]-Epicatechin
29	107	Epicatechin-[4→8]-Epicatechin-[4→8]-Epicatechin
30	113	Epicatechin-[4→8]-Epicatechin
16	114	Epicatechin-[4→6]-Epicatechin
33	132	Epicatechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-4-Methylgallat
17	139	Epicatechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-Benzozat
32	142	Epicatechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-Dimethylgallat
36	147	Epicatechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-3,4-Dimethylgallat <small>trimer</small>

zu Epicatechin späten Retentionszeit führte. Dem trimeren Procyanidin C1 (Epicatechin-[4→8]-Epicatechin-[4→8]-Epicatechin) entsprechend, hatte das trimere Epiatzelechin-[4→8]-Epiatzelechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-(3,4-dimethyl)gallat eine Retentionszeit, die sich dicht hinter der Retentionszeit des dazugehörigen Monomers befand. Das dimere Epiatzelechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-(3,4-dimethyl)gallat lag dem dimeren Procyanidin B2 entsprechend vor dem monomeren Epicatechin-3-O-dimethylgallat. Bei beiden oligomeren Strukturen wurde aufgrund der dicht beieinander liegenden Retentionszeiten von einer 4→8-Bindung ausgegangen. Würde eine 4→6-Verknüpfung vorliegen, müssten weiter auseinander liegende Retentionszeiten wie zwischen B2 und B5 vorliegen.

Weiterhin kann angenommen werden, dass es sich bei Peak 17 um eine dimere Struktur mit einer 4→6-Verknüpfung handelt. Die Retentionszeit befand sich trotz dimerer Struktur hinter der von B5 aufgrund der Epiatzelechin-Erweiterungseinheit. Epiatzelechin zeigte bei allen Peaks, vermutlich aufgrund der geringeren Anzahl von OH-Gruppen am B-Ring, spätere Retentionszeiten als Epicatechin-Einheiten. Außerdem wurden bei Dimethylgallat-Resten stark nach hinten verschobene Retentionszeiten beobachtet. Acylreste in Form von Benzoaten (Peak 30) wiesen spätere Retentionszeiten als Methylgallatreste (Peak 29) auf.

In Abb. 87 sind die Ratios der Flavanole im Vergleich aufgelistet. Die Verbindungen wurden anhand ihrer Strukturen in Gruppen eingeordnet aus denen zusammen mit den Ratios nochmals die Strukturergebnisse verifiziert wurden, da innerhalb der Gruppen ähnliche Ratios festgestellt werden konnten. Dabei wurde auch deutlich, dass Proanthocyanidine, die Propelargonidineinheiten aufwiesen, ein höheres Ratio als Procyanidine mit Epicatechineinheiten haben. Proanthocyanidine, mit Propelargonidineinheiten und Acylresten hatten aufgrund der Acylreste ein geringeres Ratio, welches bei reinen Epicatechineinheiten im Bereich von Trimeren zu finden wäre, wie am Beispiel des Procyanidin C1 gezeigt wurde.

Abb. 86: Auflistung der Struktur der identifizierten Flavano- le mit Retentionszeit und Peak Nr.



Ratio	Struktur	Ratio	Struktur
54	Epicatechin	16	Epicatechin-3-O-Dimethylgallat
27	Epicatechin-[4→8]-Epicatechin	16	Epicatechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-Dimethylgallat
17	Epicatechin-[4→8]-Epicatechin-[4→8]-Epicatechin	17	Epiafzelechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-Dimethylgallat
31	Epicatechin-[4→6]-Epicatechin	17	Epiafzelechin-[4→8]-Epiafzelechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-3,4-Dimethylgallat
		13	Epicatechin-[4→8]-Epiafzelechin-3-O-4-Methylgallat
43	Epiafzelechin-[4→8]-Epiafzelechin-[4→8]-Epicatechin	18	Epicatechin-[4→8]-Epiafzelechin-3-O-Benzoat
56	Epiafzelechin-[4→6]-Epicatechin		
9	Epicatechingallat		

Abb. 87: Berechnete Ratios (Verhältnis Peakfläche 640nm/280 nm) der Flavanole

5.3.6 Unbekannte Phenole

Die Verbindungen dieser Gruppe konnten aufgrund ihrer chromatographischen Merkmale keiner der bisherigen Gruppen zugeordnet werden.

Die Retentionszeit von Peak 38 lag bei 40,7 min mit einem Absorptionsmaximum bei 278 nm (Tab. 30). Es konnte nicht geklärt werden, ob es sich aufgrund des Flavanol-typischen Maxima von 278 nm tatsächlich um ein Flavanol handelte. Eine Reaktion mit DMAZA bei 640 nm konnte nicht beobachtet werden. Das UV-Spektrum in Abb. 88 war nicht zu interpretieren.

Peak 39 wies eine Retentionszeit von 109,7 min mit einem Absorptionsmaximum bei 284 nm auf. Das Spektrum ist in Abb. 89 dargestellt. Aufgrund der gefundenen Merkmale konnte keine Zuordnung vorgenommen werden.

Die Retentionszeit von Peak 40 lag bei 132,1 min mit einem UV-Absorptionsmaximum bei 282 nm (Abb. 90). Diese Verbindung konnte mit den gefundenen Merkmalen nicht weiter identifiziert werden.

Peak Nr.	Retentionszeit (min)	Absorptionsmaximum (nm)
38	40,7	278
39	109,7	284
40	132,1	282

Tab. 30: Retentionszeit, Absorptionsmaximum und Ratio (640 nm/280 nm), der Peaks 38-40

UV-Absorptionsspektren der Peaks 39-41, unbekannte Phenole

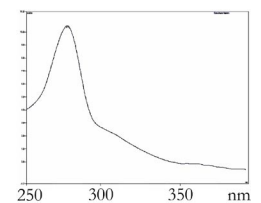


Abb. 88
Peak 38

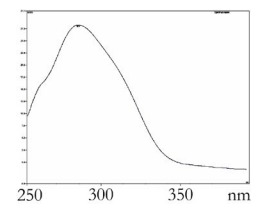


Abb. 89
Peak 39

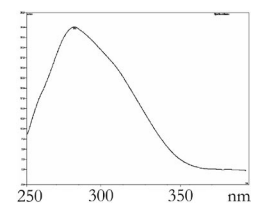


Abb. 90
Peak 40

Abb. 88-90: UV-Absorptionsspektren der Peaks 38-40 (unbekannte Phenole)



6.0 Kreuzung

Die bis heute gewonnenen Erkenntnisse über die Phenolbiosynthese machen die Verknüpfung von Enzymen mit ihren Syntheseprodukten möglich.

Für die Synthese der im Buchweizenkorn identifizierten Benzoesäuren, Hydroxyzimtsäuren, Flavonole und Flavanole nehmen bestimmte Enzyme eine Schlüsselfunktion ein und ihre mehr oder weniger starke Aktivität ist die Voraussetzung für die phänotypische Ausprägung der Phenolgehalte im Korn.

Von Bedeutung ist allerdings nicht nur die potentielle Aktivität der Enzyme, d.h. ihre „Bereitschaft“ Ausgangssubstrat umzusetzen, sondern auch die Regulierung des zur Verfügung stehenden Substrates an wichtigen „Schaltstellen“ oder „Flaschenhälsen“.

Um die speziell für das Buchweizenkorn wichtigen Knotenpunkte herauszufiltern und die möglichen Vorgänge des Flavonoidmetabolismus in den einzelnen analysierten Buchweizenlinien besser verstehen zu können, wird im Folgenden die wahrscheinliche Phenolbiosynthese, wie sie im Buchweizenkorn stattfinden könnte, aufgezeigt.

6.1 Biosynthese der Phenylpropanoide und Flavonoide

Das Ausgangssubstrat Phenylalanin stellt das Endprodukt aus dem Shikimatweg mit den Ausgangsprodukten Erytrose-4-Phosphat aus dem Pentosephosphat-Stoffwechsel und Phosphoenolpyruvat als ein Stoffwechselintermediat der Glykolyse dar.

Die in den Shikimatweg eingehenden Substrate aus dem Primärstoffwechsel sind von großer Bedeutung, da sie eine von vorn herein determinierende Funktion haben. Dieser wichtige Abschnitt der Biosynthese, in dem die Substratmenge für den Phenylpropanoidmetabolismus zur Verfügung gestellt wird, wurde in Abb. 91 mit „A“ gekennzeichnet.

Die eigentliche Schlüsselreaktion bei der Transaminierung der Phenylpropanoide ist die der Aminosäure Phenylalanin zu Zimtsäure durch das Enzym Phenylalaninammoniumlyase (PAL).

Bei diesem Schritt wird die Aminosäure Phenylalanin in Ammonium und Zimtsäure, dem ersten stickstofffreien Phenylpropankörper, gespalten. An dieser Stelle vollzieht sich außerdem die Trennung zwischen der Proteinbiosynthese und dem Phenylpropanoidmetabolismus. Diese Schaltstelle, bei der die Menge des in den Phenylpropanoidmetabolismus oder die Benzoesäuresynthese abfließenden Substrates geregelt wird, wurde in Abb. 91 mit



dem Buchstaben „B“ gekennzeichnet.

Weiterhin entstehen von der Zimtsäure ausgehend, über Hydroxylierung durch das Enzym Zimtsäure-4-Hydroxylase p-Cumarsäure und durch 3-Hydroxylase Kaffeesäure.

An diesem Punkt besteht die Möglichkeit der Weiterreaktion der umgesetzten Zimtsäure in andere Biosynthesewege zu Hydroxyzimtsäurederivaten oder Lignin. Je weniger dieser Hydroxyzimtsäurederivate akkumulieren, umso mehr Substrat steht für die Flavonoidbiosynthese zur Verfügung. Diese wird durch die Chalkonsynthase (CHS) eingeleitet, die über eine schrittweise Kondensation von 3 Molekülen Malonyl-CoA mit einem Hydroxyzimtsäure-CoA-Ester Chalkone bildet. Dieser „Flaschenhals“ wurde in Abb. 91 mit „C“ gekennzeichnet. Die Chalkonisomerase (CHI) isomerisiert die Chalkone unter Bildung eines sechsgliedrigen Heterocyclus zu Flavanonen. Flavanone werden durch die Flavanon 3-Hydroxylase (FHT) zu Dihydroflavonolen umgesetzt. Aus Dihydroflavonolen werden weiterhin entweder durch das Enzym Flavonolsynthase (FLS) Flavonole, oder über die Dihydroflavonol 4-Reduktase (DFR) Leucoanthocyanidine gebildet. Letztere können von der Anthocyanidinsynthase (ANS) zu Cyanidin und diese durch die Anthocyanidinreduktase (ANR) zu Epicatechin umgesetzt werden. Leucoanthocyanidine können außerdem durch die Leucoanthocyanidin 4-Reduktase (LAR) zum Catechin reduziert werden.

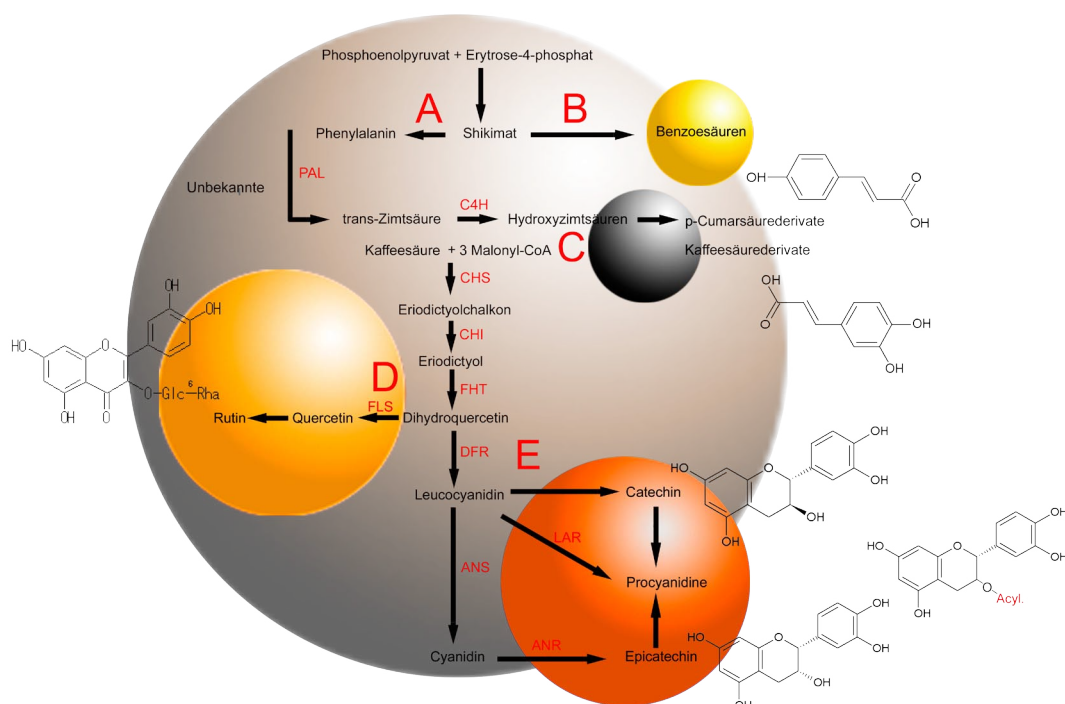


Abb. 91: Vereinfachte Phenolbiosynthese mit den bei der Synthese beteiligten Enzymen (verändert nach FORKMANN und HELLER (1999))



Bei den Dihydroflavonolen befindet sich eine Art Weiche, die über die Weiterreaktion des an dieser Stelle der Biosynthese zur Verfügung stehenden Substrates entscheidet. Je nachdem, wie diese Weiche gestellt ist, kommt es zu einer verstärkten Flavonol- oder Flavanolsynthese aufgrund einer stärkeren Aktivität oder Substratverfügbarkeit der beteiligten Enzyme Flavonolsynthase oder Dihydroflavonol 4-Reduktase. Den Grundbaustein der Flavanole stellen die Monomeren Catechin und Epicatechin dar, die miteinander verknüpft zu oligo- und polymeren Procyanidinen werden. Für das Buchweizenkorn ist diese Weiche eine der entscheidenden Stellen, da hier über den im Samen enthaltenen Rutin- und Catechingehalt entschieden wird. Diese beiden Weichenstellungen wurden in Abb. 91 mit „D“ und „E“ gekennzeichnet.

6.2 Ziele und Fragestellung

Von diesen Überlegungen über die Phenolbiosynthese im Buchweizenkorn ausgehend, wurden folgende Fragestellungen untersucht:

- 1.) Lassen sich geeignete Buchweizenlinien als Elterngeneration für weiterführende Kreuzungsarbeiten in dem vorhandenen Genpool finden?
- 2.) Können die genetisch bedingten Metabolitenflüsse durch gezielte Kreuzung so kombiniert werden, dass im Buchweizenkorn sowohl hohe Rutinmengen als auch hohe Catechingehalte entstehen?
- 3.) Mit dem Einsatz welcher Eltern können Nachkommen mit wenig Catechin und gleichzeitig viel Rutin oder umgekehrt erwartet werden?
- 4.) Ist es möglich, Linien mit einem insgesamt sehr niedrigen oder hohen Gesamtphenolgehalt oder niedrigen Rutin- und Catechingehalten zu selektieren?

6.3 Biosynthesecode

Aufgrund dieser Überlegungen über die Biosynthese der Phenylpropanoide und den beteiligten Enzymen wurde ein „Biosynthesecode“ entwickelt, der es ermöglichte, die durchgeführten Kreuzungen in unterschiedliche Typen einzuteilen.

Demnach ist es aufgrund des quantitativen Gehaltes der Gesamtphenole und der einzelnen Komponenten möglich, das Potential oder auch die potentielle Aktivität der dahinter stehenden Enzyme zu beschreiben. Der Bereich der Phenolbiosynthese, für den die einzelnen Buchstaben standen, ist in Abb. 91 dargestellt. Bei diesem „Biosynthesecode“ wurde eine Kennzeichnung gewählt,



Biosynthese-code	Definition	
A	Gesamtphenolgehalt > 199,0 mg/100 g (TS)	hohe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg
a	Gesamtphenolgehalt < 199,0 mg/100 g (TS)	geringe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg
B	B > 25% des Gesamtphenolgehaltes	hohe Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit für Enzyme der Benzoessäuresynthese und geringe Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit des Enzyms Phenylalaninammoniumlyase für den Phenylpropanoidmetabolismus
b	B < 25% des Gesamtphenolgehaltes	geringe Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit für Enzyme der Benzoessäuresynthese und hohe Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit des Enzyms Phenylalaninammoniumlyase für den Phenylpropanoidmetabolismus
C	C < 30% Hydroxyzimtsäuren (Gesamtphenolgehalt - Benzoessäuren = 100%)	hohe Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der Chalkonsynthase, geringe Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit für Enzyme der Synthese von Hydroxyzimtsäurederivaten
c	c > 30% Hydroxyzimtsäuren (Gesamtphenolgehalt - Benzoessäuren = 100%)	geringer Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der Chalkonsynthase, hohe Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit für Enzyme der Synthese von Hydroxyzimtsäurederivaten
D	D > 50% Rutin (Gesamtphenolgehalt - Benzoessäuren - Hydroxyzimtsäuren = 100%)	hohe Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der Flavonolsynthase
d	d < 50% Rutin (Gesamtphenolgehalt - Benzoessäuren - Hydroxyzimtsäuren = 100%)	geringe Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der Flavonolsynthase
E	E > 50% Flavanole (Gesamtphenolgehalt - Benzoessäuren - Hydroxyzimtsäuren = 100%)	hohe Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der Dihydroflavonol 4-Reduktase
e	e < 50% Flavanole (Gesamtphenolgehalt - Benzoessäuren - Hydroxyzimtsäuren = 100%)	geringe Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der Dihydroflavonol 4-Reduktase

Tab. 31: Definition des „Biosynthesecodes“ zur Charakterisierung der untersuchten Buchweizenlinien und Kreuzungsnachkommen

die aus Groß- und Kleinbuchstaben besteht, aber nicht mit den etablierten Begriffen aus der Genetik von „dominant“ oder „rezessiv“ verwechselt werden darf, denn diese Buchstaben definieren allein die Aktivität oder auch Substratverfügbarkeit der beteiligten Enzyme innerhalb der Phenolbiosynthese. Pflanzen, die auf eine hohe Aktivität oder Substratverfügbarkeit bei „Schlüssel-Enzymen“, aufgrund hoher Phenolgehalte schließen ließen, wurden mit einem Groß-Buchstaben gekennzeichnet, bei geringer Aktivität oder Substratverfügbarkeit mit einem Klein-Buchstaben. Die Definition der Vergabe eines Großbuchstaben bzw. Klein-buchstaben wurde in Tab. 31 aufgeführt. Aufgrund der Abfolge der Gesamtphenolgehalte aller Eltern und Keuzungsnachkommen kontinuierlich aufsteigenden Werte



ohne erkennbare Stufen wurde der Mittelwert (199,0 mg/100 g (TS)) aller analysierten Kreuzungsindividuen für die Einteilung in „A“ (über 199,0 mg/100 g (TS)) und „a“ (unter 199,0 mg/100 g (TS)) zu Grunde gelegt.

Die Unterteilung in „B“ und „b“ wurde bestimmt, indem der Gesamtphenolgehalt als 100% gerechnet wurde und die 4 übrigen Buchstaben als jeweils höchstmögliche 25% gerechnet wurden. „B“, wenn über 25%, „b“, wenn unter 25% vom Gesamtphenolgehalt.

Die Einteilung in „C“ und „c“ erfolgte aufgrund der Überlegung, dass die Substratmenge, die in den Phenylpropanoidmetabolismus nach Abzweig der Benzoessäuren einfließt, wiederum als Summe von C, D und E (100%) gesehen werden kann. Der prozentuale Grenzwert wurde bei 30% festgelegt („C“, wenn über 30%, „c“, wenn unter 30%).

Die Einteilung in „D/d“ und „E/e“ wurde aufgrund des zu Dihydroflavonolen metabolisierten „Restsubstrates“, als Summe von „D“ und „E“ (100%) vorgenommen. Der prozentuale Grenzwert wurde bei 50% festgelegt.

So entsteht eine Kombination aus 4 Buchstaben „ABCD“, die die Substratverfügbarkeit und das „Enzym-Potential“ der jeweiligen Pflanze wiedergibt.

6.3.1 Eliminierung der Buchstaben „B“ und „b“ aus dem Code

Aus den Ergebnissen (Tab. 121-130, im Anhang) wurde ersichtlich, dass die Schaltstelle von Enzymaktivität und/oder Substratverfügbarkeit zwischen Phenylpropanoidmetabolismus und Benzoessäuresynthese in einem Bereich von 2,9-25,1% zu finden war und damit durchweg mit einem „b“ gekennzeichnet wurde. Daher wurde angenommen, dass diese Abzweigung innerhalb der Phenolbiosynthese des Buchweizenkorns und dessen Vererbung keine bedeutende Rolle für die Akkumulation von Rutin und Flavonolen spielt. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde der Buchstabe „b“, aus dem Biosynthesecode der Kreuzungseltern und -nachkommen im Folgenden weg gelassen.

Die Buchweizenlinien, die auf ihre Gehalte als potentielle Elterngeneration untersucht wurden, wurden nicht auf Benzoessäuren überprüft und enthalten demnach von vornherein kein „B/b“.



6.3.2 Definition der Züchtungsziele anhand des Biosynthesecodes

Die Nachkommen, die einen niedrigen Gesamtphenolgehalt aufweisen, mussten aufgrund des definierten Biosynthesecodes eine Codierung mit einem kleinen „a“ aufweisen („a_ _“). Dabei bestand die Codierung im besten Fall ausschließlich aus Kleinbuchstaben („acde“). Variationen mit einem Großbuchstaben waren möglich („aCde“, „acDe“ oder „acdE“). Ein gleichzeitig hoher Rutin- und Flavanolgehalt bedingte eine hohe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg („A“) und eine hohe Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der Enzyme FLS („D“) und DFR („E“). Die Codierung im Bereich der Hydroxyzimtsäuresynthese musste ein großes „C“ für eine hohe Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der CHS aufweisen, um weiterhin eine hohe Substratverfügbarkeit für die FLS und DFR zu gewährleisten („ACDE“). Bei Nachkommen mit einem hohen Potential zur Phenolbiosynthese war aufgrund des ausreichend zur Verfügung stehenden Substrates eine zusätzlich hohe Hydroxyzimtsäuresynthese denkbar („AcDE“). Ein ausschließlich hoher Rutingehalt im Buchweizensamen benötigte eine hohe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg („A“) und eine hohe Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der CHS („C“) zur Weiterreaktion der Metabolite für das Enzym FLS („D“). Die Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der DFR mußte dagegen gering sein („e“). Umgekehrt für einen Nachkommen mit hohem Flavanolgehalt die Biosynthesecodierung „ACdE“.

6.3.3 Erklärung der Ergebnisdarstellung der analysierten Buchweizenlinien und Kreuzungsnachkommen

Die gewählte Darstellungsform soll den visuellen Vergleich zwischen den Buchweizenlinien erleichtern und spiegelt gleichzeitig durch die Anordnung der Kugeln vereinfacht den Biosyntheseweg wider, der Grundlage für jede Auswertung war (Abb. 91). Die braune Kugel im Hintergrund in Abb. 92 stellt den mit HPLC ermittelten Gesamtphenolgehalt dar. Im Vordergrund wurden die im Buchweizenkorn gefundenen Gehalte der einzelnen Substanzgruppen dargestellt, wobei die Flächen der beiden schwarz-weißen (sw) Kreise in der Legende von Abb. 92 den absoluten Wert 100 mg/100 g (TS) widerspiegeln, in unterschiedlicher Verkleinerung für die untersuchten Buchweizenlinien im Überblick (Kapitel 6.4, 6.6) und die Kreuzungen (Kapitel 6.7). In Gelb, der Gehalt an Benzoessäuren, in Schwarz Hydroxyzimtsäuren, in Orange der Rutingehalt und in Rot die Menge an Flavanolen.

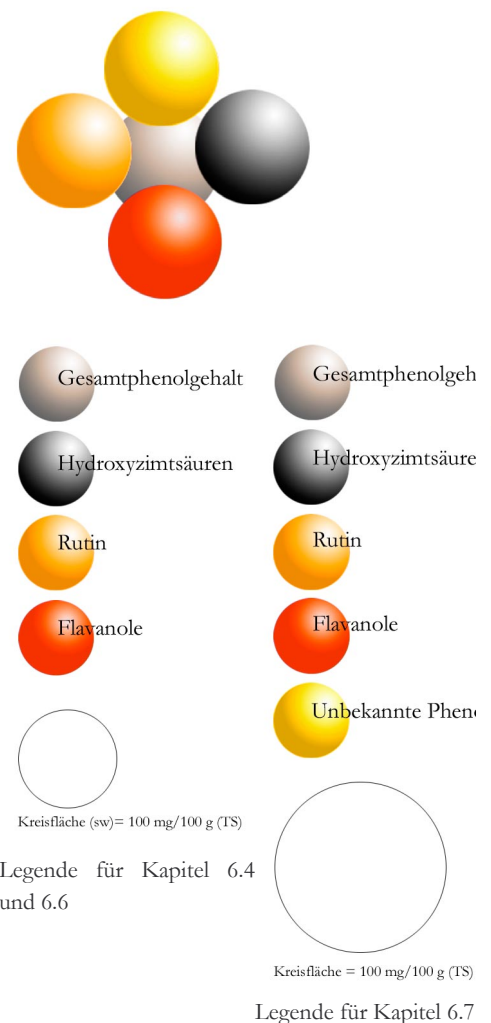
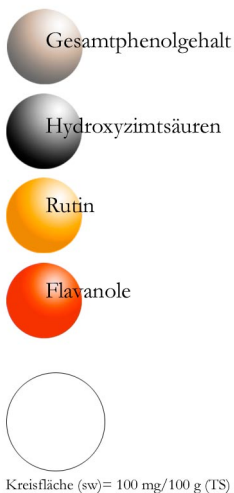


Abb. 92: Schema der Ergebnisdarstellung für die Kapitel 6.4, 6.6 und 6.7



6.4 Charakterisierung von Buchweizenlinien hinsichtlich des Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Flavonol- und Flavanolgehaltes im Samen mit HPLC

Aufgrund der Zielsetzung, das im Buchweizenkorn enthaltene Rutin sowie die Flavanole genauer zu analysieren und deren Gehalte durch gezielte Kreuzung zu erhöhen, wurden die Phenolgehalte von 60 Buchweizenlinien mit HPLC ermittelt, um anschließend mit Hilfe der absoluten Hydroxyzimtsäure, Rutin- und Flavanolgehalte, eine Elterngeneration für die anschließenden Kreuzungsversuche zu selektieren. Die Ergebnisse wurden anhand von Mischproben ermittelt, d.h. von jeder zur Verfügung stehenden Pflanze einer Linie wurden jeweils 10-15 geschälte Samen pro Probe verwendet. Die Ergebnisdarstellung in den folgenden Abbildungen 93-150 ist in Kapitel 6.3.3 erläutert. Es wurden 5 Klassen von niedrigem bis hohem Flavanolgehalt gebildet, deren zugeordnete Linien weiterhin anhand der Menge und Verteilung ihrer Hydroxyzimtsäure- und Rutingehalte in Untergruppen gegliedert wurden.



Gruppe 1



Abb. 93:
FE 26

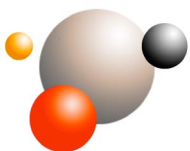


Abb. 94:
FE 61



Abb. 95:
FE 85

Abb. 93-100: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt von Buchweizenlinien der Klasse 1 Gruppe 1 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Klasse 1 (Gruppe 1-3)

Die Gruppen 1-3 wurden zu einer Klasse zusammengefasst, da die Flavanolgehalte der beteiligten Buchweizenlinien bis auf eine Ausnahme zwischen 10,0 und 40,0 mg/100 g (TS) lagen. Der prozentuale Anteil der Flavanole am Gesamtphenolgehalt lag zwischen 20,2 und höchstens 34,2%.

Aufgrund der Ergebnisse war deutlich erkennbar, dass die untersuchten Sorten geringe Gesamtphenolgehalte aufwiesen. Es war auffallend, dass innerhalb dieser 3 Gruppen ausschließlich züchterisch unbearbeitete Sorten sowie zwei Wildarten zu finden waren.

Gruppe 1 bestand aus Sorten, deren auf Homostylie und determinierten Wuchs gekreuzte Nachkommen für die später durchgeführten Kreuzungen und Einzelkornanalysen verwendet wurden. Die Gesamtphenolgehalte der Sorten „Hyoszowska“ (FE 26), „Sumchanka“ (FE 61), „Pulanska“ (FE 85), „Ballada“ (FE 90), „Sobano“ (FE 95), „Sun Rutin“ (FE 155), „Demetra“ (FE 158) und „Phapal“ (FE 179) (Abb. 93-100, Tab. 32) waren gering und lagen zwischen 82,2 und 149,0 mg/100 g (TS). Davon machten die Flavanole einen prozentualen Anteil von 16,6-34,2% aus. Die Gehalte der Hydroxyzimtsäuren und Rutin fielen niedriger aus.

„*Fagopyrum tataricum*“ wurde als „Wildart“ Gruppe 2 zugeordnet und wies einen geringen Flavanolgehalt von 13,1 mg/100 g (TS) auf (Abb. 102, Tab. 32). Diese Art wies extrem



hohe Rutingehalte auf, die 85,5% des Gesamtphenolgehaltes ausmachten mit einem absoluten Rutinwert von 937,7 mg/100 g (TS), was knapp 1,0% des Trockengewichtes entspricht.

Die einzige Ausnahme bildete in dieser Klasse die Art „*Fagopyrum homotropicum*“ (Abb. 101, Tab. 32), die einen höheren Flavanolgehalt als die anderen Sorten und Linien der Gruppen 1-3 aufwies. Da es sich hierbei auch um eine Wildart handelte, wurde sie zusammen mit „*F. tataricum*“ in die gleiche Gruppe eingeordnet. Bei dieser Art wurde ein Gesamtphenolgehalt von 199,7 mg/100 g (TS) festgestellt. Aufgrund der natürlich vorkommenden Homostylie der Blüte wurde „*Fagopyrum homotropicum*“ in jede der weiter verwendeten Linien eingekreuzt.

In Gruppe 3 wurden homostyle Nachkommen der Sorte „Sumchanka“ (FE 61) eingeordnet (Abb. 103-106, Tab. 32). Diese wurden aufgrund der äußeren Merkmale, des natürlich vorkommenden determinierten Wuchses und festen Samensitzes, in zahlreiche Sorten mit eingekreuzt. Diese Linie zeichnete sich durch einen geringen Gesamtphenolgehalt mit einer hydroxyzimtsäure-betonten Phenolbiosynthese aus. Der prozentuale Hydroxyzimtsäureanteil lag bei den Linien dieser Gruppe bei bis zu 28,3%. Die absoluten Werte bewegten sich zwischen 6,8 und 40,2 mg/100 g (TS). Der Rutin- und Flavanolgehalt war wie bei den anderen Linien dieser Klasse als gering einzustufen.

Abb. 96:
FE 90

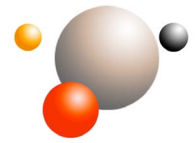


Abb. 97:
FE 95

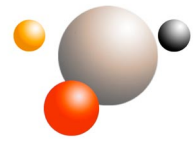


Abb. 98:
FE 158



Abb. 99:
FE 155

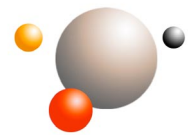


Abb. 100:
FE 179

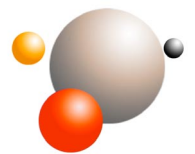


Abb. 93-100: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt von Buchweizenlinien der Klasse 1 Gruppe 1 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Gruppe 2

Abb. 101:
F. homotropicum

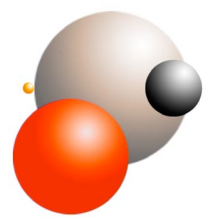


Abb. 102:
F. tataricum

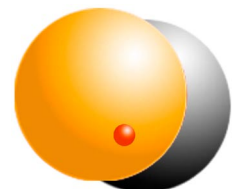


Abb. 101-102: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt von Buchweizenlinien der Klasse 1 Gruppe 2 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)



Gruppe 3

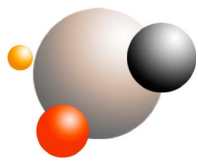


Abb. 103:
β 24

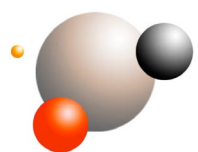


Abb. 104:
61S6 C32

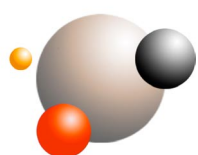


Abb. 105:
61S6 C19

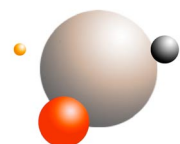


Abb. 106:
61S6 α 34

Abb. 103-106: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt von Buchweizenlinien der Klasse 1 Gruppe 3 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Buchweizenlinie	Gesamtphenolgehalt	HCA	Rutin	Flavanole
Klasse 1	in mg/100 g (TS)			
Gruppe 1				
FE 26 ("Hruszowska")	92,49	12,94	5,40	15,35
FE61 ("Sumchanka")	112,19	17,60	6,53	38,37
FE 85 ("Pulanska")	101,79	14,77	7,45	21,21
FE 90 ("Ballada")	90,99	7,07	6,19	26,67
FE 95 ("Sobano")	82,18	8,89	8,44	26,19
FE 155 ("Sun Rutin")	86,23	4,12	6,61	16,30
FE 158 (Demetra?)	149,00	10,61	10,47	30,03
FE 179 ("Phapal")	112,60	3,38	9,17	35,00
Gruppe 2				
<i>F. homotropicum</i>	199,74	27,10	1,06	113,97
<i>F. tataricum</i>	1097,17	0,00	937,71	13,08
Gruppe 3				
β24	142,16	40,18	5,36	23,36
61S6 3/2 C32	115,30	27,01	1,40	25,64
61S6 3/2 C19	138,35	30,83	4,30	25,56
61S6 3/2 α34	115,22	6,76	1,27	22,31

Tab. 32: Gesamtphenolgehalte, Hydroxyzimtsäure- (HCA), Rutin- und Flavanolgehalte von Buchweizenlinien der Gruppen 1-3, Klasse 1

Gruppe 4



Abb. 107:
170xβ19

Abb. 107: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt der Buchweizenlinie Klasse 2 Gruppe 4 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)



Klasse 2 (Gruppe 4-7)

In die zweite Klasse wurden höhere Flavanolgehalte zwischen 40,0 und 56,0 mg/100 g (TS) eingeordnet, zu der die Buchweizenlinien der Gruppen 4-7 zusammengefasst wurden (Abb.107-116, Tab. 33). Der prozentuale Flavanolanteil lag mit Werten zwischen 30,4 und 56,8% bis auf eine Ausnahme geringfügig höher als in Klasse 1. Der Gesamtphenolgehalt lag zwischen 109,7 und 150,4 mg/100 g (TS).

Die Kreuzung „Astra x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (170xß19), die in der zweiten Klasse aufgrund ihres auffallend geringen Gesamtphenolgehaltes von 65,9 mg/100 g (TS) eine Ausnahme bildete, wurde Gruppe 4 zugeteilt. Der niedrigere Gesamtphenolgehalt hatte bei einem Flavanolgehalt von 44,3 mg/100 g (TS) zur Folge, dass dieser einen prozentualen Anteil von 67,2 % ausmachte.

Die Buchweizenlinien „[Skorospelaja 81 x Sumchanka] x *F. homotropicum*“ (11x(61/02)) und „Luba x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (67x61/02) wurden zu Gruppe 5 zusammengefasst, deren Phenolbiosynthese sich bei konstantem Flavanolgehalt zugunsten der Hydroxyzimtsäuren verschob und die Werte auf 19,1 bzw. 20,3 mg/100 g (TS) erhöhte, während der Rutingehalt auf sehr niedrigem Niveau zwischen 1,8 bzw. 3,6 mg/100 g (TS) verblieb.

Bei den sich stark ähnelnden 3 Buchweizenlinien der Gruppe 6 wurde eine Verschiebung des Phenolstoffwechsels in Richtung Rutin zu Ungunsten der Hydroxyzimtsäuren festgestellt. Der Flavanolgehalt blieb Klasse 2 entsprechend konstant zwischen 74,7 und 80,9 mg/100 g (TS).

Sowohl bei „Panda x *F. homotropicum*“ (70x02) als auch bei „Ukrainka x *F. homotropicum*“ (80x02) und der Linie „Skorospelaja 81“ (115 x) lag der Rutingehalt zwischen 13,4 und 15,0 mg/100 g (TS), während die Hydroxyzimtsäuren um die Hälfte geringer waren. Der Rutingehalt wurde bei Werten zwischen 5,5 und 7,3 mg/100 g (TS) gefunden.

In Gruppe 7 befanden sich Buchweizenlinien, deren Hydroxyzimtsäuresynthese stärker ausgeprägt war als die Rutinsynthese, jedoch wurden für beide Substanzgruppen im Vergleich zu den übrigen Gruppen dieser Klasse höhere absolute Werte festgestellt. Der Hydroxyzimtsäuregehalt lag zwischen 18,7 und 31,1 mg/100 g (TS), der Rutingehalt zwischen 8,4 und 16,9 mg/100 g (TS). Der Flavanolgehalt blieb gleich den anderen Gruppen dieser Klasse mit durchschnittlich 46,7 mg/100 g (TS). Bei dieser Gruppe konnte ein höherer Gesamtphenolgehalt gefunden werden, der die höheren Hydroxyzimtsäure- und Rutingehalte erklären könnte.

Gruppe 5

Abb. 108:
11x(61/02)

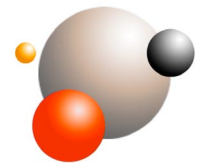


Abb. 109:
67x61/02

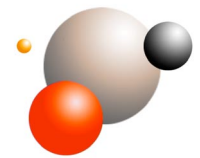


Abb. 108-109: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt von Buchweizenlinien der Klasse 2 Gruppe 5 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Gruppe 6

Abb. 110:
115 x



Abb. 111:
70x02



Abb. 112:
80x02



Abb. 110-112: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt von Buchweizenlinien der Klasse 2 Gruppe 6 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)



Gruppe 7



Abb. 113:
172xß24

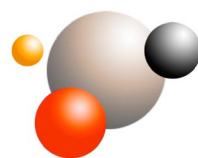


Abb. 114:
94x61/02



Abb. 115:
167xK26



Abb. 116:
169xß7

Abb. 113-116: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt von Buchweizenlinien der Klasse 2 Gruppe 7 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Gruppe 8

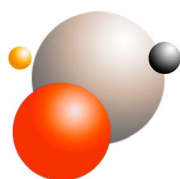


Abb. 117:
156xß4

Abb. 117: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt von Buchweizenlinien der Klasse 3 Gruppe 8 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Gruppe 9



Abb. 118:
67(3)x61/02

Zu dieser Gruppe zählen die Sorte „Irmenka“ (173a), und die Linien „Chirminskaya x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (94x61/01), „Pavle Komar x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (167xK26), „Kitawase x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (172xß24) sowie „Kazanski x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (169xß7).

Buchweizenlinie	Gesamtphenolgehalt	HCA	Rutin	Flavanole
Klasse 2	in mg/100 g (TS)			
Gruppe 4				
170xß19	65,94	4,06	6,89	44,32
Gruppe 5				
11S6 20/105/51	148,49	19,07	3,62	45,12
67x61x61/02	119,06	20,27	1,82	47,74
Gruppe 6				
70x02	141,28	7,25	15,04	44,42
80x02	115,03	5,52	13,35	56,39
11 5x	133,47	6,62	15,04	44,42
Gruppe 7				
173a	109,68	20,17	10,85	40,58
94x61/02	116,91	24,50	8,43	43,33
172xß24	134,45	18,70	12,13	46,21
167(2)xK26	150,35	29,05	13,07	46,08
169xß7	147,60	31,13	16,86	52,42

Tab. 33: Gesamtphenolgehalte, Hydroxyzimtsäure- (HCA), Rutin- und Flavanolgehalte von Buchweizenlinien der Gruppen 4-7, Klasse 2



Klasse 3 (Gruppe 8-12)

In Klasse 3 wurden 5 Gruppen zusammengefasst, die im Vergleich zu den bisherigen Gruppen höhere Flavanolgehalte zwischen 57,1 und 90,4 mg/100 g (TS) aufwiesen. Der Gesamtphenolgehalt lag zwischen 118,9 und 185,5 mg/100 g (TS).

Die Buchweizenlinie „Koghan x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (156xβ2) wurde in Gruppe 8 eingeordnet (Abb. 117, Tab. 34). Bei dieser Linie wurde ein Flavanolgehalt von 81,9 mg/100 g (TS) festgestellt. Gleichzeitig wurden sehr geringe Hydroxyzimtsäure- und Rutinwerte von 4,5 und 8,7 mg/100 g (TS) gefunden.

Gruppe 9 setzte sich aus 5 Buchweizenlinien zusammen (Abb. 118-122, Tab. 34), die alle hohe Flavanolgehalte zwischen 57,1 und 85,0 mg/100 g (TS) aufzeigten. Die Rutingehalte fielen mit 1,5 bis 4,4 mg/100 g (TS) sehr gering aus. Zu der Gruppe 9 zählten die Linien „Luba x [Lubax(Sumchanka x *F. homotropicum*)]“ (67(3)x67x61/02), „Siva x *F. homotropicum*“ (15x02), „Skorospelaya 81 x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (11gx02), „Hakönen x *F. homotropicum*“ (75x02) und „Kalinskiy x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (174axβ17).

Die Buchweizenlinien, die zu Gruppe 10 zählten (Abb. 123-125, Tab. 34), hatten Flavanolgehalte zwischen 72,8 und 90,4 mg/100 g (TS). Aufgrund der höheren Gesamtphenolgehalte wurden höhere Rutingehalten beobachtet, die sich von durchschnittlich 2,6 mg/100 g (TS) in Gruppe 9 auf 10,0 mg/100 g (TS) bei gleich bleibenden Hydroxyzimtsäure- und Flavanolgehalten (wie Gruppe 9) erhöhten. Zu Gruppe 10 zählten die Buchweizenlinien „Dicul x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (159xβ2), „Mancan x *F. homotropicum*“ (71x02) und „FAG 80/84 x Sumchanka“ (44x61S6).

In Gruppe 11 (Abb. 126-128, Tab. 34) drehte sich diese Ressourcenverteilung um. Bei nahezu konstantem absoluten Flavanolgehalt zwischen 61,5 und 82,4 mg/100 g (TS), wurde anstatt der Hydroxyzimtsäuresynthese die Rutinsynthese begünstigt. Der Rutingehalt stieg auf Werte zwischen 17,4 und 24,6 mg/100 g (TS), während die Werte der Hydroxyzimtsäuren zwischen 4,7 und 9,0 mg/100 g (TS) sehr gering blieben. Die Buchweizenlinien, die diese Merkmale zeigten, waren „Manor x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (165xK26), „Ballada x *F. homotropicum*“ (90x02) und „Demetra x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (158(12)xK2).

Gruppe 12 (Abb. 129-131, Tab. 34) setzte sich aus Buchweizenlinien zusammen, deren Hydroxyzimtsäure- und Rutingehalte zwischen 9,2 und 16,2 mg/100 g (TS) lagen, und den übrigen Gruppen der Klasse 3 entsprechend

Abb. 119:
15x02

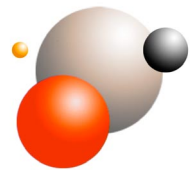


Abb. 120:
11gx02



Abb. 121:
75x02

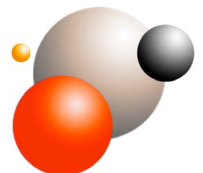


Abb. 122:
174axβ17

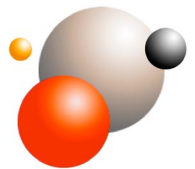


Abb. 118-122: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt von Buchweizenlinien der Klasse 3 Gruppe 9 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Gruppe 10

Abb. 123:
71x02

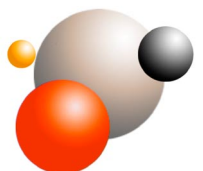


Abb. 124:
159xβ2

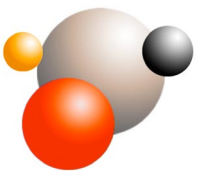


Abb. 125:
44x61S6

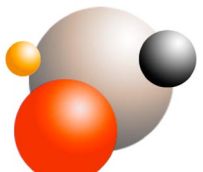


Abb. 123-125: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt von Buchweizenlinien der Klasse 3 Gruppe 10 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)



Gruppe 11

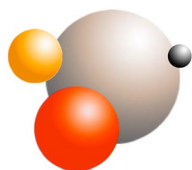


Abb. 126:
165xK26



Abb. 127:
158(12)xK2

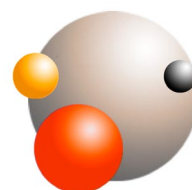


Abb. 128:
90x02

Abb. 126-128: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt von Buchweizenlinien der Klasse 3 Gruppe 11 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Gruppe 12



Abb. 129:
164xK26



Abb. 130:
19x61/02



Abb. 131:
166xß2

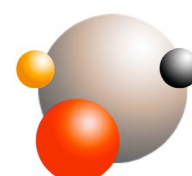


Abb. 132:
160xß2

Abb. 129-132: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt von Buchweizenlinien der Klasse 3 Gruppe 12 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

hohe Flavanolgehalte aufwiesen. Zu dieser Gruppe zählten „Dozdik x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (160xß2), „FE 164 x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (164xK26), „La Harpe x [Sumchankax*F. homotropicum*]“ (19x61/02) und „Manisoba x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (166xß2).

Buchweizenlinie	Gesamtphenolgehalt	HCA	Rutin	Flavanole
Klasse 3	in mg/100 g (TS)			
Gruppe 8				
156xß2	150,79	8,65	4,48	81,93
Gruppe 9				
11gx02	160,95	37,37	2,18	57,13
15x02	134,00	17,00	2,19	73,72
67(3)x67x61/02	158,76	28,72	1,52	59,93
75x02	146,74	27,29	2,97	84,98
174axß17	131,86	14,41	4,37	72,53
Gruppe 10				
44x61S6	173,65	27,69	10,25	90,37
71x02	144,63	25,81	6,66	75,60
159xß2	135,07	21,79	13,02	72,78
Gruppe 11				
90x02	243,36	9,00	17,39	67,16
158(12)xK2	159,11	8,56	19,31	82,39
165xK26	149,27	4,72	24,61	61,48
Gruppe 12				
19x61/02	118,92	11,20	16,15	73,94
160xß2	185,46	13,43	12,12	59,53
164XK26	126,24	9,75	13,72	69,75
166xß2	123,85	9,16	9,33	79,85

Tab. 34: Gesamtphenolgehalte, Hydroxyzimtsäure- (HCA), Rutin- und Flavanolgehalte von Buchweizenlinien der Gruppen 8-12, Klasse 3



Klasse 4 (Gruppe 13-15)

Die 3 Gruppen 13-15 zeichneten sich mit Werten zwischen 96,3 und 157,3 mg/100 g (TS) durch höhere Flavanolgehalte als die vorherigen Gruppen aus, wobei der prozentuale Anteil der Flavanole am Gesamtphenolgehalt mit 49,4% bis 77,9% nur leicht anstieg. Dementsprechend höher waren die Gesamtphenolgehalte mit Werten zwischen 101,3 und 239,7 mg/100 g (TS).

Zu der Gruppe 13 (Abb. 133-137, Tab. 35) zählten 5 Buchweizenlinien, deren Gesamtphenolgehalt, im Vergleich zu den bisherigen Gruppen, als hoch eingestuft wurde. Die Flavanolwerte lagen zwischen 96,7 und 137,4 mg/100 g (TS). Die Rutingehalte waren dagegen mit Werten zwischen 2,3 und 4,7 mg/100 g (TS) sehr niedrig. Die Hydroxyzimtsäuregehalte lagen zwischen 15,9 und 38,8 mg/100 g (TS). Zu Gruppe 13 zählten die Buchweizenlinien „Khazanckaya x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (93x61/02), von denen eine Variante mit dunklen und eine mit silbergrauen Körnern untersucht wurde, „FAG 83 x *F. homotropicum*“ (46x02), „FE77 x *F. homotropicum*“ (77x02), „NSL 83124x*F. homotropicum*“ (88x02) und „Kora x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (59x61S6).

In Gruppe 14 (Abb. 138-142, Tab. 35) wurden Buchweizenlinien zusammengefasst, deren Hydroxyzimtsäure- und Flavanolgehalte denen von Gruppe 13 entsprachen, jedoch um 100- bis 400% höhere Rutinwerte aufwiesen, die zwischen 8,0 und 16,8 mg/100 g (TS) lagen. Dazu gehörten die Kreuzungen „Demetra x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (158xK2), „FE 180 x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (180xß24), „Rutina Smith Kline x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (78x61/02), „Silverhull x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (38x61/02) und „Serebristaja x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (42x61/02).

Bei den Buchweizenlinien von Gruppe 15 (Abb. 143-145, Tab. 35) wurden wie in Gruppe 12 fast gleichverteilte absolute Hydroxyzimtsäure- und Rutinwerte festgestellt, jedoch mit einem der Klasse 4 entsprechend höheren Flavanolgehalt, der zwischen 126,0 und 157,3 mg/100 g (TS) lag. In diese Gruppe fielen die Buchweizenlinien „Toukinskaja x Sumchanka!“ (48x61/02), „Krupinka“ (60S6) und „Kazanka x Krupinka“ (144x60S6).

Gruppe 13

Abb. 133:
46x02

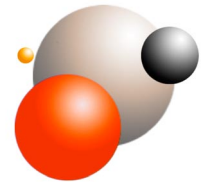


Abb. 134:
88x02



Abb. 135:
59x61S6

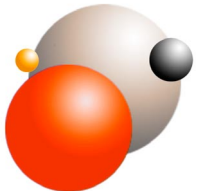


Abb. 136:
93x61/02

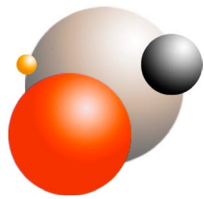


Abb. 137:
77x02

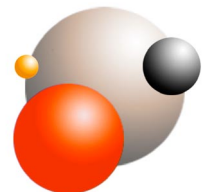
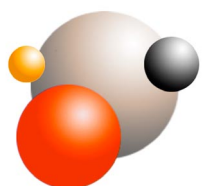


Abb. 133-137: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt von Buchweizenlinien der Klasse 4 Gruppe 13 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Gruppe 14

Abb. 138:
180xß24



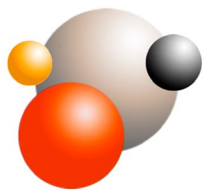


Abb. 139:
158xK2

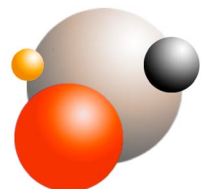


Abb. 140:
78x61/02

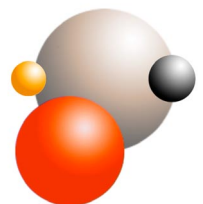


Abb. 141:
38x61/02

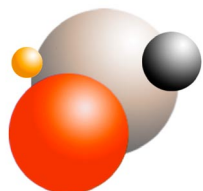


Abb. 142:
42x61/02

Abb. 138-142: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt von Buchweizenlinien der Klasse 4 Gruppe 14 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Buchweizenlinie	Gesamtphenolgehalt	HCA	Rutin	Flavanole
Klasse 4	in mg/100 g (TS)			
Gruppe 13				
46x02	169,63	28,49	2,26	98,00
59x61S6	189,90	15,92	4,58	137,38
77x02	210,66	28,10	4,73	104,13
88x02	163,83	18,38	4,67	122,94
93x61/02	208,81	31,61	3,37	128,93
Gruppe 14				
38x61/02	171,03	18,74	10,35	103,12
42x61/02	178,57	29,50	7,98	122,38
78x61/02	199,61	26,14	8,66	100,45
158xK2	171,23	26,62	16,77	96,28
180xβ24	182,77	25,49	11,20	96,57
Gruppe 15				
48x61/02	239,73	10,26	5,67	126,04
60S6	201,81	14,96	7,73	157,26
144x60S6	183,26	5,07	5,56	126,71

Tab. 35: Gesamtphenolgehalte, Hydroxyzimtsäure- (HCA), Rutin- und Flavanolgehalte von Buchweizenlinien der Gruppen 13-15, Klasse 4

Gruppe 15

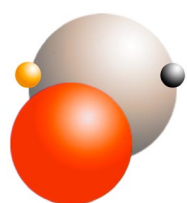


Abb. 143:
144x60S6

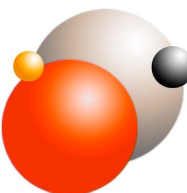


Abb. 144:
60S6



Abb. 145:
48x61/02

Abb. 143-145: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt von Buchweizenlinien der Klasse 4 Gruppe 15 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)



Klasse 5 (Gruppe 16-17)

Klasse 5 setzte sich aus speziellen Buchweizenlinien zusammen, deren Gehalte der einzelnen Phenolkomponenten nicht mit denen der übrigen Gruppen übereinstimmte.

Gruppe 16 (Abb. 146-148, Tab. 36) bildeten die Buchweizenlinien „Pulanska x *F. homotropicum*“ (85x02) und die Sorte „Mite Phapal“ (FE 178), die im Vergleich zu den übrigen untersuchten Linien Werte bei 48,0 (34,8%) und 82,4 mg/100 g (TS) (56,3%) aufwiesen.

Die Buchweizenlinie „Sun Rutin x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (155xβ4) wies in dieser Gruppe nicht nur einen hohen Rutingehalt von 31,0 mg/100 g (TS) auf, sondern ein insgesamt sehr hohes Potential für die Phenolbiosynthese mit einem gleichzeitig hohen Hydroxyzimtsäuregehalt von 30,0 mg/100 g (TS) und Flavanolgehalt von 73,8 mg/100 g (TS).

Zu Gruppe 17 (Abb. 149-150, Tab. 36) gehörten die zwei Buchweizenlinien „Hyuszowska x *F. homotropicum*“ (26x02) und „Sobano x [Ballada x *F. homotropicum*]“ (95x90/02). Bei 26x02 wurde eine Kombination eines sehr hohen Flavanolgehaltes von 109,7 mg/100 g (TS) und einem extrem niedrigen Rutingehalt von 1,7 mg/100 g (TS) festgestellt. Der Hydroxyzimtsäuregehalt wurde mit 21,5 mg/100 g (TS) ermittelt. Die Kreuzung „Sobano x [Ballada x *F. homotropicum*]“ (95x90/02) wies den höchsten Flavanolgehalt von 219,8 mg/100 g (TS) auf. Der Gesamtphenolgehalt lag bei 388,3 mg/100 g (TS) und war als hoch einzustufen. Die Hydroxyzimtsäure- und Rutingehalte waren im Vergleich zu den Flavanolen gering, jedoch untereinander gleich verteilt.

Buchweizenlinie	Gesamtphenolgehalt	HCA	Rutin	Flavanole
Klasse 5	in mg/100 g (TS)			
Gruppe 16				
85x02	138,24	13,76	48,04	41,32
155xβ4	270,82	29,95	30,96	73,80
FE 178	146,34	6,00	82,44	59,37
Gruppe 17				
26x02	213,49	21,53	1,71	109,65
95x90/02	388,26	27,89	20,94	219,78

Tab. 36: Gesamtphenolgehalte, Hydroxyzimtsäure- (HCA), Rutin- und Flavanolgehalte von Buchweizenlinien der Gruppen 16-17, Klasse 5

Gruppe 16

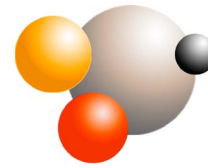


Abb. 146:
85x02

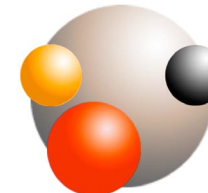


Abb. 147:
155xβ4



Abb. 148:
FE 178

Abb. 146-148: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt von Buchweizenlinien der Klasse 4 Gruppe 16 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Gruppe 17

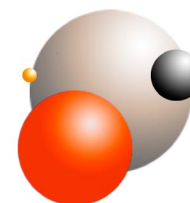


Abb. 149:
26x02

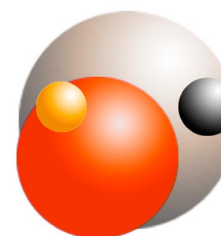
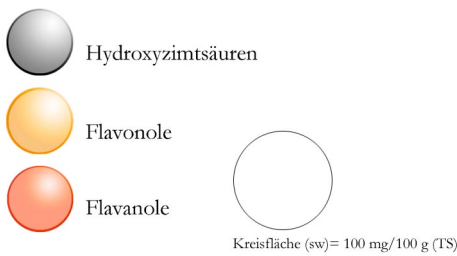


Abb. 150:
95x90/02

Abb. 149-150: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt von Buchweizenlinien der Klasse 4 Gruppe 17 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)



Gruppe 1

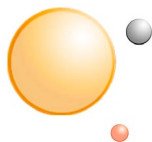


Abb. 151:
FE 26

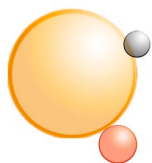


Abb. 152:
FE 61

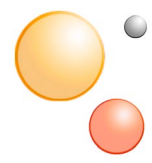


Abb. 153:
FE 85

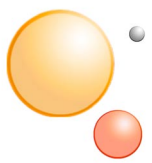


Abb. 154:
FE 90

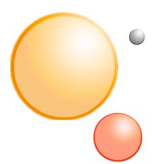


Abb. 155:
FE 95

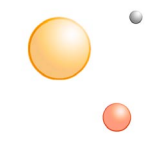


Abb. 156:
FE 155

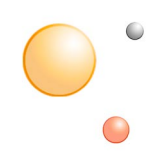


Abb. 157:
FE 158

Abb. 151-157: Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavonolgehalt der Schalen von Buchweizenlinien der Gruppe 1 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

6.5 Phenolgehalte in der Buchweizenschale

Um ein vollständiges Bild über die Phenolgehalte des Buchweizenkorns zu erhalten, wurde zusätzlich zum geschälten Korn die Schale untersucht. Es sollte geklärt werden, welche Phenolzusammensetzung sich in der Schale befindet und in welcher Menge die Verbindungen vorkommen.

Für die Analysen wurden die Schalen der bereits überprüften Samen der unterschiedlichen Buchweizenlinien verwendet.

In den Schalen konnten qualitativ die gleichen Phenolgruppen wie im Korn gefunden werden, d.h. Hydroxyzimtsäuren, Flavonole und Flavanole. Zusätzlich wurden bei den Flavonolen außer Rutin weitere Verbindungen mittels HPLC gefunden, die im Korn selbst nicht nachzuweisen waren. Die Hydroxyzimtsäuren wurden bei einer Wellenlänge von 320 nm ausgewertet, die Flavonole bei 360 nm und die Flavanole bei 640 nm mit Nachsäulenderivatisierung. Die großen Mengen oligo- und polymerer Flavanole machten eine Auswertung bei 280 nm unmöglich. Daher konnte kein vollständiger Gesamtphenolgehalt berechnet werden konnte.

Die Ergebnisse der untersuchten Schalen in den Abb.151-205 entsprechen der Darstellung, die in Kapitel 6.3.3 erläutert wurde, bis auf das Fehlen des Gesamtphenolgehaltes im Hintergrund. Die in Gelb dargestellten Flavonole beinhalten bei der Schale nicht ausschließlich Rutin, sondern alle bei 360 nm ermittelten Flavonole.

Quantitativ unterschieden sich die Gehalte in der Schale deutlich von denen im Korn, da hier sehr viel höhere Rutingehalte, aber niedrigere Flavanolgehalte gefunden wurden. Bei den Hydroxyzimtsäuren wurden kaum Unterschiede zwischen Korn und Schale festgestellt.

Die Einteilung der Gruppen und Klassen sind zur besseren Überschaubarkeit die Gleichen wie beim Korn.

Wie in den Abb.151-157 zu sehen ist, waren die Phenolgehalte in Gruppe 1 insgesamt niedrig. Der Flavonolgehalt stellte die Hauptkomponente dar und bewegte sich zwischen 33,1 und 140,2 mg/100 g (TS). Der Flavanolgehalt war sehr niedrig mit Werten zwischen 2,6 und 20,4 mg/100 g (TS). Der Hydroxyzimtsäuregehalt wurde zwischen 1,4 und 6,1 mg/100 g (TS) gefunden.

In Gruppe 2 (Abb. 158-159) fielen die Werte von „*F. homotropicum*“ auf, bei dem sich der Flavanolgehalt von 138,7 mg/100 g (TS) deutlich von den *F. esculentum*-Buchweizenlinien abhob. Der Flavonolgehalt wurde bei 193,7 mg/100 g (TS) gefunden.

Sehr viel höhere Werte konnten bei der Wildart „*F. tataricum*“ beobachtet werden. Hier lag der Flavonolgehalt bei 296,8 mg/100 g (TS). Flavanole konnten dagegen in der



Schale von „*F. tataricum*“ nicht nachgewiesen werden.

Die absoluten Werte von Gruppe 3 (Abb. 160-163) sind in Tab. 37 aufgeführt. Die Phenolzusammensetzung dieser Gruppe glich der von Gruppe 1. Der Gesamtgehalt war mit Flavonolen als Hauptkomponente insgesamt als niedrig einzustufen. Der Rutingehalt bewegte sich zwischen 74,3 und 114,9 mg/100 g (TS). Die Flavanolwerte lagen bei allen Linien dieser Gruppe zwischen 1,4 und 6,2 mg/100 g (TS). Die Hydroxyzimtsäuren lagen im Vergleich zu Gruppe 1 mit Werten zwischen 4,3 und 12,7 mg/100 g (TS) höher.

Besonders auffällig war in Gruppe 5 die Buchweizenlinie 67 x 61 x 61/02 (Abb. 167) mit einem hohen Flavonolwert von 484,6 mg/100 g (TS). Der Flavanolgehalt war bei dieser Linie mit 76,6 mg/100 g (TS) hoch. Die übrigen Flavonolwerte dieser Gruppe lagen zwischen 124,0 und 132,5 mg/100 g (TS). Der Flavanolgehalt wurde mit Werten zwischen 20,5 und 65,1 mg/100 g (TS) festgestellt.

Bei den Linien von Gruppe 6 (Abb. 167-169) stellten die Flavonole mit Gehalten zwischen 151,2 und 175,3 mg/100 g (TS) wiederum die Hauptkomponente dar. Flavanole wurden zwischen 3,9 und 27,5 mg/100 g (TS) gefunden.

In Gruppe 7 war die Linie 94 x 61/02 in Abb. 171 mit einem Flavonolgehalt von 232,8 mg/100 g (TS) auffällig, in Gruppe 9 wiesen die zwei Linien 15x02 (Abb. 176) und 75x02 (Abb. 178) erkennbar höhere Flavonolgehalte von 239,1 und 375,7 mg/100 g (TS) auf. Der Flavanolgehalt lag bei 41,5 und 30,1 mg/100 g (TS).

In Gruppe 12 (Abb. 186-189) wurde eine weitere Linie, 164xK26, mit einem hohen Flavonolgehalt in der Schale von 390,7 mg/100 g (TS) ermittelt. Der Flavanolgehalt lag dagegen bei 14,0 mg/100 g (TS), die Hydroxyzimtsäuren bei 33,3 mg/100 g (TS). Die Buchweizenlinie 88x02 (Abb. 193) in Gruppe 13 hatte einen für die Schale ungewöhnlich hohen Flavanolgehalt von 89,3 mg/100 g (TS), ebenso wie die Linie 46x02 (Abb. 190) der gleichen Gruppe mit 71,9 mg/100 g (TS). Die Flavonolwerte lagen bei 239,4 und 192,0 mg/100 g (TS). Sehr hohe Flavonolwerte wurden in Gruppe 15 bei den Linien 48x61/02 (Abb. 199) und 60S6 (Abb. 200) gefunden. Diese lagen bei 302,8 und 298,4 mg/100 g (TS). Die Flavanolwerte wurden dagegen bei 11,2 und 12,2 mg/100 g (TS) gefunden. Die Buchweizenlinie 95x90/02 in Gruppe 17 (Abb. 205) wies einen hohen Flavonolgehalt von 363,3 mg/100 g (TS) auf. Der Flavanolgehalt lag bei 65,6 mg/100 g (TS). Die Gruppen 14 und 16 wiesen Rutingehalte zwischen 69,0 und 244,6 mg/100g (TS) auf.

Gruppe 2

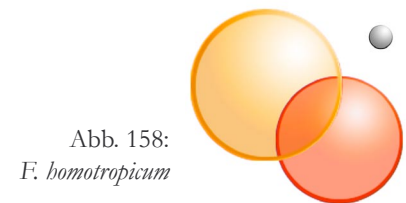


Abb. 158-159: Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt der Schalen von Buchweizenlinien der Gruppe 2

(Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Gruppe 3

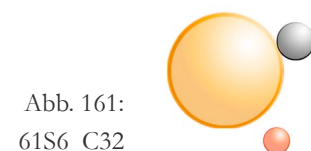
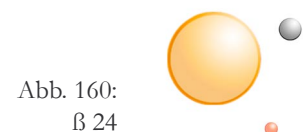


Abb. 160-163: Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt der Schalen von Buchweizenlinien der Gruppe 3

(Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)



Gruppe 4

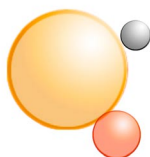


Abb. 164:
170xβ19

Abb. 164: Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt der Schalen von Buchweizenlinien der Gruppe 4

Gruppe 5

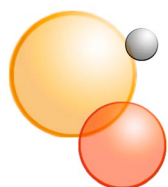


Abb. 165:
11S6



Abb. 166:
67x61x61/02

Abb. 165-166: Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt der Schalen von Buchweizenlinien der Gruppe 5

Gruppe 6



Abb. 167:
11 5x



Abb. 168:
70x02

100

Buchweizenlinie	HCA	Rutin	Flavanole
Klasse 1			
in mg/100 g TS			
Gruppe 1			
FE 26 ("Hruszowska")	5,51	95,61	2,59
FE61 ("Sumchanka")	6,11	140,18	12,71
FE 85 ("Pulanska")	6,12	87,83	5,37
FE 90 ("Ballada")	2,01	96,74	20,37
FE 95 ("Sobano")	2,01	96,74	20,37
FE 155 ("Sun Rutin")	1,41	33,06	6,82
FE 158 (Demetra)	2,65	46,29	6,22
Gruppe 2			
<i>F. homotropicum</i>	4,80	193,65	138,68
<i>F. tataricum</i>	6,28	296,79	0,00
Gruppe 3			
β24	4,33	74,25	1,43
61S6 3/2 C32	12,71	114,90	6,21
61S6 3/2 C19	11,37	77,44	1,39
61S6 3/2 a34	12,46	113,43	3,76
Klasse 2			
Gruppe 4			
170xβ19	7,88	123,96	20,46
Gruppe 5			
11S6 20/105/51	9,05	132,49	65,08
67x61x61/02	17,82	484,64	76,57
Gruppe 6			
70x02	12,23	172,34	26,70
80x02	8,90	151,21	27,51
11 5x	7,91	175,33	3,92
Gruppe 7			
94x61/02	27,01	232,82	39,81
172xβ24	15,78	159,51	31,98
167(2)xK26	6,69	91,83	10,06
169xβ7	10,33	136,37	23,99
Klasse 3			
Gruppe 8			
156xβ2	13,89	106,38	54,43
Gruppe 9			
11gx02	8,46	79,78	20,39
15x02	9,51	239,14	41,51

Tab. 37, Teil 1: Hydroxyzimtsäure- (HCA), Rutin- und Flavanolgehalte in der Schale von Buchweizenlinien der Gruppen 1-9

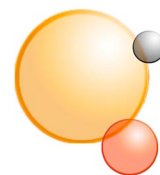


Abb. 169:
80x02

Abb. 167-169: Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt der Schalen von Buchweizenlinien der Gruppe 6 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Gruppe 7

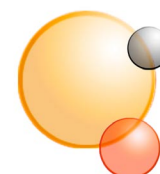


Abb. 170:
172xβ24

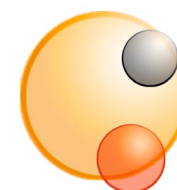


Abb. 171:
94x61/02

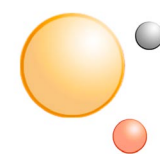


Abb. 172:
167(2)xK26

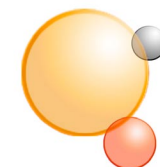


Abb. 173:
169xβ7

Abb. 170-173: Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt der Schalen von Buchweizenlinien der Gruppe 7 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)



Gruppe 8

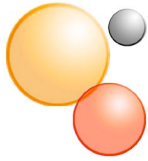


Abb. 174:
156xβ4

Abb. 174: Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt der Schalen von Buchweizenlinien der Gruppe 8 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Gruppe 9

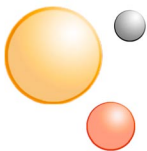


Abb. 175:
11gx02

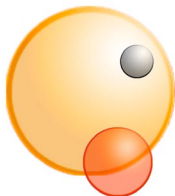


Abb. 176:
15x02

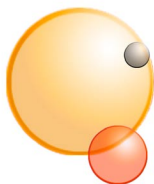


Abb. 177:
67(3)x67x61/02

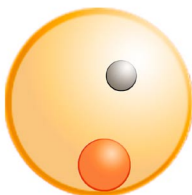


Abb. 178:
75x02

67(3)x67x61/02	5,60	183,36	30,22
75x02	10,27	375,67	30,11
174axβ17	10,20	188,50	17,08
Gruppe 10			
44x61S6	11,92	163,08	36,51
71x02	8,41	157,04	27,68
159xβ2	12,97	224,81	19,06
Gruppe 11			
90x02	3,80	181,91	25,87
158(12)xK2	11,91	179,11	15,04
165xK26	14,21	158,88	31,74
Gruppe 12			
19x61/02	5,28	71,33	11,88
160xβ2	4,41	114,85	15,29
164xK26	33,34	390,67	14,03
166xβ2	11,94	155,45	43,66
Klasse 4			
Gruppe 13			
46x02	12,65	192,04	71,87
59x61S6	3,93	158,00	26,37
77x02	25,88	247,77	43,44
88x02	17,65	239,40	89,31
93x61/02	5,62	208,75	22,38
Gruppe 14			
42x61/02	8,97	244,60	41,52
78x61/02	5,64	188,31	18,72
158xK2	12,43	136,91	14,94
180xβ24	12,05	150,17	15,42
Gruppe 15			
48x61/02	10,75	302,80	11,21
60S6	7,35	298,38	12,19
144x60S6	5,08	89,87	15,03
Klasse 5			
Gruppe 16			
85x02	4,40	69,00	26,62
155xβ4	3,96	123,98	15,31
Gruppe 17			
26x02	18,32	206,86	12,05
95x90/02	15,84	363,32	65,64

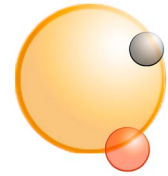


Abb. 179:
174axβ17

Abb. 175-179: Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt der Schalen von Buchweizenlinien der Gruppe 9 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Gruppe 10

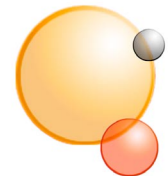


Abb. 180:
71x02

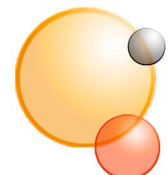


Abb. 181:
44x61S6



Abb. 182:
159xβ2

Abb. 180-182: Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt der Schalen von Buchweizenlinien der Gruppe 10 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Tab. 37, Teil 2: Hydroxyzimtsäure- (HCA), Rutin- und Flavanolgehalte in der Schale von Buchweizenlinien der Gruppen 10-17



Gruppe 11

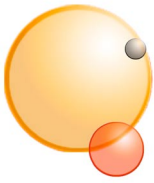


Abb. 183:
90x02

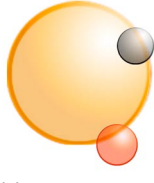


Abb. 184:
158(12)xK2

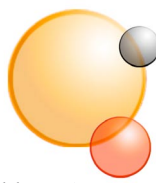


Abb. 185:
165xK26

Abb. 183-185: Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt der Schalen von Buchweizenlinien der Gruppe 11
(Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Gruppe 12

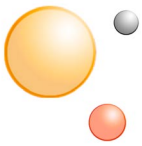


Abb. 186:
19x61/02

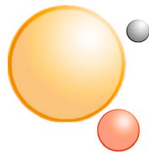


Abb. 187:
160xβ2

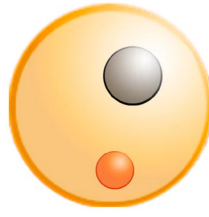


Abb. 188:
164xK26

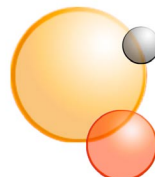


Abb. 189:
166xβ2

Abb. 186-189: Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt der Schalen von Buchweizenlinien der Gruppe 12
(Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Gruppe 13

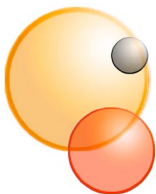


Abb. 190:
46x02



Abb. 191:
59x61S6



Abb. 192:
77x02



Abb. 193:
88x02



Abb. 194:
93x61/02

Abb. 190-194: Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt der Schalen von Buchweizenlinien der Gruppe 13
(Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Gruppe 14

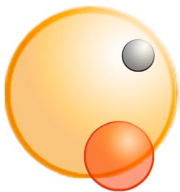


Abb. 195:
42x61/02

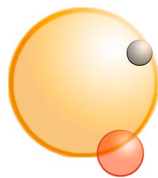


Abb. 196:
78x61/02

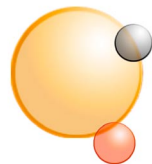


Abb. 197:
158xK2

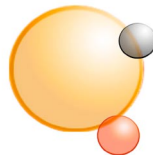


Abb. 198:
180xβ24

Abb. 195-198: Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt der Schalen von Buchweizenlinien der Gruppe 14
(Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)



Gruppe 15

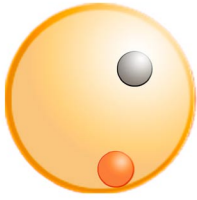


Abb. 199:
48x61/02

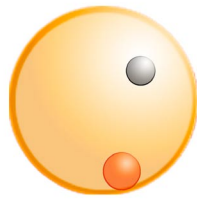


Abb. 200:
60S6

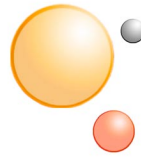


Abb. 201:
144x60S6

Abb. 199-201: Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt der Schalen von Buchweizenlinien der Gruppe 15
(Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Gruppe 16

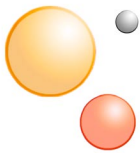


Abb. 202:
85x02

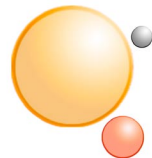


Abb. 203:
155xß4

Abb. 202-203: Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt der Schalen von Buchweizenlinien der Gruppe 16
(Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Gruppe 17

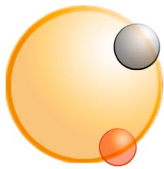


Abb. 204:
26x02

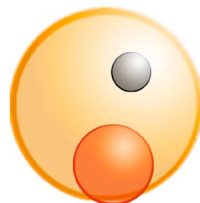


Abb. 205:
95x90/02

Abb. 204-205: Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalt der Schalen von Buchweizenlinien der Gruppe 17
(Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)



6.6 Auswahl von Buchweizenlinien als Elterngeneration für die Kreuzungsversuche

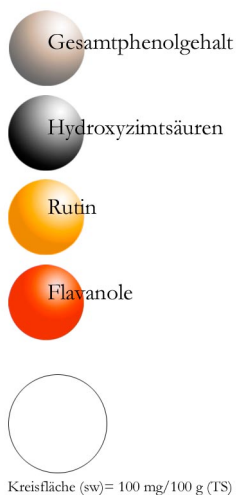
In Kapitel 6.4 wurden 60 unterschiedliche Buchweizenlinien auf ihre Hydroxyzimtsäure-, Flavonol- und Flavanolgehalte hin untersucht. Aus dieser Grundgesamtheit wurden anschließend Linien mit unterschiedlichen Phenolzusammensetzungen selektiert, die als Elterngeneration für die folgenden Kreuzungsversuche verwendet werden sollten.

Um die in Kapitel 6.2 definierten Ziele zu erreichen, wurden Extreme mit hohem oder niedrigem Gesamtphenolgehalt und einer begünstigten Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und/oder Flavanolsynthese selektiert. Zusätzlich wurde darauf geachtet, dass vorrangig Buchweizenlinien gewählt wurden, bei denen bereits Homostylie und determinierter Wuchs, sowie fester Samensitz eingekreuzt worden waren.

In Kapitel 3.1 wurde bereits auf die Anzahl der durchgeführten Rückkreuzungen und Selbstungen der einzelnen Buchweizenlinien hingewiesen. Daraus wurde deutlich, dass sich die Buchweizenlinien in sehr unterschiedlichen Stadien befanden und damit nicht immer alle gewünschten äußeren Merkmale gleichzeitig stabil vorhanden waren.

Für die Selektion der Elterngeneration war es außerdem notwendig, nicht nur die Mischprobe aus mehreren Pflanzen zu betrachten, sondern auch die Samen einzelner Pflanzen, um die Variabilität innerhalb einer Linie einschätzen zu können und die beste Pflanze einer Population weiterzuverwenden.

Aus den 60 Buchweizenlinien wurden 8 Linien mit unterschiedlicher Phenolzusammensetzung selektiert und eine Probe von geschälten Buchweizensamen dieser Einzelpflanzen jeder Linie untersucht. Aufgrund ihrer Merkmale wurden die Linien in Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanoltypen eingeteilt.



Linie 61S6

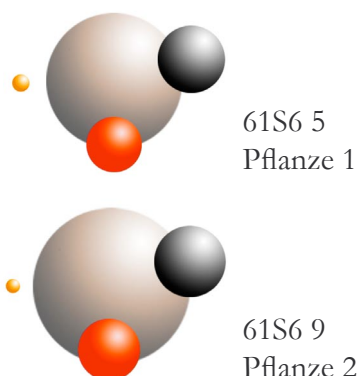


Abb. 206: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalte der analysierten Pflanzen 1 und 2 der Linie 61S6 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

6.6.1 Hydroxyzimtsäure-Typen

Bei der Buchweizenlinie „Sumchanka“ (61S6 3/2 C32) konnte ein hoher Anteil Hydroxyzimtsäuren festgestellt werden. Zudem wies 61S6 einen im Vergleich zu den übrigen Linien extrem geringen Gesamtphenolgehalt auf. Die Rutin- und Flavanolgehalte wurden als gering eingestuft. Bei 61S6 wurde auf hohen Hydroxyzimtsäure- und niedrigen Gesamtphenolgehalt selektiert. 61S6 zeigte zudem hohe Stabilität bei der Homostylie, stabilen festen Samensitz und determinierten Wuchs.

In Abb. 206 sowie Tab. 38 sind die Ergebnisse der analysierten Einzelpflanzen aufgeführt. Als Elternpflanzen für die folgenden Kreuzungsversuche wurden beide Pflanzen



	Gesamtphenol- gehalt	HCA	Rutin	Flavanole
	in mg/100 g (TS)			
Linie 61S6				
Pflanze 1	112,8	27,8	1,8	19,2
Pflanze 2	139,7	29,0	1,1	22,3

Tab. 38: Gesamtphenolgehalte, Hydroxyzimtsäure- (HCA), Rutin- und Flavanolgehalte von Geschwisterpflanzen der Buchweizenlinie 61S6

verwendet. Die Pflanzen 1 und 2 wiesen sehr niedrige Gesamtphenolgehalte von 112,8 und 139,7 mg/100 g (TS) auf. Bei Pflanze 1 lag der Hydroxyzimtsäuregehalt bei 27,8 mg/100 g (TS), bei Pflanze 2 bei 29,0 mg/100 g (TS). Der Rutingehalt war bei beiden Pflanzen mit 1,8 und 1,1 mg/100 g (TS) gering, ebenso der Flavanolgehalt mit 19,2 und 22,3 mg/100 g (TS).

6.6.2 Rutin-Typen

Da beim Buchweizen gerade das Flavonol Rutin eine wichtige Rolle spielt, sollte versucht werden, den Rutingehalt züchterisch zu erhöhen. Dazu mussten Pflanzen selektiert werden, die bereits die Tendenz einer verstärkten Rutinsynthese aufwiesen. Innerhalb des verwendeten Genpools konnten zwei Linien selektiert werden. Zu diesen Pflanzen gehörte die Linie „Sun Rutin x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (155xβ4) aus Klasse 5 Gruppe 16. Diese verfügte über Pflanzen mit einem hohen Gesamtphenolgehalt sowie gleich hohen Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalten. 155xβ4 wies außerdem einen stabilen festen Samensitz, determinierten Wuchs und Homostylie auf.

In den Abb. 207 und Tab. 39 sind die Ergebnisse der analysierten Einzelpflanzen von 155xβ4 dargestellt. In der Grafik ist die Variabilität der Phenolgehalte unter den Geschwisterpflanzen zu erkennen. Sie macht deutlich, dass es sich hierbei um eine inhomogene Population handelte. Von den insgesamt 8 analysierten Pflanzen wurden die Nummern 1, 4 und 6 weiter verwendet.

Bei Pflanze 1 wurde der höchste Gesamtphenolgehalt von 293,5 mg/100 g (TS) gefunden. Die Körner dieser Pflanze zeichneten sich durch einen sehr geringen Hydroxyzimtsäuregehalt in Kombination mit einem hohen Flavanolgehalt aus, der bei 93,9 mg/100 g (TS) lag. Der Rutinwert wurde bei 28,9 mg/100 g (TS) ermittelt.

Pflanze 4 wies einen Gesamtphenolgehalt von 273,6 mg/100 g (TS) mit einem Hydroxyzimtsäuregehalt von 34,2 mg/100 g

Linie 155xβ4

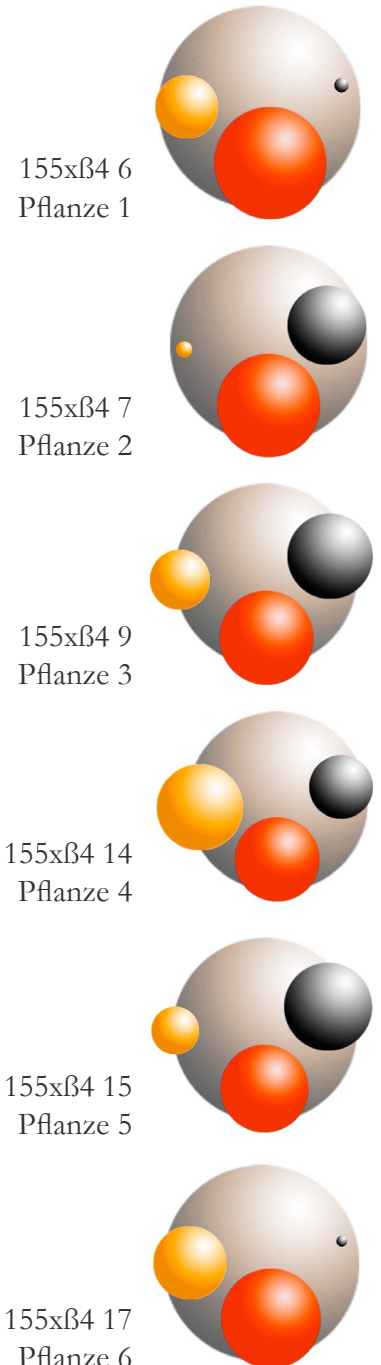


Abb. 207: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalte der analysierten Pflanzen 1-6 der Linie 155xβ4 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

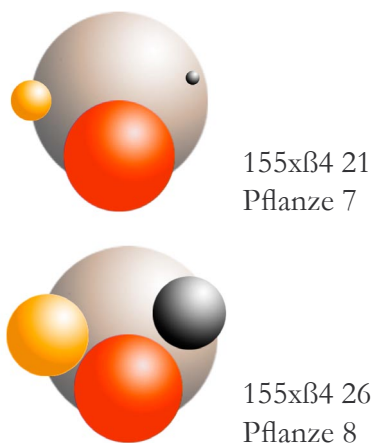


Abb. 207: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalte der analysierten Pflanzen 7-8 der Linie 155xβ4

(Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Linie 85x02

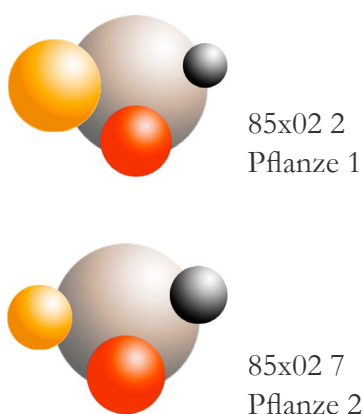


Abb. 208: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalte der analysierten Pflanzen 1 und 2 der Linie 85x02

(Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

	Gesamtphenol- gehalt	HCA	Rutin	Flavanole
	in mg/100 g (TS)			
Linie 155xβ4				
Pflanze 1	298,5	1,5	28,9	93,9
Pflanze 2	286,2	45,9	1,9	79,7
Pflanze 3	228,1	49,9	24,4	61,2
Pflanze 4	273,6	34,2	62,1	61,2
Pflanze 5	222,7	51,2	14,9	51,6
Pflanze 6	284,3	0,9	39,4	74,9
Pflanze 7	212,8	1,3	11,0	85,1
Pflanze 8	257,1	43,5	54,1	96,5

Tab. 39: Gesamtphenolgehalte, Hydroxyzimtsäure- (HCA), Rutin- und Flavanolgehalte von Geschwisterpflanzen der Buchweizenlinie 155xβ4

(TS) auf. Die Rutin- und Flavanolgehalte zeigten fast identisch hohe Werte von 62,1 und 61,2 mg/100 g (TS). Der Gesamtphenolgehalt von Pflanze 6 lag bei 284,3 mg/100 g (TS) und zeigte einen ähnlich geringen Hydroxyzimtsäuregehalt (0,9 mg/100 g (TS)) wie Pflanze 6. Der Rutingehalt lag bei 39,4 mg/100 g (TS), der Flavanolgehalt bei 74,9 mg/100 g (TS). Die anderen Pflanzen zeigten bis auf Pflanze 8, von der nicht ausreichend Kornmaterial zur Verfügung stand, geringere Rutinwerte.

Eine weitere Buchweizenlinie, die sich für die züchterische Beeinflussung des Rutingehaltes eignete, war „Pulanska x *F. homotropicum*“ (85x02) aus Klasse 5 Gruppe 16. Diese verfügte über einen hohen Rutingehalt bei gleichzeitig geringeren Säure- und Flavanolwerten. 85x02 wurde anstatt „Mite Phapal“ (FE 178) der Vorzug gegeben, da bei „Pulanska x *F. homotropicum*“ bereits Homostylie vorlag.

Bei der Linie 85x02 standen Körner von zwei Pflanzen einer Generation zur Verfügung, deren Phenolzusammensetzung in Abb. 208 und Tab. 40 dargestellt sind.

Pflanze 2 wies mit 66,3 mg/100 g (TS) einen hohen Rutingehalt auf. Der Hydroxyzimtsäuregehalt wurde bei 15,4 mg/100 g (TS) festgestellt, der Flavanolgehalt bei

	Gesamtphenol- gehalt	HCA	Rutin	Flavanole
	in mg/100 g (TS)			
Linie 85x02				
Pflanze 1	158,0	15,4	66,3	39,9
Pflanze 2	152,0	23,9	29,3	43,9

Tab. 40: Gesamtphenolgehalte, Hydroxyzimtsäure- (HCA), Rutin- und Flavanolgehalte von Geschwisterpflanzen der Buchweizenlinie 85x02



39,9 mg/100 g (TS). Der Rutingehalt von Pflanze 7 war geringer als der von Pflanze 2, lag aber mit 29,3 mg/100 g (TS) im Vergleich zu anderen Linien höher.

6.6.3 Flavanol-Typen

Eine stark vertretene Komponente innerhalb des Buchweizenkorns stellten die Flavanole dar. Interessant war hier der Versuch die Flavanolgehalte im Korn zu beeinflussen. Für die Elterngeneration der folgenden Kreuzungsversuche wurden 4 Buchweizenlinien selektiert. Dazu gehörte die Linie „Sobano x [Ballada x *F. homotropicum*]“ (95x90/02) aus Klasse 5 Gruppe 17 (Kapitel 6.4) mit einem hohen Gesamtphenolgehalt und einer deutlichen Verschiebung des Stoffwechsels in Richtung Flavanolsynthese. 95x90/02 verfügte außerdem über Homostylie und stabilen, festen Samensitz, die Wuchsdeterminierung war jedoch instabil.

In Abb. 209 und Tab. 41 sind die Ergebnisse der neun analysierten Pflanzen dargestellt. Auffällig war dabei die große Variabilität des Phenolgehaltes. Für die weitere Züchtungsarbeit wurden die Pflanzen 3 und 9 selektiert.

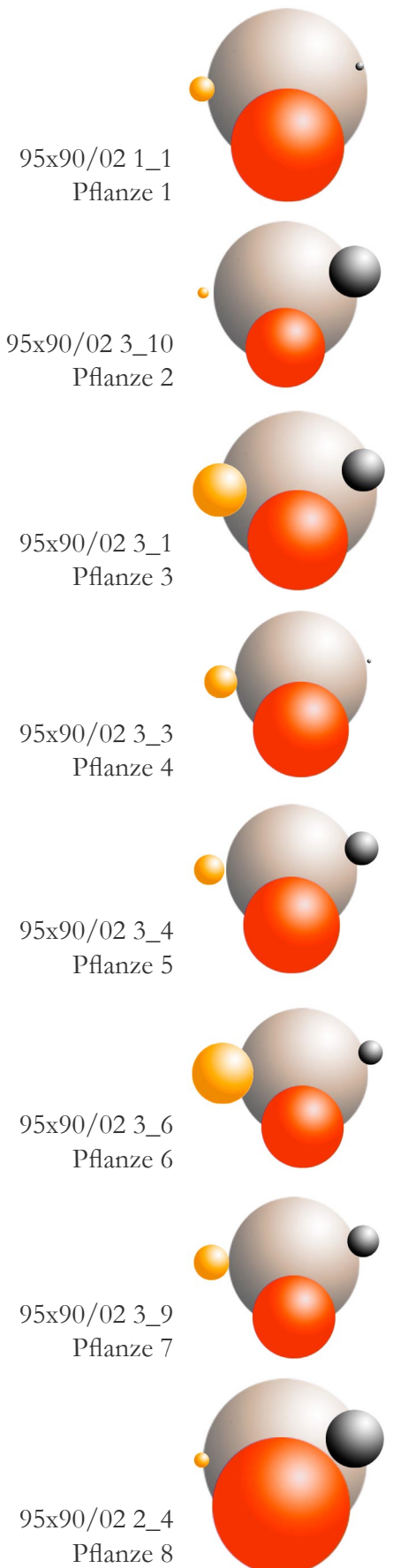
Bei Pflanze 3 wurde ein Gesamtphenolgehalt von 217,0 mg/100 g (TS) gefunden. Der Hydroxyzimtsäuregehalt lag bei 16,0 mg/100 g (TS). Der Rutingehalt lag bei 24,9 mg/100 g (TS), wobei der Flavanolgehalt mit 88,5 mg/100 g (TS) ermittelt wurde. Der Gesamtphenolgehalt von Pflanze 9 war mit 363,6 mg/100 g (TS) höher als bei Pflanze 3.

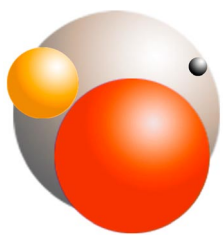
	Gesamtphenolgehalt	HCA	Rutin	Flavanole
	in mg/100 g (TS)			
Linie 95x90/02				
Pflanze 1	181,4	0,5	4,4	92,0
Pflanze 2	158,2	20,6	0,9	49,4
Pflanze 3	217,0	16,0	24,9	88,5
Pflanze 4	139,3	0,1	8,6	74,6
Pflanze 5	129,8	8,6	6,9	71,6
Pflanze 6	137,0	4,8	30,0	55,4
Pflanze 7	131,7	7,8	9,6	53,9
Pflanze 8	202,7	25,7	1,7	146,3
Pflanze 9	363,6	3,0	43,5	209,6

Tab. 41: Gesamtphenolgehalte, Hydroxyzimtsäure- (HCA), Rutin- und Flavanolgehalte von Geschwisterpflanzen der Buchweizenlinie 95x90/02

Abb. 209: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalte der analysierten Pflanzen 1-8 der Linie 95x90/02 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Linie 95x90/02

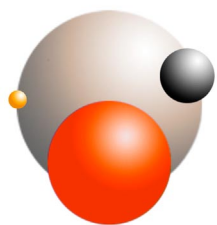




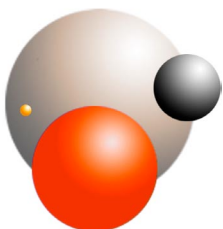
95x90/02 4_3
Pflanze 9

Abb. 209: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalte der analysierten Pflanzen 9 der Linie 95x90/02 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

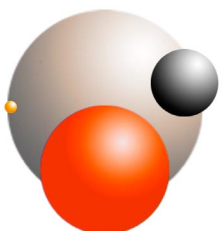
Linie 26x02



26x02 3_2
Pflanze 1



26x02 2_6
Pflanze 2



26x02 2_10
Pflanze 3

Abb. 210: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalte der analysierten Pflanzen 1-3 der Linie 26x02 (Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Für die Hydroxyzimtsäuren wurde ein geringer Wert von 3,0 mg/100 g (TS) gefunden. Der Rutingehalt lag bei 43,5 mg/100 g (TS), die Flavanole bei 209,6 mg/100 g (TS).

Eine weitere flavanolreiche Linie stellte „Hyuszowska x *F. homotropicum*“ (26x02) aus Klasse 5 Gruppe 17 (Kapitel 6.4) dar. Diese zeigte eine deutliche Verschiebung des Phenolstoffwechsels in Richtung Flavanole zu Ungunsten der Rutinsynthese. Der Hydroxyzimtsäuregehalt lag höher als bei 95x90/02.

26x02 zeichnete sich durch Homostylie, festen Samensitz und determinierten Wuchs aus. Bei 26x02 wurde auf hohe Hydroxyzimtsäure- und Flavanolgehalte selektiert. Von den 3 überprüften Pflanzen in Abb. 210 und Tab. 42, wurden die Pflanzen 2 und 3 als Elterngeneration verwendet. Bei beiden wurden hohe Flavanolgehalte von 107,7 und 99,1 mg/100 g (TS) festgestellt. Die Hydroxyzimtsäuregehalte lagen bei 30,4

	Gesamtphenol- gehalt	HCA	Rutin	Flavanole
	in mg/100 g (TS)			
Linie 26x02				
Pflanze 1	209,3	18,3	2,0	94,6
Pflanze 2	240,2	30,4	0,9	107,7
Pflanze 3	222,2	26,7	0,9	99,1

Tab. 42: Gesamtphenolgehalte, Hydroxyzimtsäure- (HCA), Rutin- und Flavanolgehalte von Geschwisterpflanzen der Buchweizenlinie 26x02

und 26,7 mg/100 g (TS). Der Rutingehalt fiel bei Pflanze 2 und 3 mit jeweils 0,9 mg/100 g (TS) gering aus.

Die Linie „Siva x *F. homotropicum*“ (15x02) aus Klasse 3 Gruppe 9 (Kapitel 6.4) wies hohe Flavanolgehalte zusammen mit einem niedrigen Gesamtphenolgehalt auf. Die Pflanzen von 15x02 wurden auf hohe Flavanolgehalte hin selektiert.

Problematisch war bei 15x02 der fehlende feste Samensitz, sowie die geringe Korngröße und sein Gewicht. 15x02 verfügte über Homostylie, die Wuchsdeterminierung war dagegen nicht stabil. In Abb. 211 und Tab. 43 sind die Ergebnisse der überprüften Einzelpflanzen dargestellt.

Pflanze 1 zeichnete sich durch einen Flavanolgehalt von 70,4 mg/100 g (TS) aus. Der Hydroxyzimtsäuregehalt lag bei 2,3 mg/100 g (TS), der Rutingehalt bei niedrigen 1,1 mg/100 g (TS). Bei Pflanze 2 wurde ein geringerer Flavanolgehalt von 40,8 mg/100 g (TS) mit einem starken Anteil Hydroxyzimtsäuren von 20,0 mg/100 g (TS) gefunden.

Die Linie „Demetra x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“ (158xK2/158(12)xK2) wurde Klasse 3 Gruppe 11 (Kapitel



	Gesamtphenol- gehalt	HCA	Rutin	Flavanole
	in mg/100 g (TS)			
Linie 15x02				
Pflanze 1	158,3	2,3	1,1	70,4
Pflanze 2	150,2	20,0	2,1	40,8

Tab. 43: Gesamtphenolgehalte, Hydroxyzimtsäure- (HCA), Rutin- und Flavanolgehalte von Geschwisterpflanzen der Buchweizenlinie 15x02

6.4) zugeordnet und besaß einen starken Flavanolgehalt sowie einen im mittleren Bereich liegenden Rutingehalt. Der Hydroxyzimtsäuregehalt wurde als hoch eingestuft. 158xK2 zeichnete sich durch eine hohe Stabilität der Homostylie und festen Samensitz aus. Die Wuchsdeterminierung war allerdings nicht stabil.

Von 158xK2 wurden die Körner von 4 Einzelpflanzen überprüft, deren Ergebnisse in Abb. 212 und Tab. 44 dargestellt sind. Bei dieser Linie wurde nur Pflanze 1 aufgrund des hohen Flavanolgehaltes für weitere Kreuzungen selektiert. Bei Pflanze 1 wurde ein Flavanolgehalt von 119,7 mg/100 g (TS) festgestellt. Der Gesamtphenolgehalt lag bei 193,9 mg/100 g (TS) mit einem Hydroxyzimtsäureanteil von 20,8 mg/100 g (TS) und einem Rutingehalt von 16,2 mg/100 g (TS).

	Gesamtphenol- gehalt	HCA	Rutin	Flavanole
	in mg/100 g (TS)			
Linie 158xK2				
Pflanze 1	193,9	20,8	16,2	119,7
Pflanze 2	188,1	17,3	10,3	94,4
Pflanze 3	110,3	12,0	3,5	47,4
Pflanze 4	114,2	19,5	5,7	50,5

Tab. 44: Gesamtphenolgehalte, Hydroxyzimtsäure- (HCA), Rutin- und Flavanolgehalte von Geschwisterpflanzen der Buchweizenlinie 158xK2

Linie 15x02

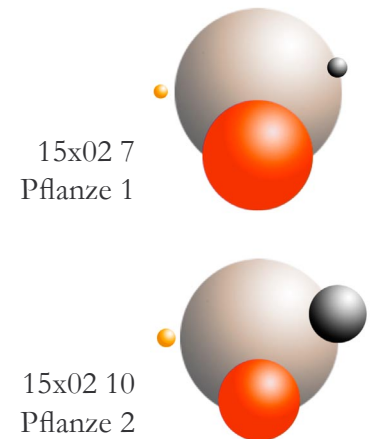


Abb. 211: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalte der analysierten Pflanzen 1-2 der Linie 15x02

(Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)

Linie 158xK2

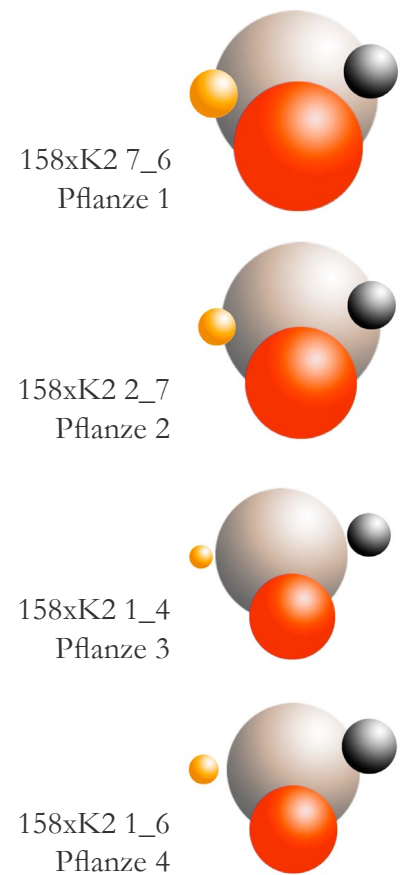


Abb. 212: Gesamtphenol-, Hydroxyzimtsäure-, Rutin- und Flavanolgehalte der analysierten Pflanzen 1-4 der Linie 158xK2

(Einheit der Kreisflächen, Erläuterung Kapitel 6.3.3, S. 87)



6.7 Kreuzungen und Beschreibung der Nachkommen

Von 10 verschiedenen Kreuzungskombinationen, deren Eltern in Kapitel 6.6 beschrieben wurden, wurden Einzelkörner der Eltern und Nachkommen der F_1 - bis F_3 -Generation auf ihre Phenolgehalte hin analysiert. Dabei wurden im Speziellen die quantitativen Veränderungen der Hydroxyzimtsäuren, Flavonole und Flavanole zwischen und innerhalb der Generationen überprüft.

Die „Kugel-Darstellung“ (Erläuterung Kapitel 6.3.3) sowie die dazugehörigen absoluten Werte jedes Elternteils und Nachkommens stellten die aus den Einzelkornanalysen berechneten Mittelwerte dar, die eine schnelle und übersichtliche Visualisierung der Kreuzungserfolge innerhalb und zwischen den einzelnen Kombinationen möglich machte. Die absoluten Werte wurden dabei prozentual mit dem gemittelten Gesamtphenolgehalt (100%) berechnet und in den in Kapitel 6.3 beschriebenen Biosynthesecode übersetzt, um auf diese Weise die Substratverfügbarkeit und die Aktivität der beteiligten Enzyme innerhalb der Phenolbiosynthese im Buchweizenkorn über 3 Generationen hinweg durchsichtiger zu machen.

Die Werte der Einzelkornanalysen (Tab. 66-75, im Anhang) wurden ebenfalls prozentual berechnet und anschließend mit dem Biosynthesecode in Substratflüsse übersetzt. Die Codierung der Einzelkörner sollte zusätzlich zeigen ob es möglich ist, die Homo- oder Heterogenität der Eltern und Nachkommen herauszustellen und gleichzeitig die bei dieser Arbeit gewonnene „Pflanzen-Basis“ für zukünftige Kreuzungen abschätzen zu können.

Die Nachkommenschaft der Kreuzungskombinationen wurde anhand ihrer Zuchtziele in Gruppen eingeordnet.

Gruppe 1 beinhaltete Kombinationen, die einen geringen Gesamtphenolgehalt zum Ziel hatten, Gruppe 2 gleichzeitig viel Rutin und Catechin, Gruppe 3 viel Rutin und wenig Catechin und Gruppe 4 hohe Catechingehalte und wenig Rutin. In Tab. 45 wurden im Überblick alle Kreuzungskombinationen aufgeführt.

Im Folgenden wurde die Vorgehensweise bei den Ergebnissen in Form von Tabellen und Abbildungen anhand eines Beispiels detailliert erläutert, wodurch sich die übrigen Kreuzungskombinationen selbst erklären.



Nr.	Kombination	Kurzbezeichnung	Zuchtziel			
			Gesamtphenole	Hydroxyzimtsäuren	Rutin	Flavanole
1	(95x90/02 BC6 3x (10)) x (61S6 3/2 C32 BC6 6x(9))	9510x619		+		+
2	(61S6 3/2 C32 BC6 6x(9)) x (95x90/02 BC6 3x (10))	619x9510 reziproke Kreuzung		+		+
3	(15x02 BC3 2x (7)) x (85x02 BC3 4x (2))	15x852	+		+	+
4	(155xβ4 BC1 3x (17)) x (158xK2 BC5 3x (7)(6))	15517x158		w	w	+
5	(155xβ4 BC1 3x (14)) x (95x90/02 BC6 3x (4))	15514x954	w		w	+
6	(155xβ4 BC1 3x (14)) x (85x02 BC3 4x (2))	15514x852	+		+	
7	(85x02 BC3 4x (2)) x (155xβ4 BC1 3x (14))	852x15514 reziproke Kreuzung	+		+	
8	(155xβ4 BC1 3x (6)) x (85x02 BC3 4x (2))	1556x852	+	+	+	+
9	(158(12)xK2 BC5 2x (10)) x (26x02 BC6 2x (6)(2)(10))	158(12)x26				+
10	(61S6 3/2 C32 BC6 6x (5)) x (155xβ4 BC1 3x (6))	615x1556	w	+		+

Tab. 45: Zuchtziele der durchgeführten 10 Kreuzungskombinationen

+ = Steigerung

W = Weitergabe von Merkmalen eines Elternteils



6.7.1 „Sobano x Sumchanka“ (9510x619) - Geringer Gesamtphenolgehalt

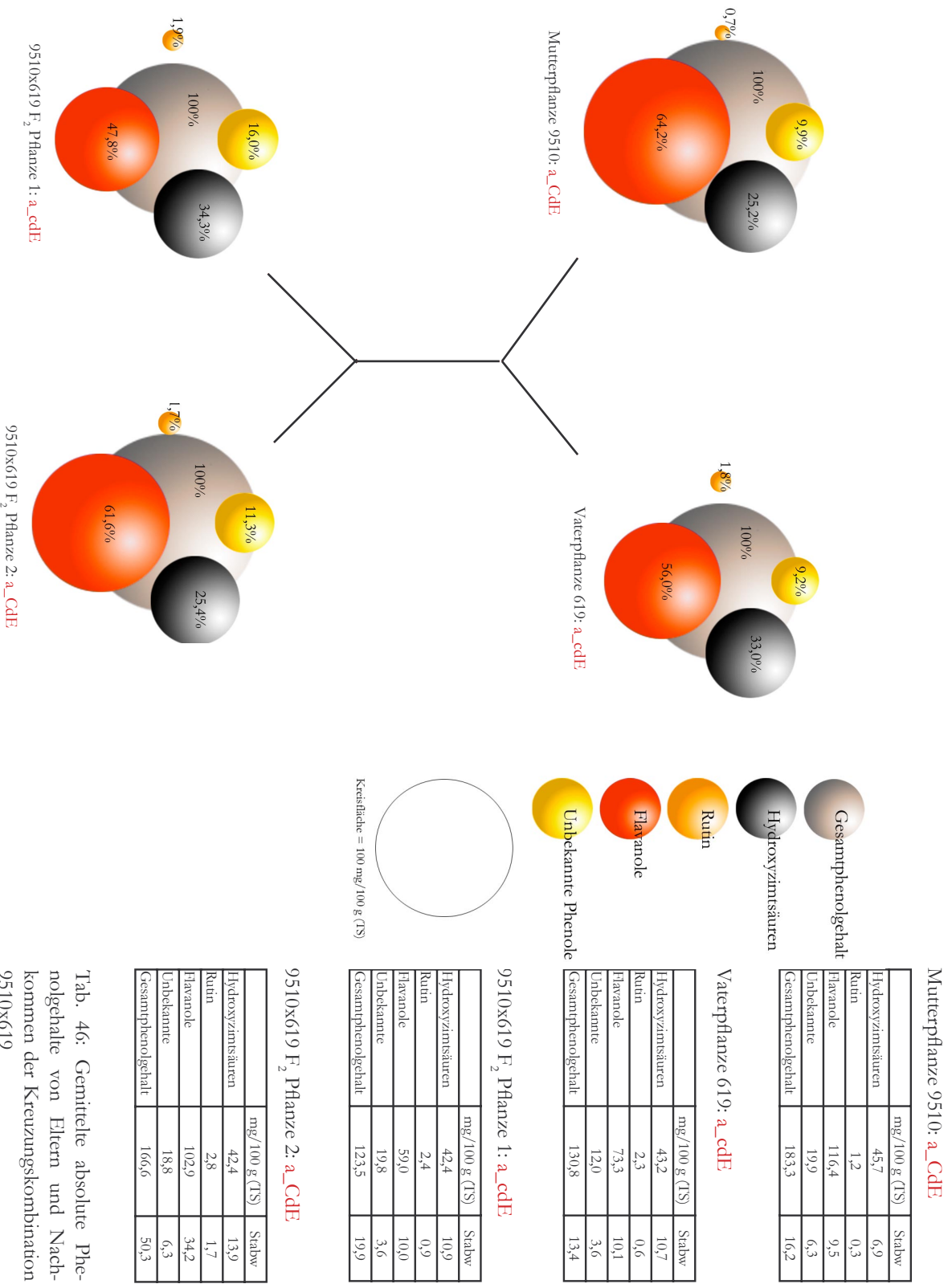


Abb. 213: Biosyntheseschema (Kapitel 6.1) und -codes von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 9510x619

Tab. 46: Gemittelte absolute Phenolgehalte von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 9510x619



	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
			A	C	d	E
Mutter	1	214,87	A	C	d	E
	2	163,83	a	C	d	E
	3	179,72	a	C	d	E
	4	191,66	a	C	d	E
	5	176,48	a	C	d	E
	6	181,44	a	C	d	E
	7	175,02	a	c	d	E

Tab. 47: Einzelkornanalysen, Mutterpflanze 9510

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
			a	C	d	E
Vater	1	106,55	a	C	d	E
	2	141,69	a	C	d	E
	3	121,76	a	c	d	E
	4	138,34	a	c	d	E
	5	126,61	a	c	d	E
	6	144,20	a	c	d	E
	7	136,09	a	c	d	E

Tab. 48: Einzelkornanalysen, Vaterpflanze 619

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
			a	c	d	E
F ₂	1	131,84	a	c	d	E
	2	119,92	a	c	d	E
	3	118,41	a	c	d	E
	4	111,43	a	c	d	E
	5	146,10	a	c	d	E
	6	89,10	a	c	d	E
	7	149,74	a	c	d	E
	8	138,81	a	c	d	E
	9	106,44	a	c	d	E

Tab. 49: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₂-Generation (9510x619. 181710.3)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
			A	C	d	E
F ₂	1	200,82	A	C	d	E
	2	218,41	A	C	d	E
	3	285,02	A	C	d	E
	4	211,19	A	c	d	E
	5	172,28	a	C	d	E
	6	131,52	a	C	d	E
	7	137,35	a	C	d	E
	8	191,04	a	C	d	E
	9	192,40	a	C	d	E
	10	149,87	a	C	d	E
	11	109,15	a	C	d	E
	12	104,22	a	c	d	E
	13	183,83	a	c	d	E
	14	195,56	a	c	d	E
	15	78,82	a	c	d	E
	16	115,72	a	c	d	E
	17	187,41	a	c	d	E
	18	190,63	a	c	d	E

Tab. 50: Einzelkornanalysen, Pflanze 2 der F₂-Generation (9510x619.181710. 4)

Tab. 47-50: Biosynthese-code und Gesamtphenolgehalt (mg/100 g (TS)) der Einzelkornanalysen von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 9510x619 (Daten im Anhang)

1. „Sobano x Sumchanka“ (9510x619)

Mit der Kreuzungskombination 9510x619 sollte der geringe Gesamtphenolgehalt der Eltern auf die Nachkommenschaft übertragen werden.

Die Mutterpflanze 9510 (Abb. 13, Tab. 47) wies einen insgesamt geringen Gesamtphenolgehalt („a“) von 183,3 mg/100 g (TS) auf. Dieser Gehalt wird 100% des aus dem Shikimatweg zur Verfügung stehenden Substrates gleichgesetzt. Davon flossen 9,9% in die Benzoessäuresynthese ab. Die übrigen 90,1% gingen über die Phenylalaninammoniumlyase (PAL) in den Phenylpropanoidmetabolismus ein. Die Körner der Pflanze 9510 wiesen mit einem prozentualen Anteil von 64,2% eine stark flavanolbetonte Phenolbiosynthese auf. Diese hohe Aktivität der Dihydroflavonol 4-Reduktase (DFR) hatte gleichzeitig eine geringe Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der Flavonolsynthase (FLS) zur Folge,



die sich in einem geringen Rutinanteil von 0,7% darstellte. Die Hydroxyzimtsäuresynthese bewegte sich im Vergleich auf mittlerem Niveau, denn der Anteil von 25,2% ließ vermuten, dass der Großteil der vorhandenen Metabolite über die Chalkonsynthase, die Flavanone und Dihydroflavanole weiterreagierte und damit den hohen Flavanolanteil möglich machte.

In Tab. 47 wurden die Ergebnisse der Einzelkornanalysen aufgeführt. Darin war zu erkennen, dass unter den Einzelkörnern dieser Linie eine bis auf wenige Ausnahmen einheitliche Codierung vergeben wurde. Die Ausnahmen bezogen sich ausschließlich auf den „A“- und „C“-Bereich. Die Substratkonkurrenz und/oder Aktivität von Flavonolsynthase und Dihydroflavonol 4-Reduktase wurde einheitlich mit „d“ und „E“ codiert.

Die Vaterpflanze 619 (Abb. 13, Tab. 48) wies mit 130,8 mg/100 g (TS) („a“) einen geringeren Gesamtphenolgehalt als die Mutter auf. Die geringe Gesamtphenolbiosyntheseleistung wurde auf eine geringe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg zurückgeführt. Die prozentuale Phenolverteilung ähnelte stark der der Mutter mit einem Schwerpunkt bei der Flavanol- (56,0%) und Hydroxyzimtsäurebiosynthese (33,0%). Der Rutingehalt war bei dieser Linie mit 1,8% vom Gesamtphenolgehalt gering.

Die Codierung der Einzelkornanalysen in den Biosynthesecode zeigte, dass es sich bei diesem Elternteil um eine vergleichsweise homogene Linie handelte. Die Gesamtphenolgehalte wurden einheitlich mit „a“ gekennzeichnet. Die Substratumsetzung in Richtung Chalkonsynthese wurde bis auf zwei Ausnahmen bei den Körnern 3 und 4 als gering beurteilt und mit „c“ codiert. Die Substratkonkurrenz zwischen FLS und DFR wurde einheitlich mit „d“ und „E“ gekennzeichnet.

Pflanze 1 der F₂-Generation (Abb. 13, Tab. 49) orientierte sich mit einem Gesamtphenolgehalt von 123,5 mg/100 g (TS) am durchschnittlichen Gehalt des phenolärmeren Vaters und zeigte keine Veränderung der in den Shikimatweg einfließenden Substratmenge („a“). Die Hydroxyzimtsäuren veränderten sich mit einem prozentualen Anteil von 34,3% im Vergleich zu den Eltern nicht („c“) und ließen weiterhin eine unverändert hohe Substratumsetzung in Richtung Hydroxyzimtsäurederivate vermuten. Der Rutingehalt blieb auf dem niedrigen Niveau der Eltern („d“), der Flavanolanteil war mit 47,8% etwas niedriger als der der Eltern.

Die aufgeführten Einzelkörner zeigten eine sehr einheitliche Codierung. Die Gesamtphenolgehalte wurden bei diesem Nachkommen aufgrund ihrer geringen Werte



einheitlich mit „a“ gekennzeichnet. Die Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der Chalkonsynthase wurde aufgrund der in Richtung Hydroxyzimtsäuren umgesetzten Metabololite einheitlich mit „c“ gekennzeichnet und entsprach der Codierung des Vaters. Die Konkurrenzsituation zwischen FLS und DFR war wie bei den Eltern klar zu Gunsten der Dihydroflavonol 4-Reduktase reguliert („d“, „E“).

Die Phenolverteilung von Pflanze 2 der F₂-Generation (Abb. 13, Tab. 50) unterschied sich gegenüber der von Pflanze 1. Der Gesamtphenolgehalt war höher und orientierte sich am Wert der Mutter. Die Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg war höher als bei Pflanze 1, wurde aber dennoch aufgrund der absoluten Werte mit „a“ gekennzeichnet.

Der Hydroxyzimtsäureanteil von 25,4% ließ auf eine höhere Umsetzung durch die Chalkonsynthase schließen („C“). Der Rutingehalt war mit 1,7% gering („d“). Dafür wies Pflanze 2 mit 61,6% einen höheren Flavanolanteil als Pflanze 1 auf, der den Anteil der Mutter zwar nicht übertreffen konnte, dennoch mit „E“ eingestuft wurde.

Die Biosynthesecodierung der Einzelkörner zeigte beim Gesamtphenolgehalt und den Hydroxyzimtsäuren ein uneinheitliches Bild. Der Gesamtphenolgehalt wurde bei 4 der 18 Körner aufgrund ihrer über dem Grenzwert von 199,0 mg/100 g (TS) liegenden Werte mit „A“ gekennzeichnet, die übrigen Körner erhielten „a“ für geringe Substratverfügbarkeit aus dem Schikimatweg.

Im Bereich der Hydroxyzimtsäuren konnte keine einheitliche Codierung gefunden werden. Für 10 der 18 analysierten Nachkommen wurde ein „C“ vergeben, dass auf eine hohe Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der Chalkonsynthase zurückgeführt wurde.

Die Ressourcenverteilung im Bereich der Dihydroflavonole fiel klar zu Gunsten der Flavanole aus. Die Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der Dihydroflavonol 4-Reduktase wurde einheitlich mit „E“ gekennzeichnet, genauso wie die geringere Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der Flavonolsynthase ohne Ausnahme mit „d“ bewertet wurde.



6.7.2 „Sumchanka x Sobano“ (619x9510) - Geringer Gesamtphenolgehalt

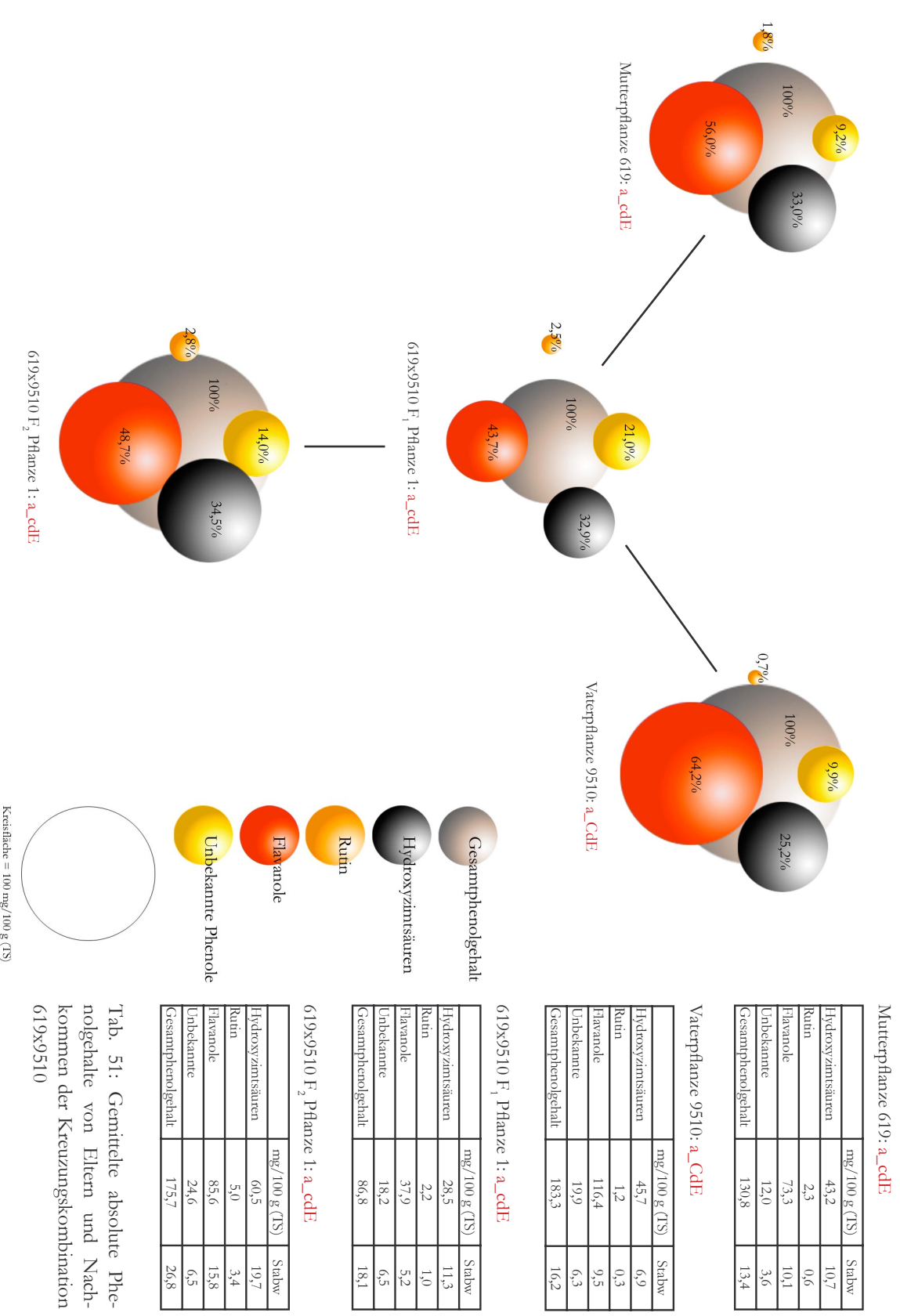


Abb. 214: Biosyntheschema (Kapitel 6.1) und -codes von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 619x9510

Tab. 51: Gemittelte absolute Phenolgehalte von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 619x9510



	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100 g TS)	Biosynthese-code			
Mutter	1	106,55	a	C	d	E
	2	141,69	a	C	d	E
	3	121,76	a	c	d	E
	4	138,34	a	c	d	E
	5	126,61	a	c	d	E
	6	144,20	a	c	d	E
	7	136,09	a	c	d	E

Tab. 52: Einzelkornanalysen, Mutterpflanze 619

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100 g TS)	Biosynthese-code			
Vater	1	214,87	A	C	d	E
	2	163,83	a	C	d	E
	3	179,72	a	C	d	E
	4	191,66	a	C	d	E
	5	176,48	a	C	d	E
	6	181,44	a	C	d	E
	7	175,02	a	c	d	E

Tab. 53: Einzelkornanalysen, Vaterpflanze 9510

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100 g TS)	Biosynthese-code			
F ₁	1	98,98	a	c	d	E
	2	61,59	a	c	d	E
	3	100,68	a	c	d	E
	4	85,83	a	c	d	E

Tab. 54: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₁-Generation (619x9510. 12)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100 g TS)	Biosynthese-code			
F ₂	1	229,64	A	c	d	E
	2	185,79	a	C	d	E
	3	128,45	a	C	d	E
	4	173,54	a	C	d	E
	5	168,85	a	c	d	E
	6	177,49	a	c	d	E
	7	159,13	a	c	d	E
	8	187,23	a	c	d	E
	9	171,12	a	c	d	E

Tab. 55: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₂-Generation (619x9510. 12. 4)

Tab. 52-55: Biosynthese-code und Gesamtphenolgehalt (mg/100 g (TS)) der Einzelkornanalysen von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 619x9510 (Daten im Anhang)

Bei der Kombination 619x9510 (Abb. 214, Tab. 52-55) handelte es sich um die reziproke Kreuzung der zuvor unter 1.) beschriebenen Kombination 9510x619. Mit dieser sollte eine cytoplasmatische Vererbung der Phenole im Samen überprüft werden. Aufgrund gleicher Ergebnisse der Kreuzungskombinationen 1.) und 2.) konnte eine cytoplasmatische Vererbung ausgeschlossen werden. In der F₁-Generation (Abb. 214, Tab. 54) wurde bei den Körnern von Pflanze 1 die homogene Codierung „acdE“ ermittelt, die der Vorgabe beider Eltern entsprach. In der F₂-Generation (Abb. 214, Tab. 55) wurde ein uneinheitliches Ergebnis im „A“- und „C“-Bereich festgestellt, das bereits bei den Eltern beobachtet wurde und sich in der F₂-Generation wieder ausprägte. Von den insgesamt 9 analysierten Körnern der F₂-Generation spalteten die Körner im „A“-Bereich im Verhältnis 8:1 („A:a“). Im „C“-Bereich wurden 3 „C“ und 6 „c“ gefunden. Die Biosynthesebereiche „d“ und „E“ waren homogen. Insgesamt setzten sich in der F₂-Generation eine geringe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg („a“), eine geringe Aktivität/Substratverfügbarkeit der FLS und eine hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit der DFR durch. Im „C“-Bereich wurde vermehrt eine hohe Hydroxyzimtsäuresynthese beobachtet.



6.7.3 „Siva x Pulanska“ (15x852) - Gleichzeitig hoher Rutin- und Flavanolgehalt

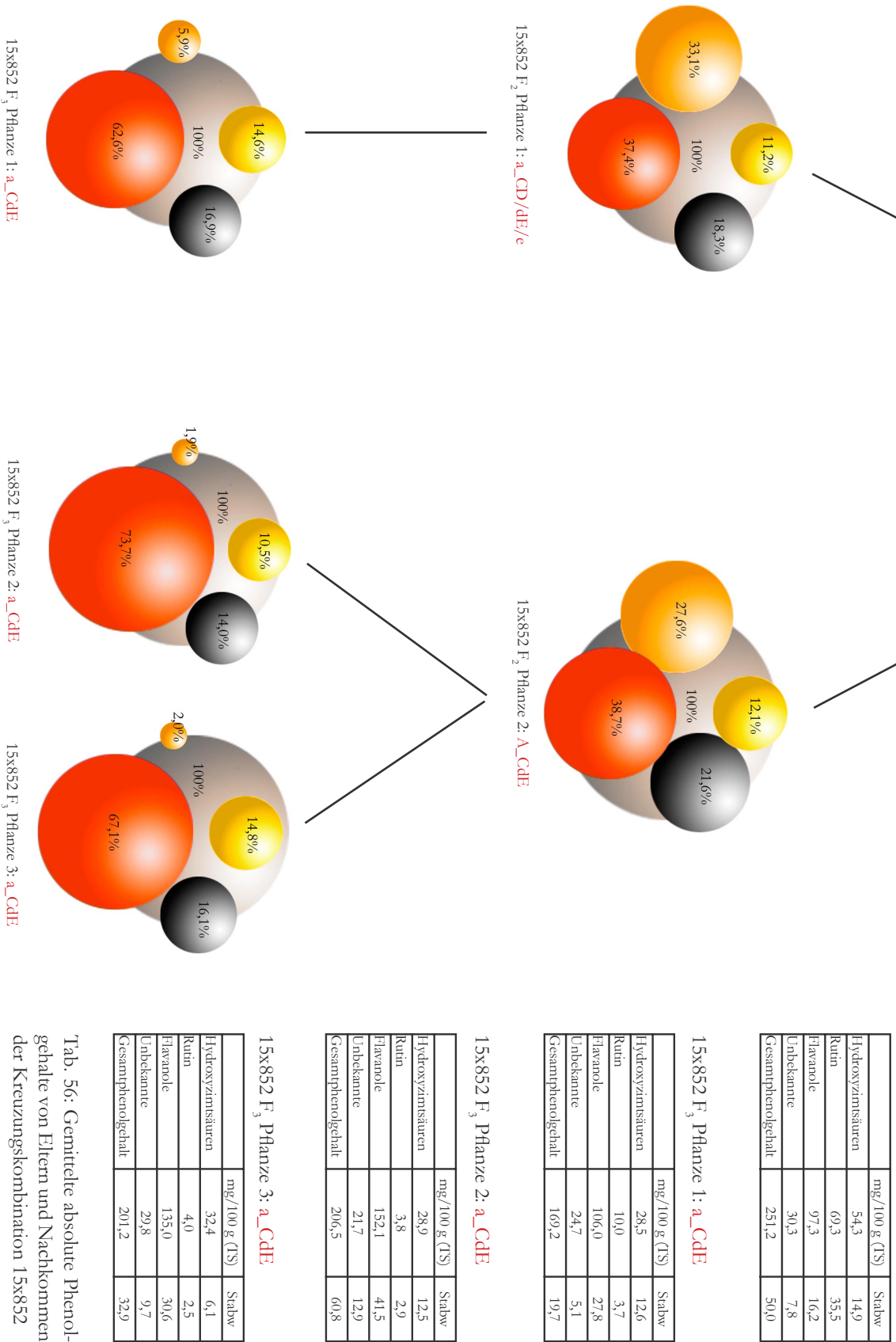
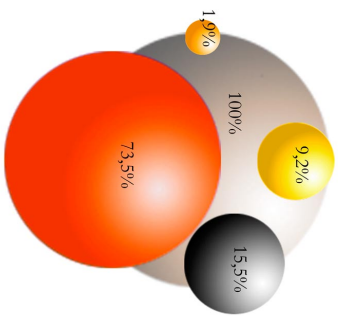
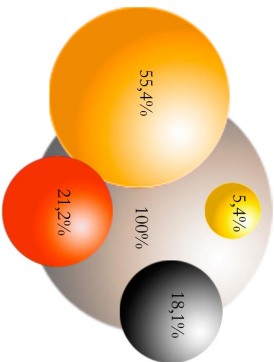


Abb. 215: Biosyntheschema (Kapitel 6.1) und -codes von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 15x852

Tab. 56: Gemittelte absolute Phenolgehalte von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 15x852

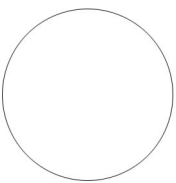


Mutterpflanze 15: A_CDE

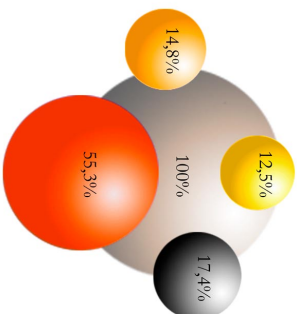


Vaterpflanze 852: a_CDc

- Gesamtphenolgehalt
- Hydroxyziminsäuren
- Rutin
- Flavanole
- Unbekannte Phenole



Kreisfläche = 100 mg/100 g (TS)



15x852 F₁ Pflanze 1: a_CDc

Mutterpflanze 15: A_CDE

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyziminsäuren	34,6	14,7
Rutin	4,2	1,6
Flavanole	163,8	52,4
Unbekannte	20,4	7,7
Gesamtphenolgehalt	223,0	51,8

Vaterpflanze 852: a_CDc

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyziminsäuren	36,3	11,2
Rutin	111,5	54,5
Flavanole	42,7	8,3
Unbekannte	10,8	2,2
Gesamtphenolgehalt	201,3	61,9

15x852 F₁ Pflanze 1: a_CDc

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyziminsäuren	26,5	5,6
Rutin	22,5	6,2
Flavanole	84,2	9,2
Unbekannte	19,1	5,6
Gesamtphenolgehalt	152,3	12,3

15x852 F₂ Pflanze 1: a_CD/DE/e

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyziminsäuren	34,3	10,5
Rutin	62,1	44,8
Flavanole	70,2	18,4
Unbekannte	21,0	4,1
Gesamtphenolgehalt	187,5	31,2



	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100 g TS)	Biosynthese-code			
Mutter	1	268,86	A	C	d	E
	2	254,63	A	C	d	E
	3	230,88	A	C	d	E
	4	236,25	A	C	d	E
	5	267,75	A	C	d	E
	6	302,43	A	C	d	E
	7	166,01	a	C	d	E
	8	173,57	a	C	d	E
	9	165,43	a	C	d	E
	10	164,01	a	C	d	E

Tab. 57: Einzelkornanalysen, Mutterpflanze 15

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100 g TS)	Biosynthese-code			
Vater	1	317,22	A	C	D	e
	2	253,43	A	C	D	e
	3	146,94	a	C	D	e
	4	164,93	a	C	D	e
	5	176,11	a	C	D	e
	6	158,36	a	C	D	e
	7	191,89	a	C	D	e

Tab. 58: Einzelkornanalysen, Vaterpflanze 852

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100 g TS)	Biosynthese-code			
F ₁	1	152,41	a	C	d	E
	2	144,30	a	C	d	E
	3	140,79	a	C	d	E
	4	155,03	a	C	d	E
	5	153,33	a	C	d	E
	6	150,83	a	C	d	E
	7	135,76	a	C	d	E
	8	172,67	a	C	d	E
	9	172,54	a	C	d	E
	10	144,91	a	C	d	E

Tab. 59: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₁-Generation (15x85. 2)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100 g TS)	Biosynthese-code			
F ₂	1	237,14	A	C	D	e
	2	222,51	A	C	D	e
	3	210,89	A	C	D	e
	4	196,15	a	C	D	e
	5	176,64	a	C	D	e
	6	153,38	a	C	d	E
	7	172,09	a	C	d	E
	8	145,62	a	c	d	E
	9	172,89	a	c	d	E

Tab. 60: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₂-Generation (15x85. 2. 6)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₂	1	355,47	A	C	D	e
	2	299,27	A	C	D	e
	3	199,05	A	C	d	E
	4	279,96	A	C	d	E
	5	243,30	A	C	d	E
	6	229,33	A	C	d	E
	7	253,41	A	C	d	E
	8	220,19	A	C	d	E
	9	246,26	A	c	d	E
	10	186,68	a	c	d	E

Tab. 61: Einzelkornanalysen, Pflanze 2 der F₂-Generation (15x85. 2. 7)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₃	1	174,23	a	c	d	E
	2	185,60	a	C	d	E
	3	158,31	a	C	d	E
	4	136,27	a	C	d	E
	5	183,28	a	C	d	E
	6	190,58	a	C	d	E
	7	155,95	a	C	d	E

Tab. 62: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₃-Generation (15x85. 2. 6. 1)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₃	1	317,12	A	C	d	E
	2	253,68	A	C	d	E
	3	180,99	a	C	d	E
	4	186,15	a	C	d	E
	5	188,38	a	C	d	E
	6	128,94	a	C	d	E
	7	189,97	a	C	d	E

Tab. 63: Einzelkornanalysen, Pflanze 2 der F₃-Generation (15x85. 2. 7. 1)

Tab. 57-64: Biosynthese-code und Gesamtphenolgehalt (mg/100 g (TS)) der Einzelkornanalysen von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 15x852 (Daten im Anhang)



	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
			A	C	d	E
F ₃	1	263,45	A	C	d	E
	2	227,06	A	C	d	E
	3	184,53	a	C	d	E
	4	196,05	a	C	d	E
	5	171,51	a	C	d	E
	6	188,93	a	C	d	E
	7	176,56	a	C	d	E

Tab. 64: Einzelkornanalysen, Pflanze 3 der F₃-Generation (15x85. 2. 7. 4)

Tab. 57-64: Biosynthese-code und Gesamtphenolgehalt (mg/100 g (TS)) der Einzelkornanalysen von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 15x852 (Daten im Anhang)

Die Kreuzung „Siva“ x „Pulanska“ (15x852) (Abb. 215, Tab. 57-64) war eine Kombination aus einer flavanolreichen Mutter und einem rutinreichen Vater. Es sollte überprüft werden, ob die Gehalte der beiden Eltern an die Nachkommenschaft weitergegeben werden und es zu einer Erhöhung des Gesamtphenolgehaltes oder zu einer Umregulierung des vorhandenen Potentials zu Gunsten einer der vorherrschenden Komponenten kommen würde.

Die Biosynthesecodierung der Einzelkornanalysen (Abb. 215, Tab. 57 und 58) war sowohl bei der Mutterpflanze als auch bei der Vaterpflanze in den Biosynthesebereichen „C“, „D“ und „E“ homogen. Die Umsetzung von Metaboliten über die Chalkonsynthese wurde bei beiden Eltern mit „C“ codiert. Die Bereiche „D“ und „E“ wurden bei der Mutter durch eine hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit der DFR und beim Vater durch eine hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit der FLS gekennzeichnet. Im „A“-Bereich war die Kennzeichnung der Einzelkörner bei beiden Eltern heterogen. In der F₁-Generation (Abb. 215, Tab. 59) wurden die insgesamt 10 analysierten Körner einheitlich mit „a“ und „d“ bzw. „C“ und „E“ gekennzeichnet.

In der F₂-Generation (Abb. 215, Tab. 60 und 61) wurden bei beiden Pflanzen Aufspaltungen in allen 4 Bereichen beobachtet. Von den insgesamt 19 Körnern beider Pflanzen wurden 12 Körner mit einem „A“ für hohe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg bzw. hohe Aktivität der PAL codiert. Im „C“-Bereich wurde die hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit der CHS mit einem Verhältnis von 15:4 („C:c“) häufiger ermittelt. Im „D“-Bereich setzte sich eine geringe Aktivität/Substratverfügbarkeit der Flavonolsynthese in einem Verhältnis von 11:8 („D:d“) durch. In der F₃-Generation (Abb. 215, Tab. 62 und 63) wurde bei den Körnern der 3 Pflanzen ein „a“ in einem Verhältnis von 4:17 („A:a“) ermittelt. Bei allen Körnern wurde bis auf eine Ausnahme ein „C“ festgestellt, d.h. dass die Mehrzahl der Nachkommen vermehrt eine hohe Hydroxyzimtsäuresynthese („c“) aufwies. Ein „d“ und ein „E“ setzten sich einheitlich für eine geringe Aktivität/Substratverfügbarkeit der FLS und eine hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit der DFR durch, welches sich in einem niedrigen Rutingehalt und einem hohen Flavanolgehalt zeigte.



6.7.4 „Sun Rutin x Demetra“ (15517x158) - Gleichzeitig hoher Rutin- und Flavanolgehalt

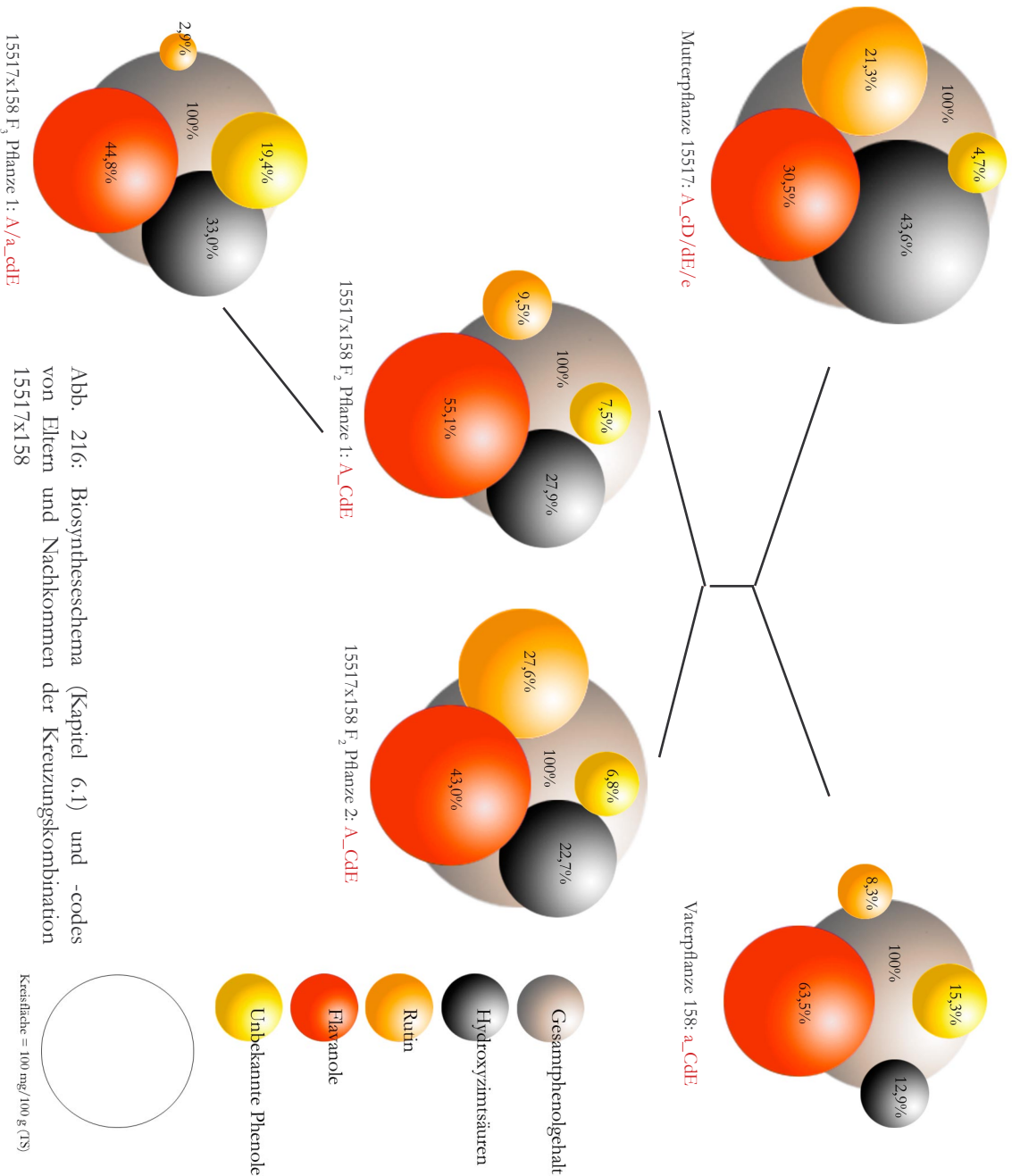


Abb. 216: Biosyntheschema (Kapitel 6.1) und -codes von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 15517x158

Vaterpflanze 158: a_CdE

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	20,4	3,1
Rutin	13,0	2,5
Flavanoole	100,0	11,5
Unbekannte	24,1	4,4
Gesamphenolgehalt	157,5	16,8

Mutterpflanze 15517: A_CD/DE/e

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	139,0	26,7
Rutin	67,8	39,9
Flavanoole	97,3	25,4
Unbekannte	14,9	2,0
Gesamphenolgehalt	319,0	54,9

15517x158 F₂ Pflanze 1: A_CdE

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	60,9	20,7
Rutin	20,7	9,8
Flavanoole	120,2	21,8
Unbekannte	16,4	6,9
Gesamphenolgehalt	218,8	18,8

15517x158 F₂ Pflanze 2: A_CdE

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	59,9	30,0
Rutin	72,9	19,2
Flavanoole	113,5	14,3
Unbekannte	17,9	3,7
Gesamphenolgehalt	264,2	32,7

15517x158 F₃ Pflanze 1: A/a_cdE

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	68,1	13,6
Rutin	6,0	2,8
Flavanoole	92,3	21,3
Unbekannte	39,9	15,7
Gesamphenolgehalt	206,3	47,5

Tab. 65: Gemittelte absolute Phenolgehalte von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 15517x158



	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
Mutter	1	301,48	A	c	D	e
	2	420,71	A	c	D	e
	3	361,65	A	c	D	e
	4	293,52	A	c	d	E
	5	317,30	A	c	d	E
	6	268,13	A	c	d	E
	7	270,37	A	c	d	E

Tab. 66: Einzelkornanalysen, Mutterpflanze 15517

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
Vater	1	175,28	a	C	d	E
	2	150,78	a	C	d	E
	3	165,22	a	C	d	E
	4	126,62	a	C	d	E
	5	169,49	a	C	d	E
	6	166,99	a	C	d	E
	7	148,38	a	C	d	E

Tab. 67: Einzelkornanalysen, Vaterpflanze 158

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₂	1	224,71	A	C	d	E
	2	231,19	A	C	d	E
	3	214,71	A	C	d	E
	4	239,50	A	C	d	E
	5	212,53	A	C	d	E
	6	223,61	A	c	d	E
	7	180,95	a	c	d	E

Tab. 68: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₂-Gene-
ration (15517x158. 11. 2)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₂	1	237,81	A	C	d	E
	2	251,92	A	C	d	E
	3	260,63	A	C	d	E
	4	317,61	A	C	d	E
	5	295,78	A	C	d	E
	6	262,72	A	c	d	E
	7	223,00	A	c	d	E

Tab. 69: Einzelkornanalysen, Pflanze 2 der F₂-Gene-
ration (15517x158. 17. 1)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₃	1	295,55	A	c	d	E
	2	199,76	A	c	d	E
	3	207,65	A	c	d	E
	4	235,11	A	c	d	E
	5	152,18	a	c	d	E
	6	180,21	a	c	d	E
	7	173,35	a	c	d	E

Tab. 70: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₃-Gene-
ration (15517x158.11.2.5)

Tab. 66-70: Biosynthese-code und Gesamtphenolgehalt (mg/100 g (TS)) der Einzelkornanalysen von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 15517x158 (Daten im Anhang)

Mit der Kombination „Sun Rutin“ x „Demetra“ (15517x158) (Abb. 216, Tab. 66-70) sollten die hohen Flavanolgehalte beider Eltern in den Nachkommen weiter gesteigert werden. Die Einzelkornanalysen der Mutterpflanze (Abb. 216, Tab. 66) wiesen eine homogene Biosynthesecodierung in den Bereichen „A“ und „C“ auf, die für eine hohe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg und eine hohe Hydroxyzimtsäuresyntheserate standen. In den Bereichen „D“ und „E“ wurden die insgesamt 7 analysierten Körner heterogen im Verhältnis 3:4 („D: d“) codiert. Die Vaterpflanze (Abb. 216, Tab. 67) zeigte die homogene Biosynthesecodierung „aCdE“, die auf einen flavanolbetonten Phenylpropanoidmetabolismus und geringe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg hinwies. In der F₂-Generation (Abb. 216, Tab. 68 und 69) setzten sich „d“ und „E“ einheitlich bei den zwei überprüften Pflanzen durch und drückten sich in den erhöhten Flavanolgehalten aus (Abb. 216). Im „A“-Bereich wurde bei beiden Pflanzen eine hohe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg („A“) festgestellt. Im Bereich der Hydroxyzimtsäuresynthese überwog „C“ für eine hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit der CHS. In der F₃-Generation (Abb. 216, Tab. 70) wurde eine hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit der DFR und eine geringe Aktivität/Substratverfügbarkeit der FLS gefunden. Der „A“-Bereich spaltete im Verhältnis 4:3 („A:a“). Der Bereich „C“ wies einheitlich eine hohe Hydroxyzimtsäuresyntheserate auf („c“).



6.7.5 „Sun Rutin x [Sobano x (Ballada x *F. homotropicum*)“] (15514x954)

- Gleichzeitig hoher Rutin- und Flavanolgehalt

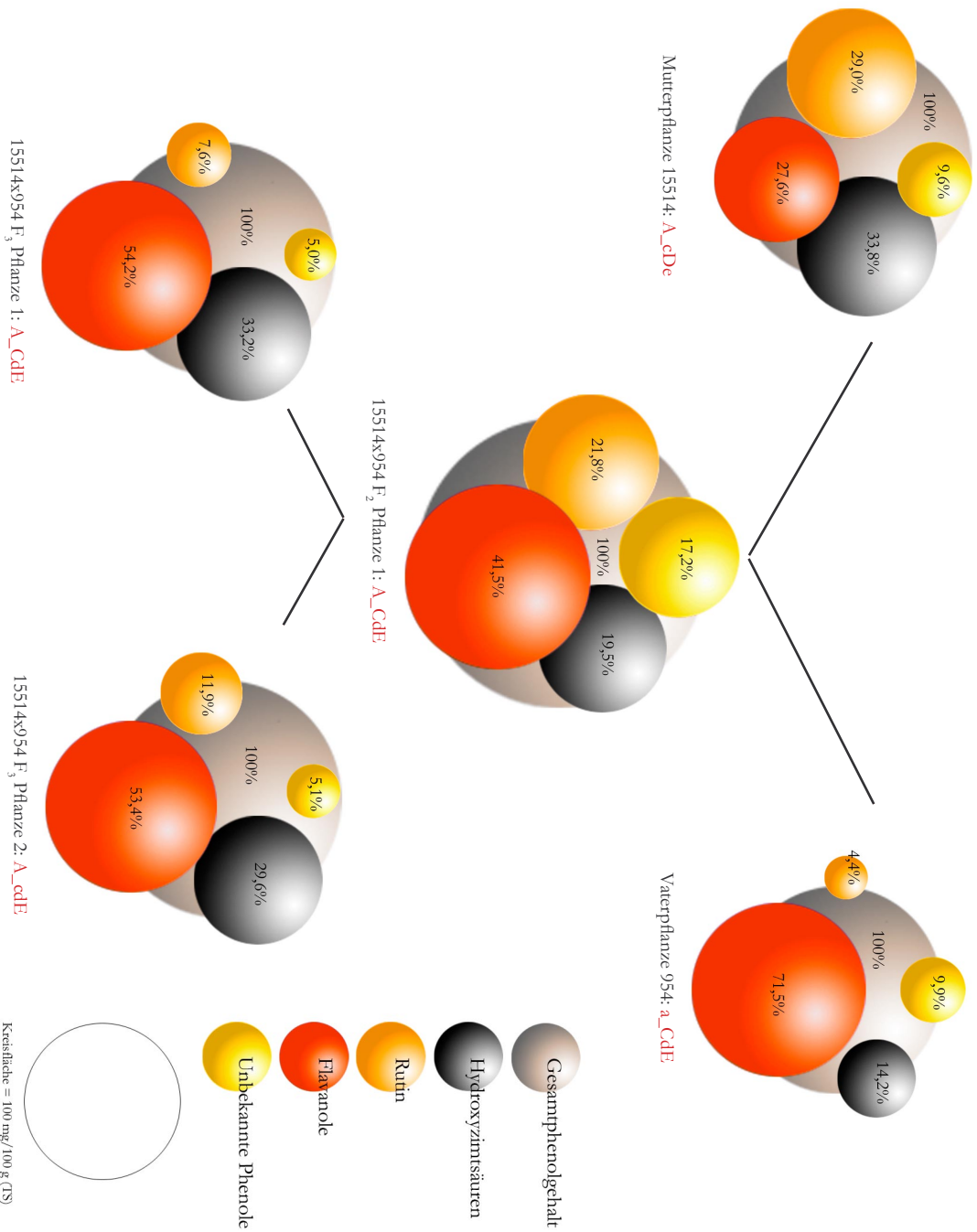


Abb. 217: Biosyntheschema (Kapitel 6.1) und -codes von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 15514x954

Mutterpflanze 15514: A_cDE

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	80,4	17,3
Rutin	69,0	19,6
Flavanoole	65,6	19,9
Unbekannte	22,8	4,4
Gesamphenolgehalt	237,8	34,7

Vaterpflanze 954: a_cDE

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	25,2	27,3
Rutin	7,7	1,8
Flavanoole	126,4	27,1
Unbekannte	17,4	7,2
Gesamphenolgehalt	176,7	53,3

15514x954 F₂ Pflanze 1: A_cDE

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	67,3	18,3
Rutin	75,3	22,7
Flavanoole	143,4	19,7
Unbekannte	59,3	13,3
Gesamphenolgehalt	345,2	54,1

15514x954 F₃ Pflanze 1: A_cDE

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	73,9	16,7
Rutin	17,0	13,9
Flavanoole	120,9	36,2
Unbekannte	11,2	2,2
Gesamphenolgehalt	222,9	27,9

15514x954 F₃ Pflanze 2: A_cdE

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	68,0	12,2
Rutin	27,4	19,7
Flavanoole	122,8	27,2
Unbekannte	11,7	3,9
Gesamphenolgehalt	229,9	28,4

Tab. 71: Gemittelte absolute Phenolgehalte von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 15514x954



	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
Mutter	1	299,11	A	c	D	e
	2	205,42	A	c	D	e
	3	262,45	A	c	D	e
	4	244,80	A	c	D	e
	5	215,47	A	c	d	E
	6	202,62	A	c	d	E
	7	234,93	A	c	d	E

Tab. 72: Einzelkornanalysen, Mutterpflanze 15514

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
Vater	1	218,41	A	C	d	E
	2	308,36	A	c	d	E
	3	149,64	a	C	d	E
	4	162,13	a	C	d	E
	5	156,61	a	C	d	E
	6	167,20	a	C	d	E
	7	185,11	a	C	d	E
	8	133,70	a	C	d	E
	9	122,71	a	C	d	E
	10	163,39	a	C	d	E

Tab. 73: Einzelkornanalysen, Vaterpflanze 954

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₂	1	358,36	A	C	d	E
	2	296,70	A	C	d	E
	3	264,65	A	C	d	E
	4	352,68	A	C	d	E
	5	356,58	A	C	d	E
	6	436,44	A	C	d	E
	7	351,27	A	C	d	E

Tab. 74: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₂-Generation (15514x954. 1. 1)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₃	1	249,52	A	C	d	E
	2	211,90	A	c	d	E
	3	223,09	A	c	d	E
	4	264,75	A	c	d	E
	5	228,62	A	c	d	E
	6	187,01	a	c	d	E
	7	195,31	a	c	d	E

Tab. 75: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₃-Generation (15514x954. 1. 1. 1)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₂	1	225,76	A	C	d	E
	2	237,75	A	C	d	E
	3	216,43	A	C	d	E
	4	183,33	a	c	d	E
	5	228,45	A	c	d	E
	6	239,61	A	c	d	E
	7	278,13	A	c	d	E

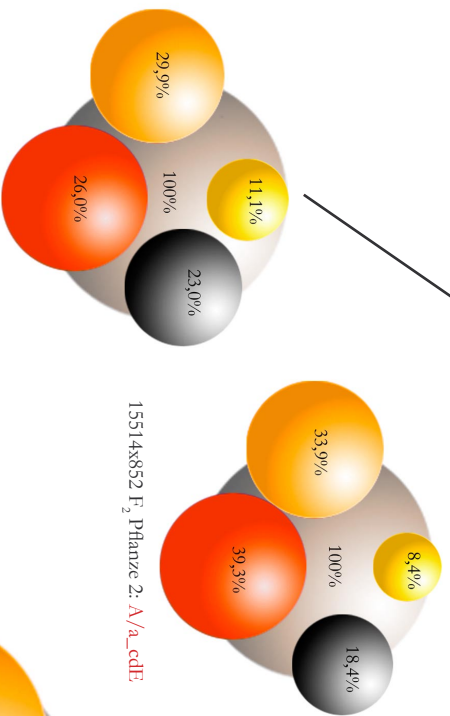
Tab. 76: Einzelkornanalysen, Pflanze 2 der F₃-Generation (15514x954. 1. 1. 5)

Tab. 72-76: Biosynthese-code und Gesamtphenolgehalt (mg/100 g (TS)) der Einzelkornanalysen von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 15514x954 (Daten im Anhang)

Bei der Kombination „Sun Rutin“ x [„Sobano“ x („Ballada“ x „*F. homotropicum*“)] (15514x954) (Abb. 217, Tab. 72-76) wies die Mutterpflanze einen hohen Rutin- und Flavanolanteil auf. Die Vaterpflanze ausschließlich einen hohen Flavanolanteil. Die Flavanolgehalte beider Eltern sowie der Rutingehalt der Mutter sollten sich bei den Nachkommen durchsetzen. Bei den Einzelkornanalysen der Mutterpflanze (Abb. 217, Tab. 72) wurde die Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg homogen mit „A“ codiert, genauso wie die geringe Aktivität/Substratverfügbarkeit der CHS. In den Bereichen „D“ und „E“ spalteten die Körner 4:3 („D:d“) und 3:4 („E:e“) auf. Die Vaterpflanze (Abb. 217, Tab. 73) zeigte bei allen Körnern eine hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit der DFR. Zudem wurde häufig eine geringe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg im Verhältnis 2:8 („A:a“) und eine hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit der CHS beobachtet, die sich in den hohen Flavanolgehalten ausprägte. Bei allen überprüften Nachkommen der F₂- und F₃-Generation (Abb. 217, Tab. 74-76) setzte sich die geringe Aktivität/Substratverfügbarkeit der FLS („d“) und eine gleichzeitig hohe Flavanolbiosyntheserate durch. Die analysierten Körner von Pflanze 1 der F₂-Generation wurden homogen mit „ACdE“ gekennzeichnet. In der F₃-Generation war die Codierung im „A“- und „C“-Bereich heterogen (Tab. 55), wobei eine hohe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg („A“) und eine hohe Hydroxyzimtsäuresyntheserate („c“) überwogen.

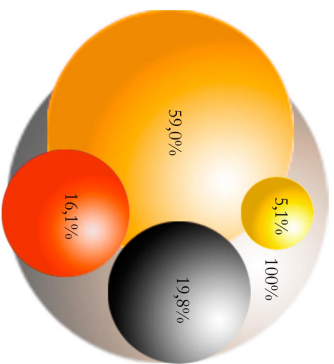


6.7.6 „Sun Rutin x Pulanska“ (15514x852) - Viel Rutin und wenig Flavanole

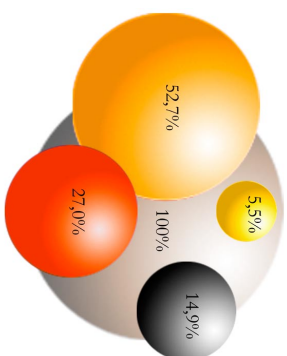


15514x852 F₂ Pflanze 1: A_CD/DE/e

15514x852 F₂ Pflanze 2: A/A_cDE



15514x852 F₂ Pflanze 3: A_CDE



15514x852 F₂ Pflanze 4: A_CDE



15514x852 F₃ Pflanze 1: A_CD/DE/e

15514x852 F₃ Pflanze 2: A_C/cDE

15514x852 F₂ Pflanze 3: A_CDE

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimsäuren	69,9	38,0
Rutin	208,5	87,4
Flavanole	56,9	13,1
Unbekannte	18,1	7,5
Gesamtphenolgehalt	353,4	120,9

15514x852 F₂ Pflanze 4: A_CDE

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimsäuren	34,0	15,5
Rutin	120,1	57,2
Flavanole	61,5	13,8
Unbekannte	12,6	3,8
Gesamtphenolgehalt	228,1	54,1

15514x852 F₃ Pflanze 1: A_CD/DE/e

	mg/100 g (TS)	73,6Stabw
Hydroxyzimsäuren	28,5	16,7
Rutin	96,5	46,8
Flavanole	102,4	52,8
Unbekannte	44,6	19,1
Gesamtphenolgehalt	271,9	73,6

15514x852 F₃ Pflanze 2: A_C/cDE

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimsäuren	75,7	44,7
Rutin	70,6	18,7
Flavanole	183,5	56,9
Unbekannte	41,8	26,3
Gesamtphenolgehalt	371,5	118,5

Tab. 77: Gemittelte absolute Phenolgehalte von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 15514x852

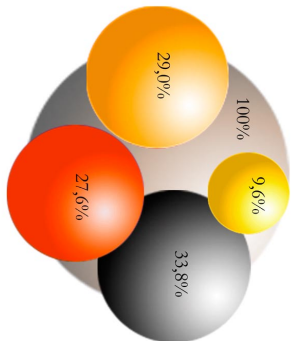
Abb. 218: Biosyntheschema (Kapitel 6.1) und -codes von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 15517x158

Mutterpflanze 15514: **A_cDe**

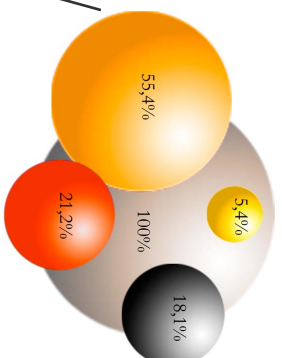
	ng/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyziminsäuren	80,4	17,3
Rutin	69,0	19,6
Flavanole	65,6	19,9
Unbekannte	22,8	4,4
Gesamtphenolgehalt	237,8	34,7

Vaterpflanze 852: **a_cDe**

	ng/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyziminsäuren	36,3	11,2
Rutin	111,5	54,5
Flavanole	42,7	8,3
Unbekannte	10,8	2,2
Gesamtphenolgehalt	201,3	61,9

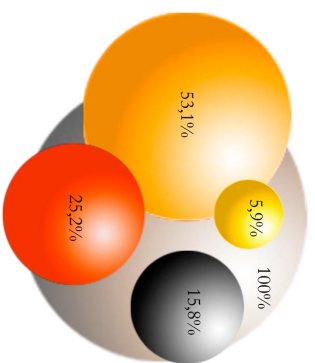
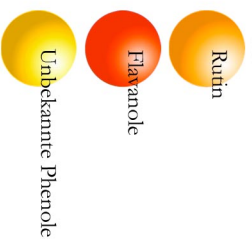


Mutterpflanze 15514: **A_cDe**



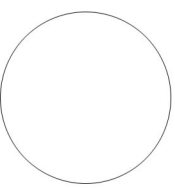
Vaterpflanze 852: **a_cDe**

- Gesamtphenolgehalt
- Hydroxyziminsäuren
- Rutin
- Flavanole
- Unbekannte Phenole



15514x852 F₁ Pflanze 1: **A_cDE/e**

Kreisfläche = 100 mg/100 g (TS)



15514x852 F₁ Pflanze 1: **A_cDE/e**

	ng/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyziminsäuren	44,2	12,6
Rutin	148,3	52,0
Flavanole	70,3	17,6
Unbekannte	16,4	6,5
Gesamtphenolgehalt	279,2	68,1

15514x852 F₂ Pflanze 1: **A_CD/dE/e**

	ng/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyziminsäuren	47,4	17,7
Rutin	61,6	55,4
Flavanole	74,3	28,5
Unbekannte	23,0	7,6
Gesamtphenolgehalt	206,3	41,1

15514x852 F₂ Pflanze 2: **A/a_cDE**

	ng/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyziminsäuren	35,1	16,1
Rutin	64,6	59,6
Flavanole	75,1	26,8
Unbekannte	16,0	4,5
Gesamtphenolgehalt	190,8	78,4



	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
Mutter	1	205,42	A	c	D	e
	2	262,45	A	c	D	e
	3	244,80	A	c	D	e
	4	215,47	A	c	D	e
	5	299,11	A	c	d	E
	6	202,62	A	c	d	E
	7	234,93	A	c	d	E

Tab. 78: Einzelkornanalysen, Mutterpflanze 15514

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
Vater	1	317,22	A	C	D	e
	2	253,43	A	C	D	e
	3	146,94	a	C	D	e
	4	164,93	a	C	D	e
	5	176,11	a	C	D	e
	6	158,36	a	C	D	e
	7	191,89	a	C	D	e

Tab. 79: Einzelkornanalysen, Vaterpflanze 852

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₁	1	391,99	A	C	D	e
	2	246,85	A	C	D	e
	3	224,01	A	C	D	e
	4	209,43	A	C	D	e
	5	203,20	A	C	D	e
	6	306,76	A	C	D	e
	7	221,21	A	C	D	e
	8	361,52	A	C	D	e
	9	291,31	A	C	D	e
	10	335,55	A	C	D	e

Tab. 80: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₁-Generation (15514x852. 1112)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₂	1	225,20	A	C	D	e
	2	246,07	A	C	D	e
	3	221,35	A	C	D	e
	4	228,80	A	C	D	e
	5	250,94	A	c	d	E
	6	227,53	A	c	d	E
	7	186,19	a	C	D	e
	8	175,15	a	C	d	E
	9	186,37	a	C	d	E
	10	115,11	a	c	d	E

Tab. 81: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₂-Generation (15514x852. 56. 2)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₂	1	200,16	A	C	D	e
	2	325,40	A	c	D	e
	3	230,79	A	c	d	E
	4	209,80	A	c	d	E
	5	82,17	a	C	d	E
	6	159,30	a	c	d	E
	7	127,98	a	c	d	E

Tab. 82: Einzelkornanalysen, Pflanze 2 der F₂-Generation (15514x852. 56. 4)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₂	1	492,11	A	C	D	e
	2	391,50	A	C	D	e
	3	250,58	A	C	D	e
	4	203,65	A	C	D	e
	5	294,84	A	C	D	e
	6	384,06	A	C	D	e
	7	301,09	A	C	D	e
	8	412,57	A	C	D	e
	9	578,77	A	C	D	e
	10	224,75	A	c	D	e

Tab. 83: Einzelkornanalysen, Pflanze 3 der F₂-Generation (15514x852. 32. 8)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₂	1	313,82	A	C	D	e
	2	210,77	A	C	D	e
	3	300,41	A	C	D	e
	4	246,93	A	C	D	e
	5	276,99	A	C	D	e
	6	221,93	A	C	d	E
	7	161,30	a	C	D	e
	8	186,12	a	c	D	e
	9	185,97	a	C	D	e
	10	176,58	a	C	D	e

Tab. 84: Einzelkornanalysen, Pflanze 4 der F₂-Generation (15514x852. 32. 10)

Tab. 78-86: Biosynthese-code und Gesamtphenolgehalt (mg/100 g (TS)) der Einzelkornanalysen von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 15514x852 (Daten im Anhang)



	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthesecode			
			A	C	D	e
F ₃	1	361,40	A	C	D	e
	2	239,63	A	C	D	e
	3	243,66	A	C	D	e
	4	350,30	A	C	d	E
	5	230,47	A	C	d	E
	6	318,65	A	C	d	E
	7	159,49	a	C	d	E

Tab. 85 Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₃-Generation (15514x852.32.10.1)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthesecode			
			A	C	d	E
F ₃	1	370,11	A	C	d	E
	2	459,28	A	C	d	E
	3	442,24	A	C	d	E
	4	300,60	A	C	d	E
	5	294,82	A	C	d	E
	6	540,84	A	c	d	E
	7	192,67	a	C	d	E

Tab. 86: Einzelkornanalysen, Pflanze 2 der F₃-Generation (15514x852.32.10.4)

Tab. 78-86: Biosynthesecode und Gesamtphenolgehalt (mg/100 g (TS)) der Einzelkornanalysen von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 15514x852 (Daten im Anhang)

Bei der Kreuzungskombination „Sun Rutin“ x „Pulanska“ (15514x852) (Abb. 218, Tab. 78-86) wurden zwei rutinreiche Buchweizenlinien miteinander gekreuzt, um eine deutliche Erhöhung des Rutingehaltes in der Nachkommenschaft zu erreichen. Die Einzelkornanalysen der Mutterpflanze 15514 (Abb. 218, Tab. 78) zeigte im „A“- und „C“-Bereich bei allen überprüften Körnern eine homogene Codierung, die auf eine geringe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg und eine hohe Hydroxyzimtsäuresyntheserate hindeutete. Bei den Enzymen Flavonolsynthese (FLS) und Dihydroflavonol 4-Reduktase (DFR) wurden heterogene Ergebnisse im Verhältnis 4:3 („D:d“) und 3:4 („E:e“) gefunden. Die Vaterpflanze (Abb. 218, Tab. 79) wies dagegen im „C“- „D“- und „E“-Bereich eine homogene Biosynthesecodierung auf, die auf hohe Rutingehalte hinwies. Im „A“-Bereich wurde häufiger eine geringe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg („a“) im Verhältnis 2:5 („A:a“) vorgefunden. Die F₁-Generation (Abb. 218, Tab. 80) zeigte bei allen Körnern die einheitliche Codierung „ACDe“. Die F₂-Generation (Abb. 218, Tab. 81-84) spaltete bei den Körnern der Pflanzen 1, 2 und 4 auf. Im „A“-Bereich wurden die Verhältnisse 6:4 („A:a“, Pflanze 1), 4:3 (Pflanze 2) und 6:4 (Pflanze 4) ermittelt. Im Bereich „C“ wurde eine Aufspaltung im Verhältnis 7:3 („C:c“, Pflanze 1), 2:5 (Pflanze 2) und 9:1 (Pflanze 4) und im Bereich „D“ 5:5 („D:d“, Pflanze 1), 2:5 (Pflanze 2) und 9:1 (Pflanze 4) festgestellt. Bei Pflanze 3 waren die Bereiche „A“, „D“ und „e“ homogen und zeigten hohe Rutinwerte, im „C“-Bereich kam es zu einer Abweichung, die übrigen 9 Körner wurden homogen mit „C“ codiert.

Bei Pflanze 2 der F₃-Generation (Abb. 218, Tab. 85-86) setzte sich eine geringe Aktivität/Substratverfügbarkeit der FLS („d“) zusammen mit einer hohen Syntheserate der DFR („E“) durch. Bei Pflanze 1 wurden die Bereiche „D“ und „E“ in einem Verhältnis von 3:4 („D:d“) und 4:3 („E:e“) heterogen codiert. Eine hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit der CHS wurde bei 13 der insgesamt 14 Körner beider Pflanzen gefunden. Bis auf zwei Ausnahmen wurde bei allen Körnern der F₃-Generation eine hohe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg („A“) ermittelt. Die Nachkommen zeigten deutlich erhöhte Rutingehalte, die innerhalb der Pflanzen der F₂- und F₃-Generation aufspalteten.



6.7.7 „Pulanska x Sun Rutin“ (852x15514) - Viel Rutin und wenig Flavanole

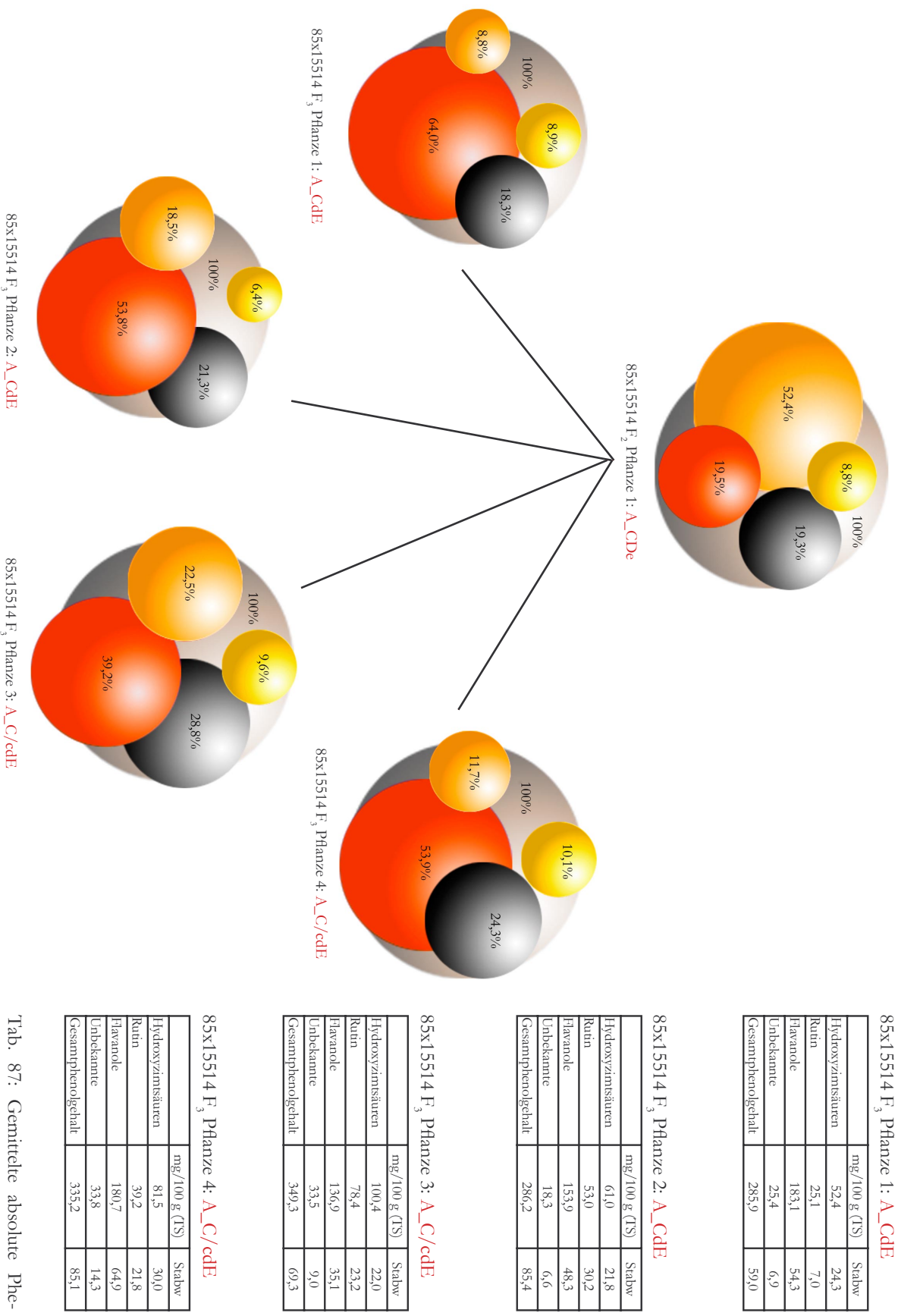


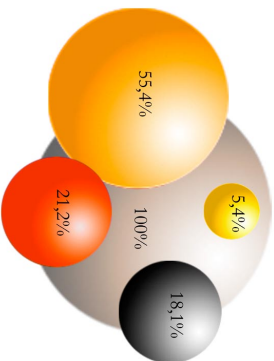
Abb. 219: Biosyntheschema (Kapitel 6.1) und -codes von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 15517x15815514x852

Tab. 87: Gemittelte absolute Phenolgehalte von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 15514x852

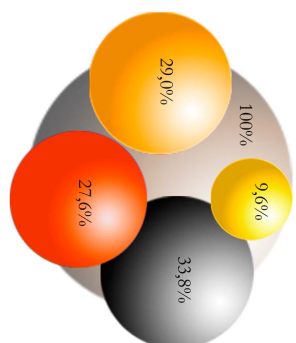


Mutterpflanze 852: a_CDc

	ng/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimsäuren	36,3	11,2
Rutin	111,5	54,5
Flavanole	42,7	8,3
Unbekannte	10,8	2,2
Gesamtphenolgehalt	201,3	61,9



Mutterpflanze 852: a_CDc



Vaterpflanze 1514: A_cDc

Vaterpflanze 1514: A_cDc

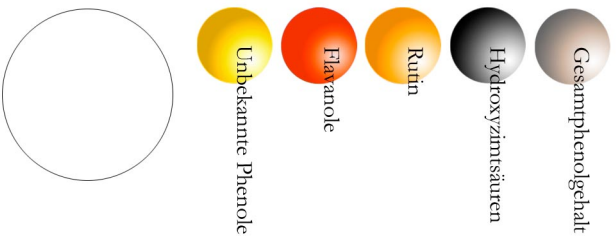
	ng/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimsäuren	80,4	17,3
Rutin	69,0	19,6
Flavanole	65,6	19,9
Unbekannte	22,8	4,4
Gesamtphenolgehalt	237,8	34,7

85x1514 F₁ Pflanze 1: A_cDc

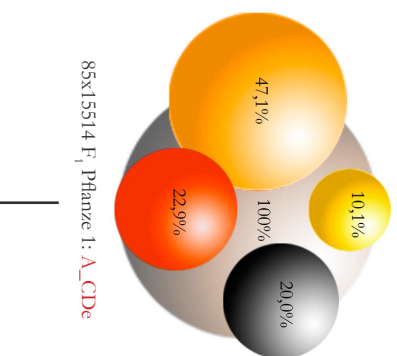
	ng/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimsäuren	46,0	8,8
Rutin	108,2	33,8
Flavanole	52,5	16,3
Unbekannte	23,1	10,9
Gesamtphenolgehalt	229,7	45,6

85x1514 F₂ Pflanze 1: A_cDc

	ng/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimsäuren	63,1	11,3
Rutin	171,7	104,0
Flavanole	64,0	28,9
Unbekannte	29,0	8,6
Gesamtphenolgehalt	327,8	99,6



Kreisfläche = 100 mg/100 g (TS)



85x1514 F₂ Pflanze 1: A_cDc



	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
Mutter	1	317,22	A	C	D	e
	2	253,43	A	C	D	e
	3	146,94	a	C	D	e
	4	164,93	a	C	D	e
	5	176,11	a	C	D	e
	6	158,36	a	C	D	e
	7	191,89	a	C	D	e

Tab. 88: Einzelkornanalysen, Mutterpflanze 852

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
Vater	1	205,42	A	c	D	e
	2	262,45	A	c	D	e
	3	244,80	A	c	D	e
	4	215,47	A	c	D	e
	5	299,11	A	c	d	E
	6	202,62	A	c	d	E
	7	234,93	A	c	d	E

Tab. 89: Einzelkornanalysen, Vaterpflanze 15514

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₁	1	199,90	A	C	D	e
	2	297,81	A	C	D	e
	3	227,24	A	C	D	e
	4	280,05	A	C	D	e
	5	225,62	A	C	D	e
	6	239,16	A	C	D	e
	7	206,29	A	C	D	e
	8	277,42	A	C	D	e
	9	194,40	a	C	D	e
	10	149,38	a	C	D	e

Tab. 90: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₁-Generation, 852x15514. 34

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₂	1	307,07	A	C	D	e
	2	293,88	A	C	D	e
	3	326,67	A	C	D	e
	4	380,43	A	C	D	e
	5	478,38	A	C	D	e
	6	427,70	A	C	D	e
	7	235,11	A	c	d	E
	8	173,22	a	c	D	e

Tab. 91: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₂-Generation, 852x15514. 34. 1

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₃	1	292,64	A	C	d	E
	2	330,98	A	C	d	E
	3	395,10	A	C	d	E
	4	258,78	A	C	d	E
	5	231,71	A	C	d	E
	6	245,66	A	c	d	E
	7	246,41	A	c	d	E

Tab. 92: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₃-Generation, 852x15514. 34. 1. 5

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₃	1	259,32	A	C	d	E
	2	237,70	A	C	d	E
	3	472,56	A	C	d	E
	4	298,00	A	C	d	E
	5	253,78	A	C	d	E
	6	260,32	A	C	d	E
	7	221,95	A	c	d	E

Tab. 93: Einzelkornanalysen, Pflanze 2 der F₃-Generation, 852x15514.34.1.10

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₃	1	449,54	A	C	d	E
	2	398,06	A	C	d	E
	3	276,74	A	C	d	E
	4	403,11	A	c	d	E
	5	317,18	A	c	d	E
	6	265,49	A	c	d	E
	7	334,79	A	c	d	E

Tab. 94: Einzelkornanalysen, Pflanze 3 der F₃-Generation, 852x15514.34.4.4

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₃	1	288,23	A	C	d	E
	2	476,73	A	C	d	E
	3	325,62	A	C	d	E
	4	428,85	A	c	d	E
	5	294,31	A	c	d	E
	6	242,42	A	c	d	E
	7	289,93	A	c	d	E

Tab. 95: Einzelkornanalysen, Pflanze 4 der F₃-Generation, 852x15514.34.4.10

Tab. 88-95: Biosynthese-code und Gesamtphenolgehalt (mg/100 g (TS)) der Einzelkornanalysen von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 852x15514 (Daten im Anhang)



Die Kreuzung „Pulanska x Sun Rutin“ (852x15514) (Abb. 219, Tab. 88-95) stellte die reziproke Kreuzung von 15514x852 dar. Mit dieser Kombination sollte eine deutliche Erhöhung des Rutingehaltes erreicht werden.

Die Einzelkornanalysen der Mutterpflanze 852 in Tab. 88 wiesen im „C“- , „D“- und „E“-Bereich eine homogene Biosynthesecodierung auf, die für eine hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit der CHS und für eine hohe Rutin- und geringe Flavanolsyntheserate stand. Im „A“-Bereich überwogen die Körner mit einer geringen Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg im Verhältnis von 2:5 („A:a“).

Die Vaterpflanze 15514 (Abb. 219, Tab. 89) im „A“- und „C“-Bereich bei allen überprüften Körnern eine homogene Codierung, die auf eine geringe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg und eine hohe Hydroxyzimtsäuresyntheserate hindeutete. Bei den Enzymen FLS und DFR waren die Ergebnisse uneinheitlich und spalteten im Verhältnis 4:3 („D:d“) und 3:4 („E:e“) auf.

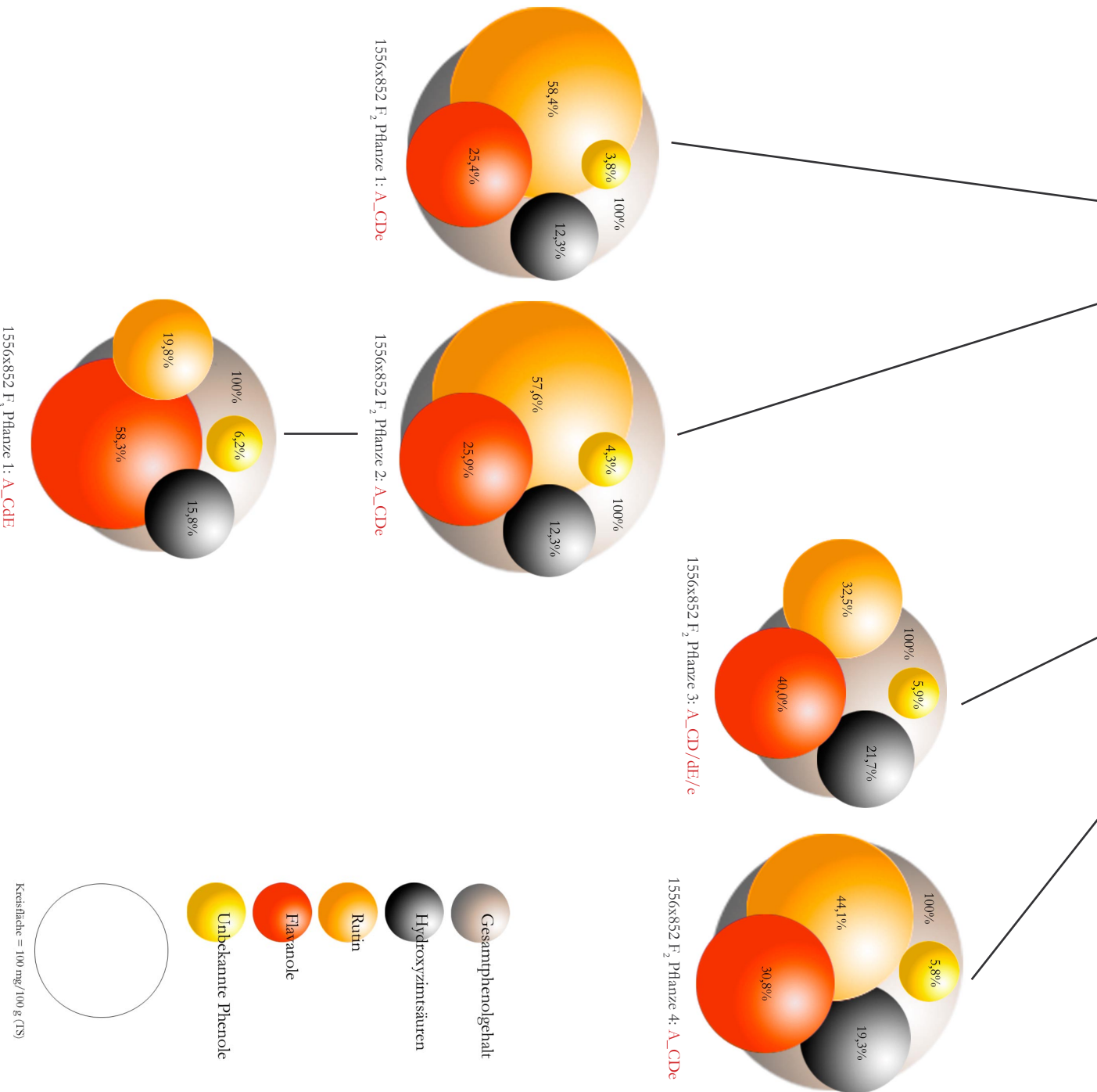
In der F₁-Generation (Abb. 219, Tab. 90) wurden alle Körner homogen mit einer hohen Aktivität/Substratverfügbarkeit der CHS, einer hohen Aktivität/Substratverfügbarkeit der FLS gekennzeichnet.

In der F₂-Generation (Abb. 219, Tab. 91) wurden 6 von 8 Körnern homogen mit „ACDe“ codiert, die übrigen zwei Körner zeigten Abweichungen im „A“- und „C“-Bereich (Tab. 59).

In der F₃-Generation (Abb. 219, Tab. 92-95) setzte sich bei den 4 analysierten Pflanzen eine geringe Aktivität/Substratverfügbarkeit der FLS zusammen mit einer hohen Aktivität/Substratverfügbarkeit der DFR durch. Die Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg wurde homogen mit „A“ gekennzeichnet. Der „C“-Bereich spaltete bei den 4 Pflanzen auf. Während die Pflanzen 1 und 2 vermehrt eine hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit der CHS aufwiesen (11:3), lag das Verhältnis bei den Pflanzen 3 und 4 bei 6:8 („C:c“).



6.7.8 „Sun Rutin x Pulanska“ (1556x852) - Viel Rutin und wenig Flavanole



1556x852 F₂ Pflanze 1: **A_CDe**

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	43,6	26,8
Rutin	207,5	34,4
Flavanole	90,5	40,3
Unbekannte	13,6	1,9
Gesamtphenolgehalt	355,1	79,5

1556x852 F₂ Pflanze 2: **A_CDe**

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	48,2	44,3
Rutin	226,3	75,4
Flavanole	101,8	10,3
Unbekannte	16,7	3,8
Gesamtphenolgehalt	393,0	94,3

1556x852 F₂ Pflanze 3: **A_CD/DE/e**

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	56,3	38,9
Rutin	84,3	61,6
Flavanole	103,8	31,9
Unbekannte	15,4	2,4
Gesamtphenolgehalt	259,7	67,9

1556x852 F₂ Pflanze 4: **A_CDe**

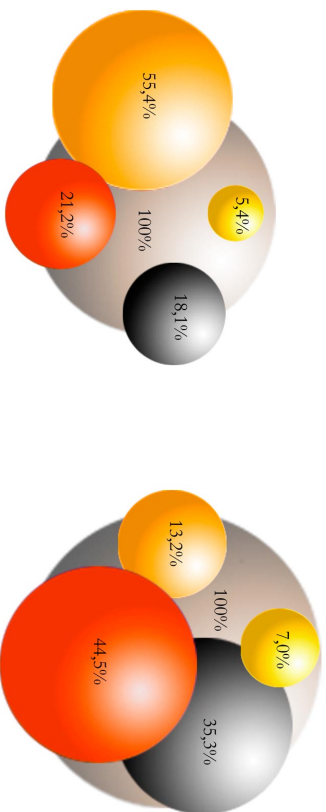
	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	77,5	35,9
Rutin	176,5	130,0
Flavanole	123,6	41,9
Unbekannte	23,0	7,6
Gesamtphenolgehalt	400,6	159,5

1556x852 F₃ Pflanze 1: **A_CDe**

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	47,4	14,0
Rutin	59,2	25,1
Flavanole	174,8	28,9
Unbekannte	18,5	2,7
Gesamtphenolgehalt	299,9	48,0

Abb. 220: Biosyntheschema (Kapitel 6.1) und -codes von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 1556x158

Tab. 96: Gemittelte absolute Phenolgehalte von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 1556x852



Mutterpflanze 1556: **A_cdl**

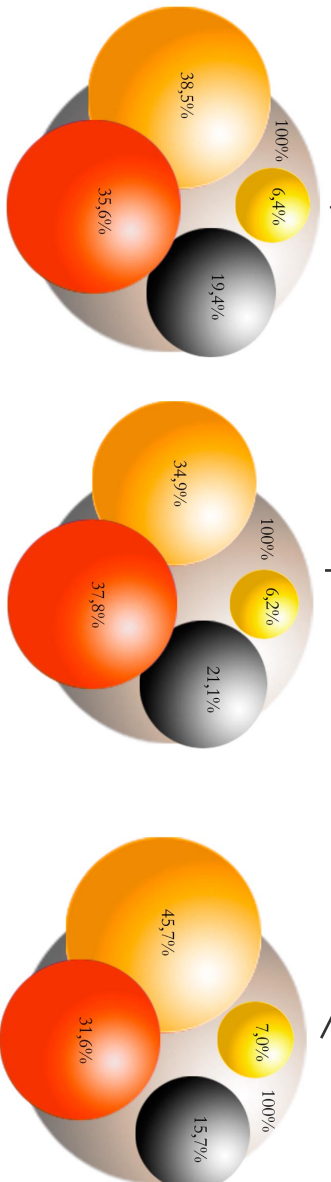
	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxycinnosäuren	107,6	31,2
Rutin	40,4	41,4
Flavonole	135,9	31,2
Unbekannte	21,3	8,2
Gesamtphenolgehalt	305,3	82,7

Vaterpflanze 852: **a_CDe**

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxycinnosäuren	36,3	11,2
Rutin	111,5	54,5
Flavonole	42,7	8,3
Unbekannte	10,8	2,2
Gesamtphenolgehalt	201,3	61,9

Mutterpflanze 852: **a_CDe**

Vaterpflanze 1556: **A_cdl**



1556x852 F₁ Pflanze 1: **A_CDe**

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxycinnosäuren	57,5	37,7
Rutin	113,9	60,5
Flavonole	105,4	27,5
Unbekannte	19,1	4,5
Gesamtphenolgehalt	295,9	92,0

1556x852 F₁ Pflanze 2: **A_CD/dE/e**

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxycinnosäuren	56,1	12,4
Rutin	92,8	38,2
Flavonole	100,6	19,8
Unbekannte	16,3	4,5
Gesamtphenolgehalt	265,8	48,1

1556x852 F₁ Pflanze 3: **A_CDe**

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxycinnosäuren	44,9	17,6
Rutin	130,3	69,4
Flavonole	90,0	24,1
Unbekannte	19,9	8,4
Gesamtphenolgehalt	285,0	49,8



	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
Mutter	1	412,12	A	C	d	E
	2	324,13	A	c	d	E
	3	236,71	A	c	d	E
	4	302,54	A	c	d	E
	5	262,64	A	c	d	E
	6	405,81	A	c	d	E
	7	193,04	a	c	d	E

Tab. 97: Einzelkornanalysen, Mutterpflanze 1556

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₁	1	262,77	A	C	D	e
	2	273,55	A	C	D	e
	3	278,18	A	C	D	e
	4	290,62	A	C	D	e
	5	323,73	A	C	D	e
	6	397,38	A	C	D	e
	7	471,27	A	c	D	e
	8	319,83	a	C	D	e
	9	187,15	a	C	d	E
	10	154,29	a	C	d	E

Tab. 99: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₁-Generation (1556x852. 1920)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₁	1	293,39	A	C	D	e
	2	351,29	A	C	D	e
	3	295,25	A	C	D	e
	4	242,69	A	C	D	e
	5	319,74	A	C	D	e
	6	258,96	A	C	D	e
	7	361,10	A	C	D	e
	8	256,83	A	C	D	e
	9	199,74	A	C	d	E
	10	271,45	A	c	d	E

Tab. 101: Einzelkornanalysen, Pflanze 3 der F₁-Generation (1556x852. 1314)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₂	1	379,34	A	C	D	e
	2	308,39	A	C	D	e
	3	324,39	A	C	D	e
	4	255,56	A	C	D	e
	5	320,21	A	C	D	e
	6	397,02	A	C	D	e
	7	501,00	A	C	D	e

Tab. 102: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₂-Generation (1556x852. 1920. 3)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₂	1	238,13	A	C	d	E
	2	378,80	A	C	D	e
	3	249,92	A	C	D	e
	4	290,93	A	c	d	E
	5	288,86	A	c	d	E
	6	191,61	a	C	D	e
	7	179,39	a	C	d	E

Tab. 104: Einzelkornanalysen, Pflanze 3 der F₂-Generation (1556x852. 1516. 5)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
Vater	1	317,22	A	C	D	e
	2	253,43	A	C	D	e
	3	146,94	a	C	D	e
	4	164,93	a	C	D	e
	5	176,11	a	C	D	e
	6	158,36	a	C	D	e
	7	191,89	a	C	D	e

Tab. 98: Einzelkornanalysen, Vaterpflanze 852

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₁	1	316,83	A	C	D	e
	2	285,28	A	C	D	e
	3	337,48	A	C	D	e
	4	234,61	A	C	d	E
	5	222,29	A	C	d	E
	6	214,06	A	C	d	E
	7	250,25	A	c	D	e

Tab. 100: Einzelkornanalysen, Pflanze 2 der F₁-Generation (1556x852. 1516)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₂	1	335,63	A	C	D	e
	2	484,73	A	C	D	e
	3	517,46	A	C	D	e
	4	292,07	A	C	D	e
	5	282,96	A	C	D	e
	6	383,98	A	C	D	e
	7	454,15	A	C	D	e

Tab. 103: Einzelkornanalysen, Pflanze 2 der F₂-Generation (1556x852. 1920. 10)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthese-code			
F ₂	1	632,70	A	C	D	e
	2	243,43	A	C	D	e
	3	594,30	A	C	D	e
	4	409,41	A	C	D	e
	5	388,25	A	c	D	e
	6	291,75	A	C	d	E
	7	244,27	A	c	d	E

Tab. 105: Einzelkornanalysen, Pflanze 4 der F₂-Generation (1556x852. 1516. 7)

Tab. 97-106: Biosynthese-code und Gesamtphenolgehalt (mg/100 g (TS)) der Einzelkornanalysen von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 1556x852 (Daten im Anhang)



	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthesecode			
F ₃	1	338,89	A	C	d	E
	2	311,49	A	C	d	E
	3	317,99	A	C	d	E
	4	308,66	A	C	d	E
	5	223,64	A	C	d	E
	6	244,74	A	C	d	E
	7	353,67	A	C	d	E

Tab. 106: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₃-Generation (1556x852.1920.10.1)

Tab. 97-106: Biosynthesecode und Gesamtphenolgehalt (mg/100 g (TS)) der Einzelkornanalysen von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 1556x852 (Daten im Anhang)

Die Nachkommen der Kombination „Sun Rutin“ x „Pulanska“ (1556x852) (Abb. 220, Tab. 97-106) wiesen in der F₂-Generation die höchsten durchschnittlichen Gesamtphenolgehalte auf. Beide Eltern hatten hohe Rutingehalte.

Die Ergebnisse der Einzelkornanalysen der Mutterpflanze 1556 in Tab. 97 wurden homogen mit einer geringen Aktivität/Substratverfügbarkeit der FLS und einer hohen der DFR codiert. Im „A“- und „C“-Bereich kam es jeweils zu einer Abweichung, wobei eine hohe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg („A“) und eine hohe Hydroxycimtsäuresyntheserate überwogen. Die Vaterpflanze 852 in Tab. 98 wies im „C“- „D“- und „E“-Bereich eine homogene Biosynthesecodierung auf, die für eine hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit der CHS und eine hohe Rutin- und gleichzeitig niedrige Flavanolsyntheserate stand. Im „A“-Bereich überwogen die Körner mit einer geringen Substratverfügbarkeit in einem Verhältnis von 2:5 („A:a“). In der F₁-Generation (Abb. 220, Tab. 99-101) spalteten die Körner auf, wobei die hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit der FLS („D“) mit hohen Rutinwerten häufiger auftrat. In diesem Bereich wurde bei den Körnern der 3 Pflanzen das Verhältnis 20:7 („D:d“) festgestellt. Der „A“-Bereich zeigte bei allen 3 Pflanzen eine vorwiegend hohe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg mit einem Verhältnis von 24: 3 („A:a“). Die Biosynthesecodierung im „C“-Bereich wurde von einer hohen Aktivität/Substratverfügbarkeit der CHS gekennzeichnet. Das Verhältnis lag bei den Körnern der 3 Pflanzen bei 24:3 („C:c“). In der F₂-Generation (Abb. 220, Tab. 102-105) fielen die Pflanzen 1 und 2 durch die homogene Codierung „ACDe“ auf, die einen hohen Gesamtphenolgehalt und hohe Rutinwerte zeigte. Die Pflanzen 3 und 4 waren nicht vollständig homogen, jedoch wurde innerhalb der analysierten Körner vermehrt die gleiche Biosynthesecodierung, die auch die Pflanzen 1 und 2 aufwiesen, beobachtet. In der F₃-Generation (Abb. 220, Tab. 106) setzte sich eine hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit der DFR durch, die sich in hohen Flavanolgehalten ausprägte. Der Biosynthesecode war bei den analysierten Einzelkörnern mit „ACdE“ einheitlich.



6.7.9 „Demetra x Hyuszowska“ (158(12)x26) - Viel Flavanole und wenig Rutin

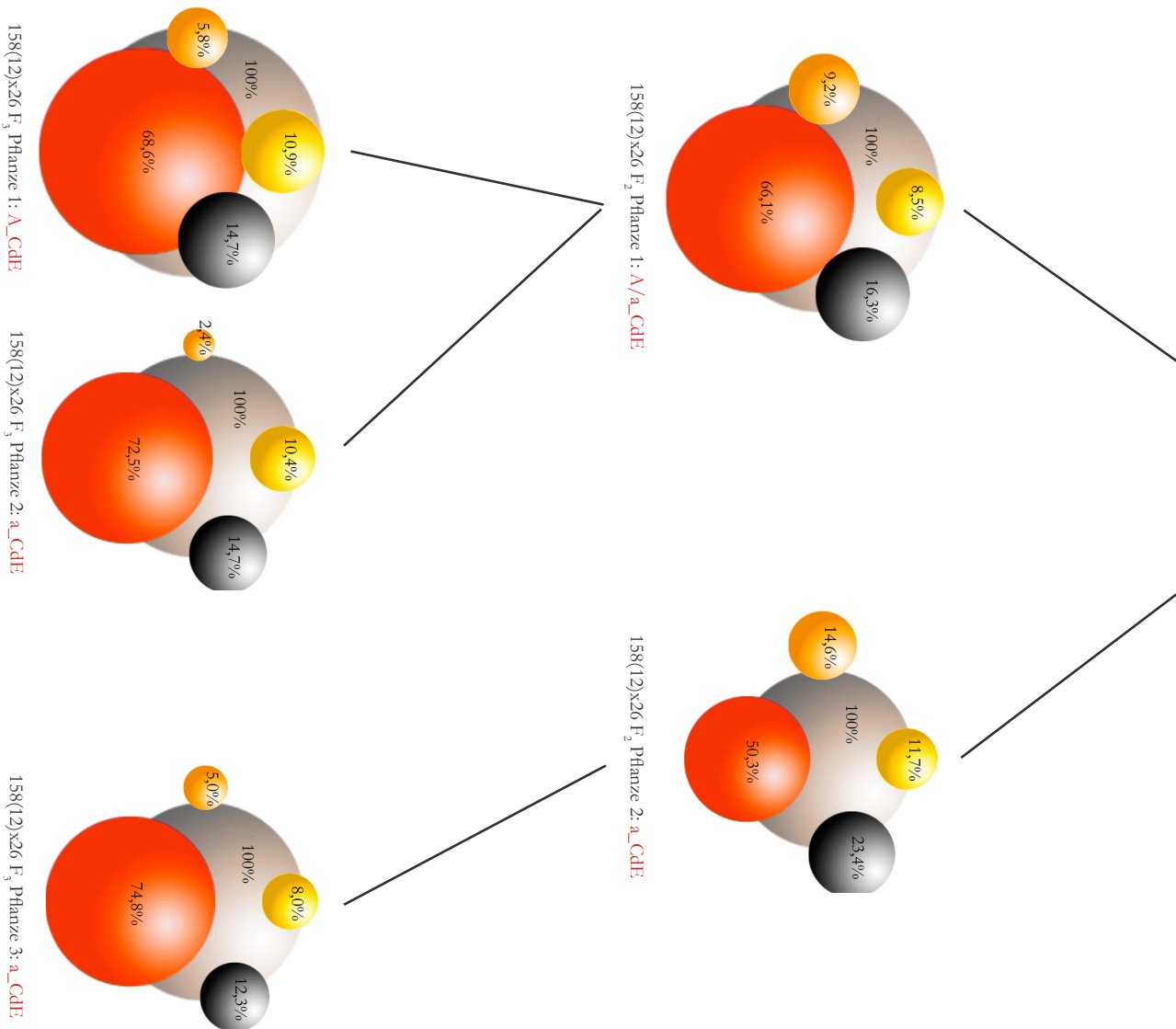


Abb. 221: Biosyntheschema und -codes von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 158(12)x26

158(12)x26 F₂ Pflanze 2: a_CDE

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxycinnamtsäuren	30,4	5,1
Rutin	18,9	10,9
Flavanole	65,3	19,5
Unbekannte	15,2	24,4
Gesamphenolgehalt	129,8	24,2

158(12)x26 F₃ Pflanze 1: A_CDE

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxycinnamtsäuren	37,9	5,8
Rutin	14,9	7,6
Flavanole	177,1	52,5
Unbekannte	28,2	13,7
Gesamphenolgehalt	258,2	55,5

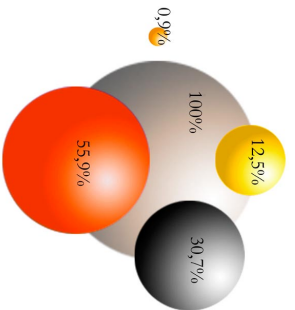
158(12)x26 F₃ Pflanze 2: a_CDE

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxycinnamtsäuren	24,5	8,0
Rutin	4,1	2,2
Flavanole	121,0	24,9
Unbekannte	17,3	17,3
Gesamphenolgehalt	166,9	26,2

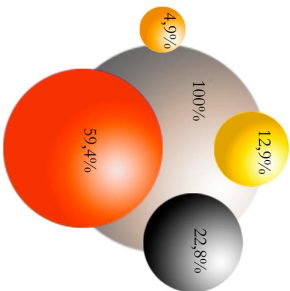
158(12)x26 F₃ Pflanze 3: a_CDE

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxycinnamtsäuren	19,5	1,3
Rutin	7,9	3,3
Flavanole	119,2	21,9
Unbekannte	12,7	2,8
Gesamphenolgehalt	159,3	23,4

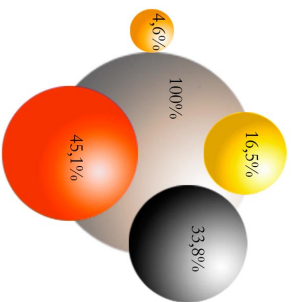
Tab. 107: Gemittelte absolute Phenolgehalte von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 158(12)x26








Mutterpflanze 158(12): **a_cdlE**

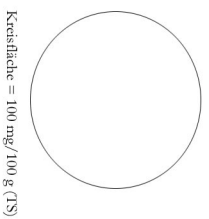


Vaterpflanze 26: **a_CdlE**



158(12)x26 F₁ Pflanze 1: **a_cdlE**

-  Gesamphenolgehalt
-  Hydroxyzimtsäuren
-  Rutin
-  Flavanole
-  Unbekannte Phenole



Mutterpflanze 158(12): **a_cdlE**

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	41,7	10,4
Rutin	1,2	0,6
Flavanole	75,9	24,0
Unbekannte	17,0	7,5
Gesamphenolgehalt	135,8	38,4

Vaterpflanze 26: **a_CdlE**

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	36,8	12,8
Rutin	7,9	7,6
Flavanole	96,0	19,5
Unbekannte	20,9	3,1
Gesamphenolgehalt	161,5	20,9

158(12)x26 F₁ Pflanze 1: **a_cdlE**

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	48,3	16,4
Rutin	6,6	5,0
Flavanole	64,5	9,8
Unbekannte	23,7	7,8
Gesamphenolgehalt	143,0	22,6

158(12)x26 F₂ Pflanze 1: **A/a_cdlE**

	mg/100 g (TS)	Stabw
Hydroxyzimtsäuren	36,1	21,3
Rutin	20,4	14,2
Flavanole	146,2	44,2
Unbekannte	18,7	8,1
Gesamphenolgehalt	221,4	51,7



	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthesecode			
Mutter	1	155,98	a	C	d	E
	2	183,15	a	C	d	E
	3	107,46	a	c	d	E
	4	85,83	a	c	d	E
	5	100,01	a	c	d	E
	6	142,70	a	c	d	E
	7	175,60	a	c	d	E

Tab. 108: Einzelkornanalysen, Mutterpflanze 158(12)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthesecode			
Vater	1	173,77	a	C	d	E
	2	188,16	a	C	d	E
	3	139,69	a	C	d	E
	4	146,47	a	C	d	E
	5	134,08	a	C	d	E
	6	174,44	a	c	d	E
	7	173,56	a	c	d	E

Tab. 109: Einzelkornanalysen, Vaterpflanze 26

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthesecode			
F ₁	1	106,12	a	C	d	E
	2	144,94	a	c	d	E
	3	168,24	a	c	d	E
	4	171,51	a	c	d	E
	5	145,50	a	c	d	E
	6	163,49	a	c	d	E
	7	139,20	a	c	d	E
	8	131,98	a	c	d	E
	9	116,32	a	c	d	E

Tab. 110: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₁-Generation, 158(12)x26. 12

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthesecode			
F ₂	1	265,35	A	C	d	E
	2	184,84	a	C	d	E
	3	208,25	A	C	d	E
	4	299,27	A	C	d	E
	5	159,39	a	C	d	E
	6	188,96	a	C	d	E
	7	189,01	a	C	d	E
	8	174,23	a	C	d	E
	9	248,08	A	C	d	E
	10	296,54	A	c	d	E

Tab. 111: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₂-Generation, 158(12)x26. 12. 3

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthesecode			
F ₂	1	144,20	a	C	d	E
	2	160,25	a	C	d	E
	3	147,94	a	C	d	E
	4	101,34	a	C	d	E
	5	131,94	a	C	d	E
	6	128,93	a	C	d	E
	7	93,72	a	c	d	E

Tab. 112: Einzelkornanalysen, Pflanze 2 der F₂-Generation, 158(12)x26. 12. 13

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthesecode			
F ₃	1	220,26	A	C	d	E
	2	299,34	A	C	d	E
	3	199,20	A	C	d	E
	4	281,30	A	C	d	E
	5	318,15	A	C	d	E
	6	305,29	A	C	d	E
	7	183,70	a	C	d	E

Tab. 113: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₃-Generation, 158(12)x26.12.3.1

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthesecode			
F ₃	1	158,84	a	C	d	E
	2	196,62	a	C	d	E
	3	151,95	a	C	d	E
	4	121,18	a	C	d	E
	5	165,30	a	C	d	E
	6	191,49	a	C	d	E
	7	182,68	a	C	d	E

Tab. 114: Einzelkornanalysen, Pflanze 2 der F₃-Generation, 158(12)x26.12.3.8

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthesecode			
F ₃	1	121,50	a	C	d	E
	2	174,76	a	C	d	E
	3	158,19	a	C	d	E
	4	164,10	a	C	d	E
	5	135,32	a	C	d	E
	6	173,21	a	C	d	E
	7	188,17	a	C	d	E

Tab. 115: Einzelkornanalysen, Pflanze 3 der F₃-Generation, 158(12)x26.12.13.5

Tab. 108-115: Biosynthesecode und Gesamtphenolgehalt (mg/100 g (TS)) der Einzelkornanalysen von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 158(12)x26 (Daten im Anhang)



Die Kreuzungskombination „Demetra“ x „Hyuszowska“ (158(12)x26) (Abb. 221, Tab. 108-115) sollte die hohen Flavanolgehalte beider Eltern in der Nachkommenschaft steigern.

Die Einzelkornanalysen der Mutterpflanze 158(12) (Abb. 221, Tab. 108) wurde in den Biosynthesebereichen „A“, „D“ und „E“ einheitlich mit einer geringen Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg, einer geringen Aktivität/Substratverfügbarkeit der FLS und einer hohen Aktivität/Substratverfügbarkeit der DFR codiert. Zwei der 7 analysierten Körner wurden mit einem „C“ codiert und ließen die Inhomogenität der Mutterpflanze in diesem Bereich erkennen.

Bei der Vaterpflanze 26 (Abb. 221, Tab. 109) wurde die homogene flavanolbetonte Biosynthesecodierung „aCdE“ festgestellt.

In der F₁-Generation (Abb. 221, Tab. 110) blieb die geringe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg aufgrund der homogenen Codierung beider Eltern in diesem Bereich bestehen. Die Aktivität/Substratverfügbarkeit der CHS im „C“-Bereich, wurde bis auf eine Ausnahme mit „c“ codiert. Die Bereiche „D“ und „E“ wurden bei allen Körnern homogen mit „d“ und „E“ gekennzeichnet.

In der F₂-Generation (Abb. 221, Tab. 111-112) blieben die niedrigen Rutinwerte aufgrund der schwachen Flavonolsyntheseaktivität oder der geringeren Substratverfügbarkeit für dieses Enzym bestehen. Die hohe Flavonolsyntheserate setzte sich homogen durch. Im „A“-Bereich wurden bei Pflanze 1, 4 von 10 Körnern mit einer hohen Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg festgestellt („A“).

In der F₃-Generation (Abb. 221, Tab. 113-115) setzte sich bei Pflanze 1 die höhere Substratverfügbarkeit aus der F₂-Generation bei 6 von insgesamt 7 Körnern durch. Die übrigen zwei Pflanzen 2 und 3 wurden mit „a“ codiert. Der „C“-Bereich wurde bei allen 3 Pflanzen mit „C“ gekennzeichnet und deutete auf eine hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit der CHS hin. Die Bereiche „D“ und „E“ wurden bei allen 3 Pflanzen homogen mit „d“ und „E“ gekennzeichnet.



6.7.10 „Sumchanka x Sun Rutin“ (615x1556) - Viel Flavanole und wenig Rutin

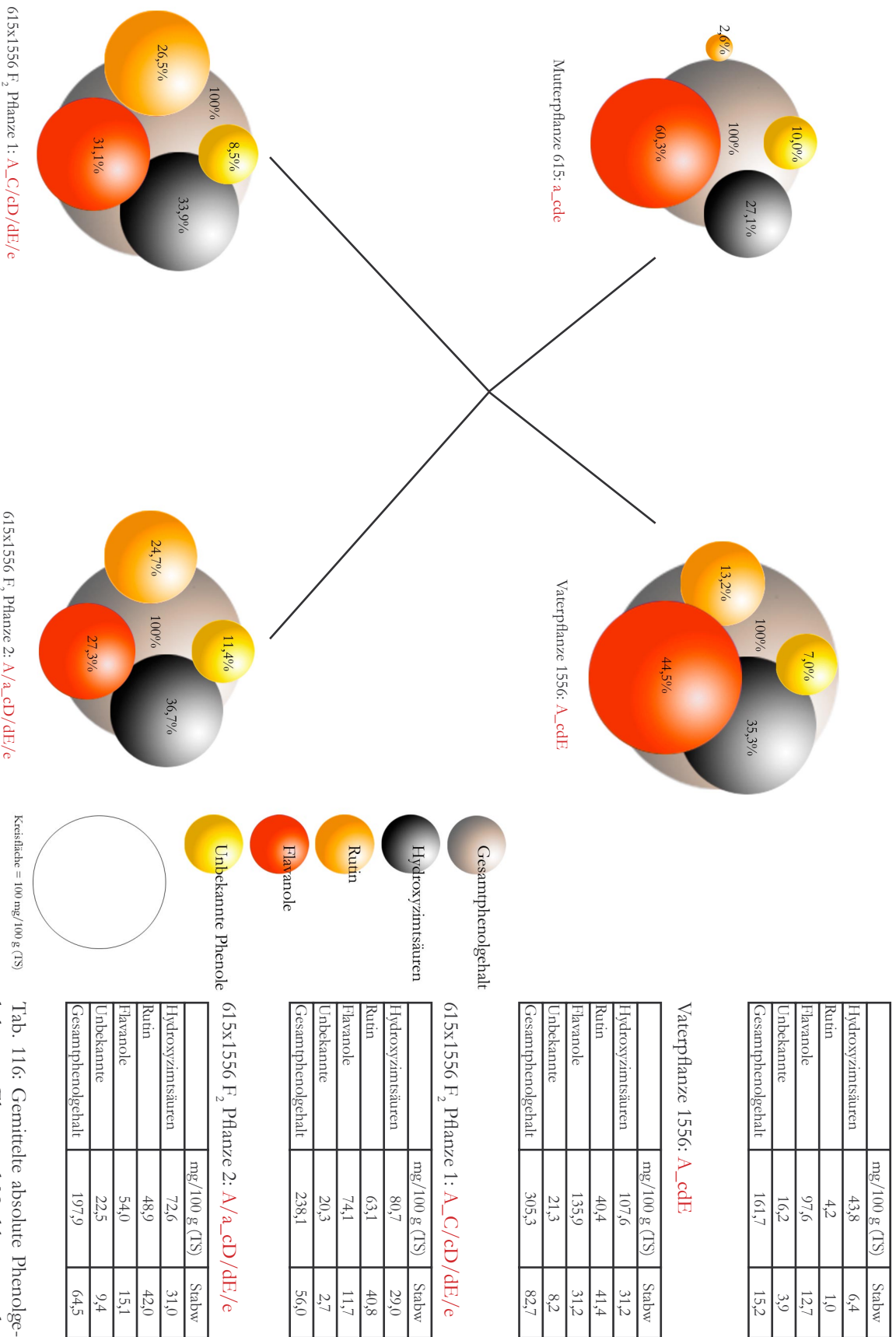


Abb. 222: Biosyntheschema (Kapitel 6.1) und -codes von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 615x1556

Tab. 116: Gemittelte absolute Phenolgehalte von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 615x1556



	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthesecode			
			a	C	d	E
Mutter	1	138,84	a	C	d	E
	2	174,59	a	C	d	E
	3	161,72	a	C	d	E
	4	158,46	a	c	d	E
	5	166,88	a	c	d	E
	6	148,03	a	c	d	E
	7	183,60	a	c	d	E

Tab.117: Einzelkornanalysen, Mutterpflanze 615

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthesecode			
			A	C	d	E
Vater	1	412,12	A	C	d	E
	2	236,71	A	c	d	E
	3	302,54	A	c	d	E
	4	262,64	A	c	d	E
	5	405,81	A	c	d	E
	6	324,13	A	c	d	E
	7	193,04	a	c	d	E

Tab. 118: Einzelkornanalysen, Vaterpflanze 1556

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthesecode			
			A	C	D	e
F ₂	1	282,58	A	C	D	e
	2	307,69	A	c	D	e
	3	308,61	A	c	D	e
	4	238,30	A	C	d	E
	5	198,14	A	c	d	E
	6	230,87	A	c	d	E
	7	241,35	A	c	d	E
	8	196,53	a	C	D	e
	9	138,79	a	C	d	E

Tab. 119: Einzelkornanalysen, Pflanze 1 der F₂-Generation (615x1556. 7. 2)

	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100g TS)	Biosynthesecode			
			A	c	D	e
F ₂	1	275,72	A	c	D	e
	2	289,04	A	c	D	e
	3	198,96	A	C	d	E
	4	194,54	a	c	D	e
	5	133,79	a	c	d	E
	6	122,35	a	c	d	E
	7	170,84	a	c	d	E

Tab. 120: Einzelkornanalysen, Pflanze 2 der F₂-Generation (615x1556. 7. 3)

Tab.117-120: Biosynthesecode und Gesamtphenolgehalt (mg/100 g (TS)) der Einzelkornanalysen von Eltern und Nachkommen der Kreuzungskombination 615x1556 (Daten im Anhang)

Bei der Kreuzung „Sumchanka“ x „Sun Rutin“ (615x1556) (Abb. 222, Tab. 117-120) wurde eine phenolreiche Vaterpflanze mit einer phenolarmen Mutterpflanze gekreuzt. Die Einzelkornanalysen der Mutterpflanze 615 (Abb. 222, Tab. 117) zeigte bis auf den „C“-Bereich eine einheitlich flavanolbetonte Biosynthesecodierung mit einer geringen Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg („a“), einer niedrigen Aktivität/Substratverfügbarkeit der FLS („d“) und einer hohen Aktivität/Substratverfügbarkeit der DFR („E“). 3 von 7 Körnern wurden mit „C“ gekennzeichnet, das auf eine hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit CHS hinwies.

Die Körner der Vaterpflanze 1556 (Abb. 222, Tab. 118) wurden homogen mit „d“ und „E“ codiert. Im „A“- und „C“-Bereich kam es jeweils zu einer Abweichung, die übrigen Körner wurden mit „A“ und „c“ gekennzeichnet.

Trotz der homogen codierten Bereiche „D“ und „E“ der Eltern wurden in der F₂-Generation (Abb. 222, Tab. 119-120) Aufspaltungen in einem Verhältnis von 9:7 („d: D“) bei den insgesamt 16 Körnern der zwei analysierten Pflanzen beobachtet. Die Bereiche „A“ und „C“ wurden heterogen codiert. Während bei Pflanze 1 eine hohe Substratverfügbarkeit („A“) mit 7:2 („A:a“) überwog, wurde bei Pflanze 2 häufiger eine geringe Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg festgestellt (4:3). Im Bereich „C“ der Hydroxyzimsäuresynthese wurde vermehrt mit „c“ codiert, das für eine hohe Hydroxyzimsäuresyntheserate stand.



6.8 Diskussion

Aus dem vorhandenen Genpool von 60 bereits homostylen Buchweizenlinien, wurden 10 Linien als Elterngeneration mit unterschiedlichen Phenolzusammensetzungen und -gehalten selektiert und miteinander gekreuzt.

Durch die Wahl der HPLC-Methode, die im Vergleich zu den photometrischen Methoden mehr Zeit in Anspruch nahm wurde ein sehr viel geringerer Probendurchsatz pro Zeit erreicht. Diese geringe Zahl überprüfter Einzelkörner von Eltern und Nachkommen machte die statistische Auswertung der Daten unmöglich. Aus diesem Grund wurde der Ergebnisteil sehr detailliert bearbeitet und jedes einzelne untersuchte Individuum beschrieben, um zu zeigen, dass die Ergebnisse trotz geringer Probenzahl nicht zufällig sind.

Dadurch, dass die im Buchweizensamen ermittelten Phenolgehalte in direkter Verbindung mit dem für die Phenolbiosynthese zur Verfügung stehenden Substrat und den beteiligten Enzymen stehen, stellte die Auswertung der Daten anhand eines schematisierten Biosyntheseweges eine an der Wirklichkeit orientierte Grundlage dar, die sich als sehr wirkungsvoll herausstellte, um die Vererbung der am Phenylpropanoidmetabolismus beteiligten Enzyme im Buchweizenkorn nachzuvollziehen. WATANABE (1998) wies auf die Bedeutung der an der Rutin- und Flavanolsynthese beteiligten Enzyme hin, die letztendlich für die im Korn enthaltenen Gehalte verantwortlich sind, machte aber keine weiteren Angaben zu diesem Thema. In dem Review von WIJNGAARD und ARENDT (2006) wurden keine neuen Erkenntnisse über die Vererbung von Enzymen der Phenolbiosynthese im Buchweizensamen aufgeführt, so dass ein Vergleich der hier gefundenen Ergebnisse mit der Literatur nicht durchweg gegeben war.

Die in Form eines Biosynthesecodes durchgeführten Codierungen sollten zu Informationen über die Homo- oder Heterogenität der Körner von Eltern und Nachkommen führen, die Prognosen zur Stabilität von Merkmalen hoffnungsvoller Nachkommen bei der Weiterführung züchterischer Arbeiten möglich machen.

Zu Beginn der Untersuchungen musste geklärt werden, ob geeignete Linien vorhanden waren, um eine definierte Elterngeneration für die weiterführenden Kreuzungen zu selektieren. Die Ergebnisse zeigten, dass Linien mit unterschiedlichen Syntheseschwerpunkten existierten und nur eine geringe Anzahl von Linien zu finden war, deren Phenylpropanoidmetabolismus speziell auf die Rutinsynthese ausgerichtet war.



Der Großteil zeigte hohe Flavanolgehalte oder Kombinationen von hohen Hydroxyzimtsäure- und Flavanolgehalten. In einigen Fällen wurde ein ausgeprägt hohes Potential zur Synthese von Phenolen gefunden, welches hohe Werte aller 3 Komponenten zuließ. Aus diesem Pool wurden Linien mit den gewünschten Phenolzusammensetzungen selektiert, um die gesetzten Ziele (Kapitel 6.2) zu erreichen.

1. Geringer Gesamtphenolgehalt

Eines der Ziele bestand darin, Samen mit geringen Gesamtphenolgehalten zu selektieren. Dies wurde mit den Linien 95x90/02 (Pflanze 9510) und 61S6 3/2 C32 (Pflanze 619) in Kreuzung und reziproker Kreuzung erreicht (Kapitel 6.7.1, S.112 und 6.7.2, S. 116). Beide Eltern zeigten ein durchweg geringes Gesamtphenolpotential, das sich in allen analysierten Nachkommen der Kombinationen 9510x619 und 619x9510 durchsetzte. Aufgrund des geringen Potentials der Eltern, hohe Phenolgehalte zu synthetisieren, war eine Steigerung des Phenolgehaltes in den Nachkommen nicht möglich. Das geringe Phenylalaninangebot oder aber auch die geringe Aktivität der Phenylalaninammoniumlyase schienen bei dieser Kreuzung eine Schlüsselfunktion einzunehmen, die sich in den Nachkommen wieder fand. Beide Eltern zeigten einen homogenen Biosynthesecode, der bei den Einzelkornanalysen jedes Nachkommen wieder zu finden war. Dieser beinhaltete „a“ für das geringe Gesamtphenolpotential der Körner und „E“ für die hohe Aktivität der Dihydroflavonol 4-Reduktase, die bei den Eltern und Nachkommen unverändert waren und hohe Flavanolgehalte aufwiesen.

Die eventuelle Verwendung solcher zukünftiger phenolarmer Sorten als Viehfutter, um die nach BUTLER (1988); KOLODZIEJ (1994); MC MAHON et al. (1999) und BUTTER et al. (1999) vermutete geringere Verdaulichkeit der Proteine aufgrund enthaltener Phenole im Viehmagen zu minimieren, kann vielversprechend sein. Nach FOX und DOMONEY (1999) muß jedoch in jedem Fall untersucht werden, wo der Schwellenwert solcher Inhaltsstoffe liegt. Daher sollte geprüft werden, ob der Flavanolanteil, der von dem geringen Gesamtphenolgehalt immerhin 50-60% ausmachte, niedrig genug ist, um weniger oder keine Verdauungsprobleme im Viehmagen auszulösen, da diese vor allem den Flavanolen angelastet werden. Diese züchterische Bearbeitung ist aufgrund des hohen Nährwerts, den Buchweizensamen aufweisen, lohnenswert. Ein weiterer



Vorteil der phenolarmen Elternlinie 61S6 3/2 C32 (Pflanze 619) ist der bereits etablierte determinierte Wuchs, ein fester Samensitz, großes Korn sowie hoher Kornansatz.

Die weiterführende züchterische Bearbeitung dieser Kombination zur Selektion einer zukünftigen Sorte mit niedrigem Gesamtphenolgehalt, kann aufgrund der Ergebnisse als erfolgsversprechend bezeichnet werden.

2. Gleichzeitig hoher Rutin- und Flavanolgehalt

Ein weiteres Züchtungsziel bestand in der Vereinigung hoher Rutin- und Flavanolgehalte in einem Genotyp. Dies setzte Samen mit hoher Substratverfügbarkeit für den Phenylpropanoidmetabolismus, einer hohen Aktivität der Chalkonsynthase und gleichzeitig hohen Aktivitäten von Flavonolsynthase und Dihydroflavonol 4-Reduktase voraus. Um dieses Zuchtziel zu erreichen, bot die Kreuzung 15x02 (Pflanze 15) x 85x02 (Pflanze 852) eine gute Voraussetzung (Kapitel 6.7.3, S. 118), denn die Mutterpflanze 15 („Siva x *F. homotropicum*“) hatte einen hohen Flavanolanteil von 73,5%, die Vaterpflanze 852 („Pulanska x *F. homotropicum*“) einen hohen Rutinanteil von 55,4%.

In der F_2 -Generation wurden Nachkommen mit der gewünschten hohen Syntheserate von Rutin und Flavanolen gefunden. Dieser Züchterfolg war jedoch in der F_3 -Generation nicht stabil. Es wurde eine deutliche Abnahme der Flavonolsynthase-Aktivität mit einer gleichzeitigen Zunahme der Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der Dihydroflavonol 4-Reduktase beobachtet. Interessant war bei dieser Kreuzung die Codierung der Einzelkorngehalte mit dem Biosynthesecode. Dieser zeigte bei der Mutterpflanze bei 10 untersuchten Körnern ein homogenes Ergebnis mit einer geringen Aktivität der Flavonolsynthase („d“). Bei der Vaterpflanze wurde genau das Gegenteil festgestellt, d.h. eine über 7 untersuchte Körner hinweg einheitlich hohe Aktivität der FLS und ein gleichzeitig geringer Flavanolgehalt, der für eine geringe Aktivität der DFR sprach.

Die Einzelkornanalysen der F_2 -Generation spalteten auf. Bei den Körnern zweier Nachkommen wurde ein heterogenes Ergebnis bei der Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der Flavonolsynthase festgestellt. Das Spaltungsverhältnis lag bei Pflanze 1 bei 5:4 („D:d“) und bei Pflanze 2 bei 2:7 („D:d“). Mit diesen Zahlenverhältnissen konnten zwar aufgrund der geringen Probenzahl keine Aufspaltungsverhältnisse wiedergeben werden, dennoch schien ein Schema sichtbar zu werden, welches die Vermutung zuließ, dass es sich bei der Vererbung eines hohen Rutinpotentials aufgrund einer



höheren Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der Flavonolsynthese bei dieser Kreuzungskombination um einen rezessiven Vererbungsgang handeln könnte.

In der F_1 -Generation (Tab. 59, S. 120) hat sich bei der Codierung der Einzelkornanalysen, im Bereich der Flavonolsynthese, das dominante Merkmal „geringe Aktivität der FLS“ heterozygot ausgeprägt. Diese Heterozygotie ist in der F_2 -Generation nach Selbstung gespalten. Die Probenzahl war jedoch zu gering, um ein definiertes Spaltungsverhältnis wiedergeben zu können. Dies zeigte sich anhand der verschiedenen Spaltungsverhältnisse, die bei den analysierten Körnern beider Pflanzen in der F_2 -Generation ermittelt wurden.

In der F_3 -Generation konnte kein hoher Rutinwert mehr festgestellt werden. Durch Rückkreuzung mit dem reinerbig rezessiven Elternteil (Pflanze 852) ist eine stabile Einkreuzung des rezessiven Merkmals möglich. Die Weiterführung dieser Rückkreuzungen sollte daher fortgeführt werden. Auch WANG et al. (2004) haben sich mit dem Vererbungsmuster von Rutin bei „*Fagopyrum esculentum* Moench“ beschäftigt. Dabei wurden in der F_2 -Generation überwiegend Nachkommen gefunden, die Rutingehalte in Höhe des rutinärmeren Elternteils oder mit noch geringeren Rutingehalten aufwiesen. Dieses Ergebnis konnte bei den Einzelkornanalysen mit der Buchstabencodierung bestätigt werden (Abb. 215, S. 118). WANG et al. (2004) kamen zu dem gleichen Schluss, dass es sich bei der Vererbung von hohen Rutingehalten um ein rezessives Merkmal handelt. Durch Selektion von Pflanzen mit hohen Rutingehalten in der F_2 -Generation, die einem reinen „Rezessiv-Typ“ entsprechen und mit dem reinerbig rezessiven Elternteil rückgekreuzt werden, könnte ein hoher Rutingehalt stabil etabliert werden. Diese Methode kann zu rutinreichen Nachkommen führen, die an Werte von „*F. tataricum*“ heranreichen können. Um eine solche Hypothese abzusichern, ist die Kreuzung mit stabilen, selbstfertilen Linien in größerem Umfang notwendig, die während dieser Arbeit aber noch nicht generiert werden konnten. Diese Hypothese würde erklären, warum von 60 analysierten Buchweizenlinien nur 3 mit ausgeprägt hohen Rutingehalten zu finden waren. Es kann davon ausgegangen werden, dass die Vererbung einer hohen Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der Dihydroflavonol 4-Reduktase einem dominanten Vererbungsgang unterliegt. Hohe Aktivitäten der Dihydroflavonol 4-Reduktase haben sich in einem Großteil von Buchweizensorten und -linien durchgesetzt (Kapitel 6.4). Diese Überlegung führt dazu, den Einsatz von „*Fagopyrum homotropicum*“ neu zu überdenken. Denn diese Wildart verfügt



nicht nur über einkreuzbare Homostylie, sondern gleichzeitig über einen extrem hohen Anteil von Flavanolen, der, wenn er dominant vererbt wird, bisher in jede mit „*Fagopyrum homotropicum*“ züchterisch bearbeitete Linie mit eingeflossen ist. Dies bedeutet weiterhin, dass die zukünftige Vorgehensweise zur Kombinierung von Homostylie und hohen Rutingehalten überdacht werden muß. Diese Annahme sollte jedoch durch weitere Versuche abgesichert werden.

Als weitere Versuchsgrundlage zur Etablierung eines gleichzeitig hohen Rutin- und Flavanolgehaltes diente die Kreuzung 155x β 4 (Pflanze 17) x 158xK2 (Pflanze 6) (Kapitel 6.7.4, S. 122). Diese Kombination wies nicht nur einen hohen Rutingehalt bei der Mutterpflanze auf, sondern gleichzeitig ein hohes Gesamtphenolpotential mit einem annähernd gleich starken prozentualen Anteil von Flavanolen und Rutin. Ein Merkmal der Mutterpflanze 155x β 4, Pflanze 17 („Sun Rutin x (Sumchanka x *F. homotropicum*)“, 15517), bestand in der hohen Syntheserate von Hydroxymzimtsäurederivaten, die sich jedoch nicht sichtbar auf die Syntheserate von Rutin und Flavanolen auswirkten. Als Kreuzungspartner wurde die Linie 158xK2 („Demetra x (Sumchanka x *F. homotropicum*)“ verwendet, bei der zwar ein geringer Gesamtphenolgehalt festgestellt wurde, von dem jedoch 63,5% Flavanole ausmachten. Die F₂-Generation dieser Kombination spaltete auf und bei den zwei untersuchten Pflanzen wurde ein Nachkomme (Pflanze 2) mit hohem Gesamtphenolgehalt und annähernd gleich hohem Flavonol- und Flavanolgehalt gefunden (Abb. 216, S. 122). Von dieser Pflanze ist die Untersuchung der F₃-Generation interessant, um feststellen zu können, ob die stabile Etablierung eines Gleichgewichtes der entscheidenden Enzyme auch bei den folgenden Generationen eintreten würde. 15517 müsste in diesem Fall jedoch aufgrund der aufgetretenen Inhomogenität der Körner im Rutinbereich (Tab. 66, S. 123) züchterisch weiter bearbeitet werden, um eine stabile, selbstfertile Linie zu gewinnen. Pflanze 1 der F₂-Generation wies kein Gleichgewicht von FLS und DFR, sondern einen Syntheseschwerpunkt bei den Flavanolen, auf und wich vom angestrebten Zuchtziel ab. Mit der F₂-Generation dieser Kombination wurde deutlich, wie wichtig eine frühzeitige Selektion ist, um die richtigen Nachkommen mit den gewünschten Merkmalen zu erhalten.

Für die Extraktion und Bestimmung der Phenolgehalte wurden geschälte Samen verwendet, deren Merkmale anschließend für die Kreuzung nicht mehr zur Verfügung standen. Aus diesem Grund konnte bei keiner Kreuzung abgesichert werden, dass ein zum Kreuzen ausgepflanztes Korn die gleichen



Inhaltsstoffe wie die zuvor analysierten Körner aufwies. Es musste davon ausgegangen werden, dass die angebauten Samen die gleichen Merkmale wie die Einzelkornanalysen einer als homogen bezeichneten Pflanze aufwiesen. Dies konnte jedoch aufgrund der Methode nicht gewährleistet werden. Eine zerstörungsfreie Bestimmung der Phenole in einem Korn, das anschließend als Kreuzungspartner weiter verwendet werden könnte, wäre von großem Vorteil. Durch die heterogene Buchstabencodierung der Mutterpflanze 15517 konnte nicht festgelegt werden, welche Codierung die verwendete Kreuzungspflanze auf die Nachkommen übertragen hat. Die Vaterpflanze wurde dagegen einheitlich mit „d“, aufgrund der geringen Rtingehalte der untersuchten Einzelkörner, gekennzeichnet.

Sollte das Merkmal geringe Aktivität der Flavonolsynthese dominant vererbt werden und der Vater ist reinerbig dominant, würden die Nachkommen den codierten Buchstaben „d“ ausprägen wie es bei den analysierten Einzelkörnern einheitlich der Fall war (Tab. 68-70). Der hohe Flavanolgehalt beider Eltern prägte sich bei allen Nachkommen aus ebenso der Hydroxyzimtsäuregehalt der Mutter.

Die dritte Kombination, hohe Gehalte von Rutin und Flavanole in den Nachkommen zu etablieren, stellte die Kreuzung der Linien 155x β 4 (Pflanze 14, 15514) und 95x90/02 (Pflanze 4, 954) dar (Abb. 217, S. 124). Die Mutterpflanze („Sobano x (Ballada x *F. homotropicum*)“) war rutinreich, der Vater („Sun Rutin x (Sumchanka x *F. homotropicum*)“) mit 71,5% flavanolstark. Die F₂-Generation dieser Kombination zeigte den gewünschten Erfolg, der sich allerdings nur in den absoluten Werten widerspiegelte, nicht in den prozentualen Anteilen. In der F₃-Generation war dieser Effekt jedoch nicht stabil und zugunsten einer stärkeren Flavonolsynthese wieder verschwunden. Die Pflanze 15514 (Tab. 72, S. 125) zeigte die gleiche Heterogenität der Einzelkörner im „D“- und „E“-Bereich wie die Geschwisterpflanze 15517 (Tab. 66, S. 123). Die Vaterpflanze hatte dagegen eine einheitliche Codierung („d“), die auf eine geringe Aktivität und/oder Substratverfügbarkeit der Flavonolsynthese hindeutete. Die Nachkommen zeigten die gleiche Codierung wie zuvor 15517x158.

Insgesamt zeigte sich, dass die Selektionen mit dem Ziel der Erhöhung von Rutin und Flavanolen in einem Genotyp mit den bestehenden Linien nicht allzu erfolgsversprechend sind, da gerade die vielversprechende Linie 155x β 4 zuerst reinerbig rezessiv etabliert werden muß. Dann ist es möglich die gewünschten Nachkommen zu erhalten. Es konnte jedoch festgestellt werden, dass die Etablierung der Merkmale hoher



Rutingehalt und hoher Flavanolgehalt im gleichen Korn möglich ist und Linien entwickelt werden können, deren Körner hohe synergistische Effekte beider Substanzgruppen besitzen.

3. Viel Rutin und wenig Flavanole

Eine weitere Fragestellung war, mit welchen Eltern rutinreiche Nachkommen erwartet werden können, die gleichzeitig geringe Catechingehalte aufweisen.

Insgesamt wurden unter den 60 untersuchten Buchweizensorten und -linien 3 gefunden, die eine ausgeprägte Rutinsynthese hatten. Dazu zählten die Linien 85x02 („Pulanska x *F. homotropicum*“), Pflanze 2 (852), 155xß4 („Sun Rutin x (Sumchanka x *F. homotropicum*)“), Pflanze 6, 14, 17 (1556, 15514, 15517) und FE 179 („Phapal“).

FE 179 („Phapal“) zeigte zwar ein hohes Potential, wurde aber aufgrund ihrer Heterostylie nicht weiter verfolgt. Zukünftig könnte diese Sorte jedoch bei einem stabilen Rutingehalt in Kreuzungen mit den Linien 85x02 und 155xß4 Nachkommenschaften hervorbringen, die Rutingehalte von „*F. tataricum*“ erreichen. Die Weiterführung von Kreuzungen mit der Linie „Phapal“ sollte von großem Interesse sein.

Bei 85x02 und 155xß4 war die Homostylie der Blüten dagegen stabil. Die Erwartungen, die an die Nachkommen der Kreuzungen 155xß4 (Pflanze 14, 15514) x 85x02, (Pflanze 2, 852) (Kapitel 6.7.6, S. 126), 85x02 (Pflanze 2, 852) x 155xß4 (Pflanze 14, 15514) (Kapitel 6.7.7, S. 130) und 155xß4 (Pflanze 6, 1556) x 85x02 (Pflanze 2, 852) (Kapitel 6.7.8, S. 134) gestellt wurden, waren hoch. Denn 852 wies einen prozentualen Rutinanteil von 55,4% auf, der auf die Nachkommen übertragen werden sollte.

Die Pflanzen 15514 und 1556 der Linie 155xß4 wiesen die höchsten Gesamtphenolgehalte aller verwendeten Eltern auf. Die Einkreuzung dieser Linie sollte erheblich das Gesamtphenolpotential bei den Nachkommen steigern. Der Rutingehalt wurde bei der Linie 155xß4 als hoch eingestuft.

Bei den Nachkommen in der F₂-Generation wurde die zum Ziel gesetzte Steigerung des Rutingehaltes festgestellt. Die absoluten Werte lagen doppelt so hoch wie bei 852. Der prozentuale Anteil erhöhte sich dagegen nur leicht. Dies bedeutete, dass sich das in den Phenylpropanoid-metabolismus eingehende Substrat in der F₂-Generation stark erhöht hat. Dies ist auf die Einkreuzung mit der phenolstarken Linie 155xß4 zurückzuführen.

In der F₃-Generation konnte sich die deutliche Erhöhung des Rutingehaltes nicht etablieren und wurde durch den



Flavanolgehalt, der sich nun auf das Doppelte erhöhte, ersetzt. Der Gesamtphenolgehalt veränderte sich nur wenig. Das konnte bedeuten, dass sich die Regulation der Metabolitenverteilung zwischen Flavonolsynthese und Dihydroflavonol 4-Reduktase zugunsten der Flavanolsynthese verändert hat. Aufschlussreich war in diesem Zusammenhang die Buchstabencodierung der analysierten Einzelkörner. Eine größere Anzahl analysierter Einzelkörnern wäre notwendig gewesen, um definierte Aussagen über die Weitergabe der Merkmale machen zu können.

Bei der Kreuzung 1556x852 zeigte die Vaterpflanze 852 (Tab. 98, S. 136) einheitlich ein „D“. Die Mutterpflanze dagegen einheitlich ein „d“ (Tab. 97). Die Aufspaltung der Einzelkörner in der F_1 -Generation ist unter der Voraussetzung zu erklären, dass die Codierung des Merkmals „Aktivität/Substratverfügbarkeit der Flavonolsynthese“ bei der Mutterpflanze heterozygot vorgelegen hat. Durch diese Vermutung wird jedoch deutlich, dass es sich bei der Elterngeneration um keine Inzuchtlinien handelte und bei den Nachkommen nur Tendenzen gezeigt werden können.

Als Grundlage für die Erstellung von Inzuchtlinien mit hohem Rutingehalt, die Aufschluss über die Vererbung der Enzyme geben können, würden sich die Pflanzen 1 und 2 der F_2 -Generation der Kreuzung 1556x852 (Kapitel 6.7.8, S. 134) eignen, deren Buchstabencodierung ausschließlich mit einer hohen Aktivität/Substratverfügbarkeit der Flavonolsynthese („D“) gekennzeichnet wurde und dementsprechend hohe Rutinwerte aufzeigte. Weiterhin wird vermutet, dass es sich bei der Vaterpflanze 852 aufgrund der Ergebnisse der Nachkommen aller durchgeführten Kreuzungen mit 852, um eine bereits homozygote Linie im Bereich der Flavonolsynthese handelt.

Die Kreuzung und reziproke Kreuzung 852x15514 und 15514x852 wiesen keinerlei Unterschiede auf, wodurch ein Einfluss des Cytoplasmas ausgeschlossen werden konnte. Durch die einheitlich hohe Flavonolsyntheserate der 20 untersuchten Körner lag die Vermutung nahe, dass es sich bei den verwendeten Eltern um jeweils homozygote Individuen gehandelt hat. Die Vaterpflanze 852 wurde schon zuvor bei anderen Kombinationen als homozygot eingestuft. Bei Heterogenität der Mutterpflanze 15514 hätte das ausgepflanzte Korn eine hohe Aktivität der Flavonolsynthese aufweisen müssen. Auffällig war jedoch, dass dies sowohl bei der Kreuzung als auch bei der reziproken Kreuzung auftrat. Die Pflanzen 3 und 4 der F_2 -Generation der Kreuzung 15514x852 zeichneten sich durch eine hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit der Flavonolsynthese



aus, deren selbstfertile Nachkommen zur Steigerung des Rutingehaltes von großem Interesse sein könnten. In der F_3 -Generation (Abb. 218 und 219, S. 128/130) wurde dagegen bei 4 Nachkommen ein starker Rückgang des Rutingehaltes beobachtet, an dessen Stelle sich eine starke Dihydroflavonol 4-Reduktase durchsetzte. Bei der Weitergabe heterozygot-rezessiver Merkmale, möglicherweise auch bei Rutin, spaltet dieses Merkmal auch bei den Nachkommen in der F_3 -Generation auf, was hier jedoch nicht zu beobachten war. Die Ergebnisse der F_3 -Generation lassen die Überlegung zu, dass es sich bei der Vererbung der Phenol-synthetisierenden Enzyme im Buchweizenkorn um viele Gene handeln könnte, bei der sich ein eingekreuztes Merkmal erst nach einer gewissen Anzahl von Generationen ausprägt. Auch diese Hypothese könnte mit der Weiterführung dieser Arbeiten unter Verwendung reinerbiger Linien und einer größeren Individuenzahl geklärt werden.

Die Eltern 852, 15514 und 1556 stellten sich aufgrund ihrer Nachkommen als vielversprechende Linien zur Steigerung des Rutingehaltes im Buchweizenkorn heraus, deren weitere züchterische Bearbeitung empfohlen wird.

4. Viel Flavanole und wenig Rutin

Ein weiterer Aspekt war die Überlegung, den Flavanolgehalt im Samen aufgrund der Vielzahl prophylaktischer Wirkungen, die den Procyanidinen zugeschrieben werden (DAUER et al., 1998, KAUR und KAPOOR, 2001), zu steigern. Interessant war dabei die Überprüfung der Möglichkeit, die in zahlreichen Linien starken Flavanolanteile so zu kombinieren, dass daraus Linien entstehen, die eine auf Flavanole spezialisierte Synthese vorweisen.

Eine dieser „Flavanol-Kombinationen“ war die Kreuzung 158(12)xK2 (Pflanze 10, 158(12)) x 26x02 (Pflanze 10, 26) (Kapitel 6.7.9, S. 138), bei der beide Elternteile prozentuale Flavanolanteile von über 50% aufwiesen. In der F_2 -Generation konnte bei nur zwei untersuchten Individuen ein Nachkomme mit einem deutlich gestiegenen Flavanolgehalt von 66,1% gefunden werden. In der F_3 -Generation konnte dieses Merkmal auf einen Anteil von fast 70% erhöht werden (Abb. 221, S 138). Im Vergleich zur Steigerung des Rutingehaltes gab es keinerlei Probleme bei der Etablierung einer hohen Aktivität/Substratverfügbarkeit der Dihydroflavonol 4-Reduktase. Die Codierung der Eltern sowie aller Nachkommen war einheitlich. Es konnte keine sichtbare Aufspaltung nachgewiesen werden (Tab. 108-115).



Die zweite Kombination 61S6 3/2 C32 (Pflanze 5, 615) x 155xß4 (Pflanze 6, 1556) (Kapitel 6.7.10, S. 142) sollte auch zu einer Steigerung des Flavanolgehaltes bei den Nachkommen führen. Die Mutterpflanze wies einen hohen prozentualen Anteil von über 60% auf, während beim Vater ein nicht nur hohes Gesamtphenolpotential, sondern ein gleichzeitig hoher absoluter Flavanolgehalt von 135,9 mg/100 g (TS) festgestellt wurde. Die Buchstabencodierung der Eltern bestätigte einheitlich eine geringe Aktivität der Flavonolsynthese und eine hohe Aktivität der Dihydroflavonol 4-Reduktase (Tab. 117-120, S. 143). Die untersuchten Körner in der F₂-Generation zeigten jedoch eine unerwartete Aufspaltung bei den Rutingehalten im Vergleich zu den elterlichen Werten. Hier traten unvermutet 4 von 5 und 3 von 4 Einzelkörnern mit einer hohen Aktivität der FLS auf. Die Ursache dafür dürfte die Heterozygotie der Eltern gewesen sein. Diese müsste allerdings bei beiden Elternteilen bereits vorgelegen haben. Die Untersuchung einer größeren Kornzahl sowie die Analyse von Körnern der F₃-Generation wäre auch hier interessant. Die Mutterpflanze 615 war ein Geschwister von 619, welches über eine einheitlich hohe Aktivität/Substratverfügbarkeit der Dihydroflavonol 4-Reduktase verfügte. Die vermutete Heterozygotie von 615 konnte bei den überprüften Einzelkörnern nicht gefunden werden. Die Vaterpflanze 1556 konnte dagegen heterozygot gewesen sein, da die Geschwister 15514 und 15517 nicht homogen waren. Hohe Flavanolgehalte konnten außerdem bei zahlreichen Kreuzungskombinationen in der F₃-Generation gefunden werden. Dazu zählten 15514x852, bei dem Pflanze 2 der F₃-Generation (Abb. 218, S. 126) einen auffällig hohen absoluten Flavanolgehalt von 183,5 mg/100 g (TS) aufwies. Homozygotes Material dieser Pflanze könnte für die Selektion von großem Interesse sein. Die reziproke Kreuzung 15514x852 brachte in der F₃-Generation Nachkommen hervor, deren prozentuale Flavanolanteile zwischen 53,8 und 64,0% lagen (Abb. 219, S. 130). 1556x852 erreichte in der F₃-Generation einen prozentualen Flavanolanteil von 58,3% (Abb. 220, S. 134). Weitere Selbstungen und Selektionen dieser Pflanzen wären interessant, um den Flavanolgehalt weiter zu erhöhen.

5. Hoher Gesamtphenolgehalt

Grundlage für die Steigerung der Phenolkomponenten war die Erhöhung, der in den Phenylpropanoidmetabolismus eingehenden Metabolite sowie eine hohe Aktivität der



Phenylalaninammoniumlyase. 155x β 4 („Sun Rutin x [Sumchanka x *F. homotropicum*]“) wies diese Merkmale auf. In der Nachkommenschaft wurden höhere Gehalte erreicht. Bei Kombinationen mit hohem Gesamtphenolpotential wurde dieses bei den Nachkommen sichtbar erhöht. Desweiteren wurde festgestellt, dass die Aufwertung phenolarmer Buchweizenlinien wie 615, 9510, 158 oder 158(12) mit einem phenolreichen wie 15514, 1556 oder 15517 möglich ist. Diese Beobachtung wurde bei den Kombinationen 615x1556, 15517x158 und 15514x954 gemacht. Bei allen Kombinationen wurden in der F₂-Generation Nachkommen mit erhöhten Werten gefunden. Bei Kreuzungen mit jeweils geringem Gesamtphenolpotential der Eltern, aufgrund niedriger absoluter Werte, konnte dieses bei den Nachkommen nicht gesteigert werden.

Der Schlüssel, zur Selektion von Linien mit hohen Gehalten, schien im „A“-Bereich der Eltern zu liegen. Hier wurde über die Erhöhung des Phenolgehalts in den Nachkommen entschieden. Die Klärung unbekannter Einflussgrößen in diesem Bereich ist für weitere Untersuchungen wichtig, denn bei der Codierung des „A“- und des „C“- Bereiches der Einzelkörner wurden Variationen innerhalb der untersuchten Körner festgestellt, die nicht eindeutig geklärt werden konnten. Die inhomogene Codierung im „A“-Bereich könnte auf Einflussfaktoren wie Licht, Wasser oder Nährstoffangebot zurückgeführt werden, zumal das zur Verfügung stehende Phenylalaninangebot die Grundlage für den Gesamtphenolgehalt („A/a“) im Buchweizenkorn darstellt. Das Ausgangssubstrat für die Phenylalaninsynthese geht auf den Primärstoffwechsel zurück, dessen Kohlenstoffangebot von den genannten Einflußfaktoren abhängig ist. Durch den Anbau der Pflanzen unter einheitlichen Bedingungen sollten jedoch derartige Umwelteinflüsse vermieden werden. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit ist die genetisch bedingte Heterozygotie des Merkmals hohe/geringe Aktivität/Substratverfügbarkeit der Phenylalaninammoniumlyase. Um diese Vermutung zu bestätigen, wäre eine größere Zahl von Einzelkörnern und Pflanzen notwendig. Außerdem wäre mit einer größeren Anzahl untersuchter Individuen die Anzahl der beteiligten Gene zu bestimmen und zu klären, ob es sich um eine qualitativ oder quantitativ bedingte Vererbung handelt. Der heterogene Biosynthesecode im „C“-Bereich könnte durch unbekannte Größen wie die von den Hydroxycimtsäuren abzweigende Ligninbiosynthese hervorgerufen worden sein, die für den Phenylpropanoid-metabolismus zur Verfügung stehendes Substrat verbraucht.



Aus diesem Grund war eine eindeutige Klärung der wechselnden Codierung im „C“-Bereich nicht möglich. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die gezielte Beeinflussung der Phenolgehalte und ihrer Zusammensetzungen im Buchweizensamen durch Kreuzung möglich ist. Dank ausgewählter Eltern in den Kreuzungen, konnten Nachkommen mit gewünschten Zuchtzielen selektiert werden. Bei der Vererbung der Merkmale müssen jedoch anhand der hier geschaffenen Grundlage, die eine von gezielte Auswahl von Eltern möglich macht, weitere Kreuzungen durchgeführt werden, die eine größere Anzahl untersuchter Individuen und wohlmöglich eine zerstörungsfreie Analyse der Körner mit sich bringt. Anhand der hier selektierten interessanten Nachkommen, können reinerbige Inzuchtlinien selektiert werden, die die Vererbung der am Phenylpropanoidmetabolismus beteiligten Enzyme im Buchweizensamen aufklären können.



7.0 Gesamtdiskussion

Züchtung und Phenole - zwei Bereiche, die bei Buchweizen auf ein spannendes Thema gestoßen sind. Die Züchtung arbeitet seit langem an der Verbesserung äußerer Merkmale des Buchweizens, wie Habitus, Korngröße und Korngewicht, Ertrag oder Wuchshöhe (CAMPBELL, 1997). Die Steigerung des Ertrages ist ein seit langem unerreichtes Ziel, denn das was dem Echten Buchweizen („*Fagopyrum esculentum*“) fehlte, war die Selbstfertilität seiner Blüten. Diese Selbstinkompatibilität führte dazu, dass nur 12% der Blüten von Insekten bestäubt wurden und auf diese kein 100% iger Verlass war (ZELLER, 2001).

Die einzige Möglichkeit, dieses „Manko“ zu beheben, wurde in der Kreuzung mit „*Fagopyrum tataricum*“ gesehen. Diese *Fagopyrum*-Art verfügte nicht nur über homostyle, d.h. selbstfertile Blüten, sondern gleichzeitig über eine höhere Frostresistenz als der Echte Buchweizen. Konventionell ließen sich jedoch die beiden Arten nicht miteinander kreuzen und es stellte sich heraus, dass die in-vitro erzeugten Nachkommen allesamt steril waren (CAMPBELL, 1997). Es wurde keine Lösung gefunden, bis OHNISHI (1991) eine weitere *Fagopyrum*-Wildart („*Fagopyrum homotropicum*“) im Südosten Chinas fand, die nicht nur Homostylie aufwies, sondern auch über die identische Anzahl von Chromosomen ($2n=16$), wie „*Fagopyrum esculentum*“, verfügte. Kreuzungen zwischen beiden Arten waren möglich, das Gen, für Homostylie, war einfach zu übertragen (ZELLER, 2001; KOVALENKO und SHUMNY, 2004) und der Buchweizenzüchtung wurden völlig neue Möglichkeiten eröffnet, da nun homostyl-selbstfertile „Sorten“ gezüchtet werden konnten.

Von nun an wurden die im Buchweizen enthaltenen Phenole noch interessanter, da sie jetzt leichter züchterisch beeinflussbar wurden. Nach ZELLER und HSAM (2004) war es nun möglich, Linien mit hohen Gehalten einer einzelnen oder mehreren Inhaltsstoffkomponenten, zu selektieren.

Buchweizenkraut fand schon seit dem 15. Jahrhundert Verwendung als Arzneipflanze (FRIEDRICH et al., 2000). Der Pflanze werden positive Wirkungen im Bereich venöser Erkrankungen nachgesagt, welche speziell dem Phenol Rutin zugeschrieben werden. Buchweizenkraut enthält Rutingehalte von bis zu 8% der Trockensubstanz und ist daher als natürliche Rutinquelle von Bedeutung. Das Korn von „*Fagopyrum tataricum*“ erreicht Gehalte von bis zu 1% Rutin, die Rutinwerte des Echten Buchweizens und „*F. homotropicum*“ liegen mit 0,4 und 0,6% niedriger. Dem Korn selber werden keine medizini-



schen Wirkungen zugeschrieben, dennoch ist der Phenolgehalt im Korn interessant, da eine Vielzahl von Ländern, allen voran Japan, große Mengen Mehl in Form von Soba-Nudeln verzehren und Buchweizensamen als „Functional-Food“ ansehen (WIJNGAARD und ARENDT, 2006).

Züchtung und Phenole - verschmelzen damit zu einem Thema, dessen Fragestellung lautet, ob es möglich ist, bei homostylen Linien von „*Fagopyrum esculentum*“, unterschiedliche Phenolmatrizes zu finden und diese so miteinander zu kombinieren, dass Sorten mit interessanten Ernährungsaspekten entstehen. Mit entsprechenden Kreuzungen sollten gleichzeitig Antworten auf Fragen der Phenolvererbung im Buchweizensamen gefunden werden, die als Grundlage für eine zukünftige Züchtung dienen sollten.

Darüberhinaus wurden die Samen der verschiedenen Buchweizenlinien nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ untersucht, um ein vollständiges Bild der enthaltenen Phenole, die bisher im „Schatten“ von Rutin standen, zu erhalten.

Die Quantifizierung der Flavanole führte bei einem Großteil der untersuchten Buchweizenlinien zu der Erkenntnis, dass Rutin im geschälten Buchweizenkorn nicht die einzige Hauptkomponente darstellte. Im Buchweizensamen machten Flavanole, linienabhängig, bis zu 70% des Gesamtphenolgehaltes aus. Diese Feststellung weckte das Interesse an der weiteren Identifizierung der im Samen enthaltenen Flavanole.

WATANABE (1998) identifizierte bereits im Samen Catechin, Epicatechin, Epicatechin 3-O-p-hydroxybenzoat und Epicatechin-3-O-(3,4-di-O-methyl)gallat. QUETTIER-DELEU et al. (2000) fanden Procyanidin B2, Epicatechingallat und B2-3'-O-gallat.

Procyanidin B2, Epicatechingallat und Epicatechin-3-O-(3,4-di-O-methyl)gallat konnten wieder gefunden werden. Darüber hinaus wurden während dieser Arbeit 7 weitere Flavanolstrukturen aus geschältem Buchweizenkorn identifiziert, darunter oligomere Proanthocyanidine mit Propelargonidineinheiten, die bisher von WATANABE (1997) nur in der Buchweizenschale gefunden wurden.

Anhand der Retentionszeiten und deren Vergleich mit bekannten Flavanolstandards konnte geklärt werden, dass die Basis- und Erweiterungseinheiten der identifizierten Flavanole aus Epicatechin und Epiafzelechin bestehen. Zudem wurden in diesem Zusammenhang die stereochemischen Bindungsstellen [4→8] oder [4→6] zwischen den einzelnen Einheiten definiert. Diese Strukturinformationen wurden bei WATANABE (1997) bisher nicht geklärt. Den 7 identifizierten Flavanolen konnten folgende Strukturen



zugeordnet werden: Epiafzelechin-[4→8]-Epiafzelechin-[4→8]-Epicatechin, Epiafzelechin-[4→6]-Epicatechin, Epicatechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-Dimethylgallat, Epiafzelechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-Dimethylgallat, Epiafzelechin-[4→8]-Epiafzelechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-3,4-Dimethylgallat, Epicatechin-[4→8]-Epiafzelechin-3-O-4-Methylgallat und Epicatechin-[4→8]-Epiafzelechin-Benzoesäure. Durch die Verwendung der HPLC mit Nachsäulen-derivatisierung war es möglich, die einzelnen im Samen enthaltenen Flavanole zu quantifizieren und Flavanol-Hauptkomponenten zu definieren. Aufgrund der im Vergleich zu Rutin mengenmäßigen Überlegenheit der Flavanole bei einem Großteil von Genotypen war dieser Schritt hinsichtlich prophylaktischer Wirkungen besonders wichtig. Die mengenmäßige Bestimmung der einzelnen Flavanolkomponenten in 60 verschiedenen Buchweizenlinien wurde bisher in diesem Umfang noch nicht durchgeführt.

QUETTIER-DELEU et al. (2000) stellten bei Untersuchungen von Flavanolgehalten in Buchweizensamen und -schalen fest, dass Procyanidin B2 die Hauptkomponente im Buchweizenmehl darstellt. Diese Behauptung konnte nicht bestätigt werden. Procyanidin B2 konnte bei keinem untersuchten Genotyp als Hauptkomponente definiert werden. Epicatechin stellte sich als das am stärksten vertretene Flavanol heraus, mit prozentualen Anteilen von bis zu 20% vom Gesamtflavanolgehalt. Aufgrund der umfangreichen Strukturaufklärung wurde deutlich, dass Epicatechin durch den Einbau in zahlreiche oligomere Proanthocyanidinstrukturen eine wichtige Verbindung in der Phenolbiosynthese im Buchweizensamen darstellte. Epicatechingallat war nur in geringen Mengen nachzuweisen, die insgesamt nicht ins Gewicht fielen. Das B2 3'-O-gallat wurde nicht wiedergefunden, wobei davon ausgegangen wurde, dass es in die Gesamtflavanolmenge mit eingerechnet wurde.

Die identifizierten acylierten Proanthocyanidine Epicatechin-3-O-Dimethylgallat, das dimere Epiafzelechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-Dimethylgallat und das trimere Epiafzelechin-[4→8]-Epiafzelechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-Dimethylgallat wiesen jeweils linienabhängig hohe prozentuale Anteile zwischen 5 und 10% vom Gesamtflavanolgehalt auf. Tendenziell wurde bei flavanolschwachen Linien wie z.B. 85x02 und 155xß24 eine stärkere Akkumulation des monomeren Epicatechin-3-O-Dimethylgallat beobachtet, wohingegen flavanolreiche Linien wie z. B. 15x02 oder 619 höhere Werte bei den di- und trimeren Epiafzelechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-Dimethylgallat und Epiafzelechin-[4→8]-Epiafzelechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-Dimethylgallat



aufwiesen.

Die Zusammensetzung der Flavanolstrukturen im Buchweizenkorn könnte in Zukunft in Verbindung mit antioxidativen Wirkungen interessant werden, da nicht nur den Flavanolen allgemein, sondern speziellen Flavanolstrukturen hohe antioxidative Aktivitäten nachgesagt werden. Zu den positiven Eigenschaften, die den Flavanolen allgemein zugeschrieben werden, gehören blutdrucksenkende Wirkungen, prophylaktische Wirkungen bei Atherosklerose und Herz-Kreislauf Erkrankungen (MUKODA et al.; 2001, NATELLA et al., 2002; ZERN und FERNANDEZ, 2005), Radikalfängereigenschaften (SUN und HO, 2005), antikanzerogene Aktivitäten (KADA et al., 1985; CARNESECCHI et al., 2002; FARIA, A. et al, 2006) und antibakterielle Wirkungen (MIDDLETON und KANDASWAMI, 1993).

Bei QUETTER-DELEU (2000) wurde bereits auf die höhere antioxidative Kapazität geschälter Buchweizensamen aufgrund des höheren enthaltenen Flavanolgehaltes im Vergleich zur rutinreicheren Schale hingewiesen. Auch WATANABE (1998) fand bei Kornfraktionen, die hauptsächlich Flavanole enthielten, eine deutlich höhere antioxidative Kapazität als bei rutinhaltigen Fraktionen. WATANABE (1997) überprüfte die antioxidative Kapazität von Buchweizenschalen und stellte fest, dass die ermittelten Radikalfängereigenschaften nicht alleine auf Rutin, Quercetin oder Hyperin beruhen, sondern die enthaltenen Proanthocyanidine einen wesentlichen Beitrag leisten. RICARDO DA SILVA et al. (1991) untersuchten die Radikalfängereigenschaften verschiedener Procyanidine aus Weintraubensamen und machten die Feststellung, dass acylierte Flavanole wie B2 3-O-gallat höhere Radikalfängereigenschaften aufwiesen als das nicht acylierte Procyanidin B2. Außerdem wurde beobachtet, dass Procyanidine mit einer [4→8]-Bindung eine höhere Aktivität zeigten als mit einer [4→6]-Bindung. Diese Untersuchungen bestätigten, dass die in Buchweizensamen enthaltenen Proanthocyanidine aufgrund ihrer Acylierung und der häufig auftretenden [4→8]-Bindung das Potential für hohe antioxidative Wirkungen besitzen und Buchweizensamen einen neuen Stellenwert in der Ernährung einnehmen könnte.

Mit dem Vergleich der verschiedenen Buchweizengenotypen anhand einer einheitlichen Methode wurden Gemeinsamkeiten und Unterschiede bei der Zusammensetzung der Phenolkomponenten festgestellt, die eine gezielte Selektion ermöglichte. Die Kreuzungen bewiesen, dass die Züchtung von Sorten mit speziellen phenolischen Inhaltsstoffkomponenten realisierbar ist. Noch wertvollere



Informationen könnten in Zukunft durch die Verwendung homozygoter Inzuchtlinien erhalten werden, die dann in größerem Umfang gekreuzt, definierte Aussagen über die Vererbung der an der Phenolbiosynthese beteiligten Enzyme zulassen würden. Die Homozygotie muß sich aber auf die Aktivitäten der an den relevanten Schritten der Biosynthese beteiligten Enzyme beziehen und darf nicht allein die Menge bzw. Konzentration der Inhaltsstoffe betreffen. Die Grundlage dazu wurde in dieser Arbeit gelegt.

Von Bedeutung war in diesem Zusammenhang die Hypothese einer einfachen rezessiven Vererbung, der an der Rutinsynthese beteiligten Enzyme im Buchweizensamen, die allerdings noch mit weiteren Untersuchungen bestätigt werden muss. KOVALENKO und SHUMNY (2004) untersuchten die Homostylie bei Buchweizen und die daraus resultierenden Verwendungsmöglichkeiten und kamen zu dem Schluss, dass es schwierig ist, hohe Rutingehalte beider Kreuzungspartner bei den Nachkommen durchzusetzen und stabil zu etablieren. Sollte also diese Hypothese anhand weiterer Versuche verifiziert werden, könnten Züchtungsprogramme darauf ausgerichtet werden und einen größeren Erfolg bei der Anreicherung phenolischer Komponenten garantieren. Weiterhin wäre der Zusammenhang zwischen den Phenolgehalten im Korn und denen im Kraut zu klären. Da bisher vor allem Buchweizenkraut als Therapeutikum zum Einsatz kommt, sollten auch hier gezielte züchterische Verbesserungen in Betracht gezogen werden, die eine optimale Zusammensetzung und Menge von Phenolen zum Ziel haben.

Die Möglichkeit einzelne Phenolkomponenten oder den Gesamtphenolgehalt im Korn durch Züchtung zu beeinflussen, stellt einen bedeutenden Faktor dar. OOMAH et al. (1996) untersuchten Hydroxyzimtsäuregehalte in verschiedenen Buchweizensorten und kamen zu dem Schluss, dass eine Sorte mit geringem Hydroxyzimtsäuregehalt eine gute Basis für die Züchtung phenolarmer Linien ist. Diese Aussage konnte anhand der Ergebnisse jedoch nicht bestätigt werden, da geringe Hydroxyzimtsäuregehalte nicht gleichzeitig geringe Phenolgehalte bedingen. Das Gegenteil konnte bei den Ergebnissen der Fall sein. Geringe Hydroxyzimtsäuregehalte können im Zusammenhang mit einer hohen Substratverfügbarkeit aus dem Shikimatweg bedeuten, dass es innerhalb der Phenolbiosynthese zu einer Anreicherung von Rutin, vor allem aber auch von Flavanolen kommen kann, da wenig des zur Verfügung stehenden Substrates zur Akkumulation von Hydroxyzimtsäuren verwendet wurde. Wichtig war bei dieser Arbeit die Erkenntnis,



dass die Buchweizenzüchtung hinsichtlich phenolischer Inhaltsstoffe immer in engem Zusammenhang mit deren Biosynthese zu sehen ist und während der Selektionen nicht nur eine Komponente, sondern die gesamte „Phenolpalette“ der Biosynthese beobachtet werden muß. Allein das Wissen um den Phenylpropanoidmetabolismus eröffnet neue Möglichkeiten, Nachkommen mit speziellen Phenolprofilen zu erhalten (PARR and BOLWELL, 2000).

Weiterhin sollten antioxidative Wirkungen zukünftiger Sorten untersucht werden. Interessant wären dabei rutin- oder flavanolreiche Linien, um die Substanzen einzeln testen zu können. Im Zuge von Versuchen mit synergistischen Effekten wären Sorten mit gleich hohen Rutin- und Flavanolgehalten interessant. Der Grundstein für derartige Versuche wurde mit den durchgeführten Kreuzungen und den daraus gewonnenen Nachkommen gelegt. Sollten sich bei solchen Untersuchungen hohe antioxidative Wirkungen der Flavanole allein oder zusammen mit Rutin herausstellen, sollte die Verarbeitung von Buchweizenmehl aufgrund der hitzempfindlichen Flavanole weiter untersucht werden. SENSOY et al. (2006) wiesen darauf hin, dass es bei der Verarbeitung von Buchweizenmehl hauptsächlich auf die Optimierung von Zeit und Temperatur ankommt, um hohe antioxidative Wirkungen zu erhalten. Es wurden viele Methoden zur Erhöhung des Rutingehaltes im Buchweizenkorn und -kraut untersucht, wie z. B. die Beeinflussung mittels UV-B Strahlung (KREFT et al., 2002; GERM, 2004; SUZUKI et al., 2005), aber der Schlüssel zu einer stabilen Steigerung, verbunden mit einer interessanten und gleichzeitig effektiven Zusammensetzung mit weiteren Phenolen wie den Flavanolen, scheint in der Züchtung neuer Sorten zu liegen, die für den Anbauer wieder interessant werden und Buchweizen aus seinem Schattendasein reißen. Die Rolle der Flavanole im Buchweizenkorn sollte weiter untersucht werden, da sich die gefundenen Strukturen hinsichtlich antioxidativer Wirkungen auf höchstem Niveau bewegen. Die Buchweizenzüchtung steht hinsichtlich der inneren Qualität noch am Anfang. Mit dieser Arbeit konnte jedoch eine Basis geschaffen werden, die Möglichkeiten und Vorgehensweise zur Verbesserung von Phenolen im Buchweizenkorn aufzuzeigen. Zudem wurden Pflanzen mit vielversprechenden Phenolgehalten und -zusammensetzungen selektiert, die für weitere erfolgversprechende Züchtungsarbeiten zur Verfügung stehen.



8.0 Zusammenfassung

Buchweizen (*Fagopyrum esculentum*, Familie *Polygonaceae*) besitzt ein großes Spektrum an Inhaltsstoffen in Form hoher B-Vitamin-, Stärke- und Proteingehalte sowie bioaktiver Stoffe. Bei den bioaktiven Stoffen ist vor allem das antioxidativ wirksame Flavonol Rutin zu nennen, welches in Pflanzen selten in so hohen Konzentrationen vorkommt wie im Buchweizen. Der Buchweizensamen enthält bis zu 1% Rutin. In noch höheren Mengen kommt Rutin in den Buchweizenblüten (4-10% (TS)) und den Blättern (8-10% (TS)) vor. Das aus Buchweizenkraut gewonnene Rutin wird zu Tabletten und Tee verarbeitet und im medizinischen Bereich zur Behandlung venöser Erkrankungen eingesetzt. Dem Korn selber werden keine medizinischen Wirkungen zugeschrieben, dennoch ist der Phenolgehalt im Korn interessant, da eine Vielzahl von Ländern, allen voran Japan, große Mengen Mehl in Form von Soba-Nudeln verzehren und Buchweizensamen als „Functional-Food“ ansehen.

Das Ziel dieser Arbeit bestand darin, bei homostylen Linien von „*Fagopyrum esculentum*“, unterschiedliche Phenolmatrizes zu finden, und diese so miteinander zu kombinieren, dass Sorten mit interessanten Ernährungsaspekten entstehen. Mit den Kreuzungen sollten gleichzeitig Antworten auf Fragen der Vererbung von an der Phenolbiosynthese beteiligten Enzymen im Buchweizensamen gefunden werden, die als Grundlage für zukünftige Züchtungen dienen sollen.

Darüberhinaus wurden die Samen der verschiedenen Buchweizenlinien nicht nur quantitativ mittels HPLC, sondern auch qualitativ untersucht und enthaltene Phenole über Sephadex-LH20 isoliert und mit LC-MS/MS identifiziert. Damit wurde ein vollständiges Bild der enthaltenen Phenole, die bisher im „Schatten“ von Rutin standen, erhalten.

Die Quantifizierung der Flavanole führte bei einem Großteil der untersuchten Buchweizenlinien zu der Erkenntnis, dass Rutin im geschälten Buchweizenkorn nicht die einzige Hauptkomponente darstellte. Im Buchweizensamen machten Flavanole, linienabhängig, bis zu 70% des Gesamtphenolgehaltes aus. Diese Feststellung weckte das Interesse an der weiteren Identifizierung der im Samen enthaltenen Flavanole.

Während dieser Arbeit konnten 7 im Buchweizensamen bisher unbekannte Flavanole mit folgender Struktur identifiziert werden: Epiafzelechin-[4→8]-Epiafzelechin-[4→8]-Epicatechin, Epiafzelechin-[4→6]-Epicatechin, Epicatechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-Dimethyl-gallat, Epiafzelechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-Dimethylgallat,



Epiafzelechin-[4→8]-Epiafzelechin-[4→8]-Epicatechin-3-O-3,4-Dimethylgallat, Epicatechin-[4→8]-Epiafzelechin-3-O-4-Methylgallat und Epicatechin-[4→8]-Epiafzelechin-Benzoesäure. Mit dem Vergleich der verschiedenen Buchweizenlinien anhand einer einheitlichen Methode wurden Gemeinsamkeiten und Unterschiede bei der Zusammensetzung der Phenolkomponenten festgestellt, die eine gezielte Selektion von interessanten Pflanzen ermöglichte. Die Kreuzungen, die mit den Linien durchgeführt wurden, bewiesen, dass die Züchtung von Buchweizenlinien mit speziellen phenolischen Inhaltsstoffkomponenten realisierbar ist. Die Möglichkeit einzelne Phenolkomponenten oder den Gesamtphenolgehalt im Korn durch Züchtung zu beeinflussen, stellt einen bedeutenden Faktor dar, der in Zukunft Sorten mit speziell angereicherten Komponenten ermöglicht.



9.0 Datenanhang

Mutter	9510	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	17	18	
Bezeichnung																			
Korn																			
Gesamtphenol- gehalt (mg/100 g TS)		215,02	161,15	180,05	192,69	178,11	168,96	173,35	136,61	144,20	136,09	106,55	141,69	121,76	138,34	126,61	144,20	136,09	131,84
%		100	75	88	90	82	78	80	63	66	54	49	53	55	52	50	54	54	47
Biosynthese- code		A	A	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
Summe Unbekannte Phenole (mg/100 g TS)		25,76	19,58	14,01	25,60	13,45	27,46	13,69	8,96	18,41	13,58	8,96	7,64	12,23	13,34	9,85	18,41	13,58	15,75
%		11,99	12,28	7,80	13,36	7,55	16,28	7,84	6,50	13,40	10,64	8,41	5,39	10,04	9,65	7,38	12,77	10,64	11,94
Biosynthese- code		b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
Sume HCA+Rutin +Flavanole=100 % (Biosynthese- Bereich „C“)		189,10	144,26	165,71	166,06	163,03	153,98	161,33	116,76	125,79	122,51	97,59	134,05	109,53	124,99	116,76	125,79	122,51	116,09
Summe HCA (mg/100 g TS)		53,12	34,88	47,85	46,06	42,72	40,95	54,43	37,48	56,18	46,18	28,00	37,49	39,49	57,32	37,48	56,18	46,18	40,09
%		28,09	21,36	28,87	27,73	26,20	26,59	33,74	32,10	44,67	37,70	28,69	27,97	36,05	45,86	32,10	44,67	37,70	34,53
Biosynthese- code		C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Summe Rutin+Flavanole =100 % (Biosynthese- Bereich „D und E“)		135,98	109,38	117,86	120,00	120,31	113,03	106,90	79,28	69,61	76,53	69,59	96,56	70,04	67,67	79,28	69,61	76,53	76,00
Summe Rutin (mg/100g TS)		1,61	0,99	1,39	0,66	1,19	0,98	1,66	2,21	3,07	2,92	1,13	2,41	2,05	2,49	2,21	3,07	2,92	2,05
%		1,19	0,91	1,18	0,55	0,99	0,86	1,55	2,79	4,41	3,83	1,62	2,81	2,93	3,67	2,79	4,41	3,83	2,69
Biosynthese- code		d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d
Summe Flavanole (mg/100 g TS)		134,37	108,39	116,47	119,22	119,12	112,05	105,24	77,07	66,54	73,40	68,46	94,23	67,99	65,18	77,07	66,54	73,40	73,96
%		98,81	99,09	98,82	99,34	99,01	99,14	98,45	97,21	95,59	96,17	98,38	97,59	97,07	96,33	97,21	95,59	96,17	97,31
Biosynthese- code		E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E

Tab. 121: Daten der Kreuzung 9510x619 (Kapitel 6.7.1, S. 112) zur Berechnung der Biosynthese-
codierung



Bezeichnung	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Unbekannte Phenole (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Summe HCA+Rutin +Flavanole=100 % (Biosynthese- Bereich „C“)	Summe HCA (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Rutin+Flavanole =100 % (Biosynthese- Bereich „D und E“)	Summe Rutin (mg/100g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Flavanole (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	
Mutter 619	1	106,55	100	a	8,96	8,41	b	97,59	28,00	28,69	C	69,59	1,13	1,62	d	68,46	98,38	E	
	2	141,69	100	a	7,64	5,39	b	134,05	37,49	27,97	C	96,56	2,33	2,41	d	94,23	97,59	E	
	3	121,76	100	a	12,23	10,04	b	109,53	39,49	36,05	c	70,04	2,05	2,93	d	67,99	97,07	E	
	4	138,34	100	a	13,34	9,65	b	124,99	57,32	45,86	c	67,67	2,49	3,67	d	65,18	96,33	E	
	5	126,61	100	a	9,85	7,78	b	116,76	37,48	32,10	c	79,28	2,21	2,79	d	77,07	97,21	E	
	6	144,20	100	a	18,41	12,77	b	125,79	56,18	44,67	c	69,61	3,07	4,41	d	66,54	95,59	E	
	7	136,09	100	a	13,58	9,98	b	122,51	46,18	37,70	c	76,33	2,92	3,83	d	73,40	96,17	E	
	Vater 9510	1	215,02	100	A	25,91	12,05	b	189,10	53,12	28,09	C	135,98	1,61	1,19	d	134,37	98,81	E
	2	161,15	100	a	16,89	10,48	b	144,26	34,88	24,18	C	109,38	0,99	0,91	d	108,39	99,09	E	
3	180,05	100	a	14,34	7,97	b	165,71	47,85	28,87	C	117,86	1,39	1,18	d	116,47	98,82	E		
4	192,69	100	a	26,63	13,82	b	166,06	46,06	27,73	C	120,00	0,79	0,66	d	119,22	99,34	E		
5	178,11	100	a	15,09	8,47	b	163,03	42,72	26,20	C	120,31	1,19	0,99	d	119,12	99,01	E		
6	168,96	100	a	14,98	8,87	b	153,98	40,95	26,59	C	113,03	0,98	0,86	d	112,05	99,14	E		
7	173,35	100	a	12,02	6,93	b	161,33	54,43	33,74	c	106,90	1,66	1,55	d	105,24	98,45	E		
F ₂	1	98,98	100	a	23,66	23,90	b	75,32	40,80	54,16	c	34,52	2,23	6,46	d	32,30	93,54	E	
	2	61,59	100	a	9,05	14,70	b	52,54	16,31	31,05	c	36,22	1,52	4,19	d	34,71	95,81	E	
	3	100,68	100	a	21,65	21,51	b	79,03	35,00	44,28	c	44,03	1,32	3,00	d	42,71	97,00	E	
	4	85,83	100	a	18,41	21,45	b	67,42	22,00	32,63	c	45,42	3,59	7,90	d	41,84	92,10	E	
F ₂	1	229,64	100	A	26,62	11,59	b	203,02	96,85	47,71	c	106,16	8,47	7,98	d	97,69	92,02	E	
	2	185,79	100	a	25,75	13,86	b	160,04	40,79	25,48	C	119,26	5,45	4,57	d	113,81	95,43	E	
	3	128,45	100	a	14,86	11,57	b	113,58	33,52	29,51	C	80,07	1,24	1,55	d	78,82	98,45	E	
	4	173,54	100	a	28,98	16,70	b	144,56	41,23	28,52	C	103,32	2,30	2,22	d	101,03	97,78	E	
	5	168,85	100	a	30,14	17,85	b	138,71	64,32	46,37	c	74,39	4,32	5,81	d	70,06	94,19	E	
	6	177,49	100	a	18,94	10,67	b	158,55	62,82	39,62	c	95,73	6,25	6,53	d	89,47	93,47	E	
	7	159,13	100	a	23,88	15,01	b	135,25	65,72	48,59	c	69,53	2,25	3,23	d	67,28	96,77	E	
	8	187,23	100	a	34,62	18,49	b	152,61	75,58	49,52	c	77,03	2,98	3,87	d	74,05	96,13	E	
	9	171,12	100	a	17,36	10,15	b	153,76	63,98	41,61	c	89,78	11,68	13,01	d	78,10	86,99	E	

Tab. 122: Daten der Kreuzung 619x9510 (Kapitel 6.7.2, S. 116) zur Berechnung der Biosynthesecodierung

F ₂	15.852.2.7	1	355,47	100	A	47,96	13,5	b	307,51	69,47	22,59	C	238,04	121,29	50,95	D	116,75	49,05	e
		2	299,27	100	A	33,98	11,4	b	265,29	66,38	25,02	C	198,91	113,67	57,15	D	85,24	42,85	e
		3	199,05	100	A	30,21	15,3	b	167,83	44,26	26,37	C	123,58	5,53	4,48	d	118,04	95,52	E
		4	279,96	100	A	34,41	12,3	b	245,55	43,56	17,74	C	201,99	80,46	39,84	d	121,52	60,16	E
		5	243,30	100	A	27,02	11,1	b	216,28	52,24	24,15	C	164,04	74,78	45,59	d	89,25	54,41	E
		6	229,33	100	A	33,45	14,6	b	195,88	40,88	20,87	C	155,01	76,64	49,44	d	78,37	50,56	E
		7	253,41	100	A	27,16	10,7	b	226,25	60,17	26,59	C	166,08	68,08	40,99	d	98,00	59,01	E
		8	220,19	100	A	23,24	10,6	b	196,94	30,83	15,66	C	166,11	77,29	46,53	d	88,83	53,47	E
		9	246,26	100	A	20,00	8,1	b	226,26	79,59	35,18	c	146,67	48,85	33,31	d	97,82	66,69	E
		10	186,68	100	a	25,72	13,8	b	160,96	55,91	34,73	c	105,06	25,96	24,71	d	79,09	75,29	E
F ₃	15.852.2.6.1	1	174,23	100	a	29,44	16,9	b	144,79	54,09	37,36	c	90,71	16,73	18,44	d	73,98	81,56	E
		2	185,60	100	a	23,58	12,7	b	162,03	21,28	13,13	C	140,75	5,90	4,19	d	134,84	95,81	E
		3	158,31	100	a	26,09	16,5	b	132,22	24,27	18,35	C	107,95	8,16	7,56	d	99,80	92,44	E
		4	136,27	100	a	23,55	17,3	b	112,73	17,66	15,66	C	95,07	6,87	7,22	d	88,20	92,78	E
		5	183,28	100	a	25,63	14,0	b	157,65	25,67	16,28	C	131,99	9,14	6,93	d	122,84	93,07	E
		6	190,58	100	a	14,57	7,6	b	176,01	21,38	12,15	C	154,62	11,25	7,27	d	143,38	92,73	E
		7	155,95	100	a	29,94	19,2	b	126,01	35,36	28,06	C	90,65	11,85	13,07	d	78,80	86,93	E
F ₃	15.852.2.7.1	4	317,12	100	A	48,26	15,2	b	268,86	47,83	17,79	C	221,03	2,27	1,03	d	218,76	98,97	E
		5	253,68	100	A	22,71	9,0	b	230,97	31,55	13,66	C	199,43	3,48	1,75	d	195,94	98,25	E
		6	180,99	100	a	21,59	11,9	b	159,40	38,29	24,02	C	121,11	9,22	7,61	d	111,89	92,39	E
		7	186,15	100	a	15,50	8,3	b	170,65	28,39	16,64	C	142,26	2,32	1,63	d	139,94	98,37	E
		1	188,38	100	a	22,48	11,9	b	165,90	21,67	13,06	C	144,23	1,58	1,10	d	142,65	98,90	E
		2	128,94	100	a	12,70	9,9	b	116,24	8,17	7,03	C	108,07	1,58	1,47	d	106,48	98,53	E
		3	189,97	100	a	8,49	4,5	b	181,48	26,27	14,47	C	155,21	6,44	4,15	d	148,77	95,85	E
F ₃	15.852.2.7.4	1	263,45	100	A	30,37	11,5	b	233,08	37,48	16,08	C	195,60	3,75	1,92	d	191,85	98,08	E
		2	227,06	100	A	43,72	19,3	b	183,34	31,55	17,21	C	151,79	2,20	1,45	d	149,59	98,55	E
		3	184,53	100	a	26,50	14,4	b	158,04	23,67	14,97	C	134,37	9,42	7,01	d	124,95	92,99	E
		4	196,05	100	a	13,80	7,0	b	182,25	40,44	22,19	C	141,81	2,31	1,63	d	139,50	98,37	E
		5	171,51	100	a	39,33	22,9	b	132,18	31,15	23,56	C	101,03	3,44	3,41	d	97,59	96,59	E
		6	188,93	100	a	27,09	14,3	b	161,84	26,11	16,14	C	135,73	4,14	3,05	d	131,58	96,95	E
		7	176,56	100	a	27,64	15,7	b	148,92	36,34	24,40	C	112,58	2,61	2,32	d	109,97	97,68	E





Mutter	15	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Unbekann- te Phenole (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Sume HCA+Rutin +Flavanole=100 % (Biosynthese- code Bereich „C“)	Summe HCA (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Rutin+Flavanole =100 % (Biosynthese- code Bereich „D und E“)	Summe Rutin (mg/100g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Flavanole (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code
F ₁	158522	1	152,41	100	a	17,00	11,2	b	135,40	23,44	17,31	C	111,97	22,72	20,29	d	89,25	79,71	E
		2	144,30	100	a	27,77	19,2	b	116,53	30,72	26,36	C	85,82	18,54	21,61	d	67,27	78,39	E
		3	140,79	100	a	15,29	10,9	b	125,50	25,21	20,09	C	100,29	20,92	20,86	d	79,36	79,14	E
		4	155,03	100	a	17,87	11,5	b	137,16	26,12	19,05	C	111,04	18,22	16,41	d	92,81	83,59	E
		5	153,33	100	a	19,80	12,9	b	133,53	20,72	15,52	C	112,80	19,59	17,36	d	93,22	82,64	E
		6	150,83	100	a	19,61	13,0	b	131,21	23,13	17,62	C	108,09	32,84	30,38	d	75,25	69,62	E
		7	135,76	100	a	16,35	12,0	b	119,41	25,42	21,29	C	93,99	13,20	14,05	d	80,79	85,95	E
		8	172,67	100	a	26,13	15,1	b	146,54	34,58	23,60	C	111,96	28,40	25,37	d	83,56	74,63	E
		9	172,54	100	a	22,41	13,0	b	150,13	36,00	23,98	C	114,13	30,80	26,99	d	83,33	73,01	E
		10	144,91	100	a	8,28	5,7	b	136,63	19,55	14,31	C	117,08	19,55	16,70	d	97,53	83,30	E
F ₂	158522,6	1	237,14	100	A	20,31	8,6	b	216,83	40,35	18,61	C	176,48	111,27	63,05	D	65,21	36,95	e
		2	222,51	100	A	21,00	9,4	b	201,52	42,58	21,13	C	158,94	120,70	75,94	D	38,24	24,06	e
		3	210,89	100	A	21,84	10,4	b	189,05	39,52	20,91	C	149,52	96,94	64,84	D	52,58	35,16	e
		4	196,15	100	a	18,05	9,2	b	178,10	18,20	10,22	C	159,90	87,97	55,01	D	71,93	44,99	e
		5	176,64	100	a	13,80	7,8	b	162,84	34,34	21,09	C	138,50	66,07	51,41	D	62,44	48,59	e
		6	153,38	100	a	23,56	15,4	b	129,82	23,70	18,25	C	106,13	6,00	5,66	d	100,12	94,34	E
		7	172,09	100	a	25,42	14,8	b	146,67	21,61	14,73	C	125,07	38,56	30,83	d	86,51	69,17	E
		8	145,62	100	a	27,01	18,5	b	118,61	40,66	34,28	C	77,95	4,67	6,00	d	73,28	94,00	E
		9	172,89	100	a	17,81	10,3	b	155,08	47,70	30,76	C	107,38	26,25	24,44	d	81,13	75,56	E
Vater	85	3	317,22	100	A	11,55	3,6	b	305,68	58,03	18,99	C	247,64	189,84	76,66	D	57,81	23,34	e
		5	253,43	100	A	13,92	5,5	b	239,51	22,56	9,42	C	216,95	183,19	84,44	D	33,76	15,56	e
		1	146,94	100	a	7,89	5,4	b	139,05	32,79	23,58	C	106,26	61,84	58,20	D	44,42	41,80	e
		2	164,93	100	a	10,50	6,4	b	154,43	31,36	20,30	C	123,08	79,59	64,67	D	43,48	35,33	e
		4	176,11	100	a	12,89	7,3	b	163,22	34,42	21,09	C	128,80	85,67	66,51	D	43,13	33,49	e
		6	158,36	100	a	9,70	6,1	b	148,65	42,17	28,37	C	106,49	62,89	59,06	D	43,59	40,94	e
		7	191,89	100	a	8,90	4,6	b	182,98	33,03	18,05	C	149,95	117,37	78,27	D	32,58	21,73	e
		1	152,41	100	a	17,00	11,2	b	135,40	23,44	17,31	C	111,97	22,72	20,29	d	89,25	79,71	E
		2	144,30	100	a	27,77	19,2	b	116,53	30,72	26,36	C	85,82	18,54	21,61	d	67,27	78,39	E
		3	140,79	100	a	15,29	10,9	b	125,50	25,21	20,09	C	100,29	20,92	20,86	d	79,36	79,14	E

Tab.123: Daten der Kreuzung 15x852 (Kapitel 6.7.3, S. 118) zur Berechnung der Biosynthesecodierung



	Bezeichnung	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Unbekannt- te Phenole (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Sume HCA+Rutin +Flavanole=100 % (Biosynthese- Bereich „C“)	Summe HCA (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Rutin+Flavanole =100 % (Biosynthese- Bereich „D und E“)	Summe Rutin (mg/100g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Flavanole (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code
Mutter	15517	1	301,48	100	A	12,49	4,14	b	288,98	123,57	42,76	c	165,42	84,10	50,84	D	81,32	49,16	e
		2	420,71	100	A	16,24	3,86	b	404,47	151,92	37,56	c	252,55	129,04	51,10	D	123,51	48,90	e
		3	361,65	100	A	17,75	4,91	b	343,89	186,16	54,13	c	157,73	94,17	59,70	D	63,56	40,30	e
		4	293,52	100	A	14,98	5,10	b	278,54	145,06	52,08	c	133,48	4,33	3,25	D	129,15	96,75	E
		5	317,30	100	A	13,19	4,16	b	304,11	138,95	45,69	c	165,16	48,55	29,39	d	116,62	70,61	E
		6	268,13	100	A	13,35	4,98	b	254,77	101,11	39,69	c	153,66	68,28	44,44	d	85,38	55,56	E
		7	270,37	100	A	16,50	6,10	b	253,87	126,25	49,73	c	127,62	46,32	36,29	d	81,30	63,71	E
Vater	158	1	175,28	100	a	31,74	18,11	b	143,55	22,63	15,76	C	120,92	13,60	11,25	d	107,32	88,75	E
		2	130,78	100	a	23,64	15,68	b	127,14	19,75	15,54	C	107,39	17,85	16,62	d	89,54	83,38	E
		3	165,22	100	a	26,65	16,13	b	138,57	22,60	16,31	C	115,97	10,64	9,18	d	105,33	90,82	E
		4	126,62	100	a	19,28	15,22	b	107,34	15,89	14,81	C	91,45	11,38	12,45	d	80,06	87,55	E
		5	169,49	100	a	21,08	12,44	b	148,41	24,71	16,65	C	123,70	14,00	11,31	d	109,70	88,69	E
		6	166,99	100	a	26,11	15,63	b	140,89	19,47	13,82	C	121,42	10,94	9,01	d	110,48	90,99	E
		7	148,38	100	a	20,31	13,69	b	128,07	17,52	13,68	C	110,55	12,78	11,56	d	97,77	88,44	E
F ₂	15517;158;11,2	1	224,71	100	A	30,98	13,79	b	193,73	57,72	29,79	C	136,01	17,34	12,75	d	118,68	87,25	E
		2	231,19	100	A	17,59	7,61	b	213,60	88,08	41,23	e	125,52	15,71	12,52	d	109,81	87,48	E
		3	214,71	100	A	14,60	6,80	b	200,11	55,53	27,75	C	144,57	25,73	17,80	d	118,85	82,20	E
		4	239,50	100	A	14,42	6,02	b	225,07	45,60	20,26	C	179,47	29,50	16,44	d	149,97	83,56	E
		5	212,53	100	A	11,55	5,43	b	200,98	91,09	45,32	e	109,89	13,07	11,90	d	96,82	88,10	E
		6	223,61	100	A	15,75	7,04	b	207,86	50,75	24,42	C	157,10	8,20	5,22	d	148,90	94,78	E
		7	180,95	100	A	9,91	5,48	b	171,04	37,35	21,84	C	133,69	35,41	26,49	d	98,27	73,51	E
F ₃	15517;158;17,1	1	237,81	100	A	10,56	4,44	b	227,25	45,10	19,84	C	182,15	77,28	42,42	d	104,88	57,58	E
		2	251,92	100	A	16,08	6,38	b	235,84	38,51	16,24	C	197,53	85,29	43,18	d	112,24	56,82	E
		3	260,63	100	A	17,93	6,88	b	242,69	32,72	13,48	C	209,97	90,37	43,04	d	119,60	56,96	E
		4	317,61	100	A	18,34	5,77	b	299,27	100,76	33,67	c	198,51	79,64	40,12	d	118,87	59,88	E
		5	295,78	100	A	21,11	7,14	b	274,67	102,54	37,33	e	172,13	85,96	49,94	d	86,16	50,06	E
		6	262,72	100	A	20,49	7,80	b	242,23	61,97	25,59	C	180,25	51,79	28,73	d	128,46	71,27	E
		7	223,00	100	A	20,86	9,36	b	202,14	37,61	18,61	C	164,52	40,02	24,32	d	124,51	75,68	E
F ₄	15517;158;11,2,5	1	295,55	100	A	71,79	24,29	b	223,75	86,35	38,59	e	137,41	6,27	4,57	d	131,13	95,43	E
		2	199,76	100	A	31,13	15,58	b	168,63	69,56	41,25	e	99,07	10,65	10,75	d	88,42	89,25	E
		3	207,65	100	A	42,51	20,47	b	165,14	62,06	37,58	e	103,08	7,40	7,18	d	95,68	92,82	E
		4	235,11	100	A	45,77	19,47	b	189,33	87,09	46,00	e	102,25	2,90	2,84	d	99,34	97,16	E
		5	152,18	100	a	30,83	20,26	b	121,36	57,95	47,75	c	63,41	2,63	4,14	d	60,79	95,86	E
		6	180,21	100	a	26,05	14,45	b	154,16	59,11	38,34	e	95,05	5,15	5,42	d	89,90	94,58	E
		7	173,35	100	a	31,42	18,13	b	141,92	54,43	38,35	e	87,50	6,72	7,68	d	80,78	92,32	E

Tab. 124: Daten der Kreuzung 15517x158 (Kapitel 6.7.4, S. 122) zur Berechnung der Biosynthesecodierung



		Bezeichnung	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100 g TS)	%	Biosynthesecode	Summe Unbekannte Phenole (mg/100 g TS)		%	Biosynthesecode	Summe HCA+Rutin +Flavanole=100 % (Biosynthesecode Bereich „C“)		Summe HCA (mg/100 g TS)	%	Biosynthesecode	Summe Rutin+Flavanole =100 % (Biosynthesecode Bereich „D und E“)		Summe Rutin (mg/100g TS)	%	Biosynthesecode	Summe Flavanole (mg/100 g TS)		%	Biosynthesecode
Mutter	15514		1	299,11	100	A		25,36	8,48	b		273,75	89,25	32,60	c		184,50	89,21	48,35	d		95,29	51,65	E
			2	205,42	100	A		13,55	6,59	b		191,87	69,76	36,36	c		122,11	66,44	54,41	D		55,67	45,59	c
			3	262,45	100	A		23,47	8,94	b		238,98	95,34	39,89	c		143,64	81,29	56,59	D		62,35	43,41	c
			4	244,80	100	A		26,83	10,96	b		217,97	89,94	41,26	c		128,02	83,84	65,49	D		44,19	34,51	c
			5	215,47	100	A		25,19	11,69	b		190,29	63,41	33,52	c		126,88	74,40	58,64	D		52,47	41,36	c
			6	202,62	100	A		22,23	10,97	b		180,40	55,51	30,66	c		125,08	33,08	26,45	D		92,00	73,55	E
			7	234,93	100	A		22,88	9,74	b		212,05	99,73	47,03	c		112,32	54,96	48,93	d		57,36	51,07	E
Vater	954		1	218,41	100	A		33,84	15,49	b		184,58	20,52	11,12	C		164,06	9,06	5,52	d		155,00	94,48	E
			2	308,36	100	A		12,09	3,92	b		296,27	101,43	34,24	C		194,84	8,38	4,30	d		186,46	95,70	E
			3	149,64	100	a		17,59	11,76	b		132,05	13,36	10,12	C		118,69	10,59	8,92	d		108,10	91,08	E
			4	162,13	100	a		11,59	7,15	b		150,54	16,08	10,68	C		134,46	6,98	5,19	d		127,48	94,81	E
			5	156,61	100	a		19,35	12,36	b		137,25	11,22	8,18	C		126,03	7,03	5,58	d		119,00	94,42	E
			6	167,20	100	a		21,14	12,64	b		146,05	28,09	19,25	C		117,96	8,34	7,07	d		109,62	92,95	E
			7	185,11	100	a		22,34	12,07	b		162,77	22,06	13,55	C		140,71	9,22	6,56	d		131,49	93,44	E
F ₂	15514.954.1.1		1	358,36	100	A		68,37	19,08	b		289,99	85,84	29,60	C		204,15	79,78	39,08	d		124,38	69,92	E
			2	296,70	100	A		54,28	18,30	b		242,41	52,56	21,68	C		189,86	64,40	33,92	d		125,46	66,08	E
			3	264,65	100	A		41,42	15,65	b		223,23	46,55	20,85	C		176,68	32,61	18,45	d		144,07	81,55	E
			4	352,68	100	A		52,05	14,76	b		300,63	58,67	19,52	C		241,96	71,48	29,54	d		170,47	70,46	E
			5	356,58	100	A		60,05	16,84	b		296,52	61,93	20,89	C		234,59	104,57	44,49	d		130,23	55,51	E
			6	436,44	100	A		82,98	19,01	b		353,46	97,46	27,57	C		256,00	85,02	33,56	d		170,08	66,44	E
			7	351,27	100	A		55,74	15,87	b		295,53	68,29	23,11	C		227,25	88,33	38,87	d		138,91	61,13	E
F ₃	15514.954.1.1.1		1	249,52	100	A		8,05	3,23	b		241,47	55,16	22,84	C		186,31	0,65	0,35	d		185,66	99,65	E
			2	211,90	100	A		10,24	4,83	b		201,66	63,98	31,73	c		137,68	15,44	11,21	d		122,24	88,79	E
			3	223,09	100	A		9,44	4,23	b		213,65	71,63	33,53	c		142,03	23,87	16,81	d		118,15	83,19	E
			4	264,75	100	A		13,79	5,21	b		250,96	107,39	42,79	c		143,58	39,69	27,64	d		103,89	72,56	E
			5	228,62	100	A		12,27	5,37	b		216,35	71,34	32,97	c		145,01	1,14	0,79	d		143,87	99,21	E
			6	187,01	100	a		10,65	5,70	b		176,36	80,37	45,57	c		95,99	24,51	25,53	d		71,49	74,47	E
			7	195,31	100	a		13,66	7,00	b		181,64	67,40	37,10	c		114,25	13,48	11,80	d		100,76	88,20	E
F ₄	15514.954.1.1.5		1	225,76	100	A		19,69	8,72	b		206,07	55,69	27,03	C		150,37	0,54	0,36	d		149,83	99,64	E
			2	237,75	100	A		11,76	4,95	b		225,99	66,14	29,27	C		159,85	32,47	20,31	d		127,38	79,69	E
			3	216,43	100	A		6,88	3,18	b		209,55	58,46	27,90	C		151,09	29,08	19,25	d		122,01	80,75	E
			4	183,33	100	a		10,96	5,98	b		172,37	61,51	35,68	c		110,86	41,64	37,56	d		69,22	62,44	E
			5	228,45	100	A		9,31	4,08	b		219,14	67,85	30,96	c		151,28	30,82	20,37	d		120,47	79,63	E
			6	239,61	100	A		11,84	4,94	b		227,77	74,32	32,63	c		153,45	2,55	1,66	d		150,91	98,34	E
			7	278,13	100	A		11,77	4,23	b		266,36	91,86	34,49	c		174,50	54,76	31,38	d		119,74	68,62	E

Tab. 125: Daten der Kreuzung 15514x954 (Kapitel 6.7.5, S. 124) zur Berechnung der Biosynthesecodierung



	Bezeichnung	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100 g TS)	%	Biosynthesecode	Summe Unbekannte Phenole (mg/100 g TS)	%	Biosynthesecode	Summe HCA+Rutin +Flavanole=100 % (Biosynthesecode Bereich „C“)	Summe HCA (mg/100 g TS)	%	Biosynthesecode	Summe Rutin+Flavanole =100 % (Biosynthesecode Bereich „D und E“)	Summe Rutin (mg/100g TS)	%	Biosynthesecode	Summe Flavanole (mg/100 g TS)	%	Biosynthesecode
Mutter	15514	1	205,42	100	A	13,55	6,59	b	191,87	69,76	36,36	c	122,11	66,44	54,41	D	55,67	45,59	e
		2	262,45	100	A	23,47	8,94	b	238,98	95,34	39,89	c	143,64	81,29	56,59	D	62,35	43,41	e
		3	244,80	100	A	26,83	10,96	b	217,97	89,94	41,26	c	128,02	83,84	65,49	D	44,19	34,51	e
		4	215,47	100	A	25,19	11,69	b	190,29	63,41	33,32	c	126,88	74,40	58,64	D	52,47	41,36	e
		5	299,11	100	A	25,36	8,48	b	273,75	89,25	32,60	c	184,50	89,21	48,35	d	95,29	51,65	E
		6	202,62	100	A	22,23	10,97	b	180,40	55,31	30,66	c	125,08	33,08	26,45	d	92,00	73,55	E
		7	234,93	100	A	22,88	9,74	b	212,05	99,73	47,03	c	112,32	54,96	48,93	d	57,36	51,07	E
		8	317,22	100	A	11,55	3,64	b	305,68	58,03	18,99	c	247,64	189,84	76,66	D	57,81	23,34	c
		9	253,43	100	A	13,92	5,49	b	239,51	22,56	9,42	c	216,95	183,19	84,44	D	33,76	15,56	e
		10	146,94	100	a	7,89	5,37	b	139,05	32,79	23,58	c	106,26	61,84	58,20	D	44,42	41,80	e
Valer	852	1	149,93	100	a	10,50	6,36	b	154,43	31,36	20,30	c	123,08	79,59	64,67	D	43,48	35,33	e
		2	176,11	100	a	12,89	7,32	b	163,22	34,42	21,09	c	128,80	85,67	66,51	D	43,13	33,49	e
		3	188,36	100	a	9,70	6,13	b	148,65	42,17	28,37	c	106,49	62,89	59,06	D	43,59	40,94	e
		4	191,89	100	a	8,90	4,64	b	182,98	33,03	18,05	c	149,95	117,37	78,27	D	32,58	21,73	e
		5	391,99	100	A	23,89	6,09	b	368,10	46,41	12,61	c	321,69	242,20	75,29	D	79,48	24,71	e
		6	246,85	100	A	14,44	5,85	b	232,42	28,26	12,16	c	204,16	129,06	63,21	D	75,10	36,79	e
		7	224,01	100	A	11,44	5,10	b	212,57	38,55	18,14	c	174,02	133,84	76,91	D	40,18	23,09	e
		8	209,43	100	A	14,37	6,86	b	195,06	27,05	13,87	c	168,01	90,84	54,07	D	77,18	45,93	e
		9	203,20	100	A	10,45	5,14	b	192,75	48,61	25,22	c	144,15	83,15	57,68	D	61,00	42,32	e
		10	306,76	100	A	31,14	10,15	b	275,62	51,86	18,81	c	223,77	160,08	71,54	D	63,69	28,46	e
F ₂	15514852,56,4	1	221,21	100	A	13,37	6,05	b	207,83	38,60	18,57	c	169,23	99,39	58,75	D	69,85	41,27	e
		2	361,52	100	A	17,10	4,73	b	344,42	70,39	20,44	c	274,03	167,01	60,95	D	107,02	39,05	e
		3	291,31	100	A	11,19	3,84	b	280,12	42,33	15,11	c	237,80	163,70	68,84	D	74,09	31,16	e
		4	335,55	100	A	16,47	4,91	b	319,07	50,29	15,76	c	268,79	213,81	79,55	D	54,98	20,45	e
		5	225,20	100	A	15,88	7,05	b	209,33	53,00	25,32	c	156,33	110,53	70,70	D	45,80	29,30	e
		6	246,07	100	A	20,66	8,40	b	225,40	41,01	18,20	c	184,39	127,99	69,41	D	56,40	30,59	e
		7	221,35	100	A	14,49	6,55	b	206,85	17,25	8,34	c	189,60	124,18	65,50	D	65,42	34,50	e
		8	228,80	100	A	22,03	9,63	b	206,78	46,87	22,67	c	159,90	117,72	73,62	D	42,18	26,38	e
		9	230,94	100	A	34,73	13,84	b	216,20	73,56	34,02	c	142,64	53,43	37,46	d	89,21	62,54	E
		10	227,53	100	A	30,19	13,27	b	197,34	76,58	38,81	c	120,75	2,69	2,22	d	118,07	97,78	E
F ₃	15514852,56,4	1	186,19	100	a	19,09	10,25	b	167,10	45,36	27,14	c	121,75	68,65	56,38	D	53,10	43,62	e
		2	175,15	100	a	33,37	19,05	b	141,77	32,33	22,80	c	109,45	4,42	4,04	d	105,03	95,96	E
		3	186,37	100	a	24,56	13,18	b	161,81	49,43	30,55	c	112,38	2,44	2,17	d	109,94	97,83	E
		4	115,11	100	a	14,54	12,63	b	100,57	38,89	38,67	c	61,67	3,67	5,95	d	58,01	94,05	E
		5	200,16	100	A	13,42	6,71	b	186,73	17,31	9,27	c	169,42	93,84	55,39	D	75,58	44,61	e
		6	325,40	100	A	12,46	3,83	b	312,94	24,38	7,79	c	288,56	174,16	60,35	D	114,40	39,65	e

Tab. 126: Daten der Kreuzung 15514x852 (Kapitel 6.7.6, S. 126) zur Berechnung der Biosynthesecodierung

F ₅	852,15514,344,10	1	292,64	100	A		21,20	7,24	b		271,45	38,17	14,06	C		233,28	17,96	7,70	d		215,32	92,30	E
		2	330,98	100	A		32,23	9,74	b		298,74	24,99	8,36	C		273,76	19,97	7,30	d		253,78	92,70	E
		3	395,10	100	A		27,83	7,04	b		367,27	88,35	24,06	C		278,92	36,86	13,21	d		242,06	86,79	E
		4	258,78	100	A		29,29	11,32	b		229,49	50,44	21,98	C		179,05	30,43	17,00	d		148,62	83,00	E
		5	231,71	100	A		13,70	5,91	b		218,01	26,10	11,97	C		191,92	20,20	10,53	d		171,71	89,47	E
		6	245,66	100	A		21,21	8,63	b		224,45	71,38	31,80	C		153,07	21,30	13,92	d		131,77	86,08	E
		7	246,41	100	A		32,04	13,00	b		214,37	67,42	31,45	c		146,95	28,71	19,54	d		118,24	80,46	E
F ₅	852,15514,344,10	1	259,32	100	A		11,39	4,39	b		247,93	37,47	15,11	C		210,47	38,20	18,15	d		172,27	81,85	E
		2	237,70	100	A		19,33	8,13	b		218,37	46,89	21,47	C		171,48	53,01	30,91	d		118,47	69,09	E
		3	472,56	100	A		31,62	6,69	b		440,94	102,24	23,19	C		338,70	92,18	27,21	d		246,53	72,79	E
		4	298,00	100	A		13,69	4,59	b		284,31	42,87	15,08	C		241,44	71,50	29,61	d		169,94	70,39	E
		5	233,78	100	A		19,28	7,60	b		234,50	65,51	27,94	C		168,99	35,58	21,06	d		133,41	78,94	E
		6	240,32	100	A		15,23	5,85	b		245,09	67,16	27,40	C		177,93	77,52	43,57	d		100,40	56,43	E
		7	221,95	100	A		17,60	7,93	b		204,35	64,57	31,60	c		139,78	3,31	2,37	d		136,46	97,63	E
F ₅	852,15514,344,4	1	449,54	100	A		45,02	10,01	b		404,52	120,10	29,69	C		284,42	114,84	40,38	d		169,38	59,62	E
		2	398,06	100	A		34,46	8,66	b		363,60	94,87	26,09	C		268,73	85,88	31,96	d		182,85	68,04	E
		3	276,74	100	A		26,51	9,58	b		250,23	73,40	29,33	C		176,83	41,02	23,19	d		135,82	76,81	E
		4	403,11	100	A		46,00	11,41	b		357,11	136,68	38,27	c		220,43	65,15	29,56	d		155,28	79,44	E
		5	317,18	100	A		32,89	10,37	b		284,30	102,64	36,10	c		181,65	69,75	38,40	d		111,90	61,60	E
		6	245,49	100	A		23,32	8,78	b		242,17	79,94	33,01	c		162,24	79,73	49,14	d		82,51	50,86	E
		7	334,79	100	A		26,58	7,94	b		308,22	95,41	30,96	c		212,81	92,50	43,47	d		120,30	56,53	E
F ₅	852,15514,344,10	1	288,23	100	A		38,44	13,34	b		249,79	51,47	20,60	C		198,32	28,88	14,56	d		169,44	85,44	E
		2	476,73	100	A		61,99	13,00	b		414,74	88,85	21,42	C		325,90	62,12	19,06	d		263,78	80,94	E
		3	325,62	100	A		33,67	10,34	b		291,96	32,68	11,19	C		239,27	8,44	3,25	d		250,84	96,75	E
		4	428,85	100	A		33,55	7,82	b		395,30	121,22	30,67	C		274,07	66,51	24,27	d		207,56	75,73	E
		5	294,31	100	A		28,07	9,54	b		266,24	86,39	32,45	c		179,85	20,17	11,21	d		159,68	88,79	E
		6	242,42	100	A		21,77	8,98	b		220,65	101,95	46,20	c		118,71	36,85	31,04	d		81,86	68,96	E
		7	289,93	100	A		18,81	6,49	b		271,12	88,06	32,48	c		183,06	51,44	28,10	d		131,62	71,90	E





Bezeichnung	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Unbekannt- te Phenole (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Sume HCA+Rutin +Flavonole=100 % (Biosynthese- Bereich „C“)	Summe HCA (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Rutin+Flavonole =100 % (Biosynthese- Bereich „D und E“)	Summe Rutin (mg/100g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Flavonole (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	
Mutter	852	1	317,222	100	A	11,55	3,64	305,68	58,03	18,99	C	247,64	189,84	76,66	D	57,81	23,34	e	
		2	253,43	100	A	13,92	5,49	239,51	22,56	9,42	C	216,95	183,19	84,44	D	33,76	15,56	e	
		3	146,94	100	a	7,89	5,37	139,05	32,79	23,58	C	106,26	61,84	58,20	D	44,42	41,80	e	
		4	164,93	100	a	10,50	6,36	154,43	31,36	20,30	C	123,08	79,59	64,67	D	43,48	35,33	e	
		5	176,11	100	a	12,89	7,32	163,22	34,42	21,09	C	128,80	85,67	66,51	D	43,13	33,49	e	
		6	158,36	100	a	9,70	6,13	148,65	42,17	28,37	C	106,49	62,89	59,06	D	43,59	40,94	e	
		7	191,89	100	a	8,90	4,64	182,98	33,03	18,05	C	149,95	117,37	78,27	D	32,58	21,73	e	
		15514	1	205,42	100	A	13,55	6,59	191,87	69,76	36,36	e	122,11	66,44	54,41	D	55,67	45,59	e
			2	262,45	100	A	23,47	8,94	238,98	95,34	39,89	e	143,64	81,29	56,59	D	62,35	43,41	e
			3	244,80	100	A	26,83	10,96	217,97	89,94	41,26	e	128,02	83,84	65,49	D	44,19	34,51	e
		4	215,47	100	A	25,19	11,69	190,29	63,41	33,32	e	126,88	74,40	58,64	D	52,47	41,36	e	
		5	299,11	100	A	25,36	8,48	273,75	89,25	32,60	e	184,50	89,21	48,35	d	95,29	51,65	E	
		6	202,62	100	A	22,23	10,97	180,40	55,31	30,66	e	125,08	33,08	26,45	d	92,00	73,55	E	
		7	234,93	100	A	22,88	9,74	212,05	99,73	47,03	e	112,32	54,96	48,93	D	57,36	51,07	e	
F ₂	852,15514,34	1	199,90	100	A	13,96	6,98	185,94	45,61	24,53	C	140,33	98,79	70,40	D	41,54	29,60	e	
		2	297,81	100	A	23,98	8,05	273,82	52,44	19,15	C	221,38	174,17	78,67	D	47,21	21,33	e	
		3	227,24	100	A	39,76	17,50	187,48	36,26	19,34	C	151,22	90,83	60,06	D	60,39	39,94	e	
		4	280,05	100	A	41,81	14,93	238,24	33,89	14,23	C	204,34	130,34	63,78	D	74,01	36,22	e	
		5	225,62	100	A	13,40	5,94	212,22	49,53	23,34	C	162,69	113,15	69,55	D	49,54	30,45	e	
		6	239,16	100	A	12,11	5,06	227,05	62,00	27,30	C	165,06	137,07	83,04	D	27,99	16,96	e	
		7	206,29	100	A	28,39	13,76	177,90	46,57	26,18	C	131,33	78,69	59,92	D	52,64	40,08	e	
		8	277,42	100	A	25,83	9,31	251,59	50,72	20,16	C	200,87	117,76	58,63	D	83,11	41,37	e	
		9	194,40	100	a	14,19	7,30	180,21	47,28	26,23	C	132,94	83,80	63,04	D	49,14	36,96	e	
		10	149,38	100	a	17,58	11,77	131,79	35,37	26,84	C	96,42	57,01	59,12	D	39,42	40,88	e	
F ₂	852,15514,34,1	1	307,07	100	A	37,18	12,11	269,89	61,88	22,93	C	208,01	118,85	57,14	D	89,16	42,86	e	
		2	293,88	100	A	25,70	8,75	268,18	63,30	23,60	C	204,88	148,20	72,33	D	56,69	27,67	e	
		3	326,67	100	A	28,57	8,74	298,11	44,74	15,01	C	253,36	199,05	78,56	D	54,32	21,44	e	
		4	380,43	100	A	20,10	5,28	360,33	59,83	16,60	C	300,50	213,55	71,07	D	86,95	28,93	e	
		5	478,38	100	A	36,95	7,72	441,43	72,12	16,34	C	369,31	306,37	82,96	D	62,95	17,04	e	
		6	427,70	100	A	23,00	5,38	404,70	63,70	15,74	C	341,00	299,07	87,70	D	41,94	12,30	e	
		7	235,11	100	A	41,54	17,67	193,57	83,37	43,07	e	110,19	5,27	4,78	d	104,92	95,22	E	
		8	173,22	100	a	18,57	10,72	154,65	55,91	36,15	e	98,74	83,52	84,58	D	15,22	15,42	e	

Tab. 127: Daten der Kreuzung 852x15514 (Kapitel 6.7.7, S. 130) zur Berechnung der Biosynthesecodierung

F ₁	1566852,1020,3	1	379,34	100	A	16,17	4,26	b	363,16	66,91	18,43	C	296,25	235,14	79,37	D	61,11	20,63	e
		2	308,39	100	A	10,95	3,55	b	297,44	19,65	6,61	C	277,79	193,73	69,74	D	84,06	30,26	e
		3	324,39	100	A	12,48	3,85	b	311,91	31,45	10,98	C	280,45	187,53	66,87	D	92,92	33,13	e
		4	255,56	100	A	14,29	5,59	b	241,27	28,60	11,86	C	212,67	154,99	72,88	D	57,68	27,12	e
		5	320,21	100	A	12,84	4,01	b	307,37	19,20	6,25	C	288,18	219,99	76,13	D	68,79	23,87	e
		6	397,02	100	A	12,89	3,25	b	384,13	90,43	23,54	C	293,70	200,96	68,42	D	92,75	31,88	e
		7	501,00	100	A	15,82	3,16	b	485,18	48,82	10,06	C	436,36	260,43	59,68	D	175,93	40,32	e
F ₂	1566852,1020,10	1	333,63	100	A	15,98	4,76	b	319,65	25,71	8,04	C	293,94	186,00	63,28	D	107,94	36,72	e
		2	484,73	100	A	14,98	3,09	b	460,75	32,71	6,96	C	437,03	320,05	73,23	D	116,98	26,77	e
		3	517,46	100	A	19,09	3,69	b	498,37	145,04	29,10	C	353,33	263,30	74,52	D	90,03	25,48	e
		4	292,07	100	A	22,24	7,62	b	269,83	45,38	16,82	C	224,44	131,47	58,58	D	92,97	41,42	e
		5	282,96	100	A	13,81	4,88	b	260,15	25,04	9,30	C	244,11	136,92	56,09	D	107,20	43,91	e
		6	383,98	100	A	11,26	2,93	b	372,72	14,96	4,01	C	357,75	252,12	70,47	D	105,63	29,53	e
		7	454,15	100	A	19,45	4,28	b	434,71	48,70	11,20	C	386,01	294,48	76,29	D	91,53	23,71	e
F ₃	1566852,1516,5	1	238,13	100	A	12,91	5,42	b	225,21	43,82	19,46	C	181,39	75,14	41,43	D	106,25	58,57	E
		2	378,80	100	A	17,77	4,69	b	361,03	62,08	17,20	C	298,95	193,49	64,72	D	105,47	35,28	e
		3	249,92	100	A	14,58	5,83	b	235,35	26,41	11,22	C	208,93	121,00	57,91	D	87,94	42,09	e
		4	290,93	100	A	16,76	5,76	b	274,17	117,02	42,68	e	157,16	75,40	47,98	D	81,76	52,02	E
		5	288,86	100	A	18,42	6,38	b	270,44	100,11	37,02	e	170,33	12,38	7,27	D	157,95	92,73	E
		6	191,61	100	a	12,30	6,42	b	179,31	27,02	15,07	C	152,29	91,95	60,38	D	60,34	39,62	e
		7	179,39	100	a	14,98	8,35	b	164,41	17,26	10,50	C	147,16	20,50	13,93	D	126,65	86,07	E
F ₄	1566852,1516,7	1	632,70	100	A	34,21	5,41	b	598,49	59,99	10,02	C	538,50	422,09	78,38	D	116,61	21,62	e
		2	243,43	100	A	20,43	8,39	b	223,00	20,50	9,19	C	202,50	140,72	69,49	D	61,79	30,51	e
		3	594,30	100	A	31,69	5,33	b	562,61	112,90	20,07	C	449,71	247,65	55,07	D	202,06	44,93	e
		4	409,41	100	A	12,32	3,01	b	397,09	104,53	26,32	C	292,56	187,42	64,06	D	105,14	35,94	e
		5	388,25	100	A	23,13	5,96	b	365,12	117,91	32,29	e	247,21	130,11	52,63	D	117,10	47,37	e
		6	291,75	100	A	20,30	6,96	b	271,44	54,11	19,93	C	217,33	88,30	40,63	D	129,03	59,37	E
		7	244,27	100	A	19,14	7,83	b	225,13	72,44	32,18	e	152,69	19,35	12,67	D	133,34	87,33	E
F ₅	1566852,1020,101	1	338,89	100	A	17,13	5,05	b	321,77	26,79	8,33	C	294,97	81,36	27,58	D	213,61	72,42	E
		2	311,49	100	A	22,08	7,09	b	289,41	68,88	23,80	C	220,53	48,52	22,00	D	172,01	78,00	E
		3	317,99	100	A	20,90	6,57	b	297,09	59,10	19,89	C	237,99	63,46	26,67	D	174,53	73,33	E
		4	308,66	100	A	18,76	6,08	b	289,90	38,81	13,39	C	251,09	65,39	26,04	D	185,70	73,96	E
		5	223,64	100	A	15,53	6,94	b	208,11	42,02	20,19	C	166,99	14,84	8,93	D	151,25	91,07	E
		6	244,74	100	A	15,02	6,14	b	229,72	52,79	22,98	C	176,93	49,32	27,87	D	127,61	72,13	E
	7	353,67	100	A	19,72	5,58	b	333,95	43,33	12,98	C	290,62	91,65	31,54	D	198,96	68,46	E	





	Bezeichnung	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Unbekannte Phenole (mg/100 g TS)		%	Biosynthese- code	Summe HCA+Rutin +Flavanole=100 % (Biosynthese- code Bereich „C“)	Summe HCA (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Rutin+Flavanole =100 % (Biosynthese- code Bereich „D und E“)	Summe Rutin (mg/100g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Flavanole (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code		
						24110	5,85														388,02	94,13
Mutter	1556	1	412,12	100	A	19,82	6,12	19,82	4,82	304,31	124,48	40,91	e	179,83	47,92	26,65	d	131,90	73,35	e	E	
		2	234,13	100	A	15,95	6,74	22,70	9,25	220,76	91,25	41,33	e	129,51	4,82	3,72	d	109,69	96,28	e	E	
		3	236,71	100	A	14,30	4,73	19,03	6,10	217,68	146,10	50,69	e	142,14	32,51	22,87	d	119,27	77,13	e	E	
		4	302,54	100	A	14,96	5,69	20,65	10,25	277,29	102,56	41,41	e	145,13	3,65	2,51	d	141,48	97,49	e	E	
		5	262,64	100	A	22,43	5,53	27,96	138,73	36,19	388,58	138,73	36,19	e	244,65	77,84	31,82	d	166,81	68,18	e	E
		6	405,81	100	A	37,85	19,61	57,46	56,18	36,20	155,19	56,18	36,20	e	99,01	5,44	5,50	d	93,57	94,50	e	E
		7	193,04	100	a	11,55	3,64	15,19	58,03	18,99	305,68	58,03	18,99	C	247,64	189,84	76,66	D	57,81	23,34	e	E
		8	253,43	100	A	13,92	5,49	19,41	22,56	9,42	239,51	22,56	9,42	C	216,95	183,19	84,44	D	33,76	15,56	e	E
		9	146,94	100	a	7,89	5,37	13,26	32,79	23,58	139,05	32,79	23,58	C	106,26	61,84	58,20	D	44,42	41,80	e	E
		10	164,93	100	a	10,50	6,36	16,86	31,36	20,30	154,43	31,36	20,30	C	123,08	79,59	64,67	D	43,48	35,33	e	E
Vater	852	1	176,11	100	a	12,89	7,32	20,21	163,22	34,42	21,99	C	128,80	85,67	66,51	D	43,13	33,49	e	E		
		2	158,36	100	a	9,70	6,13	15,83	42,17	28,37	148,65	42,17	28,37	C	106,49	62,89	59,06	D	43,59	40,94	e	E
		3	191,89	100	a	8,90	4,64	13,54	33,03	18,05	182,98	33,03	18,05	C	149,95	117,37	78,27	D	32,58	21,73	e	E
		4	262,77	100	A	19,77	7,52	27,29	62,60	25,76	243,00	62,60	25,76	C	180,41	117,14	64,93	D	63,26	35,07	e	E
		5	273,55	100	A	15,37	5,62	20,99	39,55	15,32	258,17	39,55	15,32	C	218,62	118,24	54,08	D	100,38	45,92	e	E
		6	278,18	100	A	13,09	4,71	17,80	63,53	23,96	265,09	63,53	23,96	C	201,56	110,07	54,61	D	91,49	45,39	e	E
		7	290,62	100	A	17,03	5,86	22,89	39,21	14,33	273,58	39,21	14,33	C	247,33	144,30	61,57	D	90,08	38,43	e	E
		8	323,73	100	A	21,67	6,70	28,37	54,72	18,12	302,05	54,72	18,12	C	247,33	157,68	63,75	D	89,65	36,25	e	E
		9	397,38	100	A	17,50	4,40	21,90	35,91	9,45	379,88	35,91	9,45	C	343,97	183,40	53,32	D	160,57	46,68	e	E
		10	471,27	100	A	29,35	6,23	35,58	441,92	36,25	441,92	140,18	36,25	e	281,74	145,96	51,81	D	135,78	48,19	e	E
F1	1556x852,1516	1	187,15	100	a	18,57	9,92	28,49	40,06	168,59	40,06	23,76	C	128,53	5,69	4,43	d	122,84	95,57	e	E	
		2	154,29	100	a	16,48	10,68	27,16	32,02	23,23	137,81	32,02	23,23	C	105,79	7,56	7,15	d	98,23	92,85	e	E
		3	316,83	100	A	15,87	5,01	20,88	40,28	13,38	300,96	40,28	13,38	C	260,68	134,15	51,46	D	126,53	48,54	e	E
		4	286,28	100	A	22,40	7,85	30,25	58,40	22,21	262,88	58,40	22,21	C	204,48	118,58	57,99	D	85,91	42,01	e	E
		5	337,48	100	A	22,81	6,76	29,57	314,67	45,99	314,67	45,99	14,62	C	268,67	140,48	52,29	D	128,19	47,71	e	E
		6	234,61	100	A	13,73	5,85	19,58	52,01	23,55	220,87	52,01	23,55	C	168,87	75,66	44,81	d	93,20	55,19	e	E
		7	222,29	100	A	12,97	5,84	18,81	62,63	29,92	209,32	62,63	29,92	C	146,69	44,28	30,18	d	102,41	69,82	e	E
		8	214,06	100	A	11,85	5,53	17,38	54,73	27,07	202,21	54,73	27,07	C	147,48	56,93	38,60	d	90,55	61,40	e	E
		9	250,25	100	A	14,73	5,89	20,62	78,56	33,36	235,52	78,56	33,36	e	156,96	79,83	50,86	D	77,13	49,14	e	E
		10	293,39	100	A	22,84	7,78	30,62	51,10	18,99	270,55	51,10	18,99	C	219,45	110,99	50,58	D	108,46	49,42	e	E
F2	1556x852,1314	1	351,29	100	A	22,50	6,41	28,91	160,08	328,79	52,89	16,08	C	275,90	169,45	61,42	D	109,45	38,58	e	E	
		2	293,25	100	A	17,20	5,83	23,03	45,15	16,24	278,05	45,15	16,24	C	233,90	173,12	74,33	D	59,77	25,67	e	E
		3	242,69	100	A	12,87	5,30	18,17	27,96	12,17	229,82	27,96	12,17	C	201,86	121,18	60,03	D	80,68	39,97	e	E
		4	319,74	100	A	18,65	5,83	24,48	67,10	22,28	301,09	67,10	22,28	C	233,99	129,14	55,19	D	104,86	44,81	e	E
		5	258,96	100	A	13,40	5,17	18,57	31,69	12,90	245,56	31,69	12,90	C	213,87	127,04	59,40	D	86,83	40,60	e	E
		6	361,10	100	A	13,73	3,80	17,53	30,23	8,70	347,37	30,23	8,70	C	317,14	266,09	83,90	D	51,04	16,10	e	E
		7	256,83	100	A	15,38	5,99	21,37	23,09	9,56	241,45	23,09	9,56	C	218,36	143,43	65,69	D	74,93	34,31	e	E
		8	199,74	100	A	21,10	10,56	31,66	42,44	23,76	178,64	42,44	23,76	C	136,20	6,13	4,50	d	130,07	95,50	e	E
		9	271,45	100	A	41,32	15,22	56,54	77,14	33,52	230,13	77,14	33,52	e	152,99	56,30	36,80	d	96,69	63,20	e	E

Tab. 28: Daten der Kreuzung 1556x852 (Kapitel 6.7.8, S. 134) zur Berechnung der Biosynthesecodierung

F ₂	158(2),26,12,13	1	144,20	100	a	14,78	10,25	b	129,41	32,93	25,44	C	96,49	24,40	25,29	d	72,09	74,71	E
		2	160,25	100	a	20,61	12,86	b	139,65	28,05	20,09	C	111,60	35,65	31,95	d	75,94	68,05	E
		3	147,94	100	a	15,66	10,59	b	132,27	33,66	25,45	C	98,61	23,74	24,08	d	74,86	75,92	E
		4	101,34	100	a	12,51	12,34	b	88,83	22,61	25,45	C	66,22	20,25	30,58	d	45,97	69,42	E
		5	131,94	100	a	12,89	9,77	b	119,05	37,63	31,61	c	81,42	1,81	2,22	d	79,61	97,78	E
		6	128,93	100	a	13,57	10,53	b	115,36	26,34	22,84	C	89,01	10,32	11,60	d	78,69	88,40	E
		7	93,72	100	a	16,20	17,28	b	77,52	31,30	40,64	c	46,02	16,34	35,52	d	29,67	64,48	E
F ₃	158(2),26,12,3,1	1	220,26	100	A	20,17	9,16	b	200,09	38,39	19,18	C	161,70	10,54	6,52	d	151,16	93,48	E
		2	299,34	100	A	57,93	19,35	b	241,41	44,22	18,32	C	197,19	31,34	15,89	d	165,85	84,11	E
		3	199,20	100	A	26,18	13,14	b	173,03	46,84	27,07	C	126,19	10,15	8,04	d	116,04	91,96	E
		4	281,30	100	A	21,11	7,50	b	260,19	33,00	12,68	C	227,19	11,10	4,89	d	216,09	95,11	E
		5	318,15	100	A	27,44	8,63	b	290,70	37,56	12,92	C	253,14	11,09	4,38	d	242,05	95,62	E
		6	305,29	100	A	27,81	9,11	b	277,48	33,45	12,06	C	244,02	13,74	5,63	d	230,28	94,37	E
		7	183,70	100	a	17,00	9,25	b	166,70	31,95	19,17	C	134,75	16,40	12,17	d	118,35	87,83	E
F ₃	158(2),26,12,3,8	1	158,84	100	a	24,06	15,15	b	134,78	31,39	23,29	C	103,39	4,29	4,15	d	99,10	95,85	E
		2	196,62	100	a	11,87	6,04	b	184,74	17,02	9,21	C	167,73	4,43	2,64	d	163,30	97,36	E
		3	151,95	100	a	19,45	12,80	b	132,50	18,13	13,68	C	114,37	3,82	3,34	d	110,55	96,66	E
		4	121,18	100	a	13,82	11,40	b	107,36	18,30	17,05	C	89,06	1,04	1,17	d	88,02	98,83	E
		5	165,30	100	a	9,27	5,61	b	156,03	19,66	12,60	C	136,37	1,65	1,21	d	134,72	98,79	E
		6	191,49	100	a	25,43	13,28	b	166,06	36,20	21,80	C	129,86	7,35	5,66	d	122,51	94,34	E
		7	182,68	100	a	17,48	9,57	b	165,20	30,93	18,72	C	134,27	5,84	4,35	d	128,43	95,65	E
F ₃	158(2),26,12,13,5	1	121,50	100	a	12,90	10,62	b	108,59	18,99	17,48	C	89,61	5,18	5,79	d	84,42	94,21	E
		2	174,76	100	a	13,47	7,71	b	161,29	20,96	13,00	C	140,33	14,74	10,50	d	125,59	89,50	E
		3	158,19	100	a	12,85	8,13	b	145,33	18,83	12,96	C	126,50	6,71	5,30	d	119,79	94,70	E
		4	164,10	100	a	8,94	5,45	b	155,16	21,12	13,61	C	134,04	5,79	4,32	d	128,25	95,68	E
		5	135,32	100	a	9,65	7,14	b	125,66	19,26	15,33	C	106,40	9,20	8,65	d	97,20	91,35	E
		6	173,21	100	a	17,58	10,15	b	155,64	20,06	12,89	C	135,58	6,21	4,58	d	129,37	95,42	E
		7	188,17	100	a	13,27	7,05	b	174,90	17,37	9,93	C	157,53	7,51	4,77	d	150,01	95,23	E





Bezeichnung	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Unbekannte Phenole (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Summe HCA+Rutin +Flavanole=100 % (Biosynthese- code Bereich „C“)	Summe HCA (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Rutin+Flavanole =100 % (Biosynthese- code Bereich „D und E“)	Summe Rutin (mg/100g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Flavanole (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	
Mutter 158(2)	1	155,98	100	a	14,70	9,43	b	141,27	41,02	29,03	C	100,26	0,75	0,75	d	99,50	99,25	E	
	2	183,15	100	a	26,84	14,66	b	156,30	46,28	29,61	C	110,03	2,19	1,99	d	107,84	98,01	E	
	3	107,46	100	a	10,83	10,08	b	96,63	33,97	35,16	c	62,66	0,77	1,22	d	61,89	98,78	E	
	4	85,83	100	a	11,15	12,98	b	74,69	33,39	44,71	c	41,30	0,65	1,58	d	40,64	98,42	E	
	5	100,01	100	a	10,34	10,34	b	89,67	30,60	34,12	c	59,07	1,36	2,31	d	57,71	97,69	E	
	6	142,70	100	a	17,51	12,27	b	125,19	46,30	36,88	c	78,90	0,97	1,23	d	77,93	98,77	E	
	7	175,60	100	a	27,69	15,77	b	147,91	60,56	40,94	c	87,35	1,79	2,05	d	85,56	97,95	E	
	Vater 26	1	173,77	100	a	22,98	13,22	b	150,79	31,15	20,66	C	119,64	22,76	19,02	d	96,88	80,98	E
	2	188,16	100	a	19,04	10,12	b	169,12	29,98	17,72	C	139,15	1,57	1,13	d	137,58	98,87	E	
	3	139,69	100	a	19,87	14,23	b	119,82	29,91	24,96	C	89,91	8,65	9,62	d	81,27	90,38	E	
4	146,47	100	a	23,94	16,34	b	122,53	34,41	28,08	C	88,12	5,54	6,29	d	82,58	93,71	E		
5	134,08	100	a	15,12	11,28	b	118,96	22,64	19,03	C	96,31	12,05	12,51	d	84,27	87,49	E		
6	174,44	100	a	22,81	13,07	b	151,64	57,41	37,86	c	94,23	2,98	3,16	d	91,24	96,84	E		
7	173,56	100	a	22,38	12,89	b	151,19	51,77	34,25	c	99,41	1,51	1,52	d	97,91	98,48	E		
F ₂ 158(2),26,12	1	106,12	100	a	21,74	20,49	b	84,38	22,21	26,32	C	62,17	5,29	8,51	d	56,87	91,49	E	
	2	144,94	100	a	5,96	4,11	b	138,98	60,07	43,23	c	78,90	6,57	8,33	d	72,33	91,67	E	
	3	168,24	100	a	32,88	19,54	b	135,36	66,14	48,86	c	69,22	10,95	15,82	d	58,26	84,18	E	
	4	171,51	100	a	22,45	13,09	b	149,05	51,56	34,59	c	97,49	12,54	12,87	d	84,95	87,13	E	
	5	145,50	100	a	19,34	13,29	b	126,16	56,76	44,99	c	69,40	0,87	1,25	d	68,53	98,75	E	
	6	163,49	100	a	26,62	16,28	b	136,87	67,75	49,50	c	69,12	1,40	2,02	d	67,72	97,98	E	
	7	139,20	100	a	27,85	20,01	b	111,35	42,77	38,41	c	68,58	13,60	19,84	d	54,97	80,16	E	
	8	131,98	100	a	26,75	20,27	b	105,23	40,37	38,37	c	64,86	7,34	11,32	d	57,52	88,68	E	
	9	116,32	100	a	29,21	25,11	b	87,11	26,93	30,92	c	60,18	0,73	1,21	d	59,45	98,79	E	
	10	296,54	100	A	37,78	12,74	b	258,77	91,07	35,19	c	167,70	2,37	1,41	d	165,33	98,59	E	
F ₂ 158(2),26,12,3	1	265,35	100	A	23,38	8,81	b	241,98	46,22	19,10	C	195,76	32,90	16,81	d	162,86	83,19	E	
	2	184,84	100	a	15,67	8,48	b	169,17	31,45	18,59	C	137,71	19,43	14,11	d	118,29	85,89	E	
	3	208,25	100	A	24,38	11,71	b	183,87	45,43	24,71	C	138,45	21,32	15,40	d	117,13	84,60	E	
	4	299,27	100	A	13,36	4,46	b	285,91	27,91	9,76	C	258,00	2,77	1,08	d	255,23	98,92	E	
	5	159,39	100	a	12,06	7,57	b	147,34	21,22	14,40	C	126,12	21,45	17,01	d	104,66	82,99	E	
	6	188,96	100	a	9,89	5,23	b	179,07	20,65	11,53	C	158,42	31,15	19,66	d	127,27	80,34	E	
	7	189,01	100	a	17,16	9,08	b	171,85	24,88	14,48	C	146,96	27,30	18,57	d	119,67	81,43	E	
	8	174,23	100	a	17,45	10,02	b	156,77	26,99	17,21	C	129,79	2,00	1,54	d	127,78	98,46	E	
	9	248,08	100	A	15,90	6,41	b	232,17	25,23	10,87	C	206,94	42,87	20,72	d	164,07	79,28	E	
	10	296,54	100	A	37,78	12,74	b	258,77	91,07	35,19	c	167,70	2,37	1,41	d	165,33	98,59	E	

Tab. 129: Daten der Kreuzung 158x26 (Kapitel 6.7.9, S. 138) zur Berechnung der Biosynthesecodierung



Bezeichnung	Korn	Gesamtphenol- gehalt (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Unbekannt- te Phenole (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Sume HCA+Rutin +Flavanole=100 % (Biosynthese- code Bereich „C“)	Summe HCA (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Rutin+Flavanole =100 % (Biosynthese- code Bereich „D und E“)	Summe Rutin (mg/100g TS)	%	Biosynthese- code	Summe Flavanole (mg/100 g TS)	%	Biosynthese- code	
Mutter 615	1	138,84	100	a	17,51	12,61	b	121,33	35,16	28,98	C	86,17	3,86	4,48	d	82,31	95,52	E	
	2	174,59	100	a	7,78	4,46	b	166,81	44,03	26,39	C	122,78	3,28	2,67	d	119,50	97,33	E	
	3	161,72	100	a	18,03	11,15	b	143,69	38,31	26,66	C	105,38	4,91	4,66	d	100,47	95,34	E	
	4	158,46	100	a	16,03	10,12	b	142,43	42,36	29,74	C	100,07	3,21	3,21	d	96,86	96,79	E	
	5	166,88	100	a	17,96	10,76	b	148,92	47,32	31,77	c	101,60	3,69	3,64	d	97,91	96,36	E	
	6	148,03	100	a	16,31	11,02	b	131,72	44,47	33,76	c	87,25	4,21	4,83	d	83,04	95,17	E	
	7	183,60	100	a	19,59	10,67	b	164,01	55,07	33,58	c	108,94	6,04	5,55	d	102,89	94,45	E	
	Vater 1556	1	412,12	100	A	24,10	5,85	b	388,02	94,13	24,26	C	293,89	110,61	37,64	d	183,27	62,36	E
	2	236,71	100	A	15,95	6,74	b	220,76	91,25	41,33	c	129,51	4,82	3,72	d	124,69	96,28	E	
3	302,54	100	A	14,30	4,73	b	288,25	146,10	50,69	c	142,14	32,51	22,87	d	109,63	77,13	E		
4	262,64	100	A	14,96	5,69	b	247,69	102,56	41,41	c	145,13	3,65	2,51	d	141,48	97,49	E		
5	405,81	100	A	22,43	5,53	b	383,38	138,73	36,19	c	244,65	77,84	31,82	d	166,81	68,18	E		
6	324,13	100	A	19,82	6,12	b	304,31	124,48	40,91	c	179,83	47,92	26,65	d	131,90	73,35	E		
7	193,04	100	A	37,85	19,61	b	155,19	56,18	36,20	c	99,01	5,44	5,50	d	93,57	94,50	E		
F ₂ 615.1556.7.2	1	282,58	100	A	23,65	8,37	b	258,93	76,23	29,44	C	182,70	116,32	63,67	D	66,38	36,33	c	
	2	307,69	100	A	19,38	6,30	b	288,31	102,58	35,58	c	185,73	97,34	52,41	D	88,39	47,59	c	
	3	308,61	100	A	20,07	6,50	b	288,54	102,39	35,48	c	186,15	106,25	57,08	D	79,90	42,92	c	
	4	238,30	100	A	19,06	8,00	b	219,24	62,22	28,38	C	157,02	74,98	47,75	d	82,04	52,25	E	
	5	198,14	100	a	25,32	12,78	b	172,82	113,64	65,76	c	59,18	5,41	9,14	d	53,77	90,86	E	
	6	230,87	100	A	16,22	7,03	b	214,65	114,71	53,44	c	99,94	28,71	28,72	d	71,24	71,28	E	
	7	241,35	100	A	20,57	8,52	b	220,78	69,28	31,38	c	151,49	63,60	41,98	d	87,90	58,02	E	
	8	196,53	100	a	19,58	9,96	b	176,94	49,50	27,98	C	127,44	64,48	50,60	D	62,96	49,40	c	
	9	138,79	100	a	18,80	13,55	b	119,98	35,26	29,39	C	84,72	10,41	12,28	d	74,32	87,72	E	
F ₂ 615.1556.7.3	1	275,72	100	A	38,12	13,82	b	237,60	120,66	50,78	c	116,94	78,07	66,76	D	38,87	33,24	c	
	2	289,04	100	A	33,08	11,44	b	255,97	109,27	42,69	c	146,70	114,34	77,95	D	32,35	22,05	c	
	3	198,96	100	a	20,17	10,14	b	178,79	50,34	28,15	C	128,46	62,09	48,33	d	66,37	51,67	E	
	4	194,54	100	a	20,38	10,47	b	174,16	60,44	34,70	c	113,73	63,70	56,01	D	50,03	43,99	c	
	5	133,79	100	a	16,91	12,64	b	116,88	45,22	38,69	c	71,66	12,82	17,89	d	58,84	82,11	E	
	6	122,35	100	a	15,48	12,65	b	106,87	46,34	43,36	c	60,54	5,04	8,32	d	55,50	91,68	E	
	7	170,84	100	a	13,13	7,69	b	157,71	75,98	48,18	c	81,72	6,00	7,35	d	75,72	92,65	E	

Tab. 130: Daten der Kreuzung 615x1556 (Kapitel 6.7.10, S. 142) zur Berechnung der Biosynthese-
codierung





10.0 Chemikalienverzeichnis

Substanz/Laborartikel	Firma
Aceton	Merck
Ameisensäure 98-100%	Merck
Ammoniak	Merck
Benzoessäure	Roth
Butanol	Merck
Catechin	Roth
Cellulose-Dünnschichtchromatographieplatten	Merck
Chlorogensäure	Roth
Cyanidin	Extrasynthese
Einmalküvetten	Brand
Eisessig	Merck
Epicatechin	Roth
Epicatechin-3-O-(3,4-di-O-methyl)gallat	isoliert aus <i>Fagopyrum esculentum</i>
Ethanol	Merck
Ethylacetat	J. T. Baker
Flavon	Roth
Gallussäure	Roth
3-Hydroxy-3,4-Dimethoxybenzoessäure	Fluka
4-Hydroxy-benzoessäure	Fluka
Hyperin	Roth
2,4-Dihydroxy-benzoessäure	Fluka
Kaffeensäure	Roth
Kieselgel-Dünnschichtchromatographieplatten	Merck
Luteolinidin	Extrasynthese
Einmalküvetten	Brand
Methanol gradient grade	Merck
Methanol p. a.	Merck
Natriumacetat	Merck
Naturstoffreagenz A	Roth
p-Cumarsäure	Roth
p-Dimethylaminozimtaldehyd	Merck
Pelargonidin	Extrasynthese
Petrolether/Petroleumbenzin	Merck
Polyethylenglycol	Roth
Procyanidin B2	isoliert aus <i>Sorbus domestica</i> -Früchten (ÖLSCHLÄGER, 2002)
Procyanidin B5	isoliert aus <i>Sorbus domestica</i> -Früchten



Protocatechussäure

Quercetin

Quercitrin

Rutin

Salzsäure rauchend (37%)

Schwefelsäure

Sephadex-LH20

Tannase

Toluol

Vanillinsäure

(ÖLSCHLÄGER, 2002)

Roth

Roth

Roth

Roth

Merck

Merck

Amersham Biosciences

Braunschweiger Biotechnologie

Sigma

Merck

11.0 Geräteverzeichnis

Eppendorff-Zentrifuge Mikr 22 R

Fractionen collector turnable disk Type 3406A

controller Radi Rac Type 3403B

gekühltes Ultraschallwasserbad

Hamiltonspritze

Kugelmühle

Lyophile P10K-L

Schüttler

Spektralphotometer Uvikon 931

Ultra-Turrax T25

Vakuumrotationsverdampfer Rotavapor R110

VV2002

Vakuumzentrifuge unicryo MC2L

Waage SBC 22

Wasserbad VC

Zentrifuge Centrikon H-401B

Zentrifuge 2KD

Hettich

LKB

Bandelin

Hamilton

Retsch

Piatkowski Forschungsgeräte

Wilton

Kontron instruments

Janke &Kunkel

Büchl

Heidolph

Uniequip Laborgeräte

Scaltec

Julabo

Kontron instruments

Sigma

HPLC-Gerätekonfiguration Kapitel 4.1.1.3.1

LC-MS/MS-Gerätekonfiguration Kapitel 5.2.6



12.0 Literaturverzeichnis

ADACHI, T., YAMAGUCHI, A., MIIKE, Y. and HOFFMANN, F., 1989: Plant regeneration from protoplasts of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). Plant Cell Reports 8, 247-250

ADHIKARI, K. N. and CAMPBELL, C. G., 1998: Natural outcrossing in common buckwheat. Euphytica, 102, 233-237

ARCHIMOWICZ-CYRYLOWSKA, B., ADAMEK, B., DROZDZIK, M., SAMOCHOWIEC, L. and WOJCICKI, J., 1996: Clinical Effect of Buckwheat herb, Ruscus Extract and Troxerutin on Retinopathy and Lipids in Diabetic Patients. Phytotherapy Research, Vol. 10, 659-662

ARTS, I. C. W., VAN DE PUTTE, B. and HOLLMAN, C. H., 2000: Catechin Contents of Foods Commonly Consumed in The Netherlands. 1. Fruits, Vegetables, Staple Foods, and Processed Foods. J. Agric. Food Chem. 48, 1746-1751

AUGER, C., AL-AWWADI, N., BORNET, A., ROUANET, J.-M., GASC, F., CROS, G. and TEISSEDE, P.-L., 2004: Catechins and procyanidins in Mediterranean diets. Food Research International, 37, 233-245

BONAFACCIA, G., GAMBELLI, L., FABJAN, N. and KREFT, I., 2003: Trace elements in flour and bran from common and tartary buckwheat. Food Chemistry 83, 1-5

BONAFACCIA, G., MAROCCHINI, M. and KREFT, I., 2003: Composition and technological properties of the flour and bran from common and tartary buckwheat. Food Chemistry 80, 9-15

BRIGGS, C. J., CAMPBELL, C., PIERCE, G. and JIANG, P., 2004: Bioflavonoid Analysis and Antioxidant Properties of Tartary Buckwheat Accessions. Proceedings of the 9th Symposium on Buckwheat, Prague

BROCKMANN, H., WEBER, E. und SANDER, E., 1950: Fagopyrin, ein photodynamischer Farbstoff aus Buchweizen (*Fagopyrum esculentum*). Kurze Originalmitteilungen, Heft 2, 43



BUTLER, L. G., 1988: Effects of condensed tannin on animal nutrition, In: Chemistry and Significance of Condensed Tannins. Edited by RICHARD W. HEMMINGWAY and JOSEPH J. KARCHESY, Plenum Press, New York and London

BUTTER, N. L., DAWSON, J. M. and BUTTERY, P. J., 1999: Effects of dietary tannins on ruminants. In: Secondary Plant Products. Antinutritional and beneficial actions in animal feeding. (eds. J. C. Caygill and I. Mueller-Harvey), Nottingham University Press

CAMPBELL, C. G., 1997: Buckwheat. *Fagopyrum esculentum* Moench. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 19. Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy

CARNESECCHI, S., SCHNEIDER, Y., LAZARUS, S. A., COEHLO, D., GOSSE and RAUL, F., 2002: Flavanols and procyanidins of cocoa and chocolate inhibit growth and polyamine biosynthesis of human colonic cancer cells. *Cancer Letters* 175, 147-155

CHAO, P.-D. L., HSIU, S.-L. and HOU, Y.-C., 2002: Flavonoids in Herbs: Biological Fates and Potential Interactions with Xenobiotics. *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol. 10, No 4, 219-228

CHARROUF, Z., HILALI, M., JAUREGUI, O., SOUFIAOUI, M. and GUILLAUME, D., 2006: Separation and characterisation of phenolic compounds in argan fruit pulp using liquid chromatography-negative electrospray ionization tandem mass Spectroscopy. *Food chemistry*, In Press, Corrected Proof, Available online 24 January 2006

CORREIA, H., GONZALES-PARAMAS, A., AMARAL, M. T., SANTOS-BUELGA, C. and BATISTA, M. T., 2006: Polyphenolic profile characterization of *Agrimonia eupatoria* L. by HPLC with different detection devices 20 (1), 88-94

DIETRICH-SZOSTAK, D. and OLESZEK, W., 1999: Effect of Processing on the Flavonoid Content in Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Möench) Grain. *J. Agric. Food Chem.* 47, 4384-4387



DURKEE, A. B., 1977: Polyphenols of the Bran-Aleurone Fraction of Buckwheat Seed (*Fagopyrum sagittatum*, Gilib). J. Agric. Food Chem., Vol. 25, No. 2

EGGUM, B., KREFT, I. und JARVORNIK, B., 1981: Chemical composition and protein quality of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). Qual. Plant. Foods Hum. Nutr. 30, 175-179

FABJAN, N., RODE, J., KOSIR, I. J., WANG, Z. Z. and KREFT, I., 2003: Tartary Buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) as a Source of Dietary Rutin and Quercitrin. J. Agric. Food Chem. 51, 6452-6455

FAO (2005): FAOSTAT-Statistics database, Internet: <http://apps.fao.org/>

FARIA, A., CALHAU, C., DE FREITAS, V. and MATEUS, N., 2006: Procyanidins as Antioxidants and Tumor Cell Growth Modulators. J. Agric. Food Chem. 54, 2392-2397

FORKMANN, G. and HELLER, W., 1999: Biosynthesis of flavonoids. In: Comprehensive Natural Products Chemistry, Vol. 1: Hrsg.: Barton, D. and Nakanishi, K., Elsevier Verlag, Amsterdam

FOX, K. and DOMONEY, C., 1999: Plant Breeding; What is being, can be and should be done. In: Secondary Plant Products. Antinutritional and beneficial actions in animal feeding. (eds. J. C. Caygill and I. Mueller-Harvey), Nottingham University Press

FRANKE, U., 1989: Nutzpflanzenkunde; 4; 104-105

FRIEDRICH, M., STUHLFELDER, C. und THEURER, C., 2000: Der Buchweizen - Arzneipflanze im Wandel der Zeit. Zeitschrift für Phytotherapie; 21: 106-114

GERM, M., 2004: Environmental Factors Stimulate Synthesis of Protective Substances in Buckwheat. Proceedings of the 9th International Symposium on buckwheat, Prague

GINER-CHAVEZ, B. I., VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B., LASCANO, C., REED, J. D. and PELL, A. N., 1997: A Method for Isolating Condensed Tannins from Crude Plant Extracts with Trivalent Ytterbium. J. Sci. Food Agric. 74, 359-368



GRÜTZNER, K. I. and PATZ, B., 1998: Pharmakologie. In: A. Müller und G. Schiebel-Schlösser (eds.): Buchweizen, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 49-69

GU, L., KELM, M. A., HAMMERSTONE, J. F., BEECHER, G., HOLDEN, J., HAYTOWITZ, D. and PRIOR, R. L., 2003: Screening of Foods Containing Characterization Using LC-MS/MS and Thiolytic Degradation. *J. Agric. Food Chem.* 51, 7513-7521

GU, L., KELM, M. A., HAMMERSTONE, J. F., ZHANG, Z., BEECHER, G., HOLDEN, J., HAYTOWITZ, D. and PRIOR, R. L., 2003: Liquid chromatographic/electrospray ionization mass spectrometric studies of proanthocyanidins in foods. *Journal of Mass Spectrometry* 38, 1272-1280

GUARDIA, T., ROTELLI, A. E., JUAREZ, A. O. and PELZER, L. E., 2001: Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat. *Il Farmaco* 56, 683-687

HAGELS, H., 1996: Analytische, pharmazeutische, phytochemische sowie inter- und intraindividuelle Untersuchungen zu *Fagopyrum*-Arten. Studie zur Pharmakokinetik des Rutins. Dissertation, Freie Universität Berlin.

HAGELS, H., WAGENBRETH, D. and SCHILCHER, H., 2001: Phenolic compounds of Buckwheat Herb and Influence of Plant and Agricultural Factors (*Fagopyrum esculentum* Moench and *Fagopyrum tataricum* Gärtner). <http://soba.shinshu-u.ac.jp/contents/115.html>

HAGERMAN, A. E. and BUTLER, L. G., 1989: Choosing appropriate Methods and Standards for Assaying Tannin. *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 15, No. 6, 1795-1810

HARLAN, J. R., 1975: Crops and Man. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA

HASLAM, E., 1989: Plant polyphenols. Cambridge University Press, Cambridge

HE, J., KLAG, M. J., WHELTON, P. K., MO, J.-P., CHEN, J.-Y., QUIAN, M.-C., MO, P.-S. and HE, G.-Q., 1995: Oats and buckwheat intakes and cardiovascular disease risk factors in an ethnic minority of China. *Am. J. Nutr.* 61, 366-372



HINNEBURG, I., 2004: Extrakte aus Herba Fagopyri als Photoprotektiva: Untersuchungen zu Herstellung, Wirksamkeit, Galenik und Biopharmazie. Dissertation, Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg

HINNEBURG, I. and NEUBERT, R. H. H., 2005: Influence of Extraction Parameters on the Phytochemical Characteristics of Extracts from Buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) Herb. J. Agric. Food Chem. 53, 3-7

HOLASOVA, M., FIEDLEROVA, V., SMRCINOVA, H., ORSAK, M., LACHMAN, J. and VAVREINOVA, S., 2002: Buckwheat - the source of antioxidant activity in functional foods. Food Research International 35, 207-211

HONDA, Y., 2001: Varietal difference of the content of vitamin E homologues in buckwheat.

<http://soba.shinshu-u.ac.jp/contents/111.html>

IHME, N., KIESEWETTER, H., JUNG, F., HOFFMANN, K. H., BIRK, A., MÜLLER, A. and GRÜTZNER, K. I., 1996: Leg oedema protection from a buckwheat herb tea in patients with chronic venous insufficiency: a single-centre, randomised, double blind, placebo-controlled clinical trial. Eur. J. Clin. Pharmacol. 50: 443-447

IKEDA, K., SAKAGUCHI, T., KUSANO, T. und Yasumoto, K., 1991: Endogenous factors affecting protein digestibility in buckwheat. Cereal Chem. 68, 424-427

KADA, T., KANEKO, K., MATSUZAKI, S., MATSUZAKI, T. and HARA, Y., 1985: Detection and identification of natural bio-antimutagens. Mutation Research 150, 127-132

KALINOVA, J. and DADAKOVA, E., 2004: Varietal Differences of Rutin in Common Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) Determined by Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography. Proceedings of the 9th International Symposium on Buckwheat, Prague

KAUR, C. and KAPOOR, H. C., 2001: Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. International Journal of Food Science and Technology 36, 703-725

KEINÄNEN, M., 1993: Comparison of Methods for the Extraction of Flavonoids from Birch Leaves (*Betula pendula* Roth.) Carried out Using High-Performance Liquid Chromatography. J. Agric. Food Chem. 41, 1986-1990



KIM, K. H., LEE, K. W., KIM, D. Y., PARK, H. H., KWON, I. B. and LEE, H. J., 2005: Optimal recovery of high-purity rutin crystals from the whole plant of *Fagopyrum esculentum* Moench (buckwheat) by extraction, fractionation, and recrystallization. *Bioresource Technology*, In Press, Corrected Proof, Available online at www.sciencedirect.com

KITABAYASHI, H., UJIHARA, A., HIROSE, T. and MINAMI, M., 1995: Varietal differences and heritability for rutin content in common buckwheat, (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Jpn. J. Breed.* 45, 75-79

KNEKT, P., JARVINEN, R. and REUNANEN, A., 1996: Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *BMJ* 312, 478-481

KOLODZIEJ, H., 1994: Gerbstoffe in Nahrungs- und Futtermitteln - Fluch oder Segen. Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung; XXIX. Vortragstagung, Quedlinburg

KÖTTER, U., 1998: Chemie der Inhaltsstoffe, 27-40 in: *Buchweizen - Botanik, Inhaltsstoffe, Analytik, Pharmakologie, Toxikologie, Klinik.* eds: MÜLLER und SCHIEBEL-SCHLOSSER, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart

KÖTTER, U. and THEURER, CH., 1996: Occurrence of Fagopyrin, a Naphthodianthrone from *Fagopyrum spec.* in the Dried Leaves of Buckwheat and its Transition into Different Preparations. *Phytomedicine* 3, Suppl. 1, 225

KOVALENKO, V. I. and SHUMNY, V. K., 2004: Homostyly in Buckwheat *Fagopyrum esculentum* Moench and Possibilities of Its Use. *Proceedings of the 9th International Symposium on Buckwheat*, Prague 2004

KREFT, S., STRUKELJ, B., GABERSCIK, A. and KREFT, I., 2002: Rutin in buckwheat herbs grown at different UV-B radiation levels: comparison of two UV spectrometric and an HPLC method. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 53, No. 375, 1801-1804

KREWSON, CH. F. and COUCH, J. F., 1949: Production of Rutin from buckwheat. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 163-169



KUHLMANN, H., 1998: Botanik, 11-18. In: Buchweizen - Botanik, Inhaltsstoffe, Analytik, Pharmakologie, Toxikologie, Klinik. MUELLER und SCHIEBEL - SCHLOSSER (Eds), Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart

KREFT, S., KNAPP, M. and KREFT, I., 1999: Extraction of Rutin from Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) Seeds and Determination by Capillary Electrophoresis. J. Agric. Food Chem., 47, 4649-4652

LIU, B. and ZHU, Y., 2005: Extraction of flavonoid-rich parts in tartary buckwheat and identification of the main flavonoids. Journal of Food Engineering, In Press, Corrected Proof, Available online 27 December 2005

LOUMING, W., MINGYONG, F. and DUOJIA, W., 2001: The mineral element contents in chinese buckwheat. <http://soba.shinshu-u.ac.jp/contents/109.html>

MAYR, U., 1995: Einfluss des Phenolstoffwechsels beim Apfel (*Malus domestica*) auf das Resistenzpotential gegen Apfelschorf (*Venturia inaequalis*). Dissertation, Lehrstuhl für Obstbau, TU-München-Weihenstephan

MAZZA, G., 1993: Buckwheat. Pp: 516-521 in Encyclopedia of Food Science and Nutrition. eds. MACRAE, R., ROBINSON, R. K. and SADLER, M. J., Academic Press, Toronto, New York

MC CLEMENT, J. und JACKSON, B.P., 1971: The structure of buckwheat, *Fagopyrum esculentum* Moench. Journal of Pharm. Pharmac. 23, 612-620

MC MAHON, L. R., MC ALLISTER, T. A., BERG, B. P., MAJAK, W., ACHARYA, S. N., POPP, J. D., COULMAN, B. E., WANG, Y. und CHENG, K.-J., 1999: A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. Canadian Journal of Plant Science, 80, 469-485

MIDDLETON, E., JR. and KANDASWAMI, C., 1993: The impact of plant flavonoids on mammalian biology: Implications for immunity, inflammation and cancer. In: The Flavonoids: Advances in Research Since 1986. Ed.: J.B. Harborne. p. 619-652. Chapman and Hall, London, UK



MORITA, N., MAEDA, T., SAI, R., MIYAKE, K., YOSHIOKA, H., URISU, A. and ADACHI, T., 2006: Studies on distribution of protein and allergen in graded flours prepared from whole buckwheat grains. *Food Research International* 39, 782-790

MOUMOU, Y., TROTIN, F., VASSEUR, J., VERMEERSCH, G., GUYON, R., DUBOIS, J. and PINKAS, M., 1992: Procyranidin Production by *Fagopyrum esculentum* Callus Culture. *Planta Med.* 58, 516-519

MUKODA, T., SUN, B. and ISHIGURO, A., 2001: Antioxidant Activities of Buckwheat Hull Extract toward Various Oxidative Stress *in Vitro* and *in Vivo*. *Biol. Pharm. Bull.* 24(3), 209-213

NATELLA, F., BELELLI, F., GENTILI, V., URSINI, F. and SCACCINI, C., 2002: Grape Seed Proanthocyanidins Prevent Plasma Postprandial Oxidative Stress in Humans. *J. Agric. Food Chem.* 50, 7720-7725

OHNISHI, O., 1991: Discovery of the wild ancestor of common buckwheat. *Fagopyrum*, 11, 5-10

OHNISHI, O., 1993: Population genetics of cultivated common buckwheat, *Fagopyrum esculentum* Moench. VIII. Local differentiation of land races in Europe and the silk road. *Jpn. J. Genet.* 68, 303-316

OHINISHI, O. and MATSUOKA, Y., 1996: Search for the wild ancestor of buckwheat. II. Taxonomy of *Fagopyrum* (Polygonaceae) species based on morphology, isozymes and cpDNA variability. *Genes Genet. Syst.* 71, 383-390

OHNISHI, O., 1998a: Search for the wild ancestor of buckwheat. I. Description of new *Fagopyrum* (Polygonaceae) species and their distribution in China and the Himalayan hills. *Fagopyrum* 15, 18-28

OHNISHI, O., 1998b: Search for the wild ancestor of buckwheat. I. The wild ancestor of cultivated common buckwheat and of tartary buckwheat. *Econ. Bot.* 52, 123-133

OHNISHI, O. and ASANO, N., 1998: Genetic diversity of *Fagopyrum homotropicum*, a wild species related to common buckwheat. *Genetic Resources and Crop Evolution* 46, 389-398



OHSAWA, R. and TSUTSUMI, T., 1995: Inter-varietal variations of rutin content in common buckwheat flour (*Fagopyrum esculentum* Moench.). *Euphytica* 86, 183-189

ÖLSCHLÄGER, C., 2002: Isolierung und Identifizierung von Catechinen und Procyanidinen aus *Sorbus domestica* - Früchten. Diplomarbeit, Technische Universität München, Weihenstephan

OOMAH, B. D. and MAZZA, G., 1996: Flavonoids and Antioxidative Activities in Buckwheat. *J. Agric. Food Chem.* 44, 1746-1750

OOMAH, B. D., CAMPBELL, C. G. and MAZZA, G., 1996: Effects of cultivar and environment on phenolic acids in buckwheat. *Euphytica* 90, 73-77

PARK, B. J., PARK, J. I., CHANG, K. J. and PARK, C. H., 2004: Comparison in Rutin Content in Seed and Plant of Tartary Buckwheat (*Fagopyrum tataricum*). Proceedings of the 9th International Symposium on buckwheat, Prague

PARR, A. J. and BOLWELL, G. P., 2000: Phenols in the plant and in the man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. Review. *J. Sci. Food Agric.* 80, 985-1012

POMERANZ, Y., 1985: Buckwheat: structure, composition and utilization. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 19 (3): 213-258

PORTER, L. J., HRSTICH, L. N. and CHAN, B. G., 1986: The Conversion of Procyanidins and Prodelphinidins to Cyanidin and Delphinidin. *Phytochemistry*, Vol. 25, No. 1, pp 223-230

PRIOR, R. L., LAZARUS, S. A., CAO, G., MUCCITELLI, H. and HAMMERSTONE, J. F., 2001: Identification of Procyanidins and Anthocyanins in Blueberries and Cranberries (*Vaccinium Spp.*) Using High-Performance liquid chromatography/Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 49, 1270-1276

PRZYBYLSKI, R., KAWA, J. M. and TAYLOR, C. G., 2004: Buckwheat Concentrate Reduces Serum Glucose in Streptozotocin-diabetic Rats. Proceedings of the 9th International Symposium on Buckwheat, Pague, 565-574



PU, F., MISHIMA, K., EGASHIRA, N., IWASAKA, K., KANEKO, T., UCHIDA, T., IRIE, K., ISHIBASHI, D., FUJII, H., KOSUNA, K. and FUJIWARA, M., 2004: Protective Effect of Buckwheat Polyphenols Against Long-Lasting Impairment of Spatial Memory Associated With Hippocampal Neuronal Damage in Rats Subjected to Repeated Cerebral Ischemia. *J. Pharmacol. Sci.* 94, 393-402

QUIAN, J.-Y., MAYER, D. and KUHN, M., 1999: Flavonoids in Fine Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Mönch) Flour and Their Free Radical Scavenging Activities. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 95. Jahrgang, Heft 9, 343-349

QUETTIER-DELEU, C., GRESSIER, B., VASEUR, J., DINE, T., BRUNET, C., LUYCKX, M., CAZIN, M., CAZIN, J. C., BAILLEUL, F. and TROTIN, F., 2000: Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *J. Ethnopharmacol.* 72, 35-42

QUINGGUO, T., DAN, L. and PATIL, B. S., 2002: Identification and Determination of Flavonoids in Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench, *Polygonaceae*) by High-performance Liquid chromatography with Electrospray Ionisation Mass Spectrometry and Photodiode Array Ultraviolet Detection. *Phytochemical Analysis*, 13, 251-256

REICHLING, J. und HORZ, K.H., 1993: *Fagopyrum*. In: HÄNSEL, R., KELLER, K., RIMPLER, H. und SCHNEIDER, C. (Eds.): *Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis*, Bd. 5; 137-141; Springer Verlag, Berlin

RICARDO DA SILVA, J. M., DARMON, N., FERNANDEZ, Y. and MITJAVILA, S., 1991: Oxygen Free Radical Scavenger Capacity in Aqueous Models of Different Procyanidins from Grape Seeds. *J. Agric. Food Chem.* 39, 1549-1552

SARKAR, S. K. and HOWARTH, R. E., 1976: Specificity of the vanillin test for flavanols. *J. Agric. Food Chem.* 24, 317-320

SCHOFIELD, P., MBUGUA, D. M. and PELL, A. N., 2001: Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology* 91, 21-40



SANCHEZ-RABANEDA, F., JAUREGUI, O., CASALS, I., ANDRES-LACUEVA, C., IZQUIERDO-PULIDO, M. and LAMUELA-RAVENTOS, R., 2003: Liquid chromatographic/electrospray ionization tandem mass spectrometric study of the phenolic composition of cocoa (*Theobroma cacao*). Journal of Mass Spectrometry 38, 35-42

SCHNEIDER-LEUKEL, K., PAPER, D. H. and FRANZ, G., 1992: Flavonoid release from herbal drugs into medicinal teas. Planta Medica 58, Suppl. 1, A676-677

SEERAM, N. P., LEE, R., SCHEULER, S. and HEBER, D., 2005: Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy. Food chemistry 97, 1-11

SENSOY, I., ROSEN, R. T., HO, C.-T. and KARWE, M. V., 2006: Effect of processing on buckwheat phenolics and antioxidant activity. Food Chemistry 99, 388-393

SIDDHURAJU, P. and BECKER, K., 2003: Antioxidant Properties of Various Solvent Extracts of Total Phenolic Constituents from Three Different Agroclimatic Origins of Drumstick Tree (*Moringa oleifera* Lam.) Leaves. J. Agric. Food Chem. 51, 2144-2155

STEADMAN, K. J., BURGOON, M. S., SCHUSTER, R. L., LEWIS, B. A., EDWARDSON, S. E. and OBENDORF, R. L., 2000: Fagopyritols, D-chiro-Inositol, and Other Soluble Carbohydrates in Buckwheat Seed Milling Fractions. J. Agric. Food Chem. 48, 2843-2847

STEADMAN, K. J., BURGOON, M. S., LEWIS, B. A., EDWARDSON, S. E. and OBENDORF, R. L., 2001: Minerals, phytic acids, tannin and rutin in buckwheat seed milling fractions. J. Sci. Food and Agric. 81, 1094-1100

SUN, T. and HO, C.-T., 2005: Antioxidant activities of buckwheat extracts. Food chemistry 90: 743-749

SUZUKI, T., HONDA, Y. and MUKASA, Y., 2005: Effects of UV-B radiation, cold and desiccation stress on rutin concentration and rutin glucosidase activity in tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) leaves. Plant Science 168, 1303-1307



TIAN, Q., LI, D. and PATIL, B. S., 2002: Identification and Determination of Flavonoids in Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Möench, Polygonaceae) by High-performance Liquid Chromatography with Electrospray Ionisation Mass Spectrometry and Photodiode Array Ultraviolet Detection. *Phytochemical Analysis* 13, 251-256

TREUTTER, D, 1989: Chemical Reaction Detection of Catechins and Proanthocyanidins with 4-Dimethylaminocinnamaldehyde. *Journal of chromatography* 467, 185-193

TREUTTER, D., SANTOS-BUELGA, C., GUTMANN, M. and KOLODZIEJ, H., 1994: Identification of flavan-3-ols and procyanidins by high-performance liquid chromatography and chemical reaction detection. *Journal of chromatography* 667, 290-297

TROTIN, F., MOUMOU, Y. and VASSEUR, J., 1993: Flavanol Production by *Fagopyrum esculentum* Hairy and normal Root Cultures. *Phytochemistry*, Vol. 32, No. 4, 929-931

WANG, Y., SCART, R. and CAMPBELL, C., 2005: Interspecific hybridization between diploid *Fagopyrum esculentum* and tetraploid *F. homotropicum*. *Canadian Journal of Plant Science* 85 (1), 41-48

WANG, Z., ZHANG, Z., ZHAO, Z., WIESLANDER, G., NORBÄCK, D. and KREFT, I., 2004: Purification and Characterization of a 24 kDa Protein from Tartary Buckwheat Seeds. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 68 (7), 1409-1413

WATANABE, M., OHSHITA, Y. and TSUSHIDA, T., 1997: Antioxidant Compounds from Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Möench) Hulls. *J. Agric. Food Chem.* 45, 1039-1044

WATANABE, M., 1998: Catechins as Antioxidants from Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Möench) Groats. *J. Agric. Food Chem.* 46, 839-845

WIESLANDER, G. and NORBÄCK, D., 2001: Buckwheat allergy. *Allergy*, 56, 703-704

WIJNGAARD, H. H. and ARENDT, E. K., 2006: Buckwheat, Review. *Cereal Chemistry*, Vol. 83, No. 4, 391-401



YAN, C., BAILI, F., YIN-GANG, H., JINFENG, G. and XIAOLI, G., 2004: Analysis on the Variation of Rutin Content in Different Buckwheat Genotypes. Proceedings of the 9th International Symposium on Buckwheat, Prague

YOSHIMASU, M. A., ZHANG, J. W., HAYAKAWA, S. and MINE, Y., 2000: Electrophoretic and Immunochemical Characterization of Allergenic Proteins in Buckwheat. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 123, 130-136

ZELLER, F. J., 2001: Die Bodenkultur, Produktion und Verarbeitung; *Austrian Journal of Agricultural Research*. Sonderdruck, WUV-Universitätsverlag, Bd. 52, Heft 3

ZELLER, F. J., HSAM, S. L. K., 2004: Buchweizen - die vergessene Kulturpflanze. *Biologie unserer Zeit*, 34. Jahrgang
ZERN, T. L. and FERNANDEZ, M. L., 2005: Cardioprotective Effects of Dietary Polyphenols. *American Society for Nutrition*, 2291-2294

ZIELINSKI, H. and KOZLOWSKA, H., 2000: Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Cereal Grains and Their Different Morphological Fractions. *J. Agric. Food Chem.* 48, 2008-2016

ZUO, Y., CHEN, H. and DENG, Y., 2002: Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector. *Talanta* 57, 307-316



13.0 Lebenslauf

Zur Person

Name	Carolin Ölschläger
Geburtstag	21.08.1975
Geburtsort	Pforzheim
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	ledig

Werdegang

Schulbildung	1986 Gymnasium Neuenbürg 1995 Allg. Hochschulreife
akad. Werdegang	WS 1996/97 bis SS 2002 Studium der Gartenbauwissenschaften an der TUM-Weihenstephan inklusive Praktika: März 1997 bis Mai 1997 Klostergärtnerei Fürstenzell April 1999 bis September 1999 Versuchsbetrieb Fachgebiet Obstbau TUM Abschluss: Diplom-Agraringenieur November 2002 bis Oktober 2006: Promotion am Fachgebiet Züchtung und angewandte Genetik TUM-Weihenstephan





14.0 Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. F. Zeller für die Überlassung des Themas und im Besonderen der Arthur und Aenne Feindt-Stiftung für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Der Spruch: „Der Teufel ist ein Eichhörnchen.“ hat sich in Form des Buchweizens des öfteren bewahrheitet und es bedarf eines wahren Doktorvaters, der einen trotz dieser vielen Eichhörnchen immer wieder mit Spass ins Labor zurückkehren und weiter arbeiten läßt. Deshalb möchte ich mich bei Herrn Prof. D. Treutter bedanken, der mich und meine Arbeit unterstützt, gelenkt und mir die Leidenschaft an der Forschung vermittelt hat. Der es nicht Müde wurde mich zig-Mal in der Stunde in seinem Büro wiederzusehen und mir immer weiterzuhelfen, ohne auch nur einmal die Hände über dem Kopf zusammen zu schlagen - obwohl - ich glaube, einmal habe ich es doch geschafft....

Der gleiche Dank gilt Inge Lemberger, die jeden Tag über die Finanzen wacht, das Unmögliche möglich macht und sich so lange um jeden ihrer „Fitiche“ kümmert und bemüht, bis er mit seiner Arbeit fertig ist.

Ich bedanke mich herzlich bei allen, und ich bin mir sicher, dass jeder weiß in welchem Maße, die mit mir im Labor gearbeitet haben. „Weisschaften und Wissenheiten“ habe ich in dieser Zeit von Euch allen gerade genug gelernt und wir hatten vor allem eine Menge Spaß, um den uns so mancher sicherlich beneidet hat, denn solchen Teamgeist und kommunikatves Miteinander muß man oft lange oder vergebens suchen. Besonders möchte ich mich bei Marlene Kramler bedanken, die nicht nur mich durch meine Arbeit begleitet hat, sondern schon so manchen Dokortitel verdient hat - von der ich alles weiß, was man im Labor wissen muss.

Zu guter Letzt möchte ich mich bei meinen drei Lektoren bedanken, die in kurzer Zeit mit viel Elan all die Seiten durchgearbeitet und ihnen den letzten Schliff gegeben haben.

Carolin