

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Fakultät für Chemie

Backqualität von Weizenmehl – Funktionelle Untersuchungen und stoffliche Ursachen

Eva Müller

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Chemie der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades des

Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. Peter Schieberle
Prüfer der Dissertation: 1. apl. Prof. Dr. Peter Köhler
2. Univ.-Prof. Dr. Aymelt Itzen

Die Dissertation wurde am 15.01.2018 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Chemie am 12.03.2018 angenommen.

**Ich weiß nicht, ob mein Leben nutzlos und bloß ein Missverständnis war oder
ob es einen Sinn hat.**

Hermann Hesse, Das Glasperlenspiel

Ich möchte mich an dieser Stelle bei all denen bedanken, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation so tatkräftig unterstützt haben.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Peter Köhler für die Möglichkeit an der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie meine Arbeit zu schreiben. Er war stets für mich ansprechbar und hilfsbereit.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Dr. Katharina Scherf und Dr. Herbert Wieser, die mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite standen und viel Zeit für mich übrig hatten.

Bei Herrn Prof. Dr. Peter Schieberle möchte ich mich für die gute Ausbildung an der TU München an seinem Lehrstuhl für Lebensmittelchemie bedanken und dass er bei meiner Verteidigung den Vorsitz übernommen hat.

Bedanken möchte ich mich weiterhin bei meinen Projektpartner des Lehrstuhls für Brau- und Getränketechnologie der TUM in Freising (u. a. Dr. Mario Jekle, Stefanie Hackenberg) und des Max Rubner-Instituts (u. a. Prof. Dr. Meinolf G. Lindhauer, Dr. Elisabeth Sciarba) in Detmold.

Ein besonderer Dank gilt auch Herrn Kurt Luidl, ohne dessen Hilfe die Umsetzung des neu entwickelten Mikrokneters nicht möglich gewesen wäre.

Zudem möchte ich es nicht versäumen allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie zu danken, die einen mehr oder weniger großen Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit geleistet haben. Vor allem möchte ich mich bei Frau Anneliese Köhler bedanken, durch deren Unterstützung es mir möglich war viele Ergebnisse für meine Arbeit zu erzielen. Weiterhin bedanke ich mich bei Ines Otte und Sami Kaviani-Nejad für die Hilfe bei der LC-MS/MS-Analytik und bei Katharina Schiesser für die Arbeiten im Backlabor.

Allen Doktoranden und Doktorandinen der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie danke ich für die freundliche Aufnahme ins Team und das kameradschaftliche Verhältnis. Hervorheben möchte ich Kathrin Schalk, mit der mich

seit dem 1. Semester unseres Studiums eine Freundschaft verbindet und bis heute andauert. Auch meinen weiteren Kollegen und Kolleginnen aus dem Arbeitskreis Biopolymere danke ich für die gemeinsame Zeit, v.a. Claudia Vogel und Barbara Lexhaller möchte ich zusammen mit Kathrin Schalk erwähnen. Mit den drei Mädels hatte ich auch außerhalb des Instituts eine schöne Zeit.

Außerdem möchte ich mich bei meiner Oma Susanne Lachermeier bedanken, die für mich wie eine Mutter war und die ich sehr geliebt habe. Meinen Eltern Theresa Jean, geb. Tooley, und Georg Geisberger danke ich für die Lebenseinstellung und den Mut, eigene Wege zu gehen.

Zu guter Letzt ist es mir ein großer Anliegen meinem Mann Alexander Müller danke zu sagen. Er gab mir immer emotionalen Rückhalt und den nötigen Freiraum, damit ich mich auf meine Ziele konzentrieren konnte. Ich danke ihm, dass er immer an mich glaubt und hinter mir steht. Ich liebe Dich.

Vorabveröffentlichungen

Müller E., Wieser H., Köhler P.: Einfluss der Isolierungsbedingungen auf den Gluteninmakropolymer-Gehalt von Weizenmehl, Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Bericht **2014**, S. 96-99, ISBN 978-3-938896-85-3.

Müller E., Wieser H., Köhler P.: Zusammensetzung des Gluteninmakropolymer-Gels aus Weizenmehl, Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Bericht **2015**, S. 92-95, ISBN 978-3-946117-01-8.

Müller E., Wieser H., Köhler P.: Einfluss der Isolierungsbedingungen auf den Gluteninmakropolymer-Gehalt von Weizenmehl, Lebensmittelchemische Gesellschaft, Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker, 44. Deutscher Lebensmittelchemikertag, **2015**, S. 68, ISBN 978-3-936028-93-5.

Müller E.: Die Moleküle des Mehls, Abi extra, typisch Frau, typisch Mann, **2016**, S. 20-21.

Mueller E., Wieser, H., Koehler P.: Preparation and chemical characterisation of glutenin macropolymer (GMP) gel, J. Cereal Sci, **2016**, 70, 79-84.

Müller E., Köhler P.: Entwicklung eines innovativen Mikrokneters zur verbesserten Bestimmung der Backqualität von Weizenmehl, Lebensmittelchemische Gesellschaft, Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker, 45. Deutscher Lebensmittelchemikertag, **2016**, S. 153, ISBN 978-3-936028-98-0.

Hackenberg S., Müller E., Chen X. et al.: The baking quality of wheat – is it really predictable?, baking + biscuit international **06/2016**, 48-50.

Hackenberg S., Müller E. et al.: Die Backqualität von Weizen – tatsächlich vorhersagbar?, Brot und Backwaren, **2016**, 52-55.

Müller E., Köhler P.: Entwicklung eines innovativen Mikrokneters zur verbesserten Bestimmung der Backqualität von Weizenmehl, Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Bericht **2016**, S. 82-85, ISBN 978-3-00-056386-7.

Müller E., Köhler P.: Entwicklung und Anwendung eines optimierten Mikrobackversuchs für Weizenmehl, Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Bericht **2016**, S. 86-89, ISBN 978-3-00-056386-7.

Köhler P., Scirba E., Jekle M., Müller E. et al.: Fallzahl ist altbacken, dlz Agrarmagazin, 03/2017, 78-81.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Weizen	1
1.1.1	Geschichte	1
1.1.2	Struktur und chemische Zusammensetzung.....	3
1.1.3	Vorkommen und Anbau	4
1.1.4	Entwicklung und Züchtung	5
1.1.5	Die physiologische Rolle für den menschlichen Körper	6
1.2	Methoden zur Bestimmung der Weizen- und Backqualität	7
1.2.1	Definition der Weizen- und Backqualität	7
1.2.2	Indirekte Qualitätsparameter.....	9
1.2.3	Direkte Qualitätsparameter	14
1.2.4	Bedarf an optimierten Backversuchen	16
1.3	Proteine des Weizens.....	18
1.3.1	Überblick	18
1.3.2	Methoden zur Fraktionierung von Proteinen	19
1.3.3	Proteinfractionen nach Osborne	19
1.3.4	Gluteninmakropolymer (GMP)	26
1.4	Einfluss der Inhaltsstoffe von Weizen auf die Backqualität.....	28
1.4.1	Kleberproteine.....	28
1.4.2	Bedeutung weiterer Inhaltsstoffe.....	31
1.5	Disulfidbindungen der Weizenproteine	32
1.5.1	Disulfidbindungen der Kleberproteine	33
1.5.2	Strukturmodelle der Glutenine (GLUT)	37
1.5.3	Aufklärung der Disulfidstruktur von Proteinen mittels LC-MS/MS	40
2	Problemstellung und Zielsetzung	42
3	Ergebnisse und Diskussion	44

3.1	Auswahl der Weizensorten zur Untersuchung von GMP	44
3.1.1	Auswahl geeigneter Weizensorten.....	44
3.1.2	Charakterisierung der Weizenmehle.....	44
3.1.3	Diskussion.....	46
3.2	Methodenentwicklung zur Isolierung von GMP-Gelen.....	47
3.2.1	Isolierung	47
3.2.2	Proteinverteilung der isolierten Fraktionen.....	52
3.2.3	Zusammensetzung der GMP-Gele	54
3.2.4	Diskussion.....	55
3.3	Proteinzusammensetzung der Weizenmehle und der GMP-Gele	58
3.3.1	Quantitative Bestimmung der Osbornefraktionen mittels RP-HPLC	58
3.3.2	Qualitative Proteinbestimmung mittels SDS-PAGE	60
3.3.3	Diskussion.....	61
3.4	Herstellung und Untersuchung enzymatischer GMP-Hydrolysate	63
3.4.1	Auswahl eines geeigneten Enzyms	63
3.4.2	Festlegung der Hydrolysebedingungen	63
3.4.3	Differenzchromatographie mittels RP-HPLC.....	66
3.4.4	Fraktionierung mittels GP-HPLC.....	67
3.4.5	Diskussion.....	70
3.5	Massenspektrometrische Identifizierung von Disulfidbindungen im GMP ...	71
3.5.1	Aus Kleberproteinen bekannte, identifizierte Disulfidbindungen	73
3.5.2	Neu identifizierte Cystinpeptide.....	81
3.5.3	Diskussion.....	88
3.6	Entwicklung eines Knet-Messgeräts für Mikrobackversuche.....	95
3.6.1	Status vor dem Umbau	96
3.6.2	Konstruktion eines neuen Rührwerkes	97
3.6.3	Status nach Umbau und Diskussion	101
3.7	Vorversuche mit dem neuen Mikroknetter	104

3.7.1	Teigtemperatur.....	104
3.7.2	Kurvenverlauf.....	105
3.7.3	Reproduzierbarkeit.....	108
3.7.4	Diskussion.....	109
3.8	Entwicklung eines neuen Mikrobackversuchs - MOMT	110
3.8.1	Bestimmung der optimalen Knetbedingungen	110
3.8.2	Backversuche	115
3.8.3	Korrelationsanalysen	117
3.8.4	Diskussion.....	120
3.9	Diskussion der Vorteile des MOMT gegenüber dem MBT und MRMT	125
3.10	GMP-Gehalt als indirekter Qualitätsparameter.....	129
3.10.1	Korrelationsanalysen	129
3.10.2	Diskussion	134
4	Experimentelle Angaben	137
4.1	Chemikalien, Reagenzien und Materialien	137
4.2	Gewinnung und Charakterisierung des Probenmaterials	138
4.2.1	Mehlgewinnung.....	138
4.2.2	Feuchtigkeitsbestimmung	139
4.2.3	Bestimmung des Aschegehalts.....	139
4.2.4	Proteinbestimmung nach Dumas	139
4.2.5	Bestimmung des Feuchtklebergehalts.....	140
4.2.6	Bestimmung der Fallzahl	140
4.3	Proteinfractionierungen und Proteintrennungen	141
4.3.1	Modifizierte Osbornefraktionierung und RP-HPLC.....	141
4.3.2	SDSL-/GMP-Fraktionierung und GP-HPLC	143
4.3.3	SDS-PAGE	145
4.4	Isolierung und Untersuchung von GMP-Gel.....	146
4.4.1	Entfettung des Mehles	147

4.4.2	Physikalische Methode zur Isolierung von GMP-Gel	147
4.4.3	Enzymatische Stärkebestimmung.....	147
4.4.4	Feuchtigkeitsbestimmung mittels Karl-Fischer Titration.....	148
4.4.5	Bestimmung des SDS-Gehaltes durch Gravimetrie	149
4.5	Untersuchungen enzymatischer Hydrolysate aus GMP-Gel.....	149
4.5.1	Festlegung der Bedingungen für die enzymatische Hydrolyse	149
4.5.2	Enzymatische Hydrolyse mit Thermolysin.....	151
4.5.3	Fraktionierung der Partialhydrolysate mittels GP-HPLC	151
4.5.4	Differenzchromatographie mittels RP-HPLC.....	152
4.5.5	Nachweis von Cystinpeptiden mittels LC-MS/MS	153
4.5.6	Auswertung der Massenspektren und Proteindatenbankrecherche....	154
4.6	Rheologie	155
4.6.1	Teigentwicklungszeit, Wasseraufnahmefähigkeit.....	155
4.6.2	Teigzugversuche im Mikromaßstab	156
4.6.3	Teigzugversuche mittels Extensograph	157
4.7	Backversuche	157
4.7.1	Vorversuche zur Entwicklung des Mikro-Opi-Mix-Tests (MOMT).....	157
4.7.2	Mikrobackversuche	157
4.7.3	Messung des Brotvolumens.....	158
4.7.4	Rapid-Mix-Test (RMT)	158
4.8	Statistische Methoden	158
4.8.1	Varianzanalyse	158
4.8.2	Korrelationsberechnungen	159
5	Zusammenfassung	160
6	Literatur	i
7	Anhang.....	xviii
7.1	Aminosäuresequenzen.....	xviii
7.2	Liste theoretisch möglicher Cysteinpeptide	xxvii

7.3	Massenspektren	xxxii
7.4	Ergebnisse verschiedener Versuche	xlviii
7.5	Statistiktabellen	lxv

Abkürzungsverzeichnis

AACCI	American Association of Cereal Chemists International
AS	Aminosäure(n)
AL	Albumine
ALGL	Albumine + Globuline
BE	Brabendereinheiten
bidest.	Reinstwasser (doppelt destilliert)
Bis-TRIS	Bis-(2-hydroxyethyl)-amino-tris-(hydroxymethyl)-methan
CID	Collision Induced Dissociation
DTT	Dithiothreitol
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
E _{max}	Dehnbarkeit
ESI	Elektrosprayionisation
ETD	Electron Transfer Dissociation
EtOH	Ethanol
FE	Flächeneinheiten
GL	Globuline
GLIA	Gliadine
GLIA/GLUT	Gliadin/Glutenin-Verhältnis
GLUT	Glutenine
GMP	Gluteninmakropolymer
GP-HPLC	Gelpermeations-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
h	Stunde
HMW	hochmolekularer Proteinanteil (High-Molecular-Weight)
ICC	International Association for Cereal Science and Technology
kat	Katal
LC	Flüssigkeitschromatographie
LMW	niedermolekularer Proteinanteil (Low-Molecular-Weight)
LMW/HMW	Verhältnis aus LMW und HMW
MBT	Mikrobacktest
MeOH	Methanol
min	Minute
MOMT	Mikro-Opti-Mix-Test

MOPS	3-(N-Morpholino)-propansulfonsäure
M_r	relative molare Masse
MRMT	Mikro-Rapid-Mix-Test
MS	Massenspektrometrie
p. a.	pro analysi
PWG-GLIA	Prolamin Working Group Gliadin
R_{max}	Dehnwiderstand
RMT	Rapid-Mix-Test
RP-HPLC	Umkehrphasen-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde
SD	Standardabweichung
SDS	Natriumdodecylsulfat
SDSL	in Natriumdodecylsulfatlösung löslicher Proteinanteil
SDS-PAGE	Natriumdodecylsulfat-Polyacrylgelelektrophorese
SDSU	unlöslicher Proteinanteil nach Extraktion mit Natriumdodecylsulfat
spez. V.	spezifisches Volumen von Brötchen (mL/g Brot)
TCEP	Tris(2-carboxyethyl)phosphin
TFA	Trifluoressigsäure
TM	Trockenmasse
TRIS	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
UE	Untereinheit(en)
2D	zweidimensional

Abkürzungen für Aminosäuren

A	Alanin
B	Asparaginsäure oder Asparagin
C	Cystein
D	Asparaginsäure
E	Glutaminsäure
F	Phenylalanin
G	Glycin
H	Histidin
I	Isoleucin
K	Lysin
L	Leucin
M	Methionin
N	Asparagin
P	Prolin
Q	Glutamin
R	Arginin
S	Serin
T	Threonin
V	Valin
W	Tryptophan
Y	Tyrosin
Z	Glutaminsäure oder Glutamin

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1: Schematischer Längsschnitt durch die Karyopse von Weizen.....	3
Abbildung 1.2: Molekulargewichtsverteilung der Kleberproteine	27
Abbildung 1.3: Standard-Disulfidbindungen der α - und γ -Gliadine	34
Abbildung 1.4: Zusätzliche Disulfidbindungen in Kleberproteinen	35
Abbildung 1.5: Disulfidbindungen der LMW- und HMW-UE.....	36
Abbildung 1.6: Strukturmodell von Glutenin (GLUT).....	39
Abbildung 3.1: GMP-Gel Isolierung mittels Abkratzmethode.....	49
Abbildung 3.2: Labor- und Ultrazentrifuge im Vergleich	51
Abbildung 3.3: Extraktionsschema zur Gewinnung der GMP-Gele	52
Abbildung 3.4: SDS-PAGE unter un- und reduzierenden Bedingungen	60
Abbildung 3.5: Chromatogramm eines enz. Hydrolysates aus GMP-Gel	65
Abbildung 3.6: Nicht-reduzierende SDS-PAGE der Hydrolysate und Rückstände .	66
Abbildung 3.7: Differenzchromatographie mittels RP-HPLC.....	67
Abbildung 3.8: GP-HPLC-Trennung des enz. Hydrolysates aus GMP-Gel.....	68
Abbildung 3.9: Differenzchromatographie der GP-HPLC-Fraktion 1	69
Abbildung 3.10: Differenzchromatographie der GP-HPLC-Fraktion 6	70
Abbildung 3.11: Nomenklatur der Ionen nach Fragmentierung eines Peptides	72
Abbildung 3.12: Electron Transfer Dissociation (ETD)	72
Abbildung 3.13: LC-MS ² -Spektrum (CID) des Cystinpeptids II (A)	76
Abbildung 3.14: LC-MS ² -Spektrum (ETD) des Cystinpeptids II (A)	77
Abbildung 3.15: LC-MS ² -Spektrum (CID) des Cystinpeptids VI (A, W).....	80
Abbildung 3.16: LC-MS ² -Spektrum (ETD) des Cystinpeptids VI (A, W).....	80
Abbildung 3.17: Bekannte Disulfidbindungen der Kleberproteine.....	89
Abbildung 3.18: Erstmals in GMP-Gelen identifizierte Disulfidbindungen.....	91
Abbildung 3.19: Prototyp des neuen registrierenden Knet-Messgerätes.....	95
Abbildung 3.20: Lageraufsatz des Flügelmixers	97
Abbildung 3.21: 3D-Konstruktionsplan des Mikrokneters	98
Abbildung 3.22: 3D-Konstruktionsplan des Rührwerkes	99
Abbildung 3.23: Konstruktionsplan des Rührwerk-Querschnittes	100
Abbildung 3.24: Unterschiedliche Geometrien für den Mikrokneter.....	100
Abbildung 3.25: Detailansicht des Rührwerkes	101
Abbildung 3.26: Mikrokneter nach dem Umbau.....	102

Abbildung 3.27: Zustand des Teiges nach dem Anteigen im Spiralkneter.....	103
Abbildung 3.28: Vergleich von Knetkurven verschiedener Mikrokneter	106
Abbildung 3.29: Knetkurven mit unterschiedlichen Drehzahlen im Vergleich	107
Abbildung 3.30: Knetkurven von unterschiedlichen Teigen im Vergleich	108
Abbildung 3.31: Reproduzierbarkeit des Spiralkneters	109
Abbildung 3.32: Spez. Brotvolumina in Abhängigkeit von den Knetbedingungen...	113
Abbildung 3.33: Beziehungen zwischen MOMT, MBT und RMT	121
Abbildung 3.34: Knet- bzw. Rührbecher des MRMT- und MOMT-Kneters	126
Abbildung 3.35: Mikro-Rapid-Mix-Test (MRMT)-Kneter.....	127
Abbildung 3.36: Beziehung zwischen MOMT-Volumen und GMP-Gehalt in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der HMW-UE	131
Abbildung 3.37: Beziehung zwischen MOMT-Volumen und GMP-Gehalt in Abhängigkeit vom Mehlsortiment.....	132
Abbildung 7.1: CID-Spektrum des Cystinpeptids I (A)	xxxii
Abbildung 7.2: CID-Spektrum des Cystinpeptids III (A)	xxxiii
Abbildung 7.3: CID-Spektrum des Cystinpeptids III (W)	xxxiii
Abbildung 7.4: CID-Spektrum des Cystinpeptids IV (A).....	xxxiv
Abbildung 7.5: CID-Spektrum des Cystinpeptids IV (W).....	xxxiv
Abbildung 7.6: CID-Spektrum des Cystinpeptids V (A).....	xxxv
Abbildung 7.7: CID-Spektrum des Cystinpeptids V (W).....	xxxv
Abbildung 7.8: CID-Spektrum des Cystinpeptids VI (W).....	xxxvi
Abbildung 7.9: CID-Spektrum des Cystinpeptids VII (A).....	xxxvii
Abbildung 7.10: CID-Spektrum des Cystinpeptids VIII (A).....	xxxvii
Abbildung 7.11: CID-Spektrum des Cystinpeptids IX (A).....	xxxviii
Abbildung 7.12: CID-Spektrum des Cystinpeptids X (A).....	xxxviii
Abbildung 7.13: CID-Spektrum des Cystinpeptids XI (A).....	xxxix
Abbildung 7.14: CID-Spektrum des Cystinpeptids XI (W).....	xxxix
Abbildung 7.15: CID-Spektrum des Cystinpeptids XII (A).....	xl
Abbildung 7.16: CID-Spektrum des Cystinpeptids XIII (A).....	xli
Abbildung 7.17: CID-Spektrum des Cystinpeptids XIV (A)	xlii
Abbildung 7.18: CID-Spektrum des Cystinpeptids XV (A)	xlii
Abbildung 7.19: CID-Spektrum des Cystinpeptids XVI (A)	xliii
Abbildung 7.20: CID-Spektrum des Cystinpeptids XVII (A)	xliv
Abbildung 7.21: CID-Spektrum des Cystinpeptids XVII (W)	xliv

Abbildung 7.22: CID-Spektrum des Cystinpeptids XVII (A)	xlvi
Abbildung 7.23: CID-Spektrum des Cystinpeptids XVIII (W)	xlvii

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1: Proteinverteilung verschiedener Weizensorten.....	20
Tabelle 1.2: Gliadintypen verschiedener Weizensorten.....	23
Tabelle 1.3: Glutenintypen verschiedener Weizensorten.....	24
Tabelle 3.1: Charakterisierung der Mehle der Weizensorten Akteur und Winnetou	45
Tabelle 3.2: Rohproteingehalte von gefriergetrockneten GMP-Gelen	50
Tabelle 3.3: Quantitative Verteilung der isolierten Fraktionen	53
Tabelle 3.4: GP-HPLC-Analyse der Fraktionen der Isolierung von GMP-Gelen.....	54
Tabelle 3.5: Zusammensetzung der GMP-Gele	55
Tabelle 3.6: Proteinverteilung der Mehle und der GMP-Gele	59
Tabelle 3.7: Cystinpeptide aus bekannten Disulfidbindungen von Kleberproteinen	74
Tabelle 3.8: Identifizierte Cystinpeptide von bekannten Disulfidbindungen	78
Tabelle 3.9: Zuordnung der Disulfidbindungen in erstmals identifizierten Cystinpeptiden zu Proteintypen des Weizenklebers	82
Tabelle 3.10: Cystinpeptide IX (A) und X (A).....	83
Tabelle 3.11: Cystinpeptide XII (A) und XIII (A).....	84
Tabelle 3.12: Cystinpeptid XI (A, W).....	84
Tabelle 3.13: Cystinpeptid XIV (A).....	85
Tabelle 3.14: Cystinpeptid XV (A).....	85
Tabelle 3.15: Cystinpeptid XVI (A).....	86
Tabelle 3.16: Cystinpeptid XVII (A, W)	87
Tabelle 3.17: Cystinpeptid XVIII (A, W)	87
Tabelle 3.18: Temperatur von Teigen in Abhängigkeit von den Knetbedingungen.	105
Tabelle 3.19: Bestimmung der optimalen Knetbedingungen für den MOMT	112
Tabelle 3.20: Knetzeit bis zum Kurvenoptimum und spezifisches Brotvolumen bei Drehzahlen des Spiralknetters von 300 und 500 U/min.....	114
Tabelle 3.21: Mehlsortiment zur Durchführung des MOMT	115
Tabelle 3.22: Spezifische Volumina der MOMT-Brötchen	116
Tabelle 3.23: Korrelationskoeffizienten zwischen MOMT-, MBT-, RMT-Volumina und indirekten Qualitätsparametern.....	119
Tabelle 3.24: Korrelation zwischen MOMT-, MBT-, RMT-Volumina und GMP-Parametern.....	130

Tabelle 3.25: Korrelationen zwischen MOMT-, MBT-, RMT-Volumina und indirekten Qualitätsparametern in Abhängigkeit vom Erntejahr.....	133
Tabelle 4.1: Geräteparameter des Leco TruSpec Nitrogen Analyzers	140
Tabelle 4.2: RP-HPLC-Bedingungen zur Quantifizierung der Osbornefraktionen	143
Tabelle 4.3: GP-HPLC-Bedingungen zur Messung von GMP	145
Tabelle 4.4: RP-HPLC Bedingungen zur Untersuchung thermolytischer Hydrolysate von GMP-Gel.....	150
Tabelle 4.5: GP-HPLC Bedingungen zur Fraktionierung thermolytischer Hydrolysate von GMP-Gelen	152
Tabelle 4.6: RP-HPLC Bedingungen der Differenzchromatographie.....	153
Tabelle 4.7: Bedingungen der Analyse thermolytischer Hydrolysate von GMP-Gelen und deren GP-HPLC-Fractionen mittels LC-MS/MS.....	154
Tabelle 4.8: Grenzen des Korrelationskoeffizienten (r).....	159
Tabelle 7.1: Aminosäuresequenz eines γ -Gliadins, UniProtKB: B6UKN9	xviii
Tabelle 7.2: Aminosäuresequenz eines γ -Gliadins, UniProtKB: D0ES85	xviii
Tabelle 7.3: Aminosäuresequenz einer LMW-UE, UniProtKB: P10386.....	xix
Tabelle 7.4: Aminosäuresequenz einer LMW-UE, UniProtKB: Q52NZ4.....	xix
Tabelle 7.5: Aminosäuresequenz einer LMW-UE, UniProtKB: B2Y2Q7.....	xx
Tabelle 7.6: Aminosäuresequenz einer LMW-UE, UniProtKB: D3U39	xx
Tabelle 7.7: Aminosäuresequenzfragment einer LMW-UE, UniProtKB: Q41549 ...	xx
Tabelle 7.8: Aminosäuresequenz der HMW-UE Dx2.....	xxi
Tabelle 7.9: Aminosäuresequenz der HMW-UE Dx5.....	xxii
Tabelle 7.10: Aminosäuresequenzfragment der HMW-UE Bx6.....	xxiii
Tabelle 7.11: Aminosäuresequenz der HMW-UE Bx7	xxiv
Tabelle 7.12: Aminosäuresequenz der HMW-UE Dy10.....	xxv
Tabelle 7.13: Aminosäuresequenz der HMW-UE Dy12.....	xxvi
Tabelle 7.14: Cysteinpeptide der Aminosäuresequenzen von 7.1	xxvii
Tabelle 7.15: Spez. V. der Brötchen des MOMT der 30 Mehle	xlvi
Tabelle 7.16: Spez. V. der Brötchen des MBT der 30 Mehle.....	xlix
Tabelle 7.17: Spez. V. der Brötchen des RMT der 30 Mehle.....	l
Tabelle 7.18: Feuchtklebergehalte der 30 Mehle.....	li
Tabelle 7.19: Rohproteingehalte der 30 Mehle.....	lii
Tabelle 7.20: Fallzahlen der 30 Mehle.....	liii
Tabelle 7.21: Gehalte der Osbornefraktionen der 30 Mehle	liv

Tabelle 7.22: Gehalte der Gliadintypen der 30 Mehle	lv
Tabelle 7.23: Gehalte der Gluteninuntereinheiten nach Osborne der 30 Mehle	lvi
Tabelle 7.24: Mikrozugversuche mit Teigen aus 30 Mehlen.....	lvii
Tabelle 7.25: Zugversuche an einem Extensographen (Dehnwiderstand)	lviii
Tabelle 7.26: Zugversuche an einem Extensographen (Dehnbarkeit).....	lix
Tabelle 7.27: Zugversuche an einem Extensographen (Energie).....	lx
Tabelle 7.28: Vergleich der spez. V. aus dem MOMT und dem MBT	lxi
Tabelle 7.29: Variation der Wasserzugabe im MBT	lxii
Tabelle 7.30: Gehalte des GMP und SDSL-Anteils der 30 Mehle	lxiii
Tabelle 7.31: Gehalte der Proteinuntereinheiten des GMP der 30 Mehle	lxiv
Tabelle 7.32: Signifikanzen der Unterschiede der spez. V. bei verschiedenen Anteigbedingungen.....	lxv
Tabelle 7.33: Signifikanzen der Unterschiede der spez. V. bei unterschiedlichen Drehzahlen	lxvi
Tabelle 7.34: Pearson Produkt Moment Korrelation indirekter Qualitätsparameter mit dem spez. V. aus drei Backversuchen.....	lxvii
Tabelle 7.35: Pearson Produkt Moment Korrelation der Ergebnisse der SDSL/GMP- Fraktionierung mit den spez. V. aus drei Backversuchen	lxviii
Tabelle 7.36: Pearson Produkt Moment Korrelation der Ergebnisse der SDSL/GMP- Fraktionierung mit den spez. V. aus drei Backversuchen	lxix

1 Einleitung

1.1 Weizen

1.1.1 Geschichte

Seit alters her spielt Getreide in der menschlichen Ernährung eine sehr wichtige Rolle. Aus christlicher Sicht fing mit der Vertreibung aus dem Paradies die Kunst des Ackerbaus bzw. die Arbeit auf dem Acker an. Nachdem Gott der Herr bemerkte, dass Adam und Eva vom verbotenen Baum Früchte gegessen hatten, sprach er zu Adam: „So ist verflucht der Ackerboden deinetwegen. Unter Mühsal wirst du von ihm essen alle Tage deines Lebens. Dornen und Disteln lässt er dir wachsen, und die Pflanzen des Feldes musst du essen. Im Schweiß deines Angesichts sollst du dein Brot essen, bis du zurückkehrst zum Ackerboden; von ihm bist du ja genommen (Genesis 3, 1-24)“.

Die Menschen, ursprünglich Jäger und Sammler, konnten auf fruchtbarem Boden das Feld bestellen und sesshaft werden. Der sogenannte fruchtbare Halbmond gilt als die Wiege des frühen Ackerbaus. Funde, die auf Ackerbau hinweisen, gehen bis 8000 v. Chr. zurück. Somit zählen zu den Urspeisen der Menschen nicht nur Fleisch und Fisch aus der Jagd, sowie Wurzeln und Knollen, sondern auch Getreidenahrung, die als Brei, Mus oder Suppe eingenommen wurde. Die frühen Brotsorten waren Fladen. Dabei handelte es sich um gemörserte Getreidekörner, die mit Wasser aufgegossen wurden. Aus dem entstandenen Brei wurden flache Gebäcke geformt und an der Sonne getrocknet oder über dem Feuer geröstet [EBERTSHÄUSER UND STOCKER, 2004; BROWN ET AL., 2009]. Diese primitiven Formen von „Brot“ existieren auch heute noch und haben für manche Völker eine traditionelle Bedeutung, wie z. B. ungesäuertes jüdisches Brot, indisches Chapati oder schottische Haferkekse. Die Sumerer waren die Ersten, die ca. 6000 v. Chr. gesäuertes Brot gebacken haben. Dieses Wissen wurde ca. 3000 Jahre später an die Ägypter überliefert und von dort aus verbreitete es sich weiter an die Griechen und Römer [BELDEROK, 2000].

Durch den fortschreitenden Ackerbau vermehrte sich die Bevölkerung zusehends, denn Getreide bedeutete Leben. Alle Hochkulturen der Menschheit, von Sumer über

Ägypten, Indien, China bis zu den altamerikanischen Völkern wie z. B. den Maya und Inka, hätten sich ohne den Anbau von Getreide nicht in dem Maße entwickeln können [ZIEHR ET AL., 1984].

Im Mittelalter stellte Roggen das wichtigste Getreide für die menschliche Ernährung in Zentral- und Osteuropa dar. Während reiche Leute es sich leisten konnten, Brote aus einer Mischung von Roggen und Weizen zu essen, mussten arme Menschen bei Roggenknappheit ihr Mehl mit Haferflocken, Bohnen, Erbsen oder sogar Eicheln strecken. In der Mitte des 18. Jahrhunderts erfreute sich Weizen zunehmender Beliebtheit, wobei sich die ärmsten Leute immer noch mit Roggen begnügen mussten [BELDEROK, 2000].

Im 19. Jahrhundert wanderten viele Europäer nach Nordamerika und Kanada aus. Ein Großteil davon war sehr arm und erhoffte sich in der neuen Welt ein besseres Leben. Die Siedler brachten Saatgut aus Europa mit und leisteten somit einen großen Beitrag zur Verbreitung von Weizen. Durch die Mechanisierung der Landwirtschaft konnten immer größere Felder, die in den Vereinigten Staaten von Amerika reichlich vorhanden waren, bestellt werden und der Ernteertrag gesteigert werden [JACOB, 1956]. Durch den Ausbau des Schienennetzwerkes quer durch Nordamerika konnte nun mühelos auch der westliche Teil des Landes beliefert werden. Von dort aus fand der Weizen seinen Weg über das Wasser zurück nach Europa. Durch die großen Anbauflächen und günstigen Transportkosten konnte der Weizen aus den Vereinigten Staaten von Amerika und Kanada sehr günstig verkauft werden. Noch dazu hatten die dortigen Weizensorten höhere Proteinkonzentrationen als europäische Weizensorten und hervorragende Backeigenschaften. Selbst im Jahr 1950 stammten noch 75 % des Weizens, der für Brote in Westeuropa verwendet wurde, aus den Vereinigten Staaten von Amerika und Kanada [BELDEROK, 2000].

Ab Mitte des 20. Jahrhunderts wurde Europa zunehmend unabhängiger von den Weizenimporten aus den Vereinigten Staaten von Amerika und Kanada. Durch Neuzüchtungen von Sorten, verbesserte Düngungsmethoden, aber auch durch den Einsatz von Herbiziden und Fungiziden, konnten die Qualität und der Ertrag von Weizen gesteigert werden. Im Vertrag zur Gründung der Europäischen Wirtschaftsgemeinschaft (1957, in Rom) willigten die beteiligten Staaten ein, ihren Agrarprodukten bessere Chancen auf dem Markt zu bieten, um von Drittstaaten unabhängiger zu werden [BELDEROK, 2000].

1.1.2 Struktur und chemische Zusammensetzung

Getreide, aus der Familie der Gräser (*Poaceae*; *Windbestäuber*) stammend, bezeichnet die ausgedroschenen oder gerebelten reifen Früchte von Weizen (*Triticum*), Roggen (*Secale*), Gerste (*Hordeum*), Hafer (*Avena*), Mais (*Zea*), Reis (*Oryza*) und Hirse (Mohrenhirse = *Sorghum*, Rispenhirse = *Millet*). Weizen zählt zu den wichtigsten Getreidearten der Welt [BELITZ ET AL., 2001]. Das Weizenkorn ist eine Karyopse (Schließfrucht), d. h. eine Sonderform der einsamigen Nussfrucht, die aus einem oberständigen Fruchtknoten entstanden ist und bei der die vollständig verholzte Fruchtwand (alle drei Schichten des Perikarps) mit der Samenschale verwachsen ist [NULTSCH UND GRAHLE, 1983]. Im Inneren befindet sich das Endosperm, das sich aus dem Mehlkörper (83-85 % des Kornes) und der wabenförmigen, einzelligen Aleuronschicht (7-9 %) zusammensetzt (Abbildung 1.1). Die Aleuronschicht ist reich an Reserveprotein, weiterhin enthält sie Mineralstoffe, Vitamine (hauptsächlich aus der B-Gruppe), Enzyme und Fett. Seitlich am Endosperm ist der Keimling (2-3 %) zu finden, der reich an Enzymen und Lipiden ist. Zusammen mit der Frucht- und Samenschale (ca. 5 %) bilden die Aleuronschicht und der Keimling die Kleie.

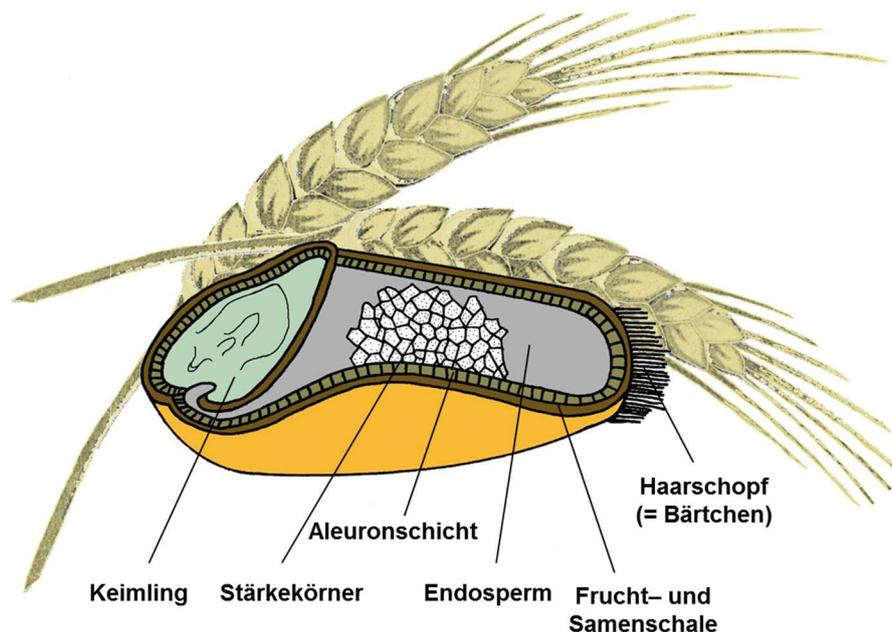


Abbildung 1.1: Schematischer Längsschnitt durch die Karyopse von Weizen

Zeichnung in Anlehnung an Wieser et al., S. 98 [2014]

Der Wassergehalt, der durchschnittlich bei 14 % liegt, wird durch Witterungsbedingungen stark beeinflusst. Das wichtigste Kohlenhydrat im Weizen, das im

Mehlkörper zu finden ist, stellt die Stärke dar. Im Keimling und der Aleuronschicht ist der wesentliche Anteil des Weizenfettes (ca. 2 % des Kornes) zu finden. Deshalb sind Vollkornmehle, aufgrund von leicht verderbendem Fett, weniger lagerfähig als Auszugsmehle [BÖMER ET AL., 1938]. Generell nimmt der Proteingehalt von außen nach innen ab, insbesondere im Mehlkörper. Die Proteinfractionen, welche in Kapitel 1.3 näher erläutert werden, stellen die Albumine (AL), Globuline (GL), Gliadine (GLIA) und Glutenine (GLUT) dar. Weiterhin finden sich in geringen Mengen Stickstoffverbindungen wie Nucleotide, Amide und Eiweißabbauprodukte der Enzyme in Weizen wieder. Die wesentlichen Mineralstoffe sind Kalium- und Magnesiumphosphate. Durch Phosphate reagiert ein wässriger Auszug des Weizenkorns sauer. Phytasen können den Anteil an freiem Phosphat erhöhen, so dass der Säuregrad mit zunehmendem Alter ansteigt. Wichtige Enzyme im Weizen stellen die Amylasen dar, die für den Abbau der Stärke verantwortlich sind. Weiterhin beinhaltet Weizen bedeutende Mengen an Vitaminen der B-Gruppe sowie die Vitamine A und E, die überwiegend in den Randschichten zu finden sind [BÖMER ET AL., 1938]. Je nach Art, Sorte, Anbaugebiet und Erntebedingungen schwankt die chemische Zusammensetzung von Weizen [HEGSTED ET AL., 1954].

1.1.3 Vorkommen und Anbau

Weizen ist im Anbau anspruchsvoller als die meisten anderen Getreidearten. Zum einen braucht er viel Zeit von der Saat bis zur Ernte und zum anderen muss er rasch geerntet werden, wenn er reif ist. Reifer Weizen ist sehr feuchtigkeitsempfindlich und fängt bei einem zu hohen Feuchtigkeitsgehalt zu keimen an. Dadurch besteht die Gefahr des Schimmelbefalls und durch den enzymatischen Abbau von Stärke und Proteinen sinkt die Backqualität. Bevorzugt wächst er auf humusreichen oder leicht lehmigen Sandböden, die häufig in Westeuropa und Süddeutschland zu finden sind. Aufgrund der großen Mannigfaltigkeit seiner Sorten ist es heute möglich, Weizen weltweit anzubauen, da die Anbausorte entsprechend den gegebenen Bedingungen ausgewählt werden kann. Hauptsächlich wird *Triticum aestivum* (Weich- oder Saatweizen) angebaut, der als Winter- oder Sommerweizen erhältlich ist. In Mitteleuropa wird der Winterweizen im Oktober gesät. Ist dieser Temperaturen unter $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ ausgesetzt, können die Keime geschädigt werden. Bei Sommerweizen, der im März ausgesät wird, ist nur eine kurze Vegetationszeit nötig. Allerdings sind die Erträge bis zu 25 % geringer als bei Winterweizen. Die Menge des Kleberproteins

wird stark von der Verfügbarkeit von Wasser während der Reifezeit beeinflusst [ZIEHR ET AL., 1984].

Auf dem Weltmarkt herrscht derzeit ein reichliches Angebot an Weizen. Im Erntejahr 2014 betrug die Weltweizenernte 729 Mio. t, wobei in Deutschland 28 Mio. t produziert wurden. Der durchschnittliche, weltweite Ertrag betrug 33 dt/ha, während in Deutschland durchschnittliche Erträge von 86 dt/ha erreicht wurden [FAOSTAT, 09.06.2017]. In Deutschland stand 2015 für Wintergetreide eine Anbaufläche von 5,56 Mio. ha zur Verfügung, davon wurden auf 3,25 Mio. ha Winterweizen angebaut [DESTATIS, 12.03.2016]. Bayern stellt in Deutschland eine Weizenüberschussregion, mit in der Regel qualitativ hochwertigem Weizen, dar. Somit kann die bayerische Mühlenwirtschaft vollständig versorgt werden. Zur Tierfütterung wird fast die Hälfte der Erntemenge benötigt und durch den zusätzlichen Einsatz von Biogasweizen steigt der Verbrauch von Weizen stetig an [LFL, 2012].

1.1.4 Entwicklung und Züchtung

Weizen ist nach Mais und Reis die wichtigste Getreideart für die menschliche Ernährung. Weltweit wurden im Jahr 2014 1.037.791.518 t Mais, 741.477.711 t Reis und 729.012.175 t Weizen produziert [FAOSTAT, 09.06.2017]. Die verschiedenen Arten werden nach ihrer Chromosomenanzahl unterschieden. Die Einteilung erfolgt nach der diploiden Einkornreihe ($2n = 14$, Spelzweizen mit flachen Ähren und glasigen, oft rötlichen Körnern), der tetraploiden Emmerreihe ($2n = 28$) und der hexaploiden Dinkelreihe ($2n = 48$), wobei die Einkorn- und Emmerreihe die ersten Wildformen des Weizens darstellen [HEUN ET AL., 1997; LUO ET AL., 2007]. Der diploide Einkorn (*Triticum monococcum*) besitzt zwei Sätze von sieben Chromosomen (insgesamt 14), auch AA-Genom genannt. Durch spontane Einkreuzung des BB-Genoms aus einem unbekanntem Wildgras entstanden die sogenannten AABB-Pflanzen, zu denen auch der tetraploide Emmer (*Triticum dicoccoides* und *Triticum dicoccum*) und der Durumweizen (*Triticum durum*) zählen. Eine weitere Einkreuzung mit *Aegilops squarrosa* (auch *Aegilops tauschii* genannt), einem Unkraut ohne ökonomischen Wert, das an Grenzflächen zu Weizenfeldern im Nahen Osten wuchs, führte zu der hexaploiden Dinkelreihe (*Triticum spelta*) mit dem AABBDD-Genom, dem auch der Brotweizen (*Triticum aestivum*) angehört [BELDEROK, 2000].

Von Bedeutung an Brotweizen für den weltweiten Bedarf ist heutzutage der Nacktweizen (ca. 90 % des Weltanbaus), der zu der Dinkelreihe zählt und der Durumweizen, zugehörig zur Emmerreihe. Beim Durumweizen (Hartweizen) handelt es sich um einen raschwüchsigen Sommerweizen, der zur Herstellung von Teigwaren dient. In manchen Regionen wird der robuste, bespelzte Dinkel (Winterweizen) angebaut, der einen hohen Glutengehalt aufweist [FEUILLET ET AL., 2008].

1.1.5 Die physiologische Rolle für den menschlichen Körper

Getreideprodukte sind bedeutende Grundnahrungsmittel des Menschen und decken in den Industriestaaten etwa 50 % des Kohlenhydratbedarfs. Weiterhin spielen sie eine große Rolle zur Deckung der benötigten Menge an Protein und des Bedarfs an B-Vitaminen sowie Spurenelementen und Mineralstoffen [BELITZ ET AL., 2001]. Laut FAO [2000] werden weltweit 48 % der aufgenommenen Energie und 43 % des Proteinbedarfs durch Getreide gedeckt.

Das Hauptkohlenhydrat von Getreide ist der Reservestoff Stärke. Sie wird in den Amyloplasten des Endosperms gebildet und besteht aus Amylose und Amylopektin. Durch Amylasen wird die Stärke im menschlichen Körper zu Glucose abgebaut und aus dieser kann durch weiteren Abbau, durch die Glykolyse, Energie gewonnen werden. Vor allem in den Randschichten des Korns befinden sich zahlreiche Ballaststoffe, die vor allem einen positiven Effekt auf die Verdauung ausüben. Der Proteingehalt, der im ganzen Korn für pflanzliche Lebensmittel relativ hoch ist (7-13 %), nimmt in seiner biologischen Wertigkeit ab, je niedriger das Mehl ausgemahlen ist. Ebenso verhält es sich mit den Mineralstoffen und Vitaminen, die überwiegend in den Randschichten und im Keimling zu finden sind. Eine kleine, aber wertvolle Gruppe an Nährstoffen im Getreide stellen die sekundären Pflanzeninhaltsstoffe wie z. B. Phytosterine und Saponine dar. Deren Wirkungen sind noch nicht umfassend untersucht, jedoch werden sie überwiegend als gesundheitsfördernd eingestuft. Phytosterine werden z. B. als Cholesterinhemmer in Margarine eingesetzt [BELITZ ET AL., 2001; KOERBER ET AL., 2012]. Insgesamt betrachtet liefern Vollkornprodukte dem Menschen fast alle benötigten Nährstoffe. Es fehlt z. B. Vitamin C und nur in geringen Mengen sind Calcium, sowie die essentiellen Aminosäuren (AS) Lysin und Methionin vorhanden [SOUCI ET AL., 2011].

Die große Bedeutung der Getreideprodukte ist jedoch nicht nur ernährungsphysiologisch, sondern auch ernährungswirtschaftlich zu begründen. Sie zählen zu den preiswertesten Lebensmittelerzeugnissen, sind in Mangelzeiten relativ leicht verfügbar und lassen sich gut transportieren und lagern [KOERBER ET AL., 2012].

Es gibt jedoch auch Menschen, die glutenhaltige Getreideprodukte nicht vertragen. Hierbei handelt es sich entweder um eine Glutensensitivität, Weizenallergie oder um Zöliakie. An Zöliakie leidet ca. 1 % der westlichen Bevölkerung. Zöliakie ist eine chronische Erkrankung des Dünndarms, die aufgrund einer Entzündung zum Abbau der Darmzotten führt. Typische Symptome sind z. B. Verdauungsstörungen, Erbrechen und Appetitlosigkeit. Die derzeit einzige wirksame Therapie ist der völlige Ausschluss von glutenhaltigen Lebensmitteln aus der Nahrung [SAPONE ET AL., 2012; SCHERF ET AL., 2016].

1.2 Methoden zur Bestimmung der Weizen- und Backqualität

Die Backeigenschaften von Mehlen sind wesentlich durch die Inhaltsstoffe des Getreidekorns (1.4) und die anschließende Verarbeitung bestimmt. Zur Bestimmung der Backqualität und Charakterisierung von Weizenmehlen werden sowohl standardisierte Backversuche (z. B. Rapid-Mix-Test = RMT), sogenannte direkte Qualitätsparameter, sowie physikalische (z.B. rheologische Untersuchungen) und chemisch-analytische (z.B. Osbornefraktionierung) Methoden, die als indirekte Qualitätsparameter bezeichnet werden, herangezogen. Die Vorhersage der Backqualität ist sowohl ausschlaggebend für die Preisbestimmung der jeweiligen Weizensorte als auch für die weitere Verwendung des Mehles.

1.2.1 Definition der Weizen- und Backqualität

Die Weizen- und Backqualität zu definieren ist sehr komplex, zumal es internationale Unterschiede gibt und dem Erzeuger bzw. Bäcker unterschiedliche Kriterien wichtig sind. Für den Pflanzenzüchter und den Landwirt spielen Ertragsleistung und Widerstandsfähigkeit gegenüber Krankheitserregern eine sehr große Rolle [HARTL, 2010; KAZMAN, 2010]. Der Müller legt großen Wert auf eine gute Mahlfähigkeit und Mehlausbeute. Der Bäcker erwartet neben einer hohen Wasseraufnahmefähigkeit gute Verarbeitungseigenschaften und Brote mit einer lockeren, gleichmäßigen Krume und hohem Brotvolumen [GMF, 2004].

In Deutschland wird die Backqualität der Sorten anhand einer Wertprüfung erfasst. Diese wird durch das Bundessortenamt durchgeführt und entsprechend der Ergebnisse werden die Sorten in sogenannte Qualitätsklassen eingeteilt. Die Sorten mit ihrer entsprechenden Klassifizierung werden in der nach § 56 Saatgutverkehrsgesetz (SaatG) beschreibenden Sortenliste jährlich veröffentlicht. Als indirekte Qualitätseigenschaften gelten die Ergebnisse der Fallzahlbestimmung, der Rohproteingehalt, der Sedimentationswert, die Griffigkeit (Maß für die Kornhärte) und die Wasseraufnahme. Weiterhin fließen in die Bewertung der Qualität Mahleigenschaften wie die Mineralstoffwertzahl und die Mehlausbeute (Type 550) mit ein. Als Backeigenschaften sind die Volumenausbeute, Teigeigenschaften, Elastizität und Oberflächenbeschaffenheit der Teige von Bedeutung. Es gibt gewisse Ausprägungsstufen der wichtigsten Qualitätseigenschaften, die erreicht werden müssen, um in die entsprechende Qualitätsgruppe eingeordnet zu werden [Beschreibende Sortenliste, 2017]. Die wichtigsten Qualitätseigenschaften sind das erzielte Brotvolumen (RMT) und der Rohproteingehalt im Korn [HARTL, 2010]. Nach Auswertung der Ergebnisse werden die Sorten in vier verschiedene Gruppen aufgeteilt (E-Gruppe: Eliteweizen, A-Gruppe: Qualitätsweizen, B-Gruppe: Brotweizen, C-Gruppe: sonstige Weizen). Zusätzlich können die Gruppen mit dem Index „K“ versehen werden, wenn die Sorte eine spezielle Eignung für die Waffel- und Keksherstellung mit sich bringt. Dies wird über einen speziellen Glutenaggregationstest überprüft [Beschreibende Sortenliste, 2017].

Insgesamt betrachtet sind für eine hohe Qualitätseinstufung und somit ein hohes Preisniveau einer Sorte vor allem das Backvolumen und der Rohproteingehalt ausschlaggebend. Allerdings wurde in den letzten Jahren zunehmend festgestellt, dass der Rohproteingehalt überschätzt wird. Dies zeigte sich in der Wertprüfung, da manche Sorten ein Backvolumen der E- oder A-Qualität erreichten, jedoch am zu niedrigen Rohproteingehalt scheiterten [HARTL, 2010]. Es zeichnet sich immer mehr ab, dass weniger die Proteinquantität als die Proteinqualität (1.4.1) ausschlaggebend für ein gutes Backergebnis und somit ein hohes Volumen ist [PAYNE, 1987; HARTL, 2010; SELING, 2010].

1.2.2 Indirekte Qualitätsparameter

1.2.2.1 Standardcharakterisierungen

Standardeigenschaften, die zur Beurteilung der Backqualität des Weizenmehles beitragen, sind z. B. der Feuchtigkeits- und der Aschegehalt des Mehles. Weizenmehle weisen einen durchschnittlichen Feuchtigkeitsgehalt von 14 % auf [SOUCI ET AL., 2008]. Liegt der Feuchtigkeitsgehalt unter 14 % ist das Mehl alterungsanfällig, während ein zu hoher Feuchtigkeitsgehalt die Lagerfähigkeit beeinträchtigt. Dabei kann es zu mikrobiellem Befall, insbesondere durch Mykotoxinbildner kommen [MILNER ET AL., 1947]. Ebenfalls ist die enzymatische Aktivität bei zu feuchtem Mehl erhöht und führt zu vermehrtem Abbau von hochmolekularen Speicherstoffen wie Kohlenhydraten und Proteinen. Dieser Abbau bewirkt eine Verschlechterung der Backqualität [BÖMER ET AL., 1938].

Mit Hilfe des Aschegehalts wird die Mehltypen nach DIN-Norm 10355 bestimmt. Diese gibt den Mineralstoffgehalt in mg je 100 g Trockenmasse (TM) an. Sowohl für die Feuchtigkeitsbestimmung (ICC Nr. 110/1) als auch für die Aschebestimmung (ICC Nr. 104/1) gibt es etablierte Standardverfahren der International Association for Science and Technology (ICC) [ICC, 1994].

Ein weiterer sehr wichtiger indirekter Qualitätsparameter, der ausschlaggebend für die Preisermittlung ist, ist der Rohproteingehalt von Weizenmehl [HARTL, 2010]. Bereits in den 1940er Jahren wurden positive Korrelationen zwischen der Backqualität und dem Rohproteingehalt im Mehl festgestellt [ZELENY, 1947; FINNEY UND BARMORE, 1948]. Es gibt verschiedene Methoden zur Bestimmung des Rohproteingehaltes. Laut ICC wird entweder die Dumas-Analyse (ICC Nr. 167) oder die Kjeldahl-Methode (ICC Nr. 105/2) empfohlen [ICC, 1994]. Bei beiden Methoden wird der Gesamtstickstoffgehalt ermittelt, so dass auch nichtproteinogener Stickstoff miterfasst wird. Dieser ist jedoch in so geringen Mengen vorhanden, dass das Endergebnis nur unwesentlich beeinflusst wird [BICSAK, 1993]. Neben dem Rohproteingehalt kann auch der Feuchtklebergehalt auf einfache Art und Weise bestimmt werden. Dieser setzt sich aus den Proteinfractionen der GLIA und GLUT zusammen, welche in 1.3.3 näher erläutert werden und dessen Quantität ebenfalls als Qualitätskriterium angesehen wird. Bereits im Jahre 1745 gelang es dem italienischen Professor Beccari, Gluten (auch Kleber genannt) aus Weizen zu isolieren und zu beschreiben. Jedoch konnten zu dieser Zeit die funktionellen

Eigenschaften noch nicht aufgeklärt werden [BAILEY, 1941]. Nach der ICC-Methode Nr. 155 werden Teige mit Hilfe der Perten-Glutomatik und einer Salzlösung ausgewaschen und der verbleibende Rückstand (Kleber) zentrifugiert und ausgewogen.

Ein weiterer Test, anhand dessen die Kleberqualität von Weizenmehl ermittelt wird, ist der sogenannte Sedimentationstest. Dieser wurde erstmals von Lawrence Zeleny 1947 beschrieben und von Axford und seinen Mitarbeitern 1978 weiterentwickelt [ZELENY 1947; AXFORD ET AL., 1978]. Bei diesem Test quellen die Mehlpartikel in der Sedimentationslösung reversibel auf und das Niederschlagsvolumen steht im linearen Zusammenhang mit dem zu erwartendem Backvolumen [MOONEN ET AL., 1982; ECKERT ET AL., 1993; WEEGELS ET AL., 1995].

Neben dem Protein spielt auch die Stärke eine entscheidende Rolle für die Backqualität von Weizenmehl. Hauptsächlich ist dafür die Wasserbinde- und Verkleisterungsfähigkeit der Stärke verantwortlich. Die Backeigenschaften der Stärke werden wiederum durch den Grad der Stärkebeschädigung, die durch das Mahlen entsteht und die α -Amylaseaktivität, die bei Auswuchs stark ansteigt, bestimmt. Der am häufigsten angewandte Test bzgl. der Stärkeeigenschaften ist die Bestimmung der Fallzahl nach Hagberg (ICC-Nr. 107/1), die Auskunft über durch die α -Amylaseaktivität induzierte Verringerung der Viskosität einer erhitzten Stärkesuspension gibt [HAGBERG, 1960; WANG ET AL., 2008].

1.2.2.2 Chromatographische und elektrophoretische Analyse der Weizenproteine

Wie in 1.4.1 ausführlich beschrieben, bestimmt nicht nur die Proteinquantität, sondern vor allem die Proteinqualität eine entscheidende Rolle für die Backqualität [HARTL, 2010; KAZMAN, 2010; SELING, 2010]. Diese kann anhand der An- und Abwesenheit sowie der Konzentration einzelner Proteinkomponenten des Weizens festgestellt werden, wobei verschiedene chromatographische Verfahren zum Einsatz kommen.

Allen voran sei hier die Osbornefraktionierung (1.3.3) erwähnt. Durch moderne Umkehrphasen-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (RP-HPLC) ist es heute möglich, die Osbornefraktionen in ihre Typen aufzutrennen [WIESER ET AL., 1994; WIESER ET AL., 1998]. Die quantitative Zusammensetzung der Proteinfractionen ist jedoch stark von den gewählten Parametern der Osbornefraktionierung abhängig, weshalb die Einhaltung standardisierter Parameter unbedingt erforderlich ist. Die

Fraktionierung wird unter anderem durch die Extraktionsmittel, die Temperatur aber auch die Durchführung, z. B. die Dauer der Extraktion, beeinflusst. Die modifizierte Osbornefraktionierung im Kleinmaßstab (100 mg Ansatz) nach Wieser et al. [1998] hat sich bewährt und wurde in dieser Arbeit, bis auf ein paar kleine Veränderungen, verwendet (4.3.1). Anhand dieser Methode werden die Proteine in drei Hauptfraktionen aufgetrennt (Albumine plus Globuline = ALGL, GLIA und GLUT).

Die GLIA-Fraktion kann weiterhin in die Typen ω 5-, ω 1,2-, α - und γ -GLIA aufgetrennt werden und die GLUT-Fraktion in ω _b-GLIA, hochmolekulare Gluteninuntereinheiten (HMW-UE) und niedermolekulare Gluteninuntereinheiten (LMW-UE). In der GLIA-Fraktion befindet sich auch ein kleiner Anteil an oligomeren Proteinen, der auch ethanollösliches GLUT oder HMW-GLIA genannt wird. Der Elutionsbereich bei der RP-HPLC deckt sich mit den α -GLIA [HUEBNER UND BIETZ, 1993]. Ebenfalls befinden sich in der GLUT-Fraktion die ω _b-GLIA. Bei diesem Proteintyp handelt es sich um ω 1,2-GLIA, in denen durch eine Punktmutation ein Serin- gegen einen Cysteinrest ausgetauscht wurde, wodurch diese Proteine während der Extraktion an die GLUT gebunden werden [KECK ET AL., 1995].

Ein weiteres chromatographisches Verfahren zur quantitativen Bestimmung einzelner Proteinfractionen stellt die Gelpermeationschromatographie (GP-HPLC) dar. Während bei der RP-HPLC die Proteine nach zunehmender Hydrophobität getrennt werden, findet bei der GP-HPLC die Trennung nach der Molekülgröße statt. Zur quantitativen Bestimmung des Gluteninmakropolymers (GMP), welches in 1.3.4 näher beschrieben wird, bietet sich dieses Verfahren an, da die RP-HPLC für die Trennung dieser Fraktion schlecht geeignet ist [GRAVELAND ET AL., 1979; DACHKEVITCH UND AUTRAN, 1989; CORNEC ET AL., 1993]. Dazu wird das Mehl mit einem Natriumdodecylsulfat (SDS)-Extraktionsmittel versetzt, die SDS-löslichen Proteine abgetrennt, der verbleibende Rückstand (GMP) durch Reduktion in Lösung gebracht und mittels GP-HPLC quantifiziert [THANHAEUSER ET AL., 2014].

Beide HPLC-Methoden werden mit dem Referenzmaterial der Prolamin Working Group, dem sogenannten PWG-GLIA, kalibriert [VAN ECKERT ET AL., 2006].

Qualitative Aussagen über vorhandene Protein-UE und deren Typen können über die SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese (SDS-PAGE) getroffen werden. Mit Hilfe dieser Methode werden die Proteine, die durch SDS entfaltet und nach Reduktion als Monomere vorliegen in einem elektrischen Feld nach ihrer Molekülmasse getrennt. Vorreiter war der Schweizer Wissenschaftler Laemmli, der diese Methode

entwickelte. Dieser arbeitete mit einem Tris-Glycin-Puffer und konnte Proteinbanden mit relativen molaren Massen (M_r) zwischen $M_r = 5.000$ und $M_r = 250.000$ trennen [LAEMMLI, 1970]. Die Nomenklatur der HMW-UE, die auf das Laemmli-System zurückzuführen ist, stammt von Payne et al. [1981b]. Durch das in den letzten Jahren bevorzugt verwendete Bis-Tris-System änderte sich jedoch die elektrophoretische Mobilität der HMW-UE. Aus diesem Grund stimmen die Migrationsstrecken des Laemmli-Systems nicht mit denen nach Kasarda et al. [1998] und Lagrain et al. [2012] überein.

Weiterentwickelt wurde die SDS-PAGE durch Kasarda et al. [1998] und Lagrain et al. [2012], die mit einem Bis-Tris-System arbeiteten und vor allem die Trennung der HMW-UE verbesserten, so dass diese entsprechend ihres Molekulargewichts aufgetrennt wurden. Aus diesem Grund wurde auch bei der vorliegenden Arbeit mit diesem System gearbeitet (4.3.3). Generell können für Weizen durch diese Methode Proteinbanden der HMW-UE, LMW-UE und der verschiedenen GLIA sichtbar gemacht werden. Die HMW-UE können sogar in ihre einzelnen Typen unterteilt werden (1.3.3.3).

Viele Autoren bringen Kombinationen von HMW-UE mit der Backqualität in Verbindung [MOONEN ET AL., 1982; PAYNE ET AL., 1987; SOUTHAN UND MACRITCHIE, 1999]. Nach dem so genannten Payne-Score weisen Weizensorten mit den HMW-UE Dx5 und Dy10 eine gute Backfähigkeit auf, während Sorten mit den HMW-UE Dx2 und Dy12 eher schlecht backfähig sind [PAYNE ET AL., 1987].

1.2.2.3 Rheologische Untersuchungen

Eine durch Kneten homogenisierte Mischung aus Mehl, Wasser und Salz, plus weiteren Zutaten wie z. B. Hefe oder Konservierungsmittel wird als Teig bezeichnet. Die Eigenschaften des Teiges sind ein wesentlicher Bestandteil der Backqualität. Um die Teigeigenschaften wissenschaftlich zu erfassen wird die Rheologie verwendet [BLOKSMA, 1990; TANNER ET AL., 2008; HICKS ET AL., 2011]. Rheologie bezeichnet die Wissenschaft, die sich mit dem Verhalten der Materie unter dem Einfluss von formverändernden Kräften befasst. Dazu wird das zu untersuchende Material innerhalb einer festgelegten Zeit einer Kraft ausgesetzt und die Reaktion gemessen, beispielsweise als Verformung oder Phasenverschiebung. Dadurch werden Materialeigenschaften wie z. B. Viskosität, Festigkeit, Zähigkeit und Elastizität während der Verarbeitung erfasst. Somit dienen rheologische

Untersuchungen zur Prozesskontrolle, als Werkzeuge zur Ermittlung der Materialeigenschaften und der Vorhersage der Verarbeitungseigenschaften [DOBRA SZCZYK UND MORGENSTERN, 2003].

Es gibt viele verschiedene rheologische Untersuchungen für Weizenteige, allen voran die Aufzeichnung eines Farinogramms (ICC Nr. 115/1) [ICC, 1994]. Farinographische Untersuchungen dienen dazu, die Wasseraufnahmefähigkeit von Mehlen und die Kneteigenschaften des Teiges zu ermitteln [KIEFFER ET AL., 1998]. Beim Farinographen handelt es sich um einen so genannten Z-Knetter, mit dessen Hilfe eine Drehmoment-Zeit-Kurve aufgenommen wird. Diese gibt Auskunft über die Teigentwicklungszeit, die bei kleberreichen Mehlen meist länger dauert als bei kleberarmen Mehlen. Weiterhin gibt die Kurve Auskunft über die Stabilität und damit die Knettoleranz des Teiges. Somit können über die Farinogrammkurve bereits Aussagen über die Teigeigenschaften abgeleitet werden. Des Weiteren können für weiterführende Backtests die optimale Knetzeit und Wasserzugabe bestimmt werden, die Voraussetzung für ein optimales Backergebnis sind [BÉKÉS ET AL., 2003].

Eine weitere rheologische Untersuchungsmethode basiert auf dem Extensographen (ICC Nr. 114/1) [ICC, 1994]. Mit dieser Methode lassen sich die Dehnungseigenschaften von Teigen ermitteln. Diese Parameter wirken sich wiederum auf das Gashaltevermögen und das Brotvolumen aus und geben somit Auskunft über die Backqualität des Mehles. Hierzu gibt es auch eine Mikrovariante, die mit dem TA-XT2 Texture Analyzer, in Kombination mit dem Kieffer Dough and Gluten Rig, durchgeführt wird [KIEFFER ET AL., 1981]. Die Ergebnisse der Mikromethode korrelieren sehr stark mit denen der ICC-Methode (114/1), so dass sie eine gute Alternative für Züchter und Wissenschaftler darstellt, da wesentlich weniger Material benötigt wird [KIEFFER ET AL., 1998]. Während man für ein klassisches Extensogramm 300 g Mehl pro Versuch benötigt, werden im Mikromaßstab nur 10 g Mehl eingesetzt. Das Mehl wird mit Wasser und 2 % Salz im Farinographen bis zum Knetoptimum angeteigt und nach einer gewissen Ruhezeit in einer mit Teflon beschichteten Form zu Strängen gepresst. Die einzelnen Stränge werden nach einer weiteren Ruhezeit in das Kieffer Rig eingespannt und mit einem Haken gedehnt bis sie reißen. Die aufgenommene Kurve gibt Auskunft über den Dehnwiderstand (R_{\max}), die Dehnbarkeit (E_{\max}) und die Dehnarbeit (Fläche unter der Kurve), die ein Maß für den Energieeintrag in den Teig darstellt. Die elastischen Eigenschaften

(Dehnwiderstand) eines Teiges sind sehr wichtig, damit sich der Teig während der CO₂-Bildung ausdehnen kann und das Brot an Volumen gewinnt. Dem gegenüber stehen die plastischen Eigenschaften (Dehnbarkeit), die ausschlaggebend dafür sind, dass der Teig bzw. die Teigstruktur während der Gare nicht reißt und nach der Gare den aufgegangenen Teig stützt und das Volumen erhalten bleibt. Der Energieeintrag ist ebenfalls eine sehr entscheidende Größe. Es wird davon ausgegangen, dass jedes Mehl einen bestimmten Energieeintrag benötigt, um im Knetprozess einen optimalen Teig entwickeln zu können und somit ein Brot mit hohem Volumen sowie gleichmäßiger Porung entsteht [KILBORN UND TIPPLES, 1972]. Insgesamt betrachtet können durch rheologische Untersuchungen sehr viele Kenntnisse über die Verarbeitungseigenschaften von Mehlen und Teigen gewonnen werden.

1.2.3 Direkte Qualitätsparameter

1.2.3.1 Backversuche im Normalmaßstab

Die sicherste Möglichkeit, die Backqualität zuverlässig zu bestimmen, bieten standardisierte Backversuche. Der Zeit- und Arbeitsaufwand stellt jedoch ein großes Problem dar, so dass diese in der Praxis nicht immer routinemäßig angewandt werden. Der RMT ist ein standardisierter Backtest im 1000 g-Ansatz, mit dem Brötchen gebacken werden. Eine weitere Backmethode stellt der Kastenbrot-Backversuch (1000 g-Ansatz) nach ICC Nr. 131 dar [ICC, 1994]. Am häufigsten wird jedoch der RMT angewandt, um die Backqualität von Weizenmehlen der Type 550 zu bestimmen. Er wird auch für die Beurteilung der deutschen Weizensorten angewandt, um sie je nach erreichten Gebäckvolumina in die entsprechenden Qualitätsgruppen einzuteilen [BUNDESSORTENAMT, 2017], wobei auch zahlreiche andere Eigenschaften für die Einteilung relevant sind.

Damit können sowohl backtechnologische Wirkungszusammenhänge erkannt werden als auch signifikante Zusammenhänge zwischen dem Backvolumen und indirekten Parametern wie dem Proteingehalt [BOLLING, 1969; MÜNZING UND LINDHAUER, 2010; MÜNZING UND LINDHAUER, 2011]. Die Methode des RMT ist durch die einfache und schnelle Anwendung gekennzeichnet. Dabei wird der Teig durch intensive Knetung (1400 U/min) im Stephan-Knetter bei einer festgelegten Knetzeit von 60 Sekunden (s) angeteigt. Nach einer kurzen Teigruhezeit und Wirken des Teigballens werden 30 Teigstücke geformt und gebacken. Die Durchführung und

Auswertung des RMT wird binnen 3 Stunden (h) erreicht [PELSHENKE ET AL., 2007]. Es ist auch möglich, das RMT-Backvolumen (mL/100 g Mehl) mit der Bollingschen Formel zu berechnen. Für A-Weizen werden der zehnfache, prozentuale Rohproteingehalt, der dreifache Sedimentationswert (mL) und der Faktor 420 addiert. Die Formel für B-Weizen setzt sich aus der Addition des siebzehnfachen, prozentualen Rohproteingehalts, dem dreifachen Sedimentationswert (mL) und dem Faktor 306 zusammen. Bolling erreichte dabei einen Korrelationskoeffizienten (R^2) von 0,73 beim Vergleich der berechneten und experimentell ermittelten Volumina [BOLLING, 1969].

1.2.3.2 Mikrobackversuche

Neben den direkten Methoden im Normalmaßstab, gibt es auch Mikrovarianten. Diese sind vor allem für Züchter und die Wissenschaft sehr nützlich, da nur kleine Mehlmengen eingesetzt werden müssen. Je nach Land unterscheiden sich die Backtests in ihrer Vorgehensweise und Rezeptur. Während in Kanada der „Canada Short Process (CSP)“ Backtest weit verbreitet ist, wird in den Vereinigten Staaten von Amerika vor allem die „American Association of Cereal Chemists International (AACCI) Optimized Straight-Dough Breadmaking“ Methode angewandt. Beide Methoden arbeiten mit 35 g Mehlsätzen und die Teige werden 10 % länger als die optimale Teigentwicklungszeit im Mixograph angeteigt. Es wird auch mit Zusätzen wie Molkenpulver, Malz und Ammoniumphosphat gearbeitet [PRESTION ET AL., 1982; AACCI, 2000].

Diese Mikrovarianten unterscheiden sich sehr von den Methoden, die vor allem in Deutschland verwendet werden. Zum einen gibt es den Mikrobacktest (MBT). Hierfür werden 10 g Mehl eingesetzt und lediglich Salz, Zucker, Hefe, Fett, L-(+)-Ascorbinsäure und Wasser zugegeben. Der Teig wird im 10 g Farinographen (Z-Geometrie; 63 U/min) bis zum Knetoptimum angeteigt. Dabei wird das individuelle Backpotential der Mehle berücksichtigt, da je nach Kleberzusammensetzung eine längere bzw. kürzere Knetzeit erforderlich ist [KIEFFER ET AL., 1998]. Ein Nachteil dieser Methode ist jedoch der hohe Zeitaufwand und die geringe praktische Relevanz eines Z-Kneters in der Bäckerei. Eine weitere Mikrovariante stellt der Mikro-Rapid-Mix-Test (MRMT) dar. Dieser Backtest wurde 1993 von Kieffer et al. entwickelt und stellt die Mikrovariante des RMT (1.2.3.1) dar. Die Rezeptur entspricht der des MBT und wie im RMT werden alle Teige bei hoher Umdrehungszahl

(1400 U/min) mit einem Flügelmixer geknetet. Dabei wurde durch Korrelation der Ergebnisse der Volumina des RMT mit denen des MRMT eine statistisch sehr hohe Korrelation ($r = 0,904$ bzw. $r = 0,92$) festgestellt, so dass der MRMT eine gute Alternative zum RMT darstellt [KIEFFER ET AL., 1993; KIEFFER ET AL., 1998]. Mittlerweile wurde die Methode weiterentwickelt, so dass z. B. die Knetzeit auf eine Minute (min) verkürzt wurde (vorher 4×30 s), die Umdrehungszahl nun 1250 U/min beträgt und die prozentuale Zusammensetzung der Zutaten etwas abgewandelt wurde [THANHAEUSER ET AL., 2014].

Im Vergleich zum MRMT werden mit dem MBT höhere Brotvolumina erreicht. Dies liegt daran, dass im MBT die Teige optimal entwickelt werden, da sie bis zu ihrem Knetoptimum angeteigt werden, während im MRMT jeder Teig 1 min geknetet wird. Dadurch kann es zu unter- bzw. überkneteten Teigen kommen, was sich in einem Volumenverlust widerspiegelt [KIEFFER ET AL., 1998; THANHAEUSER ET AL., 2014]. Ein Vorteil des MRMT ist jedoch die hohe Korrelation mit dem RMT, welcher für die Volumenbestimmung und zur Qualitätseinteilung der Sorten in der Bundessortenliste angewendet wird. Durch die kurze Knetzeit ist der MRMT weniger zeit- und arbeitsaufwändig als der MBT.

1.2.4 Bedarf an optimierten Backversuchen

Wie bereits erwähnt (1.2.1), ist die Vorhersage der Backqualität von Weizenmehlen sehr wichtig für die Preisbestimmung und die gesamte Wertschöpfungskette. Backversuche bestimmen die Backqualität am zuverlässigsten, nachteilig ist jedoch der große Zeit- und Arbeitsaufwand. Weiterhin wird die Backqualität mit vielen weiteren Methoden, den indirekten Parametern, erfasst (1.2.2). Korrelationsanalysen zwischen den Ergebnissen des RMT bzw. MRMT (v. a. das Backvolumen) und den indirekten Parametern zeigten in der Vergangenheit sehr hoch signifikante Zusammenhänge [BOLLING, 1969; KIEFFER ET AL., 1993; KIEFFER ET AL., 1998], so dass die indirekten Parameter zur Vorhersage der Backqualität verwendet werden konnten.

Dieses Bild hat sich jedoch in den letzten Jahren geändert. Bei modernen Weizensorten (seit 1990 zugelassen) wurden die Korrelationen zwischen den Ergebnissen des RMT und indirekten Qualitätsparametern, wie z. B. Proteingehalt und Sedimentationsvolumen, immer schwächer [FREIMANN, 2005; SELING, 2010]. Somit ist derzeit die Vorhersage der Backqualität deutlich erschwert und

unzuverlässig. Dies hat auch für die Einteilung der Weizensorten in die Qualitätsklassen Folgen. Wie bereits beschrieben (1.2.1), sind das Backvolumen des RMT und der Rohproteingehalt entscheidende Größen zur Qualitätseinstufung der Weizensorten. Erreichen Weizensorten trotz des geforderten Backvolumens nicht die geforderte Rohproteinmenge einer Qualitätsstufe, werden sie in die niedrigere Qualitätsstufe eingeteilt [HARTL, 2010]. Dies bedeutet für den Landwirt wirtschaftliche Einbußen da Weizensorten geringerer Qualitätsklassen niedrigere Preise erzielen. Folglich besteht die Gefahr, dass Müller und Bäcker falsche Annahmen über die Backeigenschaften der Mehle treffen und die Verarbeitung entsprechend nicht optimal erfolgt. Um die erwarteten Rohproteingehalte zu erzielen, wird häufig die Stickstoff-Spätdüngung angewandt. Diese verursacht jedoch zusätzliche Kosten und belastet die Umwelt. Außerdem stehen der Kornertrag und der Rohproteingehalt in einer negativen Beziehung, so dass die Wirtschaftlichkeit der Produktion von Qualitätsweizen nicht immer gegeben ist [HARTL, 2010]. Ein weiteres Problem ist, dass heutzutage fast ausschließlich Mehlmischungen vertrieben werden. Aufgrund von Aufmischeffekten ist die Beurteilung der Backqualität deutlich erschwert, so dass es verstärkt zu Fehlinterpretationen im Vergleich zu reinen Sorten kommen kann [BOLLING, 1969].

Die Ursachen für diese Entwicklung liegen wahrscheinlich in den Züchtungserfolgen und der dadurch bedingten inhaltsstofflichen Veränderungen der letzten Jahrzehnte. Faktoren wie Zunahme der Weltbevölkerung, wachsender Wohlstand und höhere Nachfrage nach Weizen forderten die Züchter heraus, Weizensorten mit höherem Ertragspotential zu entwickeln. Da der Ertrag umgekehrt proportional zum Rohproteingehalt steht, wurden Sorten gezüchtet, die trotz geringerem Rohproteingehalt sehr gute Backeigenschaften aufweisen [KAZMAN, 2010].

Diese Veränderungen könnten dazu geführt haben, dass zum einen durch die indirekten Methoden die backrelevanten Qualitätsinhaltsstoffe nicht mehr erfasst werden und zum anderen durch den RMT bzw. MRMT das Backpotential der Mehle nicht mehr ausgeschöpft wird. Weiterhin ist zu bedenken, dass sowohl beim RMT als auch beim MRMT jeder Teig 1 min lang geknetet wird, ohne Rücksicht auf die spezifischen Eigenschaften der jeweiligen Sorte zu nehmen. Dies spielt jedoch eine wesentliche Rolle für die Backqualität [HOSENEY UND TIPPLES, 1974; TIPPLES UND KILBORN, 1974].

Aus diesen Gründen ist es wichtig, einen neuen Backtest zu entwickeln, der die Backqualität von modernen Weizensorten widerspiegelt und hoch mit den indirekten Parametern korreliert ist.

1.3 Proteine des Weizens

1.3.1 Überblick

Der Name Protein stammt vom griechischen Wort „proteos“, was so viel wie Erster oder Wichtigster bedeutet. Bereits seit über 200 Jahren sind Wissenschaftler damit beschäftigt, die Struktur und Funktion von Proteinen zu untersuchen. Edman und Sanger leisteten mit ihrer Sequenzanalyse einen sehr wichtigen Beitrag zur Aufklärung der Struktur von Proteinen. Damit konnten sie zeigen, dass Proteine aus kovalent gebundenen Aminosäuren (AS) zusammengesetzt sind [EDMAN, 1950; SANGER UND TUPPY, 1951]. In den 1970er Jahren des 20. Jahrhunderts gelang es Wissenschaftlern, Proteingemische mittels zweidimensionaler (2D) Gelelektrophorese zu trennen und selbst aus komplexen Gemischen wie Geweben zu isolieren [KLOSE, 1975; O'FARELL, 1975]. Die Identifizierung der Proteine wurde allerdings erst Ende der 1980er Jahre durch die Entwicklung der Massenspektrometrie (MS) deutlich verbessert. Die Proteine des Weizens sind zum einen von ernährungsphysiologischer Bedeutung, da sie vor allem in den Randschichten viele essentielle AS beinhalten (1.3.3.1) und zum anderen spielen sie für die Backqualität eine wichtige Rolle (1.4.1).

Weizenmehl besteht, je nach Sorte, zu 10-13 % aus Proteinen [BELITZ ET AL., 2007]. In Abhängigkeit von ihrer Löslichkeit werden diese in die vier Osbornefraktionen AL, GL, GLIA und GLUT eingeteilt. Die AL und GL kommen im Keimling, in den Aleuronzellen und im Endosperm vor, während die GLIA und GLUT ausschließlich im Endosperm wiederzufinden sind (Abbildung 1.1) [KLINGLER, 2010]. Etwa 80 % der Weizenproteine bilden das Gluten, auch Weizenkleber genannt. Gluten setzt sich aus den Speicherproteinen GLIA und GLUT zusammen und spielt für die Backqualität eine entscheidende Rolle [WIESER, 2007]. Durch Extraktion mit Detergenzien wie z. B. SDS oder Essigsäure ist es möglich, das GMP zu isolieren, welches ebenfalls eine sehr große Rolle für die Backqualität spielt [MOONEN ET AL., 1982; DON ET AL., 2003; THANHAEUSER ET AL., 2014].

1.3.2 Methoden zur Fraktionierung von Proteinen

Thomas Burr Osborne war einer der ersten Wissenschaftler, der die Fraktionierung von Getreideproteinen beschrieb [OSBORNE, 1907; VICKERY, 1931]. Die einzelnen Proteinfractionen erhielt Osborne durch ihre unterschiedliche Löslichkeit in verschiedenen Extraktionsmedien. Somit extrahierte er nacheinander die wasserlöslichen AL, salzlöslichen GL und die wässrig-alkohollöslichen Prolamine (70%igem Ethanol, EtOH), die bei Weizen GLIA genannt werden. Die im Rückstand verbleibenden Gluteline, die bei Weizen GLUT genannt werden, konnte Osborne mit einer verdünnten Essigsäurelösung teilweise extrahieren [OSBORNE, 1907]. Auch heute noch spielen die Osbornefraktionen in der Analytik eine große Rolle. Für Weizen wird eine sogenannte modifizierte Osbornefraktionierung durchgeführt, in der die Weizenproteine in drei Fraktionen separiert werden: ALGL, GLIA und GLUT. Dabei werden die ALGL zusammen durch eine Salzlösung extrahiert, die GLIA durch EtOH (60 %, v/v) und die GLUT durch reduzierende Bedingungen in Lösung gebracht. Die einzelnen Fraktionen werden anschließend durch RP-HPLC (4.3.1) quantifiziert [WIESER ET AL., 1998].

Nach Einführung der Osbornefraktionierung folgten viele weitere Methoden mit unterschiedlichsten Lösungsmitteln, um die Weizenproteine zu fraktionieren. Pomeranz [1965] arbeitete z. B. mit Harnstofflösungen, während Meredith und Wren [1966] eine Mischung aus Essigsäure, Harnstoff und Cetyltrimethylammoniumbromid verwendeten um geeignete Fraktionen zu isolieren, die zur Vorhersage der Backqualität nutzten. Weitere Methoden, die in der Literatur beschrieben wurden, basierten auf SDS [DANNO ET AL., 1974; GRAVELAND ET AL., 1979; BOTTOMLEY ET AL., 1982], Harnstoff kombiniert mit SDS [GAO UND BUSHUK, 1992] und (1,1,3,3-Tetramethylbutyl)phenyl-polyethylen-Glycol (Triton X-114) [BLOCHET ET AL., 1991]. In der Standardanalytik haben sich jedoch vor allem die modifizierte Osbornefraktionierung und die Fraktionierung mit SDS zur Gewinnung des GMP (1.3.4) durchgesetzt.

1.3.3 Proteinfractionen nach Osborne

1.3.3.1 Albumine und Globuline

Die AL stellen die wasserlösliche und die GL die salzlösliche Osbornefraktion dar [WIESER ET AL., 1998]. Zusammen machen die ALGL durchschnittlich 20 % des

Gesamtproteingehalts in Weizen aus (Tabelle 1.1) und stammen wahrscheinlich aus Resten des Cytoplasmas und anderen subzellulären Fraktionen.

Tabelle 1.1: Proteinverteilung verschiedener Weizensorten

Prozentuale Proteinverteilung (bezogen auf den Gesamtrohproteingehalt nach Dumas) von Mehlen verschiedener Weizensorten aus dem Erntejahr 2013 nach modifizierter Osbornefraktionierung, Trennung mittels RP-HPLC und UV-Detektion (210 nm). Dargestellt sind Mittelwerte \pm SD von Dreifachbestimmungen (eigene Daten). ALGL = Albumine + Globuline, GLIA = Gliadine, GLUT = Glutenine

Mehlsorte (Qualitätsklasse)	ALGL [%]	GLIA [%]	GLUT [%]	Differenz ¹ [%]
Adler (E)	16,7 \pm 0,3	55,1 \pm 0,6	27,4 \pm 0,1	0,8
Capo (E) ²	15,9 \pm 0,2	56,8 \pm 1,6	26,9 \pm 0,7	0,4
JB Asano (A)	17,2 \pm 0,6	58,7 \pm 0,8	23,2 \pm 0,3	0,9
Julius (A)	20,8 \pm 0,4	53,4 \pm 0,9	24,9 \pm 0,1	0,9
Discus (B)	21,5 \pm 0,9	53,7 \pm 0,6	19,4 \pm 0,5	5,4
Tobak (B)	22,3 \pm 0,8	52,8 \pm 0,7	19,1 \pm 0,7	5,9
Winnetou (C)	23,5 \pm 0,5	56,0 \pm 0,8	17,9 \pm 0,6	2,6
Biscay (C)	21,8 \pm 0,8	55,8 \pm 0,3	16,9 \pm 0,4	5,5
Ø	20,0 \pm 0,6	55,3 \pm 0,8	22,0 \pm 0,4	2,7

¹ Rohproteingehalt = 100 %

² österreichischer Eliteweizen

Es wird davon ausgegangen, dass sie überwiegend enzymatische und metabolische Funktionen in der Pflanze erfüllen [PENCE UND ELDER, 1953; BELITZ ET AL., 2001; SINGH ET AL., 2001]. Pence und Elder [1953] fanden heraus, dass AL aus mindestens sechs individuellen Komponenten bestehen, die ungefähr die gleiche molekulare Größe aufweisen, aber in ihrer elektrophoretischen Mobilität unterschiedlich sind. Das durchschnittliche relative Molekulargewicht (M_r) der AL liegt bei ca. $M_r = 28.000$. Pence et al. [1954] fanden bei der Untersuchung von 32 verschiedenen Mehlsorten signifikante Unterschiede in den Gehalten der AL und GL, aber auch in deren Verhältnissen (AL/GL). Dabei beobachteten sie, dass die Menge der ALGL stieg, wenn auch der Rohproteingehalt im Mehl stieg, aber eine Abnahme zu verzeichnen war, wenn der Gehalt prozentual auf den Rohproteingehalt umgerechnet wurde [PENCE ET AL., 1954]. In weiteren Untersuchungen wurde festgestellt, dass qualitativ hochwertigere Mehle mehr salzlösliche Proteine beinhalten als qualitativ minderwertigere Mehle [KOENIG ET AL., 1964; MULLEN

UND SMITH, 1965]. Die wasserlöslichen Proteine, vor allem die AL, zeichnen sich, im Gegensatz zu den GLIA und GLUT, durch ihren hohen Gehalt an der essentiellen AS Tryptophan aus. Weiterhin weisen sie, im Vergleich zu den GLIA und GLUT, höhere Gehalte an Lysin, Leucin, Cystein und Arginin auf, wobei die ersten beiden genannten AS ebenfalls essentiell sind [WIESER ET AL., 1983]. Somit sind die ALGL ernährungsphysiologisch wertvoller als die Reserveproteine des Endosperms, dafür spielen sie für die Backqualität eine untergeordnete Rolle (1.4.1).

1.3.3.2 Gliadine

Die GLIA stellen die wässrig-alkohollösliche Proteinfraction des Weizens dar [WIESER ET AL., 1998]. Ihr durchschnittlicher Gehalt, bezogen auf den Gesamtproteingehalt im Weizen, macht 55 % aus (Tabelle 1.2). Die meisten GLIA liegen als Monomere vor [BIETZ UND WALL, 1972; 1973; 1980]. Ursprünglich wurden sie in vier Gruppen, basierend auf ihrer Mobilität bei niedrigem pH bei der Milchsäure-PAGE, eingeteilt (α -, β -, γ -, ω -GLIA, Reihenfolge nach abnehmender Mobilität). Durch spätere Studien wurde gezeigt, dass α - und β -GLIA einer Gruppe zuzuordnen sind, so dass im Folgenden nur noch von α -GLIA gesprochen wird [WIESER, 2007]. Durch moderne Methoden wie die 2D-Elektrophorese oder RP-HPLC ist es möglich, die GLIA-Fraktion in mehr als 100 Komponenten aufzutrennen. Basierend auf der AS-Sequenz und des M_r , können die GLIA in vier Gruppen eingeteilt werden: α -, γ -, $\omega_{1,2}$ -, ω_5 -GLIA [WIESER, 1996]. Innerhalb jedes Proteintyps sind die strukturellen Unterschiede sehr klein und kommen durch Austausch, Fehlen oder Hinzufügen einer oder mehrerer AS zustande.

Bei der RP-HPLC (3.3.1) werden die ω -GLIA mit ihren charakteristisch hohen Werten an Glutamin, Phenylalanin und Prolin als erstes eluiert. Diese AS machen zusammen ca. 80 % der gesamten AS der ω -GLIA aus [WIESER ET AL., 1987; WIESER, 2007]. Die ω_5 -GLIA weisen ein höheres M_r (ca. 50.000) als die $\omega_{1,2}$ -GLIA (ca. 40.000) auf und den meisten ω -GLIA fehlt Cystein, so dass sie nicht die Möglichkeit zur Quervernetzung über Disulfidbrücken haben [SHEWRY ET AL., 1986; WIESER, 2007]. Die Sekundärstruktur der ω -GLIA enthält sehr viele β -Schleifen mit sich wiederholenden Sequenzen (z. B. PQQPFPQQ), die reich an Glutamin und Prolin sind [TATHAM ET AL., 1985; WIESER, 2007].

In der Elutionsreihenfolge der RP-HPLC folgen nach den ω -GLIA die α -GLIA, die im Gegensatz zu den ω -GLIA niedrigere Gehalte an Prolin, Phenylalanin und teilweise

auch an Glutamin und Glutaminsäure aufweisen. Zuletzt werden die γ -GLIA eluiert, die im Vergleich zu den α -GLIA mehr Prolin, Phenylalanin, Methionin und Lysin, aber weniger Glutamin, Glutaminsäure, Tyrosin und Histidin aufweisen [WIESER ET AL., 1987]. Die α - und γ -GLIA enthalten Cysteinreste, so dass sie die Fähigkeit besitzen intramolekulare Disulfidbindungen auszubilden [SHEWRY ET AL., 1986]. Die Proteintypen α - und γ -GLIA ähneln sich in ihren M_r (28.000-35.000) und beide Typen weisen zwei klar unterschiedliche N- und C-terminale Domänen auf. Die N-terminale Domäne (40-50 % des Gesamtproteins) besteht aus sich wiederholenden Sequenzen, die einzigartig für jeden Typ sind. Die repetitiven Einheiten von α -GLIA sind Peptide aus 12 AS, die sich in der Regel fünfmal wiederholen und durch vereinzelte Substitutionen modifiziert sein können [WIESER, 2007]. Die typische repetitive Einheit der γ -GLIA ist QPQQPFP, welche bis zu sechzehnmal wiederholt wird und durch zusätzliche Einschübe von AS geprägt sein kann. Innerhalb der C-terminalen Domäne sind α - und γ -GLIA homolog [WIESER, 2007]. Mit ein paar Ausnahmen besitzen die α -GLIA sechs und die γ -GLIA acht Cysteine, die in der C-terminalen Domäne lokalisiert sind und drei bzw. vier homologe, intramolekulare Disulfidbindungen ausbilden (1.5.1) [GROSCH UND WIESER, 1999]. Studien der Sekundärstruktur haben gezeigt, dass die N-terminale Domäne von α - und γ -GLIA durch β -Schleifen, ähnlich der ω -GLIA, charakterisiert ist. Die sich nicht wiederholende C-terminale Domäne beinhaltet α -Helices und β -Faltblatt Strukturen, im Gegensatz zu den ω -GLIA [TATHAM UND SHEWRY, 1985]. Die Verteilung der einzelnen GLIA-Typen im Weizen ist sehr stark von der Sorte (Genotyp) und den Wachstumsbedingungen (Boden, Klima, Düngung) abhängig, jedoch dominieren stets die α - und γ -GLIA, während ω -GLIA nur in relativ geringen Mengen vorkommen (Tabelle 1.2) [WIESER UND KIEFFER, 2001].

Tabelle 1.2: Gliadintypen verschiedener Weizensorten

Prozentuale Verteilung der Gliadin- (GLIA) Typen (bezogen auf den Gesamtgliadinegehalt) von Mehlen verschiedener Weizensorten aus dem Erntejahr 2013 nach modifizierter Osborne-Fraktionierung, Trennung mittels RP-HPLC und UV-Detektion (210 nm). Dargestellt sind Mittelwerte \pm SD von Dreifachbestimmungen (eigene Daten).

Mehlsorte (Qualitätsklasse)	ω_5 -GLIA [%]	$\omega_{1,2}$ -GLIA [%]	α -GLIA [%]	γ -GLIA [%]
Adler (E)	7,0 \pm 0,2	7,7 \pm 1,6	48,5 \pm 1,3	36,8 \pm 0,5
Capo (E) ¹	8,1 \pm 1,9	10,5 \pm 2,1	47,0 \pm 2,5	34,4 \pm 3,1
JB Asano (A)	9,2 \pm 1,5	9,3 \pm 0,8	44,4 \pm 1,4	37,1 \pm 1,4
Julius (A)	9,0 \pm 0,8	10,4 \pm 0,3	45,9 \pm 1,9	34,7 \pm 1,6
Discus (B)	8,2 \pm 0,9	10,2 \pm 1,2	43,8 \pm 0,7	37,8 \pm 1,4
Tobak (B)	9,0 \pm 1,2	10,3 \pm 0,9	45,7 \pm 1,1	34,9 \pm 1,5
Winnetou (C)	7,0 \pm 2,2	14,9 \pm 1,4	43,9 \pm 1,6	34,2 \pm 0,8
Biscay (C)	8,7 \pm 1,0	10,3 \pm 0,8	43,4 \pm 0,4	37,6 \pm 1,1
Ø	8,4 \pm 1,3	10,6 \pm 1,3	45,2 \pm 1,9	35,8 \pm 1,9

¹ österreichischer Eliteweizen

Ein sehr kleiner Anteil der GLIA besitzt, bedingt durch Punktmutationen, eine ungerade Anzahl an Cysteinresten. Diese Proteine sind mit sich selbst oder mit GLUT über Disulfidbindungen verbunden und erscheinen entweder in der alkohollöslichen GLIA-Fraktion der Oligomere oder in der alkoholunlöslichen polymeren GLUT-Fraktion [WIESER ET AL., 1990; LEW ET AL., 1992; HUEBNER UND BIETZ, 1993; VAN ECKERT ET AL., 2006]. Diese Form der GLIA fungiert als Terminator bei der Polymerisation der GLUT. Bezeichnet wird diese oligomere Fraktion als HMW-GLIA, aggregiertes GLIA oder EtOH-lösliches GLUT und kann M_r zwischen 60.000-600.000 aufweisen [SHEWRY ET AL., 1983; HUEBNER UND BIETZ, 1993; SCHMID ET AL., 2016]. Köhler et al. [1993] bestätigten diesen Verbindungstyp durch Identifizierung einer intermolekularen Disulfidbindung zwischen einem γ -GLIA und einer LMW-UE aus GLUT.

1.3.3.3 Glutenine

Bei der GLUT-Fraktion handelt es sich um aggregierte Proteine, die durch intermolekulare Disulfidbrücken miteinander verbunden sind (1.5.1) wobei die einzelnen Untereinheiten auch intramolekulare Disulfidbindungen enthalten. Der

Anteil der GLUT, bezogen auf den Gesamtproteingehalt im Weizen, beträgt durchschnittlich 22 % (Tabelle 1.1). Ihre Größe variiert von $M_r = 500.000-10.000.000$ [BIETZ UND HUEBNER, 1980; WERBECK UND BELITZ, 1988; 1993; WIESER ET AL., 2006]. Somit zählt ein Teil der GLUT zu den größten Proteinen in der Natur (1.3.4). Die GLUT sind erst nach Reduktion der Disulfidbindungen als UE in wässrigem Alkohol löslich. Mittels RP-HPLC werden die GLUT in ω_b -GLIA, LMW-UE und HMW-UE aufgetrennt. Die M_r der HMW-UE liegen zwischen 60.000-90.000 während die M_r der LMW-UE zwischen 30.000-40.000 betragen können [LINDSAY UND SKERRITT, 1999].

Zu den GLUT werden die ω_b -GLIA gezählt. Obwohl es sich von der AS-Sequenz her um GLIA handelt, kommt dieser Proteintyp in den GLUT vor. ω_b -GLIA enthalten freie Cysteinreste und werden bei der Extraktion über intermolekulare Disulfidbrücken an die GLUT gebunden, so dass sie nicht mehr mit wässrigem Alkohol extrahiert werden können. Mengenmäßig spielen sie jedoch in der GLUT-Fraktion nur eine untergeordnete Rolle.

Der vorherrschende Proteintyp in den GLUT sind die LMW-UE (Tabelle 1.3), deren Gehalt im Gesamtgluten ca. 20 % beträgt [WIESER UND KIEFFER, 2001].

Tabelle 1.3: Glutenintypen verschiedener Weizensorten

Prozentuale Verteilung der Glutenin- (GLUT) Untereinheiten (UE) (bezogen auf den Gesamtgluteningehalt) von Mehlen verschiedener Weizensorten aus dem Erntejahr 2013 nach modifizierter Osbornefraktionierung, Trennung mittels RP-HPLC und UV-Detektion (210 nm). Dargestellt sind Mittelwerte \pm SD von Dreifachbestimmungen (eigene Daten).

Mehlsorte (Qualitätsklasse)	ω_b-GLIA [%]	LMW-UE [%]	HMW-UE [%]
Adler (E)	7,6 \pm 0,7	64,3 \pm 0,4	28,1 \pm 0,4
Capo (E) ¹	7,2 \pm 1,4	64,2 \pm 2,5	28,6 \pm 2,4
JB Asano (A)	8,9 \pm 0,8	62,2 \pm 1,3	29,0 \pm 1,3
Julius (A)	8,7 \pm 0,9	66,0 \pm 0,6	25,3 \pm 0,3
Discus (B)	9,8 \pm 1,9	63,2 \pm 2,4	26,9 \pm 2,3
Tobak (B)	11,0 \pm 1,6	63,5 \pm 3,8	25,5 \pm 2,9
Winnetou (C)	11,6 \pm 1,9	57,8 \pm 2,9	30,6 \pm 2,8
Biscay (C)	11,2 \pm 1,0	63,2 \pm 2,1	25,7 \pm 1,8
Ø	9,5 \pm 1,3	63,0 \pm 2,0	27,5 \pm 1,8

¹ österreichischer Eliteweizen

LMW-UE besitzen, wie die α - und die γ -GLIA zwei Domänen, eine N-terminale und eine C-terminale Domäne. In der N-terminalen Domäne befinden sich viele wiederkehrende Sequenzen (z. B. QQQPPFS), die sehr reich an Glutamin und Prolin sind. LMW-UE besitzen acht Cysteine und sechs davon befinden sich in homologen Positionen zu den α - und γ -GLIA [GROSCH UND WIESER, 1999; WIESER, 2003]. Aus diesem Grund wird angenommen, dass es sich um intramolekulare Disulfidbindungen handelt. Die zwei verbleibenden Cysteinreste, die sich in den N- und C-terminalen Domänen Nr. 1 und 4 befinden, bilden keine intramolekularen Disulfidbindungen aus, wahrscheinlich aus sterischen Gründen. Somit können diese beiden Cysteinreste intermolekulare Disulfidbindungen mit unterschiedlichen Glutenproteinen ausbilden [WIESER, 2007].

Die HMW-UE zählen zu den Minorkomponenten innerhalb des Glutens (ca. 10%). Jede Weizensorte beinhaltet drei bis fünf HMW-UE, die in zwei Gruppen eingeteilt werden können. Im x-Typ sind Proteine mit M_r von 83.000-88.000 und im y-Typ sind Proteine mit M_r von 67.000-74.000 zu finden. Die Nomenklatur der einzelnen HMW-UE basiert auf den kodierenden Genomen (A-, B- und D-Genom), dem Typ (x oder y) und der Mobilität bei der SDS-PAGE (Nr. 1-12). Die HMW-UE bestehen aus drei Strukturdomänen: einer sich nicht wiederholenden N-terminalen Domäne (A), die 80-105 AS beinhaltet, einer sich wiederholenden Domäne (B) mit ungefähr 480-700 AS und einer C-terminalen Domäne (C) mit 42 AS [SHEWRY ET AL., 1986; 1992; HALFORD ET AL., 1987; 1992]. Die Domänen A und C sind durch die Anwesenheit zahlreicher geladener AS und aller (x-Typ) bzw. fast aller vorkommenden Cysteinreste (y-Typ) charakterisiert.

Die Domäne B beinhaltet sich wiederholende Hexapeptide (QQPGQG) als Rückgrat, ergänzt durch eingeschobene Hexapeptide (z.B. YYPTSP) und Tripeptide (z.B. QQP oder QPQ). Der größte Unterschied zwischen dem x- und y-Typ liegt innerhalb der A und B Domänen. Die HMW-UE des x-Typs, außer UE 1Dx5, besitzen vier Cysteinreste, davon drei in der Domäne A und einer in der Domäne C [HALFORD ET AL., 1992; SHEWRY UND TATHAM, 1997]. Die HMW-UE 1Dx5 besitzt einen zusätzlichen Cysteinrest in der B-Domäne [ANDERSON ET AL., 1989]. Die HMW-UE des y-Typs besitzen fünf Cysteinreste in der A-Domäne und je einen Cysteinrest in der B- und C-Domäne, so dass der y-Typ insgesamt mehr Cysteinreste beinhaltet als der x-Typ der HMW-UE [HALFORD ET AL., 1987; ANDERSON ET AL., 1989].

Zusammen mit den GLIA bilden die GLUT das Gluten und leisten einen sehr wichtigen Beitrag zur Backqualität von Weizen (1.4.1).

1.3.4 Gluteninmakropolymer (GMP)

Die Extraktionsmethode mit SDS wird heutzutage angewendet um das GMP zu gewinnen. Dabei handelt es sich um einen Teil des GLUT, der nicht in SDS oder Essigsäure löslich ist. Dieser Teil des GLUT wird auch als „Gelprotein“ oder Unextractable Polymeric Protein (UPP) bezeichnet und kann nach Behandlung des Mehls mit Essigsäure oder SDS-Extraktionsmitteln nach Zentrifugation als Gelschicht vom Stärkerückstand abgetragen werden [MECHAM ET AL., 1962; 1972; GRAVELAND ET AL., 1979; MOONEN ET AL., 1982]. In neueren Publikationen wurde nur noch die Extraktion mit SDS-Lösungen (0,5-2 %) beschrieben, um das GMP zu gewinnen, welches den hochmolekularen Anteil der GLUT (Abbildung 1.2) darstellt [WRIGLEY, 1996; DON ET AL., 2003].

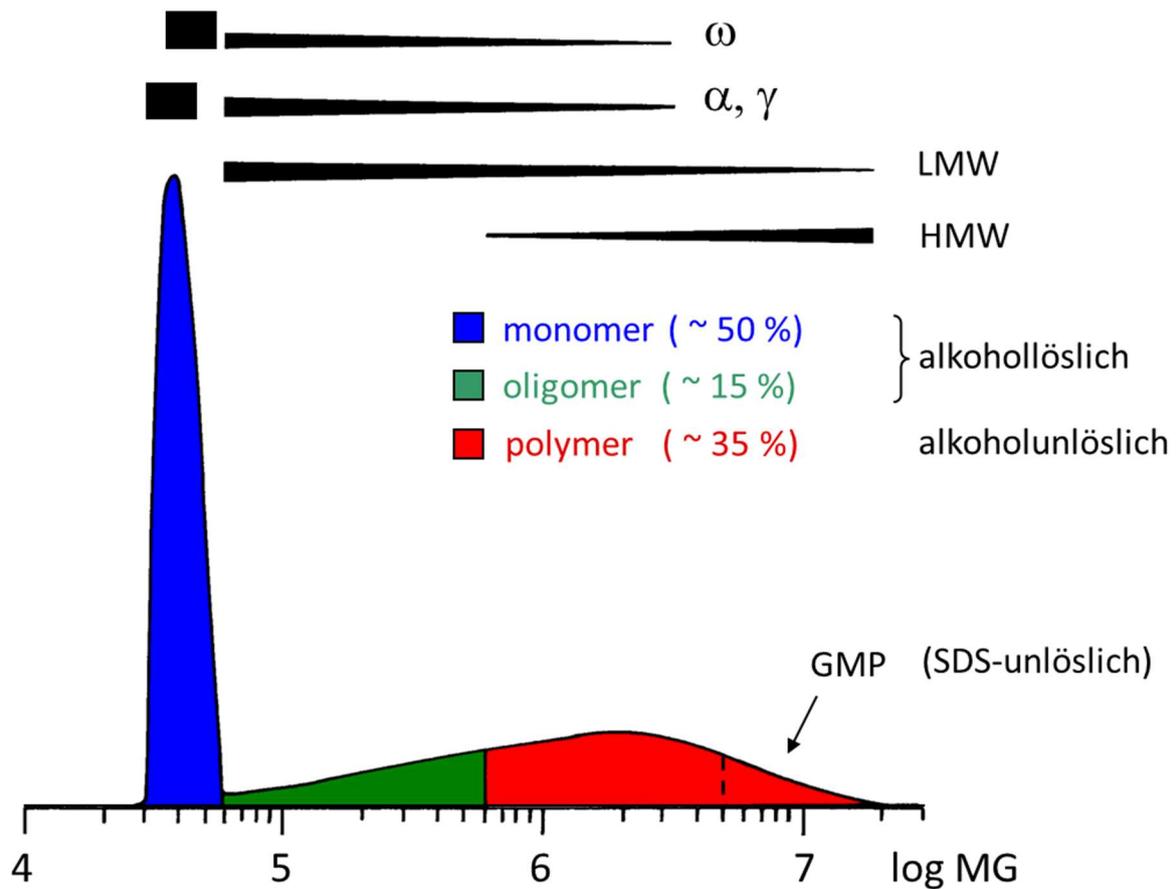


Abbildung 1.2: Molekulargewichtsverteilung der Kleberproteine

Molekulargewichte und Mengen der Proteine des Weizenklebers (ω , α , γ : Gliadintypen; LMW, HMW: nieder-, hochmolekulare Gluteninuntereinheiten; GMP: Gluteninmakropolymer) [KOEHLER UND WIESER, 2013]

Bei SDS handelt es sich um ein negativ geladenes Detergenz, das in der Lage ist, die tertiäre und quartäre Struktur von Proteinen zu zerstören und somit die Löslichkeit bzw. Quellbarkeit zu erhöhen. Aus diesem Grund ist es möglich, das hochmolekulare GMP teilweise in Lösung zu bringen und in Form eines Geles zu gewinnen.

Das Molekulargewicht von GMP liegt zwischen 5-20 Mio. und gehört somit zu den größten, in der Natur vorkommenden proteinbasierten Biopolymeren [WRIGLEY, 1996]. Der sogenannte SDS-Sedimentationstest bzw. der Sedimentationstest nach Zeleny (1.2.2.2), die standardmäßig in der Mehlanalytik angewendet werden, sind eine Möglichkeit, den Gehalt an GMP im Weizenmehl semiquantitativ abzuschätzen [AXFORD ET AL., 1979; ECKERT ET AL., 1993]. Zur genauen Bestimmung des Gehaltes an GMP eignet sich die GP-HPLC-Methode (1.2.2.2). Untersuchungen haben gezeigt, dass sowohl der SDS-Sedimentationstest als auch die Methode nach

Zeleny sehr gut mit dem GMP-Gehalt korrelieren, wobei beachtet werden muss, dass Moonen et al. [1982] den Gesamtgehalt des GMP-Gels bestimmt haben, während Dachkevitch und Autran [1989] nur den Proteingehalt des GMP-Gels als Rechnungsgrundlage verwendet haben.

Laut Moonen et al. [1982] beträgt der GMP-Gehalt je nach Mehlsorte ca. 20-40 mg/g Mehl. Hierbei muss jedoch berücksichtigt werden, dass sich die Angabe auf das Gesamtgewicht des lyophilisierten Gels bezog und nicht auf den Proteingehalt im Gel. Thanhaeuser et al. [2014] untersuchten Mehle auf ihren GMP-Gehalt, wobei sie nur den Proteingehalt des GMP-Gels berücksichtigten. Dabei fanden sie GMP-Gehalte zwischen 7,1 und 14,4 mg GMP/g Mehl. Diese Ergebnisse zeigten, dass das GMP-Gel nicht nur aus Protein besteht. Don et al. [2003] wiesen bei der Untersuchung feuchter GMP-Gele Stärke nach. Weitere Untersuchungen zur Ermittlung aller Inhaltsstoffe des GMP-Gels wurden jedoch nicht durchgeführt.

Hauptsächlich besteht GMP, das im Mehl bereits vorgebildet ist, aus HMW- und LMW-UE des GLUT, die über intermolekulare Disulfidbrücken kovalent verbunden sind (1.5.2.2). Es konnte bereits nachgewiesen werden, dass das Mengenverhältnis von HMW- zu LMW-UE und von x- zu y-HMW-UE im GMP weit höher liegt als im Gesamtglutenin [DON ET AL., 2003; KIRALY ET AL., 2004].

1.4 Einfluss der Inhaltsstoffe von Weizen auf die Backqualität

Der Begriff der Backqualität wird vor allem durch das Backvolumen und die Porengrößenverteilung der Krume beschrieben. Ebenfalls spielen für die Backqualität die Teigeigenschaften, die Krumenbeschaffenheit, die Optik, das Aroma und die Frischhaltung der Gebäcke eine Rolle [BELITZ ET AL., 2001]. Die Backqualität von Weizen wird durch die Zusammensetzung der Inhaltsstoffe bestimmt. Allen voran beeinflussen die Proteine zum größten Teil die Backqualität von Weizenmehl, aber auch die restlichen Inhaltsstoffe tragen einen gewissen Anteil bei.

1.4.1 Kleberproteine

Weizenmehl besitzt, im Gegensatz zu allen anderen Getreidearten, die einzigartige Eigenschaft, durch Zugabe von Wasser einen viskoelastischen und kohäsiven Teig auszubilden. Dabei entwickelt sich während der Teigbereitung ein dreidimensionales Proteinnetzwerk, in das die Stärkekörner eingeschlossen sind. Dadurch besitzen diese Teige gute rheologische Eigenschaften, die z. B. ein hohes Gashaltvermögen

während der Gare ermöglichen. Dadurch entstehen voluminöse Brote mit einer elastischen, feinporigen und gleichmäßigen Krume. Diese Fähigkeit beruht auf der Ausbildung des Klebers (Gluten) während des Anteigens [DON ET AL., 2003; WIESER, 2003; GOESAERT ET AL., 2005].

Gluten kann nach Auswaschen von löslichen Bestandteilen und Stärke als Rückstand gewonnen werden. Die Wasserunlöslichkeit der Kleberproteine liegt darin begründet, dass diese von der Pflanze als Reservestoffe eingelagert werden [WRIGLEY ET AL., 2006]. Gluten ist aus GLIA (1.3.3.2) und GLUT (1.3.3.3) zusammengesetzt. Während GLIA vorwiegend als monomere Proteine mit intramolekularen Disulfidbindungen vorliegen, stellen GLUT lange, heterogene Proteinpolymere dar, die über intermolekulare Disulfidbindungen verbunden sind [PAYNE, 1987].

Schon in den 1940er Jahren des letzten Jahrhunderts wurde festgestellt, dass die Backqualität sowohl von der Proteinquantität als auch der Proteinqualität abhängig ist [FINNEY UND BARMORE, 1948]. Die Kleberqualität wird durch das GLIA/GLUT-Verhältnis, die Menge an GLUT und die Zusammensetzung der HMW-UE bestimmt.

Das Verhältnis zwischen GLIA und GLUT bestimmt die Viskoelastizität des Weizenteiges und trägt damit entscheidend zur Backqualität von Weizenmehlen bei [BELTON, 1999; SINGH UND MACRITCHIE, 2001; WIESER UND KIEFFER, 2001; CINCO-MOROYOQUI und MACRITCHIE, 2008]. Die GLIA sind hauptsächlich für die Teigviskosität verantwortlich und die GLUT für die Teigelastizität und -festigkeit [BELTON, 1999; WRIGLEY, 1996; WIESER UND KIEFFER, 2001; WIESER, 2003]. Die Tatsache, dass ein optimales GLIA/GLUT-Verhältnis für eine gute Backqualität mitverantwortlich ist, wurde bereits im 19. Jahrhundert beobachtet [FLEURENT, 1896].

Entscheidend für die Eigenschaften des GLUT sind die intermolekularen Disulfidbindungen [WEEGELS, 1996b; WIESER UND KIEFFER, 2001; WIESER, 2003]. Neben den Disulfidbindungen spielen auch nichtkovalente Bindungen wie Wasserstoffbrückenbindungen, elektrostatische Ionenbindungen oder hydrophobe Wechselwirkungen eine Rolle. Die „Kohäsivität“ von Weizenteigen wird hauptsächlich durch Wasserstoffbrückenbindungen verursacht [WIESER ET AL., 2006].

Das Zusammenspiel von GLIA und GLUT ist für die Teigbeschaffenheit sehr entscheidend, da die GLIA als „Lösungsmittel“ oder auch „Weichmacher“ für die

GLUT fungieren [WIESER UND KIEFFER, 2001]. Ein zu hohes GLIA/GLUT-Verhältnis kann demnach zu einer ungewünschten Teigerweichung führen, während ein Überschuss an GLUT den Teig zu fest werden lässt. Aus diesem Grund ist ein ausgeglichenes Verhältnis dieser beiden Komponenten sehr wichtig. Bei Winterweichweizensorten liegt das Verhältnis von GLIA zu GLUT in einem Bereich zwischen 1,5 und 3,1 [WIESER UND KOEHLER, 2009].

Auch die Kombination und Menge der HMW-UE (1.3.3.3) wird mit der Backqualität in Verbindung gebracht [PAYNE ET AL., 1979; 1981a; BURNOUF UND BOURIQUET, 1980]. Dabei wurde postuliert, dass die Kombination der HMW-UE Dx5 und Dy10 in gut backfähigen Weizensorten enthalten ist, während die HMW-UE Dx2 und Dy12 in schlecht backfähigen Weizensorten vorzufinden sind [MOONEN ET AL., 1982; SOUTHAN UND MACRITCHIE, 1999]. Es gibt jedoch auch Studien, die diese Beobachtungen nicht bestätigen [LAWRENCE UND SHEPHERD, 1980; ZEHATSCHEK, 1980].

Eine untergeordnete Rolle für die Backqualität spielen die ALGL (1.3.3.1). Sie leisten keinen Beitrag zu den unterschiedlichen Backqualitäten von Mehlen, beeinflussen aber das Gashaltevermögen bzw. die Dehnbarkeit von Gluten. Deshalb sind sie für die Volumenbildung der Teige mitverantwortlich [FINNEY, 1943; HOSENEY ET AL., 1969].

Demgegenüber spielt die Molekulargewichtsverteilung der GLUT eine sehr wichtige Rolle für die Backqualität. Sie ist mitunter hauptverantwortlich für die Teig- und die Backeigenschaften. Das größte Polymer, GMP (1.3.4), trägt am meisten zu den Teigeigenschaften bei und der Gehalt im Weizenmehl ist hoch mit der Teigfestigkeit und dem Backvolumen korreliert [MOONEN ET AL., 1982; WEEGELS, 1996a; 1996b; WIESER, 2007; THANHAEUSER ET AL., 2014]. Proteinchemische Untersuchungen haben ergeben, dass vor allem die Kombination der HMW-UE die GMP-Menge beeinflusst. So bilden Mehle mit den auf Chromosom 1D kodierten HMW-UE Dx5 und Dy10 weit mehr GMP als Mehle mit den HMW-UE Dx2 und Dy12 [MOONEN ET AL., 1982; SOUTHAN UND MACRITCHIE, 1999]. Weiter wird vermutet, dass die bessere Backfähigkeit der Weizensorten mit den HMW-UE Dx5 und Dy10 durch bessere Polymerisierungseigenschaften der HMW-UE begründet ist, gegenüber den schlechter backfähigen Weizensorten mit den HMW-UE Dx2 und Dy12. Trotz der Wichtigkeit von GMP für die Backqualität wurde dessen Disulfidstruktur bisher nicht aufgeklärt.

1.4.2 Bedeutung weiterer Inhaltsstoffe

Für die Backqualität von Weizenmehlen spielen nicht nur die Kleberproteine eine Rolle. Weizenmehl besteht überwiegend aus Stärke (70-75 %), gefolgt von Proteinen (10-13 %) und bei sachgemäßer Verarbeitung und Lagerung zu 14 % aus Wasser. Weiterhin sind Minorkomponenten wie Nicht-Stärkepolysaccharide (z. B. Arabinoxylane, 2-3 %), Lipide (ca. 2 %) und Enzyme (ca. 1 %) enthalten. Alle diese Inhaltsstoffe spielen für die Backqualität eine bestimmte Rolle. Früher galten der Proteingehalt und die Proteinzusammensetzung als wichtigste Parameter für die Teigbereitung, das Gashaltvermögen des Teiges und das Volumen der Gebäcke. Durch neuere Erkenntnisse über die technofunktionellen Wirkungen weiterer Mehlinhaltsstoffe gewinnen diese heute immer mehr an Bedeutung [CHUNG ET AL., 1982; MICHNIEWICZ ET AL., 1990].

Die Stärke besitzt die Eigenschaft in Verbindung mit Wasser ab 70 °C zu verkleistern. Dabei findet die Zerstörung der Kornstruktur statt und es werden z. B. Wasserstoffbrückenbindungen gespalten. Folglich kann die Stärke hohe Mengen an Wasser binden und einlagern, so dass die Viskosität steigt und letztendlich die Ausbildung der Brotkrume ermöglicht wird. Die Stärke, die teilweise durch mehleigene Enzyme (Amylasen) zu Maltose abgebaut wird, dient während der Teigherstellung der Hefe als Nahrung. Weiterhin leistet sie einen Beitrag zur Aromabildung und Bräunung aufgrund der Maillard-Reaktion. Hierbei handelt es sich um eine Abfolge unterschiedlicher chemischer Reaktionen zwischen reduzierenden Kohlenhydraten (entstanden aus dem enzymatischen Abbau von Stärke) und Aminverbindungen (AS, Proteine).

Neben der Stärke beinhaltet Mehl auch Nicht-Stärkepolysaccharide wie z. B. Pentosane. Hauptsächlich sind im Weizen Arabinoxylane zu finden, die aus den Monosacchariden Xylose und Arabinose bestehen und je nach molekularer Größe wasserlöslich oder -unlöslich sind [ROUAU UND SURGET, 1994]. Arabinoxylane besitzen die Eigenschaft große Mengen an Wasser binden zu können und leisten dadurch einen wichtigen funktionellen Beitrag in der Brotherstellung [KULP UND BECHTEL, 1963; JELACA UND HLYNKA, 1972; CASIER ET AL., 1973]. Die Ergebnisse von Studien zu den funktionellen Wirkungen der Pentosane sind teilweise widersprüchlich. Während Casier et al. [1973] und Jelaca und Hlynka [1972] eine Volumenzunahme bei Zugabe von Pentosanen bei Broten feststellten, konnte dies bei einer Studie an amerikanischen Weizensorten nicht bestätigt werden [KULP

UND BECHTEL, 1963; HOSENEY ET AL., 1971]. Weiterhin wurde festgestellt, dass Pentosane die Eigenschaft besitzen, die Retrogradation von Stärke zu verzögern und somit die Brote länger frisch zu halten [KIM UND D'APPOLONIA, 1977; JANKIEWICZ UND MICHNIEWICZ, 1987]. Longdon und LeGrys [1981] wiederum stellten bei ihren Messungen mittels dynamischer Differenzkalorimetrie keine kinetischen Veränderungen der Stärkekristallisation bei Zugabe von Pentosanen fest.

Eine weitere Minorkomponente, die ebenfalls einen Beitrag zur Backqualität in Weizen leistet, sind die Lipide. Vor allem die polaren Lipide werden mit einem verbesserten Gashaltevermögen in Verbindung gebracht [POMERANZ, 1973; MACRITCHIE, 1977]. Es wird davon ausgegangen, dass sich die polaren Lipide an den Grenzflächen der Gasbläschen anreichern und somit eine Koaleszenz der Gasbläschen verhindern. Weiterhin dichten Lipidvesikel Fehlstellen im Proteingerüst ab, die während des Knetprozesses entstanden sind. Als Ergebnis ist ein höheres Brotvolumen beobachtet worden [MACRITCHIE, 1977]. Untersuchungen von Lipase-behandelten Mehllipiden haben gezeigt, dass sich die enzymatische Hydrolyse von Glyko- und Phospholipiden positiv auf das Backvolumen auswirkt [GERITS ET AL., 2013; 2014; SCHAFFARCZYK ET AL., 2014]. Schaffarczyk et al. [2016] haben weiterhin gezeigt, dass die polaren Lipide aufgrund synergistischer Effekte die Anwesenheit unpolarer Lipide benötigen, um ihre mehlerverbessernde Wirkung voll ausschöpfen zu können.

Trotz der funktionellen Eigenschaften, die die unterschiedlichen Mehlinhaltsstoffe beitragen, liefern der Weizenkleber, der den Hauptteil der Proteine im Mehl ausmacht, wie auch das GMP den größten Beitrag zur Backqualität (1.4.1).

1.5 Disulfidbindungen der Weizenproteine

Die Molekulargewichtsverteilung der Weizenproteine gilt als einer der wichtigsten Faktoren für die Backqualität und wird durch das Vorhandensein von Disulfidbindungen bestimmt. Deren Ausbildung ist von genetischen Faktoren wie z. B. dem Vorhandensein der HMW-UE Dx5, dem Verhältnis von HMW-UE zu LMW-UE, der Anzahl der Kettenterminatoren und von Umwelteinflüssen (Hitze-, Wasserstress, Sulfatmangel), wie auch von der Anwesenheit von Redoxreagenzien abhängig [WIESER, 2007].

Die Bildung der Disulfidstruktur durchläuft von der Proteinbiosynthese im Korn bis zur Backware (z. B. Brot) einen kontinuierlichen Wandel [WIESER, 2003; WIESER ET AL., 2006; LUTZ ET AL., 2012]. Die Bildung der Disulfidbindungen beginnt sofort nach der Proteinsynthese innerhalb des Lumens im Endoplasmatischen Reticulum und stellt einen wesentlichen Bestandteil der Proteinfaltung dar. Es wird angenommen, dass intramolekulare Disulfidbindungen schneller gebildet werden als intermolekulare Disulfidbindungen [KASARDA, 1999].

Durch Disulfidbindungen werden vor allem die rheologischen Teig- und Klebereigenschaften beeinflusst. Etwa 95 % der vorhandenen Cysteinreste in Weizenmehl bilden intra- oder intermolekulare Disulfidbindungen aus. Die restlichen 5 % liegen in ihrer reduzierten Form als Thiol vor. Davon sind ca. 4,5 % proteingebundenes Cystein und 0,5 % freies Cystein und Glutathion [ANTES UND WIESER, 2000].

1.5.1 Disulfidbindungen der Kleberproteine

Die intramolekularen Disulfidbindungen der monomeren α - und γ -GLIA wurden bereits vollständig aufgeklärt, wobei α -GLIA drei und γ -GLIA vier Disulfidbindungen beinhalten (Abbildung 1.3) [MUELLER UND WIESER, 1995; 1997; KOEHLER ET AL., 1997].

Wie bereits in 1.2.2.2 beschrieben, findet sich ein geringer Anteil der GLIA, die sogenannten ω_b -GLIA, nach der modifizierten Osbornefraktionierung in der polymeren GLUT Fraktion wieder. Dies liegt an einem einzelnen Cysteinrest (C^z), der in ω_b -GLIA vorzufinden ist und eine intermolekulare Disulfidbindung mit einer LMW-UE ausbildet [SCHMID ET AL., 2016]. Auch γ -GLIA werden in den GLUT gefunden, da einige Varianten den zusätzlichen Cysteinrest C^{b^*} enthalten, der intermolekulare Disulfidbindungen mit LMW-UE ausbilden kann (Abbildung 1.3) [KÖHLER ET AL., 1993].

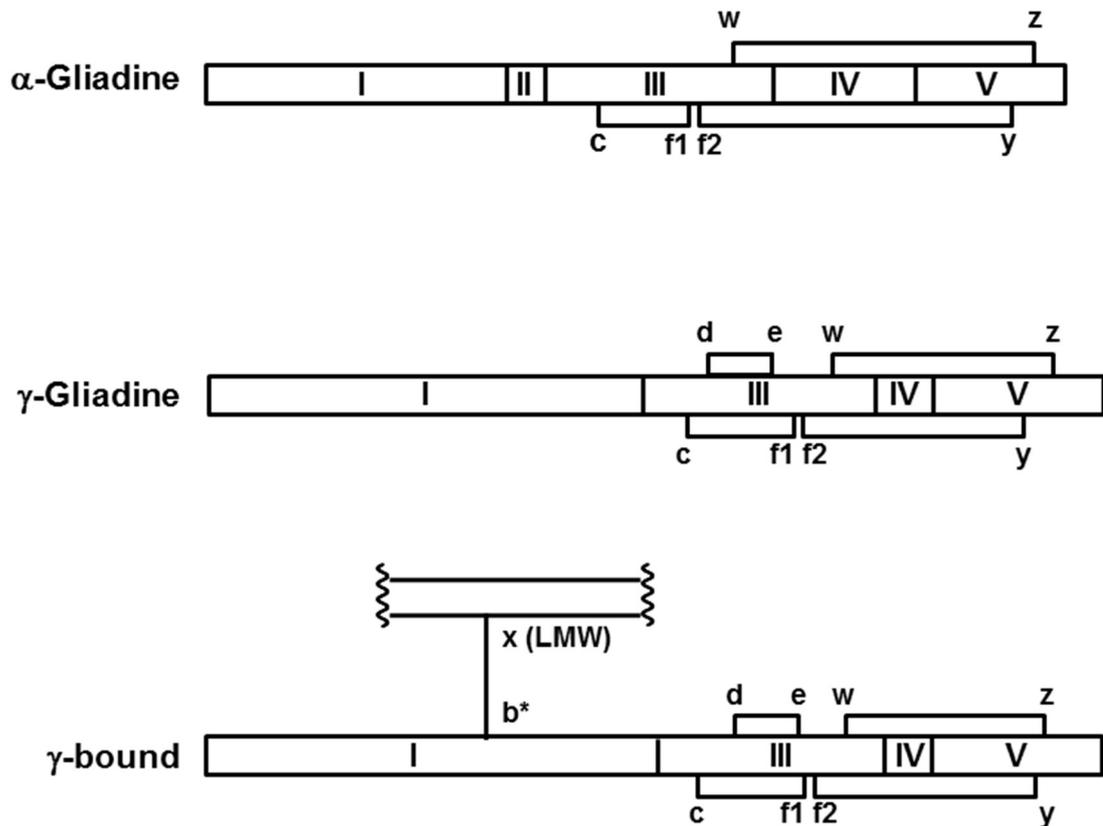


Abbildung 1.3: Standard-Disulfidbindungen der α- und γ-Gliadine

Nomenklatur der Cysteinreste nach Köhler et al. [1993]; γ-bound: Glutenin-gebundene γ-Gliadine

Lutz et al. [2012] identifizierten fünf weitere Disulfidbindungen zwischen α-GLIA, γ-GLIA und LMW-UE (Abbildung 1.4). Da es sich um intermolekulare Disulfidbindungen handelt, stammen die beteiligten α- und γ-GLIA höchstwahrscheinlich aus der oligomeren HMW-GLIA Fraktion (1.3.3.2) [WIESER ET AL., 1990; LEW ET AL., 1992; HUEBNER UND BIETZ, 1993; SCHMID ET AL., 2016].

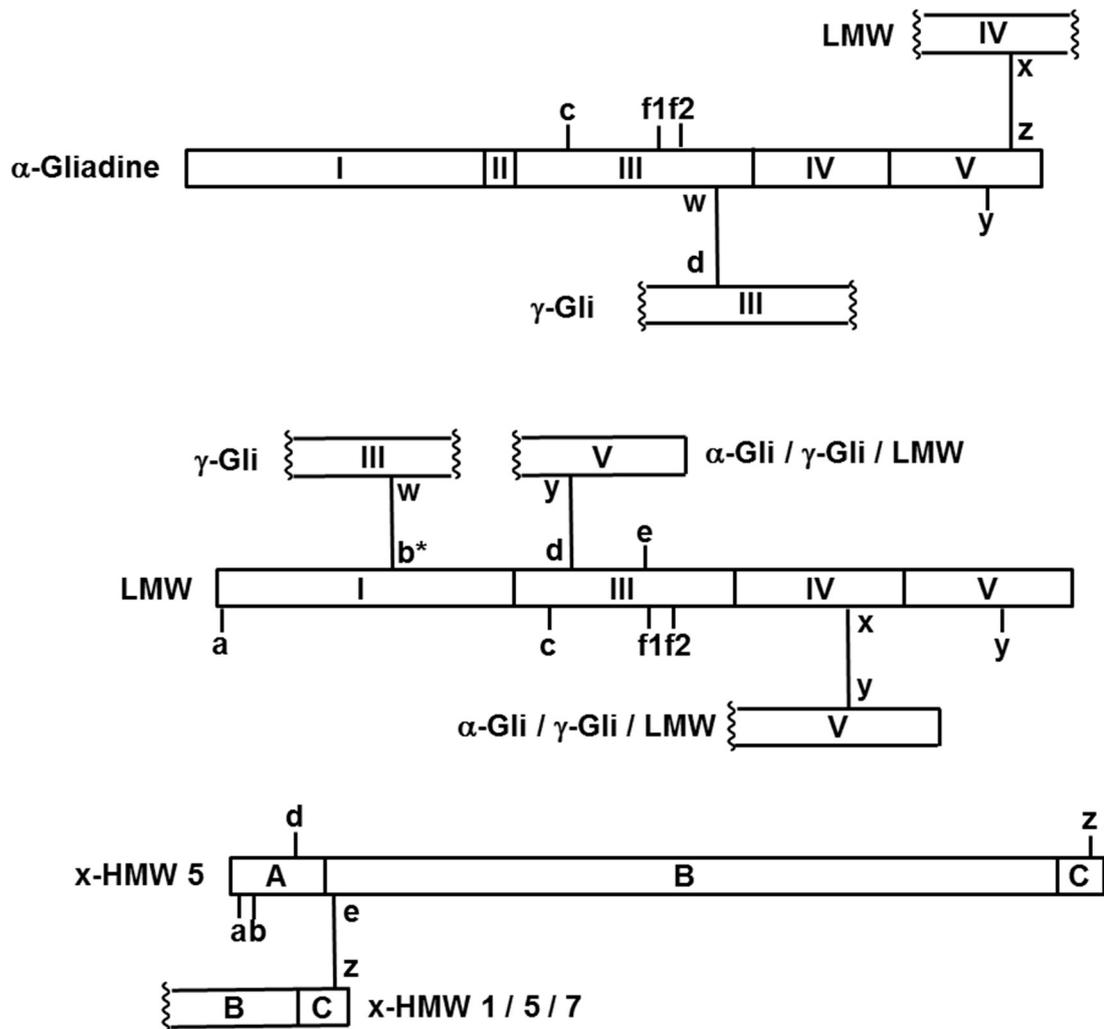


Abbildung 1.4: Zusätzliche Disulfidbindungen in Kleberproteinen

Von Lutz et al. [2012] identifizierte intermolekulare Disulfidbindungen zwischen Gliadinen und Gluteninuntereinheiten. α-Gli: α-Gliadine; γ-Gli: γ-Gliadine; LMW, HMW: nieder-, hochmolekulare Gluteninuntereinheiten. Nomenklatur der Cysteinreste nach Köhler et al. [1993]

HMW-UE und LMW-UE können sowohl intra- als auch intermolekulare Disulfidbindungen ausbilden und fungieren deshalb bei der oxidativen Polymerisation als Kettenverlängerer [SHEWRY UND TATHAM, 1997]. Sechs Cysteinreste der LMW-UE bilden die gleichen intramolekularen Disulfidbindungen aus wie bei den α- und γ-GLIA (Abbildung 1.5) [KÖHLER ET AL., 1993; KECK ET AL., 1995; MUELLER UND WIESER, 1997]. Eine Verknüpfung mit dem Cysteinrest C^a der LMW-UE wurde bis heute noch nicht nachgewiesen. Die Cysteinreste C^{b*} und C^x der LMW-UE bilden intermolekulare Disulfidbindungen aus und sind somit entscheidend für die polymere Struktur der GLUT. Der Cysteinrest C^{b*} kann Verbindungen mit LMW-UE (C^{b*} oder C^x) und der Cysteinrest C^x mit LMW-UE (C^{b*}), γ-GLIA (C^{b*}) oder

HMW-UE (C^y, y-Typ) ausbilden [KÖHLER ET AL., 1993; KOEHLER ET AL., 1997; KECK ET AL., 1995].

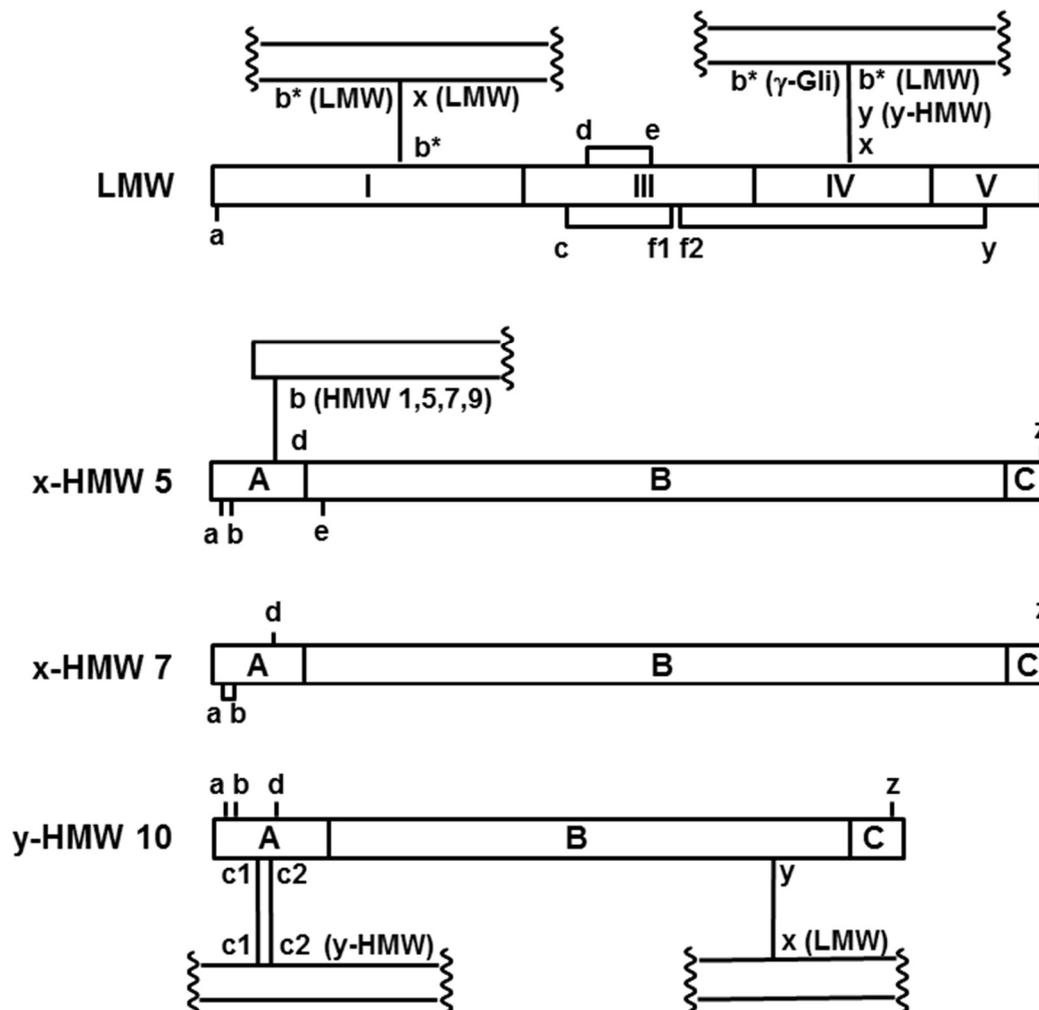


Abbildung 1.5: Disulfidbindungen der LMW- und HMW-UE

Nomenklatur der Cysteinreste nach Köhler et al. [1993]; LMW-UE = niedermolekulare Untereinheiten, HMW-UE = hochmolekulare Untereinheiten

Lutz et al. [2012] identifizierten weitere intramolekulare Disulfidbindungen zwischen LMW-UE (C^{b*}) und γ -GLIA (C^w), LMW-UE (C^d und C^x) und dem Cysteinrest C^y aus α -GLIA, γ -GLIA oder LMW-UE und LMW-UE (C^x) mit dem Cysteinrest C^z aus α -GLIA (Abbildung 1.4).

Ebenfalls entscheidend für die polymere Struktur des Weizenklebers sind die HMW-UE. Diese enthalten je nach Typ vier (x-Typ, Ausnahme = Dx5 mit fünf Cysteinresten) bis sieben Cysteinreste (y-Typ), die intra- und intermolekulare Disulfidbindungen eingehen. Es sind erst wenige Positionen der Verknüpfungen aufgeklärt worden, da mit den bisher angewandten Methoden (enzymatische

Partialhydrolyse, Differenzchromatographie) überwiegend nur die Disulfidbindungen der in der Menge dominierenden LMW-UE identifiziert werden konnten [KÖHLER ET AL., 1991; 1993; KECK ET AL., 1995]. Es wurde bereits eine intramolekulare Disulfidbindung zwischen den Cysteinresten C^a und C^b des x-Typs gefunden, sowie zwei benachbarte intermolekulare Disulfidbindungen des y-Typs (C^{c1}/C^{c1}, C^{c2}/C^{c2}; Abbildung 1.5) [KÖHLER ET AL., 1991; 1993]. Keck et al. [1995] wiesen eine intermolekulare Disulfidbindung zwischen zwei HMW-UE nach (C^b/C^d) (Abbildung 1.5). Durch neuere Analysemethoden (LC-MS/MS) gelang es Lutz et al. [2012] erstmals eine Kopf-Schwanz-Verknüpfung zwischen zwei Cysteinresten der HMW-UE (x-Typ) zu identifizieren (C^e/C^z), wobei C^e nur in der HMW-UE Dx5 vorkommt (Abbildung 1.4). Trotz dieser bereits identifizierten Disulfidbindungen in den HMW-UE fehlen vor allem Informationen über die Verknüpfungen von Cysteinresten der HMW-UE, die am Aufbau von Polymeren beteiligt sind.

1.5.2 Strukturmodelle der Glutenine (GLUT)

Seit den achtziger Jahren des 20. Jahrhunderts ist bekannt, dass GMP einen signifikanten Beitrag zur Backqualität von Weizenmehl liefert [MOONEN ET AL., 1982]. Dies wird insbesondere auf die enthaltenen Disulfidbindungen zurückgeführt. Bis jetzt wurde die Disulfidstruktur des GMP nicht aufgeklärt, jedoch wurden verschiedene Strukturmodelle für GLUT postuliert, die teilweise auch für GMP Anwendung finden können.

1.5.2.1 Frühere Strukturmodelle

Ewart et al. [1972] schlugen zunächst ein Modell aus zufällig linear angeordneten HMW-UE und LMW-UE vor, die durch intra- und zwei intermolekulare Disulfidbindungen verknüpft waren. Später revidierten Ewart et al. [1979] das lineare Modell und mutmaßten geringe, durch Disulfidbindungen bedingte Verzweigungen in der Struktur. Kasarda et al. [1976] wiederum postulierten, dass die GLUT über nicht-kovalente Bindungen aggregiert sind und nicht durch Disulfidbindungen. Es wurden auch Modelle postuliert, in denen sowohl intra- und intermolekulare Disulfidbindungen als auch nicht-kovalente Bindungen eine Rolle spielten [KHAN UND BUSHUK, 1978; 1979; BUSHUK, 1980].

Weitere Strukturmodelle beschrieben Kopf-Schwanz-Verbindungen zwischen den x- und y-Typen der HMW-UE über Disulfidverknüpfungen. Diese Struktur stellt das lineare Rückgrat des Polymers dar. Stränge von LMW-UE bilden

Verzweigungspunkte, die von vier Positionen aus mit den γ -Typen der HMW-UE verbunden sind [GRAVELAND ET AL., 1985]. Kasarda [1989] überarbeitete sein früheres Modell und beschrieb, dass das Grundgerüst des GMP aus einer linearen Anordnung der UE bestehe und durch nicht-kovalente Bindungen zwischen den UE zu einem Proteinaggregat führe. Weiterhin vermutete er, dass die GLUT-UE zwei intermolekulare Disulfidbindungen ausbilden würden und eine Kopf-Schwanz-Verbindung zwischen den HMW-UE und den LMW-UE bestehe, wie es bereits Graveland et al. [1985] beschrieben.

1.5.2.2 Neuere Strukturmodelle

Lindsay und Skerritt [1999] beschrieben ein Strukturmodell, in dem das Rückgrat des GLUT-Polymers aus HMW-UE und LMW-UE besteht. Dabei sind die Oligomere der HMW-UE aus Typen von x-x- und x-y Dimeren zusammengesetzt, während die Oligomere der LMW-UE aus Dimeren von kettenverlängernden LMW-UE (m- und s-Typ) und kettenterminierenden LMW-UE (α -, γ - und D-Typ) bestehen. Die kettenverlängernden LMW-UE besitzen eine gerade Anzahl an Cysteinresten, wobei der m-Typ als erste AS in der Sequenz Methionin und der s-Typ Serin enthält [LEW ET AL., 1992; MASCI ET AL., 1995]. Die kettenterminierenden LMW-UE des α - und γ -Typs sind den entsprechenden GLIA sehr ähnlich und besitzen im Gegensatz zu den anderen LMW-UE einen zusätzlichen Cysteinrest, mit dem sie kovalente Bindungen eingehen können [LEW ET AL., 1992; D'OVIDIO ET AL., 1995; SISSONS ET AL., 1999]. Der D-Typ der LMW-UE (ω -GLIA) weist ebenfalls eine ungerade Anzahl an Cysteinresten auf und kann somit als Kettenterminator fungieren. Es wird vermutet, dass der D-Typ aufgrund einer Mutation in einem Gen oder mehreren Genen gebildet wird, die normalerweise ω -GLIA kodieren [MASCI ET AL., 1993]. Die Verzweigungen, die vom Rückgrat aus gebildet werden, können sowohl durch die zusätzlichen Cysteinreste der HMW-UE des γ -Typs als auch von LMW-UE, die intermolekulare Disulfidbindungen ausbilden können, ausgehen. Weiterhin verlaufen die Verzweigungen linear durch kettenverlängernde Kopf-Schwanz-Dimere von LMW-UE bis zum Abbruch der Polymerisation durch kettenterminierende LMW-UE [LINDSAY UND SKERRITT, 1999].

Wieser et al. [2006] und Wieser [2007] berücksichtigten alle Daten zur Lage und Anzahl von Disulfidbindungen in Kleberproteinen und postulierten auf Grundlage von Graveland et al. [1985] ein neues GLUT-Modell, dessen Rückgrat nur aus HMW-UE

Disulfidbindungen verknüpft sind. Da der x-Typ der HMW-UE Dx5 einen zusätzlichen Cysteinrest beinhaltet, wird vermutet, dass aufgrund dessen eine zusätzliche intermolekulare Disulfidbindung nahe der N-terminalen Domäne vorliegt [KOEHLER ET AL., 1997; KASARDA, 1999].

Wieser [2007] vermutete, dass bis zu zehn dieser Molekül-Doppeleinheiten zusammengesetzt sein könnten, wobei vorausgesetzt wird, dass Cysteinreste im C-terminalen und N-terminalen Bereich vorliegen, die intermolekulare Disulfidbindungen ausbilden können. Für den Abbruch der Polymerisation sind Kettenterminatoren wie Glutathion, freies Cystein oder GLIA mit einer ungeraden Anzahl an Cysteinresten verantwortlich [HUETTNER UND WIESER, 2001a; 2001b; WIESER, 2003]. Entsprechende Modelle für GMP wurden bisher noch nicht postuliert.

1.5.3 Aufklärung der Disulfidstruktur von Proteinen mittels LC-MS/MS

Zur systematischen Aufklärung der Disulfidstruktur von Weizen-GLUT isolierten Köhler et al. [1991; 1993] und Keck et al. [1995] GLUT aus Kleber, hydrolysierten diese partiell mit Thermolysin und untersuchten das Peptidgemisch nach Cystinpeptiden mittels Differenzchromatographie (RP-HPLC vor und nach Reduktion der Disulfidbindungen). Die identifizierten Cystinpeptide wurden mit Hilfe des Edman-Abbaus sequenziert und den in der Literatur bekannten Gesamtsequenzen von Kleberproteintypen und -untereinheiten zugeordnet.

Mittlerweile gibt es neuere Techniken zur Strukturaufklärung von Proteinen wie z. B. die Flüssigkeitschromatographie (LC) gekoppelt mit MS. Das Grundprinzip der MS besteht darin, dass die Analyten in einer Ionenquelle ionisiert werden, diese in einem Massenanalysator gesammelt werden und anhand ihres Masse zu Ladungsverhältnisses (m/z -Verhältnis) nacheinander detektiert werden.

Zur Analyse von GMP mittels LC-MS eignet sich die Bottom-up-Strategie. Hierbei werden die Proteine vor der massenspektrometrischen Analyse erst einem proteolytischen Verdau unterzogen, um in spezifische Peptide gespalten zu werden. Dabei ist es möglich, das komplexe Proteingemisch größtenteils in Lösung zu bringen, ohne die Disulfidstruktur zu zerstören. Da das Peptidgemisch von GMP aus dem Partialhydrolysat sehr komplex zusammengesetzt ist, ist es sinnvoll, dieses mittels GP-HPLC anhand seiner Größe bzw. seines hydrodynamischen Radius (Stokes` Radius) vorzutrennen. Dadurch erhöht sich die Wahrscheinlichkeit,

Disulfidbindungen der in geringerer Menge vorhandenen HMW-UE zu identifizieren. Zusätzlich werden Puffersalze (z. B. SDS), die bei der MS-Analyse stören würden, aus dem Hydrolysat entfernt.

Um Anhaltspunkte für den Nachweis von Disulfidbindungen zu erhalten, werden die gereinigten Peptidfraktionen durch eine Differenzchromatographie (vor und nach Reduktion der enthaltenen Cystinpeptide) mittels Elektrosprayionisation (ESI-) LC-MS untersucht. Dieser Schritt ersetzt die Differenzchromatographie mittels RP-HPLC, die aus früheren Arbeiten bekannt ist [KÖHLER ET AL., 1991; 1993; KECK ET AL., 1995]. Bei der ESI-Methode werden die Analyten einer elektrischen Spannung ausgesetzt, so dass sich geladene Tröpfchen bilden, die auf dem Weg zum Massenanalysator desolvatisiert werden. Zur Massenanalyse eignet sich eine Ionenfalle, wobei die Ionen in einem elektrischen Feld eingefangen werden und nacheinander nach ihrem m/z -Verhältnis im Detektor (Sekundärelektronenvervielfacher) analysiert werden.

Zur Strukturaufklärung potentieller Cystinpeptide koppelten einige Arbeitsgruppen die klassische Collision Induced Dissociation (CID) mit der Electron Transfer Dissociation (ETD) [SYKA ET AL., 2004; COON ET AL., 2004; WU ET AL., 2009; COON, 2009]. Bei der ETD werden mehrfach positiv geladene Precursor-Ionen mit Radikalanionen (z. B. Anthracen oder Fluoranthen) zur Reaktion gebracht. Die dadurch induzierte Fragmentierung der Ionen liefert hauptsächlich c- und z-Fragmente, während durch die CID vorwiegend b- und y-Fragmente entstehen. Die Nomenklatur der Fragmente erfolgt nach Roepstorff und Fohlmann [1984] bzw. nach Biemann [1990]. Anhand der detektierten Peptidmassen (MS) und den zugehörigen Peptidfragmentmassen (MS²) lassen sich in der Datenanalyse mit Hilfe bekannter Sequenzen Rückschlüsse auf das jeweilige Peptid ziehen. Dadurch, dass bei der CID, im Gegensatz zur ETD, die Disulfidbindungen intakt bleiben, eröffnet sich die Möglichkeit, unterschiedliche Informationen zu erhalten, die zur Aufklärung der Disulfidstruktur beitragen. Lutz et al. [2012] gelang es bereits, mit Hilfe dieser Methode zum ersten Mal eine Kopf-Schwanz-Verbindung von HMW-UE in Kleberproteinen nachzuweisen. GMP wurde bisher nicht mit dieser Strategie untersucht.

2 Problemstellung und Zielsetzung

GMP aus Weizen ist das größte in der Natur vorkommende Proteinbiopolymer. Sein Gehalt im Mehl steht im engen Zusammenhang mit der Backqualität der unterschiedlichen Weizensorten. GMP besteht aus vielen verschiedenen Protein-UE des GLUT, die über intermolekulare Disulfidbindungen verknüpft sind. Bisher wurden noch keine Untersuchungen zur Aufklärung der Disulfidstruktur von GMP durchgeführt. Es wurde lediglich nachgewiesen, dass die Mengenverhältnisse von HMW- zu LMW-UE und von x- zu y- HMW-UE im GMP viel höher liegen als im Gesamtglutenin [DON ET AL., 2003; KIRALY ET AL., 2004]. Tao et al. [1992] führten Untersuchungen an GLUT durch, die auf eine Kopf-Schwanz-Verknüpfung von HMW-UE hinwiesen, jedoch konnten die Positionen der Cysteinreste in den Proteinen nicht eindeutig zugeordnet werden.

Daher war das erste Ziel der vorliegenden Arbeit, GMP aus Mehlen zweier Weizensorten unterschiedlicher Backqualitätsklassen zu isolieren und die Zusammensetzung zu analysieren. Anschließend sollten Disulfidbindungen in den GMP-Präparaten nach enzymatischer Partialhydrolyse mittels LC-MS/MS unter Anwendung verschiedener Fragmentierungstechniken bestimmt werden, um einen Einblick in den molekularen Aufbau dieser Proteinfraction zu erhalten.

Zur Bestimmung der Backqualität und Charakterisierung von Weizenmehlen werden als direkte Methoden standardisierte Backversuche (z. B. RMT) sowie als indirekte Methoden physikalische (z. B. rheologische Untersuchungen) und chemisch-analytische (z. B. Bestimmung des Rohproteingehaltes) Untersuchungen durchgeführt. Seit einigen Jahren gibt es Hinweise, dass die Korrelationen zwischen den Ergebnissen der Backversuche (z. B. RMT) und den indirekten Qualitätsparametern (z. B. Fallzahl, Proteingehalt, Sedimentationswert) bei neuen Weizensorten zunehmend schlechter geworden sind [FREIMANN, 2005; SELING, 2010]. Ein möglicher Grund hierfür könnten inhaltsstoffliche Veränderungen im Weizenkorn sein, die durch die Züchtungsaktivitäten der letzten Jahrzehnte bedingt sein können.

Daher besteht die Möglichkeit, dass bisher eingesetzte Standardbackversuche die Backqualität neu zugelassener Weizensorten nicht mehr ausreichend erfassen. In Deutschland ist der RMT der am häufigsten eingesetzte Standardbackversuch

(1 kg Mehl). Der MRMT ist die Mikrovariante des RMT (10 g Mehl) und für Züchter und wissenschaftliche Untersuchungen entwickelt worden, da nur geringe Mehlmengen benötigt werden.

Das zweite Ziel dieser Arbeit war daher die Entwicklung eines neuen standardisierten Mikrobacktests (Mikro-Opti-Mix-Test, MOMT), um die Backqualität von Weizensorten besser zu erfassen als bisher. Dazu musste zunächst ein neuer registrierender Mikrokneter entwickelt werden, mit dem der mechanische Energieeintrag und das Knetoptimum ermittelt werden können. Die Ergebnisse des MOMT sollten mit indirekten Qualitätsparametern eines Sortimentes aus verschiedenen sortenreinen Mehlen und Mehlen aus Sortenmischungen korreliert werden. Letztendlich sollte die Zuverlässigkeit der Vorhersage der Backqualität von Weizenmehl verbessert werden.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Auswahl der Weizensorten zur Untersuchung von GMP

3.1.1 Auswahl geeigneter Weizensorten

Zur Gewinnung des GMP wurden zwei unterschiedliche Weizensorten verwendet, die sich zum einen in ihrer Backqualität und zum anderen in der Zusammensetzung des GLUT deutlich unterschieden. Es wurden die Weizensorten Akteur (Erntejahr: 2013, Qualitätsgruppe E; Eliteweizen), mit den HMW-UE Ax1, Dx5, Bx7, By9, und Dy10 und Winnetou (Erntejahr: 2013, Qualitätsgruppe C; sonstiger Weizen bzw. Futterweizen), mit den HMW-UE Dx2, Bx6, By8 und Dy12 ausgewählt. Diese Kombinationen wurden von Payne et al. [1987] mit guter bzw. schlechter Backqualität in Verbindung gebracht. Hierbei wurde die Backqualität mit dem sogenannten Payne-Score ausgedrückt, wobei ein minimaler Score von drei bzw. ein maximaler Score von zehn erreicht werden konnte. Anhand dieser Bewertung erreichte Winnetou einen Score von vier und Akteur einen Score von zehn, wobei die Backqualität mit zunehmenden Score höher zu bewerten ist [PAYNE ET AL., 1987].

Für einige Voruntersuchungen wurde zusätzlich Mehl der Weizensorte Akteur aus dem Erntejahr 2011 verwendet. Die Weizenkörner wurden von der IG Pflanzenzucht (München, Deutschland) bezogen und wie unter 4.2.1 beschrieben zu Mehlen vermahlen.

3.1.2 Charakterisierung der Weizenmehle

Nachdem die Weizenmehle aus den Sorten Akteur und Winnetou mindestens zwei Wochen lang bei Raumtemperatur (RT) im Dunklen gelagert wurden, folgte deren Charakterisierung. Dabei wurde der Feuchtigkeits- (4.2.2), Asche- (4.2.3), Rohprotein- (4.2.4), Feuchtkleber- (4.2.5) und GMP-Gehalt (4.3.2) analysiert (Tabelle 3.1).

Tabelle 3.1: Charakterisierung der Mehle der Weizensorten Akteur und Winnetou

Bestimmung der Feuchtigkeitsgehalte mittels Infrarot-Feuchtemessgerät (MA35M), der Aschegehalte mittels ICC-Standard Nr. 104/1, der Rohproteingehalte mittels Dumas-Analyse, der Feuchtklebergehalte durch Gravimetrie in Anlehnung an ICC-Standard Nr. 137 und der GMP-Gehalte mittels GP-HPLC/UV nach Extraktion mit SDS und Reduktion durch DTT (Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung).

	Akteur	Winnetou
Feuchtigkeitsgehalt [%]	13,3 \pm 0,1	13,3 \pm 0,0
Aschegehalt in der TM [%] ¹	0,50 \pm 0,00	0,46 \pm 0,00
Rohproteingehalt [%]	13,1 \pm 0,0	8,9 \pm 0,1
Feuchtklebergehalt [%]	38,3 \pm 0,4	22,8 \pm 0,5
GMP-Gehalt [mg/g Mehl]	18,5 \pm 0,4	2,4 \pm 0,2

¹ bezogen auf die Trockenmasse (TM)

Generell weisen Weizenmehle einen durchschnittlichen Feuchtigkeitsgehalt von ca. 14 % auf [SOUCI ET AL., 2008]. Somit lagen die beiden Weizensorten mit einem Feuchtigkeitsgehalt von 13,3 % in dem für Weizenmehle typischen Bereich. Nach DIN 10355 beträgt der Aschegehalt für eine Mehlsorte von 405 max. 0,50 % und für eine Mehlsorte von 550 0,51-0,63 % (bezogen auf 100 g TM des Mehles) [SOUCI ET AL., 2008]. Die ermittelten Werte zeigten, dass die beiden Mehlsorten Akteur und Winnetou nach DIN 10355 der Type 405 entsprachen.

Der Rohproteingehalt von Akteur mit 13,1 % (15,1 % in der TM) entsprach einem typischen Wert für einen Eliteweizen, der in der Regel mehr als 14 % Rohproteingehalt in der TM ausweist [RAIFFEISEN, 30.08.2016]. Die Weizensorte Winnetou, die der Qualitätsklasse C zugeordnet ist, wies demgegenüber nur 8,9 % (10,3 % in der TM) Rohproteingehalt auf. Rohproteingehalte unter 10,5 % in der TM werden als niedrig eingestuft und sind in der Qualitätsklasse C wieder zu finden [RAIFFEISEN, 30.08.2016]. Weiterhin wurde zur Charakterisierung der Weizenmehle der Feuchtklebergehalt herangezogen. Tendenziell enthalten backstarke Weizen höhere Klebergehalte als backschwache Weizen. Die Ergebnisse zeigten, dass der Feuchtklebergehalt für Akteur höher lag (38,3 %) als für Winnetou (22,8 %) und somit die unterschiedlichen Qualitätsklassen dadurch widerspiegelte. Gleiches gilt für den GMP-Gehalt, der bei Akteur (18,5 mg/g Mehl) ebenfalls deutlich höher war als bei Winnetou (2,4 mg/g Mehl).

3.1.3 Diskussion

Die Feuchtigkeitsgehalte beider Weizensorten lagen bei je 13,3 %. Somit lagen die Gehalte in einem für Weizenmehle typischen Bereich und waren Voraussetzung für eine gute Lagerfähigkeit und Haltbarkeit [SOUCI ET AL., 2008]. Die Einstellungen der Mühle wurden so gewählt, dass eigentlich Mehle der Type 550 hätten entstehen sollen. Mit Aschegehalten von 0,50 % in der TM für Akteur und 0,46 % in der TM für Winnetou wurde dies nicht erreicht. Da es letztendlich um die qualitative Aufklärung der Disulfidstruktur des GMP in den beiden Weizensorten ging, spielte der relativ niedrige Aschegehalt der Mehle keine Rolle.

Anhand der Rohproteingehalte zeigte sich sehr deutlich der Unterschied zwischen dem Eliteweizen Akteur und dem Futterweizen Winnetou. Der Rohproteingehalt von Akteur betrug 13,1 % bzw. in der TM 15,1 % und für Winnetou 8,9 % bzw. in der TM 10,3 %. Dies machte ungefähr einen Unterschied von 5 % der beiden Weizensorten aus und gemäß ihrer Qualitätseinstufung stimmten die Rohproteinwerte mit der Literatur überein [RAIFFEISEN, 30.08.2016]. Ebenso verhielt es sich mit den Klebergehalten, der bei Akteur 38,3 % und bei Winnetou 22,8 % betrug und somit im Bereich angegebener Literaturwerte lag [HESSER, 1994; THANHAEUSER ET AL., 2014].

Generell wird der Rohproteingehalt bei Weizen durch die Stickstoffdüngung wie auch durch sortenspezifische Unterschiede im Proteinbildungsvermögen beeinflusst. Tendenziell wirken sich höhere Protein- und auch Klebergehalte positiv auf die Backqualität aus, während z. B. bei der Keksherstellung proteinärmere Mehle bevorzugt werden, da die Teige nicht elastisch sein dürfen [BUNDESSORTENAMT, 2017].

Die GMP-Gehalte der beiden Weizensorten waren sehr unterschiedlich. In der Literatur wurden bereits Eliteweizensorten mit ähnlich hohen GMP-Gehalten (> 18 mg/g Mehl), wie der hier untersuchte Akteur, beschrieben [THANHAEUSER ET AL., 2014]. Jedoch war der GMP-Gehalt des Mehles der Weizensorte Winnetou mit 2,4 mg/g Mehl außergewöhnlich niedrig.

Insgesamt zeigten die Ergebnisse der Charakterisierung der Mehle der beiden Weizensorten, dass diese für die weiteren Untersuchungen zur Strukturaufklärung des GMP sehr gut geeignet waren, da sie große Unterschiede in den Protein-, Kleber- und GMP-Gehalten aufzeigten. Im Folgenden wurde untersucht, ob es neben den quantitativen Unterschieden im Protein-, Kleber- und GMP-Gehalt auch

strukturelle Unterschiede gab und ob daraus ein Zusammenhang mit der Backqualität abgeleitet werden konnte.

3.2 Methodenentwicklung zur Isolierung von GMP-Gelen

3.2.1 Isolierung

In der Literatur wurden bereits Methoden zur Isolierung des GMP aus Weizenmehl beschrieben [GRAVELAND ET AL., 1979; MOONEN ET AL., 1982; DON ET AL., 2003]. Dabei wurde gezeigt, dass das GMP in einer SDS-Lösung unlöslich war und nach Zentrifugation der Mehlsuspension als Gel isoliert werden konnte. Basierend auf diesen Studien wurde eine Methode optimiert, um hohe Ausbeuten an GMP zu erzielen und GMP so rein wie möglich zu isolieren. Es wurden folgende Parameter untersucht, die die Ausbeute und die Zusammensetzung des GMP-Gels maßgeblich beeinflussten: Entfettung des Mehles, Zusammensetzung des Extraktionsmittels, Zentrifugationsparameter und abschließende Waschschrte. Für alle Vorversuche wurde die Mehlsorte Akteur (Jahrgang 2011) verwendet, falls nichts anderes angegeben ist.

Zum Entfetten wurden *n*-Pentan (LiChrosolv) und Gemische aus *n*-Pentan und EtOH (LiChrosolv) verwendet. Der Zusatz von EtOH sollte den Anteil an polaren Lipiden im Extrakt erhöhen. Graveland et al. [1979] und Don et al. [2003] arbeiteten mit Petrolether, der sich hier als ungeeignet erwies, da Rückstände des Lösungsmittel in späteren MS-Untersuchungen störten. Die entfetteten bzw. nicht entfetteten Mehle wurden in einer 1,5 %igen SDS-Lösung suspendiert, 30 min bei RT gerührt und weitere 30 min bei 80.000 × *g* zentrifugiert. Dabei zeigte sich, dass bei nicht entfetteten Mehlen keine Gelschicht gebildet wurde. Stattdessen bildete sich eine viskose, braune Schicht über dem Stärkesediment, die vom Überstand nicht getrennt werden konnte. Entfettungsversuche mit Gemischen aus *n*-Pentan und EtOH (5 % bzw. 10 % EtOH-Anteil, *v/v*) erwiesen sich ebenfalls als ungeeignet, da sich im getrockneten Mehl sehr harte Klumpen bildeten, die in weiteren Extraktionsschritten stören würden. Im Gegensatz dazu bildeten sich nach der Entfettung mit *n*-Pentan keine Klumpen und nach Zentrifugation der Mehlsuspension entstand eine kompakte Gelschicht, die vom Überstand und Stärkesediment sehr gut abgetrennt werden konnte.

Um den Einfluss der SDS-Konzentration im Extraktionsmittel auf die Gelbildung zu untersuchen, wurden Extraktionsmittel mit verschiedenen SDS-Konzentrationen (0,5 %, 1,0 %, 1,5 %, 2,0 %) verwendet. Mit den Mehlsuspensionen (aus Akteur 2013) wurde wie bei den Entfettungsversuchen vorgegangen, wobei der Überstand (SDS-löslicher Anteil = SDSL) und die Gelschicht (GMP-Gel) gesammelt, gefriergetrocknet und auf ihren Rohproteingehalt (4.2.4) hin untersucht wurden. Die Rohproteingehalte der getrockneten GMP-Gele, die bei SDS-Konzentrationen von 1,0 %, 1,5 % und 2,0 % beobachtet wurden, unterschieden sich nicht signifikant, wobei die Rohproteingehalte im SDSL-Anteil bei $105,1 \pm 0,5$ - $107,4 \pm 0,5$ mg/g Mehl und im GMP-Gel bei $18,5 \pm 0,4$ - $20,3 \pm 0,1$ mg/g Mehl lagen. Im Gegensatz dazu war ein großer Unterschied des Rohproteingehalts nach der Extraktion mit 0,5 % SDS im Extraktionsmittel zu beobachten. Hier betrug der Rohproteingehalt in der SDSL-Fraktion $88,5 \pm 0,5$ mg/g Mehl und im GMP-Gel $33,9 \pm 1,0$ mg/g Mehl. Offensichtlich war eine SDS-Konzentration von 0,5 % im Extraktionsmittel zu gering, um die SDSL-Fraktion vollständig aus dem Mehl zu extrahieren. Somit war eine SDS-Konzentration von mindestens 1 % notwendig.

Die Versuche wurden ebenfalls mit einer gepufferten SDS-Lösung (Phosphatpuffer: 50 mmol/L, pH 6,9) wiederholt, jedoch stellte sich dabei heraus, dass die Gelbildung dadurch wesentlich schlechter war und das Gel vom Stärkerückstand nicht mehr sauber getrennt werden konnte (Abbildung 3.1). Aus diesem Grund wurde für die weiteren Experimente mit einer ungepufferten 1,5 %igen SDS-Lösung gearbeitet.

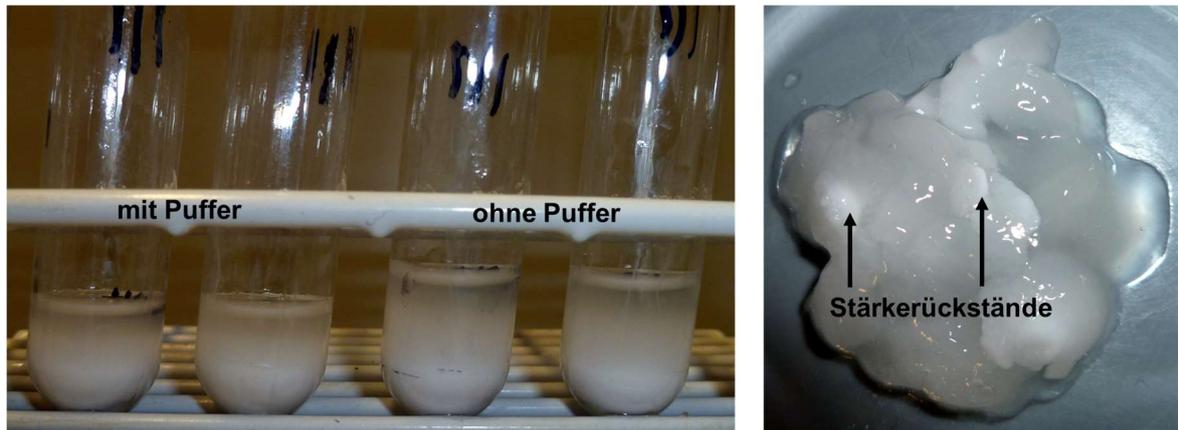


Abbildung 3.1: GMP-Gel Isolierung mittels Abkratzmethode

Vergleich der GMP-Gelbildung bei der Extraktion mit und ohne Puffer (Phosphatpuffer, pH 6,9) im SDS-Extraktionsmittel.

Bild links: Suspensionen nach Extraktion von Weizenmehl der Sorte Akteur mit gepufferter (links) und ungepufferter (rechts) SDS-Lösung und Zentrifugation ($80.000 \times g$, 30 min).

Bild rechts: Stärkerückstände in der Gelschicht nach Extraktion von Weizenmehl der Sorte Akteur mit gepufferter SDS-Lösung.

Als nächstes wurden die Zentrifugationsparameter (Zentrifugalbeschleunigung, Dauer und Temperatur) untersucht. Diese beeinflussten die optimale Trennung der SDS-löslichen Proteine, des GMP-Gels und des Stärkerückstands. Eine Laborzentrifuge (Multifuge 3 L-R, Thermo Scientific, Waltham, USA), mit einer maximalen Zentrifugalbeschleunigung von $4235 \times g$ wurde mit einer Ultrazentrifuge (Sorvall WX Ultra 80, Thermo Scientific, Waltham, USA) verglichen, deren maximale Zentrifugalbeschleunigung über $100.000 \times g$ betrug. Weiterhin wurden die Temperatur und die Dauer der Zentrifugation variiert (Tabelle 3.2). Die GMP-Gele wurden gesammelt, lyophilisiert und mittels Dumas-Analyse (4.2.4) auf ihren Rohproteingehalt hin untersucht.

Die Laborzentrifuge bot den Vorteil, pro Zentrifugationsvorgang einen Ansatz von 100 g Mehl zu ermöglichen, während mit der Ultrazentrifuge nur 4,5 g Mehl pro Durchgang möglich waren. Die Rohproteingehalte der Gele aus den Ansätzen mit der Laborzentrifuge zeigten, dass weder durch längeres Zentrifugieren noch durch niedrigere Temperaturen hohe Rohproteingehalte in den Gelen erzielt wurden (Tabelle 3.1). Hinzu kam, dass in der Gelschicht Stärkerückstände eingeschlossen waren, und damit keine saubere Trennung zwischen GMP-Gel und Stärke erreicht wurden (Abbildung 3.2.).

Tabelle 3.2: Rohproteingehalte von gefriergetrockneten GMP-Gelen

Rohproteingehalte der aus Mehl der Weizensorte Akteur (Erntejahr 2011) isolierten GMP-Gele (Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung), in Abhängigkeit von der Zentrifugalbeschleunigung, der Temperatur und der Dauer der Zentrifugation.

Zentrifugalbeschleunigung [$\times g$]	Temperatur [°C]	Dauer der Zentrifugation [h]	Rohproteingehalt des GMP-Geles [%]
4235	4	10,0	4,9 \pm 0,8
4235	4	17,5	10,2 \pm 0,8
4235	20	24,0	18,0 \pm 0,8
80.000	20	1,0	29,0 \pm 0,5
80.000	20	0,5	29,4 \pm 0,2
124.000	20	0,5	28,1 ¹

¹ Einfachbestimmung

Die Durchführung mit der Ultrazentrifuge war zwar wesentlich arbeitsaufwendiger, aber durch die höhere Zentrifugalbeschleunigung wurden bereits bei sehr kurzen Zentrifugationszeiten klare Gele erreicht, die sauber vom Stärkerückstand abgetrennt werden konnten (Abbildung 3.2). Die Ergebnisse zeigten, dass ein maximaler Rohproteingehalt in den GMP-Gelen bereits nach einer halbstündigen Zentrifugation bei 80.000 $\times g$ erreicht wurde. Es wurden keine weiteren Versuche mit niedrigeren Temperaturen vorgenommen, da die Versuche mit der Laborzentrifuge bereits gezeigt hatten, dass die Trennung von Proteinen und Stärke weniger durch die Temperatur als durch die Erhöhung der Zentrifugationszeit beeinflusst wurde.

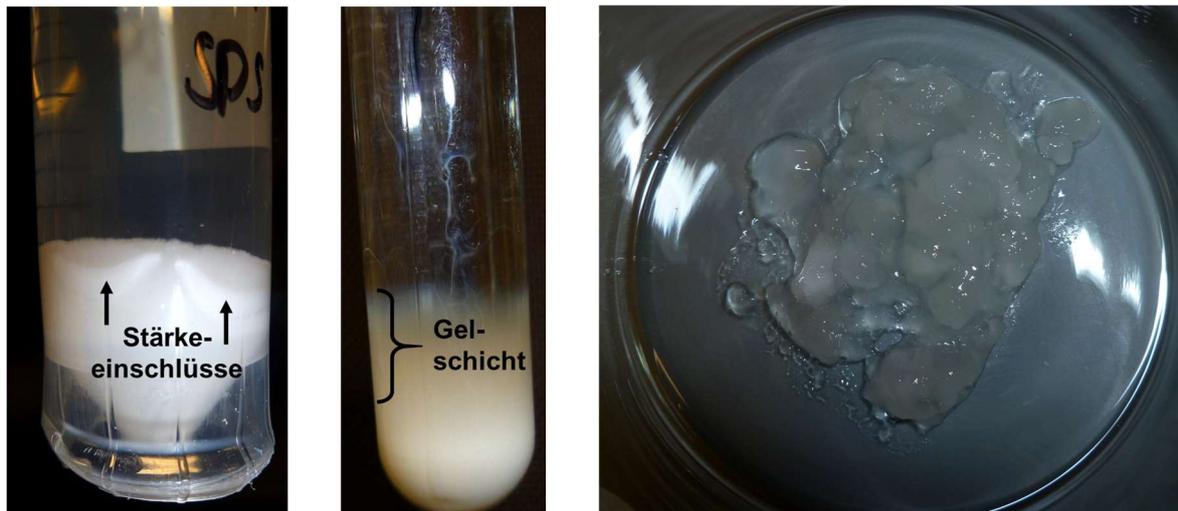


Abbildung 3.2: Labor- und Ultrazentrifuge im Vergleich

Gewinnung des GMP-Gels aus Weizenmehl nach Behandlung mit 1,5 %iger SDS-Lösung und Zentrifugation mittels Laborzentrifuge ($4235 \times g$, $20 \text{ }^\circ\text{C}$, 24 h; linkes Bild) und Ultrazentrifuge ($80.000 \times g$, $20 \text{ }^\circ\text{C}$ und 30 min; mittleres Bild) im Vergleich. Nach Zentrifugation mit der Laborzentrifuge waren Stärkeeinschlüsse zu beobachten (linkes Bild), während mit der Ultrazentrifuge eine deutliche Gelschicht (mittleres Bild) erhalten wurde, die vom Stärkerückstand sauber abgetrennt werden konnte (rechtes Bild).

Zuletzt wurden die feuchten Gele zusätzlich gewaschen, da sich zum einen laut Don et al. [2003] in der GMP-Gelschicht noch 15-30 % niedermolekulare, lösliche Proteine befinden, die nicht zum GMP gehören. Zum anderen sollten Rückstände des SDS-Extraktionsmittels entfernt werden, um den Rohproteingehalt des GMP-Gels zu steigern. Es wurden Waschversuche mit EtOH (60 %) und bidest. Wasser durchgeführt. Als ideal erwies es sich, im ersten Schritt mit EtOH (60 %) zu waschen und im zweiten Schritt mit bidest. Wasser, um das Lösungsmittel weitgehend zu entfernen und eine bessere Gefriertrocknung zu gewährleisten. Die Rohproteinanalyse nach Dumas (4.2.4) zeigte, dass durch die beiden Waschschrte der Rohproteingehalt des GMP-Gels von 29 % auf 35 % gesteigert wurde.

Abbildung 3.3 zeigt das festgelegte Extraktionsschema zur Gewinnung der GMP-Gele. Nach Entfettung der Mehle mit *n*-Pentan wurden pro Extraktionsansatz 4,5 g Mehl eingesetzt. Dazu wurden 80 mL SDS-Lösung (1,5 %) gegeben, mit einem Magnetrührer 30 min bei RT homogenisiert und anschließend wurde die entstandene Suspension zentrifugiert. Der Überstand wurde abdekantiert und die Gelschicht über der Stärkeschicht abgekratzt. Der Vorgang wurde mehrmals wiederholt. Das

gesammelte Gel wurde mit 20 mL EtOH (60 %) und 20 mL bidest. Wasser gewaschen und nach Zentrifugation gefriergetrocknet und bei -18 °C aufbewahrt.

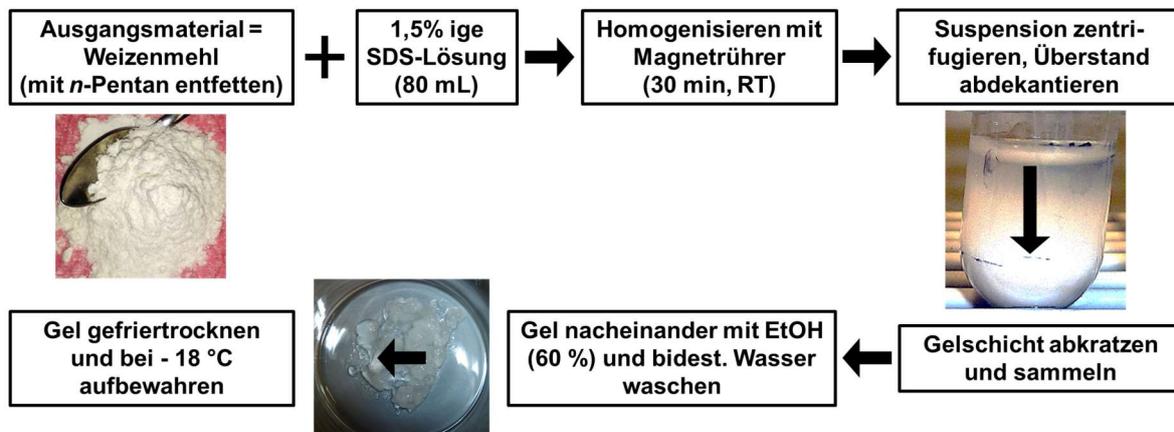


Abbildung 3.3: Extraktionsschema zur Gewinnung der GMP-Gele

3.2.2 Proteinverteilung der isolierten Fraktionen

Zunächst wurde aus den beiden Weizensorten Akteur und Winnetou (jeweils Erntejahr 2013) mit der entwickelten Isolierungsmethode für GMP (4.4.2) ein Vorrat an GMP-Gel extrahiert, wobei für Akteur 26 Ansätze und für Winnetou 28 Ansätze (je 4,5 g) durchgeführt wurden. Die lyophilisierten GMP-Gele jeder Sorte wurden miteinander vereint und homogenisiert, so dass für weitere Untersuchungen immer das gleiche Probenmaterial zur Verfügung stand. Ebenso wurde mit dem SDSL-Überstand (SDS-Extrakt), dem Rückstand (Stärkesediment) und dem ethanolischen Waschextrakt verfahren. Die gefriergetrockneten Fraktionen wurden ausgewogen um daraus die Verteilung, bezogen auf das eingesetzte Mehl, zu berechnen. Mit Hilfe dieser Berechnungen wurde nach Bestimmung der Rohproteingehalte (4.2.4) der einzelnen Fraktionen die Proteinverteilung, bezogen auf die Ausgangssubstanz (Mehl), berechnet (Tabelle 3.3).

Tabelle 3.3: Quantitative Verteilung der isolierten Fraktionen

Mengen- und Proteinbilanz der Isolierung von GMP-Gelen aus Mehlen der Weizensorten Akteur und Winnetou. Der Rohproteingehalt wurde mittels Dumas-Analyse ermittelt (Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung).

Fraktion	Gehalt (mg/g Mehl) ¹		Rohproteingehalt (%)	
	Akteur	Winnetou	Akteur	Winnetou
SDS-Extrakt	218 \pm 2	200 \pm 16	31,7 \pm 0,4	22,9 \pm 0,2
EtOH-Extrakt	51 \pm 0	n.b. ²	10,4 \pm 0,0	n.b. ²
GMP-Gel	102 \pm 7	80 \pm 9	35,0 \pm 0,3	7,9 \pm 0,3
Sediment	556 \pm 2	591 \pm 20	1,0 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1
	Protein (mg/g Mehl) ¹		Protein (%) ³	
	Akteur	Winnetou	Akteur	Winnetou
SDS-Extrakt	69	46	53	52
EtOH-Extrakt	5	n.b. ²	4	n.b. ²
GMP-Gel	36	6	27	7
Sediment	6	4	5	4

¹ bezogen auf Mehl

² nicht bestimmt

³ basierend auf dem Rohproteingehalt der Mehle
(Akteur = 131 mg/g, Winnetou = 89 mg/g)

Der größte Mengenanteil des Ausgangsmaterials wurde im Sediment wiedergefunden (556 bzw. 591 mg/g Mehl), das überwiegend aus Stärke bestand, gefolgt vom SDS-Extrakt (218 bzw. 200 mg/g Mehl), der aus niedermolekularen Proteinen und SDS zusammengesetzt war. Der Gehalt des getrockneten GMP-Gels für Akteur betrug 102 mg/g Mehl und für Winnetou 80 mg/g Mehl. Der kleinste Anteil war im ethanologischen Waschextrakt wiederzufinden, der nur für Akteur (51 mg/g Mehl) bestimmt wurde.

Wie zu erwarten war, enthielt der SDS-Extrakt den höchsten (53 bzw. 52 %, bezogen auf das jeweilige Mehl) und das Stärkesediment den niedrigsten Proteinanteil (5 bzw. 4 %). Ein großer Unterschied zwischen Akteur und Winnetou zeigte sich im GMP-Gel. Während im GMP-Gel aus Akteur 36 mg Protein/g Mehl ermittelt wurde, betrug der Gehalt für das GMP-Gel aus Winnetou nur 6 mg Protein/g Mehl. Das entsprach für das GMP-Gel aus Akteur 27 % Protein, bezogen auf den Gesamtproteingehalt im Mehl und für das GMP-Gel aus Winnetou nur 7 %.

Um zu überprüfen, ob eine saubere Trennung der Fraktionen stattgefunden hatte, wurden der SDS-Extrakt, das GMP-Gel und das Stärkesediment der beiden

Weizensorten mit der analytischen Extraktion von Weizenmehl (GP-HPLC-Methode zur Bestimmung des GMP-Gehaltes) untersucht [THANHAEUSER ET AL., 2014]. Zur besseren Unterscheidung wird im Folgenden nicht der Begriff GMP, sondern SDS-unlösliches Protein (SDSU) verwendet. Die in Tabelle 3.4 zusammengefassten Ergebnisse zeigen, dass im GMP-Gel 17 % (Akteur) bzw. 21 % (Winnetou) an SDSL-Proteinen detektiert wurden, während die SDS-Extrakte nahezu frei von SDSU-Proteinen waren und im Sediment kaum noch Proteine detektiert wurden. Die hohen Wiederfindungsraten der Gesamtproteingehalte bewiesen, dass die Dumas-Methode und die GP-HPLC-Methode für die Proteinbilanzierung sehr gut übereinstimmten.

Tabelle 3.4: GP-HPLC-Analyse der Fraktionen der Isolierung von GMP-Gelen
Bestimmung der SDS-löslichen (SDSL) und SDS-unlöslichen (SDSU) Anteile der isolierten Fraktionen (SDS-Extrakt, GMP-Gel und Sediment), jeweils aus den Weizensorten Akteur und Winnetou mittels GP-HPLC nach Extraktion mit SDS-Lösung und DTT-haltiger, reduzierender Extraktionslösung (Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung).

	SDSL- Anteil [mg/g]	SDSU- Anteil [mg/g]	Summe [mg/g]	Rohprotein [mg/g]¹	Wieder- findung [%]
Akteur					
GMP-Gel	51,6 \pm 0,1	301,7 \pm 6,3	353,4	350,0	101,0
SDS-Extrakt	310,3 \pm 4,9	1,9 \pm 0,4	312,2	317,0	98,5
Sediment	6,3 \pm 0,2	3,0 \pm 0,1	9,4	10,0	94,0
Winnetou					
GMP-Gel	13,2 \pm 0,3	62,9 \pm 0,2	76,1	79,0	96,3
SDS-Extrakt	215,4 \pm 11,7	2,3 \pm 0,3	217,8	229,0	95,1
Sediment	3,5 \pm 0,1	2,8 \pm 0,2	6,4	7,0	91,2

¹ s. Tabelle 3.3

3.2.3 Zusammensetzung der GMP-Gele

Die Rohproteingehalte (Tabelle 3.5) der gefriergetrockneten GMP-Gele zeigten, dass diese nicht nur aus Proteinen bestanden. Aus diesem Grund wurden außerdem die Stärke- (4.4.3), Wasser- (4.4.4) und SDS-Gehalte (4.4.5) der beiden Präparate bestimmt (Tabelle 3.5). Dabei stellte sich heraus, dass die Stärke (Gehalt 50 bzw. 72 %) der Hauptbestandteil der Gele war. Der Wassergehalt des GMP-Geles aus Akteur war höher als derjenige des GMP-Geles aus Winnetou (7,7 bzw. 1,8 %), während der SDS-Gehalt, der aus dem Extraktionsmittel stammte, im GMP-Gel aus

Winnetou höher war (4,5 bzw. 15,5 %). Bei beiden GMP-Gelen wurden nahezu 100 % der Inhaltsstoffe wiedergefunden, so dass die Hauptinhaltsstoffe erfasst worden waren.

Tabelle 3.5: Zusammensetzung der GMP-Gele

Zusammensetzung der lyophilisierten GMP-Gele aus den Mehlsorten Akteur und Winnetou, angegeben als prozentuale Anteile des jeweiligen Isolats (Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung).

	GMP-Gel aus Akteur	GMP-Gel aus Winnetou
Rohproteingehalt	35,0 \pm 0,3 %	7,9 \pm 0,3 %
Stärkegehalt	50,0 \pm 0,1 %	72,0 \pm 2,6 %
Wassergehalt	7,7 \pm 0,1 %	1,8 \pm 0,1 %
SDS-Gehalt	4,5 \pm 0,2 %	15,5 \pm 1,2 %
Summe	97,2 %	97,2 %

3.2.4 Diskussion

Die in der Literatur beschriebenen Isolierungsmethoden für GMP-Gel aus Weizenmehl erwiesen sich als gute Grundlage zur Optimierung der Methode, um maximale Ausbeuten und hohe Reinheiten der GMP-Gele zu erreichen [GRAVELAND ET AL., 1979; MOONEN ET AL., 1982; DON ET AL., 2003].

Die Versuche mit nicht entfetteten und entfetteten Mehlen zeigten, dass sich nur in entfetteten Mehlen eine klare Gelschicht bildete, die vom Überstand und Rückstand getrennt werden konnte. Im Gegensatz zu Petrolether, der bei Graveland et al. [1979], Moonen et al. [1982] und Don et al. [2003] verwendet wurde, wurde *n*-Pentan verwendet (LiChrosolv), um störende Verschmutzungen für spätere MS-Messungen auszuschließen. Der Zusatz von EtOH im Lösungsmittel erwies sich als ungeeignet, da sich im getrockneten Mehl harte Klumpen bildeten. Da sich bei der Verwendung von 100 %igem *n*-Pentan eine kompakte, klare Gelschicht bildete, wurden keine weiteren Versuche unternommen, um die polaren Lipide aus dem Mehl zu entfernen, da diese bei der Gelbildung offensichtlich nicht störten. Zur Gelschichtbildung war es jedoch nötig, mit *n*-Pentan zu entfetten.

Als Extraktionsmittel wurde SDS gewählt, da dieses in der Lage ist, nicht kovalente Wechselwirkungen zwischen Proteinen zu brechen, so dass das unlösliche GMP als gequollenes Gel gewonnen werden konnte. Die Disulfidbindungen der Proteine blieben intakt, so dass die gefriergetrockneten Gele für deren Analyse geeignet

waren. Die Versuche mit unterschiedlichen Konzentrationen an SDS im Extraktionsmittel zeigten, dass eine Konzentration von 0,5 % SDS zu gering war um den SDSL-Anteil vollständig aus dem Mehl zu entfernen. Für die weiterführenden Experimente wurde eine SDS-Konzentration von 1,5 % festgelegt, weil es mit dieser Konzentration möglich war, den SDSL-Anteil vollständig aus dem Mehl zu entfernen.

Gepufferte (Phosphatpuffer: 50 mmol/L, pH 6,9) SDS-Extraktionsmittel wirkten sich negativ auf die Gelbildung aus. Messungen ergaben, dass eine wässrige Mehlsuspension mit SDS-Extraktionsmittel einen pH-Wert von ca. 7,2 aufwies. In diesem pH-Bereich ist bei RT kein Disulfidaustausch zu erwarten, so dass, wie auch in der Literatur beschrieben, ohne Puffer weitergearbeitet wurde, weil sich die so erhaltenen Gele nach der Zentrifugation gut isolieren ließen [GRAVELAND ET AL., 1979; MOONEN ET AL., 1982; DON ET AL., 2003].

Der Vergleich der Laborzentrifuge mit der Ultrazentrifuge zeigte, dass vor allem eine sehr hohe Zentrifugalbeschleunigung notwendig war um sauber getrennte GMP-Gele zu gewinnen, wie bereits Don et al. [2003] beschrieben hatten. Die niedrige Zentrifugalbeschleunigung der Laborzentrifuge (maximal $4235 \times g$) konnte weder durch längeres Zentrifugieren noch durch niedrigere Temperaturen kompensiert werden. Aus diesem Grund wurde für die weiteren Untersuchungen die Ultrazentrifuge verwendet, die höhere Zentrifugalbeschleunigungen ermöglichte. Anhand der Rohproteingehalte der GMP-Gele (Tabelle 3.2) wurden die Parameter auf $80.000 \times g$, $20 \text{ }^\circ\text{C}$ und 0,5 h für die Zentrifugation festgelegt.

Abschließend wurden für die Isolierung von GMP-Gel zwei Waschschrte für das feuchte Gel eingebaut (60 %igem EtOH und bidest. Wasser), die auch Moonen et al. [1982] bereits anwendeten. Im Unterschied zu Moonen et al. [1982] wurde jedoch statt mit 100 %igem EtOH mit 60 %igem EtOH gearbeitet, da aus der modifizierten Osbornefraktionierung (4.3.1) bekannt war, dass eine EtOH-Konzentration von 60 % geeignet war, um niedermolekulare Proteine, wie z. B. GLIA, zu extrahieren. Die Rohproteinanalyse zeigte, dass der Gehalt in den gewaschenen Gelen nochmals gesteigert wurde (von 29 % auf 35 %). Zur Haltbarmachung der GMP-Gele wurden diese abschließend gefriergetrocknet und bei $-18 \text{ }^\circ\text{C}$ aufbewahrt. Insgesamt betrachtet, wurde eine Methode entwickelt (4.4.2), mit der es möglich war, ein GMP-Gel zu isolieren, das optimal von den SDSL-Proteinen und dem Stärkerückstand getrennt wurde.

Anhand der Bilanzierung der aus Mehlen der Weizensorten Akteur und Winnetou isolierten Fraktionen wurde gezeigt, dass, wie zu erwarten, der größte Anteil an Ausgangsmaterial in den Sedimenten wiedergefunden wurde (556 bzw. 591 mg/g Mehl), gefolgt von den SDS-Extrakten (218 bzw. 200 mg/g Mehl) und den GMP-Gelen (102 mg/g bzw. 80 mg/g Mehl). Sowohl die Proteingehalte der GMP-Gele wie auch die Proteinanteile, bezogen auf das Mehlprotein, unterschieden sich bei beiden Weizensorten stark. Während das GMP-Gel aus Akteur 27 % (131 mg Protein/g Mehl) des Mehlproteins enthielt, waren es im GMP-Gel aus Winnetou nur 7 % (89 mg Protein/g Mehl). Offenbar war dafür nicht nur der geringe Rohproteingehalt des Mehles der Weizensorte Winnetou verantwortlich, sondern auch ein geringer Gehalt an Proteinpolymeren mit sehr hohem Molekulargewicht (GMP), was an der Zusammensetzung der HMW-UE liegen könnte [MOONEN ET AL., 1982].

Die Analyse der Proteinzusammensetzung der einzelnen Fraktionen der GMP-Isolierung mit einer kombinierten Extraktion/GP-HPLC-Methode zeigte, dass der überwiegende Anteil der SDSL-Proteine vom GMP-Gel abgetrennt worden waren. Im GMP-Gel aus Akteur verblieb lediglich ein SDSL-Anteil von 51,6 mg/g und im GMP-Gel aus Winnetou von 13,2 mg/g. Da der verbleibende SDSL-Anteil in den GMP-Gelen die weiterführenden Untersuchungen bzgl. der Strukturaufklärung nicht stören würde, wurde auf weitere Waschschrte verzichtet, um Verluste an GMP zu vermeiden.

Die Analyse der Inhaltsstoffe der GMP-Gele zeigte, dass diese aus Protein, Stärke, SDS und Wasser bestanden. Bei den noch fehlenden Bestandteilen könnte es sich um unlösliche Nicht-Stärkepolysaccharide wie Arabinoxylane handeln, die zu 2-3 % in Weizenmehlen vorhanden sind.

Ebenfalls zeigte sich durch die Analyse der Inhaltsstoffe, dass sich die Zusammensetzung der GMP-Gele je nach Weizensorte stark unterschied. Der Rohproteingehalt des GMP-Gels aus Akteur war deutlich höher (35,0 %) als des GMP-Gels aus Winnetou (7,9 %). Das Ausgangsmehl der Weizensorte Akteur wies auch einen höheren Rohproteingehalt (13,1 %) als das der Weizensorte Winnetou (8,9 %) auf. Die Untersuchungen von Don et al. [2003] zeigten ebenfalls die Tendenz, dass aus qualitativ hochwertigeren Weizensorten proteinreichere GMP-Isolate gewonnen werden konnten. Jedoch im Gegensatz zu den Ergebnissen von Don et al. [2003] war der Stärkegehalt im GMP-Isolat aus dem proteinärmeren Weizenmehl Winnetou höher als im GMP-Isolat aus dem proteinreicheren

Weizenmehl Akteur. Es musste aber berücksichtigt werden, dass sich die Ergebnisse von Don et al. [2003] auf feuchte Gele bezogen, während hier die Bestimmungen mit den lyophilisierten Gelen vorgenommen wurden. Es bleibt jedoch unklar, ob die Stärke für die Gelbildung mitverantwortlich ist, wobei der hohe Gehalt dafür sprechen würde.

Insgesamt wurde gezeigt, dass es nicht möglich war, GMP-Protein als solches aus der Mehlmatrix zu isolieren. Somit ist die Definition, dass GMP eine Proteinfraction ist, die nach Behandlung von SDS-Extraktionsmitteln nach Zentrifugation als Gelschicht vom Stärkerückstand abgetragen werden kann, irreführend (1.3.4). Vielmehr ist es dadurch möglich ein Gel zu isolieren, in dem das GMP-Protein eingebettet ist (GMP-Gel). Hauptsächlich besteht das GMP-Gel jedoch aus Stärke und nicht aus Protein.

3.3 Proteinzusammensetzung der Weizenmehle und der GMP-Gele

3.3.1 Quantitative Bestimmung der Osbornefraktionen mittels RP-HPLC

Zur Untersuchung der Protein-UE und -typen der gewonnenen GMP-Gele wurde eine modifizierte Osbornefraktionierung (4.3.1) vorgenommen und zum Vergleich wurden die Mehle (Ausgangsmaterial) analysiert (Tabelle 3.6).

Wie zu erwarten war, enthielten die Präparate keine ALGL und die GLIA waren im Vergleich zu den Mehlen stark abgereichert. Dies spiegelte sich auch im Gehalt der GLIA-Typen (ω_5 -, $\omega_{1,2}$ -, α -, γ -GLIA) wieder. Im Gegensatz zur Proteinzusammensetzung der Mehle war der Anteil der γ -GLIA wesentlich höher als der Anteil an α -GLIA. Mit etwa 90 % des extrahierbaren Gesamtproteins waren die GLUT Hauptbestandteil des GMP-Proteins, wobei die LMW-UE (174,2 mg/g = 54 % bzw. 33,3 mg/g = 50 % für Akteur bzw. Winnetou) gegenüber den HMW-UE (101,8 mg/g = 31 % bzw. 25,9 mg/g = 39 %) den größeren Anteil ausmachten. Das Mengenverhältnis der LMW- zu den HMW-UE lag bei 1,7 bzw. 1,3 und war somit im Vergleich zu den Mehlen niedriger. Die Differenz zwischen dem Rohprotein (Tabelle 3.5) und dem extrahierbaren Protein in den GMP-Gelen lag bei 26 mg/g (Akteur) bzw. 12 mg/g (Winnetou). Dabei dürfte es sich um Membranproteine der Stärke handeln.

Tabelle 3.6: Proteinverteilung der Mehle und der GMP-Gele

Gehalte der Osbornefraktionen und deren Proteintypen und -untereinheiten (UE) in Mehlen der Weizensorten Akteur und Winnetou und den daraus isolierten GMP-Gele. Die Trennung erfolgte mittels RP-HPLC und UV-Detektion bei 210 nm (Mittelwert \pm SD, Dreifachbestimmung).

	Osbornefraktionen [mg/g]			
	Albumine+Globuline	Gliadine	Glutenine	Summe
Mehle				
Akteur	13,0 \pm 0,4	76,8 \pm 2,7	37,5 \pm 0,8	127,3
Winnetou	12,1 \pm 0,2	49,4 \pm 0,8	17,9 \pm 0,8	79,4
GMP-Gele				
Akteur	0,0	39,8 \pm 1,0	284,5 \pm 4,2	324,3
Winnetou	0,0	5,9 \pm 0,2	60,6 \pm 2,1	66,5
	Gliadintypen [mg/g]			
	ω 5	ω 1,2	α	γ
Mehle				
Akteur	7,2 \pm 0,2	6,6 \pm 0,2	39,9 \pm 1,2	23,1 \pm 1,1
Winnetou	1,1 \pm 0,0	8,8 \pm 0,1	24,4 \pm 0,5	15,1 \pm 0,2
GMP-Gele				
Akteur	0,0	1,6 \pm 0,0	10,6 \pm 0,1	27,6 \pm 1,2
Winnetou	0,0	0,8 \pm 0,1	1,6 \pm 0,1	3,5 \pm 0,1
	Glutenintypen und -untereinheiten [mg/g]			
	ω b-Gliadine	LMW-UE ¹	HMW-UE ²	LMW/HMW
Mehle				
Akteur	1,6 \pm 0,0	23,4 \pm 0,4	12,5 \pm 0,3	1,9
Winnetou	0,8 \pm 0,0	10,6 \pm 0,6	6,5 \pm 0,2	1,6
GMP-Gele				
Akteur	8,5 \pm 0,3	174,2 \pm 2,4	101,8 \pm 1,4	1,7
Winnetou	1,4 \pm 0,0	33,3 \pm 1,3	25,9 \pm 0,8	1,3

¹ niedermolekulare Gluteninuntereinheiten

² hochmolekulare Gluteninuntereinheiten

3.3.2 Qualitative Proteinbestimmung mittels SDS-PAGE

Um die Protein-UE und -typen, vor allem die HMW-UE näher zu identifizieren und zur Überprüfung der Reinheit der GMP-Gele wurde eine SDS-PAGE (4.3.3) am GMP-Gel der Weizensorte Akteur vorgenommen. Zum Vergleich wurde auch das Mehl (Spur 1), aus dem das GMP-Gel (Spur 2) isoliert wurde und der SDS-Extrakt (Spur 3), der als Überstand nach der Zentrifugation dekantiert wurde, aufgetragen (Abbildung 3.4).

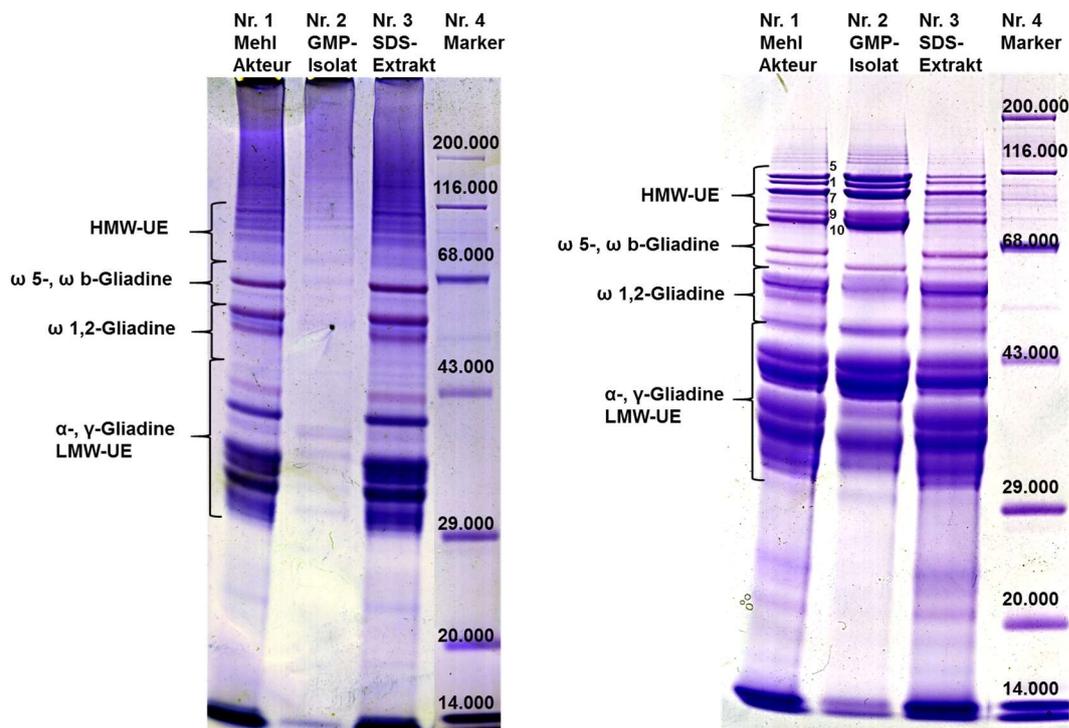


Abbildung 3.4: SDS-PAGE unter unreduzierenden und reduzierenden Bedingungen

Mehlproteine der Weizensorte Akteur (Spur 1) sowie des daraus gewonnenen lyophilisierten GMP-Gels (Spur 2) und des SDS-Extrakts (Spur 3). NuPAGE 10 %-Bis-TRIS-Gel, Auftragevolumen 10 μ L. Linke Platte: nicht-reduzierende Bedingungen; rechte Platte: reduzierende Bedingungen

Generell kann das Elektropherogramm in drei Bereiche eingeteilt werden. Im hochmolekularen Bereich zwischen $M_r = 70.000-116.000$ sind die Banden der HMW-UE lokalisiert. Im mittelmolekularen Bereich zwischen $M_r = 50.000-70.000$ befinden sich die ω -GLIA, während die Banden im niedermolekularen Bereich zwischen $M_r = 30.000-50.000$ den LMW-UE und den α - und γ -GLIA zuzurechnen sind [LAGRAIN ET AL., 2012].

Auf der unreduzierten Platte (Abbildung 3.4, linke Platte) waren im GMP-Isolat (Spur 2) keine deutlichen Banden erkennbar, während das Bandenmuster des Mehls (Spur 1) und des SDS-Extrakts (Spur 3) identisch waren. Erst nach Reduktion (Abbildung 3.4, rechte Platte) wurden deutliche Banden im GMP-Gel (Spur 2) sichtbar. Sehr stark ausgeprägt waren die Banden der HMW-UE ($M_r = 70.000-116.000$), gefolgt von den LMW-UE im oberen Bereich ($M_r = 40.000-50.000$). Im GMP-Gel (Spur 2) fehlte eine GLIA-Bande ($M_r = 68.000$), die im Mehl (Spur 1) und im SDS-Extrakt (Spur 3) sichtbar war. Hierbei handelte es sich entweder um ω_5 - oder um ω_b -GLIA. Da ω_b -GLIA freie Cysteinreste beinhalten und dadurch an GLUT gebunden werden, und dies bei den ω_5 -GLIA nicht der Fall ist, wurde daraus gefolgert, dass es sich bei der fehlenden Bande bei $M_r = 68.000$ im GMP-Gel um ω_5 -GLIA handelte [SHEWRY ET AL., 1986; WIESER, 2007].

3.3.3 Diskussion

Die Ergebnisse der modifizierten Osbornefraktionierung der Ausgangsmehle zeigten abermals, dass sich die beiden Weizensorten in ihrer Proteinverteilung stark unterschieden. Akteur wies nicht nur einen höheren Rohproteingehalt als Winnetou auf, sondern auch größere Mengen an GLIA und GLUT und ein niedrigeres GLIA zu GLUT Verhältnis (GLIA/GLUT). Diese Daten zeigten typische Unterschiede zwischen Weizensorten auf, die eine gute bzw. niedrige Backqualität aufweisen und somit waren die Mehle für die Aufklärung der unterschiedlichen Strukturen im GMP gut geeignet [WIESER UND KIEFFER, 2001].

In den GMP-Gelen wurde, wie zu erwarten, eine Abnahme der ALGL, GLIA und eine Zunahme der GLUT im Vergleich zu den Mehlen festgestellt. Diese Ergebnisse stimmten mit der Literatur überein, die besagt, dass GMP hauptsächlich aus dem hochmolekularen Anteil des GLUT besteht [WRIGLEY, 1996; DON ET AL., 2003]. Dies wurde auch durch die Verhältnisse der LMW-UE zu den HMW-UE (LMW/HMW) bestätigt, die in den GMP-Gelen (1,7 bzw. 1,3) niedriger waren als in den Mehlen (1,9 bzw. 1,6). Die niedrigeren LMW/HMW-Verhältnisse der GMP-Gele bestätigten die Studien von Don et al. [2003] und Kiraly et al. [2004], die ebenfalls eine Anreicherung der HMW-UE im GMP, verglichen mit GLUT, feststellten. Jedoch gibt es auch kontroverse Studien, die wesentlich höhere LMW/HMW-Verhältnisse im GMP aus verschiedenen Weizensorten analysierten [THANHAEUSER ET AL., 2014]. Die unterschiedlichen Ergebnisse von Thanhaeuser et al. [2014] könnten, wie Kiraly

et al. [2004] bereits vermutete, an der unterschiedlichen Probenaufarbeitung liegen. Die Einstellung der Zentrifugationsparameter, vor allem die Zentrifugalbeschleunigung, beeinflussen die Gelbildung sehr stark und Thanhaeuser et al. [2014] zentrifugierten nur bei $3750 \times g$, während bei Kiraly et al. [2004] bei $12.000 \times g$ und bei Don et al. [2003], wie auch in der vorliegenden Arbeit, bei $80.000 \times g$ zentrifugiert wurde. Ein weiterer Unterschied war, dass Thanhaeuser et al. [2014] im Vergleich zur vorliegenden Arbeit keine abschließenden Waschschriffe mit den Gelen vornahm, um niedermolekulare Proteine zu entfernen, die nicht der GMP-Fraktion angehörten.

Anhand der vorliegenden Arbeit ist es gelungen, vor allem den hochmolekularen GLUT-Anteil im GMP-Gel anzureichern, der für die weiterführenden Studien sehr wichtig war, da über die Disulfidverbindungen der Proteine im GMP bisher nichts bekannt ist [LUTZ ET AL., 2012].

Mittels SDS-PAGE wurden die Protein-UE und -typen, sowie die Reinheit der GMP-Gele überprüft. Auf der unreduzierten SDS-PAGE-Platte (Abbildung 3.4, linkes Bild) wurden im GMP-Gel (Spur 2) keine deutlichen Banden identifiziert, im Gegensatz zum Mehl (Spur 1) und dem SDS-Extrakt (Spur 3). Dies beweist, dass durch die Extraktion mit SDS-Lösung die niedermolekularen und monomeren Proteine aus dem GMP-Gel entfernt wurden. Erst nach Reduktion der Disulfidbindungen des GMP-Gels entstanden Protein-UE, die ins Gel einwanderten und als diskrete Banden sichtbar waren (Abbildung 3.4, rechtes Bild).

Die im Molekulargewichtsbereich zwischen $M_r = 70.000-116.000$ erkennbaren Banden auf der reduzierten Platte entsprachen den HMW-UE Ax1, Dx5, Bx7, By9, Dy10 und waren im Vergleich zum Mehl im GMP-Gel sehr stark angereichert. Gleiches gilt für den M_r -Bereich $40.000-50.000$, in dem sich die LMW-UE befanden [PAYNE ET AL., 1981b]. Diese Beobachtungen stimmten mit den Ergebnissen der modifizierten Osborne-Fraktionierung (4.3.1) überein, die gezeigt hatte, dass im Vergleich zum Mehl im GMP-Gel die HMW-UE und LMW-UE stark angereichert und die ALGL und GLIA abgereichert waren. Die Untersuchung der ω_5 - und ω_b -GLIA zeigte, dass erstere nicht im GMP-Gel vorlagen im Gegensatz zu den ω_b -GLIA. Dadurch wurden abermals die Ergebnisse der modifizierten Osborne-Fraktionierung bestätigt, da auch hier kein ω_5 -GLIA im GMP-Gel detektiert wurde (Tabelle 3.6).

Insgesamt lieferten die proteinchemischen Untersuchungen die detaillierte Proteinzusammensetzung der GMP-Gele. Dabei wurde bestätigt, dass GMP

hauptsächlich aus LMW- und HMW-UE besteht [DON ET AL., 2003; KIRALY ET AL., 2004]. Durch die Anreicherung dieser Protein-UE wurden die Voraussetzungen für die weiterführenden Untersuchungen zur Aufklärung der Disulfidbindungen des GMP geschaffen.

3.4 Herstellung und Untersuchung enzymatischer GMP-Hydrolysate

3.4.1 Auswahl eines geeigneten Enzyms

Die gefriergetrockneten GMP-Gele sollten in lösliche Peptidgemische zerlegt werden, um darin die cystinhaltigen Peptide mittels LC-MS/MS zu identifizieren. Dazu wurde die enzymatische Hydrolyse gewählt, weil unter den milden Bedingungen die Disulfidbindungen erhalten blieben und eine hohe Spezifität und Reproduzierbarkeit der Spaltung gewährleistet war.

Hierfür wurde die Endopeptidase Thermolysin ausgewählt, da dieses Enzym keine eigenen Disulfidbindungen enthält [HEINRIKSON, 1977]. Somit wurde ausgeschlossen, dass Cystinpeptide aus dem Enzym im Hydrolysat vorlagen. Weiterhin bot Thermolysin den Vorteil, native Proteine in größerem Ausmaß zu spalten als viele andere Peptidasen, was bei GMP mit seiner kompakten Struktur sehr wichtig war. Thermolysin wurde bereits in früheren Studien mit Weizenkleber sehr erfolgreich eingesetzt [KÖHLER ET AL., 1991; 1993; KECK ET AL., 1995; MUELLER UND WIESER, 1995; 1997; LUTZ ET AL., 2012]. Thermolysin spaltet Proteine und Peptide vorwiegend vor hydrophoben AS wie Leucin, Isoleucin, Phenylalanin, Valin, Methionin und Alanin [MATSUBARA, 1970]. Die spezifische Aktivität des verwendeten Thermolysins betrug 6,33 kat/kg Präparat.

3.4.2 Festlegung der Hydrolysebedingungen

Um die Gefahr des Disulfidaustausches zu minimieren, wurde nicht im pH-Optimum des Enzyms (7,0 - 9,0) gearbeitet, sondern bei pH 6,5 [MORIHARA ET AL., 1968; ANFINSEN UND SCHERAGA ET AL., 1975]. Frühere Arbeiten zeigten, dass die Aktivität des Enzyms bei pH 6,5 für die enzymatische Hydrolyse von Kleberproteinen ausreichend war [KÖHLER ET AL., 1993; LUTZ ET AL., 2012]. Obwohl Thermolysin eine außerordentliche Temperaturstabilität (bis 80 °C) aufweist,

wurde eine Hydrolysetemperatur von 37 °C gewählt, um Umorientierungen der Disulfidstruktur und Artefaktbildungen vorzubeugen [HENRIKSON, 1977].

Die Spaltungslösung enthielt zum einen $\text{CaCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$, da es sich bei Thermolysin um eine Metallopeptidase handelt, die durch Ca^{2+} -Ionen aktiviert wird. Zum anderen wurde Natriumazid hinzugefügt, um mikrobiellem Wachstum während der Hydrolyse vorzubeugen.

Zur Bestimmung des optimalen Enzym-Substrat-Verhältnisses wurde GMP-Gel aus der Weizensorte Akteur mit verschiedenen Konzentrationen an Thermolysin (Enzym-Substrat-Verhältnis: 1:50, 1:100, 1:150) versetzt und verschieden lang inkubiert (4.5.2, jeweils Dreifachbestimmung). Zu bestimmten Zeiten (jeweils nach 1, 2, 2.5, 3.5, 4.5, 17.5, 19, 21 und 24 h) wurden 200 µL des enzymatischen Hydrolysates entnommen, membranfiltriert (0,45 µm) und zur RP-HPLC (4.5.1) eingesetzt. Dabei erwiesen sich eine Hydrolysezeit von 17 h und ein Enzym-Substrat-Verhältnis von 1:100 als zweckmäßig, da die Spaltungsrate bei 17 h so klein geworden war, dass sich das Peptidspektrum nicht mehr veränderte.

Abbildung 3.5 zeigt ein Chromatogramm des enzymatischen Partialhydrolysates nach einer Inkubationszeit von 17 h bei einem Enzym-Substrat-Verhältnis von 1:100. Bei mehrfacher Wiederholung des Experimentes unter diesen Bedingungen zeigte sich, dass keine Veränderungen mehr im Profil zu beobachten waren und ein reproduzierbares Peakmuster erhalten wurde.

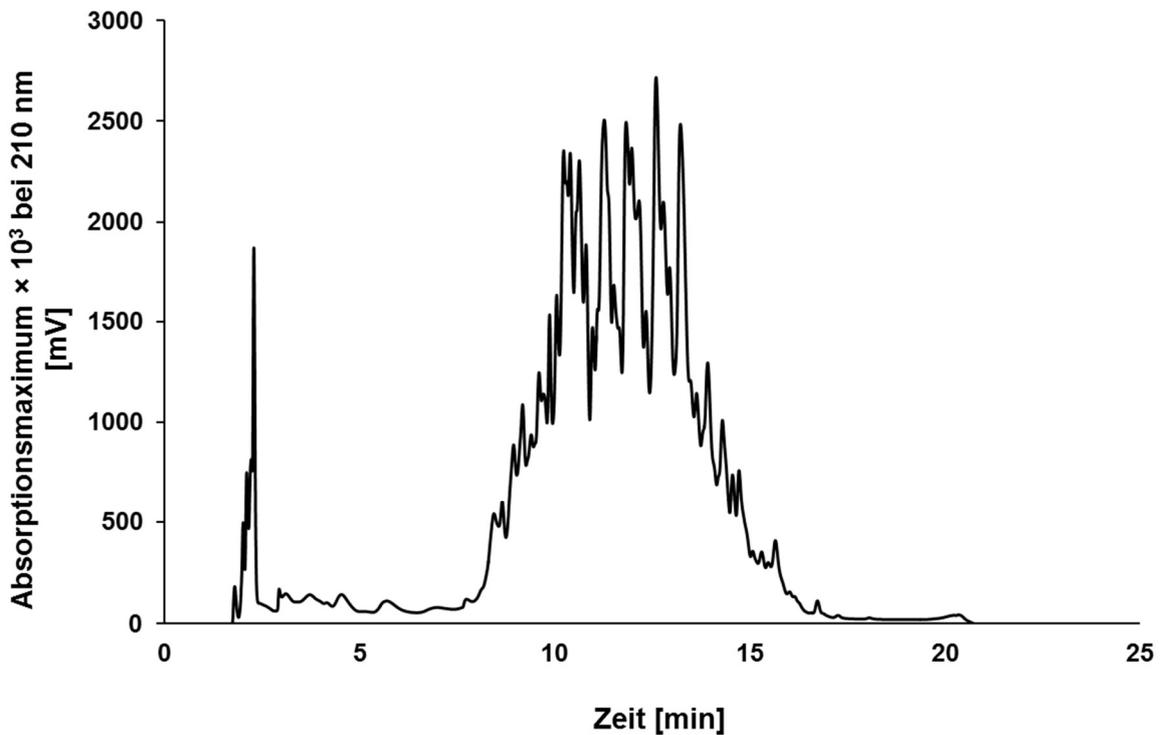


Abbildung 3.5: Chromatogramm eines enzymatischen Hydrolysates aus GMP-Gel

RP-HPLC Chromatogramm eines enzymatischen Hydrolysates des GMP-Gels der Weizensorte Akteur nach Inkubation mit Thermolysin. Die Hydrolyse wurde bei einem Enzym-Substrat-Verhältnis von 1:100, 17 h, pH 6,5 und 37 °C durchgeführt.

Um einen Überblick über das entstandene Peptidspektrum zu bekommen, wurde zunächst ein kurzer Gradient verwendet (Gesamtdauer 40 min). Die Trennung war ausreichend, um quantitative Veränderungen der Peptide zu ermitteln. Für die weiteren Untersuchungen wurde eine verbesserte Methode entwickelt, um das komplexe Peptidgemisch besser aufzutrennen (4.5.4).

Zusätzlich wurden die Hydrolysate der GMP-Gele der Weizensorten Akteur und Winnetou, wie auch die Hydrolyserückstände, lyophilisiert und mittels SDS-PAGE aufgetrennt (Abbildung 3.6). Spur 1 und 2 stellten das Hydrolysat und den Rückstand aus Akteur und Spur 5 und 6 aus Winnetou dar. Weiterhin wurde das Enzym Thermolysin aufgetragen (Spur 3). Bis auf die Bande bei $M_r = 35.000$, die dem Thermolysin zuzuordnen war, wurden keine weiteren Banden in den Hydrolysaten festgestellt. Dies bewies, dass die Hydrolyse mit Thermolysin die Proteine in den GMP-Gelen weitgehend zu niedermolekularen Bruchstücken hydrolysiert hatte.

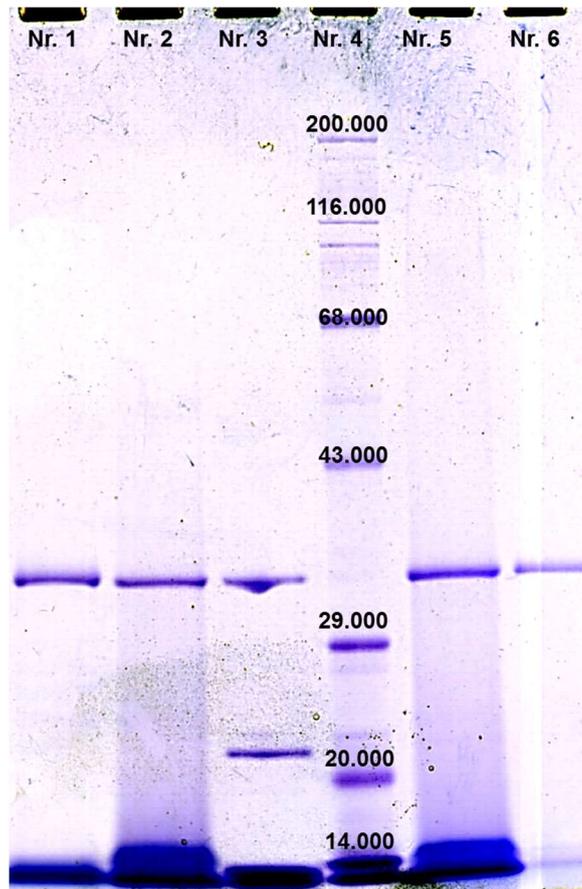


Abbildung 3.6: Nicht-reduzierende SDS-PAGE der Hydrolysate und deren Rückstände

Spuren 1 und 6: Enzymatische Hydrolysate aus den GMP-Gelen von Akteur und Winnetou; Spuren 2 und 5: Hydrolyserückstände aus Akteur und Winnetou; Spur 3: Thermolysin. NuPAGE 10 %-Bis-TRIS-Gel (Auftragevolumen: 10 μ L)

3.4.3 Differenzchromatographie mittels RP-HPLC

Als nächstes wurden die lyophilisierten Hydrolysate der GMP-Gele der Weizensorten Akteur und Winnetou durch eine Differenzchromatographie mittels RP-HPLC aufgetrennt (4.5.4), um Cystinpeptide zu identifizieren. Dazu wurden die enzymatischen Hydrolysate in 0,1 %iger Trifluoressigsäure (TFA) aufgenommen und in zwei gleiche Teile geteilt. Ein Teil wurde direkt für die RP-HPLC eingesetzt, der andere Teil wurde mit Tris(2-carboxyethyl)phosphin (TCEP) reduziert und anschließend mittels RP-HPLC aufgetrennt. Die Chromatogramme der reduzierten und unreduzierten Hydrolysate aus Akteur bzw. Winnetou wurden übereinandergelegt und verglichen. Cystinpeptide wurden durch das Reduktionsmittel reduziert, so dass bei deren Retentionszeit im Chromatogramm der unreduzierten Probe nach Reduktion kein Peak mehr vorlag. Abbildung 3.7 zeigt am Beispiel des GMP-Gel-Hydrolysates von Akteur, dass im Chromatogramm der

reduzierten Probe gegenüber der unreduzierten Probe keine deutlichen Unterschiede im Peakmuster zu erkennen waren. Lediglich bei der Retentionszeit von ca. 28 min wurde ein kleiner Unterschied festgestellt.

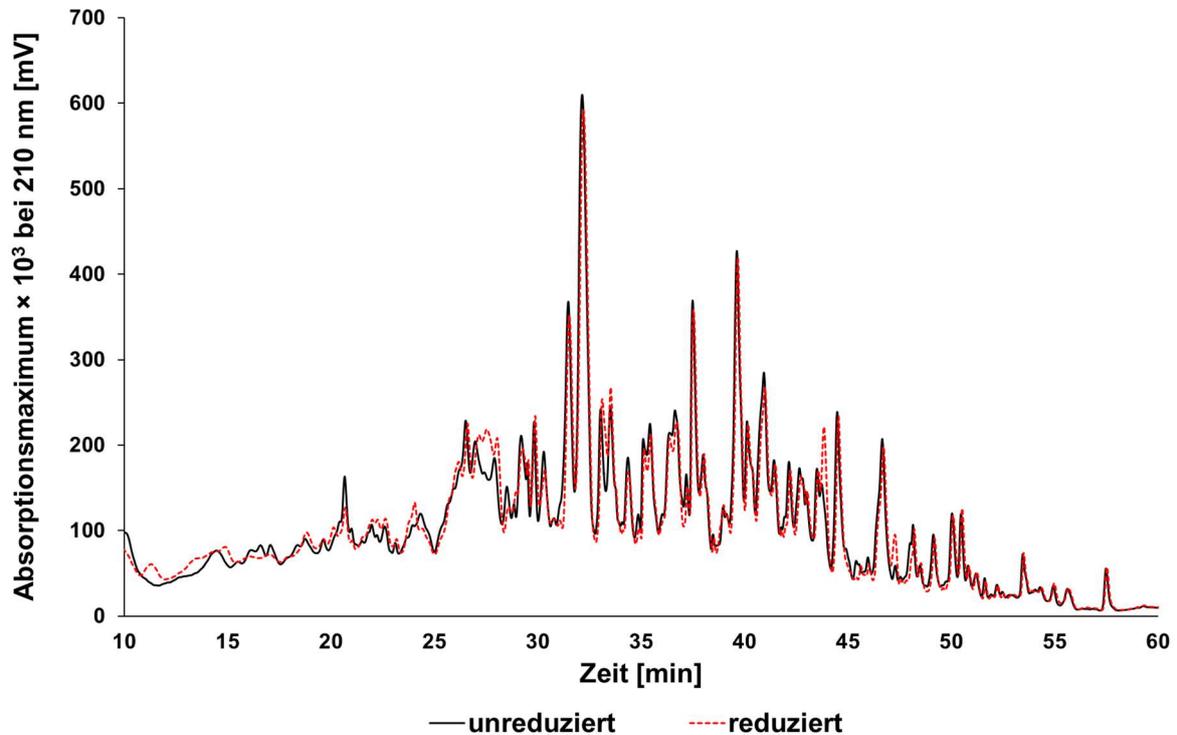


Abbildung 3.7: Differenzchromatographie mittels RP-HPLC

Chromatogramm des enzymatischen Hydrolysates (reduziert und unreduziert) aus dem GMP-Gel aus der Weizensorte Akteur. Die Hydrolyse mit Thermolysin wurde bei einem Enzym-Substrat-Verhältnis von 1:100, 17 h, pH 6,5 und 37 °C durchgeführt.

Daraus ließ sich schließen, dass das Partialhydrolysat sehr komplex zusammengesetzt war und aufgrund von Überlagerungen die Positionen der Cystinpeptide im Gesamthydrolysat nicht identifizierbar waren. Daher wurde eine Vorfraktionierung nach Molekülgröße durchgeführt, um die Komplexität der Peptidgemische zu verringern.

3.4.4 Fraktionierung mittels GP-HPLC

Dazu wurde eine GP-HPLC mit einer Säule (BioBasic SEC-60, Thermo Science) durchgeführt, deren Trennbereich zwischen $M_r = 100-6000$ lag, so dass sie für Peptidgemische gut geeignet war. Die enzymatischen Hydrolysate wurden in sieben Fraktionen aufgetrennt. Abbildung 3.8 zeigt exemplarisch die GP-HPLC-Trennung

des Hydrolysates des GMP-Gels der Weizensorte Akteur. Das Peakmuster des Hydrolysates von Winnetou war vergleichbar.

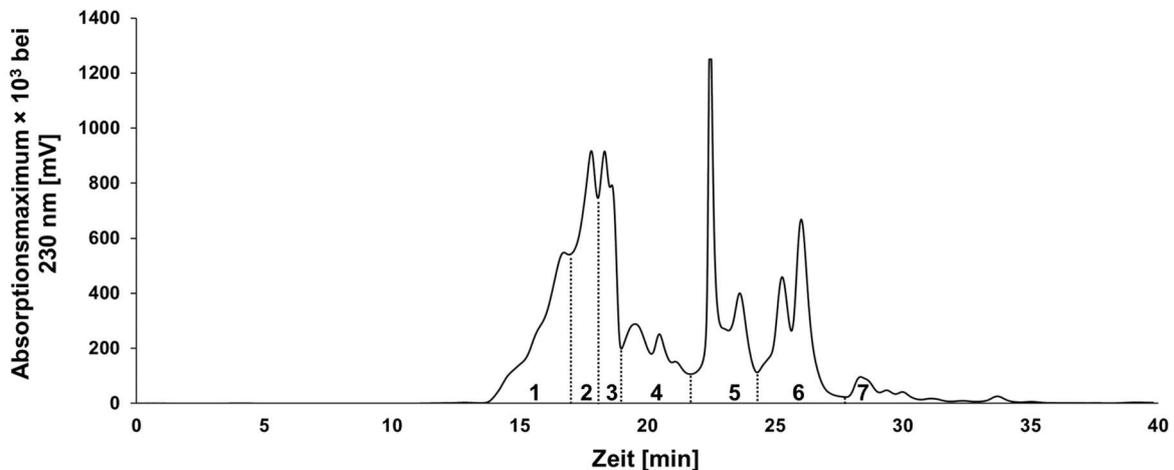


Abbildung 3.8: GP-HPLC-Trennung des enzymatischen Hydrolysates des GMP-Gels der Weizensorte Akteur

Die Hydrolyse mit Thermolysin wurde bei einem Enzym-Substrat-Verhältnis von 1:100, 17 h, pH 6,5 und 37 °C durchgeführt. Die Fraktionen 1-7 wurden in zahlreichen Wiederholungen gesammelt.

Die einzelnen Fraktionen wurden im analytischen Maßstab getrennt, gesammelt und mit einer Vakuumzentrifuge (RVC 2-25 CDplus, Christ, Osterode, Deutschland) getrocknet. Die Rückstände wurden je in 0,1 %iger TFA aufgenommen und wie die Gesamthydrolysate (3.4.3) durch Differenzchromatographie untersucht (4.5.4). Nun zeigten sich zwischen den reduzierten und unreduzierten Chromatogrammen gleicher Fraktionen Unterschiede. Vor allem in den Fraktionen 1-3 unterschieden sich die Peakmuster vor und nach der Reduktion deutlich. Abbildung 3.9 zeigt exemplarisch die Differenzchromatographie der GP-HPLC-Fraktion 1 des GMP-Hydrolysates der Weizensorte Akteur.

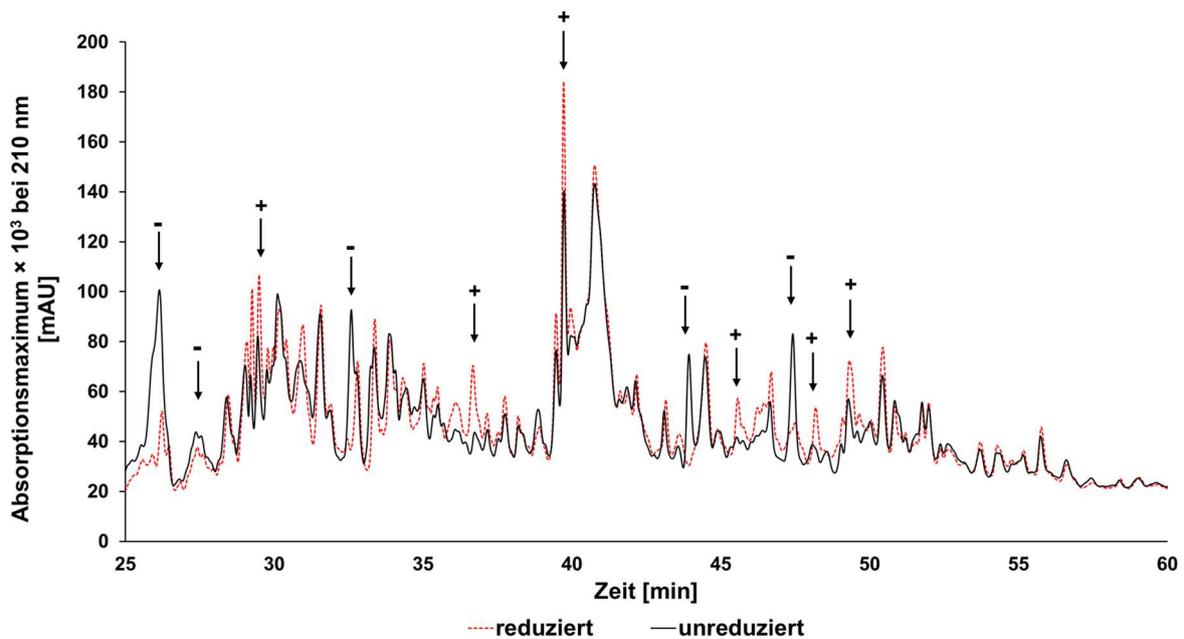


Abbildung 3.9: Differenzchromatographie der GP-HPLC-Fraktion 1 mittels RP-HPLC

Chromatogramm der Fraktion 1 aus der Gelchromatographie des thermolytischen Hydrolysates vom GMP-Gel der Weizensorte Akteur (reduziert und unreduziert), wobei die Pfeile mit Minus eine Abnahme der Peaks und die Pfeile mit Plus eine Zunahme der Peaks nach Reduktion anzeigen.

In den GP-HPLC-Fractionen 4 und 5 wurden nur kleine Unterschiede in den Peakmustern festgestellt und in den Fractionen 6 und 7 waren die Chromatogramme vor und nach der Reduktion identisch (Abbildung 3.10). Diese Ergebnisse wurden sowohl für die Fractionen des Hydrolysates aus dem GMP-Gel von Akteur als auch für die aus Winnetou erzielt.

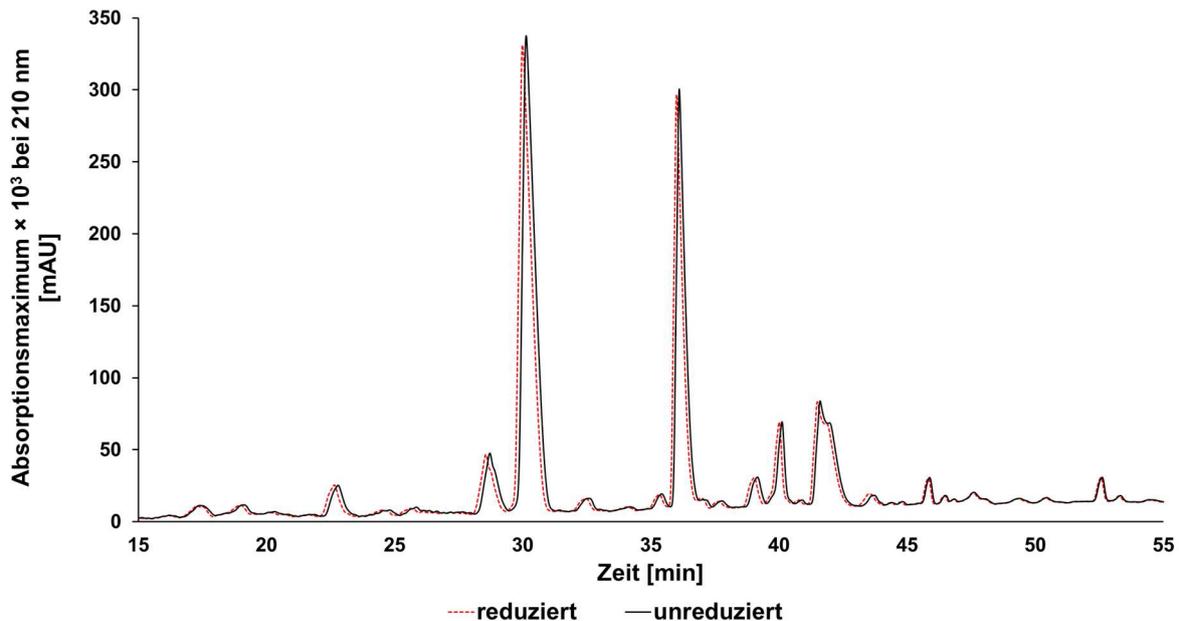


Abbildung 3.10: Differenzchromatographie der GP-HPLC-Fraktion 6 mittels RP-HPLC

Chromatogramm der Fraktion 6 aus der Gelchromatographie des thermolytischen Hydrolysates vom GMP-Gel der Weizensorte Akteur (reduziert und unreduziert).

3.4.5 Diskussion

Die Wahl eines geeigneten Enzyms für die Hydrolyse fiel auf Thermolysin, da es zum einen keine eigenen Disulfidbindungen enthält und zum andern native Proteine stärker spalten kann als andere Peptidasen, was durch Studien an Kleberproteinen bereits früher festgestellt wurde [KÖHLER ET AL., 1991; 1993; KECK ET AL., 1995; MUELLER UND WIESER, 1995; 1997; LUTZ ET AL., 2012]. Als Hydrolysebedingungen wurden ein Enzym-Substrat-Verhältnis von 1:100 bei einer Hydrolysezeit von 17 h und pH 6,5 festgelegt, da hier die Ergebnisse reproduzierbar waren.

Die Überprüfung der lyophilisierten Hydrolysate und deren Rückstände bestätigte die Effektivität der enzymatischen Spaltung, da auf dem Elektropherogramm der SDS-PAGE, bis auf die Bande von Thermolysin, keine Banden der Ausgangsproteine mehr sichtbar waren.

Die Differenzchromatographie mittels RP-HPLC/UV zeigte, dass im Gesamthydrolysat keine Cystinpeptide identifiziert werden konnten, da die Peakmuster im reduzierten und unreduzierten Lauf nahezu identisch waren.

Aufgrund der Komplexität der Peptidgemische wurde eine Fraktionierung der enzymatischen Gesamthydrolysate der GMP-Gele vorgenommen, um

Überlagerungen von Cystinpeptiden mit anderen Peptiden möglichst zu verhindern und eine höhere Empfindlichkeit des Nachweises zu erzielen. Zusätzlich wurden durch die Fraktionierung mittels GP-HPLC die Hydrolysate von störenden Salzen gereinigt. Dies wäre zwar auch mittels Festphasenextraktion an einem Kationenaustauscher möglich gewesen, allerdings hätte die bei einer solchen Vorfraktionierung erforderliche Elution der Peptide mittels 2 mol/L Ammoniaklösung (pH \approx 12) die Gefahr des Thiol-/Disulfidaustausches stark erhöht.

Die Chromatogramme der Differenzchromatographie der Fraktionen der GP-HPLC bewiesen, dass durch die Fraktionierung des Gesamthydrolysates eine wesentlich höhere Selektivität erzielt wurde. Die Unterschiede in den Peakmustern der zueinander gehörenden unreduzierten und reduzierten Fraktionen der Hydrolysate belegten das Vorhandensein von Cystinpeptiden. Die GP-HPLC-Fractionen 6 und 7 wurden nicht weiter untersucht, da bei der Differenzchromatographie keine Unterschiede zwischen den Chromatogrammen vorlagen.

3.5 Massenspektrometrische Identifizierung von Disulfidbindungen im GMP

Mittels massenspektrometrischer Peptidanalyse wurden die enzymatischen Hydrolysate aus den GMP-Gelen von Akteur und Winnetou zur Identifizierung von Cystinpeptiden untersucht (4.5.5). Dabei wurde die gängige stoßaktivierte Fragmentierung (CID) angewandt. Die Ionisierung der Analyten fand durch eine ESI-Quelle statt, wobei Peptide bevorzugt zwischen dem Carbonylkohlenstoff und dem Amidstickstoff gespalten werden und sogenannte b- und y-Fragmente entstehen (Abbildung 3.11) [HESSE ET AL., 2005]. Anhand der Fragmente und Vergleich mit Datenbanken ist es möglich, die Aminosäuresequenz der jeweiligen Peptide zu identifizieren [HUNT ET AL., 1986].

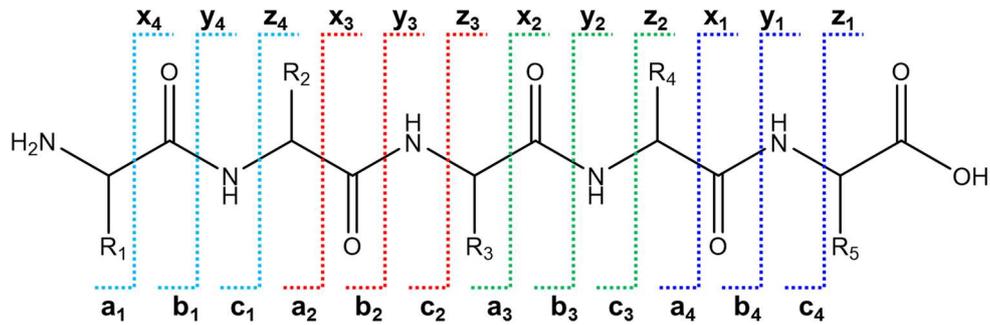


Abbildung 3.11: Nomenklatur der Ionen nach Fragmentierung eines Peptides durch ESI-MS/MS

[ROEPSTORFF UND FOHLMANN, 1984; BIEMANN, 1990].

Zusätzlich wurde eine weitere Fragmentierungsart, die ETD, alternierend zur CID angewandt, um zusätzliche Informationen über die Aminosäuresequenzen der Peptide zu erhalten. Dabei übertragen Anionen, wie z. B. Fluoranthen, in der Ionenfalle ein Elektron auf das Peptid und induzieren so die Fragmentierung des instabilen, entstandenen Radikalkations. Hauptsächlich entstehen bei dieser Fragmentierungsart c- und z-Fragmente und im Gegensatz zur CID können auch die Disulfidbindungen gespalten werden.

Ein ETD-Spektrum kann jedoch nur aufgenommen werden, wenn der Precursor mindestens zweifach geladen ist, da durch die Elektronenübertragung eine Ladung neutralisiert wird (Abbildung 3.12). Weiterhin werden Peptide an Stellen, an denen sich Prolin befindet durch ETD nicht fragmentiert, da lediglich eine Ringöffnung durch die Spaltung zwischen dem Stickstoff- und dem α -C-Atom stattfindet.

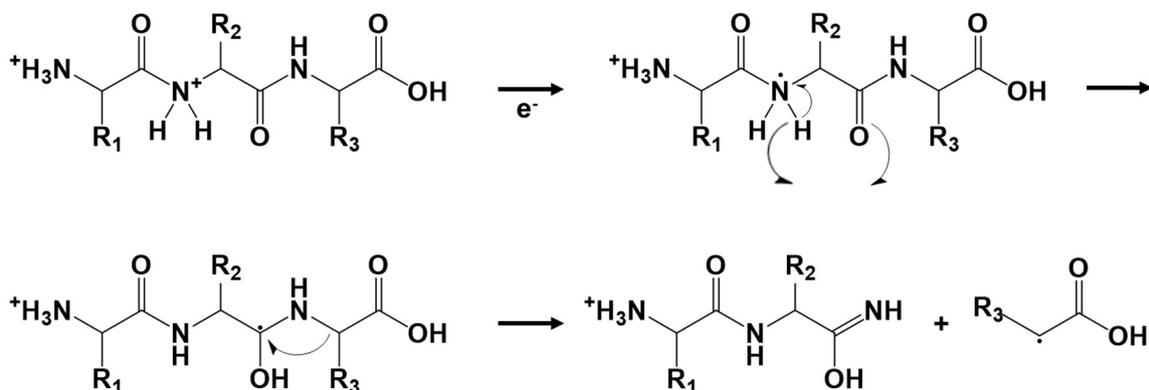


Abbildung 3.12: Electron Transfer Dissociation (ETD)

Übertragung eines Elektrons auf das positiv geladene Peptid und Spaltung in c- und z-Fragmente.

3.5.1 Aus Kleberproteinen bekannte, identifizierte Disulfidbindungen

Es sind bereits einige Disulfidbindungen aus Weizenkleber bekannt, die in thermolytischen Hydrolysaten identifiziert wurden [KÖHLER ET AL., 1993; KECK ET AL., 1995; MUELLER UND WIESER, 1995; 1997; LUTZ ET AL., 2012]. Da GMP den hochmolekularen Anteil der GLUT darstellt, wurde zunächst überprüft, ob bekannte Disulfidbindungen aus Weizenkleber im GMP ebenfalls enthalten sind.

Zur Identifizierung der Cystinpeptide wurden die getrockneten Fraktionen der enzymatischen Hydrolysate in je 0,1 %iger HCOOH aufgenommen und je in zwei gleiche Aliquote aufgeteilt, wobei jeweils ein Aliquot mit TCEP reduziert wurde. Die zueinander gehörenden reduzierten und unreduzierten Fraktionen wurden nacheinander mittels LC-MS/MS-Analyse (4.5.5) untersucht. Anhand der Chromatogramme der Total-Ionenströme (TIC) konnten Unterschiede zwischen den Signalen der reduzierten und unreduzierten Läufe festgestellt werden. Signale von Ionen, die nach Reduktion nicht mehr an der gleichen Stelle des TIC-Chromatogramms vorhanden waren, dienten als Hinweise für Cystinpeptide und wurden genauer untersucht. Zusätzlich wurde in den reduzierten Läufen nach entstandenen Cysteinpeptiden (Liste s. Tabelle 7.14) gesucht, aus denen durch Kombination theoretisch mögliche Cystinpeptide generiert wurden. Die in der Liste enthaltenen Cysteinpeptide wurden über die MS-Software (DataAnalysis 3.4, Bruker Daltonics, Billerica, USA) mit den in den CID- und ETD-Spektren enthaltenen Signalen verglichen, um die tatsächlich enthaltenen Cystinpeptide zu identifizieren (4.5.6).

Es wurden fünf bekannte Disulfidbindungen im GMP aus der Weizensorte Akteur nachgewiesen und drei der Disulfidbindungen wurden auch im GMP aus Winnetou identifiziert (Tabelle 3.7), wobei die Spaltungsstellen an den jeweiligen Fragmenten der Spezifität von Thermolysin entsprachen (3.4.1). Anhand der Datenbank UniProt (4.5.6) wurden die Cystinpeptide bekannten AS-Sequenzen (7.1) zugeordnet.

Tabelle 3.7: Cystinpeptide aus bekannten Disulfidbindungen von Kleberproteinen

Zuordnung der identifizierten Cystinpeptide in GMP-Gelen aus den Weizensorten Akteur und Winnetou, die bereits in Kleberproteinen aus Weizen nachgewiesen wurden. Die mit α und β gekennzeichneten Peptidfragmente waren über eine Disulfidbindung verbunden.

Cystinpeptid¹ Nr.	Peptidfragment Nr.	Aminosäuresequenz^{2/} Cysteinrest³	UniProtKB⁴	Proteintyp	Literatur
Fraktion 1					
I (A)	I- α	LGQC ^x	B2Y2Q7	LMW-UE	Köhler et al., 1993;
	I- β	FSQQQPC ^b *SQQQQP	B2Y2Q7	LMW-UE	Lutz et al., 2012
II (A)	II- α	LGQC ^x	B2Y2Q7	LMW-UE	Keck et al., 1995
	II- β	TSPQQPGGQPGGQQGH ^c PTSPQQ	Q03871	HMW By9/ HMW Dy10	
			P10387		
Fraktion 2					
III (A, W)	III- α	LQC ^w	D0ES85	γ -GLIA	Köhler et al., 1993;
	III- β	VSPDC ^z ST	D0ES85	γ -GLIA	Lutz et al., 2012
IV (A, W)	IV- α	LQQQC ^d SP	B2Y2Q7	LMW-UE	Köhler et al., 1993;
	IV- β	SC ^e H	B2Y2Q7	LMW-UE	Lutz et al., 2012
Fraktion 3					
V (A, W)	V- α	LQC ^w	B6UKN9	γ -GLIA	Mueller und Wieser, 1997;
	V- β	VYVPPEC ^z S	B6UKN9	γ -GLIA	Lutz et al., 2012

¹ A bzw. W bezeichnet ob das Cystinpeptid im GMP der Weizensorte Akteur und/oder Winnetou gefunden wurde

² Einbuchstabencode der Aminosäuren

³ Nomenklatur der Cysteinreste nach Köhler et al. [1993]

⁴ Bezeichnung des zugehörigen Proteins in der Datenbank UniProt

Cystinpeptid I (A) wurde bereits in Kleberproteinen als intermolekulare Disulfidbindung zwischen den Cysteinresten C^x und C^{b*} mehrfach identifiziert und bestand aus den Fragmenten LGQC und FSQQQPCSQQQQQP, die den LMW-UE zuzuordnen sind [KÖHLER ET AL., 1993; LUTZ ET AL., 2012].

Das Cystinpeptid II (A) bestand ebenfalls aus dem für LMW-UE des GLUT typischen Sequenzabschnitts LGQC und war verbunden mit dem Fragment TSPQQPGQQQPGQQGQGHCPSTPQQ, das im γ -Typ der HMW-UE vorkommt. Diese intermolekulare Disulfidbindung wurde bereits von Keck et al. [1995] nachgewiesen. Da dieses Cystinpeptid nur in der Weizensorte Akteur und nicht in der Weizensorte Winnetou identifiziert wurde, ist das Peptidfragment II- β der HMW-UE By9 und Dy10 zuzuordnen, da die Weizensorte Winnetou die HMW-UE Dy12 enthält [BUNDESSORTENAMT, 2011].

Bei den Cystinpeptiden III (A, W) und V (A, W) handelte es sich jeweils um eine intramolekulare Disulfidbindung zwischen C^w und C^z der γ -GLIA, wobei im Cysteinpeptid III- β (VSPDCST) am N-terminalen Ende ein Prolinrest durch einen Serinrest, verglichen mit bekannten AS-Sequenzen (UniProtKB: D0ES85; 7.1), ersetzt war. Köhler et al. [1993] und Lutz et al. [2012] identifizierten bereits das Cystinpeptid III (A, W) in Kleberproteinen, während V (A, W) von Mueller und Wieser [1997] sowie Lutz et al. [2012] nachgewiesen wurde. Die Anwesenheit von γ -GLIA kann dadurch begründet sein, dass γ -GLIA teilweise eine ungerade Anzahl an Cysteinresten besitzen (C^{b*}) und dadurch ans Polymer binden können.

Eine weitere bekannte Disulfidbindung innerhalb der LMW-UE stellte das Cystinpeptid IV (A, W) zwischen den Teilpeptiden LQQQCSP und SCH dar [KÖHLER ET AL., 1993; LUTZ ET AL., 2012]. Laut Köhler et al. [1993] handelt es sich um eine intramolekulare Verknüpfung.

Exemplarisch sind die Spektren des Cystinpeptids II (A) in Abbildung 3.13 (CID) und Abbildung 3.14 (ETD) dargestellt. Die CID-Spektren der anderen Cystinpeptide sind im Anhang dargestellt (7.3), wie auch die AS-Sequenzen (7.1), denen die Teilpeptide zugeordnet wurden.

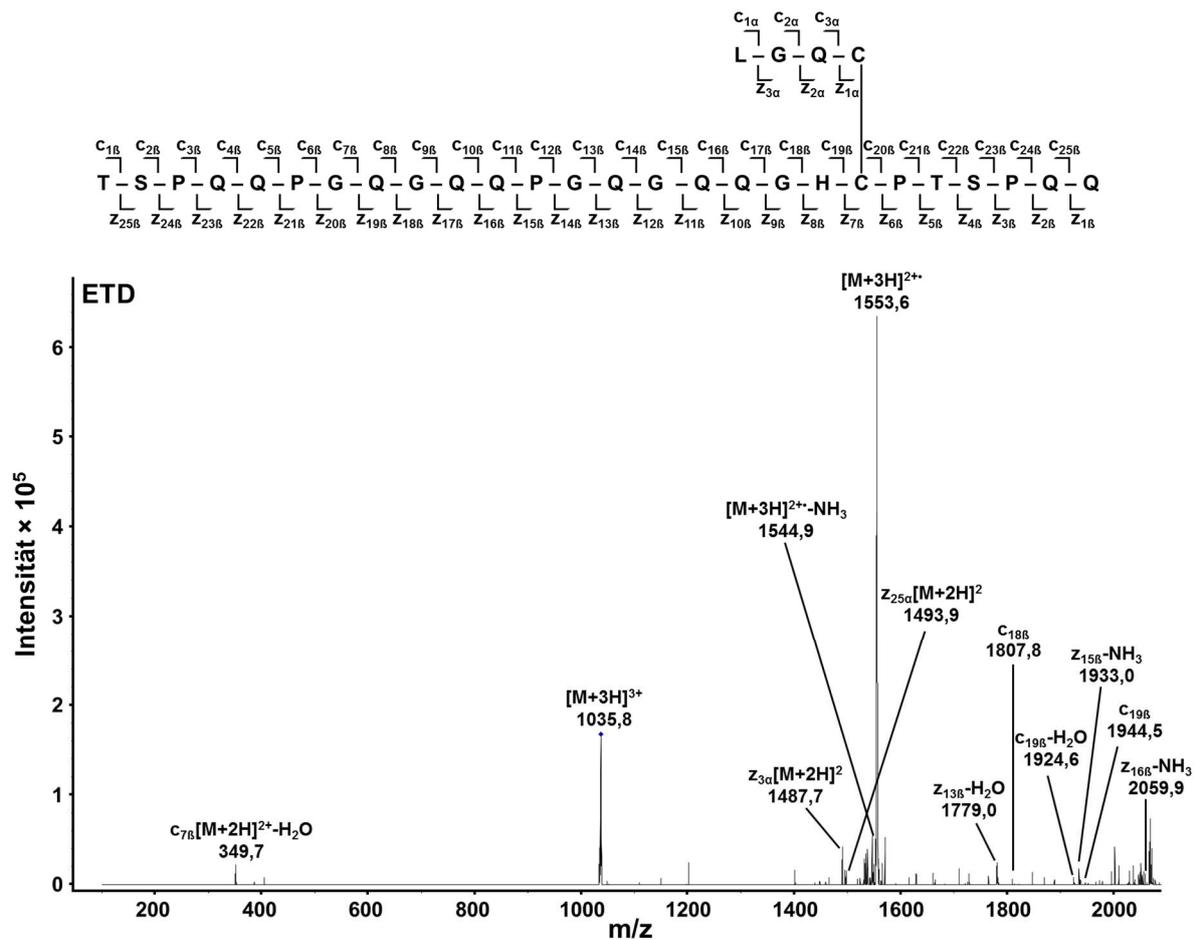


Abbildung 3.14: LC-MS²-Spektrum (ETD) des Cystinepeptids II (A) aus dem Precursor-Ion mit m/z 1035,8 $[M+3H]^{3+}$

Des Weiteren wurden drei Disulfidbindungen im GMP aus der Weizensorte Akteur identifiziert, deren Verknüpfungen ebenfalls in Kleberproteinen bereits bekannt waren, jedoch unterschieden sie sich von den hier nachgewiesenen Verbindungen in den Fragmenten (Tabelle 3.8). Eine Disulfidbindung wurde auch im GMP aus der Weizensorte Winnetou nachgewiesen und alle drei Proteine waren an typisch thermolytischen Spaltstellen hydrolysiert worden.

Tabelle 3.8: Erstmals identifizierte Cystinpeptide von bekannten Disulfidbindungen

Zuordnung der Cystinpeptide aus GMP-Gelen aus den Weizensorten Akteur und Winnetou, zu bekannten Disulfidbindungen aus thermolytischen Hydrolysaten von Kleberproteinen aus Weizen. Die mit α und β gekennzeichneten Peptidfragmente waren über eine Disulfidbindung verbunden.

Cystinpeptid¹ Nr.	Peptid- fragment Nr.	Aminosäuresequenz^{2/} Cysteinrest³	UniProtKB⁴	Proteintyp	Referenz
Fraktion 1					
VI (A, W)	VI- α	ILPRSDC ^o Q	D0ES85	γ -GLIA	Köhler et al., 1993;
	VI- β	LQQC ^d NP	D0ES85	γ -GLIA	Keck et al., 1995
VII (A)	VII- α	SQQQPC ^{b*} SQQQQQP	B2Y2Q7	LMW-UE	Köhler et al., 1993;
	VII- β	SQQQPC ^{b*} SQQQQQP	B2Y2Q7	LMW-UE	Keck et al., 1995
Fraktion 2					
VIII (A)	VIII- α	LQQQC ^d SP	B2Y2Q7	LMW-UE	Köhler et al., 1993;
	VIII- β	LQQSSC ^o H	B2Y2Q7	LMW-UE	Lutz et al., 2012

¹ A bzw. W bezeichnet ob das Cystinpeptid in Akteur und/oder Winnetou gefunden wurde

² Einbuchstabencode der Aminosäuren

³ Nomenklatur der Cysteinreste nach Köhler et al. [1993]

⁴ Bezeichnung des zugehörigen Proteins in der Datenbank UniProt

Die Peptidfragmente VI- α und VI- β des Cystinpeptids VI (A, W) sind den γ -GLIA zuzuordnen, wobei im Vergleich zu bekannten AS-Sequenzen (UniProtKB: D0ES85; 7.1) im Teilpeptid ILPRSDCQ ein Serinrest durch einen Prolinrest und im Teilpeptid LQQCNP ein Histidinrest durch einen Prolinrest ersetzt wurde. Ein Cystinpeptid mit dieser Verknüpfung wurde bereits mehrmals beschrieben, wobei dieses aus den Peptidfragmenten SDCQ und LQQCNP bzw. aus SDCQVM und LQQCNPVSL bestand [KÖHLER ET AL., 1993; KECK ET AL., 1995]. Diese Disulfidbindung zwischen C^e und C^d wurde als intramolekular beschrieben.

Eine intermolekulare Disulfidbindung zwischen zwei C^{b*}-Cysteinresten in LMW-UE wurde ebenfalls mehrmals von Köhler et al. [1993] und Keck et al. [1995] beschrieben. Dabei identifizierten sie diese Verknüpfung mit unterschiedlichen Cysteinfragmenten wie z. B. die Verbindung zwischen den Teilpeptiden FSQQQPCSQQQQQP (VII- α) und SQQQPCSQQQQQP (VII- β). In der vorliegenden Arbeit wurde diese Disulfidbindung mit dem Peptidfragment SQQQPCSQQQQQP identifiziert, das als Teilpeptid VII- α und VII- β fungierte.

Cystinpeptid VIII (A) entsprach Cystinpeptid IV (A, W), mit dem Unterschied, dass das Teilpeptid 2 aus dem Heptapeptid LQQSSCH (VIII- β) anstatt aus dem Tripeptid SCH (IV- β) bestand. Während das Cystinpeptid IV sowohl in GMP aus der Weizensorte Akteur als auch aus der Weizensorte Winnetou nachgewiesen wurde, wurde Cystinpeptid VIII nur in GMP aus der Weizensorte Akteur gefunden.

Die Spektren des Cystinpeptids VI (A) sind exemplarisch in Abbildung 3.15 (CID) und Abbildung 3.16 (ETD) dargestellt. Die CID-Spektren der anderen Cystinpeptide sind im Anhang dargestellt (7.3), wie auch die AS-Sequenzen (7.1), denen die Teilpeptide zugeordnet wurden.

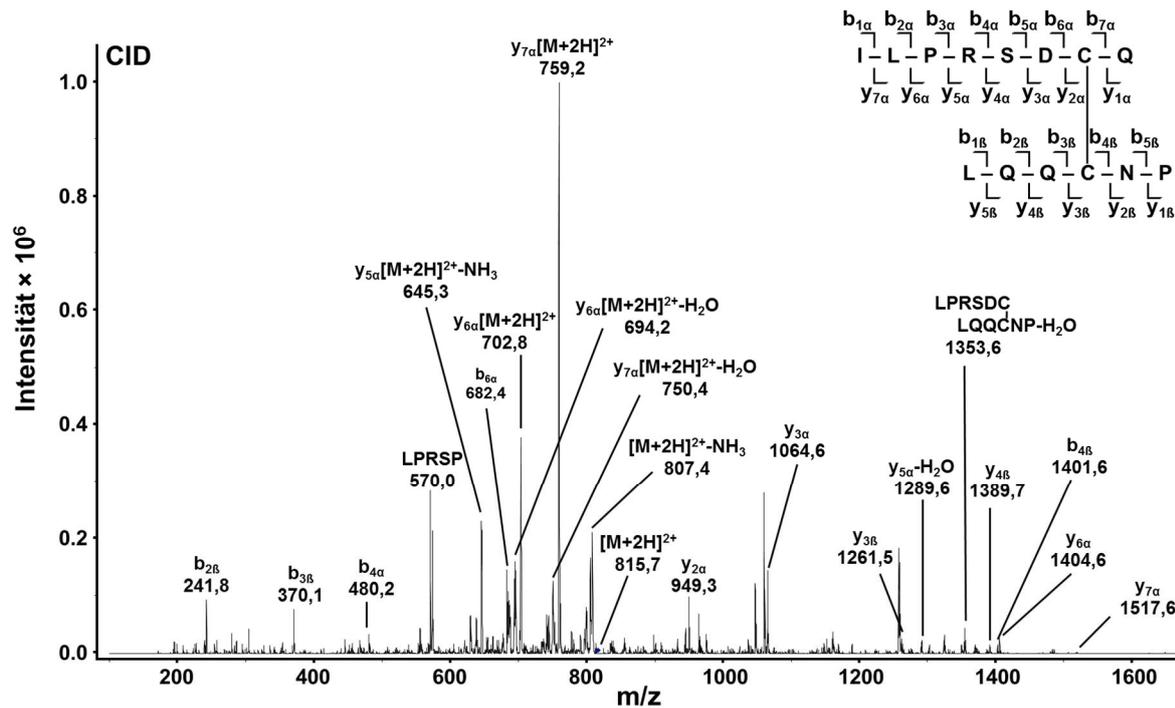


Abbildung 3.15: LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinepeptids VI (A, W) aus dem Precursor-Ion mit m/z 815,7 $[M+2H]^{2+}$. Das Spektrum stammt aus dem GMP-Gel der Weizensorte Akteur.

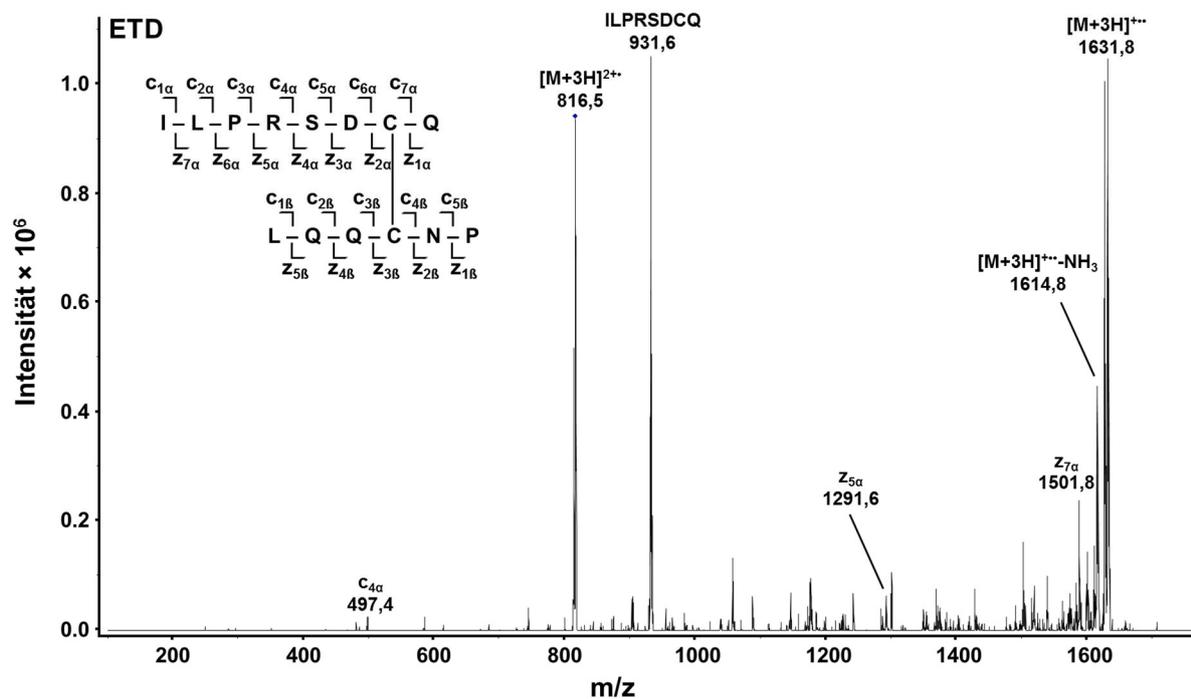


Abbildung 3.16: LC-MS²-Spektrum (ETD) des Cystinepeptids VI (A, W) aus dem Precursor-Ion mit m/z 816,5 $[M+2H]^{2+}$. Das Spektrum stammt aus dem GMP-Gel der Weizensorte Akteur.

3.5.2 Neu identifizierte Cystinpeptide

Insgesamt wurden zehn Disulfidbindungen im GMP aus der Weizensorte Akteur identifiziert, die in Kleberproteinen noch nie beschrieben wurden (Tabelle 3.9). Im GMP aus der Weizensorte Winnetou wurden drei der neu identifizierten Disulfidbindungen gefunden. Alle Cystinpeptide stammten aus der ersten GP-HPLC-Fraktion der enzymatischen Hydrolysate und die Spaltstellen entsprachen der Spezifität von Thermolysin.

Tabelle 3.9: Zuordnung der Disulfidbindungen in erstmals identifizierten Cystinpeptiden zu Proteintypen des Weizenklebers

Cystinpeptide der GP-HPLC-Fraktion 1 der thermolytischen Hydrolysate von GMP-Gelen aus den Weizensorten Akteur und Winnetou. Die mit α und β gekennzeichneten Peptidfragmente waren über eine Disulfidbindung verbunden.

Cystin-peptid¹ Nr.	Peptid-fragment Nr.	Aminosäuresequenz²/ Cysteinrest³	Proteintyp
IX (A)	IX- α	LGQC ^x	LMW-UE
	IX- β	LRDISPEC ^d HP	HMW Dx5
X (A)	X- α	LGQC ^x	LMW-UE
	X- β	LRDISPEC ^d HPV	HMW Dx5
XI (A, W)	XI- α	LGQC ^x	LMW-UE
	XI- β	VC ^z RMEGGDA	HMW Dy10/Dy12
XII (A)	XII- α	LGQC ^x S	LMW-UE
	XII- β	LKRYPSVTC ^e PQQ	HMW Dx5
XIII (A)	XIII- α	LKRYPSVTC ^e PQQ	HMW Dx5
	XIII- β	IQTQQQPQQLGQC ^x	LMW-UE
XIV (A)	XIV- α	LRDISPEC ^d HP	HMW Dx5
	XIV- β	MC ^z RLEGGDA	HMW Dx5
XV (A)	XV- α	LRDISPEC ^d HP	HMW Dx5
	XV- β	VDQQLRDVSPGC ^d RP	HMW Bx7
XVI (A)	XVI- α	LRDISPEC ^d HP	HMW Dx5
	XVI- β	LKRYPSVTC ^e PQQ	HMW Dx5
XVII (A, W)	XVII- α	ISPEC ^d HP	HMW Dx5/Dx2
	XVII- β	IQQQPQFPQQPPC ^{b*} SQQQPP	LMW-UE
XVIII (A, W)	XVIII- α	VDQQLRDVSPGC ^d RP	HMW Bx7/Bx6
	XVIII- β	VC ^z RMEGGDA	HMW Dy10/Dy12

¹ A bzw. W bezeichnet ob das Cystinpeptid in Akteur und/oder Winnetou gefunden wurde

² Einbuchstabencode der Aminosäuren

³ Nomenklatur der Cysteinreste nach Köhler et al. [1993]

In den folgenden Tabellen werden die identifizierten Cystinpeptide und die entsprechenden Disulfidbindungen hinsichtlich ihrer Struktur und Herkunft genauer beschrieben. Die angegebenen Ausschnitte der AS-Sequenzen sind im Anhang (7.1) vollständig dargestellt.

Die Cystinpeptide IX (A) und X (A) bestanden aus der häufig beschriebenen Sequenz LGQC einer LMW-UE und den Fragmenten LRDISPECHP bzw. LRDISPECHPV aus der HMW-UE Dx5 (Tabelle 3.10) [KÖHLER ET AL., 1993; KECK ET AL., 1995; LUTZ ET AL., 2012]. Somit handelte es sich um eine intermolekulare Disulfidbindung zwischen den Cysteinresten C^x aus HMW-UE und C^d aus LMW-UE. Die Teilpeptide IX-β und X-β kommen auch in der AS-Sequenz der HMW-UE Dx2 vor, so dass diese Verbindung auch im GMP aus Winnetou möglich wäre, jedoch wurde diese Disulfidbindung nicht nachgewiesen.

Tabelle 3.10: Cystinpeptide IX (A) und X (A)

Kovalente Struktur und Herkunft der Cystinpeptide IX (A) und X (A) aus LMW-UE und HMW-UE Dx5

Proteinkomponente (UniProtKB)	Teilabschnitt der Aminosäuresequenz, aus der das Cystinpeptid stammt						
LMW-UE (B2Y2Q7)	... ²⁵⁸ QVQGSIQTPQQQPQQLGQC*VSQPQQQSQQ ²⁸⁶ ...						
IX (A) ¹	<table style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td style="text-align: center;">IX-α/X-α</td> <td style="text-align: center;">LGQC</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">IX-β</td> <td style="text-align: center;"> </td> </tr> <tr> <td></td> <td style="text-align: center;">LRDISPECHP</td> </tr> </table>	IX-α/X-α	LGQC	IX-β			LRDISPECHP
IX-α/X-α	LGQC						
IX-β							
	LRDISPECHP						
X (A) ¹	LRDISPECHPV						
HMW-UE Dx5 (P10388)	... ²² LKACQQVMDQQQLRDISPEC ^d HPVVVSPVAG ⁵⁰ ...						

¹ A bzw. W bezeichnet ob das Cystinpeptid in Akteur und/oder Winnetou gefunden wurde

Die Cystinpeptide XII (A) und XIII (A) stellten eine Disulfidbindung zwischen den Cysteinresten C^e aus HMW-UE Dx5 und C^x aus LMW-UE dar, wobei zwei verschiedene Fragmente der LMW-UE (LGQCS und IQTQQQPQQLGQC) in Verbindung mit LKRYYPSTCPQQ aus HMW-UE Dx5 identifiziert wurden (Tabelle 3.11). Hierbei handelte es sich um eine intermolekulare Disulfidbindung, die nur im GMP aus Akteur vorkommen kann, da Winnetou nicht die HMW-UE Dx5 beinhaltet. Der Cysteinrest C^e kommt ausschließlich in der HMW-UE Dx5 vor.

Tabelle 3.11: Cystinpeptide XII (A) und XIII (A)

Kovalente Struktur und Herkunft der Cystinpeptide XII (A) und XIII (A) aus LMW-UE und HMW-UE Dx5

Proteinkomponente (UniProtKB)	Teilabschnitt der Aminosäuresequenz, aus der das Cystinpeptid stammt
HMW-UE Dx5 (P10388)	... ⁷⁵ QLQQRIFWGIPALLKRYYPSTVTC*PQQVSY ¹⁰³ ...
XII (A) ¹	XII-β/XIIIα LKRYYPSTVTC*PQQ XII-α LGQCS
XIII (A) ¹	XIII-β IQTQQQQPQQLGQC
LMW-UE (Q52NZ4)	... ¹⁸⁸ QPQQSGQGVSSQSQSQQLGQC*SFQQPQ ²¹⁶ ...
LMW-UE (D3U319)	... ²⁷⁶ QEQQQVQGSIQTTQQQQPQQLGQC*VSQPQQ ³⁰⁴ ...

¹ A bzw. W bezeichnet ob das Cystinpeptid in Akteur und/oder Winnetou gefunden wurde

Eine weitere Disulfidbindung mit dem Teilpeptid LGQC wurde in Verbindung mit dem Peptidfragment VCRMEGGDA gefunden, das den HMW-UE des γ-Typs zuzuordnen ist (Tabelle 3.12). Diese intermolekulare Disulfidbindung konnte sowohl im GMP aus der Weizensorte Akteur als auch aus der Weizensorte Winnetou identifiziert werden.

Tabelle 3.12: Cystinpeptid XI (A, W)

Kovalente Struktur und Herkunft des Cystinpeptids XI (A, W) aus LMW-UE und HMW-UE Dy10 (Akteur) bzw. HMW-UE Dy12 (Winnetou)

Proteinkomponente (UniProtKB)	Teilabschnitt der Aminosäuresequenz, aus der das Cystinpeptid stammt
LMW-UE (B2Y2Q7)	... ²⁵⁸ QVQGSIQTPQQQPQQLGQC*VSQPQQQSQQ ²⁸⁶ ...
XI (A, W) ¹	XI-α LGQC XI-β VCRMEGGDA
HMW-UE Dy10 (P10387)	... ⁵⁹⁸ SPMVAKAQQPATQLPTVC*RMEGGDALSAS ⁶²⁶ ...
HMW-UE Dy12 (P08488)	... ⁶¹⁰ SPMVAKAQQPATQLPTVC*RMEGGDALSAS ⁶³⁸ ...

¹ A bzw. W bezeichnet ob das Cystinpeptid in Akteur und/oder Winnetou gefunden wurde

Das Dekapeptid LRDISPECHP und das Nonapeptid MCRLEGGDA aus der HMW-UE Dx5 stellten das Cystinpeptid XIV (A) dar (Tabelle 3.13). Anhand der LC-MS/MS-Analyse konnte keine Aussage getroffen werden, ob es sich um eine intra- oder intermolekulare Disulfidbindung handelte. Bei einer intramolekularen Disulfidbindung würde die HMW-UE ringförmig vorliegen, eine intermolekulare Verknüpfung würde

die in einigen GLUT-Modellen postulierte Kopf-Schwanz-Verbindung darstellen. Theoretisch entsprachen diese beiden Peptidfragmente auch Teilpeptiden der HMW-UE Dx2, die in der Weizensorte Winnetou vorkommt. Jedoch wurde diese Disulfidbindung nur im GMP aus der Weizensorte Akteur nachgewiesen.

Tabelle 3.13: Cystinpeptid XIV (A)

Kovalente Struktur und Herkunft des Cystinpeptids XIV (A) aus HMW-UE Dx5

Proteinkomponente (UniProtKB)	Teilabschnitt der Aminosäuresequenz, aus der das Cystinpeptid stammt
HMW-UE Dx5 (P10388)	... ²² LKACQQVMDQQLRDISPE ^{C^d} HPVVVSPVAG ⁵⁰ ...
XIV (A) ¹	LRDISPE ^{C^d} HP MCRLEGGDA
XIV-α	
XIV-β	
HMW-UE Dx5 (P10388)	... ⁷⁹⁷ ASLKVAKAQQQLAAQLPAM ^{C^z} RLEGGDALSAS ⁸²⁵ ...

¹ A bzw. W bezeichnet ob das Cystinpeptid in Akteur und/oder Winnetou gefunden wurde

Weiterhin wurde eine Disulfidbindung zwischen den Cysteinresten C^d der HMW-UE Dx5 und Bx7 im GMP aus der Weizensorte Akteur identifiziert (Tabelle 3.14). Im GMP-Gel aus der Weizensorte Winnetou wurde diese Disulfidbindung nicht nachgewiesen, wobei hier die Teilpeptide den AS-Sequenzen der HMW-UE Dx2 und Bx6 entstammt wären. Da die Teilpeptide XV-α und XV-β aus zwei unterschiedlichen HMW-UE stammten, handelte es sich hier um eine intermolekulare Kopf-Kopf-Verbindung.

Tabelle 3.14: Cystinpeptid XV (A)

Kovalente Struktur und Herkunft des Cystinpeptids XV (A) aus HMW-UE Dx5 und HMW-UE Bx7

Proteinkomponente (UniProtKB)	Teilabschnitt der Aminosäuresequenz, aus der das Cystinpeptid stammt
HMW-UE Dx5 (P10388)	... ²⁰ RELKACQQVMDQQLRDISPE ^{C^d} HPVVVSPV ⁴⁸ ...
XV (A) ¹	LRDISPE ^{C^d} HP VDQQLRDVSPG ^{C^r} RP
XV-α	
XV-β	
HMW-UE Bx7 (Q45R38)	... ¹² HELEACQQVVDQQLRDVSPG ^{C^d} RPITVSPG ⁴⁰ ...

¹ A bzw. W bezeichnet ob das Cystinpeptid in Akteur und/oder Winnetou gefunden wurde

Das Peptidfragment XVI-β (LKRYYPSTCPQQ), welches den Cysteinrest C^e beinhaltete und somit für die HMW-UE Dx5 spezifisch war, wurde in Verbindung mit

LRDISPECHP, bei dem es sich ebenfalls um ein Peptidfragment der HMW-UE Dx5 handelte, identifiziert (Tabelle 3.15). Da die Weizensorte Winnetou die HMW-UE Dx5 nicht besitzt, wurde diese intra- oder intermolekulare Disulfidbindung nur in GMP aus der Weizensorte Akteur nachgewiesen.

Tabelle 3.15: Cystinpeptid XVI (A)

Kovalente Struktur und Herkunft des Cystinpeptids XVI (A) aus HMW-UE Dx5

Proteinkomponente (UniProtKB)	Teilabschnitt der Aminosäuresequenz, aus der das Cystinpeptid stammt
HMW-UE Dx5 (P10388)	... ²¹ ELKACQQVMDQQLRDISPEC ^d HPVVVSPVA ⁴⁹ ...
XVI (A) ¹	<div style="text-align: center;"> LRDISPECHP LKRYYPSTCPQQ </div>
HMW-UE Dx5 (P10388)	... ⁷⁸ QRIFWGIPALLKRYYPSTC ^e PQQVSYYPG ¹⁰⁶ ...

¹ A bzw. W bezeichnet ob das Cystinpeptid in Akteur und/oder Winnetou gefunden wurde

Eine Disulfidbindung, die sowohl im GMP aus der Weizensorte Akteur als auch aus der Weizensorte Winnetou identifiziert wurde, war eine Verknüpfung zwischen dem Cysteinrest C^d einer HMW-UE des x-Typs und dem Cysteinrest C^{b*} einer LMW-UE (Tabelle 3.16). Hierbei handelte es sich um eine intermolekulare Disulfidbindung, die eine "Verzweigung" innerhalb des von Wieser [2007] beschriebenen GLUT-Modells (Abbildung 1.6) darstellte.

3.5.3 Diskussion

Aus den thermolytischen Hydrolysaten der GMP-Gele, die aus den Weizensorten Akteur und Winnetou isoliert wurden, wurden Cystinpeptide mit insgesamt acht Disulfidbindungen identifiziert, deren Verknüpfungen bereits aus Kleberproteinen bekannt waren [KÖHLER ET AL., 1993; KECK ET AL., 1995; MUELLER UND WIESER, 1997; LUTZ ET AL., 2012]. Vier dieser bekannten Verknüpfungen (I (A), III (A, W), IV (A, W), V (A, W)) wurden von Lutz et al. [2012] erstmals über LC-MS/MS nachgewiesen, so dass bei der hier vorliegenden Arbeit vier weitere, bereits bekannte Verknüpfungen (II (A), VI (A, W), VII (A), VIII (A)) erstmals mittels LC-MS/MS nachgewiesen wurden. Abbildung 3.17 zeigt einen Überblick über die bereits bekannten Disulfidbindungen aus Kleberproteinen, wobei die in dieser Arbeit identifizierten und nicht identifizierten Verknüpfungen im GMP aus Akteur unterschiedlich farbig markiert wurden.

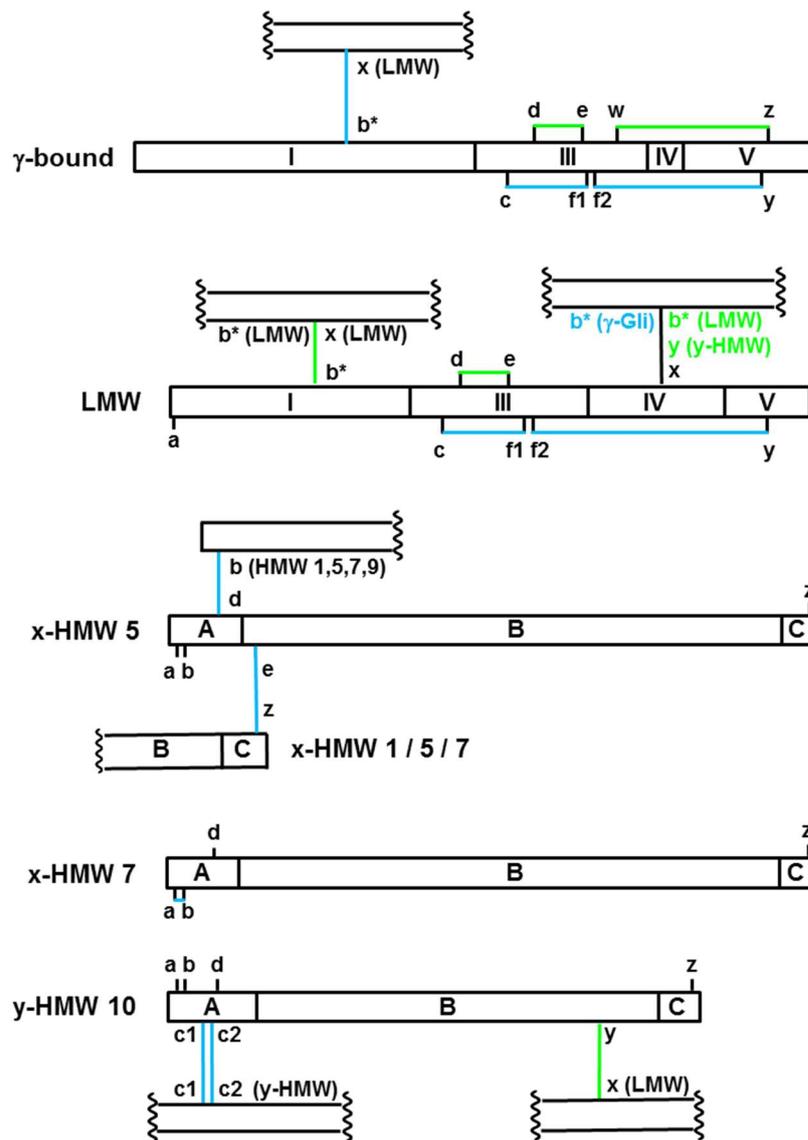


Abbildung 3.17: Bekannte Disulfidbindungen der Kleberproteine

In dieser Arbeit identifizierte Disulfidbindungen sind grün und nicht identifizierte blau markiert (γ -bound: Glutenin-gebundene γ -Gliadine, LMW: niedermolekulare Untereinheiten, HMW: hochmolekulare Untereinheiten). Die Cysteinreste sind nach der Nomenklatur von Köhler et al. [1993] gekennzeichnet.

Zum einen wurden drei intramolekulare Disulfidbindungen (Cystinpeptid III (A, W), V (A, W), VI (A, W)) der γ -GLIA in den GMP-Gelen beider Weizensorten identifiziert. Aufgrund der Isolierungsmethode von GMP (Extraktion mit SDS und 60 %igem EtOH) werden die GLIA, die überwiegend monomer vorliegen, zwar entfernt, aber durch den zusätzlichen Cysteinrest C^{b*}, der in manchen AS-Sequenzen (7.1) der GLIA (γ -bound) vorkommt, können diese durch intermolekulare Disulfidbindungen an die GLUT gebunden und im GMP wiedergefunden werden. Diese GLIA wirken als sogenannte Terminatoren der Polymerisation von GLUT-UE [SCHMID ET AL., 2017].

Zum anderen wurde eine intramolekulare Disulfidbindung zwischen den Cysteinresten C^d und C^e der LMW-UE (IV (A, W), VIII (A)) identifiziert, welche ebenfalls bereits in der Literatur beschrieben wurde und in beiden GMP-Gelen (Akteur, Winnetou) vorlag [KÖHLER ET AL., 1993]. Da diese intramolekularen, bereits bekannten Cystinpeptide eingehend in der Literatur beschrieben sind, werden diese im Folgenden nicht weiter diskutiert.

Darüber hinaus wurden drei intermolekulare Disulfidbindungen gefunden, die bereits aus Kleberproteinen bekannt waren [KÖHLER ET AL., 1993; KECK ET AL., 1995]. Hierbei handelte es sich um eine Disulfidbindung zwischen den Cysteinresten C^x und C^{b*} in LMW-UE (I (A)), C^{b*} und C^{b*} in LMW-UE (VII (A)) und zwischen C^x (LMW-UE) und C^y (HMW-UE, γ -Typ; II (A)). Interessant zu beobachten war, dass diese drei Disulfidbindungen nur im GMP aus der Weizensorte Akteur nachgewiesen wurden. Die Cystinpeptide I (A) und VII (A) beinhalten jeweils den Cysteinrest C^{b*}, der nicht in allen AS-Sequenzen der LMW-UE vorkommt (UniProtKB: P10386, Q52NZ4; 7.1). Stattdessen kommt in den LMW-UE, die kein C^{b*} enthalten, der Cysteinrest C^a vor, mit dem bisher keine Disulfidbindungen bekannt sind. Die Ergebnisse zeigten, dass die Weizensorte Winnetou offenbar weniger LMW-UE enthält, die den Cysteinrest C^{b*} beinhalten als die Weizensorte Akteur und somit diese intermolekularen Disulfidbindungen fehlen und folglich ein geringerer Polymerisationsgrad im GMP der Weizensorte Winnetou vorliegen könnte. Das Fehlen des Cystinpeptids II (A) im GMP aus der Weizensorte Winnetou deutete ebenfalls das geringere Polymerisationsvermögen der Kleberproteine dieses C-Weizens an, da es sich auch um eine intermolekulare Disulfidbindung zwischen LMW-UE und HMW-UE des γ -Typs handelte.

Das geringere Polymerisationsvermögen der Kleberproteine der Weizensorte Winnetou, das sich durch die geringere Anzahl an Disulfidbindungen im Vergleich zur Weizensorte Akteur zeigt, wäre eine Erklärung für die schlechtere Backfähigkeit der Weizensorte Winnetou, da die Kleberstruktur für die Backfähigkeit entscheidend ist.

Neben den bekannten Cystinpeptiden aus Weizenkleber wurden in den untersuchten GMP-Gelen auch bisher unbekannte Disulfidbindungen identifiziert. Insgesamt wurden im GMP-Gel aus der Weizensorte Akteur zehn neue Disulfidbindungen aufgeklärt, wobei zwei Verknüpfungen mit je zwei unterschiedlichen Teilpeptiden gefunden wurden, so dass es sich um acht neue Verknüpfungen handelte, die in

Abbildung 3.18 dargestellt sind. Im GMP-Gel aus der Weizensorte Winnetou wurden drei dieser Disulfidbindungen bestätigt.

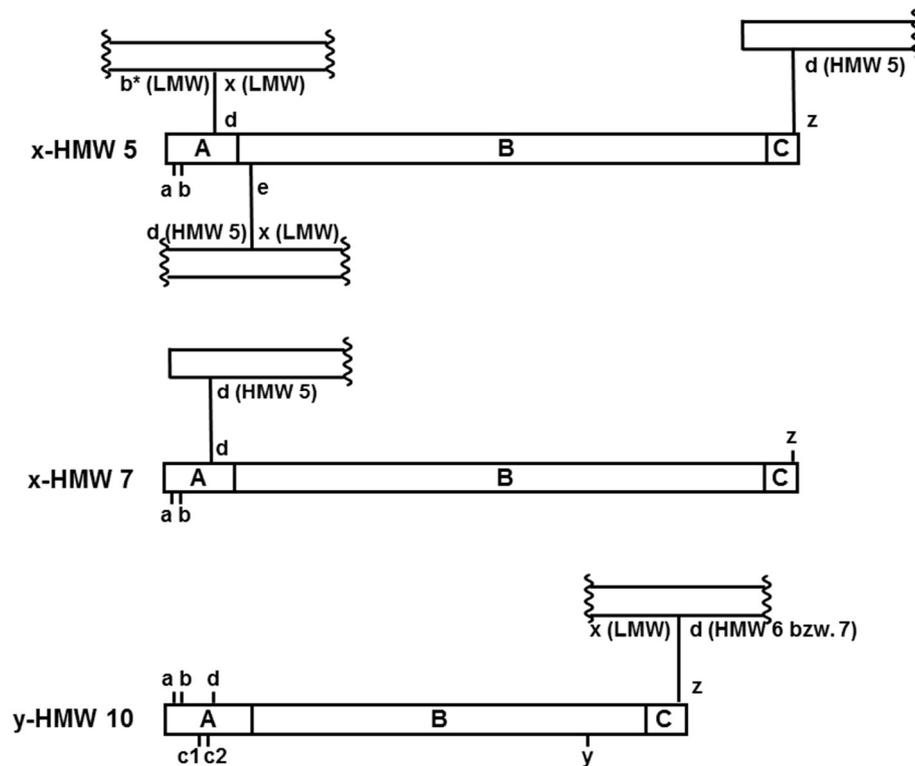


Abbildung 3.18: Erstmals in GMP-Gelen identifizierte Disulfidbindungen

Darstellung der acht neu identifizierten Disulfidbindungen in GMP-Gelen der Weizensorten Akteur und Winnetou zwischen den HMW-UE (hochmolekulare Untereinheiten) und LMW-UE (niedermolekulare Untereinheiten). Die Cysteinreste sind nach der Nomenklatur von Köhler et al. [1993] gekennzeichnet.

Lutz et al. [2012] gelang es erstmals, eine Kopf-Schwanz-Verknüpfung zwischen zwei HMW-UE des x-Typs in Kleberproteinen nachzuweisen. In dieser Arbeit wurde eine weitere Kopf-Schwanz-Verknüpfung zwischen den Cysteinresten C^d und C^z der HMW-UE Dx5 (XIV (A)) festgestellt, jedoch konnte mit der hier angewandten Methode letztendlich nicht geklärt werden, ob es sich um eine intra- oder intermolekulare Disulfidbindung handelt. Da jedoch weitere intermolekulare Disulfidbindungen mit dem Cysteinrest C^d bekannt sind, sowie auch weitere Verknüpfungen gefunden wurden und GMP von polymerer Natur ist, wird vermutet, dass es sich um eine intermolekulare Disulfidbindung handelt. In der Literatur wurden bereits des Öfteren Klebermodelle postuliert, die Kopf-Schwanz-Verknüpfungen zwischen HMW-UE als wesentliche Strukturmerkmale enthalten [GRAVELAND ET AL., 1985; WIESER ET AL., 2006].

Eine weitere Kopf-Schwanz-Verknüpfung wurde zwischen den Cysteinresten C^d aus der HMW-UE Bx7 bzw. Bx6 und C^z aus der HMW-UE Dy10 bzw. Dy12 (XVIII (A, W)) in beiden GMP-Gelen identifiziert. Diese Kopf-Schwanz-Verknüpfung repräsentiert eine Verbindung zwischen der N-terminalen Domäne einer HMW-UE des x-Typs und der C-terminalen Domäne einer HMW-UE des y-Typs.

Aufgrund der Ergebnisse von Tao et al. [1992] wurde von Kopf-Schwanz-Verknüpfungen in Kleberproteinen ausgegangen, wobei diese Arbeit, im Gegensatz zu der hier gezeigten Verbindung, die Verknüpfung zwischen der N-terminalen Domäne einer HMW-UE des x-Typs und der C-terminalen Domäne einer HMW-UE des y-Typs beschreibt. Die von Lutz et al. [2012] nachgewiesene Kopf-Schwanz-Verknüpfung zeigte jedoch, dass es mehrere Verknüpfungsmöglichkeiten von HMW-UE gibt, da diese Verbindung zwischen zwei HMW-UE des x-Typs ausgebildet wurde.

Es wurden weitere Disulfidbindungen des Cysteinrestes C^d der HMW-UE Dx5 erstmals identifiziert. Zum einen handelte es sich um zwei Kopf-Kopf-Verknüpfungen mit dem Cysteinrest C^d der HMW-UE Bx7 und C^d der HMW-UE Dx5 (XV (A)), sowie eine Verknüpfung zwischen C^d und C^e der HMW-UE Dx5 (XVI (A)), wobei Letztere auch eine intramolekulare Disulfidbindung sein könnte. Diese Verknüpfungen könnten zur Stabilisierung des Polymers beitragen, da aufgrund der Kopf-Kopf-Verknüpfungen die HMW-UE auch parallel angeordnet sein könnten. Beispielsweise zeigt das Modell von Wieser [2007] die parallele Anordnung der HMW-UE des y-Typs (1.5.2.2, Abbildung 1.6).

Weiterhin wurden Disulfidbindungen zwischen dem Cysteinrest C^d der HMW-UE Dx5 und den Cysteinresten C^x (IX (A), X (A)) und C^{b*} (XVII (A, W)) von LMW-UE identifiziert, wobei letztere auch im GMP-Gel der Weizensorte Winnetou (hier mit HMW-UE Dx2) bestätigt wurde. Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass diese Cysteinreste nicht nur einen Bindungspartner in Anspruch nehmen, sondern dass zahlreiche Kombinationen möglich sind. Dies wurde auch in den Arbeiten von Lutz et al. [2012] gezeigt, wo intermolekulare Disulfidbindungen zwischen Cysteinresten der GLIA und LMW-UE aufgeklärt wurden, die bis dahin nur als intramolekulare Disulfidbindungen beschrieben worden waren (1.5.1, Abbildung 1.4).

Es wurde nicht nur eine Disulfidbindung des Cysteinrestes C^e mit C^d der HMW-UE Dx5 (XVI (A)) festgestellt, sondern auch mit C^x einer LMW-UE (XII (A), XIII (A)). Die HMW-UE Dx5, die in der Weizensorte Winnetou nicht vorkommt, enthält als einzige

HMW-UE den Cysteinrest C^e. Daraus wird abgeleitet, dass diese HMW-UE eine höhere Tendenz zur Polymerisation aufweist als andere HMW-UE. Eine Kopf-Schwanz-Verknüpfung zwischen einer LMW-UE (C^x) und einer HMW-UE (Dy10 bzw. Dy12; C^z), die auch in der Weizensorte Winnetou identifiziert wurde (XI (A, W)), stellt die letzte neu identifizierte Disulfidbindung dar.

Lindsay und Skerritt [1999] beschrieben ein Modell des GLUT, in dem das Rückgrat aus alternierenden HMW-UE-Oligomeren (sowohl x-x- als auch x-y-Dimere) und LMW-UE-Oligomeren bestand. Die hier erarbeiteten Ergebnisse würden dieses Modell unterstützen, da sowohl Kopf-Schwanz-Verknüpfungen innerhalb der HMW-UE als auch zwischen HMW-UE und LMW-UE identifiziert wurden, wie auch x-x- und x-y-Dimere der HMW-UE.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass die Verknüpfungsmöglichkeiten der Cysteinreste von Kleberproteinen in GMP-Gelen sehr vielfältig sind. Anhand der vorliegenden Ergebnisse kann nicht beurteilt werden, ob Disulfidbindungen gerichtet oder zufällig entstehen. Allerdings könnten die verschiedenen Cysteinreste als eher reaktionsträge oder eher reaktionsfreudig klassifiziert werden. Letztere dürften hauptsächlich für intermolekulare Disulfidbindungen verantwortlich sein, während erstere vorwiegend intramolekulare Verknüpfungen ausbilden. Anhand der nachgewiesenen Cysteinpeptide könnten die Cysteinreste C^{b*} und C^x der LMW-UE sowie die Cysteinreste C^d, C^e, C^y und C^z der HMW-UE als eher reaktiv und die Cysteinreste C^d, C^e, C^w und C^z von γ -bound sowie die Cysteinreste C^d und C^e der LMW-UE als eher reaktionsträge eingeordnet werden.

Die Untersuchungen haben auch Unterschiede in der Struktur der GMP-Gele der Weizensorten Akteur (E-Qualität) und Winnetou (Futterweizen) aufgezeigt. GMP ist per Definition der höchstmolekulare Anteil des GLUT, der sich in SDS-Lösung nicht löst. Die sehr geringe Menge an GMP-Gel in der Weizensorte Winnetou im Vergleich zur Weizensorte Akteur zeigt, dass der Polymerisationsgrad der GLUT bei Winnetou viel geringer ist. Die vergleichende Analyse der GMP-Gele der Weizensorten Akteur und Winnetou auf Disulfidbindungen ergab eine deutlich höhere Anzahl an Cysteinpeptiden bei der Weizensorte Akteur. Auch die Anzahl der Cystinpeptide, die für Kopf-Schwanz-Verknüpfungen von HMW-UE stehen, war bei der Sorte Akteur höher als bei Winnetou. Dafür dürfte nicht zuletzt die HMW-UE Dx5 verantwortlich sein, die in der Weizensorte Akteur vorkommt. Der zusätzliche Cysteinrest C^e macht einen nicht unerheblichen Anteil der nachgewiesenen Cystinpeptide aus. Da die

Weizensorte Winnetou diese HMW-UE nicht enthält, fehlen naturgemäß die entsprechenden Cysteinpeptide und die zugehörigen Disulfidbindungen. Daraus kann abgeleitet werden, dass insbesondere die HMW-UE Dx5 eine stärkere Polymerisation der Kleberproteine bedingt (höherer Gehalt an GMP-Gel) und dass kleberschwache Weizensorten wie z. B. Winnetou offenbar generell weniger Disulfidbindungen ausbilden.

Die unterschiedlichen Disulfidbindungen in den GMP-Gelen der Weizensorten Akteur und Winnetou bestärken die Hypothese, dass das Polymerisationsverhalten der Protein-UE die Backeigenschaften beeinflusst. Demnach weisen kleberstarke Weizensorten einen höheren Polymerisationsgrad der GLUT-Fraktion auf als kleberschwache Weizensorten. Dies bestätigt die Erkenntnisse von Moonen et al. [1982], wonach die Zusammensetzung der HMW-UE die Menge an Gelprotein (GMP) beeinflusst.

3.6 Entwicklung eines Knet-Messgeräts für Mikrobackversuche

Wie in der Problemstellung und Zielsetzung bereits ausführlich beschrieben, sollte ein neuer innovativer Mikrobacktest entwickelt werden, mit dem es möglich war, die Backqualität von Weizenmehl zuverlässig vorauszusagen. Dazu wurde ein neues Knet-Messgerät konstruiert (Abbildung 3.19), das während der Teigbildung das Drehmoment kontinuierlich erfasste (Software: Agitator V1.00.00). Folglich konnte die Fläche unter der aufgezeichneten Kurve (Drehmoment-Zeit-Diagramm), die ein Maß für den Energieeintrag in den Teig darstellte, berechnet werden. Als Knetgeometrie wurde zunächst, wie im MRMT (1.2.3.2), ein Flügelmixer gewählt.

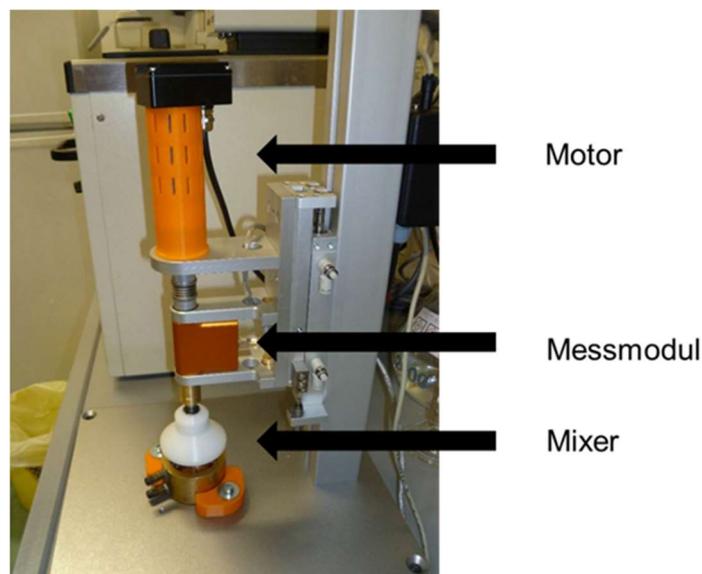


Abbildung 3.19: Prototyp des neuen registrierenden Knet-Messgerätes
(Firma n · generic, Villingen-Schwenningen, Deutschland)

Die ersten Versuche mit dem neuen Knet-Messgerät zeigten jedoch, dass es nicht möglich war, homogene Teige herzustellen. Dies lag an der Konstruktion des Rührwerkes, da sich der Teig im Flügelmixer während der Anteigphase verding, so dass das Drehmoment nicht kontinuierlich gemessen werden konnte, weil kein durchgehender Kontakt zwischen dem Teig und der Mischkammer stattfand. Es war auch keine optimale Kraftübertragung gewährleistet, da die Verbindung zwischen dem Antrieb und dem Mixaufsatz nicht formschlüssig ausgeführt worden war. Gleiches galt für den Formschluss zwischen Teigbehälter und Mixer, so dass während des Anteigens Teig aus dem Knetbecher herausgedrückt wurde. In dem zwischen der Antriebsachse und dem Mixaufsatz bestehenden Hohlraum sammelte

sich während des Anteigens eine beträchtliche Menge an Teig, so dass es zu Verlusten kam und die Reinigung des Gerätes nur unzureichend verrichtet werden konnte. Weitere bauliche Mängel erforderten die Optimierung des Rührwerkes, da die Handhabung sehr schwierig war. Aus diesem Grund wurde das gesamte Rührwerk neu konstruiert.

3.6.1 Status vor dem Umbau

Vor dem Umbau des Rührwerkes wurde ein Flügelmixer verwendet. Versuche bei unterschiedlichen Drehzahlen und Rührzeiten brachten jedoch kein befriedigendes Mischergebnis. Auch Versuche mit unterschiedlichen Abweisern unterhalb des Rührflügels verbesserten die Durchmischung der Probe nur unwesentlich, so dass keine homogene Durchknetung der Teige erreicht wurde. Durch das Rührprinzip mit Rührflügel und die relativ hohen Drehzahlen (700-1000 U/min) erfolgte ein erheblicher Wärmeeintrag in die Teigprobe, was eine zusätzliche Wasserkühlung des Rührbeckens erforderlich machte. Wurden niedrigere Drehzahlen gewählt, so war die Durchmischung der Teige noch schlechter.

Das Handling der Apparatur war sehr umständlich und zeitraubend, da zur Reinigung des Rührflügels nach jedem Knetvorgang der Lageraufsatz, unter Verwendung eines Inbusschlüssels, abgenommen und anschließend wieder montiert werden musste. Dabei war zu beachten, dass der Lageraufsatz formschlüssig montiert wurde, was sehr schwierig war, da der Zylinder nur an einem kleinen Flächenstück abgeflacht war (Abbildung 3.20). Zum anderen kam es zu Metallabrieb bei zu fest angeschraubtem Lageraufsatz. Wurde der Lageraufsatz wiederum zu locker fixiert, löste sich die Kneteinheit während der Messung und der Knetvorgang musste abgebrochen werden. Insgesamt war keine kontinuierliche Kraftübertragung gewährleistet.



Abbildung 3.20: Lageraufsatz des Flügelmixers

Flügelmixer zum Anteigen von Brotteigen im 10 g Maßstab. Der Lageraufsatz diente als Verbindungsstück zwischen Knetaufsatz und Antriebswelle und wurde über eine Madenschraube, mit einem Inbusschlüssel, an dem Flachstück des Lageraufsatzes befestigt.

Weiterhin war die Reinigung sehr problematisch, da sich der Teig während des Knetprozesses sowohl im Flügelmixer verding als auch schwer aus dem Knetbecher zu entfernen war. Aus diesem Grund musste nach jedem Anteigprozess eine aufwändige Säuberung durchgeführt werden. Deshalb wurde eine geeignetere Knetgeometrie für den Mikroknetter konstruiert. Ziel war es, homogene Teige herzustellen und gleichzeitig eine einfache Bedienung zu gewährleisten.

3.6.2 Konstruktion eines neuen Rührwerkes

Zunächst wurde ein neues Rührwerk angefertigt, das unter Verwendung des vorhandenen Antriebs, der bestehenden Halterung und der vorhandenen Messtechnik konstruiert wurde (Abbildung 3.21).

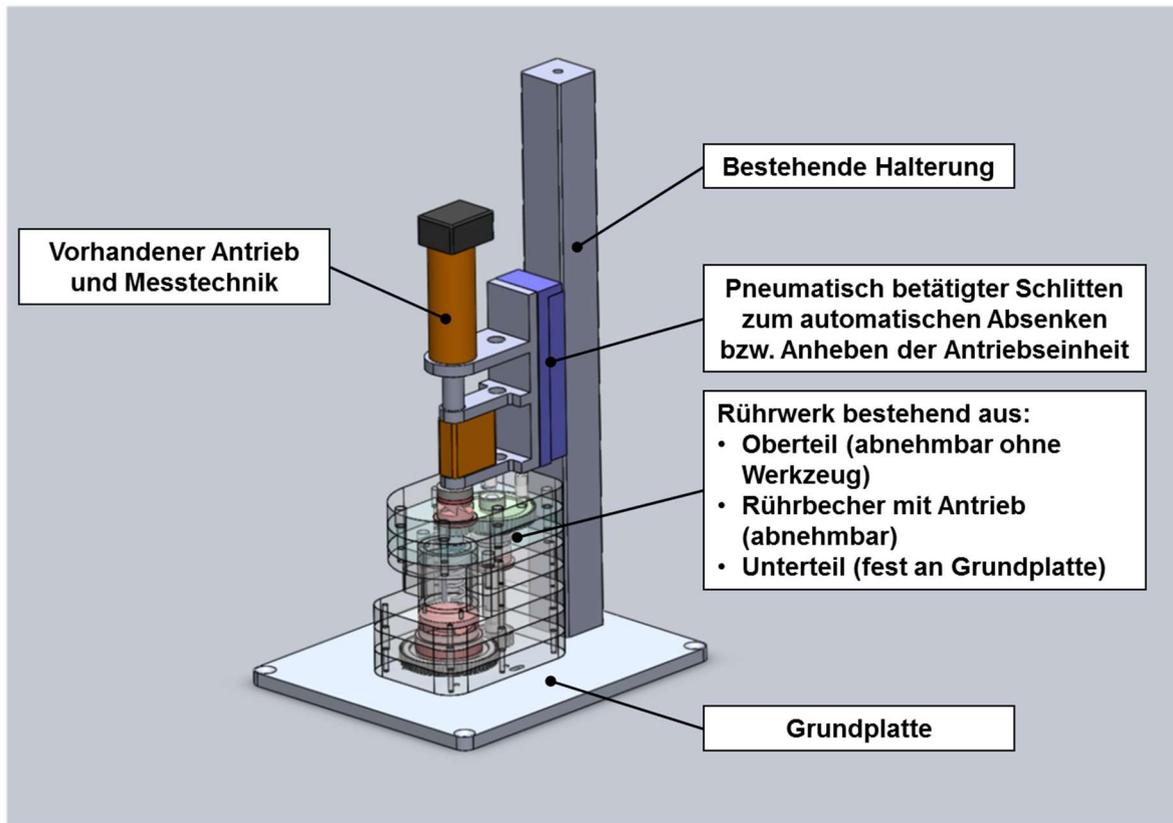


Abbildung 3.21: 3D-Konstruktionsplan des Mikrokneters

Die einzelnen Bauelemente des Mikrokneters und des neu konstruierten Rührwerkes sind angegeben (Konstruktion der Firma LuiTec, Steinkirchen, Deutschland).

Das neu konstruierte Rührwerk bestand aus einem fest mit der Grundplatte verbundenen Unterteil, einem ohne Werkzeuge abnehmbaren Oberteil und einem herausnehmbaren Rührbecher. Der Rührbecherantrieb erfolgte über ein integriertes Untersetzungsgetriebe (9:1) mit Hilfe des vorhandenen Rührantriebes (Abbildung 3.22). Dadurch entfiel ein zusätzlicher Antrieb und die Antriebsleistung des Bechers, die als Knetarbeit bezeichnet wird, ging in das Messergebnis mit ein.

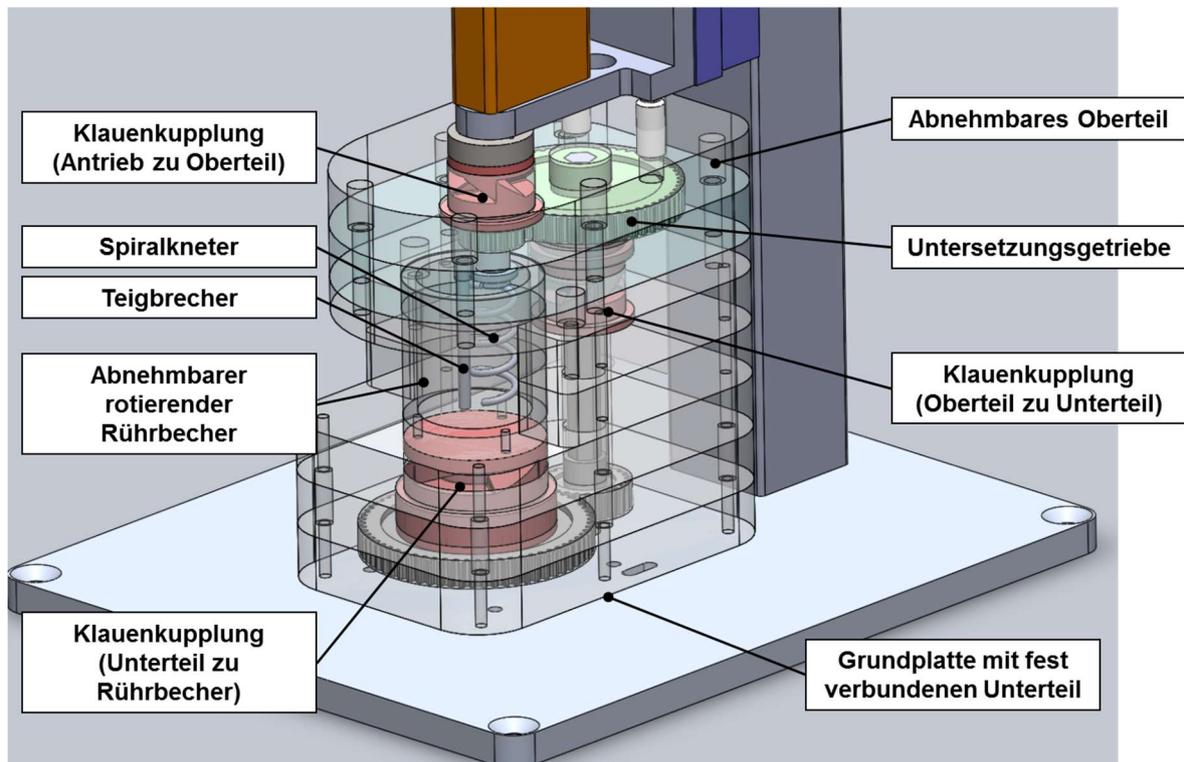


Abbildung 3.22: 3D-Konstruktionsplan des Rührwerkes

Die einzelnen Bauelemente im Inneren des Rührwerkes sind angegeben (Konstruktion der Firma LuiTec, Steinkirchen, Deutschland).

Die Kraftübertragung an den Schnittstellen der einzelnen Komponenten (Antrieb, Oberteil, Unterteil und Rührbecher) erfolgte formschlüssig, jeweils über zweiteilige Klauenkupplungen, die werkzeuglos auseinandergelassen werden konnten (Abbildung 3.23). Die Verriegelung des Oberteils mit dem Unterteil erfolgte automatisch durch federnde Druckstücke beim Absenken des pneumatisch angetriebenen Schlittens.

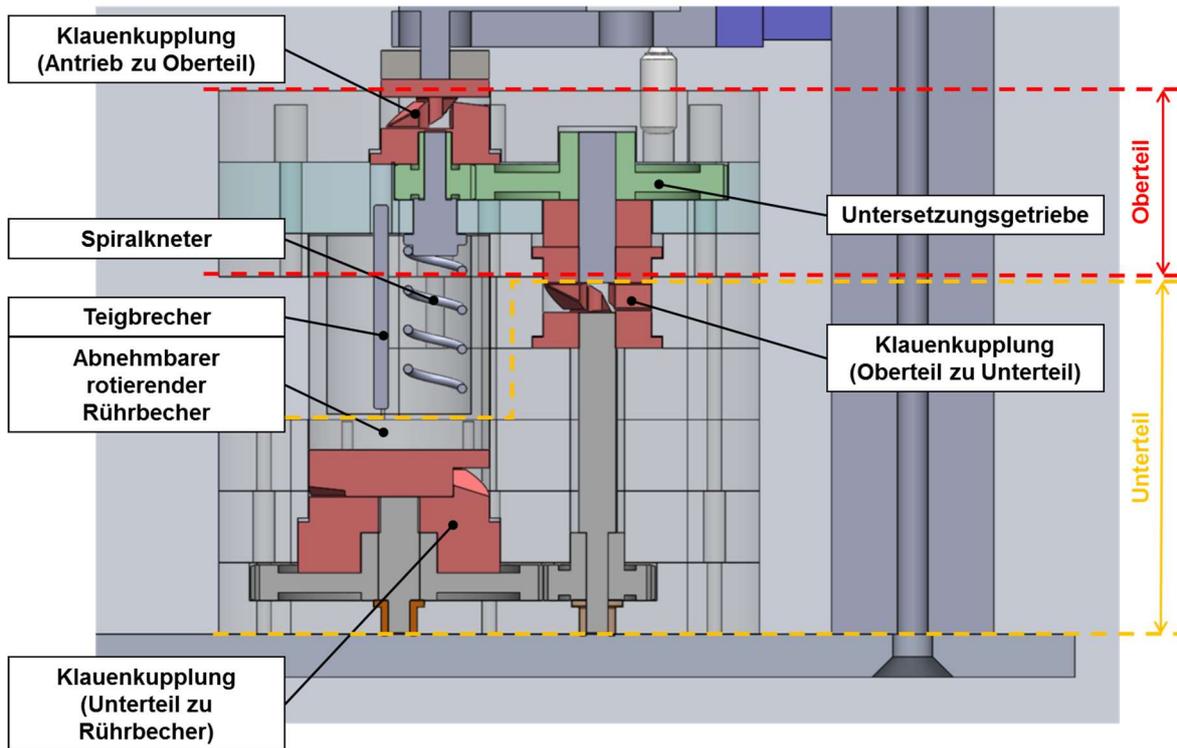


Abbildung 3.23: Konstruktionsplan des Rührwerk-Querschnittes
(Konstruktion der Firma LuiTec, Steinkirchen, Deutschland)

Der vorher eingesetzte Flügelmixer wurde durch eine neue Knetgeometrie ersetzt. Dazu wurden Rührprinzipien herangezogen, die auch in der Praxis Anwendung finden, wie z. B. Wendel- oder Spiralkneter (Abbildung 3.24).



Abbildung 3.24: Unterschiedliche Geometrien für den Mikrokneter
1: Flügelmixer, 2: Wendelkneter, 3a-c: Spiralkneter in unterschiedlichen Größen

Versuche mit den unterschiedlichen Rührerformen bei variablen Drehzahlen und Knetzeiten zeigten, dass bei der kleinen Probenmenge (10 g) das Rührprinzip „Spiralkneter mit Teigbrecher und rotierendem Teigbecher“, die besten Knetergebnisse lieferte. Dies zeigte sich darin, dass innerhalb kürzester Zeit homogene Teige geknetet werden konnten und die Teige nicht im Rührwerk hängen blieben. Dieses Rührprinzip findet auch bei professionellen Teigknetern mittlerer Baugröße im Bäckereibereich Anwendung. Es wurden Spiralen unterschiedlicher Größen und Formen getestet. Die Wahl fiel auf eine Spirale mittlerer Größe, deren Abstand zur Becherwandung 1,5 mm betrug (Abbildung 3.24, 3c). Mit dieser Spirale konnten in relativ kurzer Zeit homogene Teige erzeugt werden, wobei der Temperaturanstieg minimal war. Die Spirale war mit dem abnehmbaren Oberteil des Rührwerkes verbaut, das durch zweiteilige Klauenkupplungen ohne Werkzeug problemlos ein- und ausgebaut werden konnte (Abbildung 3.25). Somit entfiel ein umständliches Ein- und Ausbauen des Spiralkneters nach jedem Anteigvorgang.

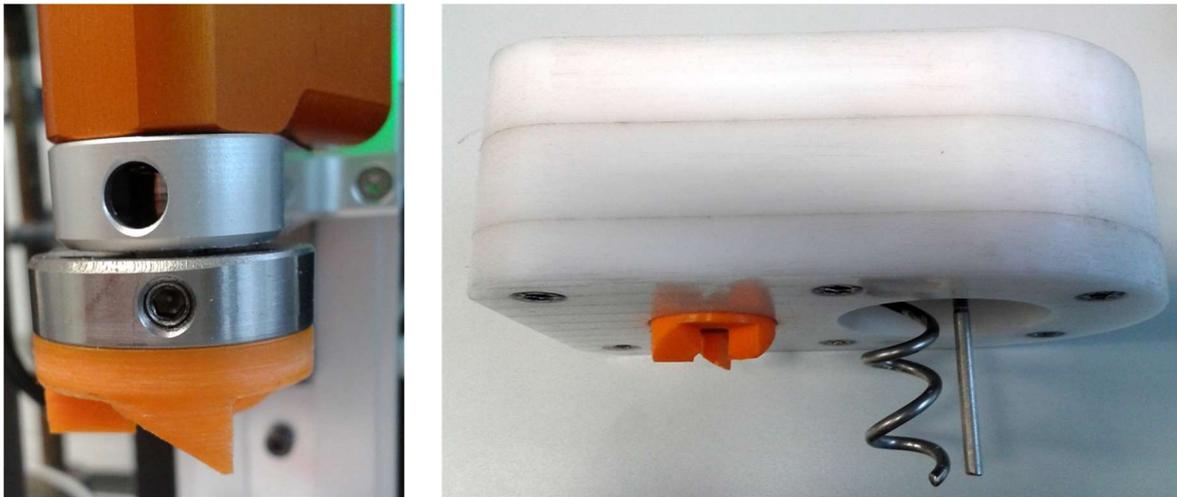


Abbildung 3.25: Detailansicht des Rührwerkes

Das Bauteil mit Antrieb und Messtechnik (linkes Bild) wurde über eine zweiteilige Klauenkupplung mit dem abnehmbaren Oberteil des Rührwerkes verbunden, in das die Knetspirale eingebaut war (rechtes Bild).

3.6.3 Status nach Umbau und Diskussion

Die Knetversuche nach erfolgten Umbau lieferten homogen durchmischte Teige, auch bei niedrigen Drehzahlen (100-200 U/min) und kurzer Knetzeit (60 s). Selbst bei längerer Knetzeit erfolgte kaum noch Wärmeeintrag in den Teig, so dass auf die Wasserkühlung verzichtet wurde. Antriebsseitig war es möglich, Drehzahlen von 0-1000 U/min zu wählen.

Weiterhin war nach der Neukonstruktion des Rührwerkes eine einfache Handhabung gewährleistet. Abbildung 3.26 verdeutlicht die unkomplizierte Bedienung des Mikrokneters. Die einzelnen Teile konnten ohne Werkzeug auseinander- und zusammengebaut werden. Die zweiteiligen Klauenkupplungen als Verbindungselemente gewährleisteten zudem eine gleichmäßige Kraftübertragung, so dass reproduzierbare Messungen möglich waren.

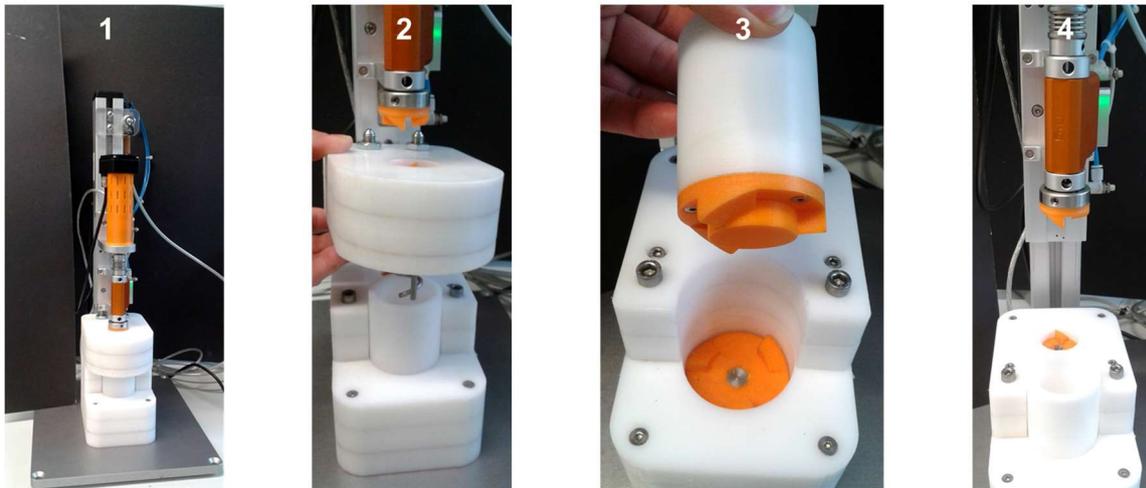


Abbildung 3.26: Mikrokneter nach dem Umbau

Mikrokneter (Bild 1), ohne Werkzeug abnehmbares Oberteil des Rührwerkes mit fest integrierter Knetspirale (Bild 2), herausnehmbarer Rührbecher (Bild 3), Mikrokneter ohne Oberteil des Rührwerkes (Bild 4)

Anteigversuche zeigten, dass der Teig nach dem Knetvorgang im Becher verblieb und sich nicht in der Spirale verding (Abbildung 3.27). Dadurch war eine kontinuierliche Messung des Drehmoments möglich und aufwendige Reinigungsarbeiten nach dem Kneten entfielen. Die Teige konnten mit einem Spatel rückstandslos aus dem teflonbeschichteten Rührbecher entfernt werden.

**Abbildung 3.27: Zustand des Teiges nach dem Anteigen im Spiralkneter**

Der Teig verblieb während des Knetprozesses im Rührbecher, verklebte nicht die Spirale (linkes Bild) und war nach dem Anteigen rückstandslos mit einem Spatel aus dem Becher entfernbar (rechtes Bild).

Insgesamt betrachtet, bot der neue Spiralkneter sehr viele Vorteile gegenüber dem Flügelmixer, der zu Beginn verwendet wurde. Zum einen war es im Gegensatz zum Flügelmixer des MRMT mit dem Spiralkneter möglich, das Drehmoment zu messen. Abbildung 3.35 zeigt ein Bild des MRMT-Kneters. Hierbei handelte es sich um eine umgebaute Bohrmaschine mit der es nur möglich war, die Drehzahl auszuwählen. Das Drehmoment konnte jedoch nicht gemessen werden. Mit dem neuen Spiralkneter konnten Knetkurven aufgenommen werden und das Knetmaximum wie beim Farinographen bestimmt werden. Somit wurden für die unterschiedlichen Mehle individuelle Knetzeiten bestimmt, was beim MRMT nicht möglich war. Der neue Spiralkneter gewährleistete weiterhin eine kontinuierliche Kraftübertragung durch den pneumatisch betriebenen Schlitten, die Klauenkupplungen und die werkzeuglose Bedienung. Mit dem im MRMT eingesetzten Flügelmixer wurde keine gleichmäßige Kraftübertragung erreicht, und die einzelnen Teile konnten nur mit Hilfe von Werkzeugen auseinander- und zusammengebaut werden. Durch die werkzeuglose Bedienung des Spiralkneters war auch ein hoher Probendurchsatz möglich. Weiterhin war es von Vorteil, dass der Rührbecher aus Teflon bestand, so dass der Teig nicht kleben blieb und aufwendige Reinigungsarbeiten entfielen. Diese waren beim Flügelmixer immer notwendig, da der Teig sowohl im Rührbecher als auch am Flügel hängen blieb.

3.7 Vorversuche mit dem neuen Mikrokneter

Zur Entwicklung des neuen Mikrobacktests, dem sogenannten MOMT, wurden zunächst Vorversuche mit dem neuen registrierenden Kneter durchgeführt. Dazu wurden Teige, bestehend aus Mehl, Wasser und Salz geknetet (4.7.1). Die eingesetzten Wassermengen waren an einem Farinographen (22 °C, 550 BE) bestimmt worden. Der Einfachheit halber wurde dabei auf Hefe verzichtet, da Teige ohne Hefe ein ähnliches rheologisches Verhalten aufweisen wie Teige mit Hefe [TANNER ET AL., 2008]. Diese Rezeptur entsprach der bei der Erstellung von Farinogrammen verwendeten Zusammensetzung. Überprüft wurden die Knetzeit, die Temperatur nach dem Anteigen, die Reproduzierbarkeit der Messungen sowie die Kurvenverläufe.

3.7.1 Teigtemperatur

Zur Überprüfung der Teigtemperatur wurde die Drehzahl von 100 U/min in 100er Schritten auf 800 U/min erhöht. Die Knetzeit wurde pro Drehzahl zwischen 1 min und 5 min gewählt. Anschließend wurde die Teigtemperatur gemessen (Tabelle 3.18). Die Messungen ergaben, dass bis zu einer Drehzahl von 400 U/min die Teigtemperatur stets unter 30 °C lag. Erst bei einer Drehzahl von 500 U/min und einer fünfminütigen Knetzeit stieg die Temperatur auf über 30 °C an. Bei einer Drehzahl von 600 U/min stieg die Teigtemperatur bereits bei einer dreiminütigen Knetzeit über 30 °C, während bei 700 U/min diese Temperatur bereits nach 2 min und bei 800 U/min bereits nach 1 min erreicht war. Bei Teigtemperaturen über 30 °C hätte mit Eiswasser gearbeitet werden müssen, da sich zu hohe Teigtemperaturen nachteilig auf den Ofentrieb auswirken. Warme Gase dehnen sich weniger aus als kalte Gase. Zudem hätte die Hefeaktivität bei höheren Temperaturen ab 30 °C verringert sein können.

Tabelle 3.18: Temperatur von Teigen in Abhängigkeit von den Knetbedingungen

Bestimmung der Temperatur von Teigen aus Mehl der Weizensorte Capo (österreichischer Eliteweizen, Handelsmehl, Jahrgang 2014), die im Spiralkneter bei unterschiedlichen Drehzahlen (100-800 U/min) unterschiedlich lange (60-300 s) geknetet wurden. Die Teigtemperatur wurde unmittelbar nach dem Kneten mit einem Infrarot-Thermometer gemessen.

Drehzahl [U/min]	Knetzeit [s]	Teig- temperatur [°C]	Drehzahl [U/min]	Knetzeit [s]	Teig- temperatur [°C]
100	60	24,0	400	180	30,0
200	60	24,2	500	60	27,9
200	120	25,5	500	120	29,5
200	180	26,4	500	300	31,9
200	300	27,4	600	60	28,7
300	60	24,5	600	180	33,9
300	180	28,3	700	60	30,8
300	300	29,0	700	120	30,9
400	60	26,3	800	60	31,4
400	120	28,5	800	120	31,0

3.7.2 Kurvenverlauf

Die Verläufe der Knetkurven von Teigen aus Mehlen unterschiedlicher Weizensorten (4.7.1) wurden in Abhängigkeit von der Drehzahl und der Knetzeit miteinander verglichen. Die eingesetzten Wassermengen waren an einem Farinographen (22 °C, 550 BE) bestimmt worden. Generell unterschieden sich die Knetkurven aufgrund der anderen Kräfteverhältnisse im Spiralkneter von denen des Farinographen (Abbildung 3.28). Die Kurven waren aufgrund der Spiralgeometrie sehr viel breiter. Weiterhin verliefen die mit dem Farinographen aufgenommenen Kurven wesentlich flacher als die Kurven der Teige aus dem Spiralkneter. Dies war durch die höhere Drehzahl bedingt, wodurch das Maximum im Spiralkneter wesentlich schneller erreicht wurde und die Kurven entsprechend schneller abfielen.

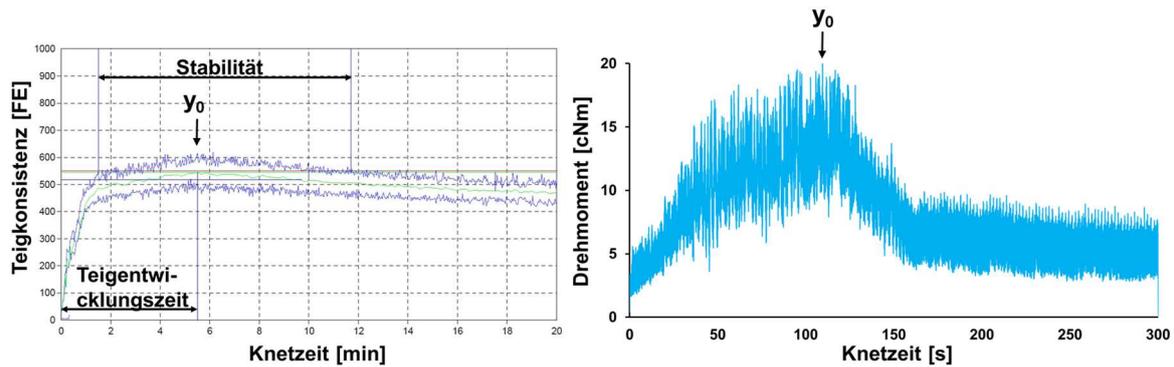


Abbildung 3.28: Vergleich von Knetkurven verschiedener Mikroknetter (10 g Mehl)

Bild links: Farinogramm zur Bestimmung der optimalen Teigentwicklungszeit, Wasseraufnahmefähigkeit und Stabilität des Mehles bei 550 BE (Brabender-einheiten) und 22 °C (Thermostat) in Anlehnung an Kieffer et al. [1998]. Bild rechts: Drehmoment-Zeit-Kurve eines mittels des registrierenden Spiralknetters hergestellten Teiges zur Bestimmung des Knetmaximums, gemessen als maximales mittleres Drehmoment (Drehzahl = 300 U/min, Max (y_0) = 110 s). Es wurde jeweils die Mehlmischung AJT 33 verwendet, die zu gleichen Teilen aus Mehlen der Sorten Akteur, Juliuszeit und Tobak bestand (Handelssorten 2014).

In den mit dem Spiralknetter erhaltenen Drehmoment-Zeit-Kurven war ein Maximum (y_0 ; Drehmoment) erkennbar. Dieses Maximum entsprach, wie beim Farinogramm, der optimalen Knetzeit des jeweiligen Mehles. Das Drehmoment gab zusätzlich Auskunft über die Teigkonsistenz. Die optimale Teigkonsistenz liegt beim Farinographen für den MBT (4.6.1.1) bei 550 Brabendereinheiten (BE, 22 °C), dessen Wert einem Drehmoment von 22 cNm entspricht (1 cNm = 25 BE). Die Drehmoment-Zeit-Kurve des Spiralknetters wies ein Maximum von 20 cNm (500 BE) auf (Abbildung 3.28, rechtes Bild) und lag somit in der gleichen Größenordnung wie beim Farinographen.

Das Maximum der Knetkurve (y_0 ; Drehmoment) hing von der Drehzahl ab. Die Teigtemperatur beeinflusste auch die Teigkonsistenz, die im registrierenden Spiralknetter je nach Wahl der Parameter (Drehzahl und Knetzeit) unterschiedlich war. Abbildung 3.29 zeigt die Abhängigkeit des y_0 -Wertes von der verwendeten Drehzahl. Während bei einer Drehzahl von 100 U/min nur 15 cNm erreicht wurden, lag das Maximum des Drehmomentes bei 800 U/min bei 35 cNm. Anhand der unterschiedlichen Drehmomente bei unterschiedlichen Drehzahlen ergaben sich bis zum Maximum auch andere Flächeneinheiten (FE). Während bei 100 U/min eine Fläche von 439 FE bestimmt wurde, ergab sich bei 800 U/min eine Fläche von 1238

FE (Abbildung 3.29). Dies verdeutlicht die unterschiedlichen Energieeinträge in die Teige, die mit steigender Drehzahl bei gleicher Knetzeit zunahmen.

Zur Bestimmung der Wasseraufnahme der Mehle und somit der Einstellung der optimalen Teigkonsistenz wurde weiterhin mit dem Farinographen gearbeitet, da dieses System etabliert ist und die Teigkonsistenz auf die bewährten 550 BE (bei 22 °C) eingestellt werden konnte.

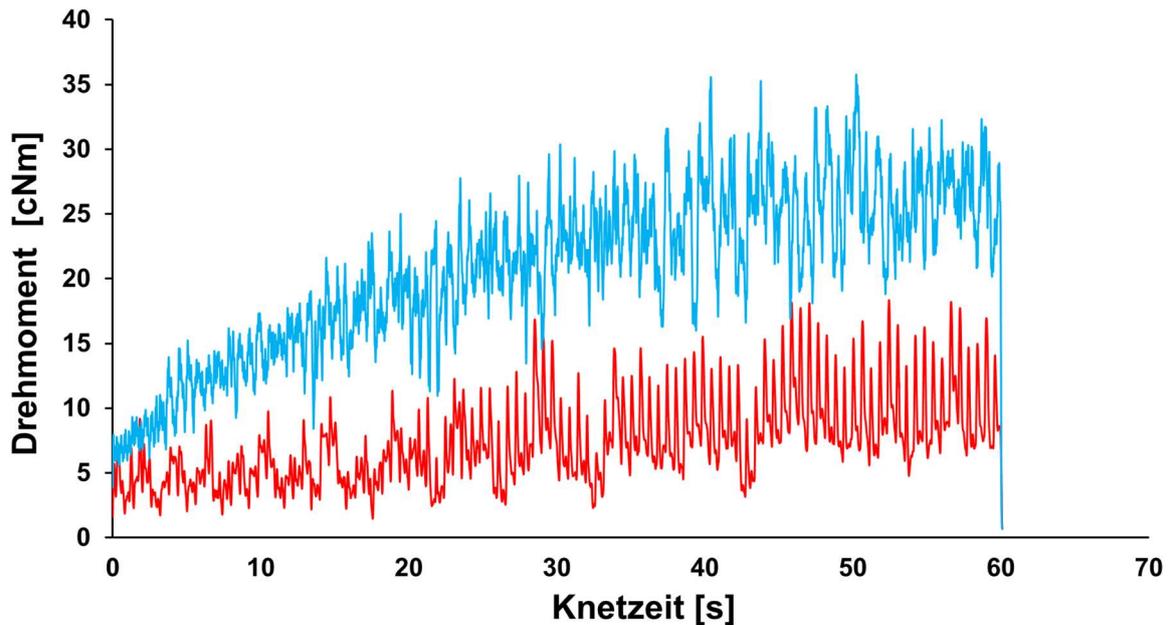


Abbildung 3.29: Knetkurven mit unterschiedlichen Drehzahlen im Vergleich

Vergleich zweier Drehmoment-Zeit-Kurven von Teigen aus Mehl der Sorte Capo (österreichischer Eliteweizen, Handelsmehl, Jahrgang 2014), die bei unterschiedlicher Drehzahl mit dem Spiralkneter 60 s lang geknetet wurden. Blaue Kurve: 800 U/min, 1238 FE; rote Kurve: 100 U/min, 439 FE

Anhand der Drehmoment-Zeitkurven aus dem registrierenden Spiralkneter war es möglich, unterschiedliches Verhalten von Teigen während des Anteigens zu erkennen. Abbildung 3.30 zeigt zwei Knetkurven von Teigen aus Mehlen der Sorte Biscay (rote Kurve) und der Mehlsorte Capo (blaue Kurve). Während es sich bei Biscay um eine Weizensorte der Qualitätsstufe C handelt, ist Capo ein österreichischer Eliteweizen. Im Vergleich der beiden Kurven lässt sich sehr gut erkennen, dass der Teig aus Capo wesentlich länger stabil war und ein Kurvenmaximum bei 120 s (300 U/min) aufwies, während bei dem Teig aus Biscay das Kurvenmaximum bereits bei 65 s (300 U/min) lag und die Kurve wesentlich schneller abfiel. Der Grund ist, dass bei Teigen aus kleberschwachen Mehlen eine

geringere Knetzeit erforderlich ist als bei Teigen aus kleberstarken Mehlen. Insgesamt betrachtet konnten aus den mit dem Spiralkneter aufgenommenen Kurven die gleichen Aussagen abgeleitet werden wie aus den Farinogrammen.

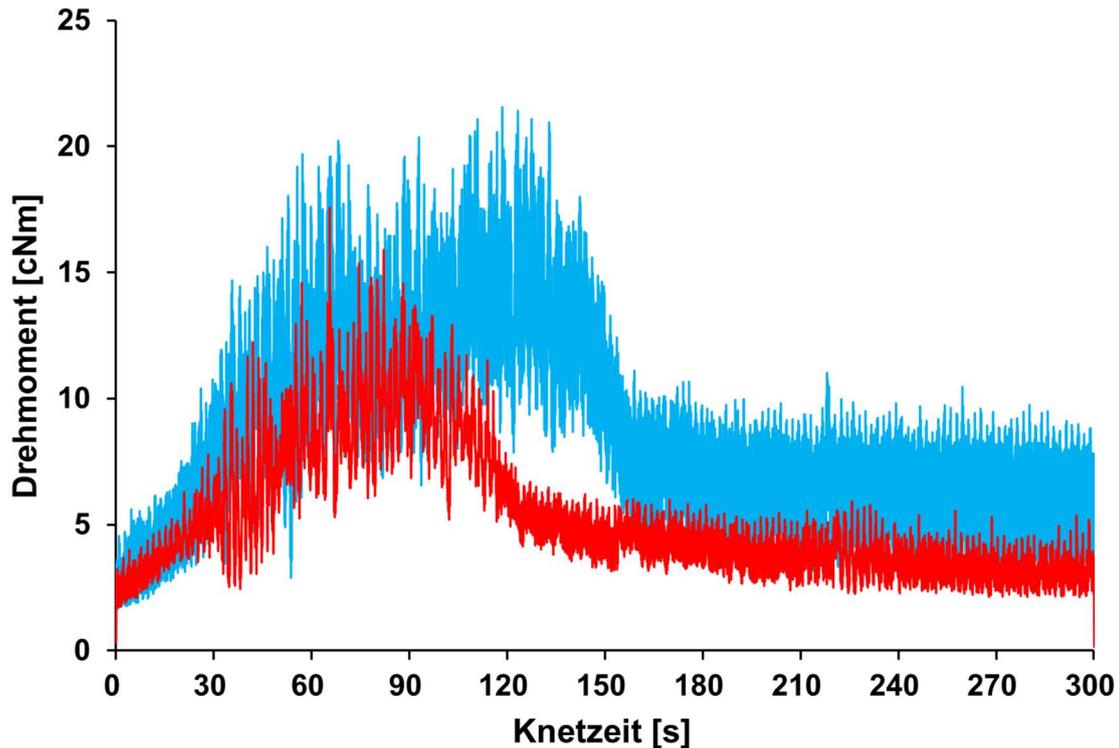


Abbildung 3.30: Knetkurven von unterschiedlichen Teigen im Vergleich

Knetkurven (Drehmoment-Zeit-Kurve) des registrierenden Spiralkneters von Teigen aus Mehlen der Weizensorten Biscay (rot; C-Weizen) und Capo (blau; österreichischer Eliteweizen), aufgenommen bei einer Drehzahl von 300 U/min (jeweils Handelsmehle, 2014).

3.7.3 Reproduzierbarkeit

Ein weiterer wesentlicher Punkt in der Entwicklung des neuen Mikrokneters war es, reproduzierbare Messungen durchführen zu können. Aufgrund der Konstruktion des Gerätes war dies zu erwarten (3.6). Zur Überprüfung wurden Anteigversuche mit demselben Mehl und den gleichen Parametern mehrmals wiederholt, die FE ausgewertet und die Kurven übereinander gelegt. Trotz der Breite der Kurven waren die Messungen reproduzierbar. Die Flächen der Knetkurven aus Abbildung 3.31 betragen z. B. 1845 ± 66 FE (VK = 4 %; Dreifachbestimmung; weitere Beispiele sind in Tabelle 3.19 aufgelistet). Beim Übereinanderlegen der Kurven zeigte sich, dass die Kurven den gleichen Verlauf aufwiesen.

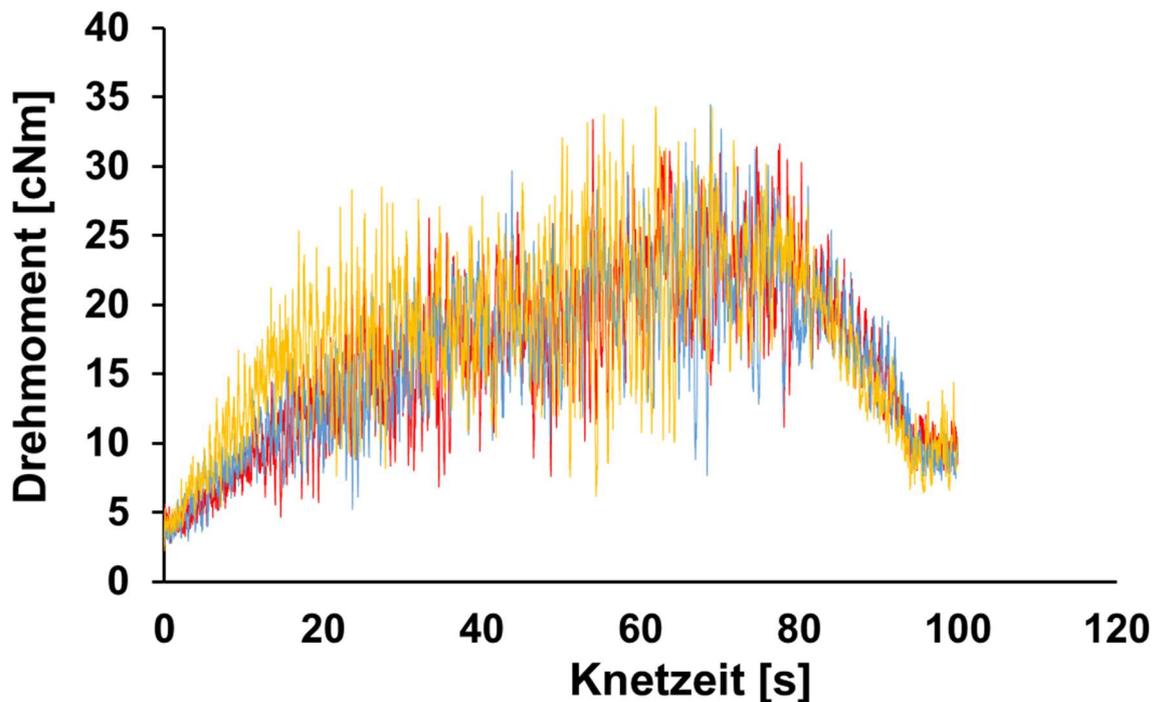


Abbildung 3.31: Reproduzierbarkeit des Spiralkneters

Knetkurven (Drehmoment-Zeit-Kurven) des registrierenden Spiralkneters von Teigen aus Mehl der Weizensorte Capo (österreichischer Eliteweizen, Handelsmehl, Jahrgang 2014) bei 700 U/min in Dreifachbestimmung zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit, die anhand der Flächeninhalte (FE) ermittelt wurde (1845 ± 66 FE; Mittelwert \pm SD, Dreifachbestimmung).

3.7.4 Diskussion

Durch Vorversuche zur Entwicklung des MOMT wurden die Teigtemperatur, die Kurvenverläufe sowie die Reproduzierbarkeit der Messungen überprüft. Dabei zeigte sich, dass problemlos 5 min lang bis zu einer Drehzahl von 500 U/min geknetet werden konnte, ohne dass die Teigtemperatur über 30 °C stieg. Erst ab 600 U/min stieg die Teigtemperatur ab einer Knetzeit von 3 min auf über 30 °C. Da sich der neu entwickelte MOMT sehr stark an der Praxis orientiert, wurden im Folgenden bevorzugt niedrigere Drehzahlen zum Kneten ausgewählt, so dass auf eine zusätzliche Wasserkühlung des Teigbeckers oder auf Eiswasser verzichtet werden konnte.

Die Drehmoment-Zeit-Kurven, die mit dem Spiralkneter aufgenommen wurden, unterschieden sich aufgrund der veränderten Kräfteverhältnisse von denen des Farinographen. Über das Drehmoment wurde ebenfalls ein Maximum der Teigkonsistenz bestimmt, und dieses war ausschlaggebend für die Festlegung der individuellen Knetzeit eines jeden Mehles. Es zeigte sich auch sehr deutlich, dass bei

höheren Drehzahlen kürzere Knetzeiten erhalten wurden. Insgesamt betrachtet, lieferten die Drehmoment-Zeit-Kurven des Spiralkneters die zur Entwicklung des neuen Backtests nötigen Informationen.

Es wurde ebenfalls gezeigt, dass die Messungen reproduzierbar waren. Dies wurde durch Mehrfachansätze anhand der gleichen Kurvenverläufe und der FE unter den Kurven gezeigt. Beim MRMT konnte der Knetverlauf nicht verfolgt werden, da weder das Drehmoment noch die Leistungsaufnahme während des Knetens gemessen wurden. Damit ist der Spiralknetter eine ernstzunehmende Alternative zum Farinographen.

3.8 Entwicklung eines neuen Mikrobackversuchs - MOMT

Zusätzlich zu den bestehenden Mikrobackvarianten MBT (4.7.2.1) und MRMT (4.7.2.2) auf der Grundlage von 10 g Mehl sollte ein neuer optimierter Mikrobacktest, der sogenannte Mikro-Opti-Mix-Test (MOMT) entwickelt werden. Der MRMT stellt die Mikrovariante des RMT dar [KIEFFER ET AL., 1993]. Thanhaeuser et al. [2014] zeigten jedoch, dass das mit dem MRMT erhaltene Brotvolumen im Gegensatz zum MBT nur schwache bis keine Korrelationen mit indirekten Qualitätsparametern (Kennzahlen) aufwies. Dies war einer der Gründe für die Entwicklung eines optimierten Mikrobacktests. Generell werden die rheologischen Eigenschaften von Teigen sehr stark vom Wassergehalt, Stärkegehalt, Klebergehalt, Kleberqualität, genetischer Veranlagung, Temperatur und Knetvorgang beeinflusst [UTHAYAKUMARAN ET AL., 2002]. Für die Vorversuche wurde eine kommerzielle Mehlmischung (Premiummischung = E-Qualität, Jahrgang 2013; Rosenmühle, Landshut, Deutschland) verwendet. Dabei wurde in einem klimatisierten Backlabor gearbeitet und die am Farinographen ermittelte optimale Wassermenge (4.6.1.1) verwendet. Unter diesen Voraussetzungen beeinflussten hauptsächlich mechanische Parameter das Backverhalten. Angeteigt wurden die Teige in dem neu entwickelten Spiralknetter (3.6).

3.8.1 Bestimmung der optimalen Knetbedingungen

Zunächst mussten die optimalen Knetbedingungen festgelegt werden. Im Mikrobacktest ist das Hauptkriterium für ein optimales Ergebnis das spezifische Volumen (spez. V.) eines Brotes (mL/g Brot). Je größer das spez. V. desto höher die

Backqualität des Mehles. Aus diesem Grund wurde untersucht, mit welchen Parametereinstellungen das maximale Brotvolumen erreicht wurde.

Als Parameter wurden die Knetzeit und die Drehzahl der Spirale gewählt. Sowohl die Rezeptur als auch die Vorgehensweise nach dem Anteigen entsprachen dem MBT 4.7.2.1. Um die optimale Knetzeit und Drehzahl der Spirale herauszufinden, wurden zunächst Anteigversuche mit unterschiedlichen Drehzahlen (100-700 U/min) und einer fünfminütigen Knetzeit vorgenommen. Anhand der aufgezeichneten Kurven wurden die Maxima (y_0 ; Drehmoment) bestimmt, entsprechend geknetete Teige hergestellt und gebacken. Da es sich beim Maximum meist um ein Plateau handelte, wurden teilweise mehrere Knetzeiten gewählt. Zusätzlich wurde ein Versuch durchgeführt, indem zunächst 1 min bei 100 U/min angeteigt und anschließend 2 min bei 200 U/min geknetet wurde. Tabelle 3.19 zeigt die Ergebnisse der Backversuche und die entsprechenden Knetparameter (jeweils Dreifachbestimmung).

Die Ergebnisse zeigten in Übereinstimmung mit den Vorversuchen (3.7.2), dass das Drehmoment von der Drehzahl abhängig war. Je höher die Drehzahl desto höher war auch der maximale Wert des Drehmoments. Bis zu einer Drehzahl von 200 U/min wurden Drehmomente bis 18 cNm erreicht, bei 300 U/min Drehmomente über 22 cNm und bei 400 U/min Drehmomente bis zu 26 cNm. Bei höheren Drehzahlen (500-700 U/min) lagen die Drehmomente in einem Bereich von 24-30 cNm. Dementsprechend waren die FE, die ein Maß für den Energieeintrag darstellen, höher bzw. niedriger. Nach dem Abkühlen der unter den verschiedenen Bedingungen hergestellten Brote wurden die Volumina bestimmt (4.7.3). Die Ergebnisse sind in Tabelle 3.19 zusammengefasst.

Tabelle 3.19: Bestimmung der optimalen Knetbedingungen für den MOMT

Herstellung von Brötchen aus einer kommerziellen Premiurmehlmischung (Rosenmühle, Jahrgang 2013) durch Anteigen bei unterschiedlichen Drehzahlen und Knetzeiten mit dem registrierenden Spiralkneter. Gesucht wurden die Knetbedingungen, bei denen das höchste Brotvolumen (Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung) erreicht wurde.

Drehzahl [U/min]	Knetzeit [s]	Fläche [FE]	Drehmoment [cNm], Max (y_0)	absolutes Volumen [mL]	spezifisches Volumen [mL/g]
1. 100	1. 60	305 \pm 13	13 \pm 1		
2. 200 ¹	2. 120	1184 \pm 21	18 \pm 0	38,1 \pm 2,0	2,8 \pm 0,1
200	140	1190 \pm 111	18 \pm 2	39,0 \pm 0,3	2,8 \pm 0,0
200	160	1388 \pm 4	17 \pm 1	38,7 \pm 1,7	2,8 \pm 0,1
300	120	1249 \pm 75	20 \pm 2	38,9 \pm 1,0	2,8 \pm 0,1
300	180	1831 \pm 70	22 \pm 2	42,4 \pm 3,4	3,1 \pm 0,2
400	100	1103 \pm 1	23 \pm 0	40,2 \pm 2,6	2,9 \pm 0,2
400	180	3049 \pm 44	26 \pm 1	37,0 \pm 2,6	2,8 \pm 0,2
500	80	1029 \pm 18	24 \pm 2	47,6 \pm 3,8	3,5 \pm 0,4
500	120	1942 \pm 108	29 \pm 3	45,8 \pm 1,3	3,3 \pm 0,1
500	180	3116 \pm 207	29 \pm 2	34,6 \pm 1,2	2,6 \pm 0,1
600	60	758 \pm 40	24 \pm 1	45,0 \pm 0,6	3,3 \pm 0,1
600	120	2140 \pm 67	30 \pm 2	41,7 \pm 2,7	3,0 \pm 0,2
700	120	2020 \pm 43	28 \pm 0	31,0 \pm 1,9	2,3 \pm 0,1
700	120 ²	2235 \pm 123	30 \pm 2	35,3 \pm 2,7	2,7 \pm 0,2

¹ Versuch bei dem zuerst 1 min bei 100 U/min und anschließend 2 min bei 200 U/min angeteigt wurde

² mit Eiswasser

Anhand der einfaktoriellen Varianzanalyse (4.8.1) wurden statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Brotvolumina ermittelt (7.5; Tabelle 7.32). Dabei stellte sich heraus, dass die niedrigsten Volumina bei den Backversuchen mit den Parametern 200/160 (1. Zahl = Drehzahl, 2. Zahl = Knetzeit in s), 300/120, 400/180, 500/180, 700/120 (mit und ohne Eiswasser) sowie dem Test mit zwei verschiedenen Drehzahlen (100/60 + 200/120) erreicht wurden (Abbildung 3.32, Buchstabe c). Die höchsten Backvolumina erzielten die Backversuche mit den Parametern 300/180, 500/80, 500/120, 600/60 und 600/120 (Buchstabe b). Hier wurden jeweils spez. V. über 3,0 mL/g Brot erzielt. Die Ergebnisse zeigten auch, dass bei einer niedrigeren Umdrehungszahl und längerer Knetzeit höhere Volumina

erreicht wurden (vgl. 300/120, 300/180) während bei höheren Umdrehungszahlen die Volumina ab einer bestimmten Knetzeit wieder abnahmen (500/120, 500/180). Die Knetzeiten wurden anhand des Maximums der Drehmoment-Zeit-Kurve, welches meist ein Plateau darstellte, bestimmt. Daher wurde die optimale Knetzeit bei Backversuchen mit niedrigerer Drehzahl (bis 300 U/min) am Ende des Plateaus festgelegt, während sie bei höheren Drehzahlen (ab 400 U/min) am Anfang oder im mittleren Bereich des Plateaus lag.

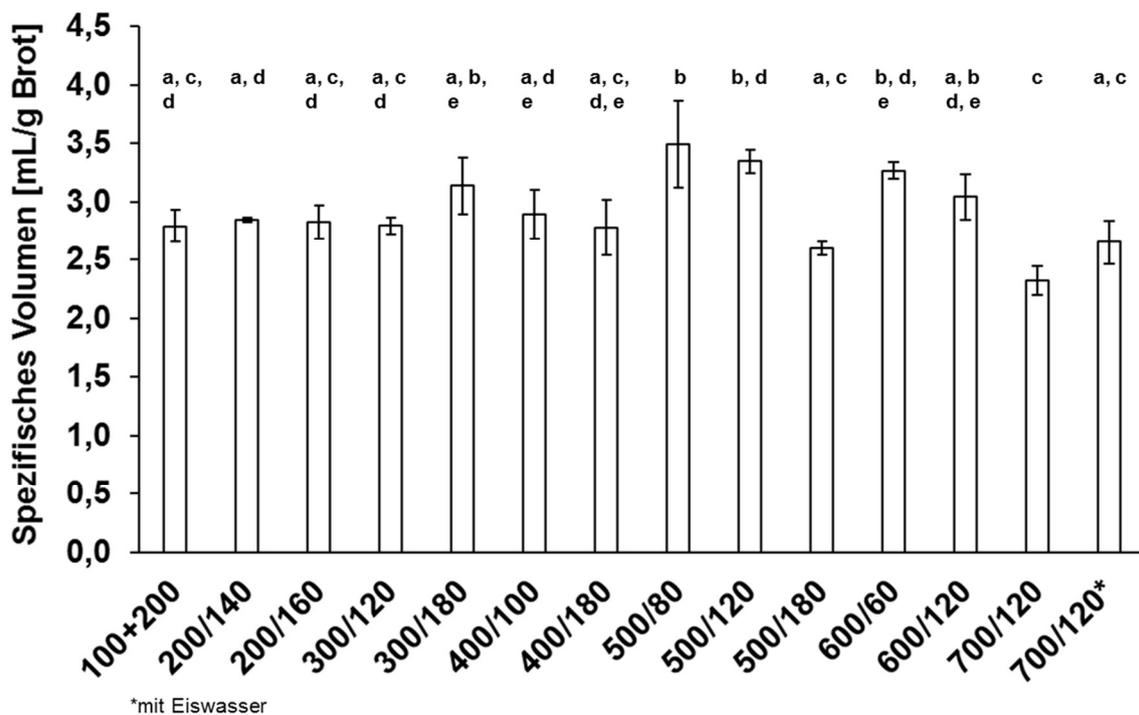


Abbildung 3.32: Spezifische Brotvolumina in Abhängigkeit von den Knetbedingungen

Teige aus einer kommerziellen Premiummehlmischung (Rosenmühle, Jahrgang 2013) wurden mit dem registrierenden Spiralkneter bei unterschiedlichen Drehzahlen (1. Zahl [U/min]) und Knetzeiten (2. Zahl [s]) angeteigt. Gleiche Buchstaben über den Säulen bedeuten keinen statistischen Unterschied der spezifischen Volumina (Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung).

Insgesamt zeigte sich, dass maximale Volumina bei Drehzahlen von 300, 500 und 600 U/min des Kneters erreicht wurden. Für die weiteren Backversuche wurden die Drehzahlen 300 U/min und 500 U/min ausgewählt. 600 U/min wurde nicht weiter untersucht, da sich die Teige während des Anteigens auf über 30 °C erwärmten.

Zur Festlegung der optimalen Drehzahl wurden Mehle aus je 5 Weizensorten und Weizenmischungen ausgewählt, nach 4.6.1.2 am Spiralkneter die optimale Knetzeit

der Teige (je Drehzahl) bestimmt und sowohl bei 300 U/min als auch bei 500 U/min angeteigt. Die spez. V. der daraus hergestellten Brötchen ergaben, dass bei einer Drehzahl von 300 U/min meist höhere Volumina erreicht wurden als bei 500 U/min (Tabelle 3.20). Aus diesem Grund wurde für den MOMT die Drehzahl auf 300 U/min festgelegt. Die Ergebnisse zeigten, dass eine niedrigere Drehzahl und eine längere Knetzeit tendenziell ein höheres Brotvolumen ergaben als eine höhere Drehzahl und eine kürzere Knetzeit, obwohl jedes Mal bis zum Maximum der Kurve geknetet wurde (s. statistische Signifikanzen des T-Tests: 7.5, Tabelle 7.33).

Tabelle 3.20: Knetzeit bis zum Kurvenoptimum und spezifisches Brotvolumen bei Drehzahlen des Spiralknetters von 300 und 500 U/min

Herstellung von Brötchen aus verschiedenen Mehlmischungen und -sorten unter Verwendung des registrierenden Spiralknetters (Drehzahl 300 U/min und 500 U/min, optimale Knetzeiten) zur Bestimmung der Drehzahl, mit der das größte spezifische Brotvolumen (spez V., Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung) erreicht wurde.

Mehl	Knetzeit bis	spez. V.	Knetzeit bis	spez. V.
	Kurvenmaximum	[mL/g Brot]	Kurvenmaximum	[mL/g Brot]
	[s]		[s]	
	Drehzahl: 500 U/min		Drehzahl: 300 U/min	
Akteur ¹	110	2,5 \pm 0,1	130	2,6 \pm 0,1
Winnetou ¹	40	2,9 \pm 0,2	50	3,3 \pm 0,1
Premium ²	90	2,2 \pm 0,3	110	2,4 \pm 0,0
Standard ²	120	2,1 \pm 0,2	120	2,5 \pm 0,0
Bun ²	80	3,0 \pm 0,3	90	3,3 \pm 0,3
Keks ²	60	2,6 \pm 0,1	100	2,6 \pm 0,2
Mischung 1 ³	100	2,7 \pm 0,2	100	3,0 \pm 0,2
JB Asano ⁴	70	2,8 \pm 0,1	100	3,0 \pm 0,3
Julius ⁴	90	3,4 \pm 0,1	100	3,4 \pm 0,2
Opal ⁴	110	3,3 \pm 0,3	120	3,7 \pm 0,2

¹ Mehle aus sortenreinen Körnern von IG Pflanzenzucht, München; Laborvermahlung, Erntejahr 2013

² Industriemischungen der Rosenmühle, Landshut, Erntejahr 2013

³ Industriemischung der Okermühle, Hedwigsburg, Erntejahr 2013

⁴ Mehl aus einzelnen Weizensorten der Okermühle, Hedwigsburg, Erntejahr 2013

3.8.2 Backversuche

Nachdem die optimalen Knetbedingungen für dem MOMT festgelegt waren, wurde ein Mehlsortiment aus 30 verschiedenen Mustern zusammengestellt. Von jedem Mehl wurde die optimale Knetzeit am Spiralkneter bei 300 U/min bestimmt (4.6.1.2) und aus den daraus hergestellten Teigen Brote gebacken (4.7.2.3). Es handelte sich dabei um 12 Mehlmischungen und 18 sortenreine Mehle der Erntejahre 2013 und 2014, die von unterschiedlichen Quellen zur Verfügung gestellt wurden (Tabelle 3.21).

Tabelle 3.21: Mehlsortiment zur Durchführung des MOMT

Auflistung der 30 verschiedenen Mehle (12 Mehlmischungen und 18 sortenreine Mehle), die mit dem entwickelten Mikrobacktest MOMT verbacken wurden.

Quelle	Bezeichnung des Mehles
Industriemischungen der Rosenmühle, Landshut, Jahrgang 2013	Standard ¹ , Bun ¹ , Keks ¹
Industriemischung und –sorten der Okermühle, Hedwigsburg, Jahrgang 2013	Mischung 1 ¹ , JB Asano, Julius, Opal
Projektsorten, Anbau in Freising, Jahrgang 2013	Capo, JB Asano, Julius, Discus, Matrix, Tobak, Primus, Winnetou
Handelssorten, Bezug von Detmold, Jahrgang 2014	Akteur, Kerubino, Capo, Discus, Matrix, Tobak, Biscay
Mischungen, die aus den Handelssorten in Detmold hergestellt wurden, Jahrgang 2014 ²	AJ 25:75, AJ 50:50, AT 25:75, AT 50:50, JT 25:75, JT 50:50, JT 75:25, AJT 33:33:33

¹ Diese Mischungen wurden in den jeweiligen Mühlen vermahlen. Alle anderen Mehle wurden vom Max Rubner-Institut in Detmold (Deutschland) vermahlen.

² Durch die Abkürzungen werden die Mischungen beschrieben. Die Buchstaben stellen die Anfangsbuchstaben der Sorten in der jeweiligen Mischung dar (A=Akteur, J=Julius, T=Tobak) und die Zahlen das prozentuale Mischungsverhältnis der entsprechenden Sorten.

Von den Broten wurde nach einer Abkühlzeit von 2 h das Volumen bestimmt (4.7.3, Tabelle 3.22). Wie auch bei anderen Backtests wurden stark unterschiedliche Volumina erhalten. Die E-Weizensorten Akteur und Kerubino (Handelssorten 2014) zeigten z. B. wesentlich höhere Volumina als die A-Weizensorte Discus oder die C-Weizensorte Biscay.

Tabelle 3.22: Spezifische Volumina der MOMT-Brötchen

Verschiedene Mehlmischungen und -sorten der Erntejahre 2013 und 2014 wurden im registrierenden Spiralkneter bei 300 U/min bis zum Maximum der Drehmoment-Zeit-Kurve angeteigt (Mikro-Opti-Mix-Test, MOMT), gebacken und das spezifische Volumen (spez. V.) ermittelt (Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung).

Mehl	Knetzeit [s]	spez. V. [mL/g Brot]	Mehl	Knetzeit [s]	spez. V. [mL/g Brot]
Industriemischungen, Rosenmühle, 2013			Handelssorten, Detmold, 2014		
Standard	120	2,5 \pm 0,0	Akteur	120	3,5 \pm 0,1
Bun	90	3,3 \pm 0,3	Kerubino	100	3,7 \pm 0,2
Keks	100	2,6 \pm 0,2	Capo	120	3,1 \pm 0,3
Industriemehle, Okermühle, 2013			Discus	90	2,3 \pm 0,2
Mischung 1	100	3,0 \pm 0,2	Matrix	80	2,8 \pm 0,1
JB Asano	100	3,0 \pm 0,3	Tobak	70	3,1 \pm 0,1
Julius	100	3,4 \pm 0,2	Biscay	65	2,3 \pm 0,2
Opal	120	3,7 \pm 0,2			
Projektsorten, Freising, 2013			Mischungen, Handelsmehle, 2014 ¹		
Capo	170	2,2 \pm 0,1	AJ 25	120	3,3 \pm 0,0
JB Asano	100	2,2 \pm 0,2	AJ 50	140	3,4 \pm 0,2
Julius	100	1,9 \pm 0,0	AT 25	100	2,9 \pm 0,2
Discus	100	1,9 \pm 0,1	AT 50	110	3,0 \pm 0,2
Matrix	60	1,7 \pm 0,1	JT 25	70	3,1 \pm 0,2
Tobak	100	2,0 \pm 0,0	JT 50	90	3,0 \pm 0,1
Primus	90	1,7 \pm 0,1	JT 75	100	2,9 \pm 0,1
Winnetou	60	2,3 \pm 0,1	AJT 33	110	3,2 \pm 0,3

¹ Durch die Abkürzungen werden die Mischungen beschrieben. Die Buchstaben stellen die Anfangsbuchstaben der Sorten in der jeweiligen Mischung dar (A=Akteur, J=Julius, T=Tobak) und die Zahl entspricht dem prozentualen Mischungsverhältnis der erst genannten Sorte, wobei AJT 33 zu je 3 gleichen Teilen der Mehlsorten besteht.

Die Projektsorten (2013) wiesen durchgehend kleinere Volumina auf als dieselben Sorten aus dem Handel (2014). Die Ergebnisse dienten dazu, Korrelationsanalysen mit etablierten Backversuchen und indirekten Parametern (Mehlkennzahlen) durchzuführen (3.8.3).

Zum einen wurden die spez. V. aus den Backversuchen MOMT (4.7.2.3), MBT (4.7.2.1) und RMT (4.7.4) miteinander korreliert und zum anderen wurden alle drei Backversuche mit verschiedenen indirekten Parametern korreliert. Dabei handelte es

sich um den Feuchtklebergehalt (4.2.5), Rohproteingehalt (4.2.4), Fallzahl (4.2.6), Gehalt der Proteinfractionen nach Osborne (4.3.1), Daten von Teigzugversuchen im Mikromaßstab (4.6.2) und Teigzugversuchen mittels Extensograph (4.6.3). Die Werte der indirekten Parameter sind im Anhang unter 7.4 dargestellt.

3.8.3 Korrelationsanalysen

Tabelle 3.23 zeigt die Korrelationskoeffizienten (r) und im Anhang sind die jeweiligen Signifikanzniveaus (p) aufgelistet (7.5, Tabelle 7.34). Die Ergebnisse zeigten, dass zwischen dem MOMT-Volumen und dem MBT-Volumen eine mittlere Korrelation ($r_{\text{MOMT/MBT}} = 0,68$; $p = < 0,001$) vorhanden war, während zwischen dem MOMT-Volumen und dem RMT-Volumen eine starke Korrelation ($r_{\text{MOMT/RMT}} = 0,84$; $p = < 0,001$) zu verzeichnen war. Während alle spez. V. der drei Backversuche mittlere (MBT) bis starke (MOMT, RMT) Korrelationskoeffizienten mit dem Feuchtkleber- und dem Rohproteingehalt aufwiesen, korrelierte die Fallzahl nicht mit den Ergebnissen der drei Backtests.

Die Gehalte der Osborne-fraktionen zeigten beim spez. V. des MOMT und RMT meist höhere Korrelationen als beim MBT. Herauszuheben sind hier wichtige Parameter wie der GLUT-Gehalt ($r_{\text{MOMT/GLUT}} = 0,78$; $r_{\text{MBT/GLUT}} = 0,71$; $r_{\text{RMT/GLUT}} = 0,88$; $p = \text{jeweils} < 0,001$) und der Glutengehalt ($r_{\text{MOMT/Gluten}} = 0,80$; $r_{\text{MBT/Gluten}} = 0,74$; $r_{\text{RMT/Gluten}} = 0,88$; $p = \text{jeweils} < 0,001$). Ebenfalls wiesen die spez. V. der drei Backtests Korrelationen mit den Gehalten an GLIA, α -GLIA, γ -GLIA, HMW-UE und LMW-UE auf. Der Gehalt der Osborne-fraktion ALGL war nicht mit den spez. V. der drei Backtests korreliert. Weiterhin zeigte sich, dass das MBT-Volumen eine schwache Korrelation mit den Gehalten an ω_5 -GLIA ($r_{\text{MBT}/\omega_5\text{-GLIA}} = 0,61$; $p = < 0,002$), ω_b -GLIA ($r_{\text{MBT}/\omega_b\text{-GLIA}} = 0,68$; $p = < 0,002$) und LMW/HMW ($r_{\text{MBT}/\text{LMW}/\text{HMW}} = 0,68$; $p = < 0,042$) zeigte, während die Ergebnisse der anderen beiden Backtests hier keine Korrelationen aufwiesen. Als einziger Qualitätsparameter war das GLIA/GLUT Verhältnis mit dem RMT-Volumen korreliert ($r_{\text{RMT}/\text{GLIA}/\text{GLUT}} = -0,54$; $p = < 0,002$), allerdings nur sehr schwach.

Teigzugversuche wurden im Mikromaßstab (Kieffer Rig) und im Extensographen durchgeführt. Die Ergebnisse der beiden Methoden zeigten ein einheitliches Bild. Der Dehnwiderstand R_{max} korrelierte nicht mit den spez. V. der drei Backtests. Die Dehnbarkeit E_{max} der Teige zeigte beim Mikrozugversuch mit dem MOMT-Volumen und RMT-Volumen mittlere Korrelationen während das MBT-Volumen mit diesem

Parameter nicht korrelierte. Die Extensograph-Methode war mit den Ergebnissen aller drei Backversuche korreliert, lediglich mit E_{\max} 135 min korrelierten nur das MOMT-Volumen und das MBT-Volumen. Die Dehnarbeit wiederum war bei der Kieffer Rig-Methode nur mit dem MOMT-Volumen und dem RMT-Volumen korreliert, während die Ergebnisse der Extensograph-Methode auch Korrelationen mit dem MBT-Volumen aufwiesen. Bei der Dehnarbeit nach 45 min zeigte nur das MBT-Volumen eine nennenswerte Korrelation ($r_{\text{MBT/DE } 45} = 0,54$; $p = < 0,002$).

Tabelle 3.23: Korrelationskoeffizienten zwischen MOMT-, MBT-, RMT-Volumina und indirekten Qualitätsparametern

Korrelationskoeffizienten (Pearson Produkt Moment Korrelation) zwischen dem spezifischen Volumen (spez. V., mL/g Brot) aus den Backtests MOMT, MBT, RMT und den indirekten Qualitätsparametern Feuchtklebergehalt, Rohproteingehalt, Fallzahl, Gehalte der Osbornefraktionen und Parameter der Teigzugversuche (Kieffer Rig und Extensograph). Verwendet wurden 30 verschiedene Mehle (12 Mischungen, 18 Sorten, Erntejahre 2013 und 2014, unterschiedliche Bezugsquellen).

Verfahren	Indirekter Qualitätsparameter ¹	Korrelationskoeffizient ² (r)		
		MOMT (spez. V.)	MBT (spez. V.)	RMT (spez. V.)
	Vs.			
MOMT	spez. V.		0,68	0,84
MBT	spez. V.	0,68		0,72
RMT ⁴	spez. V.	0,84	0,72	
Feuchtkleberbestimmung	Klebergehalt	0,78	0,66	0,90
Dumas-Analyse	Rohproteingehalt	0,82	0,69	0,91
Fallzahlbestimmung ⁴	Fallzahl	-0,07	0,11	-0,04
Osborne-Fraktionierung RP-HPLC	ALGL	-0,02	0,29	0,02
	GLIA	0,77	0,73	0,85
	ω_5 -GLIA	0,53	0,55	0,44
	$\omega_{1,2}$ -GLIA	0,29	0,45	0,17
	α -GLIA	0,80	0,68	0,88
	γ -GLIA	0,61	0,68	0,75
	GLUT	0,78	0,71	0,88
	ω_b -GLIA	0,42	0,62	0,34
	HMW-UE	0,76	0,72	0,83
	LMW-UE	0,75	0,66	0,87
	GLIA/GLUT ³	-0,43	-0,38	-0,54
Teigzugversuch (Mikromaßstab)	Gesamtgluten	0,80	0,74	0,88
	LMW/HMW ³	-0,49	-0,61	-0,46
	R _{max}	0,00	0,11	0,19
Kieffer Rig	E _{max}	0,71	0,38	0,77
	DE	0,56	0,37	0,72
Teigzugversuch Extensograph ⁴	R _{max} , 45 min	-0,36	-0,18	-0,29
	R _{max} , 90 min	-0,40	-0,21	-0,29
	R _{max} , 135 min	-0,32	-0,13	-0,20
	E _{max} , 45 min	0,86	0,77	0,91
	E _{max} , 90 min	0,87	0,75	0,91
	E _{max} , 135 min	0,74	0,46	0,87
	DE, 45 min	0,41	0,54	0,49
	DE, 90 min	0,54	0,60	0,61
	DE, 135 min	0,61	0,64	0,66

¹ ALGL = Albumine + Globuline, GLIA = Gliadine, GLUT = Glutenine, Gesamtgluten = GLIA + GLUT, R_{max} = Dehnwiderstand, E_{max} = Dehnbarkeit, DE = Dehnenergie

² Pearson Produkt Moment Korrelation. Korrelationskoeffizient (r): 0.0 < r ≤ ± 0.54, keine Korrelation; ± 0.54 < r ≤ ± 0.67, schwache Korrelation; ± 0.67 < r ≤ 0.78, mittlere Korrelation; ± 0.78 < r ≤ ± 1.0, starke Korrelation;

Fettdruck = Korrelation vorhanden

³ Verhältnisse nicht linear korrelierbar

⁴ Versuchsdurchführung vom Max Rubner-Institut in Detmold, Deutschland

3.8.4 Diskussion

Um den neuen Mikrobacktest MOMT zu entwickeln, mussten zunächst die geeigneten Knetparameter bestimmt werden. Als Maßstab diente das maximal erreichte spez. V. der Brötchen. Die Ergebnisse zeigten, dass die höchsten Volumina bei einer Drehzahl der Spirale von 300 U/min erreicht wurden. Weiterhin stellte sich heraus, dass die ideale Knetzeit bei dieser Drehzahl am Ende des Plateaus der Drehmoment-Zeit-Kurve lag. In der Entwicklungsphase wurden bei den Backversuchen ebenfalls hohe Volumina bei 500 U/min und kürzeren Knetzeiten erreicht. Mit dem erweiterten Mehlsortiment waren jedoch die spez. V. bei höheren Drehzahlen meist kleiner. Dies zeigte die positive Wirkung der längeren Knetzeiten und langsameren Energieeintrages durch geringere Drehzahl auf die Backqualität. Diese Beobachtung gilt ebenfalls für den MBT (7.4, Tabelle 7.28). Da beim MBT die Drehzahl des Z-Kneters 63 U/min betrug, waren die Knetzeiten entsprechend länger als im Spiralknetter bei einer Drehzahl von 300 U/min. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass es sich um zwei verschiedene Knetgeometrien handelt und somit der Energieeintrag unterschiedlich verläuft. Folglich liegt kein direkter Zusammenhang vor. Trotzdem konnte der Trend beobachtet werden, dass Teige, die schonender und länger geknetet wurden, stets höhere Volumina erzielten als schnell und kurz geknetete Teige.

Eigene Versuche mit dem Farinographen zeigten auch, dass das Volumen sehr stark abnahm, wenn die Teige unterknetet wurden. Überknetete Teige wiederum erreichten bis zu einem bestimmten Punkt ebenfalls das gleiche Volumen als optimal geknetete Teige (7.4, Tabelle 7.29).

Schlussendlich wurden als optimale Parameter für den MOMT eine Drehzahl von 300 U/min und eine Knetzeit am Ende des Plateaus des Maximums der Drehmoment-Zeit-Kurve festgelegt. Die größten möglichen Brotvolumina waren zwar kleiner, wenn die Teige mit dem Spiralknetter und nicht mit dem Farinographen hergestellt wurden, aber letztendlich waren auch die Korrelationen mit den indirekten Parametern für die Knetbedingungen des MOMT von Bedeutung.

Ein Mehlsortiment aus 12 Mehlmischungen und 18 sortenreinen Mehlen wurde mit dem MOMT verbacken. Es handelte sich dabei um zwei Erntejahre (2013, 2014) und Mehle aus unterschiedlichen Standorten. Die Zusammenstellung des Mehlsortiments wurde bewusst gewählt, so dass überprüft werden konnte, ob der MOMT sowohl für Mischungen als auch für Sorten geeignet ist, unabhängig von Standort und Erntejahr.

Die erzielten spez. V. der 30 Mehle aus drei Backversuchen wurden korreliert. Dabei zeigte sich, dass das MOMT-Volumen eine mittlere Korrelation mit dem MBT-Volumen ($r_{\text{MOMT/MBT}} = 0,68$; $p = < 0,001$) und eine starke Korrelation mit dem RMT-Volumen ($r_{\text{MOMT/RMT}} = 0,84$; $p = < 0,001$) aufwies (Abbildung 3.33).

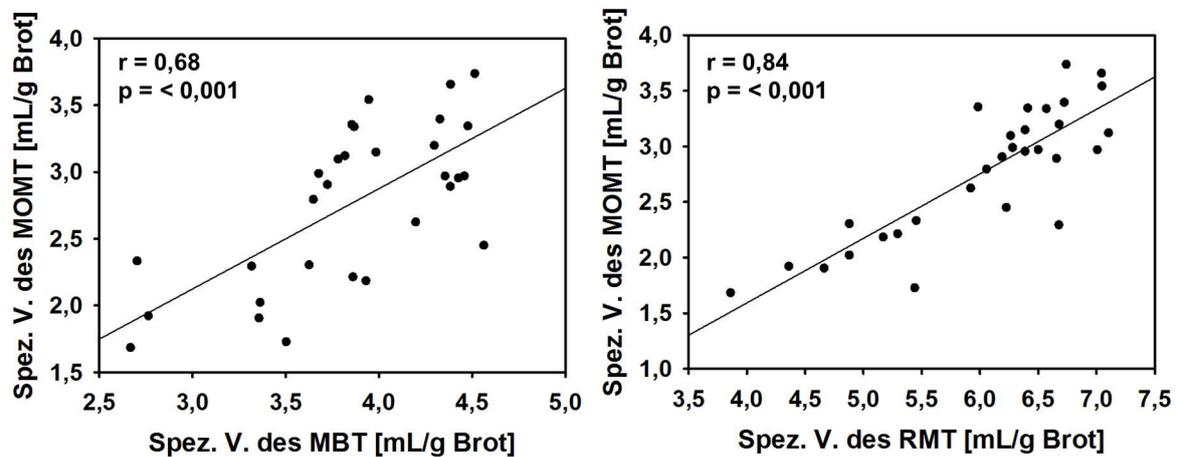


Abbildung 3.33: Beziehungen zwischen MOMT, MBT und RMT

Streudiagramme der Beziehungen zwischen dem spezifischen Volumen (spez. V., mL/g Brot) im Mikrobacktest MOMT und MBT (linke Darstellung), sowie dem MOMT und RMT (rechte Darstellung). Es wurden jeweils 30 verschiedene Mehle (12 Mischungen, 18 Sorten, Erntejahre 2013 und 2014, unterschiedliche Bezugsquellen) untersucht (r = Korrelationskoeffizient, p = Signifikanzniveau).

Der Hauptgrund für die unterschiedlichen Korrelationskoeffizienten war, dass beim MBT sehr langsam und lange geknetet wurde, während beim MOMT und RMT die Drehzahlen wesentlich höher waren und die Knetzeiten dadurch stark verkürzt wurden. Somit ist anzunehmen, dass bei den Schnelltests (MOMT und RMT) durch die verkürzte Knetzeit das Backpotential der Weizensorten nicht immer vollständig ausgeschöpft wurde, im Gegensatz zum MBT.

Wie in 3.8.3 bereits erwähnt, spielt der RMT zur Bewertung der deutschen Weizensorten eine wesentliche Rolle. Das Bundessortenamt führt mit den Weizensorten eine sogenannte Wertprüfung durch, die dazu dient, die Mehle in Qualitätsklassen einzuteilen. Die beiden wichtigsten Kriterien sind dabei das erzielte Backvolumen (RMT) und der Rohproteingehalt [HARTL, 2010]. Der MOMT bietet nun die Möglichkeit anstatt des RMT die Backversuche im Mikromaßstab durchzuführen, da die spez. V. beider Backtests stark miteinander korreliert sind.

Die spez. V. der drei Backtests wurden ebenfalls mit indirekten Parametern korreliert. Insgesamt betrachtet, zeigten alle drei Backtests sehr gute Korrelationen mit vielen

indirekten Parametern, wobei das MOMT-Volumen und das RMT-Volumen meist stärkere Korrelationen aufwiesen als das MBT-Volumen. Die Ergebnisse der Korrelationsanalysen der MBT-Volumen mit den indirekten Parametern bestätigen die Ergebnisse von Thanhaeuser et al. [2014]. Hier wurden das MBT-Volumen und das MRMT-Volumen mit den indirekten Parametern verglichen. Während das MRMT-Volumen keine nennenswerten Korrelationen mit den indirekten Parametern aufwies, zeigte das MBT-Volumen mittlere bis starke Korrelationen mit dem Rohproteingehalt und einigen Osbornefraktionen. Da Thanhaeuser et al. [2014] keine nennenswerten Korrelationen zwischen dem MRMT-Volumen und den indirekten Parametern feststellten, wurde auf die Durchführung des MRMT verzichtet.

Einer der wichtigsten indirekten Qualitätsparameter, der Rohproteingehalt, zeigte bei Thanhaeuser et al. [2014] einen Korrelationskoeffizienten von $r_{\text{MBT/Rohprotein}} = 0,71$ ($p = 0,006$) während er bei den vorliegenden Untersuchungen einen Wert von $r_{\text{MBT/Rohprotein}} = 0,69$ ($p = < 0,001$) aufzeigte. In der vorliegenden Arbeit wurde sogar im Gegensatz zu Thanhaeuser et al. [2014] ($r_{\text{MBT/Kleber}} = 0,51$; $p = 0,078$) eine Beziehung zwischen dem Feuchtklebergehalt und dem MBT-Volumen festgestellt ($r_{\text{MBT/Kleber}} = 0,66$; $p = < 0,001$). Die Korrelationskoeffizienten zwischen dem MBT-Volumen und den Gehalten der Osbornefraktionen GLIA und Gesamtgluten zeigten bei Thanhaeuser et al. [2014] starke Korrelationen ($r_{\text{MBT/GLIA}} = 0,80$; $p = < 0,001$; $r_{\text{MBT/GLUT}} = 0,87$; $p = < 0,001$) während bei den vorliegenden Untersuchungen mittlere Korrelationen ($r_{\text{MBT/GLIA}} = 0,73$; $p = < 0,001$; $r_{\text{MBT/GLUT}} = 0,74$; $p = < 0,001$) festgestellt wurden.

Die Signifikanzniveaus sind hingegen bei allen Ergebnissen bzgl. des GLIA-Gehaltes und dem Gesamtgluten sehr hoch signifikant ($p = < 0,001$). Dies lag darin begründet, dass Thanhaeuser et al. [2014] 13 Mehle verwendeten, während hier mit 30 Mehlen gearbeitet wurde. Weiterhin zeigte das MBT-Volumen keinerlei Korrelationen mit den Parametern des Mikrozugversuchs, weder in der vorliegenden Arbeit noch bei Thanhaeuser et al. [2014]. Insgesamt wurde festgestellt, dass die Korrelationen zwischen dem MBT-Volumen und den indirekten Qualitätsparametern stets gut waren und mit früheren Arbeiten übereinstimmten [THANHAEUSER ET AL., 2014].

Für die vorliegende Arbeit war die Beziehung zwischen dem RMT und dem MOMT von wesentlicher Bedeutung, deshalb wird im Folgenden nur noch auf diese beiden Backtests eingegangen. Sowohl der Feuchtklebergehalt als auch der

Rohproteingehalt wiesen in Bezug auf das RMT- und das MOMT-Volumen starke Korrelationskoeffizienten auf ($r_{\text{RMT/Kleber}} = 0,90$; $r_{\text{MOMT/Kleber}} = 0,78$; $r_{\text{RMT/Rohprotein}} = 0,91$; $r_{\text{MOMT/Rohprotein}} = 0,82$; jeweils $p = < 0,001$). Da der Rohproteingehalt einer der wichtigsten Parameter zur Qualitätseinteilung der Mehlsorten ist, ist diese starke Korrelation sehr bedeutend [HARTL, 2010].

Die starke Korrelation mit dem Rohproteingehalt entspricht auch den Ergebnissen, die bereits Zeleny [1947] erreichte ($r = 0,84$). In den Jahren 1999-2008 war die Beziehung, laut Wertprüfung des Bundessortenamts, zwischen diesen beiden Qualitätsmerkmalen sehr schwankend ($r_{\text{RMT/Rohprotein}} = 0,46-0,74$) [KAZMAN, 2010]. Auch wurde in den letzten Jahren zunehmend festgestellt, dass es Sorten gab, die trotz geringem Rohproteingehalt sehr gute Backeigenschaften aufwiesen und die Beziehung: „hoher Rohproteingehalt = hohe Backqualität“ nur noch bedingt richtig war [KAZMAN, 2010]. Deshalb wäre es generell sehr wichtig, genau zu überprüfen, ob der Rohproteingehalt seinem hohen Stellenwert noch gerecht wird und es nicht sinnvoller wäre, das Augenmerk stärker auf die Proteinqualität zu richten. Trotz alledem zeigte sich, dass beide Backtests gleich starke Korrelationen mit dem Rohproteingehalt und dem Klebergehalt aufwiesen und somit miteinander vergleichbar waren.

Zwischen der Fallzahl und den beiden Backtests wurden keine nennenswerten Korrelationen festgestellt. Die Korrelationen mit den Gehalten der Proteinfractionen- und -typen der Osbornefraktionierung waren in Bezug auf die beiden Backtests wiederum häufig positiv. Die ALGL-Fraktion, die keinen Beitrag zur Backqualität liefert, korrelierte nicht mit den Ergebnissen der beiden Backtests ($r_{\text{RMT/ALGL}} = 0,02$; $p = 0,907$; $r_{\text{MOMT/ALGL}} = -0,02$; $p = 0,918$). Es wurde jedoch ein starker Korrelationskoeffizient $r_{\text{RMT/GLIA}} = 0,85$ ($p = < 0,001$) zwischen dem RMT-Volumen und dem GLIA-Gehalt und ein mittlerer Korrelationskoeffizient $r_{\text{MOMT/GLIA}} = 0,77$ ($p = < 0,001$) zwischen dem MOMT-Volumen und dem GLIA-Gehalt beobachtet. Entsprechend wurden auch mittlere bis starke Korrelationen für die Gehalte mancher Proteintypen der GLIA festgestellt (α -GLIA, γ -GLIA). Weiterhin wiesen die GLUT-Gehalte mit den spez. V. beider Backtests starke Korrelation auf ($r_{\text{RMT/GLUT}} = 0,78$; $r_{\text{MOMT/GLUT}} = 0,88$; jeweils $p = < 0,001$), die sich ebenfalls in den Gehalten der HMW-UE und LMW-UE der GLUT widerspiegelten und im Gesamtglutengehalt ($r_{\text{RMT/GLUTEN}} = 0,80$; $r_{\text{MOMT/GLUTEN}} = 0,88$; jeweils $p = < 0,001$), das aus GLIA und GLUT zusammengesetzt ist. In früheren Studien wurde bereits die Wichtigkeit der GLIA- und GLUT-Gehalte

für die Vorhersage der Backqualität erarbeitet [WIESER UND KIEFER, 2001; THANHAEUSER ET AL., 2014]. Die vorliegenden Ergebnisse bestätigten dies. Es wurde jedoch nur eine schwache Korrelation zwischen dem GLIA/GLUT-Verhältnis und dem RMT-Volumen ($r_{\text{RMT/GLIA/GLUT}} = -0,54$; $p = 0,002$) bzw. keine Korrelation mit dem MOMT-Volumen ($r_{\text{MOMT/GLIA/GLUT}} = -0,43$; $p = 0,040$) festgestellt. Da Verhältnisse nur bedingt linear korrelierbar sind, ist dies nicht verwunderlich.

Zuletzt wurden die Ergebnisse der Teigzugversuche (Kieffer Rig, Extensograph) mit dem RMT-Volumen und MOMT-Volumen korreliert. Der Dehnwiderstand R_{max} zeigte bei keinem der Teigzugversuche Beziehungen zum spez. V. der Backtests. Anders verhielt es sich mit der Dehnbarkeit E_{max} und der Dehnergie (DE). Die E_{max} der Mikrozugversuche wies in Bezug auf das RMT-Volumen einen mittleren Korrelationskoeffizienten $r_{\text{RMT}/E_{\text{max}}} = 0,77$ ($p = < 0,001$) auf, ebenso in Bezug auf das MOMT-Volumen ($r_{\text{MOMT}/E_{\text{max}}} = 0,71$; $p = < 0,001$). Die Werte für E_{max} , die mit dem Extensographen (4.6.3) erzielt wurden, zeigten bei allen drei Messzeiten (45, 90 und 135 min) starke Korrelationen mit den spez. V. der zwei Backtests. Nur die Beziehung zwischen dem MOMT-Volumen und der E_{max} bei 135 min ergab einen mittleren Korrelationskoeffizienten $r_{\text{MOMT}/E_{\text{max}}, 135 \text{ min}} = 0,74$ ($p = < 0,001$). Da sich die DE aus R_{max} und E_{max} zusammensetzt, war zu erwarten, dass die Korrelationskoeffizienten kleiner waren als bei E_{max} . Die DE des Mikrozugversuchs ergab in Beziehung mit dem RMT-Volumen einen mittleren Korrelationskoeffizienten $r_{\text{RMT}/DE} = 0,72$ ($p = < 0,001$) und mit dem MOMT-Volumen einen schwachen Korrelationskoeffizienten $r_{\text{MOMT}/DE} = 0,54$ ($p = 0,001$). Die Ergebnisse der DE, die mittels Extensograph erzielt wurden, zeigten erst ab einer Messzeit von 90 min positive Korrelationen. Diese waren sowohl in Bezug auf das RMT-Volumen als auch auf das MOMT-Volumen schwach ($r = 0,54-0,66$). Die Ergebnisse zeigten, dass bei dem vorliegenden Mehlsortiment die Backqualität durch die E_{max} besser beschrieben wurde als durch den R_{max} .

Zusammenfassend ließ sich feststellen, dass das MOMT-Volumen und das RMT-Volumen sehr stark miteinander korrelierten. Im Vergleich der Korrelationsergebnisse zwischen den indirekten Parametern und den spez. V. der beiden Backtests stimmten die Ergebnisse in dieser Arbeit durchgehend überein. Daraus wurde gefolgert, dass die beiden Backtests vergleichbar sind und somit der MOMT eine neue Mikrovariante zum RMT darstellt. Der MOMT bietet vor allem den Vorteil, dass er wesentlich weniger Probenmaterial benötigt und aus diesem Grund auch für

Züchter und Wissenschaftler interessant ist. Weiterhin zeigte die Korrelationsanalyse, dass sich bestimmte Proteingehalte (z. B. GLIA, GLUT, LMW-UE, HMW-UE) zur Vorhersage der Backqualität sehr gut eignen, da starke Korrelationskoeffizienten zwischen den Backvolumina und diesen indirekten Parametern festgestellt wurden. Dies bestätigt auch die These, dass der Rohproteingehalt nicht alleine die Backqualität bestimmt, sondern dass vielmehr die Proteinqualität entscheidend ist, die vom Genotyp (Sorte) abhängt und durch die Kombination und Menge der Protein-UE und -typen bestimmt ist [HARTL, 2010; SELING 2010]. Es wurden zwar sehr starke Korrelationen zwischen den Brotvolumina und dem Rohproteingehalt ermittelt, jedoch scheint der Rohproteingehalt aufgrund von starken Schwankungen in den Korrelationsanalysen weniger zuverlässig in der Vorhersage der Backqualität als die Proteinqualität [KAZMAN, 2010].

3.9 Diskussion der Vorteile des MOMT gegenüber dem MBT und MRMT

Der neu entwickelte Mikrobacktest, MOMT, sowie der registrierende Spiralkneter bieten viele Vorteile gegenüber dem MBT und dem MRMT. Zum einen zeichnete sich der Backtest bzw. der registrierende Mikrokneter durch seine einfache Anwendung aus. Während beim MBT und MRMT nach dem Knetvorgang aufwendige Reinigungsarbeiten durchzuführen waren, entfielen diese beim MOMT. Es musste sowohl der Z-Kneter (MBT; Farinograph) als auch der Flügelmixer (MRMT) nach jedem Anteilvorgang nass gereinigt werden, da aufgrund der Bauweise der beiden Knetergeometrien Teigreste in sämtlichen Ecken vorzufinden waren. Auch das Knetgefäß des Farinographen und des MRMT-Kneters mussten jedes Mal gereinigt werden. Das Knetgefäß des Farinographen wies eine viereckige Geometrie auf, so dass der Teig in den Ecken hängen blieb. Der Rührbecher des MRMT-Kneters war zwar rund, wies aber eine unebene, raue Oberfläche auf, so dass sich Teigreste ansammelten, wie Abbildung 3.34 zeigt. Diese Probleme traten mit dem neuen Spiralkneter nicht auf. Der Teig verblieb während des Knetens im Becher, der eine runde Geometrie mit glatter, teflonbeschichteter Oberfläche aufwies (Abbildung 3.34). Somit konnte der Teig rückstandslos mit einem Spatel aus dem Becher entfernt werden. Im Spiralkneter selbst verblieben nur minimale Teigreste, die mit einer trockenen Bürste entfernt werden konnten, so dass keine nasse Reinigung notwendig war.

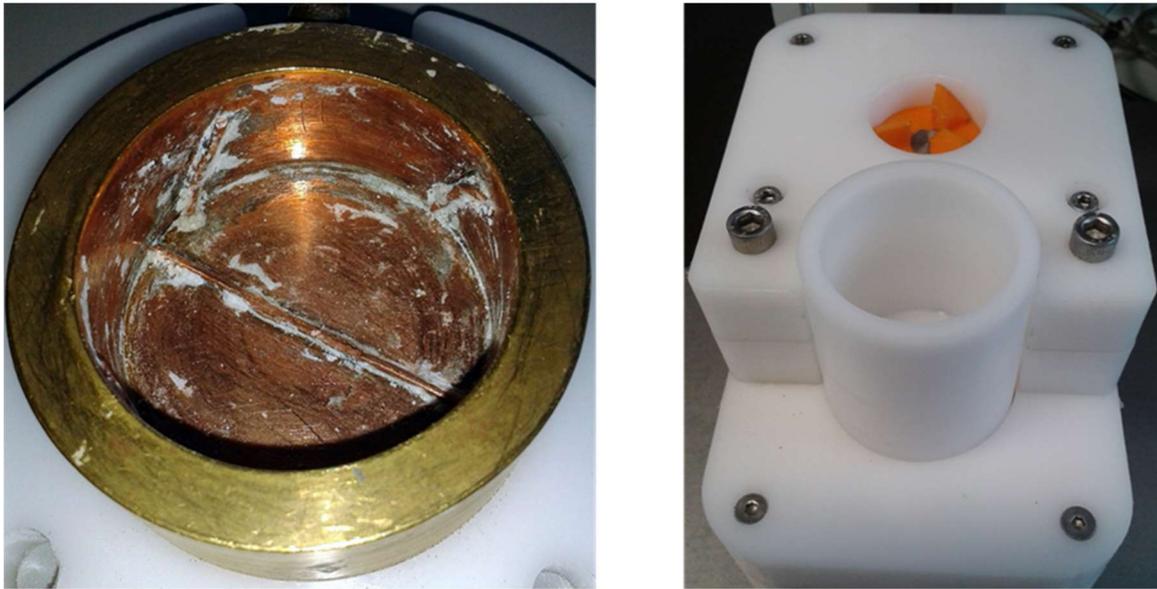


Abbildung 3.34: Knet- bzw. Rührbecher des MRMT- und MOMT-Kneters

Zustand nach dem Anteigen. Während im Knetbecher des MRMT-Kneters (linkes Bild), der anfangs bei der Entwicklung des MOMT-Backtests verwendet wurde, Teigreste vorhanden waren, war dies im Rührbecher des MOMT-Kneters (rechtes Bild) aufgrund der Oberflächenbeschaffenheit und Geometrie nicht der Fall.

Weiterhin war die Bedienung des neuen Spiralkneters sehr einfach. Wie schon in 3.6.3 ausführlich berichtet wurde, waren die einzelnen Bauteile durch zweiseitige Klauenkupplungen verbunden, so dass ein werkzeugloses Arbeiten möglich war. Sowohl die Bedienung des Farinographen als auch des MRMT-Kneters war nur mit Werkzeug möglich. Die Klauenkupplungen als Verbindungselemente boten weiterhin den Vorteil, dass immer eine gleichmäßige Kraftübertragung gewährleistet war, da die Verbindungsstücke zwischen den Bauteilen immer der gleichen Kraft ausgesetzt waren. Der pneumatisch betriebene Schlitten des Spiralkneters übte immer einen gleichmäßigen Anpressdruck von 3 bar aus, so dass auch hier immer die gleichen Kräfteverhältnisse herrschten. Anders verhielt es sich beim MRMT-Knetter. Hier musste die Knetvorrichtung erst durch einen Inbusschlüssel von der Halterung gelöst und händisch nach unten geführt werden um eine Verbindung zwischen Flügelmixer und Teigbecher herzustellen (Abbildung 3.35). Dies war zum einen sehr unhandlich, da die Knetvorrichtung ein hohes Gewicht aufwies und mit Gegenkraft gearbeitet werden musste, damit das Gerät nicht umfiel. Zum anderen konnte kein gleichmäßiger Anpressdruck gewährleistet werden.



Abbildung 3.35: Mikro-Rapid-Mix-Test (MRMT)-Knetter

Umgebaute Bohrmaschine zur Durchführung des Mikro-Rapid-Mix-Testes (MRMT). Die Drehzahl während des Knetvorgangs betrug 1250 U/min und der Rührbecher war an ein Thermostat (15 °C) zur Kühlung der Teige angeschlossen.

Zum anderen bot der neue Spiralknetter im Gegensatz zum MRMT-Knetter die Möglichkeit, den Knetvorgang durch Drehmoment-Zeit-Kurven zu verfolgen. Dies ermöglichte die Bestimmung des Knetoptimums wie am Farinographen. Dadurch konnte auf die individuellen Bedürfnisse der Mehle während der Knetzeit eingegangen werden. Weiterhin zeichnete sich der Spiralknetter dadurch aus, dass diese Knetterform häufig in der Praxis anzutreffen ist, im Gegensatz zum Z-Knetter und dem Flügelmixer.

Ebenfalls zeichnete sich der MOMT durch den geringen Zeitbedarf aus. Sowohl beim MBT als auch beim MRMT war alle 20 min ein neuer Teigansatz möglich, so dass pro Tag 18 Brötchen gebacken wurden. Da beim MOMT die aufwendigen Reinigungsarbeiten entfielen und das Gerät nicht nach jedem Durchgang auseinander- und zusammengebaut werden musste war es möglich, alle 5 min einen neuen Teigansatz zu bewerkstelligen, so dass pro h 12 Teige hergestellt wurden. Durch das Arbeiten mit Lösungen wurde zusätzlich viel Zeit in der Vorbereitungsphase eingespart, da das Einwiegen von Zucker, Salz und Hefe pro Brötchen entfiel. Das Arbeiten mit Lösungen (Salz-Zucker-Lösung, Hefesuspension) bot weiterhin den Vorteil, dass die Zutaten schneller homogen im Teig verteilt wurden, was vor allem bei den verkürzten Knetzeiten sehr wichtig war. Insgesamt

betrachtet war der MOMT gegenüber dem MBT und dem MRMT schneller und einfacher durchführbar. Er korrelierte sehr stark mit dem RMT und beschrieb die Backqualitäten gemäß der Qualitätseinstufung in der Bundessortenliste zuverlässig.

Jedoch steht der RMT in der Kritik, weil die Korrelationen zwischen den Ergebnissen des RMT und indirekten Qualitätsparametern in manchen Studien deutlich schlechter ausfielen als bei früheren Studien [FREIMANN, 2005; SELING, 2010]. Diese Beobachtung konnte nur bei vereinzelt Parametern, wie z. B. der Fallzahl (Tabelle 3.23) festgestellt werden. Aus der Literatur ist bekannt, dass sowohl die Art und Intensität der Knetung [HOSENEY, 1974] als auch die Zusammenstellung der unterschiedlichen Sorten und Qualitätsgruppen in der Mühlenmischung [BOLLING, 1969] einen großen Einfluss auf das Backergebnis haben können. Ebenso ist bekannt, dass unterschiedliche Mehlqualitäten beim Kneten einen unterschiedlich hohen mechanischen Energieeintrag bis zum Knetoptimum benötigen [TIPPLES, 1974]. Dies wird beim RMT, bei dem alle Teige mit einer festgelegten Knetzeit von 60 s geknetet werden, nicht berücksichtigt. Der Grund für die festgelegte Knetzeit von 60 s liegt daran, dass der Bäcker unveränderliche Abläufe und damit auch feste Knetzeiten verwendet und diese Abläufe nicht nach jeder Mehllieferung verändert [SCHRADER, 1984].

Der Grund für die starken Korrelationen in der vorliegenden Arbeit zwischen dem RMT und indirekten Parametern könnte daran liegen, dass der überwiegende Anteil der untersuchten Weizenmehle niedrigere Proteingehalte (Tabelle 7.19) aufwiesen als aufgrund der Qualitätsklasse zu erwarten war. Somit konnte das Potential der Proteine zur Ausbildung einer optimalen Teigkonsistenz, trotz geringer Knetzeit, ausgeschöpft werden. Im Vergleich zu den Knetzeiten im MBT (Tabelle 7.16) mit Thanhaueser et al. [2014] zeigte sich, dass die Weizenteige in der vorliegenden Arbeit nicht so lange geknetet werden mussten um ihr Teigoptimum zu erreichen. Somit zeigte sich, dass bei dem vorliegenden Weizensortiment der RMT wieder zuverlässige Ergebnisse über die Backqualität der Weizenmehle lieferte.

3.10 GMP-Gehalt als indirekter Qualitätsparameter

3.10.1 Korrelationsanalysen

Frühere Arbeiten haben gezeigt, dass der GMP-Gehalt einen sehr wichtigen indirekten Qualitätsparameter für die Backqualität darstellt [WEEGELS ET AL., 1996a; THANHAEUSER ET AL., 2014]. Die Ergebnisse der Korrelationsanalysen der Backversuche aus den 30 verschiedenen Mehlen mit dem spez. V. des MOMT, MBT und RMT haben jedoch gezeigt, dass zwischen den spez. V. der Backtests und dem GMP keinerlei Korrelationen vorhanden waren (Tabelle 3.24). Jedoch ergab sich ein Zusammenhang zwischen dem SDSL-Anteil und den spez. V. der einzelnen Backtests. Es zeigte sich eine starke Korrelation ($r_{\text{MOMT/SDSL}} = 0,81$; $r_{\text{RMT/SDSL}} = 0,93$; jeweils: $p = < 0,001$) zwischen dem spez. V. des MOMT sowie RMT mit dem SDSL-Anteil und eine schwache Korrelation ($r_{\text{MBT/SDSL}} = 0,54$; $p = 0,002$) zwischen dem spez. V. des MBT und dem SDSL-Anteil. Die Ergebnisse zeigten auch, dass sich die Korrelationen zwischen den spez. V. mit dem GMP-Anteil umgekehrt zu den Korrelationen zwischen den spez. V. mit dem SDSL-Anteil verhielten. Insgesamt zeigte die Korrelationsanalyse, dass der GMP-Gehalt des ausgewählten Mehlsortiments nicht mit dem Brotvolumen der verschiedenen Backtests korrelierte. Die Einzelergebnisse sind im Anhang (7.4) aufgelistet.

Tabelle 3.24: Korrelation zwischen MOMT-, MBT-, RMT-Volumina und GMP-Parametern

Korrelationskoeffizienten (Pearson Produkt Moment Korrelation) zwischen dem spezifischen Volumen (spez. V., mL/g Brot) aus den Mikrobacktests MOMT, MBT, RMT und indirekten bei der Bestimmung des GMP-Gehaltes erhaltenen Qualitätsparametern. Die Korrelationskoeffizienten wurden mit einem Sortiment aus 30 Mehlen (12 Mischungen, 18 Sorten, Erntejahre 2013 und 2014, unterschiedliche Bezugsquellen) berechnet.

Verfahren	Indirekter Qualitätsparameter ¹	Korrelationskoeffizient ² (r)		
		MOMT (spez. V.)	MBT (spez. V.)	RMT (spez. V.)
	SDSL-Gehalt	0,81	0,54	0,93
SDSL/GMP-Fraktionierung	GMP-Gehalt	0,21	0,53	0,17
	HMW-UE-Gehalt	0,18	0,53	0,14
GP-HPLC	LMW-UE-Gehalt	0,21	0,53	0,18
	LMW/HMW ³	-0,03	-0,37	0,08

¹ SDSL = Natriumdodecylsulfat-löslicher Anteil, GMP = Gluteninmakropolymer, HMW-UE = hochmolekulare Untereinheiten, LMW-UE = niedermolekulare Untereinheiten; Bestimmung über GP-HPLC

² Pearson Produkt Moment Korrelation. Korrelationskoeffizient (r): $0.0 < r \leq \pm 0.54$, keine Korrelation; $\pm 0.54 < r \leq \pm 0.67$, schwache Korrelation; $\pm 0.67 < r \leq 0.78$, mittlere Korrelation; $\pm 0.78 < r \leq \pm 1.0$, starke Korrelation; Fettdruck = Korrelation vorhanden

³ Verhältnisse nicht linear korrelierbar

Jede Weizensorte enthält drei bis fünf HMW-UE unterschiedlicher Zusammensetzung. Payne et al. [1987] haben diese entsprechend ihrer Mobilität bei der SDS-PAGE von 1-12 nummeriert und mit der jeweiligen Backqualität korreliert. So wurde die Kombination der HMW-UE Dx5, Bx7, By9 und Dy10 mit guter und die Kombination Dx2, Bx6, By8 und Dy12 mit schlechter Backqualität in Verbindung gebracht. Deshalb wurde im Folgenden überprüft, ob nach Einteilung der verwendeten Weizensorten nach der HMW-UE-Zusammensetzung ein Zusammenhang mit den Brotvolumina herzustellen war.

Abbildung 3.36 stellt die Beziehung zwischen dem spez. V. des MOMT und dem GMP-Gehalt dar. Jeder Punkt stellt dabei ein Mehl dar und je nach Zusammensetzung der HMW-UE des jeweiligen Mehles wurden diese mit farbigen Kreisen markiert. Dabei stellen die gelben Kreise Mehle mit den HMW-UE Dx5, Bx7, By9 und Dy10 und grüne Kreise Mehle mit der Kombination Dx2, Bx6, By8 und Dy12 dar. Die restlichen Mehle (rote Kreise) beinhalten die HMW-UE Dx2, Bx7, By9 und

Dy12 bzw. HMW-UE Dx3, Bx7, By9 und Dy12 (blaue Kreise) und die unmarkierten Punkte stellen Mehlmischungen dar. Die vorwiegenden Kombinationen, die durch die roten und gelben Kreise gekennzeichnet sind, befinden sich sowohl unter- als auch oberhalb der Regressionslinie. Die Streudiagramme zwischen dem spez. V. des RMT bzw. MBT und dem GMP-Gehalt zeigten ein identisches Bild.

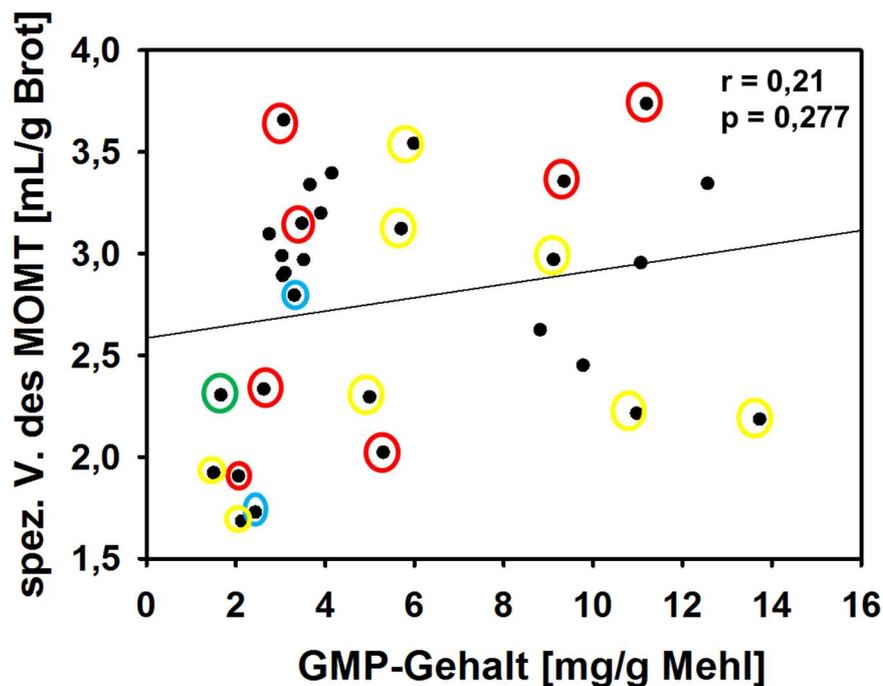


Abbildung 3.36: Beziehung zwischen MOMT-Volumen und GMP-Gehalt in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der HMW-UE

Streudiagramme der Beziehungen zwischen dem spezifischen Volumen (spez. V., mL/g Brot) des MOMT mit dem GMP-Gehalt. Es wurden 30 verschiedene Mehle (12 Mischungen, 18 Sorten, Erntejahre 2013 und 2014, unterschiedliche Bezugsquellen) untersucht. Die farbigen Kreise markieren Mehle mit gleichen Kombinationen an HMW-UE (gelb = HMW-UE: 7, 9, 5, 10; blau = HMW-UE: 7, 9, 3, 12; rot = HMW-UE: 7, 9, 2, 12; grün = HMW-UE: 6, 8, 2, 12) und die nicht umrundeten schwarzen Punkte stellen Mehlmischungen mit unterschiedlichen HMW-UE dar.

Abbildung 3.37 zeigt, dass sich die einzelnen Sortimente (dargestellt durch unterschiedliche Farben) jeweils in einem bestimmten Bereich konzentrierten. Die Projektsorten aus dem Jahr 2013 (orange markiert) befanden sich alle unterhalb der Regressionslinie und der GMP-Gehalt schwankte je nach Sorte zwischen 2 und 14 mg/g Mehl. Die blauen Kästchen stellten die Handelsmehlsorten (2014) dar. Bis auf zwei Sorten lagen alle Mehle oberhalb der Regressionslinie, wie auch die Mehlmischungen (unmarkierte Punkte), die aus diesen Weizensorten hergestellt

wurden. Im Gegensatz zu den Projektsorten ähnelten sich die Weizensorten in ihren GMP-Gehalten sehr stark (2-6 mg/g Mehl). Die Industriemehle (grüne Kästchen, 2013) hatten durchweg hohe GMP-Gehalte (8-12 mg/g Mehl) und befanden sich, bis auf zwei Mehle, oberhalb der Regressionslinie.

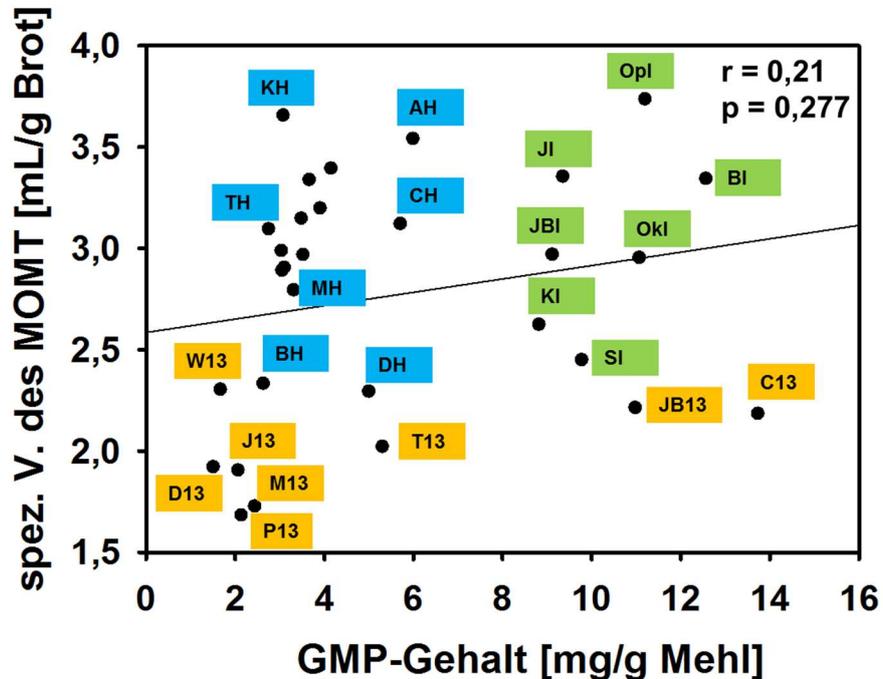


Abbildung 3.37: Beziehung zwischen MOMT-Volumen und GMP-Gehalt in Abhängigkeit vom Mehlsortiment

Streudiagramme der Beziehungen zwischen dem spezifischen Volumen (spez. V., mL/g Brot) des MOMT mit dem GMP-Gehalt. Es wurden 30 verschiedene Mehle (12 Mischungen, 18 Sorten, Erntejahre 2013 und 2014, unterschiedliche Bezugsquellen) untersucht. Die farbigen Kästchen markieren unterschiedliche Mehlsortimente (blau = Handelsmehlsorten, 2014; grün = Industriemehlsorten und -mischungen, 2013, orange = Projektmehlsorten, 2013) und die nicht umrundeten schwarzen Punkte stellen Mehlmischungen aus den Handelssorten 2014 dar.

Es wurde eine weitere Korrelationsanalyse durchgeführt, bei der die unterschiedlichen Erntejahre des Mehlsortiments getrennt betrachtet wurden. Dabei ergab sich im Gegensatz zu der Gesamtkorrelation ein unterschiedliches Ergebnis (Tabelle 3.25; statistische Signifikanzen, s. 7.5, Tabelle 7.36). Die Mehle des Erntejahrs 2013 zeigten zwischen den Backvolumina und dem GMP-Gehalt mittlere bis starke Korrelationen ($r_{\text{MOMT/GMP}} = 0,68$; $p = 0,006$; $r_{\text{RMT/GMP}} = 0,73$; $p < 0,002$, $r_{\text{MBT/GMP}} = 0,80$; $p < 0,001$). Die Volumina der Mehle des Erntejahrs 2014 hingegen korrelierten bis auf das RMT-Volumen nicht mit dem GMP-Gehalt ($r_{\text{RMT/GMP}} = 0,63$; $p < 0,011$). Diese Ergebnisse spiegeln sich auch in den Korrelationskoeffizienten

zwischen den Backvolumina und den LMW- sowie HMW-UE wieder. Während die LMW/HMW-Verhältnisse der Mehle des Jahrgangs 2014 nicht mit den Backvolumina korrelierten, zeigten die Mehle des Jahrgangs 2013 negative Korrelationen mit den Backvolumina.

Tabelle 3.25: Korrelationen zwischen MOMT-, MBT-, RMT-Volumina und indirekten Qualitätsparametern in Abhängigkeit vom Erntejahr

Korrelationskoeffizienten (Pearson Produkt Moment Korrelation) zwischen dem spezifischen Volumen (spez. V., mL/g Brot) aus den Mikrobacktests MOMT, MBT, RMT und den indirekten Qualitätsparametern aus den Bestimmungen der SDSL-GMP-Fraktionierung. Die Korrelationskoeffizienten wurden von 15 verschiedenen Mehlen des Erntejahres 2013 bzw. 2014 (Tabelle 3.21) berechnet.

Verfahren	Indirekter Qualitätsparameter ¹	Korrelationskoeffizient ² (r)		
		MOMT (spez. V.)	MBT (spez. V.)	RMT (spez. V.)
Projektsorten, Industriesorten- und Mischungen des Jahrgangs 2013 (15 Mehle)				
	SDSL-Gehalt	0,86	0,85	0,93
SDSL/GMP-Fraktionierung	GMP-Gehalt	0,68	0,80	0,73
	HMW-UE-Gehalt	0,68	0,81	0,74
GP-HPLC	LMW-UE-Gehalt	0,66	0,79	0,72
	LMW/HMW ³	-0,70	-0,78	-0,70
Handelsorten und deren Mischungen des Jahrgangs 2014 (15 Mehle)				
	SDSL-Gehalt	0,39	0,34	0,83
SDSL/GMP-Fraktionierung	GMP-Gehalt	0,20	0,07	0,63
	HMW-UE-Gehalt	0,28	0,12	0,62
GP-HPLC	LMW-UE-Gehalt	0,18	0,08	0,64
	LMW/HMW ³	-0,39	-0,29	0,50

¹ SDSL = Natriumdodecylsulfat-löslicher Anteil, GMP = Gluteninmakropolymer, HMW-UE = hochmolekulare Untereinheiten, LMW-UE = niedermolekulare Untereinheiten; Bestimmung über GP-HPLC

² Pearson Produkt Moment Korrelation. Korrelationskoeffizient (r): 0.0 < r ≤ ± 0.54, keine Korrelation; ± 0.54 < r ≤ ± 0.67, schwache Korrelation; ± 0.67 < r ≤ 0.78, mittlere Korrelation; ± 0.78 < r ≤ ± 1.0, starke Korrelation; Fettdruck = Korrelation vorhanden

³ Verhältnisse nicht linear korrelierbar

3.10.2 Diskussion

Die statistische Analyse zeigte, dass zwischen den GMP-Gehalten des untersuchten Mehlsortiments und den Brotvolumina der drei Backtests (MBT, MOMT, RMT) keine Korrelationen vorhanden waren. Im Gegensatz dazu korrelierten die SDSL-Anteile mit den Brotvolumina der drei Backtests ($r_{\text{MOMT/SDSL}} = 0,81$; $r_{\text{RMT/SDSL}} = 0,93$; jeweils $p = < 0,001$, $r_{\text{MBT/SDSL}} = 0,54$; $p = 0,002$). Da der SDSL-Anteil den Hauptanteil des Rohproteins im Weizenmehl darstellt, bestätigten diese Ergebnisse die Korrelationen mit dem Rohproteingehalt ($r_{\text{MOMT/Rohprotein}} = 0,82$; $r_{\text{RMT/Rohprotein}} = 0,91$; $r_{\text{MBT/Rohprotein}} = 0,69$; jeweils $p = < 0,001$).

Thanhaeuser et al. [2014] untersuchten ein Mehlsortiment, bestehend aus 13 Sorten und korrelierten die GMP-Gehalte, die zwischen 8,3-17,2 mg/g Mehl schwankten, mit dem spez. V. des MBT. Dabei wurde, im Gegensatz zu der vorliegenden Untersuchung, ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,80$ ($p = < 0,001$) ermittelt. Die vorliegende Arbeit zeigte Ergebnisse aus verschiedenen Mehlsortimenten (insgesamt 30 Mehle), bestehend aus Sorten und Mischungen, zwei verschiedenen Erntejahren sowie unterschiedlichen Anbaugebieten (Tabelle 3.21). Die GMP-Gehalte schwankten zwischen 1,51-13,73 mg/g Mehl. Somit ist es schwierig, die beiden Untersuchungen miteinander zu vergleichen, da sich die Probenauswahl und -zahl, sowie die GMP-Gehalte sehr stark unterschieden. Insgesamt zeigt dies, dass GMP zur Vorhersage der Backqualität nicht geeignet ist, wenn die GMP-Gehalte in Weizenmehlen extrem niedrig sind.

Nachdem die Mehle nach Jahrgängen sortiert wurden (jeweils 15 Mehle), wurden bei den Mehlen des Erntejahres 2013 zwischen den GMP-Gehalten und den spez. V. der drei Backversuche positive Korrelationen festgestellt ($r_{\text{MOMT/GMP}} = 0,68$; $p = 0,006$; $r_{\text{RMT/GMP}} = 0,73$; $p = < 0,002$, $r_{\text{MBT/GMP}} = 0,80$; $p = < 0,001$). Die Korrelation zwischen dem spez. V. des MBT und dem GMP-Gehalt wies, wie bei Thanhaeuser et al. [2014], $r = 0,80$ auf. Im Gegensatz dazu, wurden mit den Mehlen des Erntejahres 2014, außer mit dem RMT-Volumen, keine nennenswerten Korrelationen festgestellt.

Die unterschiedlichen Ergebnisse zwischen den Erntejahren sind in Abbildung 3.37 verdeutlicht. Während die Mehle des Erntejahres 2013 überwiegend geringe Brotvolumina bei niedrigem GMP-Gehalt aufwiesen und die Brotvolumina bei steigendem GMP-Gehalt anstiegen (orange und grüne Kästchen), konzentrierten sich die Mehle des Erntejahres 2014 in einem eingegrenzten Bereich. Somit zeigten

die Mehle des Erntejahres 2013 eine typische Verteilung, worauf sich folglich die positiven Korrelationen zeigten. Auffallend waren lediglich zwei Mehle (JB 13 = JB Asano, C 13 = Capo; orange Kästchen), die trotz hohem GMP-Gehalt niedrige Backvolumina aufzeigten. Neben den hohen GMP-Gehalten, beinhalteten diese beiden Weizensorten auch die HMW UE Dx5, Bx7, By9 und Dy10 (Abbildung 3.36). Mehle mit dieser HMW-UE Kombination, vor allem durch die HMW-UE Dx5, neigen zu sehr starker Polymerisierung über Disulfidbindungen (3.5.3). Dadurch bildet sich ein sehr starkes Klebernetzwerk aus. In Kombination mit einem hohen GMP-Gehalt könnte es sich negativ auf das Backvolumen auswirken, da sich das durch die Hefe gebildete Gas während der Gare nicht ausdehnen kann. Die Ausreißer zeigten, dass der GMP-Gehalt und das Brotvolumen nur bedingt linear miteinander korrelierbar sind, da nicht nur die GMP-Menge im Mehl über die Backqualität entscheidet (3.5.3). Trotzdem wurden mittlere bis starke Korrelationen mit den Mehlen des Erntejahres 2013 erreicht.

Das untypische Verhalten der Mehle des Erntejahres 2014 könnte an den sehr geringen GMP-Gehalten liegen (2-6 mg/g Mehl). Es wird vermutet, dass der GMP-Gehalt erst ab einer bestimmten Menge Einfluss auf das Backvolumen nimmt und deshalb bei geringen GMP-Gehalten keine Korrelationen festgestellt wurden. Jedoch zeigten einige Mehle trotz niedrigem GMP-Gehalt hohe Brotvolumina (Abbildung 3.37). Hierbei handelte es sich um Eliteweizen wie Kerubino (KH, blaue Kästchen) und Adler (AH, blaue Kästchen). Folglich ist es möglich, einen geringen GMP-Gehalt durch andere Qualitätsparameter auszugleichen. Dies könnte durch die Proteinqualität, wie z. B. der Zusammensetzung der GLUT-UE begründet sein.

Insgesamt zeigten die Ergebnisse, dass der GMP-Gehalt und das Brotvolumen nur bedingt linear miteinander korrelierbar sind. Während eine qualitativ hochwertige Weizensorte mit den entsprechenden HMW-UE und einem hohen GMP-Gehalt ein sehr starkes Klebergerüst ausbildet und der Gasausdehnung während der Gare entgegenwirkt, lassen sich niedrige GMP-Gehalte durch andere Qualitätsparameter kompensieren. Dies wurde in den letzten Jahren auch mit dem Rohproteingehalt beobachtet [LINDHAUER, 2009; SELING, 2010]. Dabei hat sich gezeigt, dass nicht nur die Proteinquantität maßgeblich für die Backqualität verantwortlich ist, sondern auch die Proteinqualität. Dies zeigt sich auch im GMP-Gehalt, der nicht alleine für die Backqualität verantwortlich ist. Es kann auch schlussgefolgert werden, dass GMP erst ab einem bestimmten Gehalt Einfluss auf die Backqualität nimmt. Aus diesem

Grund konnten Thanhaeuser et al. [2014] sehr hohe Korrelationen zwischen dem MBT-Volumen und dem GMP feststellen, da deren Weizensortiment GMP-Gehalte von 8,3-17,2 mg/g Mehl aufwies während bei der vorliegenden Arbeit das Weizensortiment GMP-Gehalte zwischen 1,51-13,73 mg/g Mehl aufwies. Somit beeinflusst der GMP-Gehalt durchaus die Backqualität, jedoch ist der Parameter für deren Vorhersage eher nicht geeignet.

4 Experimentelle Angaben

4.1 Chemikalien, Reagenzien und Materialien

Für alle Aufarbeitungen und Messungen wurde bidest. Wasser (Reinstwasser) verwendet, das mittels eines Wasseraufbereitungssystems (Arium 611 AF, Sartorius, Göttingen, Deutschland) gewonnen wurde.

Die Reinheit der aufgelisteten Chemikalien entspricht Analysenqualität (p.A.), sofern keine weiteren Angaben gemacht werden.

VWR Merck, Darmstadt, Deutschland: Acetonitril (LiChrosolv), Ameisensäure (HCOOH, 98-100 %), L-(+)-Ascorbinsäure, Calciumchlorid Hexahydrat, CombiSolvent (Apura®), CombiTitrant (Apura®), Coomassie Brilliant Blau R-250, di-Natriumhydrogen-phosphat-Dihydrat, di-Natriumtartrat-Dihydrat, Eisessig, Ethanol (EtOH), Glycerin, Isopropanol (LiChrosolv), Kaliumdihydrogenphosphat, Methanol (MeOH, LiChrosolv), Natriumazid, Natriumchlorid, Natriumhydroxid, *n*-Pentan, *n*-Propanol (LiChrosolv), Paraffin flüssig, Phosphorsäure (85 %), Saccharose, Tris(hydroxymethyl)-aminomethan (TRIS), Salzsäure (HCl, 32 %, w/w), Natriumdodecylsulfat, Trichloressigsäure, Water standard (Apura®; 5 mg/mL)

SIGMA-ALDRICH, Steinheim, Deutschland: Bariumchlorid (0,1 mol/L), Methanol (LC-MS-Chromasolv), SDS-6H Marker (Zusammensetzung: Myosin, β -Galactosidase, Rinderserumalbumin, Ovalbumin, Carboanhydrase, Trypsin Inhibitor, Lysozym, Aprotinin), Silbernitrat (0,1 mol/L), Thermolysin (aus *Bacillus thermoproteolyticus rokko*, 38 U/mg), Trifluoressigsäure (99 %)

Serva, Heidelberg, Deutschland: Dithiothreitol, Harnstoff, Serva Blau G250, Phenolrot

Leco Instrumente GmbH, Mönchengladbach, Deutschland:

Ethylendiamintetraessigsäure, Tin foil cubs (Zinnfolien)

AppliChem, Darmstadt, Deutschland: 3-(N-Morpholino)-propansulfonsäure (MOPS)

Prolamin Working Group, Freising, Deutschland: PWG-Gliadin (93,1 % Protein)

Wieninger, Passau, Deutschland: Frischhefe

Peter Kölln KGaA, Elmshorn, Deutschland: Kokosfett „Palmin“

Kastenmüller, Martinsried, Deutschland: Glutomaticsiebe (Polyamid, 88 µm)

Invitrogen, Carlsbad, USA: NuPAGE 10%-Bis-TRIS [Bis-(2-hydroxyethyl)-amino-tris-(hydroxymethyl)-methan-HCl]-Gel (1,0 mm × 10 well)

Megazyme, Bray, Irland: Enzymkit zur Bestimmung von Stärke: Gesamtstärkebestimmung nach der AACCI-Methode 76.13 (Amyloglucosidase/ α -Amylase-Methode); beinhaltete Reagenzien: D-Glucose Standardlösung (1,0 mg/mL in 0,2 % Benzoesäure, w/v), GOPOD Enzymreagenz (Glucoseoxidase, Peroxidase und 4-Aminoantipyrin), thermostabile α -Amylase, Amyloglucosidase

Westfalen AG, Münster, Deutschland: Argon (99,996 Vol.-%)

4.2 Gewinnung und Charakterisierung des Probenmaterials

4.2.1 Mehlgewinnung

Die Körner der beiden Weizensorten Akteur und Winnetou (Erntejahr 2013), die zur Untersuchung des GMP dienten, wurden in einer Quadrumat Junior Mühle (Brabender, Duisburg, Deutschland) nach AACCI-Standard Nr. 26-50 vermahlen. Die Körner wurden oben in den Trichter gegeben und von der Speiseschnecke tangential den vier rotierenden Wirbelleisten zugeführt. Durch dreimaliges Auftreffen des Mahlgutes auf die Wirbelleisten wurden die an der Kleie haftenden Mehlteile gelöst, durch einen Siebzylinder abgesehen und im Mehlsammelbehälter aufgefangen. Die Einstellung der Walzen war so gewählt, dass daraus ein Mehl mit der Type 405 - 550 resultierte. Der Rückstand wurde im Kleieauffangbehälter gesammelt und verworfen

[AACCI, 2000]. Anschließend wurde das Mehl gesiebt (Lochgröße 200 μm) und zwei Wochen bei RT dunkel gelagert.

Die Industriemehle der Rosenmühle (Landshut, Deutschland) sowie der Okermühle (Hedwigsburg, Deutschland) wurden in den jeweiligen Mühlen vermahlen, während die Projekt- und Handelssorten, sowie die Mehlmischungen aus den Handelssorten vom Max Rubner-Institut in Detmold (Deutschland) zu Mehlen der Type 405 vermahlen wurden (Tabelle 3.21).

4.2.2 Feuchtigkeitsbestimmung

Zur Bestimmung der TM bzw. des Wassergehaltes der Mehle wurde jeweils eine Dreifachbestimmung durchgeführt. Dazu wurden je 3,5 g Mehl auf einer Aluminiumschale eingewogen und die Messung erfolgte mit einem Infrarot-Feuchtmessgerät MA34M (Sartorius Mechatronics, Göttingen, Deutschland). Es handelte sich hierbei um einen vollautomatischen Infrarot-Feuchtebestimmer mit Metallrohrstrahler (IR-Dunkelstrahler), der auf 100 °C aufgeheizt wurde, das Mehl bis zur Gewichtskonstanz trocknete (Dauer ca. 3 - 5 min) und den Wassergehalt aus der Gewichts Differenz errechnete.

4.2.3 Bestimmung des Aschegehalts

Der Aschegehalt wurde gemäß ICC-Standard Nr. 104 bestimmt [ICC, 1994]. Dazu wurde das Mehl im Muffelofen bei 900 °C verascht und bis zur Gewichtskonstanz geglüht. Nach Abkühlen im Exsikkator wurde der Rückstand gewogen und aus der Gewichts Differenz der Aschegehalt ermittelt. Dabei wurde der Feuchtigkeitsgehalt der Mehle berücksichtigt und der Aschegehalt der TM bestimmt. Es wurde jeweils eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

4.2.4 Proteinbestimmung nach Dumas

Der Rohproteingehalt wurde mittels Dumas-Analyse bestimmt (Tabelle 4.1). Dazu wurden in einer Dreifachbestimmung das Probenmaterial (Weizenmehl 100 mg, Proteinisolate 30 mg) in Zinnfolien eingewogen und in einem Stickstoffbestimmungsgerät (Leco TruSpec Nitrogen Analyzer, Kirchheim, Deutschland) nach Dumas analysiert. Die Detektion erfolgte mittels WLD (Wärmeleitfähigkeitsdetektor). Zur Kalibrierung diente ein Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)-Standard. Um den Rohproteingehalt zu ermitteln, wurde der erhaltene Stickstoffgehalt mit dem Faktor 5,7 (Weizenmehl) multipliziert.

Tabelle 4.1: Geräteparameter des Leco TruSpec Nitrogen Analyzers

Verbrennungsgas	Sauerstoff	
Trägergas	Helium	
Verbrennungstemperatur	950 °C	
	Zeit [s]	Ofendurchfluss
Verbrennungszeitraum	25	Hoch
(Feststoffe)	40	Mittel
	30	Hoch

4.2.5 Bestimmung des Feuchtklebergehalts

Die Bestimmung des Feuchtklebergehalts erfolgte in Anlehnung an den ICC-Standard Nr. 137 [ICC, 1994]. Dazu wurden jeweils in einer Dreifachbestimmung Teige hergestellt, die aus 10 g Mehl (korrigiert auf 14 % Feuchtigkeit), 0,2 g Salz und der entsprechenden Wassermenge (berechnet durch die Wasseraufnahmefähigkeit des Mehles; 4.6.1.1) bestanden und im Farinographen bis zum jeweiligen Optimum geknetet wurden. Nach einer Ruhezeit von 3 min wurden aus dem Teig Stärke und lösliche Partikel mit einer 0,4 molaren Salzlösung (540 mL) für 10 min in der Glutomatic 2200 (Perten Instruments GmbH, Hamburg, Deutschland; Sieb: 88 µm Polyamid) in ein Becherglas ausgewaschen. Das überschüssige Wasser im verbliebenen Rückstand (Feuchtkleber) wurde mittels Zentrifugation (Zentrifuge Gluten Index 2015, Perten Instruments GmbH, Hamburg, Deutschland) entfernt (6000 U/min, 1 min, 20 °C) und der Feuchtklebergehalt wurde gravimetrisch bestimmt.

4.2.6 Bestimmung der Fallzahl

Die Bestimmung der Fallzahl wurde vom Max Rubner-Institut in Detmold (Deutschland) nach ICC-Standard Nr. 107 durchgeführt [ICC, 1994].

4.3 Proteinfractionierungen und Proteintrennungen

4.3.1 Modifizierte Osbornefraktionierung und RP-HPLC

4.3.1.1 Modifizierte Osbornefraktionierung nach Wieser et al. [1998]

Extraktion der Albumine und Globuline

Zunächst wurde eine gepufferte Natriumchloridlösung aus zwei Lösungen hergestellt:

- Lösung 1: 0,067 mol/L bzw. 11,88 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ und 0,4 mol/L bzw. 23,38 g NaCl mit bidest. Wasser auf 1 L aufgefüllt
- Lösung 2: 0,067 mol/L bzw. 4,54 g KH_2PO_4 und 0,4 mol/L bzw. 11,69 g NaCl mit bidest. Wasser auf 0,5 L aufgefüllt
- Lösung 1 mit Lösung 2 auf einen pH-Wert von 7,6 eingestellt

Für die gemeinsame Extraktion der AL und GL wurde das Probenmaterial (Mehl: 100 mg, Proteinisolat: 30 mg) in ein Kulturröhrchen (Pyrex) eingewogen, mit dem Vortexer gemischt (2 min), gerührt (Magnetrührer, 10 min, RT) und zentrifugiert (20 min, 20 °C, 4235 × g). Der Überstand wurde in einem Messkölbchen (2 mL) gesammelt und der Rückstand wurde ein weiteres Mal extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden mit der gepufferten Natriumchloridlösung auf 2 mL aufgefüllt.

Extraktion der Gliadine

Aus dem Rückstand, der nach der Extraktion der AL und GL erhalten wurde, wurden die GLIA extrahiert. Als Extraktionsmittel wurde 60 %iger EtOH (v+v, 0,5 mL) verwendet. Die Extraktion erfolgte in dreimaliger Wiederholung analog der Extraktion der ALGL. Die vereinigten Extrakte wurden in einem Messkölbchen (2 mL) gesammelt und mit dem Extraktionsmittel bis zur Marke aufgefüllt.

Extraktion der Glutenine

Aus dem Rückstand der GLIA-Extraktion wurden die GLUT unter reduzierenden Bedingungen in Lösung gebracht. Die reduzierende Extraktionslösung bestand aus einer 1:1 Mischung (v+v) aus TRIS/HCl-Lösung (0,1 mol/L TRIS, pH 7,5) und *n*-Propanol, die kurz vor Gebrauch mit Dithiothreitol (DTT, 10 mg/mL) versetzt wurde. Die zweimalige Extraktion fand unter einer Argonatmosphäre statt. Dabei wurde 1 mL der DTT-Lösung zu dem GLIA-Rückstand zugegeben, 2 min einer Vortexbehandlung unterzogen und im Wasserbad (60 °C, 30 min) gerührt. Die Probe wurde unter fließendem Wasser abgekühlt, zentrifugiert (20 min, 20 °C, 4235 × g), der Überstand

im Messkölbchen (2 mL) gesammelt und mit dem Extraktionsmittel bis zur Marke aufgefüllt.

4.3.1.2 Quantifizierung mittels RP-HPLC nach Thanhaeuser et al. [2014]

Die erhaltenen Proteinfractionen (ALGL, GLIA, GLUT) wurden jeweils membranfiltriert (0,45 µm) und zur RP-HPLC eingesetzt (Tabelle 4.2). Zur externen Kalibrierung wurde PWG-GLIA (Prolamin Working Group, Freising, Deutschland; Vier-Punkt-Kalibrierung) verwendet [WIESER ET AL., 1998; VAN ECKERT ET AL., 2006]. Es wurde jeweils eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

Tabelle 4.2: RP-HPLC-Bedingungen zur Quantifizierung der Osbornefraktionen

HPLC-Typ	Jasco X-LC (Groß-Umstadt, Deutschland)			
Entgaser	Jasco LG 2080-53 3-Line			
Pumpe	Jasco PU-2085 Plus semi-micro			
Autosampler	Jasco X-LC 3059 AS			
Detektor	Jasco X-LC 3075 UV			
Software	Jasco CHROMPASS			
Säule	Dionex Acclaim 300; C ₁₈ , 3 µm, 30 nm (2,1 × 150 mm)			
Säulentemperatur	60 °C			
Fluss	0,2 mL/min			
Injektionsvolumen	Albumine/Globuline: 20 µL Gliadine: 10 µL Glutenine: 20 µL			
Fließmittel	A = 0,1 % TFA in bidest. Wasser B = 0,1 % TFA in Acetonitril			
Gradient	Albumine + Globuline		Gliadine, Glutenine	
	Zeit [min]	B [%]	Zeit [min]	B [%]
	0,0	0	0,0	0
	0,4	0	0,4	0
	0,5	20	0,5	24
	7,0	60	20,0	56
	7,1	90	20,1	90
	11,0	90	24,0	90
	11,1	0	24,1	0
	17,0	0	30,0	0
Detektion	UV 210 nm			
Kalibrierung	Konzentration der Standardlösung: 2,3 µg PWG-GLIA/µL Einspritzvolumen: 1, 5, 10, 15 µL			

4.3.2 SDSL-/GMP-Fraktionierung und GP-HPLC

4.3.2.1 Extraktion der Proteinfractionen

Zur Extraktion des SDSL-Anteils aus Weizenmehl wurden 100 mg (bei Mehl) bzw. 20-40 mg (bei Isolaten) Probenmaterial zweimal mit 1,0 mL SDS-Lösung (1 % SDS in 0,05 mol/L Na₂HPO₄ × 2 H₂O/HCl, pH 6,9) durch 2-minütige Homogenisierung

(Vortex), 30-minütiges Rühren (Magnetrührer) und 25-minütiger Zentrifugation ($4235 \times g$, $20 \text{ }^\circ\text{C}$) extrahiert. Der Überstand wurde in ein Messkölbchen (5 mL) überführt, mit SDS-Lösung bis zur Marke aufgefüllt und membranfiltriert ($0,45 \text{ }\mu\text{m}$). Der Extrakt wurde zur Messung mittels GP-HPLC eingesetzt.

Der Rückstand diente zur Extraktion des GMP. Dazu wurde zunächst eine reduzierende Extraktionslösung hergestellt:

- Lösung 1: $0,05 \text{ mol/L}$ bzw. $4,45 \text{ g Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$ mit bidest. Wasser auf $0,5 \text{ L}$ aufgefüllt
- Lösung 2: $0,05 \text{ mol/L}$ bzw. $3,402 \text{ g KH}_2\text{PO}_4$ mit bidest. Wasser auf $0,5 \text{ L}$ aufgefüllt
- Lösung 1 mit Lösung 2 auf einen pH-Wert von $7,6$ eingestellt
- eingestellter Puffer mit 1-Propanol (50/50) gemischt
- vor Gebrauch DTT ($0,01 \text{ g/mL}$) dazugegeben und mit Ar gesättigt

Der Rückstand wurde mit $1,0 \text{ mL}$ Reduktionslösung versetzt, 2 min gevortext, 30 min bei $60 \text{ }^\circ\text{C}$ (Wasserbad) gerührt und 25 min zentrifugiert ($4235 \times g$, $20 \text{ }^\circ\text{C}$). Der Überstand wurde in einem 2 mL Messkölbchen gesammelt und nach Wiederholung der Extraktionsschritte wurden die vereinigten Überstände mit der Reduktionslösung bis zur Marke aufgefüllt. Nach Membranfiltration ($0,45 \text{ }\mu\text{m}$) wurde der Extrakt mittels GP-HPLC (Tabelle 4.3) aufgetrennt.

4.3.2.2 Quantifizierung mittels GP-HPLC

Die erhaltenen Proteinfractionen (SDSL-Anteil, GMP) wurden jeweils zur GP-HPLC eingesetzt (Tabelle 4.3). Zur externen Kalibrierung (Vier-Punkt- bzw. Fünf-Punkt-Kalibrierung) wurde PWG-GLIA (Prolamin Working Group, Freising, Deutschland) verwendet [VAN ECKERT ET AL., 2006].

Tabelle 4.3: GP-HPLC-Bedingungen zur Messung von GMP

HPLC-Typ	Jasco X-LC
Entgaser	Jasco LG 2080-53 3-Line
Pumpe	Jasco PU-2085 Plus semi-micro
Autosampler	Jasco X-LC 3059 AS
Detektor	Jasco X-LC 3075 UV
Software	Jasco CHROMPASS
Säule	Phenomenex BioSep – SEC-S 3000 (300 × 4,60 mm)
Säulentemperatur	25 °C
Fluss	0,3 mL/min
Injektionsvolumen	10-100 µL
Fließmittel	1 % SDS in Natriumphosphatpuffer (0,05 mol/L)
Detektion	UV 210 nm
Kalibrierung	Konzentration der Standardlösung: 2,3 µg PWG-GLIA/µL Einspritzvolumen: 1, 5, 10, 15, 20 µL

4.3.3 SDS-PAGE

Die SDS-PAGE wurde nach Kasarda et al. [1998] durchgeführt. Zur Probeninkubation wurde folgender Puffer hergestellt (MOPS-Puffer-System): 20 g Saccharose (293,3 mmol/L), 5,97 g TRIS (246,4 mmol/L), 4,0 g SDS (69,4 mmol/L), 30 mg EDTA (0,51 mmol/L), 37,5 mg Serva Blue G250 (0,22 mmol/L), 12,5 mg Phenolrot (0,177 mmol/L) und 21,15 mL HCl (1 mol/L, 0,105 mmol/L). Alle Komponenten wurden in einen 100 mL Messkolben eingewogen und mit bidest. Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Die Lösung wurde vor Gebrauch 1+2 mit bidest. Wasser verdünnt und bei Durchführung unter reduzierenden Bedingungen wurden zu 40 mL Pufferlösung zusätzlich 308,6 mg DTT (25 mmol/L) gegeben.

Die Proben (Weizenmehl: 20 mg, GMP-Isolat: 7 mg) wurden in ein 2 mL Eppendorfcap eingewogen, mit 1 mL Probenpuffer versetzt und 24 h bei RT inkubiert. Des Weiteren wurden die Proben bei 60 °C für 10 min unter Schütteln im Heizblock (HLC Heating-Thermo Mixer MHR 13, DITABIS, Pforzheim, Deutschland) extrahiert und anschließend bei 5000 U/min für 5 min zentrifugiert (Hochgeschwindigkeits-Mikroliterzentrifuge CT15RE, Darmstadt, Deutschland). Vom Überstand wurden 10 µL für die Elektrophorese eingesetzt.

Zur Kalibrierung wurde ein fertig gemischter Marker der Firma Sigma (SDS-6H Marker) verwendet. Dieser setzte sich aus den folgenden Proteinen zusammen: Myosin ($M_r = 200.000$), β -Galactosidase ($M_r = 116.000$), Rinderserumalbumin ($M_r = 68.000$), Ovalbumin ($M_r = 43.000$), Carboanhydrase ($M_r = 29.000$), Trypsin Inhibitor (Sojabohne; $M_r = 20.000$), Lysozym (Hühnereiweiß; $M_r = 14.000$) und Aprotinin ($M_r = 6.000$). Das Markergemisch wurde mit Probenpuffer (1 mL) versetzt, wie die Proben behandelt und zur Elektrophorese (5 μ L) eingesetzt.

Für die Herstellung des Elektrodenpuffers wurden folgende Chemikalien benötigt: MOPS (20,92 g, 50,0 mmol/L), TRIS (12,12 g, 50,0 mmol/L), SDS (2,00 g, 3,5 mmol/L) und EDTA (0,60 g, 1,0 mmol/L). Die Substanzen wurden in einen 1 L Messkolben eingewogen und mit bidest. Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Der Elektrodenpuffer wurde in die äußere und innere Kammer der Elektrophoresevorrichtung gefüllt, wobei bei reduzierenden Bedingungen der Puffer für die innere Kammer zusätzlich mit DTT versetzt wurde (154,3 mg/200 mL, 10 mmol/L).

Als Elektrophorese-System wurde NuPAGE der Firma Thermo Fisher Scientific (Life Technologies, Darmstadt, Deutschland) verwendet. Als Kammer stand eine XCell SureLock™ Electrophoresis Cell mit einem NuPAGE 10 %-Bis-TRIS [Bis-(2-hydroxyethyl)-imino-tris-(hydroxymethyl)-methan-HCl]-Gel (1,0 mm \times 10 well; Invitrogen, Carlsbad, USA) zur Verfügung. Pro Vertiefung wurde eine Probe bzw. Marker submers in das Gel pipettiert. Die Elektrophorese wurde 20-30 min bei 115 mA und 200 V durchgeführt.

Die fertigen Gele wurden aus der Gelkassette entnommen und 30 min unter schütteln fixiert (Trichloressigsäure 12 %, w/v). Zur Färbung wurden die Gele für 30 min in eine Coomassie-Färbelösung (0,25 % Coomassie Brilliant Blau R-250 in MeOH/Eisessig/Wasser, 5/1/5, v/v/v) eingelegt [NEUHOFF ET AL., 1988]. Anschließend wurden die Gele dreimal mit bidest. Wasser abgespült, zweimal für je 15 min mit MeOH/Eisessig/Wasser (50/40/10, v/v/v) entfärbt und 24 h in die Entfärbelösung II (Wasser/MeOH/Eisessig, 80/10/10, v/v/v) eingelegt. Die Gele wurden eingescannt und zur Konservierung in einer Glycerinlösung (10 %, w/v) aufbewahrt.

4.4 Isolierung und Untersuchung von GMP-Gel

Für die Analyse von Disulfidbindungen wurden aus Mehlen der Weizensorten Akteur und Winnetou GMP-Gele isoliert.

4.4.1 Entfettung des Mehles

Zur GMP-Isolierung wurden die Mehle entfettet. Dazu wurden 100 g Mehl mit 250 mL *n*-Pentan versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde die Suspension zentrifugiert (Multifuge 3 L-R, Thermo Scientific, Waltham, USA; 20 min, 20 °C, 4235 × *g*), der Überstand abdekantiert und verworfen. Der Rückstand wurde weitere zweimal extrahiert. Das entfettete Mehl wurde in eine mit Filterpapier ausgelegte Kristallisierschale gegeben und 24 h im Exsikkator unter Vakuum getrocknet.

4.4.2 Physikalische Methode zur Isolierung von GMP-Gel

In Anlehnung an Graveland et al. [1979] und Don et al. [2003] wurde eine Methode zur Isolierung von GMP entwickelt. 4,5 g des entfetteten Mehls (4.7.1) wurden mit 80 mL 1,5 %iger SDS-Lösung versetzt und 30 min bei RT mit Hilfe eines Magnetrührers homogenisiert. Die Suspension wurde anschließend zentrifugiert (Sorvall WX Ultra 80, Thermo Scientific, Waltham, USA; 30 min, 80.000 × *g*, 20 °C), der Überstand abdekantiert und die Gelschicht von der Stärkeschicht abgekratzt und gesammelt. Zur Reinigung wurde das gewogene Gel in ein Pyrexröhrchen überführt, mit 20 mL EtOH (60 %) versetzt, 10 min gevortext und abermals zentrifugiert (Multifuge 3 L-R, Thermo Scientific, Waltham, USA; 15 min, 4235 × *g*, 20 °C). Ein zweiter Waschschrift folgte mit bidest. Wasser. Das isolierte Gel wurde gefriergetrocknet (Gamma 1-20, Christ, München, Deutschland), gewogen, kurz gemahlen (IKA®-Mühle, IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Deutschland) und bis zur weiteren Untersuchung bei - 18 °C aufbewahrt.

4.4.3 Enzymatische Stärkebestimmung

Dazu wurde ein Enzymkit der Firma Megazyme (Bray, Irland) nach der AACCI-Methode Nr. 76-13.01 (Amyloglukosidase/ α -Amylase-Methode) verwendet [AACCI, 2010]. Das Prinzip beruht darauf, dass thermostabile α -Amylase Stärke in verzweigte und unverzweigte Maltodextrineinheiten hydrolysiert. Die Maltodextrine werden anschließend durch Amyloglukosidase quantitativ zu D-Glukose hydrolysiert und durch eine weitere Reaktion mit Glukoseoxidase zu D-Glukonat und Wasserstoffperoxid oxidiert. Durch Zugabe von *p*-Hydroxybenzoesäure und 4-Aminoantipyrin wird das entstandene Wasserstoffperoxid mit Hilfe von Peroxidase quantitativ zu einem Farbstoff (Quinonimin) umgesetzt.

Zur Untersuchung des Stärkegehalts wurden 100 mg des isolierten GMP-Gels eingewogen, mit 200 μL EtOH (80 %) versetzt und kurz gevortext. Des Weiteren wurde 1 mL der α -Amylase mit 30 mL Natriumphosphatpuffer (0,1 mol/L $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O} + 5 \text{mmol/L CaCl}_2$, pH 5,0) verdünnt und davon 3 mL der Probensuspension zugegeben und 6 min im kochenden Wasserbad unter Rühren inkubiert. Anschließend wurde die Probe mit 100 μL Amyloglucosidase versetzt und weitere 30 min im Wasserbad (50 °C) inkubiert. Die inkubierte Probe wurde in einen Messkolben (50 mL) überführt, mit bidest. Wasser bis zur Marke aufgefüllt und 10 min bei RT zentrifugiert (Multifuge 3 L-R, Thermo Scientific, Braunschweig, Deutschland; 2050 $\times g$). Der Überstand wurde für den Assay eingesetzt. Für den Assay wurden 50 μL des Überstands in ein Eppendorf Cap pipettiert, 1,5 mL GOPOD Enzymreagenz dazugegeben, inkubiert (50 °C, 20 min) und die Absorption bei 510 nm gemessen. Ebenso wurde mit der D-Glucose Kontrolle und dem Blindwert verfahren. Dazu wurde statt des Probenüberstandes 50 μL der Glucose-Standardlösung bzw. bidest. Wasser verwendet.

Die Absorption des Farbstoffs wurde mittels eines Mikroplate Readers (Tecan Trading AG, Infinite® M200, Schweiz) spektralphotometrisch bestimmt und daraus der Stärkegehalt ermittelt. Es wurde jeweils eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

4.4.4 Feuchtigkeitsbestimmung mittels Karl-Fischer Titration

Zur Bestimmung des Feuchtigkeitsgehalts der isolierten GMP-Gele wurde die Karl-Fischer Titration angewandt, da dadurch kleinste Wassermengen hoch selektiv bestimmt werden können. Gleichzeitig kann bei dieser Methode adsorbiertes Wasser oder Kristallwasser erfasst werden. Die Methode basiert auf der Bunsen-Reaktion, die für die Bestimmung von Schwefeldioxid in wässriger Lösung verwendet wird [SCHOLZ, 1984]:



Zur Bestimmung des Wassergehalts wurden 200 mg des isolierten GMP-Gels eingewogen und die volumetrische Methode mit dem Einkomponentensystem angewandt. Die Titration wurde mit einer Karl-Fischer Apparatur (Titrator TitroLine KF; Schott Instruments, Mainz, Deutschland) ausgeführt, die den Reagenzausstoß automatisch bis zum Endpunkt der Titration durchführt. Als Lösungsmittel diente das auf EtOH-basierte Apura® CombiSolvent (Merck Millipore, Darmstadt, Deutschland)

und als Maßlösung Apura® CombiTitrant (enthält Jod, Schwefeldioxid, Base, Alkohol; Merck Millipore, Darmstadt, Deutschland). Die Detektion erfolgte durch die amperometrische Dead-Stop-Methode und die Auswertung wurde mit der Software KF-Soft 1.0 (Schott Instruments, Mainz, Deutschland) durchgeführt. Zur Titerbestimmung diente Apura® Water standard (5 mg Wasser/mL Standard; Merck Millipore, Darmstadt, Deutschland) und als Referenzmaterial di-Natriumtartrat-Dihydrat. Es wurde jeweils eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

4.4.5 Bestimmung des SDS-Gehaltes durch Gravimetrie

Zur Bestimmung des SDS-Gehaltes der GMP-Gele wurden in einer Dreifachbestimmung je 200 mg Isolat in einen Rundkolben eingewogen und unter Rückfluss 4 h mit HCl (6 mol/L) einer sauren Hydrolyse unterzogen. Das dadurch aus SDS entstandene Sulfat wurde quantitativ mit Bariumchlorid (0,1 mol/L) gefällt und über Nacht stehen gelassen. Der Rückstand (Bariumsulfat) wurde mit Hilfe eines ausgeglühten, gewogenen Porzellanfiltertiegels A1 (VWR, Leuven, Belgien) abfiltriert und mit heißem Wasser bis zum Verschwinden von Chloridionen ausgewaschen. Dies wurde durch Zugabe von salpetersaurer Silbernitratlösung in der Waschlösung überprüft.

Der Porzellanfiltertiegel A1 wurde über Nacht bei 130 °C im Trockenschrank getrocknet, 3 h bei 900 °C im Muffelofen (Heraeus K 114 Kammerofen, Thermo Scientific, Waltham, USA) verascht und nach dem Erkalten im Exsikkator gewogen. Durch Differenzgravimetrie (CPA225D Analysenwaage, Sartorius, Göttingen, Deutschland) wurde zunächst die Menge an Bariumsulfat ermittelt und daraus die korrespondierende Menge an SDS im GMP-Gel berechnet.

4.5 Untersuchungen enzymatischer Hydrolysate aus GMP-Gel

4.5.1 Festlegung der Bedingungen für die enzymatische Hydrolyse

Die enzymatische Hydrolyse des GMP-Gels wurde in Anlehnung an Köhler et al. [1993] durchgeführt. Zur Festlegung der geeigneten Parameter wurden das Enzym-Substratverhältnis (1:50, 1:100, 1:150) und die Hydrolysedauer (1-24 h) variiert. Dabei wurden jeweils 86, 43 und 21,5 mg (GMP-Gel aus Akteur, Proteingehalt = 35 %) bzw. 376, 188 und 94 mg (GMP-Gel aus Winnetou, Proteingehalt = 8 %) des getrockneten GMP-Gels (Enzym-Substrat-Verhältnis = 1:50, 1:100, 1:150, bezogen

auf Proteingehalt im Substrat) in ein Eppendorfcap eingewogen und mit 1,0 mL Spaltungslösung (4 mmol/L $\text{CaCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$, 7,7 mmol/L NaN_3) versetzt. Zusätzlich wurden 0,5 mL Enzym-Spaltungslösung (3 mg Thermolysin in 10 mL Spaltungslösung) dazugegeben und durch vortexen homogenisiert. Durch Zugabe von NaOH (0,1 mol/L) wurde der pH-Wert auf 6,5 eingestellt und im temperierbaren Thermomixer (MHL 23, HLC BioTech, Bovenden, Deutschland) unter Schütteln inkubiert (37 °C, 1-24 h). Stündliches Überprüfen des pH-Wertes zeigte, dass dieser während der Hydrolyse konstant blieb. Zur Überprüfung der Versuche wurden die Peptidgemische mittels RP-HPLC (Tabelle 4.4) stündlich, bezogen auf die Hydrolysezeit, untersucht.

Tabelle 4.4: RP-HPLC Bedingungen zur Untersuchung thermolytischer Hydrolysate von GMP-Gel

HPLC-Typ	Thermo Finnigan	
Entgaser	Spectra System SCM 1000	
Pumpe	Spectra System P 2000	
Autosampler	Spectra System AS 3000	
Detektor	Spectra System UV 1000	
Software	Chromquest	
Säule	Nucleosil 100-5 C_{18} , 3 × 250 mm (Macherey Nagel)	
Säulentemperatur	RT	
Fluss	0,7 mL/min	
Injektionsvolumen	20-40 μL	
Fließmittel	A = 0,1 % TFA in bidest. Wasser	
	B = 0,1 % TFA in Acetonitril	
Gradient	Zeit [min]	B [%]
	0,0	0,0
	0,1	0,0
	10,0	34,5
	14,0	38,0
	15,0	90,0
	20,0	90,0
	20,1	0,0
33,0	0,0	
Detektion	UV 210 nm	

4.5.2 Enzymatische Hydrolyse mit Thermolysin

Es wurden 43 mg (GMP-Gel aus Akteur, Proteingehalt = 35 %) bzw. 188 mg (GMP-Gel aus Winnetou, Proteingehalt = 8 %) des getrockneten GMP-Gels (Enzym-Substrat-Verhältnis = 1:100, bezogen auf Proteingehalt im Substrat) eingesetzt. Die Dauer der enzymatischen Hydrolyse betrug 17 h bei einer Temperatur von 37 °C.

Durch Ansäuern auf pH 2,0 (1 mol/L HCl) wurde die enzymatische Hydrolyse gestoppt. Nach Zentrifugation (himac CT15RE, VWR by Hitachi Koki Co.Ltd., Leuven, Belgien; 4 °C, 20 min, 9600 × g) wurde der Überstand abdekantiert, der Rückstand in 0,5 mL bidest. Wasser aufgenommen, gevortext und erneut zentrifugiert (4 °C, 20 min, 9600 × g). Die Überstände wurden vereinigt und die Rückstände mittels Rotations-Vakuum-Konzentrator (RVC 2-25 DC*plus*, Christ, Bremen, Deutschland; 30 °C, 8 mbar, 3 h) getrocknet.

4.5.3 Fraktionierung der Partialhydrolysate mittels GP-HPLC

Das getrocknete Hydrolysat aus 4.5.2 wurde in 1,5 mL HCl (0,1 mol/L) aufgenommen, membranfiltriert (0,45 µm) und auf die Gelsäule (Tabelle 4.5) aufgegeben. Das Eluat wurde in zahlreichen Läufen mit Hilfe eines Fraktionssammlers in 7 Fraktionen aufgeteilt (3.4.4, Abbildung 3.8). Nach Vereinigung derselben Fraktionen wurden diese mittels Vakuumzentrifugation (RVC 2-25 DC*plus*, Christ, Bremen, Deutschland; 30 °C, 8 mbar, 2-10 h) getrocknet, in 0,1 %iger HCOOH aufgenommen (500 µL) und für weitere Untersuchungen eingesetzt.

Tabelle 4.5: GP-HPLC Bedingungen zur Fraktionierung thermolytischer Hydrolysate von GMP-Gelen

HPLC-Typ	LC-4000-Extrema (Jasko; Groß-Umstadt, Deutschland)
Pumpe	PU-4180
Autosampler	AS-4150
Fraktionssammler	FC-2088-30
Detektor	PDA Detector MD-4015
Software	ChromNAV (Version 2)
Säule	BioBasic SEC-60, 5 μ m, 30 \times 7,8 mm (Thermo Science), Trennbereich = 0,1-6 kDa für Proteine
Säulentemperatur	RT
Fluss	0,5 mL/min
Injektionsvolumen	100 μ L
Fließmittel	A = 0,1 % TFA in bidest. Wasser (v/v) B = 0,1 % TFA in Acetonitril (v/v) Mischungsverhältnis: 80 % A + 20 % B
Detektion	UV 230 nm ¹ /Photodiodenarray (PDA) Detektor
Fraktionierung (nach Zeit)	Fraktion 1: 13.640 - 18.033 min (4.393 min) Fraktion 2: 18.090 - 19.133 min (1.043 min) Fraktion 3: 19.190 - 20.083 min (0.893 min) Fraktion 4: 20.140 - 22.783 min (2.643 min) Fraktion 5: 22.840 - 25.383 min (2.543 min) Fraktion 6: 25.440 - 28.883 min (3.443 min) Fraktion 7: 28.940 - 37.083 min (8.143 min)

¹ Detektion fand bei 230 nm statt, da die Intensität geringer als bei 210 nm war und somit mehr Probe eingespritzt werden konnte

4.5.4 Differenzchromatographie mittels RP-HPLC

Die getrockneten thermolytischen Hydrolysate der GMP-Gele (4.5.2) wurden je in 0,1 %iger TFA (500 μ L) aufgenommen und in zwei Aliquote aufgeteilt, wobei ein Aliquot mit TCEP (5 mg/mL) versetzt wurde. Ebenfalls wurde mit den sieben GP-HPLC-Fractionen aus 4.5.3 verfahren. Die mit TCEP versetzten Lösungen wurden zur Reduktion 30 min im 60 °C warmen Wasserbad im Dunkeln gerührt und wie die unreduzierten Proben nach Filtration (0,45 μ m) auf die RP-Säule aufgegeben

(Tabelle 4.6). Die zueinander gehörenden unreduzierten und reduzierten Peptidgemische wurden hintereinander gemessen.

Tabelle 4.6: RP-HPLC Bedingungen der Differenzchromatographie

HPLC-Typ	Thermo Finnigan	
Entgaser	Spectra System SCM 1000	
Pumpe	Spectra System P 2000	
Autosampler	Spectra System AS 3000	
Detektor	Spectra System UV 1000	
Säulenofen	Thermasphere TS-130 (Phenomenex)	
Software	Chromquest	
Säule	Aeris Peptide 3,6u XB-C ₁₈ , 150 × 2,1 mm (Phenomenex)	
Säulentemperatur	50 °C	
Fluss	0,2 mL/min	
Injektionsvolumen	10-50 µL	
Fließmittel	A = 0,1 % TFA in bidest. Wasser (v/v) B = 0,1 % TFA in Acetonitril (v/v)	
Gradient	Zeit [min]	B [%]
	0,0	0
	5,0	0
	90,0	40
	100,0	40
	110,0	0
	120,0	0
Detektion	UV 210 nm	

4.5.5 Nachweis von Cystinpeptiden mittels LC-MS/MS

Die GP-HPLC-Fractionen der thermolytischen Hydrolysate von GMP-Gelen der Weizensorten Akteur und Winnetou wurden zur Aufklärung der Disulfidstruktur mittels LC-MS/MS (Tabelle 4.7) analysiert. Die getrockneten thermolytischen Hydrolysate (4.5.2) wurden für die Analyse in 0,1 %iger HCOOH (500 µL) aufgenommen.

Tabelle 4.7: Bedingungen der Analyse thermolytischer Hydrolysate von GMP-Gelen und deren GP-HPLC-Fractionen mittels LC-MS/MS

HPLC-Typ	UltiMate 3000 (Dionex, Idstein, Deutschland)	
Pumpe	UltiMate 3000	
Autosampler	UltiMate 3000 RS	
Column Compartment	UltiMate 3000	
Detektor	UltiMate 3000 Variable Wavelength Detector	
Software	Chromeleon®	
Säule	Aeris Peptide 3,6u XB-C ₁₈ , 150 × 2,1 mm (Phenomenex)	
Säulentemperatur	35 °C	
Fluss	0,2 mL/min	
Injektionsvolumen	10-20 µL	
Fließmittel	A = 0,1 % HCOOH in bidest. Wasser (v/v) B = 0,1 % HCOOH in Acetonitril (v/v)	
Gradient	Zeit [min]	B [%]
	0	0
	5	0
	45	30
	55	90
	60	90
	62	0
	77	0
Massenspektrometer	HCT Ultra PTM (Bruker Daltonics, Billerica, USA)	
Ionenquelle	CID: ESI, positiv (Elektrospray Ionisation)	
Massenanalysator	Ionenfalle	
Detektor	SEV (Sekundärelektronenvervielfacher)	
Mass Range Mode	Standard Enhanced (8100 m/z/sec)	
ESI Parameter	Capillary voltage -4000 V, capillary exit voltage 136,5 V, skimmer voltage 40 V	
Dry gas	Nitrogen, 8 L/min	
Dry temperature	325 °C	
Nebulizer	30 psi	
MS-Mode	Auto-MS ²	
	Manual-MS ²	

4.5.6 Auswertung der Massenspektren und Proteindatenbankrecherche

Zur Auswertung der CID-MS²- und ETD-MS²-Massenspektren (3.5) der entstandenen Peptide (3.5.1, 3.5.2), welche durch enzymatische Hydrolyse (4.5.2) entstanden waren, wurde das Programm DataAnalysis 3.4 (Bruker Daltonics, Billerica, USA) verwendet. Zur Verifizierung der Aminosäuresequenzen wurde eine

Mascot®-Datenbankrecherche (Datenbank: SwissProt) durchgeführt. In dieser Datenbank sind bekannte Aminosäuresequenzen (Tabelle 7.1-Tabelle 7.13) von HMW-, LMW-UE und GLIA von Weizen hinterlegt. Durch einen theoretischen Verdau dieser Aminosäuresequenzen mit Thermolysin ließen sich die möglichen Peptidfragmente feststellen (Tabelle 7.14).

Mit Hilfe der errechneten Masse- zu Ladungsverhältnisse im einfachen, zweifachen und dreifachen Ladungszustand der Peptidfragmente aus der Datenbank durch die Software Mascot® konnten Disulfidpeptide aus den Peptidfragmenten experimentell generiert und mit den MS-Massenspektren verglichen werden [PERKINS ET AL., 1999]. Bei Übereinstimmung eines Masse- zu Ladungsverhältnisses eines theoretisch generierten Disulfidpeptids mit einem MS-Spektrum, das in einer GP-HPLC-Fraktion eines enzymatischen Hydrolysates vorhanden war, wurden zusätzlich die CID-MS²- und ETD-MS²-Massenspektren überprüft.

Eine theoretische Fragmentierung von Peptidionen konnte mit Hilfe der Software MS-Product (University of California, San Francisco, USA; für Thermolysin) durchgeführt werden. Dies diente zur Ermittlung der Massen der verschiedenen Fragmente (b-, y-, c-, z-Fragmente), die anschließend mit den CID-MS²- und ETD-MS²-Massenspektren verglichen wurden. Stimmten die Massen der Fragmente (b-, y-, c- oder z-Fragmente) überein, so galt das Disulfidpeptid als identifiziert.

4.6 Rheologie

4.6.1 Teigentwicklungszeit, Wasseraufnahmefähigkeit

4.6.1.1 Farinograph

In Anlehnung an die ICC-Standardmethode Nr. 115 wurden die Wasseraufnahmefähigkeit und die Teigentwicklungszeit mit Hilfe eines Farinographen (Brabender, Duisburg, Deutschland) in einem 10 g Knetter bestimmt [ICC, 1994]. Die Bestimmung der Wasseraufnahme diente zur Ermittlung der Wassermenge, die benötigt wurde, um einen Teig mit einer maximalen Konsistenz von 550 BE zu erhalten. Die Wasseraufnahmemenge wurde in mL (Wasser) pro 100 g Mehl mit einem Feuchtigkeitsgehalt von 14 % ausgedrückt.

Zur Durchführung wurden ca. 10 g Mehl (angepasst an den Feuchtigkeitsgehalt des Mehles, TM = 8,6 g) und 0,2 g Natriumchlorid in das temperierte (22 °C) Knetgefäß gegeben und nach Zugabe von bidest. Wasser 20 min geknetet. Die Wassermenge

wurde so angepasst, dass die Teigkonsistenz bei der optimalen Teigentwicklungszeit 550 BE betrug. In Abwandlung der ICC-Methode wurde das Knetgefäß statt auf 30 °C auf 22 °C temperiert, die maximale Konsistenz auf 550 BE statt auf 500 BE festgelegt und zusätzlich wurde Natriumchlorid hinzugefügt. Laut Kieffer et al. [1998] wird durch die abgewandelte Methode zwar die gleiche Wasseraufnahmemenge bestimmt, aber das Maximum am Farinogramm ist bei der tieferen Temperatur deutlicher sichtbar. Zusätzlich werden bei den Mikrobackversuchen größere Volumina erreicht, wenn die Teigentwicklungszeit anhand der abgewandelten Parameter bestimmt wird [KIEFFER ET AL., 1998].

Die optimale Wassermenge und die optimale Knetzeit dienen als Grundlage für die Mikrobackversuche (4.7.2).

4.6.1.2 Spiralkneter

Zur Bestimmung der optimalen Knetzeit im Spiralkneter wurden ca. 10 g Mehl (angepasst an den Feuchtigkeitsgehalt des Mehles, TM = 8,6 g) und 0,2 g Natriumchlorid in den Rührbecher gegeben und nach Zugabe von bidest. Wasser 5 min geknetet. Die erforderliche Wassermenge wurde zuvor mit dem Farinographen bestimmt (4.6.1.1). Die optimale Knetzeit wurde anhand des Maximums der Drehmoment-Zeit-Kurve festgelegt.

4.6.2 **Teigzugversuche im Mikromaßstab**

Zur Untersuchung der Dehnbarkeit (E_{\max}) von Weizenteigen wurde ein TA.XT. plus Texture-Analyser (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, UK) verwendet. Dazu wurden jeweils in einer Dreifachbestimmung Teige hergestellt, die aus 10 g Mehl (korrigiert auf 8,6 g TM), 0,2 g Salz und der entsprechenden Wassermenge (berechnet durch die Wasseraufnahmefähigkeit des Mehles; 4.6.1.1) im Farinographen bis zum jeweiligen Optimum geknetet wurden. Anschließend wurde der Teig in eine mit Silikonöl bestrichene, geriffelte Teflonplatte gelegt, eingepresst und 15 min ruhen gelassen, damit sich der Kleber entspannen konnte. Nach der Ruhezeit wurden die einzelnen Teigstränge einer Dehnprüfung im TA.XT. plus Texture-Analyser unterzogen. Die Hakengeschwindigkeit betrug dabei 3,3 mm/s bei einer Auslösekraft von 0,05 N. Die Auswertung erfolgte mit der Software Texture Exponent 32. Dabei wurden die Parameter E_{\max} , R_{\max} und DE bestimmt.

4.6.3 Teigzugversuche mittels Extensograph

Die Teigzugversuche mittels Extensograph wurden vom Max Rubner-Institut in Detmold (Deutschland) nach ICC-Standard Nr. 114/1 durchgeführt [ICC, 1994].

4.7 Backversuche

4.7.1 Vorversuche zur Entwicklung des Mikro-Opi-Mix-Tests (MOMT)

Zur Entwicklung des MOMT wurden zunächst Untersuchungen mit dem neuen registrierenden Spiralknetzer durchgeführt, um dessen Reproduzierbarkeit bzw. Funktionsfähigkeit zu überprüfen. Dazu wurden 10 g Mehl, 0,2 g Natriumchlorid und die jeweils erforderliche Wassermenge (4.6.1.1) in das Knetgefäß gegeben und angeteigt. Dabei wurden die Knetzeit (60-300 s) und die Umdrehungszahl (100-1000 U/min) des Spiralknetzers variiert. Die Teige wurden verworfen und die aufgezeichneten Kurven (Software: Agitator V1.00.00) mit Hilfe der Software Origin Pro 8.5.1 ausgewertet.

4.7.2 Mikrobackversuche

4.7.2.1 Mikrobackversuch – MBT

Auf der Basis einer Mehlmenge von 10 g (TM = 8,6 g) wurden zur Herstellung der Brötchen 7 % Frischhefe (Fa. Wieninger), 2 % Natriumchlorid, 1 % Saccharose und 1 % Kokosfett (Palmitin) in den laufenden 10 g Knetzer eines Farinographen (Brabender, Duisburg, Deutschland) gegeben und 1 min lang homogenisiert. Anschließend wurden 0,3 mL L-(+)-Ascorbinsäurelösung ($c = 667 \text{ mg/mL}$) und die ermittelte Wassermenge (4.6.1.1), abzüglich 0,55 mL, zugegeben. Die Wassermenge wurde aufgrund der Zugabe von Ascorbinsäure, der Hefefeuchtigkeit und der teigerweichenden Eigenschaften des Fettes korrigiert. Die Zutaten wurden bei 22 °C mit 63 U/min bis zur Teigentwicklungszeit (4.6.1.1) geknetet. Der fertig entwickelte Teig wurde gewogen und für 20 min bei 30 °C in einem wasserdampfgesättigten Gärschrank (Heraeus, Hanau, Deutschland) ruhen gelassen. Der gewirkte und gewogene Teigling wurde auf ein mit Teflonfolie ausgekleidetes Backblech gesetzt, weitere 35 min auf der Backstrasse ruhen gelassen (29 °C, wasserdampfgesättigt) und im Bandofen 10 min lang gebacken (stufenweise zwischen 180 °C und 250 °C).

4.7.2.2 Mikro-Rapid-Mix-Test – MRMT

Basierend auf den Standardbackversuch RMT (Rapid-Mix-Test) wurde ein Mikrobackversuch (MRMT) mit 10 g Mehl durchgeführt. Dieser wurde von Kieffer et al. [1993] so entwickelt, dass er bzgl. Rezeptur und Brotherstellung, soweit dies technisch möglich war, mit dem RMT übereinstimmte. Die Zutaten wurden mit einem Flügelmixer (1250 U/min, 1 min, 15 °C; Abbildung 3.35) zu einem Teig verarbeitet. Sowohl die Rezeptur des Teiges als auch die weitere Teigführung und Backmethode erfolgte analog dem MBT (4.7.2.1).

4.7.2.3 Mikro-Opti-Mix-Test – MOMT

Basierend auf der Rezeptur für 10 g Mehl (4.7.2.1) wurden für Zucker, Salz und Hefe entsprechende Lösungen bzw. Suspensionen hergestellt und zu den restlichen Teigzutaten in den Rührbecher pipettiert. Der Knetvorgang wurde mit dem registrierenden Spiralkneter bei 300 U/min durchgeführt. Die optimale Knetzeit wurde anhand des Maximums der Drehmoment-Zeit-Kurven (4.6.1.2) bestimmt. Die Herstellung der Brötchen erfolgte nach dem Knetvorgang analog zu 4.7.2.1. Die aufgezeichneten Kurven (Software: Agitator V1.00.00) wurden mit Hilfe der Software Origin Pro 8.5.1 ausgewertet.

4.7.3 **Messung des Brotvolumens**

Das Volumen der Brötchen wurde nach 2 h Abkühlzeit mithilfe eines Volscan Profiler 600 (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Großbritannien) gemessen.

4.7.4 **Rapid-Mix-Test (RMT)**

Die Durchführung des Backtests und die Bestimmung der Brotvolumina anhand des RMT wurden vom Max Rubner-Institut in Detmold (Deutschland) durchgeführt [PELSHENKE ET AL., 2007].

4.8 **Statistische Methoden**

4.8.1 **Varianzanalyse**

Die Berechnung der statistischen Signifikanzen (signifikant: $p \leq 0,05$; hoch signifikant: $p \leq 0,01$; sehr hoch signifikant: $p \leq 0,001$) erfolgte, bei Vergleichen mehrerer Paare untereinander, durch die einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) mit

dem Tukey Test. Zum Vergleich mehrerer Paare mit einer Kontrollgruppe wurde der Bonferroni t-Test verwendet. Als Software diente Sigma Plot 11.0 (Systat, San José, Kalifornien, USA).

4.8.2 Korrelationsberechnungen

Die statistische Evaluierung der Daten wurde mittels einer Pearson Produkt Moment Korrelation durchgeführt. Als Software diente Sigma Plot 11.0 (Systat, San José, Kalifornien, USA). Folgende Grenzen wurden für den Korrelationskoeffizienten (r) definiert (Tabelle 4.8):

Tabelle 4.8: Grenzen des Korrelationskoeffizienten (r)

Bereich des Korrelationskoeffizienten (r)	Bezeichnung der Korrelation
$0,00 < r \leq \pm 0,54$	keine Korrelation
$\pm 0,54 < r \leq \pm 0,67$	niedrige Korrelation
$\pm 0,67 < r \leq \pm 0,78$	mittlere Korrelation
$\pm 0,78 < r \leq \pm 1,00$	hohe Korrelation

5 Zusammenfassung

Die Kleberproteine des Weizens werden in die überwiegend monomer vorliegenden Gliadine (GLIA) und die polymer vorliegenden Glutenine (GLUT) eingeteilt. Erstere sind für die Viskosität und letztere für die Elastizität von Weizenteigen verantwortlich. Der Anteil der GLUT mit dem höchsten Molekulargewicht wird als Gluteninmakropolymer (GMP) bezeichnet und stellt das größte in der Natur vorkommende Proteinbiopolymer dar. Diese GLUT-Fraktion ist in einer SDS-Lösung unlöslich und kann nach Zentrifugation einer Mehlsuspension als Gel isoliert werden. Es wurde gezeigt, dass der GMP-Gehalt von Weizenmehl mit der Teigfestigkeit und dem Brotvolumen hoch korreliert ist [GRAVELAND ET AL., 1979; THANHAEUSER ET AL., 2014]. GMP besteht aus verschiedenen Proteinuntereinheiten (Protein-UE) des GLUT, wobei insbesondere intermolekulare Disulfidbindungen zwischen den Protein-UE für das hohe Molekulargewicht verantwortlich sind. Trotz seiner Bedeutung für die Backeigenschaften wurden bisher noch keine Untersuchungen über die Disulfidstruktur des GMP durchgeführt.

Deshalb war im ersten Teil der vorliegenden Arbeit die Aufklärung der Disulfidbindungen im GMP als Ziel definiert. Dazu war zunächst die Entwicklung einer geeigneten Methode zur Isolierung und Charakterisierung von GMP-Gel, ausgehend von publizierten Daten, erforderlich [GRAVELAND ET AL., 1979; DON ET AL., 2003].

Für die Untersuchungen wurden die Mehle einer Weizensorte mit hoher (Akteur) und einer Weizensorte mit niedriger (Winnetou) Backqualität verwendet. Die Isolierung von GMP-Gel wurde von verschiedenen Faktoren wie der Geschwindigkeit, Zeit und Temperatur während der Zentrifugation und ebenso der Zusammensetzung des Extraktionsmittels und der Waschschriffe beeinflusst. Der Prozess der GMP-Isolierung wurde durch systematische Veränderung der Isolierungsparameter optimiert. Die Isolierung von GMP-Gel aus Weizenmehl gelang besonders gut, wenn das Mehl mit ungepufferten, 1,5 %iger (w/v) Natriumdodecylsulfat (SDS)-Lösung extrahiert und nachfolgend bei hoher Beschleunigung zentrifugiert wurde ($80.000 \times g$). Das mechanisch abgetragene GMP-Gel wurde nachfolgend mit 60 %igem (v/v) EtOH und Wasser gewaschen, um den Gehalt an SDS und löslichen Proteinen zu minimieren und den Proteingehalt zu erhöhen.

Die isolierten GMP-Gele der Weizensorten Akteur und Winnetou wurden hinsichtlich ihrer Inhaltsstoffe untersucht, da neben Protein auch andere Bestandteile zu erwarten waren. Neben dem Rohproteingehalt wurden der Stärke-, der Wasser- und der SDS-Gehalt bestimmt. Bei beiden GMP-Gele unterschied sich die prozentuale Verteilung der Inhaltsstoffe in den GMP-Gele der beiden Weizensorten deutlich. Dies lag vor allem an den unterschiedlichen Quellungs- bzw. Gelbildungseigenschaften der Proteine beider Weizensorten, die sich auf die Gelstruktur und damit auf die Aufnahme von Wasser, SDS und Stärke in das Gel auswirkten.

Somit ist die Definition, dass GMP nach Behandlung von SDS-Extraktionsmitteln nach Zentrifugation als Gelschicht vom Stärkerückstand abgetragen werden kann, nicht richtig. Vielmehr ist es dadurch möglich ein Gel zu isolieren, in dem das GMP eingebettet ist. Hauptsächlich besteht das Gel jedoch aus Stärke und nicht aus Protein.

Die nächsten Schritte lagen in der Aufklärung der Disulfidstruktur der in den GMP-Gele enthaltenen Proteine mittels LC-MS/MS. Dazu wurden die GMP-Gele mit Thermolysin partiell hydrolysiert. Die entstandenen enzymatischen Hydrolysate aus GMP-Gel wurden durch GP-HPLC in je sieben Fraktionen vorgetrennt, um die nachfolgende Identifizierung von Cystinpeptiden zu erleichtern.

Insgesamt wurden im GMP aus Akteur acht, bzw. im GMP aus Winnetou vier Disulfidbindungen identifiziert, die bereits in Kleberproteinen bekannt waren. Vier dieser acht Disulfidbindungen wurden erstmals mittels LC-MS/MS identifiziert. Weiterhin wurden im GMP aus Akteur acht bisher unbekannte Disulfidbindungen aufgeklärt, wovon drei dieser Disulfidbindungen auch im GMP aus Winnetou vorlagen. Die Unterschiede waren vor allem auf die unterschiedliche Zusammensetzung der HMW-UE zurückzuführen.

Vor allem die HMW-UE Dx5, die den zusätzlichen Cysteinrest C⁹ enthält, war an vielen Disulfidbindungen beteiligt. Diese HMW-UE kommt allerdings nur in der Weizensorte Akteur und nicht in Winnetou vor. Des Weiteren wurden erstmals mehrere Disulfidbindungen zwischen HMW-UE aufgeklärt, sowohl als Kopf-Schwanz- als auch als Kopf-Kopf-Verknüpfung. Diese Verknüpfungen spielen eine sehr große Rolle für die Polymerisation, da sie das Rückgrat des Proteingerüsts von GMP bilden. Während für das GMP aus Akteur vier solche Verknüpfungen identifiziert wurden, wurde für das GMP aus Winnetou nur eine Kopf-Schwanz-Verknüpfung

zwischen zwei HMW-UE gefunden. Dies zeigt, dass das geringere Polymerisationsvermögen von backschwächeren Weizensorten wie z. B. Winnetou zum einen an der Quantität und zum anderen an der Orientierung der Disulfidbindungen liegt. Fehlen bestimmte Protein-UE, entstehen offenbar weniger intermolekulare Disulfidbindungen, was sich sowohl in einer geringeren GMP-Konzentration als auch in einer geringeren Backqualität bemerkbar macht.

Die Ergebnisse zeigten, dass in GMP die in den GLUT mengenmäßig untergeordneten HMW-UE angereichert waren, so dass bisher unbekannte Disulfidbindungen gefunden wurden, in denen die HMW-UE involviert sind. Die unterschiedliche Anzahl und Orientierung der Disulfidbindungen im GMP-Gel aus Akteur bzw. Winnetou bestätigten die Hypothese, dass sich das Polymerisationsvermögen der GLUT-UE je nach Weizensorte, in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der HMW- und LMW-UE, unterscheidet. Somit spielt nicht nur der GMP-Gehalt eines Weizenmehles eine Rolle für die Backqualität, sondern auch die Zusammensetzung der GLUT-UE des GMP, da diese für die Polymerisation des Klebnetzwerkes verantwortlich ist.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde ein neuer Mikrobacktest mit 10 g Mehl, der sogenannte Mikro-Opti-Mix-Test (MOMT), zur besseren Erfassung der Backqualität entwickelt. Um den MOMT zu entwickeln, wurde ein neues Knet-Messgerät konstruiert, das während der Teigbildung das Drehmoment kontinuierlich erfasst. Folglich kann die Fläche unter der aufgezeichneten Kurve (Drehmoment-Zeit-Diagramm) berechnet werden, die ein Maß für den Energieeintrag in den Teig darstellt. Der Energieeintrag beim Kneten ist ein wesentlicher Faktor für das Backergebnis.

Ausgehend von dem zunächst vorliegenden Flügelmixer wurden Anteigversuche durchgeführt. Mit diesem Knetter wurden allerdings weder reproduzierbare Knetkurven noch homogene Teige erhalten. Die kontinuierliche Weiterentwicklung des Antriebs, des Knetgefäßes und des Kneters führte schließlich zu einem Spiralknetter mit Teigbrecher und rotierenden Teigbecher. Damit wurden homogen durchmischte Teige und reproduzierbare Knetkurven (Drehmoment-Zeit-Kurven) erhalten. Die Messkurven des Messsystems unterschieden sich aufgrund der anderen Kräfteverhältnisse mit dem neuen Rührprinzip von den früher aufgenommenen Kurven (Farinogramm) und sind mit diesen nicht vergleichbar.

Anhand dieser Kurven kann, wie bei Farinogrammen, ebenfalls das Knetoptimum bestimmt werden. Weiterhin zeigten sich, je nach Weizensorte, Unterschiede in den Kurvenverläufen, die backstarke bzw. backschwache Mehle widerspiegeln.

Nachdem das neue Knet-Messgerät fertiggestellt war, wurde damit der MOMT entwickelt. Dabei stellte sich heraus, dass die besten Backergebnisse bei einer Knetgeschwindigkeit von 300 U/min erzielt wurden. Ein Vorteil des neuen Gerätes und des MOMT war, dass 12 Teige pro Stunde (h) hergestellt werden konnten, während bei den bisherigen Mikrobackversuchen nur 3 Teige pro h möglich waren.

Die Korrelationsberechnungen zeigten, dass der MOMT hoch mit dem Rapid-Mix-Test (RMT) korreliert war ($r_{\text{MOMT/RMT}} = 0,84$; $p = < 0,001$). Zusätzlich korrelierten die indirekten Parameter auch sehr gut mit dem MOMT-Volumen. Vor allem etablierte indirekte Qualitätsparameter wie der Rohproteingehalt ($r_{\text{MOMT/Rohprotein}} = 0,82$; $p = < 0,001$) oder der Gesamtglutengehalt ($r_{\text{MOMT/Gluten}} = 0,80$; $p = < 0,001$) zeigten starke Korrelationen mit dem MOMT. Somit wird durch den MOMT die Backqualität zuverlässig bestimmt, so dass er eine Alternative zum RMT darstellt.

Die Korrelationsanalyse zwischen dem neu entwickelten MOMT und dem indirekten Parameter des GMP-Gehaltes zeigte, dass das Brotvolumen und der GMP-Gehalt nur bedingt linear miteinander korrelierbar sind. Zu geringe GMP-Gehalte in Mehlen wirken sich nur geringfügig auf das Backverhalten aus, während sehr hohe GMP-Gehalte in Verbindung mit den HMW-UE Dx5, Bx7, Dy9 und Dy10 sich negativ auf das Backvolumen auswirken können, da ein starkes Klebergerüst der Gasausdehnung während der Gare entgegenwirkt. Insgesamt betrachtet, wirkt sich der GMP-Gehalt auf die Backqualität nur dann positiv aus, wenn es in der richtigen Menge und entsprechenden Zusammensetzung der HMW-UE vorliegt.

Die vorliegende Arbeit hat das Potential der LC-MS/MS zur Aufklärung von Proteinstrukturen gezeigt. Die nachgewiesenen Disulfidbindungen stützen die Vorstellungen zur Struktur der hochmolekularen GLUT. Defizite bestehen hingegen weiterhin darin, dass funktionelle Eigenschaften von Weizenmehlen, insbesondere die Backqualität nur unvollständig durch die Struktur und Zusammensetzung der Kleberproteine erklärt werden können.

6 Literatur

AACCI (American Association of Cereal Chemists International): Approved Methods, 10th Edition, AACCC, Advancing cereal science worldwide, **2000**.

Adeyemi I., Muller H.: Effect of disulphide-cleaving reagents in the Zeleny sedimentation test, *J. Cereal Sci.* **1983**, 1, 215-220.

Anderson O., Greene F., Yip R., Halford N., Shewry P., Malpica-Romero J.: Nucleotide sequences of the two high-molecular-weight glutenin genes from the D-genome of a hexaploid bread wheat, *Triticum aestivum L. cv Cheyenne*, *Nucleic Acids Res.* **1989**, 1, 461-462.

Anfinsen C., Scheraga H.: Experimental and theoretical aspects of protein folding, *Adv. Protein Chem.* **1975**, 29, 205-300.

Antes S., Wieser H.: Quantitative determination and localization of thiol groups in wheat flour, in Shewry P., Tatham A. eds., *Wheat Gluten*, Spec. Publ.-R Soc. Chem. **2000**, 211-214.

Axford D., Mc Dermott E., Redman D.: Small-scale test of breadmaking quality, *Milling Feed Fertilizer* **1978**, 161, 18-19.

Axford D., McDermott E., Redman D.: Note on the sodium dodecylsulfate test of bread making quality comparison with Pelshenke and Zeleny tests, *Cereal Chem.* **1979**, 56, 582-584.

Bailey C.: A translation of Beccari's lecture "Concerning Grain" (1728), *Cereal Chem.* **1941**, 18, 555-561.

Békés F., Lukow O., Uthayakumaran S., Mann G.: Small-scale quality measurements, in Shewry P., Lookhart G. eds., *Wheat gluten protein analysis*, AACCC international press, St. Paul/MN/USA, **2003**, 173-198.

Belderok B.: Developments in bread-making processes, *Plant Food Hum. Nutr.* **2000**, 55, 1-14.

Belitz H.-D., Grosch W., Schieberle P.: *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*, 5. Auflage, Springer Verlag, Berlin/Heidelberg/New York, **2001**.

Belton P.: On the elasticity of wheat gluten, *J. Cereal Sci.* **1999**, 29, 103-107.

Bicsak R.: Comparison of Kjeldahl method for determination of crude protein in cereal grains and oilseeds with generic combustion method: collaborative study, *J. AOAC Int.* **1993**, 76, 780-786.

Biemann K.: Nomenclature for peptide fragment ions (positive-ions), *Methods Enzymol.* **1990**, 193, 886-887.

Bietz J., Wall J.: Wheat gluten subunits: molecular weights determined by sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis, *Cereal Chem.* **1972**, 49, 416-430.

Bietz J., Wall J.: Isolation and characterization of gliadin-like subunits from glutenin, *Cereal Chem.* **1973**, 50, 537-547.

Bietz J., Huebner F.: Structure of gluten: achievements at the northern regional research center, *Ann. Techn. Agric.* **1980**, 29, 249-277.

Bietz J., Wall J.: Identity of high molecular-weight gliadin and ethanol-soluble glutenin subunits of wheat – relation to gluten structure, *Cereal Chem.* **1980**, 57, 415-421.

Bloch J., Kaboulou A., Compoint J., Marion D.: Amphiphilic proteins from wheat flour: specific extraction, structure and lipid binding properties, in Bushuk W., Tkachuk R. eds., *Gluten proteins 1990*, AACC, St. Paul/MN/USA, **1991**, 314-325.

Bloksma A.: Rheology of the breadmaking process, *Cereal Foods World* **1990**, 35, 228-236.

Bömer A., Juckenack A., Tillmans J.: *Handbuch der Lebensmittelchemie, V. Band: Getreidemehle, Honig, Zucker, Früchte, Gemüse*, Hrsg.: Juckenack A., Bames E., Bleyer B., 1. Auflage, Springer Verlag, Berlin, Deutschland, **1938**.

Bolling H.: *Wissenschaftliche Grundlagen für eine Graduierung von Weizen, Mühle + Mischfuttertechnik* **1969**, 106, 799-801.

Bottomley R., Kearns H., Schofield J.: Characterisation of wheat flour and gluten proteins using buffers containing sodium dodecyl sulphate, *J. Sci. Food Agric.* **1982**, 33, 481-491.

Brown T., Jones M., Powell W., Allaby R.: The complex origins of domesticated crops in the fertile crescent, *Trends Ecol. & Evol.* **2009**, 24, 103-109.

Bundessortenamt: Allelliste: Weichweizen und Spelzweizen, Stand: **01.12.2011**.

Bundessortenamt: Beschreibende Sortenliste für Getreide, Mais, Öl- und Faserpflanzen, Leguminosen, Rüben, Zwischenfrüchte, Hrsg.: Bundessortenamt, Hannover, Deutschland, **2017**.

Bushuk W., Khan K., McMaster G.: Functional glutenin: A complex of covalently and non-covalently linked components, *Ann. Technol. Agric.* **1980**, 29, 279-294.

Burnouf T., Bouriquet R.: Glutenin subunits of genetically related European hexaploid wheat cultivars: their relation to bread-making quality, *Theor. Appl. Genet.* **1980**, 58, 107-111.

Casier J., DePaepe G., Brummer J.: Effect of water-soluble wheat and rye pentosans on the baking properties derived from wheat flours and other raw materials, *Getreide, Mehl und Brot* **1973**, 27, 36-43.

Chung O., Pomeranz Y., Finney K.: Relation of polar lipid content to mixing requirement and loaf volume potential of hard red winter wheat flour, *Cereal Chem.* **1982**, 59, 14-20.

Cinco-Moroyoqui F., MacRitchie F.: Quantitation of LMW-GS to HMW-GS ratio in wheat flours, *Cereal Chem.* **2008**, 85, 824-829.

Coon J., Syka J., Schwartz J., Shabanowitz J., Hunt D.: Anion dependence in the partitioning between proton and electron transfer in ion/ion reactions, *Int. J. Mass Spectrom.* **2004**, 236, 33-42.

Coon J.: Collisions or electrons? Protein sequence analysis in the 21st century, *Anal. Chem.* **2009**, 81, 3208-3215.

Cornec M., Popineau Y., Lefebvre J.: Characterization of gluten subfractions by SE-HPLC and dynamic rheological analysis in shear, *J. Cereal Sci.* **1994**, 19, 131-139.

Dachkevitch T., Autran J.: Prediction of baking quality of bread wheats in breeding programs by size-exclusion high-performance liquid chromatography, *Cereal Chem.* **1989**, 66, 448-456.

Danno G., Kanazawa K., Nataka M.: Extraction of wheat flour proteins with sodium dodecyl sulfate and their molecular weight distribution, *Agric. Biol. Chem.* **1974**, 38, 1947-1953.

Dennett A., Wilkes M., Trethowan R.: Characteristics of modern triticale quality: the relationship between carbohydrate properties, α -amylase activity, and falling number, *Cereal Chem.* **2013**, 90, 594-600.

Destatis (Statistisches Bundesamt), www.destatis.de/DE/PresseService/Presse/Pressemitteilungen/2014/12/PD14_465_412.html, **12.03.2016**.

Dobraszczyk B., Morgenstern M.: Rheology and the breadmaking process, *J. Cereal Sci.* **2003**, 38, 229-245.

Don C., Lichtendonk W., Plijter J., Hamer R.: Glutenin macropolymer: a gel formed by glutenin particles, *J. Cereal Sci.* **2003**, 37, 1-7.

D'Ovidio R., Simeone M., Masci S., Porceddu E., Kasarda D.: Nucleotide sequence of a γ -type glutenin gene from a durum wheat: Correlation with a γ -type glutenin subunit from the same biotype, *Cereal Chem.* **1995**, 72, 443-449.

Ebertshäuser C., Stocker M.: *Brot, Symbol für Natur, Leben und Kultur*, 1. Auflage, EOS Verlag, München, **2004**.

Eckert B., Amend T., Belitz H-D.: The course of the SDS and Zeleny sedimentation tests for gluten quality and related phenomena studied in the light microscope, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1993**, 196, 122-125.

Edman P.: Method of the determination of the amino acid sequence in peptides, *Acta Chem. Scand.* **1950**, 4, 283-293.

Ewart J.: A modified hypothesis for the structure and rheology of glutelins, *J. Sci. Food Agric.* **1972**, 23, 687-699.

Ewart J.: Glutenin structure, *J. Sci. Food Agric.* **1979**, 30, 482-492.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations): *Der Weltbericht zu Hunger und Unterernährung*, Hrsg.: FAO, Rom, **2000**, 31.

FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations), <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>, **09.06.2017**.

Feuillet C., Langridge P., Waugh R.: Cereal breeding takes a walk on the wild side, *Trends Genet.* **2008**, 24, 24-32.

Finney K.: Fractionating and reconstituting techniques as tools in wheat flour research, *Cereal Chem.* **1943**, 20, 381-396.

Finney K., Barmore M.: Loaf volume and protein content of hard winter and spring wheats, *Cereal Chem.* **1948**, 25, 291-312.

Fleurent E.: Sur une méthode chimique d'appréciation de la valeur boulangère des farines de blé, *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences*, Paris, **1896**, 123, 755-758.

Freimann G.: Abschied vom Eiweißgehalt, DLG-Mitteilungen, Saatgut-Magazin **2005**, 7, 10-14.

Gao L., Bushuk W.: Solubilization of gluten in urea/SDS solutions at elevated temperature, J. Cereal Sci. **1992**, 16, 81-89.

Gerts L., Pareyt B., Delcour J.: Single run HPLC separation coupled to evaporative light scattering detection unravels wheat flour endogenous lipid redistribution during bread dough making, LWT - Food Sci. Technol. **2013**, 53, 426-433.

Gerts L., Pareyt B., Delcour J.: A lipase based approach for studying the role of wheat lipids in bread making, Food Chem. **2014**, 156, 190-196.

GMF (Vereinigung Getreide-, Markt- und Ernährungsforschung): Vom Rohstoff zur Backqualität, Getreide, Mehl und Schrot, Hrsg.: GMF, Bonn, Deutschland, **2004**.

Goesaert H., Brijs K., Veraverbeke W., Courtin C., Gebruers K., Delcour J.: Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality, Trends Food Sci. Tech. **2005**, 16, 12-30.

Graveland A., Bongers P., Bosveld P.: Extraction and fractionation of wheat flour proteins, J. Sci. Food Agric. **1979**, 30, 71-84.

Graveland A., Bosveld P., Lichtendonk W., Marseille J., Moonen J., Scheepstra A.: A model for the molecular structure of the glutenins from wheat flour, J. Cereal Sci. **1985**, 3, 1-16.

Grosch W., Wieser H.: Redox reactions in wheat dough as affected by ascorbic acid, J. Cereal Sci. **1999**, 29, 1-16.

Hagberg S.: A rapid method for determining α -amylase activity, Cereal Chem. **1960**, 37, 218-222.

Halford N., Forde J., Anderson O., Greene F., Shewry P.: The nucleotide and deduced amino acid sequences of an HMW glutenin subunit gene from chromosome 1B of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and comparison with those of genes from chromosomes 1A and 1D, Theor. Appl. Genet. **1987**, 75, 117-126.

Halford N., Field J., Blair H., Urwin P., Moore K. et al.: Analysis of HMW glutenin subunits encoded by chromosome 1A of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) indicates quantitative effects on grain quality, Theor. Appl. Genet. **1992**, 3, 373-378.

Hartl L.: Die Bedeutung des Proteingehaltes von Backweizen aus Sicht der Landwirtschaft, *Getreidetechnologie* **2010**, 9, 111-114.

Hesse M., Meier H., Zeeh B.: *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 7. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart/New York, **2005**.

Hegsted D., Trulson M., Stare F.: Role of wheat and wheat products in human nutrition, *Physiol. Rev.* **1954**, 34, 221-258.

Heinrikson R.: Applications of thermolysin in protein structural analysis, in Hirs C., Timasheff S. eds., *Methods in Enzymology*, Academic Press New York/San Francisco/London, **1977**, 47, 175-189.

Hesser J.: Wheat gluten, a comprehensive study on the production and usage of this vital functional protein, *Getreide, Mehl und Brot* **1994**, 48, 21-25.

Heun M., Schäfer-Pregl R., Klawan D., Castagna R., Accerbi M., Borghi B., Salamini F.: Site of einkorn wheat domestication identified by DNA fingerprinting, *Science* **1997**, 278, 1312-1314.

Hicks C., See H., Ekwebelam C.: The shear rheology of bread dough: modeling, *Rheol. Acta* **2011**, 50, 701-710.

Hoseney R., Finney K., Shogren M., Pomeranz Y.: Functional (breadmaking) and biochemical properties of wheat flour components. II. Role of water-solubles, *Cereal Chem.* **1969**, 46, 117-125.

Hoseney R., Finney K., Pomeranz Y., Shogren M.: Functional (breadmaking) and biochemical properties of wheat flour components. III. Starch, *Cereal Chem.* **1971**, 48, 191-199.

Hoseney C., Finney P.: Mixing – Contrary view, *Baker's Digest* **1974**, 48, 22-28.

Huebner F., Bietz J.: Improved chromatographic separation and characterization of ethanol-soluble wheat proteins, *Cereal Chem.* **1993**, 70, 506-511.

Hüttner S., Wieser H.: Studies on distribution and binding of endogenous glutathione in wheat dough and gluten. I. Distribution of glutathione in Osborne fractions, *Eur. Food Res. Technol.* **2001a**, 213, 329-334.

Hüttner S., Wieser H.: Studies on distribution and binding of endogenous glutathione in wheat dough and gluten. II. Binding sites of endogenous glutathione in glutenins, *Eur. Food Res. Technol.* **2001b**, 213, 460-464.

Hunt D., Yates J., Shabanowitz J., Winston S., Hauer C.: Protein sequencing by tandem mass spectrometry, Proc. Natl. Acad. Sci. **1986**, 83, 6233-6237.

ICC (International Association for Cereal Science and Technology): ICC-Standardmethoden für Getreide, Mehl und Brot, Hrsg.: Arbeitsgemeinschaft Getreideforschung e. V., 7. Auflage, Moritz Schäfer Verlag, Detmold, Deutschland, **1994**.

Jacob H.: Sechstausend Jahre Brot, 1. Auflage, Rowohlt Verlag, Hamburg, **1956**.

Jankiewicz M., Michniewicz J.: The effect of soluble pentosans isolated from rye grain on staling of bread, Food Chem. **1987**, 25, 241-246.

Jelaca S., Hlynka I.: Effect of wheat-flour pentosans in dough, gluten and bread, Cereal Chem. **1972**, 49, 489-495.

Kasarda D., Bernardin J., Nimmo C.: Wheat proteins, in Pomeranz Y. ed., Advances in cereal science and technology, AACC international press, St. Paul/MN/USA, **1979**, 158-236.

Kasarda D.: Gluten structure in relation to wheat quality, in Pomeranz Y. ed., Wheat is Unique, AACC international press, St. Paul/MN/USA, **1989**, 277-302.

Kasarda D.: Glutenin polymers: the in vitro to in vivo transition, Cereal Foods World **1999**, 44, 566-571.

Kasarda D., Woodard K., Adalsteins A.: Resolution of high-molecular-weight glutenin subunits by a new SDS-PAGE system incorporating a neutral pH buffer, Cereal Chem. **1998**, 75, 70-71.

Kazman E.: Die Bedeutung des Proteingehaltes von Backweizen aus Sicht der Pflanzenzüchtung, Getreidetechnologie **2010**, 9, 363-365.

Keck B., Koehler P., Wieser H.: Disulfide bonds in wheat gluten. Cystine peptides derived from gluten proteins following peptic and thermolytic digestion, Z. Lebensm. Unters. Forsch. **1995**, 200, 432-439.

Khan K., Bushuk W.: Glutenin: Structure and functionality in breadmaking, Bakers' Digest **1978**, 58, 14-20.

Khan K., Bushuk W.: Studies of Glutenin. XII. Comparison of sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis of unreduced and reduced glutenin from various isolation and purification procedures, *Cereal Chem.* **1979**, 56, 63-68.

Kieffer R., Belitz H.-D., Zweier M., Ipfelkofer R., Fischbeck G.: Der Rapid-Mix-Test als 10 g Mikrobackversuch, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1993**, 197, 134-136.

Kieffer R., Garnreiter F., Belitz H.-D.: Beurteilung von Teigeigenschaften durch Zugversuche im Mikromaßstab, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1981**, 172, 190-192.

Kieffer R., Wieser H., Henderson M., Graveland A.: Correlations of the breadmaking performance of wheat flour with rheological measurements on a micro-scale, *J. Cereal Sci.* **1998**, 27, 53-60.

Kim S., D'Appolonia B.: Bread staling studies. III. Effect of pentosans on dough, bread, and bread staling rate, *Cereal Chem.* **1977**, 54, 225-229.

Kiraly L., Baticz O., Larroque O., Juhasz A., Tomoskozi S., Bekes F., Guoth A., Abonyi T., Bedo Z.: Relationship between functional properties of wheat dough and the relative proportion of the polymeric fractions, in Lafiandra D., Masci S., D'Ovidio R. eds., *The gluten proteins*, Royal Society of Chemistry, Cambridge/UK, **2004**, 323-326.

Klingler R.: *Grundlagen der Getreidetechnologie*, 2. Auflage, Behr's Verlag, Hamburg, **2010**.

Klose J.: Protein mapping by combined isoelectric focusing and electrophoresis of mouse tissues. A novel approach to testing for induced point mutations in mammals, *Humangenetik* **1975**, 26, 231-243.

Koehler P., Keck B., Wieser H., Kasarda D.: Molecular modeling of the N-terminal regions of high molecular weight glutenin subunits 7 and 5 in relation to intramolecular disulfide bond formation, *Cereal Chem.* **1997**, 74, 154-158.

Koehler P., Wieser H.: Chemistry of cereal grains, in Gobetti M, Gänzle M. eds., *Handbook on sourdough biotechnology*, 1st Edition, Springer, New York/USA, **2013**, 11-45.

Koenig V., Ogrins A., Trimbo H., Miller B.: The electrophoretic analysis of flour from several varieties of hard red winter wheat grown at several locations, *J. Sci. Food Agr.* **1964**, 15, 492-497.

Koerber K., Männle T., Leitzmann C.: *Vollwert-Ernährung, Konzeption einer zeitgemäßen und nachhaltigen Ernährung*, 11. Auflage, Haug Verlag, Stuttgart, **2012**.

Kulp K., Bechtel W.: Effect of water-insoluble pentosan fraction of wheat endosperm on the quality of white bread, *Cereal Chem.* **1963**, 40, 493-504.

Köhler P., Belitz H.-D., Wieser H.: Disulphide bonds in wheat gluten: Isolation of a cystine peptide from glutenin, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1991**, 192, 234-239.

Köhler P., Belitz H.-D., Wieser H.: Disulfide bonds in wheat gluten. Further cystine peptides from high molecular weight (HMW) and low molecular weight (LMW) subunits of glutenin and from gamma-gliadins, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1993**, 194, 239-247.

Laemmli U.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature* **1970**, 227, 680-685.

Lagrain B., Rombouts I., Wieser H., Delcour J., Koehler P.: A reassessment of the electrophoretic mobility of high molecular weight glutenin subunits of wheat, *J. Cereal Sci.* **2012**, 56, 726-732.

Lawrence G., Sheperd K.: Variation in glutenin subunits of wheat, *Aust. J. Biol.* **1980**, 33, 221-233.

Lew. E., Kuzmicky D., Kasarda D.: Characterization of low-molecular-weight glutenin subunits by reversed-phase high-performance liquid chromatography, sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, and N-terminal amino acid sequencing, *Cereal Chem.* **1992**, 69, 508-515.

LfL (Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft): Auswirkungen internationaler Märkte auf die bayerische Land- und Ernährungswirtschaft - Weizen, 1. Auflage, Schriftenreihe ISSN 1611-4159, **2012**.

Lindhauer M.: Brotweizenqualität: Aktueller Status und Perspektiven, Schriftenreihe des Inst. für Pflanzenbau und -züchtung der CAU Kiel **2009**, 63, 139-145.

Lindsay M., Skerritt J.: The glutenin macropolymer of wheat flour doughs: structure-function perspectives, *Trends Food Sci. Tech.* **1999**, 10, 247-253.

Longdon J., LeGrys G.: Differential scanning calorimetry studies on the crystallinity of aging wheat starch gels, *Starch* **1981**, 33, 410-414.

Luo M., Yang Z., You F., Kawahara T., Waines J., Dvorak J.: The structure of wild and domesticated emmer wheat populations, gene flow between them, and the site of emmer domestication, *Theor. Appl. Genet.* **2007**, 114, 947-959.

Lutz E., Wieser H., Koehler P.: Identification of disulfide bonds in wheat gluten proteins by means of mass spectrometry/electron transfer dissociation, *J. Agric. Food Chem.* **2012**, 60, 3708-3716.

MacRitchie F.: Flour lipids and their effects in baking, *J. Sci. Food Agric.* **1977**, 28, 53-58.

Masci S., Lafiandra D., Porceddu E., Lew E., Tao H., Kasarda D.: D-glutenin subunits: N-terminal sequences and evidence for the presence of cysteine, *Cereal Chem.* **1993**, 70, 581-585.

Masci S., Lew E., Lafiandra D., Porceddu E., Kasarda D.: Characterization of low molecular weight subunits in durum wheat by reversed-phase high-performance liquid chromatography and N-terminal sequencing, *Cereal Chem.* **1995**, 72, 100-104.

Matsubara H.: Purification and assay of thermolysin, *Methods Enzymol.* **1970**, 19, 642-651.

Mecham D., Sokol K., Pence J.: Extractable protein and hydration characteristics of flours and doughs in dilute acid, *Cereal Chem.* **1962**, 39, 81-93.

Mecham D., Cole E., Ng H.: Solubilizing effect of mercuric chloride on the "gel" protein of wheat flour, *Cereal Chem.* **1972**, 49, 62-67.

Meredith O., Wren J.: Determination of molecular-weight distribution in wheat-flour proteins by extraction and gel filtration in a dissociating medium, *Cereal Chem.* **1966**, 43, 169.

Michniewicz J., Biliaderis C., Bushuk W.: Water-insoluble pentosans of wheat: composition and some physical properties, *Cereal Chem.* **1990**, 67, 434-439.

Milner M., Christensen C., Geddes W.: Grain storage studies. VI. Wheat respiration in relation to moisture content, mold, growth, chemical deterioration, and heating, *Cereal Chem.* **1947**, 24, 182-199.

Moonen J., Scheepstra A., Graveland A.: Use of the SDS-sedimentation test and SDS-polyacrylamidegel electrophoresis for screening breeder's samples of wheat for bread making quality, *Euphytica* **1982**, 31, 677-690.

Morihara K., Tsuzuki H., Oka T.: Comparison of the specificities of various neutral proteinases from microorganisms, *Arch. Biochem. Biophys.* **1968**, 3, 572-588.

Mueller S., Wieser H.: The location of disulfide bonds in α -type gliadins, *J. Cereal Sci.* **1995**, 22, 21-27.

Mueller S., Wieser H.: The location of disulfide bonds in monomeric γ -type gliadins, *J. Cereal Sci.* **1997**, 26, 169-176.

Münzing K., Lindhauer M.: Die Qualität der deutschen Weizenernte 2010; Teil 2: Mahl- und Backqualität von Weizensorten und -partien in der Bundesrepublik Deutschland, *Mühle + Mischfutter* **2010**, 147, 636-643.

Münzing K., Lindhauer M.: Die Qualität der deutschen Weizenernte 2011; Teil 2: Mahl- und Backqualität von Weizensorten und -partien in der Bundesrepublik Deutschland, *Mühle + Mischfutter* **2011**, 148, 685-693.

Mullen J., Smith D.: Studies on short- and long-mixing flours. I. Solubility and electrophoretic composition of proteins, *Cereal Chem.* **1965**, 42, 263-274.

Neuhoff V., Arold N., Taube D., Ehrhardt W.: Improved staining of proteins in polyacrylamide gels including isoelectric focusing gels with clear background at nanogram sensitivity using Coomassie Brilliant Blue G-250 and R-250, *Electrophoresis* **1988**, 6, 255-262.

Nultsch W., Grahle A.: *Mikroskopisch-Botanisches Praktikum*, 7. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart, **1983**.

O'Farrell P.: High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins, *J. Biol. Chem.* **1975**, 250, 4007-4021.

Osborne T. B.: *The proteins of the wheat kernel*, Carnegie Institution, Publikation Nr. 84, Washington D.C/USA, **1907**.

Payne P., Corfield K., Blackman J.: Identification of a high-molecular-weight subunit of glutenin whose presence correlates with bread-making quality in wheats of related pedigree, *Theor. Appl. Genet.* **1979**, 55, 153-159.

Payne P., Corfield K., Holt L., Blackman J.: Correlations between the inheritance of certain high-molecular-weight subunits of glutenin and bread-making quality in progenies of six crosses of bread wheat, *J. Sci. Food Agric.* **1981a**, 32, 51-60.

Payne P., Holt L., Law C.: Structural and genetical studies on the high-molecular-weight subunits of wheat glutenin: Part 1: Allelic variation in subunits amongst varieties of wheat (*Triticum aestivum*), *Theor. Appl. Genet.* **1981b**, 60, 229-230.

Payne P.: Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality, *Ann. Rev. Plant Physiol.* **1987**, 38, 141-153.

Payne P., Nightingale M., Krattiger A., Holt L.: The relationship between HMW glutenin subunit composition and bread-making quality of British-grown wheat varieties, *J. Sci. Food Agric.* **1987**, 40, 51-65.

Pelshenke P., Schulz A., Stephan H.: Rapid-Mix-Test (RMT), Standard-Backversuch für Weizenmehle der Type 550, Merkblatt der Arbeitsgemeinschaft Getreideforschung e.V., 3. Auflage, Detmold, Deutschland, **2007**.

Pence J., Weinstein N., Mecham D.: The albumin and globulin contents of wheat flour and their relationship to protein quality, *Cereal Chem.* **1954**, 31, 303-311.

Perkins D., Pappin D., Creasy D., Cottrell J.: Probability-based protein identification by searching sequence databases using mass spectrometry data, *Electrophoresis* **1999**, 20, 3551-3567.

Pomeranz Y.: Interaction between glycolipids and wheat flour macromolecules in breadmaking, *Adv. Food Res.* **1973**, 20, 153-188.

Preston K., Kilborn R., Black H.: The GRL pilot mill. II. Physical dough and baking properties of flour streams milled from Canadian red spring wheats, *Can. Inst. Food Sci. Tec. J.* **1982**, 15, 29-36.

Raiffeisen: www.raiffeisen.com/pflanzen/ackermanager/weizen_html, **30.08.2016**.

Roepstorff P., Fohlmann J.: Proposal for a common nomenclature for sequence ions in mass-spectra of peptides, *Biomed. Mass Spectrom.* **1984**, 11, 601.

Rouau X., Surget A.: A rapid semi-automated method for the determination of total and water-extractable pentosans in wheat flours, *Carbohydr. Polym.* **1994**, 24, 123-132.

Sanger F., Tuppy H.: The amino-acid sequence in the phenylalanyl chain of insulin. I. The identification of lower peptides from partial hydrolysates, *Biochem. J.* **1951**, 49, 463-481.

Sapone A., Bai J., Ciacci C., Dolinsek J., Green P., Hadjivassiliou M., Kaukinen K., Rostami K., Sanders D., Schumann M., Ullrich R., Villalta D., Volta U., Catassi C., Fasano A.: Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification, *BMC Med.* **2012**, 10, 13.

Schaffarczyk M., Østdal H., Koehler P.: Lipases in wheat breadmaking: analysis and functional effects of lipid reaction products, *J. Agric. Food Chem.* **2014**, 62, 8229-8237.

Schaffarczyk M., Østdal H., Matheis O., Koehler P.: Relationships between lipase-treated wheat lipid classes and their functional effects in wheat breadmaking, *J. Cereal Sci.* **2016**, 68, 100-107.

Scherf K., Köhler P., Wieser H.: Gluten and wheat sensitivities - an overview, *J. Cereal Sci.* **2016**, 67, 2-11.

Schmid M., Wieser H., Koehler P.: Isolation and characterization of high-molecular-weight (HMW-) gliadins from wheat flour, *Cereal Chem.* **2016**, 93, 536-542.

Schmid M., Wieser H., Koehler P.: Disulphide structure of high-molecular-weight (HMW-) gliadins as affected by terminators, *J. Cereal Sci.* **2017**, doi: 10.1016/j.jcs.2016.12.007.

Scholz E.: Karl-Fischer-Titration, Methoden zur Wasserbestimmung, 1. Auflage, Springer Verlag, Berlin/Heidelberg/New York, **1984**.

Schrader B.: Analytische, teigrheologische und backtechnische Studien zur Optimierung des Weizen-Backversuches, Rapid-Mix-Test, Universität Bonn, **1984**.

Seling S.: Die Bedeutung des Proteingehaltes von Backweizen aus Sicht der Wissenschaft, *Getreidetechnologie* **2010**, 02, 103-110.

Shewry P., Mifflin B., Lew E., Kasarda D.: The preparation and characterization of an aggregated gliadin fraction from wheat, *J. Exp. Bot.* **1983**, 34, 1403-1410.

Shewry P., Tatham A., Forde J., Kreis M., Mifflin B.: The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: a reassessment, *J. Cereal Sci.* **1986**, 2, 97-106.

Shewry P., Halford N., Tatham A.: High molecular weight subunits of wheat glutenin, *J. Cereal Sci.* **1992**, 15, 105-120.

Shewry P., Tatham A.: Disulphide bonds in wheat gluten proteins, *J. Cereal Sci.* **1997**, 25, 207-227.

Singh J., Blundell M., Tanner G., Skerritt J.: Albumin and globulin proteins of wheat flour: immunological and N-terminal sequence characterisation, *J. Cereal Sci.* **2001**, 34, 85-103.

Singh H., MacRitchie F.: Application of polymer science to properties of gluten, *J. Cereal Sci.* **2001**, 33, 231-243.

Sissons M., Blundell M., Hill A., Skerritt J.: Antibodies to N-terminal peptides of low M_r subunits of wheat glutenin. 2. Detection of subunits encoded by different loci, *J. Cereal Sci.* **1999**, 30, 267-281.

Souci S., Fachmann W., Kraut H.: Food composition and nutrition tables. Die Zusammensetzung der Lebensmittel, Nährwert-Tabellen. La composition des aliments, tableaux des valeurs nutritive, 7. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, Deutschland, **2008**.

Souci S., Fachmann W., Kraut H.: Lebensmitteltabelle für die Praxis, 5. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, **2011**.

Southan M., MacRitchie F.: Molecular weight distribution of wheat proteins, *Cereal Chem.* **1999**, 76, 827-836.

Syka J., Coon J., Schroeder M., Shabanowitz J., Hunt D.: Peptide and protein sequence analysis by electron transfer dissociation mass spectrometry, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2004**, 101, 9528-9533.

Tao H., Adalsteins A., Kasarda D.: Intermolecular disulfide bonds link specific high molecular weight glutenin subunits in wheat endosperm, *Biochem. Biophys. Acta* **1992**, 1159, 13-21.

Tatham A., Mifflin B., Shewry P.: The beta-turn conformation in wheat gluten proteins: relationship to gluten elasticity, *Cereal Chem.* **1985**, 62, 405-412.

Thanhaeuser S., Wieser H., Koehler P.: Correlation of quality parameters with the baking performance of wheat flours, *Cereal Chem.* **2014**, 91, 333-341.

Tanner R., Fuzhong Q., Dai S-C.: Bread dough rheology and recoil I. Rheology, *J. Non-Newtonian Fluid Mech.* **2008**, 148, 33-40.

Tipples K., Kilborn R.: Dough development for shorter breadmaking processes, *Baker`s Digest* **1974**, 48, 34-39.

Uthayakumaran S., Newberry M., Phan-Thien N., Tanner R.: Small and large strain rheology of wheat gluten, *Rheol. Acta* **2002**, 41, 162-172.

Van Eckert R., Berghofer E., Ciclitira P., Chirido F., Denery-Papini S., Ellis H., Ferranti P., Goodwin P., Immer U., Mamone G., Mendez E., Mothes T., Novalin S., Osman A., Rumbo M., Stern M., Thorell L., Whim A., Wieser H.: Towards a new gliadin reference material-isolation and characterisation, *J. Cereal Sci.* **2006**, 43, 331-341.

Vickery H.: Thomas Burr Osborne (1859-1929), *Biographical Memoirs* **1931**, 14, 261-304.

Wang J., Pawelzik E., Weinert J., Zhao Q., Wolf G.: Factors influencing falling number in winter wheat, *Eur. Food Res. Technol.* **2008**, 226, 1365-1371.

Weegels P., Hamer R., Schofield J.: RP-HPLC and capillary electrophoresis of subunits from glutenin isolated by SDS and Osborne fractionation, *J. Cereal Sci.* **1995**, 22, 211-224.

Weegels P., Hamer R., Schofield J.: Functional properties of wheat glutenin, *J. Cereal Sci.* **1996a**, 25, 207-227.

Weegels P., van de Pijpekamp A., Graveland A., Hamer R., Schofield J.: Depolymerization and re-polymerization of wheat glutenin during dough processing. I. Relationships between glutenin macropolymer content and quality parameters, *Cereal Sci.* **1996b**, 23, 103-111.

Werbeck U., Belitz H.-D.: Stepwise reduction of wheat glutelin by mercaptoethanol and dithioerythritol. I. Investigations by gel permeation chromatography, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1988**, 187, 20-26.

Werbeck U., Belitz H.-D.: Partial reduction of wheat glutelin by mercaptoethanol and dithioerythritol. Part 3. Reoxidation of HMW and LMW subunits from glutenin, and of reduced gliadin, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1993**, 19, 116-121.

Wieser H., Seilmeier W., Egger M., Belitz H.-D.: Tryptophangehalt von Getreideproteinen, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1983**, 177, 457-460.

Wieser H., Mödl A., Seilmeier W., Belitz H.-D.: High-performance liquid chromatography of gliadins from different wheat varieties: Amino acid composition and N-terminal amino acid sequence of components, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1987**, 185, 371-378.

Wieser H., Seilmeier W., Belitz H.-D.: Characterization of ethanol-extractable reduced subunits of glutenin separated by reversed-phase high-performance liquid chromatography, *J. Cereal Sci.* **1990**, 12, 63-71.

Wieser H., Seilmeier W., Belitz H.-D.: Quantitative determination of gliadin subgroups from different wheat cultivars, *J. Cereal Sci.* **1994**, 19, 149-155.

Wieser H.: Relation between gliadin structure and coeliac toxicity, *Acta. Paediatr. Suppl.* **1996**, 412, 3-9.

Wieser H., Antes S., Seilmeier W.: Quantitative determination of gluten protein types in wheat flour by reversed-phase high-performance liquid chromatography, *Cereal Chem.* **1998**, 75, 644-650.

Wieser H., Mueller S.: Disulfide bonds of α - and γ -type gliadins, *Spec. Publ. - R. Soc. Chem.* **2000**, 212, 63-69.

Wieser H., Kieffer R.: Correlations of the amount of gluten protein types to the technological properties of wheat flours determined on a micro-scale, *J. Cereal Sci.* **2001**, 34, 19-27.

Wieser H.: The use of redox agents in breadmaking, in Cauvain S. ed., *Breadmaking - improving quality*, 2. Auflage, Woodhead Publishing, Cambridge/UK, **2003**, 447-469.

Wieser H., Bushuk W., MacRitchie F.: The polymeric glutenins, in Wrigley C., Békés F., Bushuk W. eds., *Gliadin and glutenin - the unique balance of wheat quality*, AACC international press, St. Paul/MN/USA, **2006**, 213-239.

Wieser H.: Chemistry of gluten proteins, *Food Microbiol.* **2007**, 24, 115-119.

Wieser H., Koehler P.: Is the calculation of the gluten content by multiplying the prolamin content by a factor of 2 valid?, *Eur. Food Res. Technol.* **2009**, 229, 9-13.

Wieser H., Koehler P., Konitzer K.: *Celiac disease and gluten - multidisciplinary challenges and opportunities*, 1. Auflage, Elsevier Verlag, London/UK, **2014**.

Wrigley C.: Giant proteins with flour power, *Nature* **1996**, 381, 738-739.

Wrigley C., Békés F., Bushuk W.: Gluten: A balance of gliadin and glutenin, in Wrigley C., Békés F., Bushuk W. eds., *Gliadin and Glutenin – the unique balance of wheat quality*, AACC international press, St. Paul, MN/USA, **2006**, 3-32.

Wu S., Jiang H., Lu Q., Dai S., Hancock W., Karger B.: Mass spectrometric determination of disulfide linkages in recombinant therapeutic proteins using online LC-MS with electron-transfer dissociation, *Anal. Chem.* **2009**, 81, 112-122.

Zehatschek W.: Das Elektrophoresemuster von Weizenglutinin bei Sorten mit unterschiedlichem Qualitätsniveau, *Getreide, Mehl und Brot* **1980**, 34, 239-243.

Zeleny L.: A simple sedimentation test for estimating the bread-baking and gluten qualities of wheat flour, *Cereal Chem.* **1947**, 24, 465-475.

Ziehr W., Bühler E., Währen M.: *Das Brot von der Steinzeit bis Heute*, 1. Auflage, Atlantis Verlag, Herrsching/Luzern, **1984**.

7 Anhang

7.1 Aminosäuresequenzen

Tabelle 7.1: Aminosäuresequenz eines γ -Gliadins, UniProtKB: B6UKN9
(Gen: II929, Organismus: *Triticum aestivum*, zuletzt modifiziert: 2008)

10	20	30	40	50
NMQVDPSGQV	QWPQQQPFQ	PQQPF C QQPQ	RTIPQPHQTF	HHQPQQTFPQ
60	70	80	90	100
PQQTYPHQPQ	QQFPQTQQPQ	QPFQPQQQTF	PQQPQLPFPQ	QRQQPFQPQTQ
110	120	130	140	150
QPQQLFPPQSQ	QPQQQFSQPQ	QQFPQPQQPQ	QSFPQQQPPF	IQPSLQQQVN
160	170	180	190	200
P CKNFL L QQ C	KPVSLVSSLW	SMIWPQSD C Q	VMRQQ CC QQL	AQIPQQ L Q CA
210	220	230	240	250
AIHTVIHSII	MQQEQQQGMH	ILLPLYQQQQ	VGQGTLVQGG	GIIQPQQPAQ
260	270	280	290	
LEAIRSLVLQ	TLPTM C NVYV	PPE C SIIKAP	FSSVVAGIGG	Q

Tabelle 7.2: Aminosäuresequenz eines γ -Gliadins, UniProtKB: D0ES85
(Gen: N/A, Organismus: *Triticum aestivum*, zuletzt modifiziert: 2009)

10	20	30	40	50
NMQVDPSGQV	QWPQQQPLPQ	PQQPF C EQPQ	RTIPQPHQTF	HHQPQQTFPQ
60	70	80	90	100
PEQTYPHQPQ	QQFPQTQQPQ	QPFQPQQQTF	PQQPQLPFPQ	QPQQPFQPQPQ
110	120	130	140	150
QPQQPFPPQSQ	QPQQPFQPQPQ	QQFPQPQQPQ	QSFPQQQQPA	IQSFLQQQMN
160	170	180	190	200
P CKNFL L QQ C	NHVSLVSSLV	SIILSRSD C Q	VMQQQ CC QQL	AQIPQQ L Q CA
210	220	230	240	250
AIHSVAHSII	MQQEQQQGVP	ILRPLFQLAQ	GLGIIQPQQP	AQLEGIRSLV
260	270	280		
LKTLPTM C NV	YVPPD C STIN	VPYANIDAGI	GGQ	

Tabelle 7.3: Aminosäuresequenz einer LMW-UE, UniProtKB: P10386
(Gen: N/A, Organismus: *Triticum aestivum*, zuletzt modifiziert: 1989)

Beispiel für eine Sequenz ohne C^b*

10	20	30	40	50
RCIPGLERPW	QQQPLPPQQT	FPQQPLFSQQ	QQQQLFPQQP	SFSQQQPPFW
60	70	80	90	100
QQQPPFSQQQ	PILPQQPPFS	QQQQLVLPQQ	PPFSQQQQPV	LPPQQSPFPQ
110	120	130	140	150
QQQQHQQLVQ	QQIPVVQPSI	LQQLNPC ^b KVF	LQQQC ^b SPVAM	PQRLARSQML
160	170	180	190	200
QQSSCHVMQQ	QCCQQLPQIP	QQSRYEAIRA	IIYSIILQEQ	QQVQGSIQSQ
210	220	230	240	250
QQQPQQLGQC	VSQPQQSQSQ	QLGQQPQQQQ	LAQGTFLQPH	QIAQLEVMTS
260	270	280		
IALRILPTMC	SVNVPLYRRT	TSVPFGVGTG	VGAY	

Tabelle 7.4: Aminosäuresequenz einer LMW-UE, UniProtKB: Q52NZ4
(Gen: N/A, Organismus: *Triticum aestivum*, zuletzt modifiziert: 2005)

Beispiel für eine Sequenz ohne C^b*

10	20	30	40	50
QMETS ^b CIPGL	ERPWQQQPLP	PQQT ^b LFPPQQ	PPFQQQPPFS	QQQPSFSQQQ
60	70	80	90	100
PPFSQQQPIL	PQPPFSLQQQ	PVLPQQSPFS	QQQQLILPPQ	QQQQLPQQQI
110	120	130	140	150
PIVQPSVLQQ	LNP ^b CKVFLQQ	QC ^b SPVAMPQR	LARSQMWQQS	RCHVMQQQ ^b CC
160	170	180	190	200
QQLSQIPEQS	RYDAIRAITY	SIILQEQQQG	FVQAQQQQPQ	QSGQGVSSQSQ
210	220	230	240	250
QQSQQQLGQC	SFQQPQQQLG	QQPQQQQQQV	LQGTFLQPHQ	IAHLEAVTSI
260	270	280		
ALRTLPTMC ^b S	VNVPLYSATT	SVPFAVGTGV	SAY	

Tabelle 7.5: Aminosäuresequenz einer LMW-UE, UniProtKB: B2Y2Q7
(Gen: GluB3-2, Organismus: *Triticum aestivum*, zuletzt modifiziert: 2008)

10	20	30	40	50
QMENSHIPGL	ERPSQQQPLP	PQQTLSHHHQ	QQPIQQQPQP	FSQQQP CS QQ
60	70	80	90	100
QQQPLSQQQQ	PPFSQQQPPF	SQQQQQPLSQ	QQQPPFSQQQ	PPFSQQQPP
110	120	130	140	150
FSQQQPPFSQ	QQQPVLPPQP	SFSQQQLPPF	SQQQSPFSQQ	QQIVLQQQPP
160	170	180	190	200
FLQQQQPSLP	QQPPFSQQQQ	QLVLPQQQIP	FVHPSILQQL	NP CK VFLQQQ
210	220	230	240	250
C SPVAMPQSL	ARSQMLQQSS	CH VMQQQ CC Q	QLPQIPQQSR	YEAIRAIIS
260	270	280	290	300
IILQEQQQVQ	GSIQTPQQQP	QQLGQ C VSQP	QQQSQQQLGQ	QPQQQQLAQG
310	320	330	340	350
TFLQPHQIAQ	LEVMTSIALR	TLPTM C RVNV	PLYRTTTSVP	FGVGTGVGSY

Tabelle 7.6: Aminosäuresequenz einer LMW-UE, UniProtKB: D3U39
(Gen: LMW-GS, Organismus: *Triticum aestivum*, zuletzt modifiziert: 2010)

10	20	30	40	50
QMENSHIPGL	ERPSQQQPLP	PQQTLSHHHQ	QQPIQQQPHQ	FPQQQP CS QQ
60	70	80	90	100
QQQPPLSQQQ	QPPFSQQQQP	PFSQQQQPVL	PQQPSFSQQQ	LPPFSQQQPP
110	120	130	140	150
PFSQQQQPVL	PQQPSFSQQQ	LPPFSQQQLP	FSQQQQPVLP	QQPPFSQQQL
160	170	180	190	200
PPFSQQQLPP	SQQQQPVLPQ	QPPFSQQQQQ	PILPQQPPFS	QQQQPVLLQQ
210	220	230	240	250
QIPFVHPSIL	QQLNP CK VFL	QQQ C SPVAMP	QSLARSQMLQ	QSS CH VMQQQ
260	270	280	290	300
CC QQLPQIPQ	QSRYEAIRAI	VYSIILQEQQ	QVQGSIQTQQ	QQPQQLGQ C V
310	320	330	340	350
SQPQQQSQQQ	LGQQPQQQQL	AHGTFLQPHQ	IAQLEVMTSI	ALRTLPTM C N
360	370			
VNVPLYRTTT	RVPFGVGTGV	GGY		

Tabelle 7.7: Aminosäuresequenzfragment einer LMW-UE, UniProtKB: Q41549
(Gen: Glu-3, Organismus: *Triticum aestivum*, zuletzt modifiziert: 1996)

10	20	30	40	50
FALIAVVATS	AIAQMETSHI	PSLEKPLQQQ	PLPLQQILWY	QQQQPIQQQP
60	70			
QPFPPQQPP CS	QQQQPPLSQQ	QQ		

Tabelle 7.8: Aminosäuresequenz der HMW-UE Dx2, UniProtKB: D0IQ07
(Gen: Glu-D1, Organismus: *Triticum aestivum*, zuletzt modifiziert: 2009)

Winnetou beinhaltet diese HMW-UE

10	20	30	40	50
EGEASEQLQC	ERELQELQER	ELKACQQVMD	QQLRDISPEC	HPVVVSPVAG
60	70	80	90	100
QYEQQIVVPP	KGGSFYFGET	TPPQQLQORI	FWGIPALLKR	YYPSTSPQQ
110	120	130	140	150
VSYYPGQASP	QRPQGQQPG	QGQQSGGQQ	GYYPTSPQQP	GQWQQPEQQQ
160	170	180	190	200
PGYYPTSPQQ	PGQLQQPAQG	QQPGQGQQGR	QPGQGQPGYY	PTSSQLQPGQ
210	220	230	240	250
LQQPAQGQQG	QQPGQGQQGQ	QPGQGQQPGQ	GQQGQQPGQG	QQPGQGQQGQ
260	270	280	290	300
QLGQGQQGY	PTSLQQQPGY	YPTSLQQLGQ	GQSGYYPTSP	QQPGQGQQPG
310	320	330	340	350
QLQQPAQGQQ	PEQGQQGQQP	GQGQQGQQPG	QGQQPGQGQP	GYYPTSPQQS
360	370	380	390	400
GQGQPGYYPT	SSQQPTQSQQ	PGQGQQGQQV	GQGQQAQQPG	QGQQPGQGQP
410	420	430	440	450
GYYPTSPLQS	GQGQPGYYLT	SPQQSGGQQ	PGQLQQSAQG	QKGQQPGQGQ
460	470	480	490	500
QPGQGQQGQQ	PGQGQQGQQP	GQGQPGYYPT	SPQQSGGQQ	PGQWQQPGQG
510	520	530	540	550
QPGYYPTSPL	QPGQGQPGYD	PTSPQQPGQG	QQPGQLQQPA	QGQQGQQLAQ
560	570	580	590	600
GQQGQQPAQV	QQGQQPAQGQ	QGQQLGQGQQ	GQQPGQGQQP	AQGQQGQQPG
610	620	630	640	650
QGQQGQQPGQ	GQQPGQGQPW	YYPTSPQESG	QGQQPGQWQQ	PGQWQQPGQG
660	670	680	690	700
QPGYYLTSPL	QLGQGQQGY	PTSLQQPGQG	QQPGQWQQSG	QGQHGYPTS
710	720	730	740	750
PQLSGGQRP	GQWLQPGQGQ	QGYPTSPQQ	SGQGQQLGQW	LQPGQGQQGY
760	770	780	790	800
YPTSLQQTGQ	GQQSGQGQQG	YSSYHVSVE	HQAASLKVAK	AQQLAAQLPA
810				
MCRLEGGDAL	SASQ			

Tabelle 7.9: Aminosäuresequenz der HMW-UE Dx5, UniProtKB: P10388
(Gen: Glu-1D-1D, Organismus: *Triticum aestivum*, zuletzt modifiziert: 2010)

Akteur beinhaltet diese HMW-UE

10	20	30	40	50
EGEASEQLQC	ERELQELQER	ELKACQQVMD	QQLRDISPEC	HPVVVSPVAG
60	70	80	90	100
QYEQQIVVPP	KGGSFYFGET	TPPQQLQORI	FWGIPALLKR	YYPSVTCPQQ
110	120	130	140	150
VSYYPGQASP	QRPGQGQQPG	QGQQGYPTS	PQQPGQWQQP	EQGQPRYYPT
160	170	180	190	200
SPQQSGQLQQ	PAQGQQPGQG	QQGQQPGQGQ	PGYYPTSSQL	QPGQLQQPAQ
210	220	230	240	250
GQQGQQPGQA	QQGQQPGQGQ	QPGQGQQGQQ	PGQGQQPGQG	QQGQQLGQGQ
260	270	280	290	300
QGYYPSTLQQ	SGQGQPGYYP	TSLQQLGQGQ	SGYYPTSPQQ	PGQGQQPGQL
310	320	330	340	350
QQPAQGQQPG	QGQQGQQPGQ	GQQGQQPGQG	QQPGQGQPGY	YPTSPQQSGQ
360	370	380	390	400
GQPGYYPTSS	QQPTQSQQPG	QGQQGQQVQG	GQQAQQPGQG	QQPGQGQPGY
410	420	430	440	450
YPTSPQQSGQ	GQPGYYLTSP	QQSGQGQQPG	QLQQSAQGQK	GQQPGQGQQP
460	470	480	490	500
GQGQQGQQPG	QGQQGQQPGQ	GQPGYYPTSP	QQSGQGQQPG	QWQQPGQGQP
510	520	530	540	550
GYYPTSPLQP	GQGQPGYDPT	SPQQPGQGQQ	PGQLQQPAQG	QQGQQLAQGQ
560	570	580	590	600
QGQQPAQVQQ	GQRPAQGQQG	QQPGQGQQGQ	QLGGQGQQGQQ	PGQGQQGQQP
610	620	630	640	650
AQGQQGQQPG	QGQQGQQPGQ	GQQGQQPGQG	QQPGQGQFWY	YPTSPQESGQ
660	670	680	690	700
GQQPGQWQQP	GQGQPGYYLT	SPLQLGQGQQ	GYYPTSLQQP	GQGQQPGQWQ
710	720	730	740	750
QSGQGQHWYY	PTSPQLSGQG	QRPGQWLQPG	QGQQGYPTS	PQQPGQGQQL
760	770	780	790	800
GQWLQPGQGQ	QGYYPSTLQQ	TGQGQQSGQG	QQGYSSYHV	SVEHQAASLK
810	820			
VAKAQQLAQQ	LPAMCRLEGG	DALSASQ		

**Tabelle 7.10: Aminosäuresequenzfragment der HMW-UE Bx6,
UniProtKB: Q7XZH9**

(Gen: N/A, Organismus: *Triticum spelta*, zuletzt modifiziert: 2003)

Winnetou beinhaltet diese HMW-UE

10	20	30	40	50
EGEASGQLQC	ERELRKRELE	ACQQVVDQQL	RDVSPGCRPI	TVSPGTRQYE
60	70	80	90	100
QQPVVPSKAG	SFYPSETTPS	QQLQQMIFWG	IPALLRRYYP	SVTSSQQGPY
110	120	130	140	150
YPGQASQQQS	GQGQQPGQGQ	QPGQGQQDQQ	PGQGQQGYYP	TSPQQPGQGQ
160	170	180		
QLGQGHPGYI	PTSQQPGQKQ	QAGQGQQSGQ	GQQGYIPT	

**Tabelle 7.11: Aminosäuresequenz der HMW-UE Bx7,
UniProtKB: Q45R38**

(Gen: Glu-B1a1, Organismus: *Triticum aestivum*, zuletzt modifiziert: 2005)

Akteur beinhaltet diese HMW-UE

10	20	30	40	50
EGEASGQLQC	EHELEACQQV	VDQQLRDVSP	GCRPITVSPG	TRQYEQQPVV
60	70	80	90	100
PSKAGSFYPS	ETTPSQQLQQ	MIFWGIPALL	RRYYPSTVSS	QQGSYYPGQA
110	120	130	140	150
SPQQSGQGQQ	PGQEQQPGQG	QQDQQPGQRQ	QGYYPSTPQQ	PGQGQQLGQG
160	170	180	190	200
QPGYYPTSQQ	PGQKQQAGQG	QQSGQGQQGY	YPTSPQQSGQ	GQQPGQGQPG
210	220	230	240	250
YYPTSPQQSG	QWQQPGQGQQ	PGQGQQSGQG	QQGQQPGQGQ	RPGQGQQGY
260	270	280	290	300
PISPQQPGQG	QQSGQGQPGY	YPTSLRQPGQ	WQQPGQGQQP	GQGQQGQQPG
310	320	330	340	350
QGQQSGQGQQ	GYYPTSLQQP	GQGQQLGQGQ	PGYYPTSQQS	EQGQQPGQGK
360	370	380	390	400
QPGQGQQGY	PTSPQQSGQG	QQLGQGQPGY	YPTSPQQSGQ	GQQSGQGQQG
410	420	430	440	450
YYPTSPQQSG	QGQQPGQGQS	GYFPTSRQQS	GQGQQPGQGQ	QSGQGQQGQQ
460	470	480	490	500
PGQGQQAYYP	TSSQQSRQRQ	QAGQWQRPGQ	GQPGYYPTSP	QQPGQEQQSG
510	520	530	540	550
QAQQSGQWQL	VYYPTSPQQP	GQLQQPAQGQ	QPAQGQSSAQ	EQQPGQAQQS
560	570	580	590	600
GQWQLVYYPT	SPQQPGQLQQ	PAQGQQGYYP	TSPQQSGQGQ	QGYYPSTPQQ
610	620	630	640	650
SGQGQQGYYP	TSPQQSGQGQ	QPGQGQQPRQ	GQQGYYPISP	QQSGQGQQPG
660	670	680	690	700
QGQQGYYPST	PQQSGQGQQP	GHEQQPGQWL	QPGQGQQGY	PTSSQQSGQG
710	720	730	740	750
HQSGQGQQGY	YPTSLWQPGQ	GQQPGQGQQG	YASPHYVSAE	YQAARLKVAK
760	770			
AQQLAAQLPA	MCRLEGS DAL	STRQ		

**Tabelle 7.12: Aminosäuresequenz der HMW-UE Dy10,
UniProtKB: P10387**

(Gen: Glu-1D-2B, Organismus: *Triticum aestivum*, zuletzt modifiziert: 1989)

Akteur beinhaltet diese HMW-UE

10	20	30	40	50
EGEASRQLQC	ERELQESSLE	ACRQVVDQQL	AGRLPWSTGL	QMRCCQQLRD
60	70	80	90	100
VSAKCRSVAV	SQVARQYEQT	VVPPKGGSFY	PGETTPLQQL	QQGIFWGTSS
110	120	130	140	150
QTVQGYYPGV	TSPRQGSYYP	GQASPQQPGQ	GQQPGKWQEP	GQGQQWYYPT
160	170	180	190	200
SLQQPGQGQQ	IGKGQQGYYP	TSLQQPGQGQ	QGYYP TSLQH	TGQRQQPVQG
210	220	230	240	250
QQPEQQQQPG	QWQQGYPTS	PQQLGQQQP	RQWQQSGQGQ	QGHYPTSLQQ
260	270	280	290	300
PGQGQQGHYL	ASQQQPGQGQ	QGHYPASQQQ	PGQGQQGHYP	ASQQQPGQGQ
310	320	330	340	350
QGHYPASQQE	PGQGQQGQIP	ASQQQPGQGQ	QGHYPASLQQ	PGQGQQGHYP
360	370	380	390	400
TSLQQLGQGQ	QTGQPGQKQQ	PGQGQQTGQG	QQPEQEQQPG	QGQQGYPTS
410	420	430	440	450
LQQPGQGQQQ	GQGQQGYYP T	SLQQPGQGQQ	GHYPASLQQP	GQGQPGQRQQ
460	470	480	490	500
PGQGQHPEQG	KQPGQGQQGY	YPTSPQQPGQ	GQQLGQGQQG	YYPTSPQQPG
510	520	530	540	550
QGQQPGQGQQ	GH C PTSPQQS	GQAQQPGQGQ	QIGQVQQPGQ	GQQGYYP TSV
560	570	580	590	600
QQPGQGQQSG	QGQQSGQGHQ	PGQGQQSGQE	QQGYDSPYHV	SAEQQAASPM
610	620			
VAKAQQPATQ	LPTV C RMEGG	DALSASQ		

**Tabelle 7.13: Aminosäuresequenz der HMW-UE Dy12,
UniProtKB: P08488**

(Gen: N/A, Organismus: *Triticum aestivum*, zuletzt modifiziert: 1988)

Winnetou beinhaltet diese HMW-UE

10	20	30	40	50
EGEASRQLQC	ERELQESSLE	ACRQVVDQQL	AGRLPWSTGL	QMRCCQQLRD
60	70	80	90	100
VSAKCRSVAV	SQVARQYEQT	VVPPKGGSFY	PGETTPLQQL	QQGIFWGTSS
110	120	130	140	150
QTVQGYPSV	TSPRQGSYYP	GQASPQQPGQ	GQQPGKWQEP	GQQQQWYYPT
160	170	180	190	200
SLQQPGQGQQ	IGKKGQGYYP	TSLQQPGQGQ	QIGQGQQGYI	PTSPQHTGQR
210	220	230	240	250
QQPVQGGQIG	QQQQPEQGQQ	PGQWQQGYYP	TSPQQLGQGQ	QPGQWQQSGQ
260	270	280	290	300
GQQGHYPTSL	QQPGQGQQGH	YLASQQQPAQ	GQQGHYPASQ	QQPGQGQQGH
310	320	330	340	350
YPASQQQPGQ	GQQGHYPASQ	QEPGQGQQGQ	IPASQQQPGQ	GQQGHYPASL
360	370	380	390	400
QQPGQQGHYP	TSLQQLGQGQ	QIGQPGQKQQ	PGQGQQTGQG	QQPEQEQQPG
410	420	430	440	450
QQQQGYYPST	LQQPGQGQQQ	GQQQQGYYPST	SLQQPGQGQQ	GHYPASLQQP
460	470	480	490	500
GQQGQPGQR	QQPGQGQHPE	QQQQPGQGQQ	GYYPSTPQQ	PGQGQQLGQGQ
510	520	530	540	550
QGYYPSTPQQ	PGQGQQPGQG	QQGHCPMSPQ	QTGQAQQLGQ	GQQIGQVQQP
560	570	580	590	600
GQQQQGYYPST	SLQQPGQGQQ	SGQGQQSGQG	HQPGQGQQSG	QEKQGYDSPY
610	620	630		
HVSAEQQAAS	PMVAKAQQPA	TQLPTVCRME	GGDALSASQ	

7.2 Liste theoretisch möglicher Cysteinpeptide

Tabelle 7.14: Cysteinpeptide der Aminosäuresequenzen von 7.1, die durch enzymatische Hydrolyse mit Thermolysin entstehen können

Nr.	Cysteinpeptid	Proteintyp	Fehlende Spaltstelle	m/z $[M+H]^+$	m/z $[M+2H]^{2+}$	m/z $[M+3H]^{3+}$
1	EGEASRQLQCERELQESS	HMW-UE	1	2078,9	1040,0	693,7
2	LQCERELQESS	HMW-UE	0	1321,6	661,3	441,2
3	LQCERELQESSLEACRQ	HMW-UE	1	2021,9	1011,5	674,7
4	LEACRQ	HMW-UE	0	719,4	360,2	240,5
5	LEACRQV	HMW-UE	1	818,4	409,7	273,5
6	LQMRCCQQ	HMW-UE	1	1009,4	505,2	337,2
7	MRCCQQ	HMW-UE	0	768,3	384,7	256,8
8	MRCCQQLRDVS	HMW-UE	1	1338,6	669,8	446,9
9	LRDVS AKCRS	HMW-UE	1	1134,6	567,8	378,9
10	AKCRS	HMW-UE	0	564,3	282,6	188,8
11	AKCRSV	HMW-UE	1	663,4	332,2	221,8
12	ATQLPTVCR	HMW-UE	1	988,5	494,8	330,2
13	VCR	HMW-UE	0	377,2	189,1	126,4
14	VCRMEGGDA	HMW-UE	1	937,4	469,2	313,1
15	LRDVS AKCRP	HMW-UE	1	1144,6	572,8	382,2
16	AKCRP	HMW-UE	0	574,3	287,7	192,1
17	AKCRPV	HMW-UE	1	673,4	337,2	225,1
18	IMCR	HMW-UE	1	522,3	261,6	174,8
19	MCR	HMW-UE	0	409,2	205,1	137,1
20	MCRMEGGDA	HMW-UE	1	969,4	485,2	323,8
21	EGEASGQLQCEHELEACQQ	HMW-UE	1	2088,9	1044,9	697,0

Fortsetzung der Tabelle 7.14 nächste Seite

Fortsetzung der Tabelle 7.14 von vorheriger Seite

22	LQCEHELEACQQ	HMW-UE	0	1430,6	715,8	477,5
23	LQCEHELEACQQV	HMW-UE	1	1529,7	765,3	510,6
24	VDQQLRDVSPGCRP	HMW-UE	1	1569,8	785,4	523,9
25	LRDVSPGCRP	HMW-UE	0	1099,6	550,3	367,2
26	LRDVSPGCRPIT	HMW-UE	1	1313,7	657,4	438,6
27	AMCR	HMW-UE	1	480,2	240,6	160,7
28	MCRLEGSDA	HMW-UE	1	981,4	491,2	327,8
29	EGEASELQCCERELQELQERELK	HMW-UE	1	2774,3	1387,7	925,4
30	LQCERELQELQERELK	HMW-UE	0	2044,0	1022,5	682,0
31	LQCERELQELQERELKACQQ	HMW-UE	1	2474,2	1237,6	825,4
32	ACQQ	HMW-UE	0	449,2	225,1	150,4
33	ACQQV	HMW-UE	1	548,2	274,6	183,4
34	MDQQLRDISPECHP	HMW-UE	1	1668,7	834,9	556,9
35	LRDISPECHP	HMW-UE	0	1166,6	583,8	389,5
36	LRDISPECHPV	HMW-UE	1	1265,6	633,3	422,5
37	LKRYPSVTCPPQ	HMW-UE	1	1582,8	791,9	528,3
38	VTCPPQ	HMW-UE	0	675,3	338,2	225,8
39	VTCPPQVSYYPGQ	HMW-UE	1	1469,7	735,3	490,6
40	MCRLEGGDA	HMW-UE	1	951,4	476,2	317,8
41	TSPQQPGQQGQQGQGHCTSPQQ	HMW-UE	1	2686,2	1343,6	896,1
42	RCIPG	LMW-UE	0	545,3	273,1	182,4
43	RCIPGLERPQQQLPPQQTFPQQP	LMW-UE	1	2969,5	1485,3	990,5
44	LQQLNPCK	LMW-UE	1	943,5	472,3	315,2
45	LNPCK	LMW-UE	0	574,3	287,7	192,1
46	LNPCKV	LMW-UE	1	673,4	337,2	225,1
47	FLOQQCSP	LMW-UE	1	950,4	475,7	317,5
48	LQQQCSP	LMW-UE	0	803,4	402,2	268,5
49	LQQQCSPV	LMW-UE	1	902,4	451,7	301,5

Fortsetzung der Tabelle 7.14 nächste Seite

Fortsetzung der Tabelle 7.14 von vorheriger Seite

50	MLQQSSCH	LMW-UE	1	933,4	467,2	311,8
51	LQQSSCH	LMW-UE	0	802,4	401,7	268,1
52	LQQSSCHV	LMW-UE	1	901,4	451,2	301,1
53	VMQQQCCQLPQIPQQSRYE	LMW-UE	1	2506,2	1253,6	836,1
54	MQQQCCQLPQIPQQSRYE	LMW-UE	0	2407,1	1204,1	803,0
55	MQQQCCQLPQIPQQSRYE	LMW-UE	1	2676,3	1338,6	892,8
56	IQSQQQPQQLGQC	LMW-UE	1	1613,8	807,4	538,6
57	LGQC	LMW-UE	0	420,2	210,6	140,7
58	LGQCVSQPQQSQQQ	LMW-UE	1	1686,8	843,9	562,9
59	ILPTMCS	LMW-UE	1	764,4	382,7	255,5
60	MCS	LMW-UE	0	340,1	170,6	114,0
61	MCSVNP	LMW-UE	1	749,3	375,2	250,4
62	METSCIPG	LMW-UE	0	837,3	419,2	279,8
63	METSCIPGLERPWEQPLPPQHT	LMW-UE	1	2674,3	1337,6	892,1
64	FLQQQCNP	LMW-UE	1	977,5	489,2	326,5
65	LQQQCNP	LMW-UE	0	830,4	415,7	277,5
66	LQQQCNPV	LMW-UE	1	929,5	465,2	310,5
67	VMQQQCCQLPQIPEQSRDYD	LMW-UE	1	2521,2	1261,1	841,1
68	MQQQCCQLPQIPEQSRDYD	LMW-UE	0	2422,1	1211,6	808,0
69	MQQQCCQLPQIPEQSRDYD	LMW-UE	1	2691,3	1346,1	897,8
70	VSQSQQQSQQLGQCS	LMW-UE	1	1763,8	882,4	588,6
71	LGQCS	LMW-UE	0	507,2	254,1	169,7
72	LGQCSFQQPQQQ	LMW-UE	1	1391,6	696,3	464,6
73	LQQQCIP	LMW-UE	0	829,4	415,2	277,1
74	MQRC	LMW-UE	0	537,2	269,1	179,7
75	ICH	LMW-UE	0	372,2	186,6	124,7
76	MQQQCCQ	LMW-UE	0	996,4	498,7	332,8
77	MCN	LMW-UE	0	367,1	184,1	123,0

Fortsetzung der Tabelle 7.14 nächste Seite

Fortsetzung der Tabelle 7.14 von vorheriger Seite

78	AQMETSIPG	LMW-UE	1	1036,4	518,7	346,2
79	METSCIPGLERPWQQQLPPQQT	LMW-UE	1	2664,3	1332,6	888,8
80	ARSMWQQSRCH	LMW-UE	1	1517,7	759,3	506,6
81	MWQQSRCH	LMW-UE	0	1075,5	538,2	359,2
82	MWQQSRCHV	LMW-UE	1	1174,5	587,8	392,2
83	VMQQQCCQ	LMW-UE	1	1095,4	548,2	365,8
84	MQQQCCQ	LMW-UE	0	996,4	498,7	332,8
85	MQQCCQLSQIPEQSRDYDA	LMW-UE	1	2384,0	1192,5	795,4
86	LRTLPTMCS	LMW-UE	1	1021,5	511,3	341,2
87	LRTLPTMCN	LMW-UE	1	1048,5	524,8	350,2
88	MCN	LMW-UE	0	367,1	184,1	123,0
89	MCNVNVP	LMW-UE	1	776,3	388,7	259,5
90	FLQQQCIP	LMW-UE	1	976,5	488,7	326,2
91	LQQQCIP	LMW-UE	0	829,4	415,2	277,1
92	LQQQCIPV	LMW-UE	1	928,5	464,7	310,2
93	AMQRC	LMW-UE	1	608,3	304,6	203,4
94	MQRC	LMW-UE	0	537,2	269,1	179,7
95	MQRCL	LMW-UE	1	650,3	325,7	217,4
96	LQQSICH	LMW-UE	1	828,4	414,7	276,8
97	ICHV	LMW-UE	1	471,2	236,1	157,8
98	MQQCCQLRQIPEQSRHES	LMW-UE	1	2457,1	1229,1	819,7
99	IYQQQQPQLGQC	LMW-UE	1	1689,8	845,4	430,2
100	LGQCVSQP	LMW-UE	1	831,4	416,2	277,8
101	IQQQPQFQQQPCSQQQQP	LMW-UE	1	2481,2	1241,1	827,7
102	FSQQQPCSQQQQP	LMW-UE	0	1661,7	831,4	554,6
103	FSQQQPCSQQQQPLSQQQPP	LMW-UE	1	2568,2	1284,6	856,7
104	VSQPQQSQ	LMW-UE	0	1285,6	643,3	429,2
105	VSQPQQSQQLGQQPQQQ	LMW-UE	1	2321,1	1161,1	774,4

Fortsetzung der Tabelle 7.14 nächste Seite

Fortsetzung der Tabelle 7.14 von vorheriger Seite

106	LRTLPTMCR	LMW-UE	1	1090,6	545,8	364,2
107	MCR	LMW-UE	0	409,2	205,1	137,1
108	MCRVNVP	LMW-UE	1	818,4	409,7	273,5
109	SQQQPCSQQQQP	LMW-UE	1	1514,7	757,8	505,6

7.3 Massenspektren

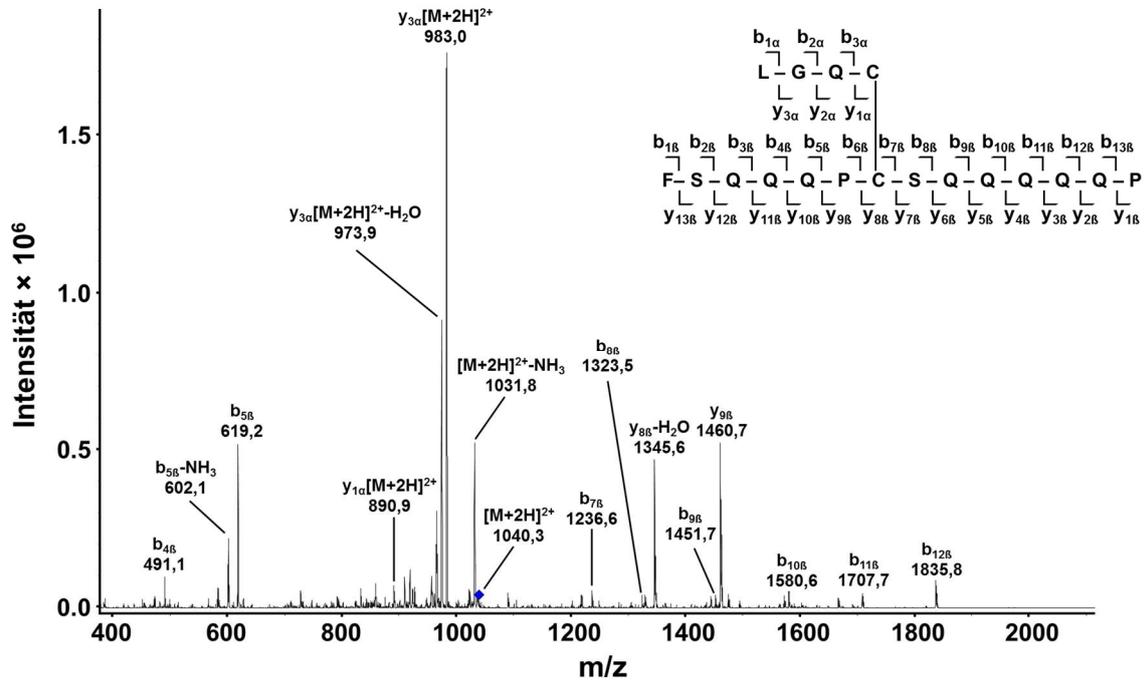


Abbildung 7.1: CID-Spektrum des Cystinpeptids I (A)
 LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids I (A) mit dem Precursor-Ion
 m/z 1040,3 $[M+2H]^{2+}$

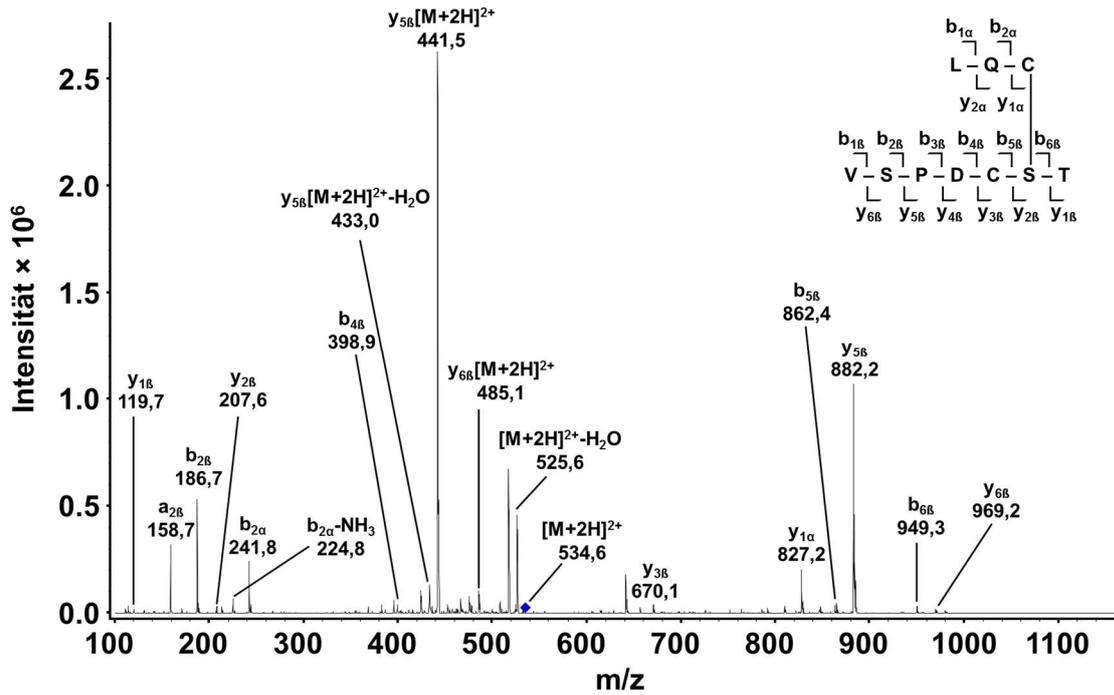


Abbildung 7.2: CID-Spektrum des Cystinpeptids III (A)

LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids III (A) mit dem Precursor-Ion m/z 534,6 $[M+2H]^{2+}$

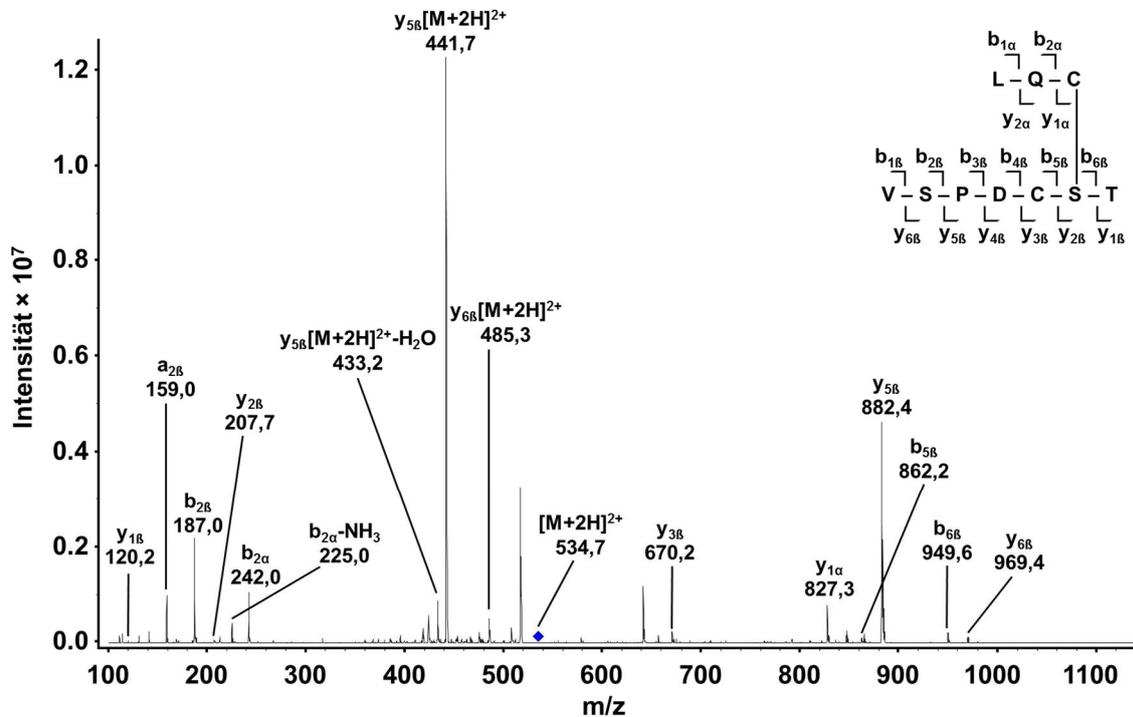


Abbildung 7.3: CID-Spektrum des Cystinpeptids III (W)

LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids III (W) mit dem Precursor-Ion m/z 534,7 $[M+2H]^{2+}$

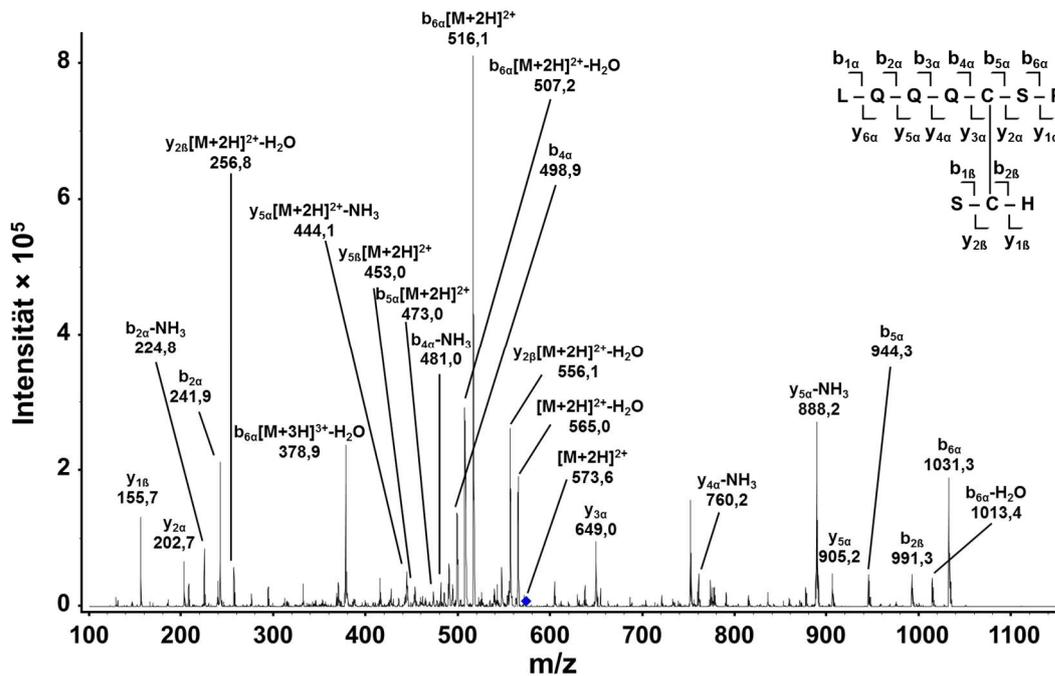


Abbildung 7.4: CID-Spektrum des Cystinpeptids IV (A)
 LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids IV (A) mit dem Precursor-Ion
 m/z 573,6 $[M+2H]^{2+}$

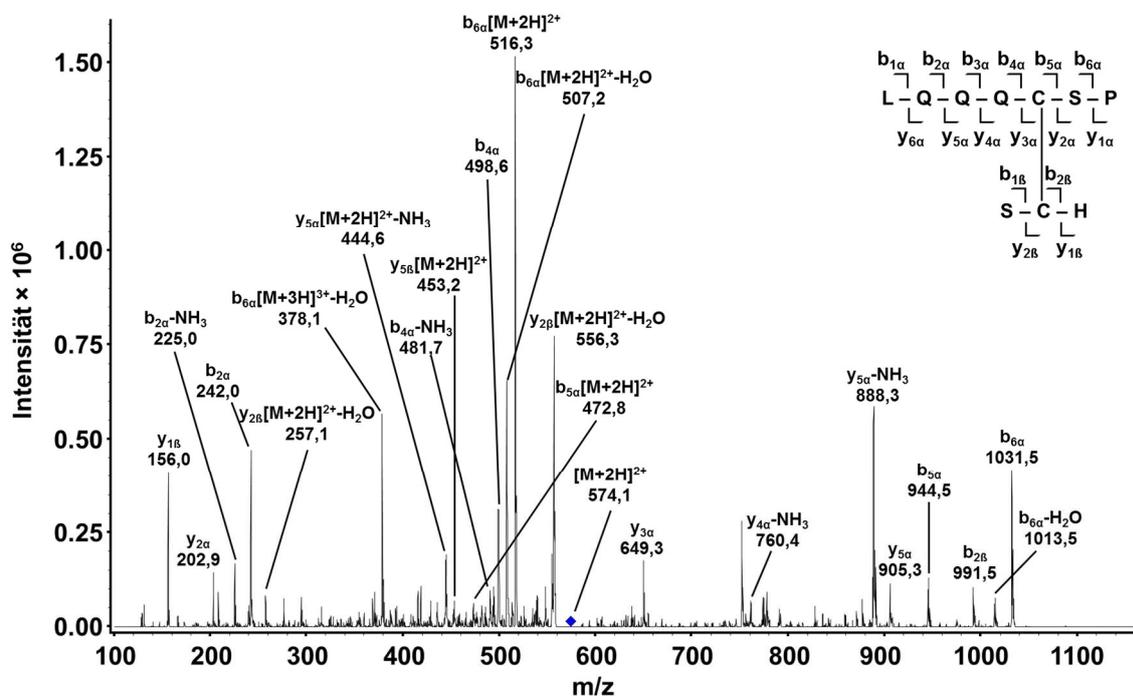


Abbildung 7.5: CID-Spektrum des Cystinpeptids IV (W)
 LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids IV (W) mit dem Precursor-Ion
 m/z 574,1 $[M+2H]^{2+}$

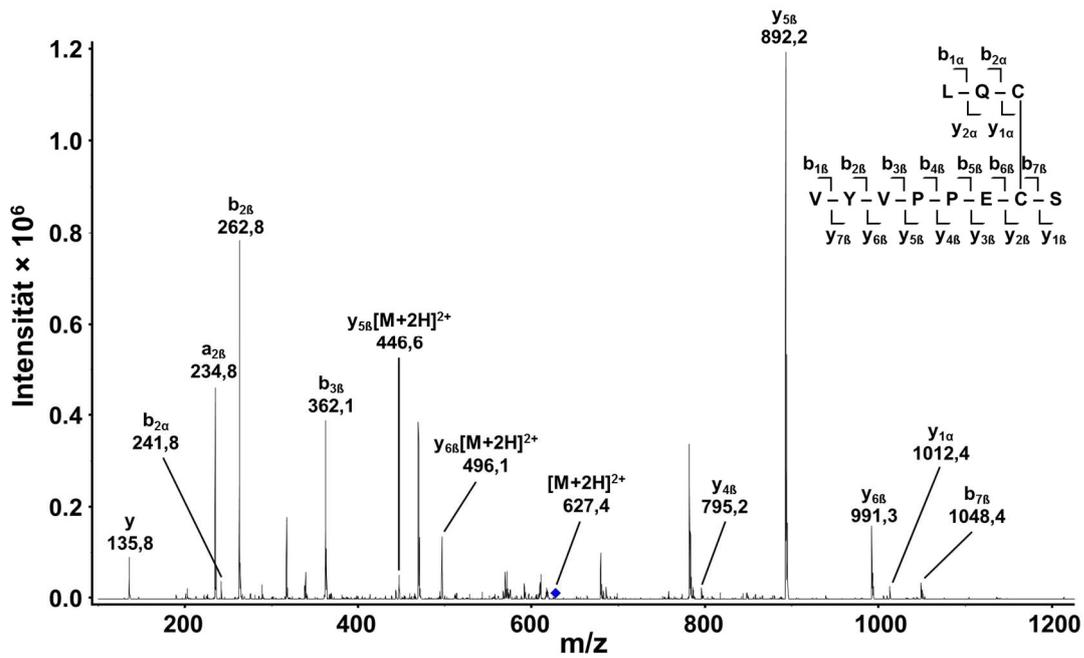


Abbildung 7.6: CID-Spektrum des Cystinpeptids V (A)
 LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids V (A) mit dem Precursor-Ion
 m/z 627,4 $[M+2H]^{2+}$

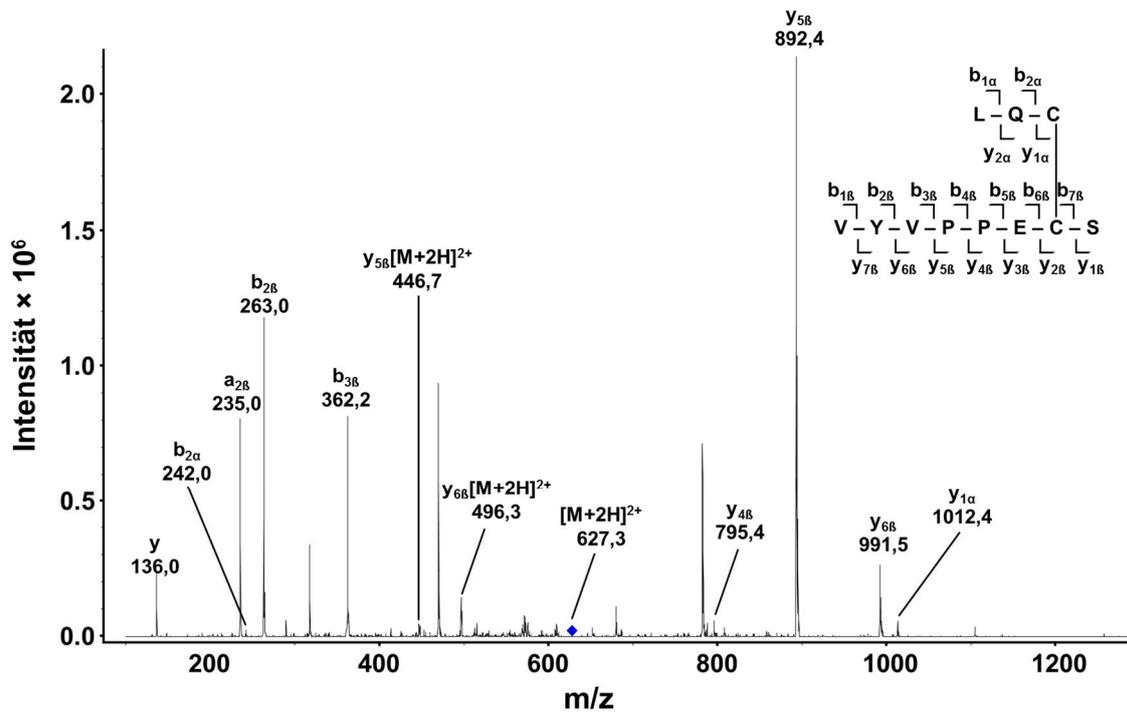


Abbildung 7.7: CID-Spektrum des Cystinpeptids V (W)
 LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids V (W) mit dem Precursor-Ion
 m/z 627,3 $[M+2H]^{2+}$

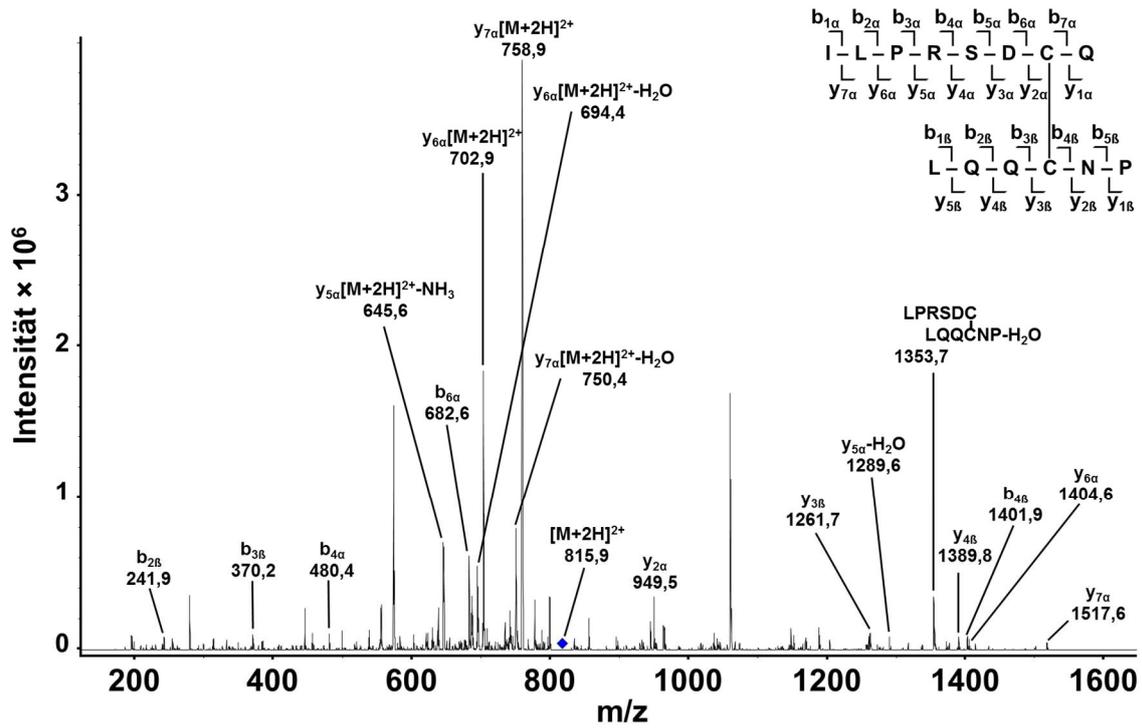


Abbildung 7.8: CID-Spektrum des Cystinpeptids VI (W)

LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids VI (W) mit dem Precursor-Ion m/z 815,9 $[M+2H]^{2+}$

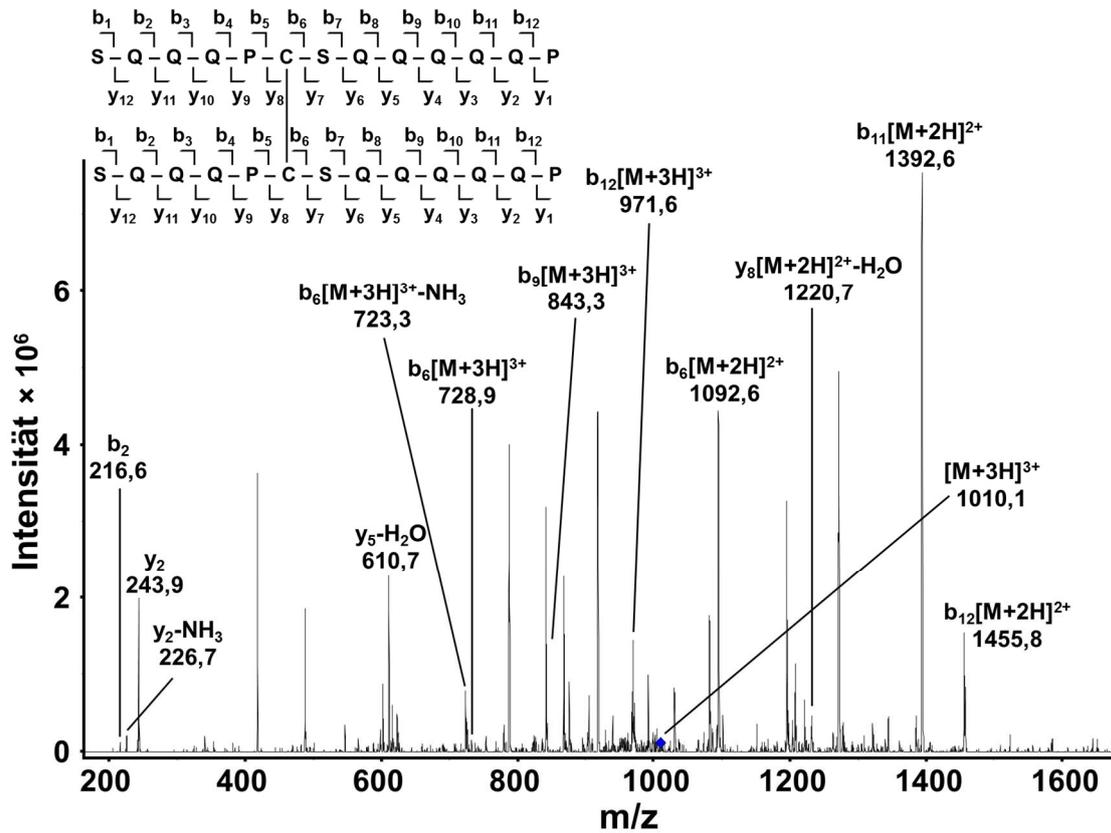


Abbildung 7.9: CID-Spektrum des Cystinpeptids VII (A)

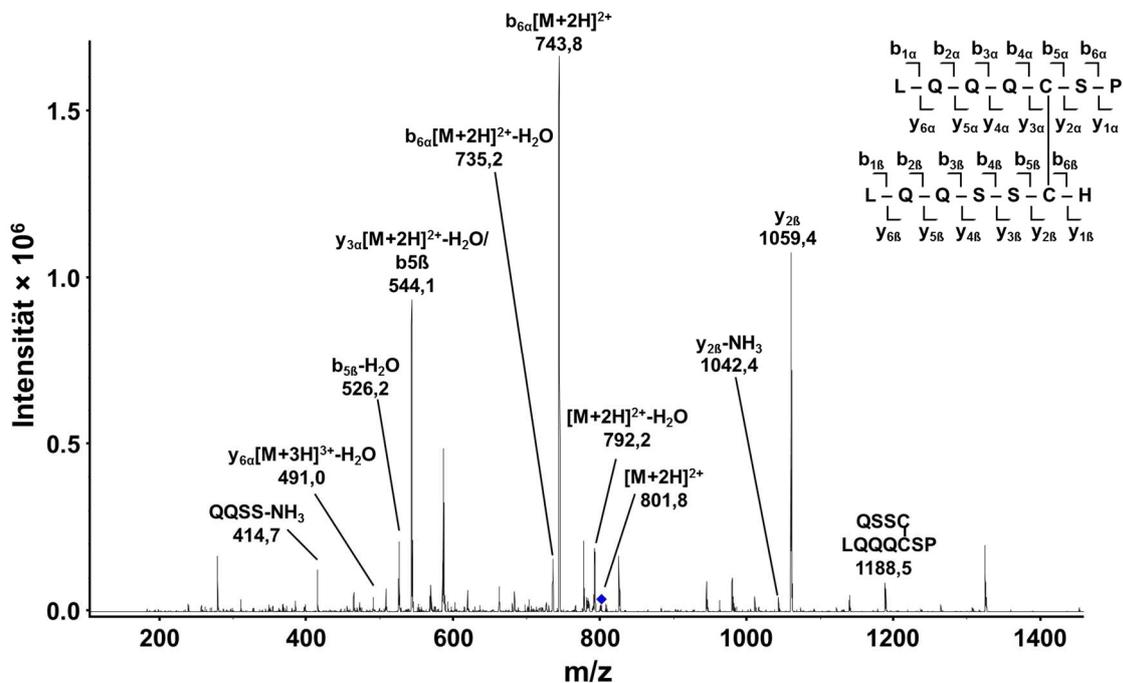
LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids VII (A) mit dem Precursor-Ion m/z 1010,1 $[M+3H]^{3+}$ 

Abbildung 7.10: CID-Spektrum des Cystinpeptids VIII (A)

LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids VIII (A) mit dem Precursor-Ion m/z 801,8 $[M+2H]^{2+}$

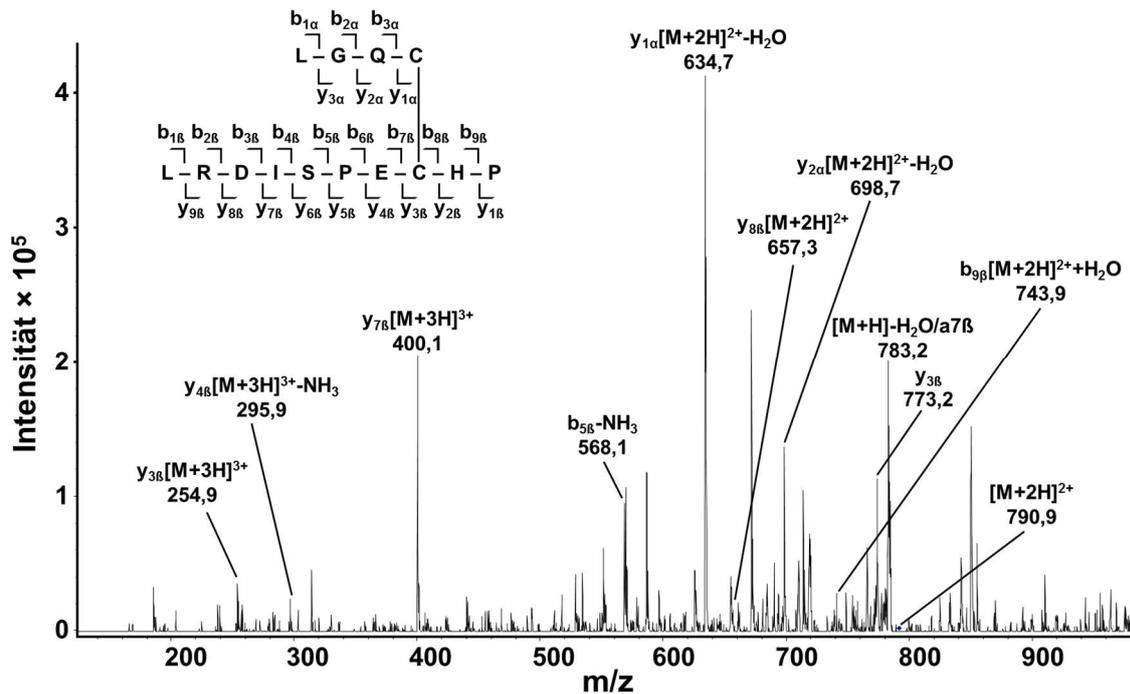


Abbildung 7.11: CID-Spektrum des Cystinpeptids IX (A)
 LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids IX (A) mit dem Precursor-Ion m/z 790,9 $[M+2H]^{2+}$

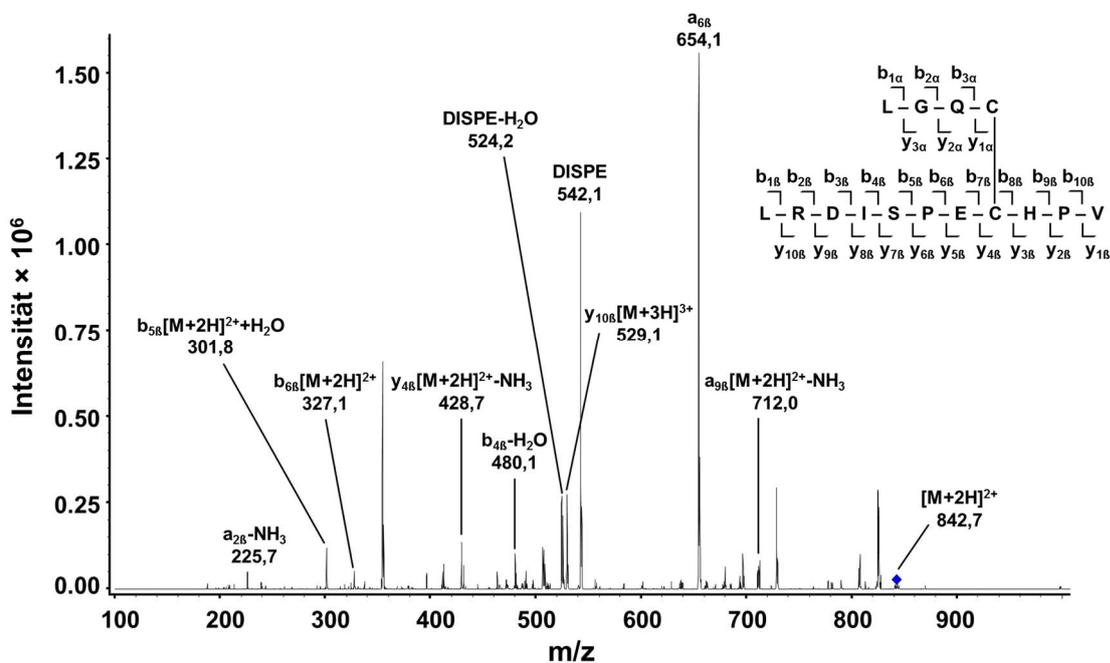


Abbildung 7.12: CID-Spektrum des Cystinpeptids X (A)
 LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids X (A) mit dem Precursor-Ion m/z 842,7 $[M+2H]^{2+}$

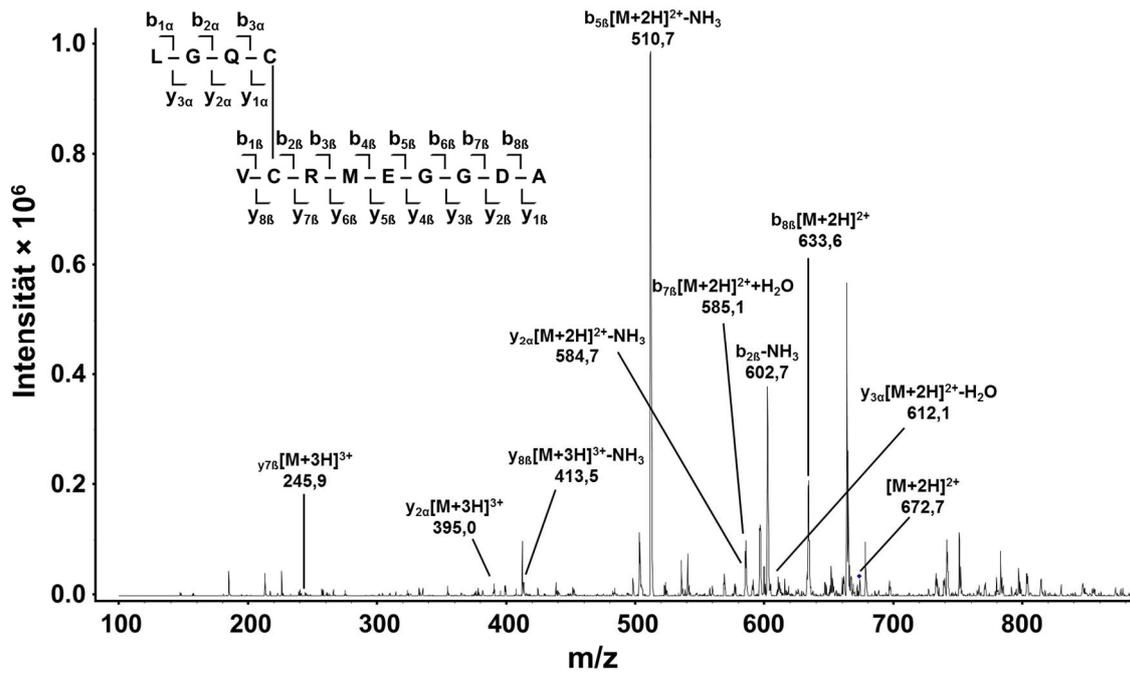


Abbildung 7.13: CID-Spektrum des Cystinpeptids XI (A)

LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids XI (A) mit dem Precursor-Ion m/z 672,7 $[M+2H]^{2+}$

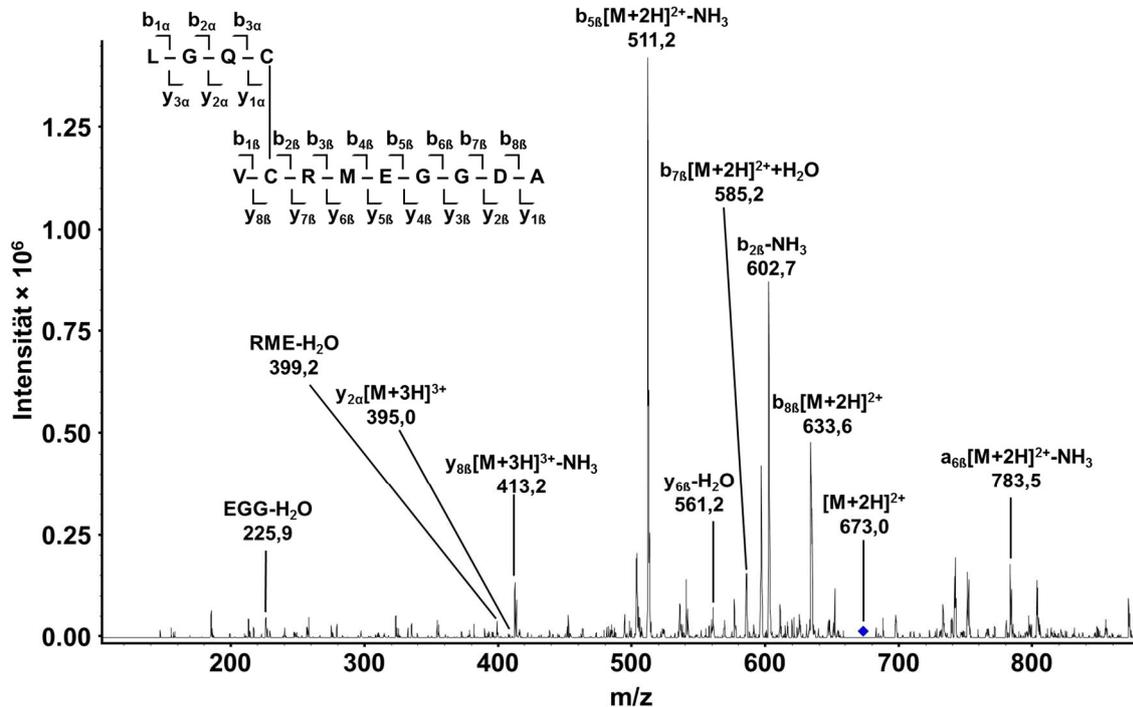


Abbildung 7.14: CID-Spektrum des Cystinpeptids XI (W)

LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids XI (W) mit dem Precursor-Ion m/z 673,0 $[M+2H]^{2+}$

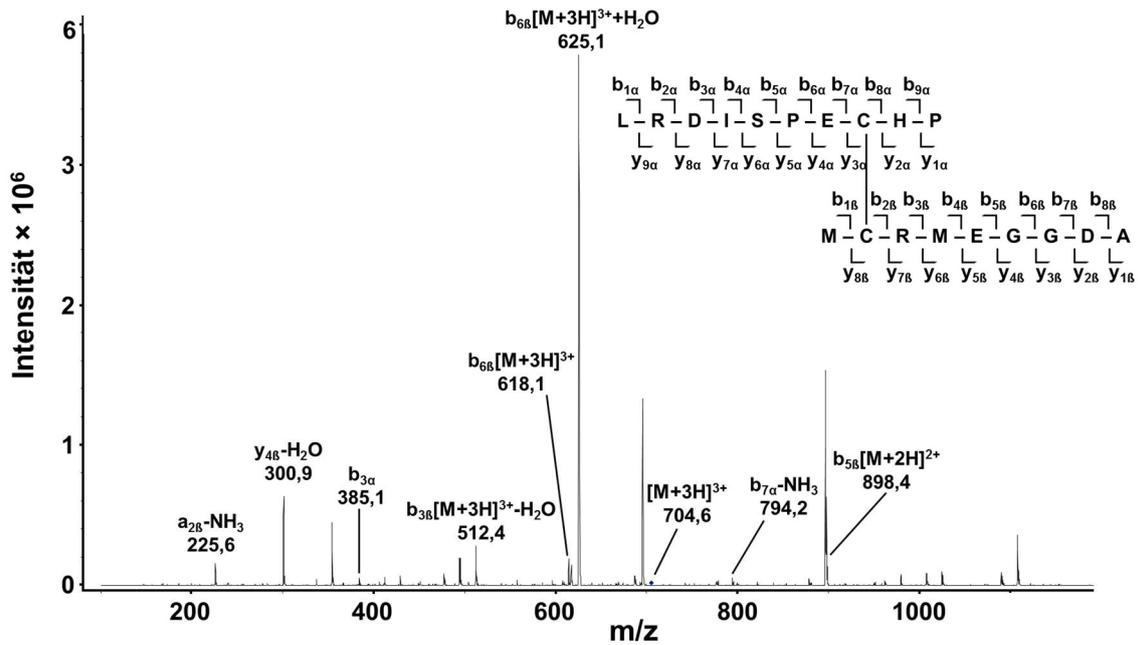


Abbildung 7.17: CID-Spektrum des Cystinpeptids XIV (A)

LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids XIV (A) mit dem Precursor-Ion m/z 704,6 $[M+3H]^{3+}$

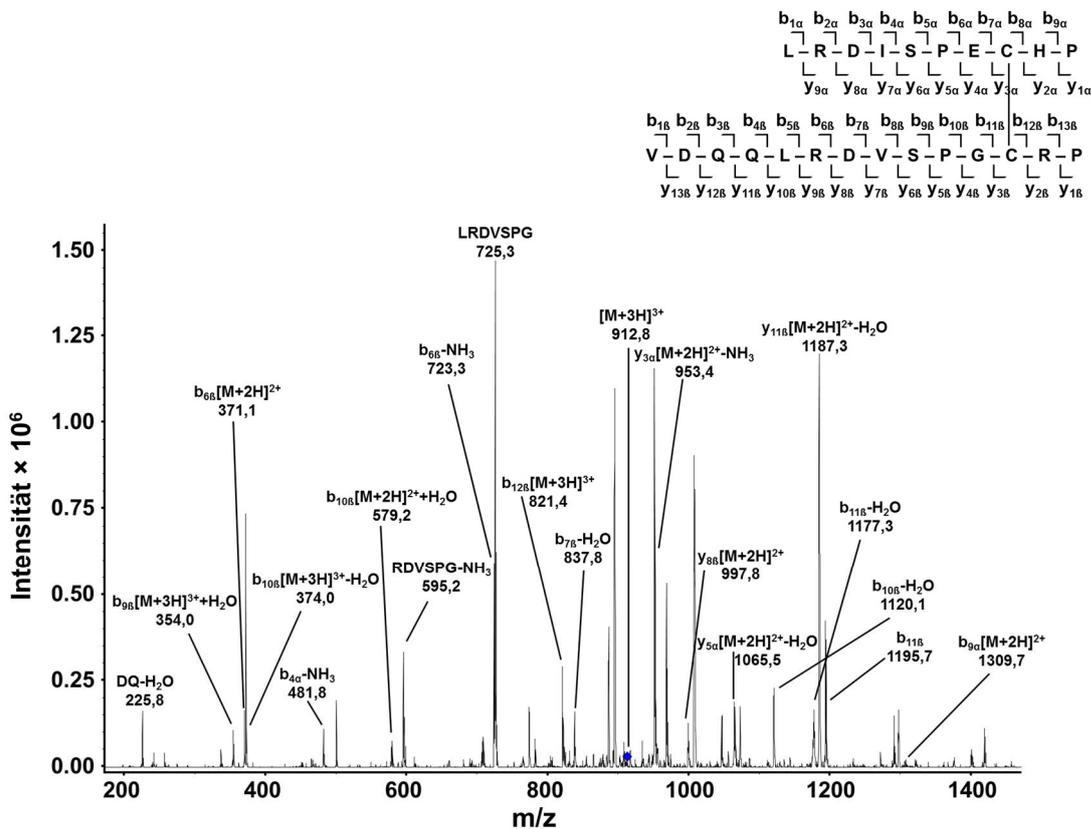


Abbildung 7.18: CID-Spektrum des Cystinpeptids XV (A)

LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids XV (A) mit dem Precursor-Ion m/z 912,8 $[M+3H]^{3+}$

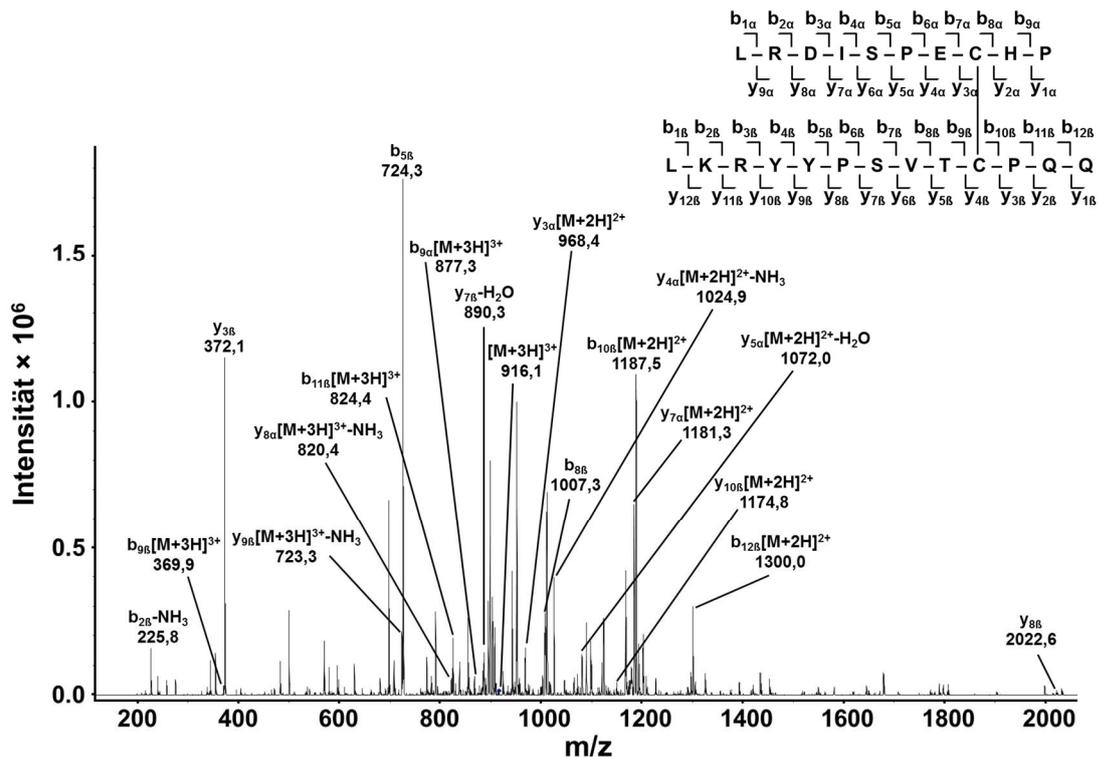


Abbildung 7.19: CID-Spektrum des Cystinpeptids XVI (A)

LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids XVI (A) mit dem Precursor-Ion m/z 916,1 $[M+3H]^{3+}$

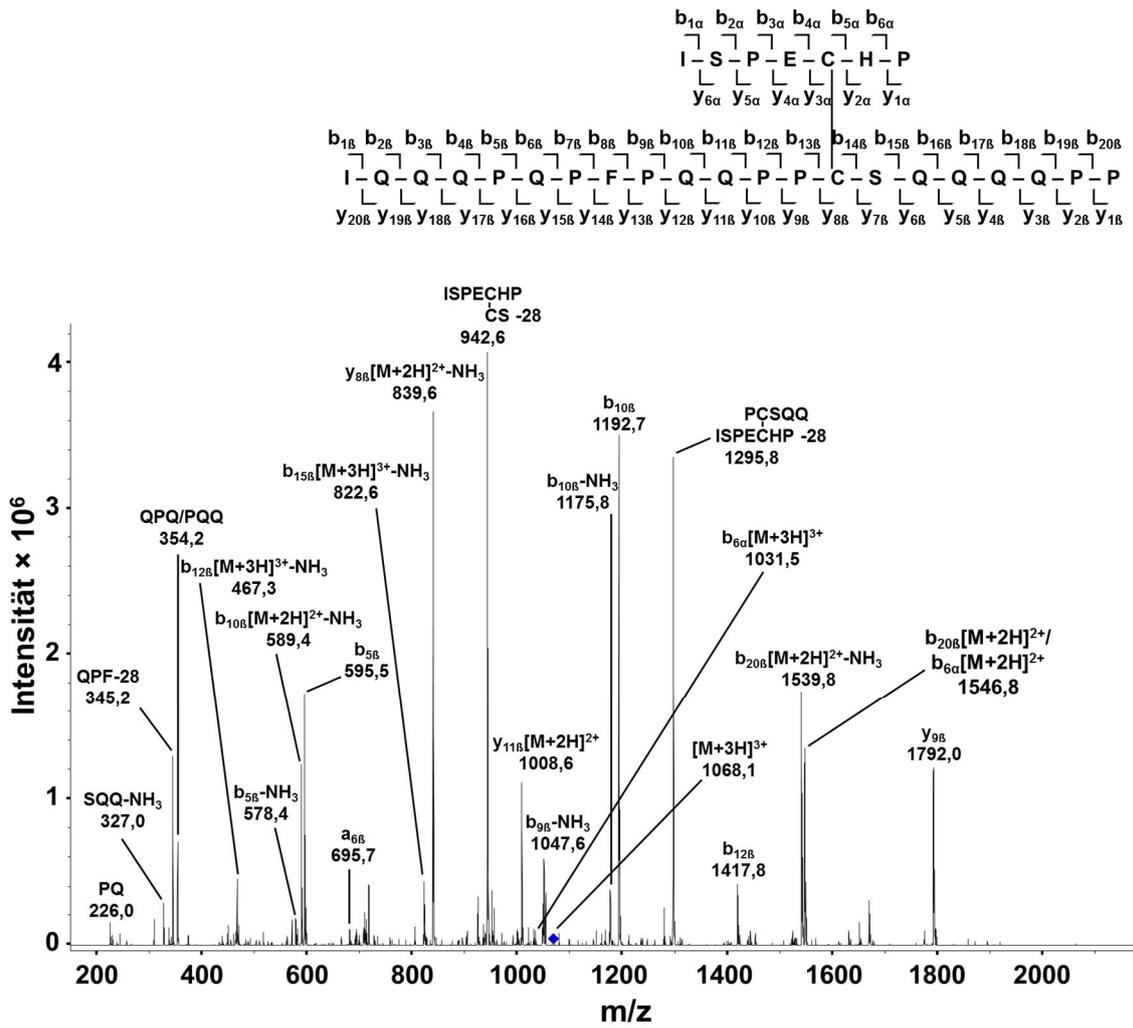


Abbildung 7.20: CID-Spektrum des Cystinpeptids XVII (A)

LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids XVII (A) mit dem Precursor-Ion m/z 1068,1 $[M+3H]^{3+}$

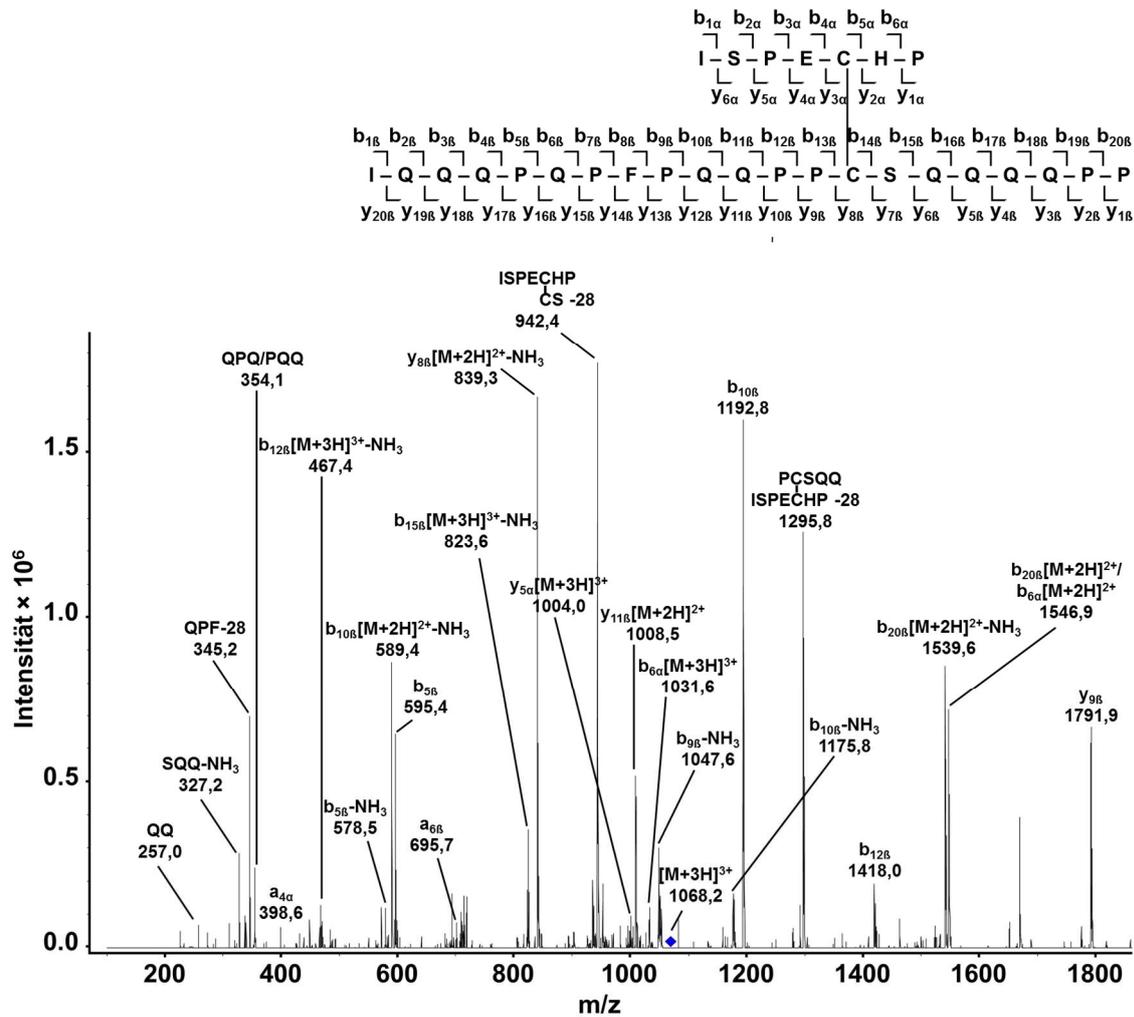


Abbildung 7.21: CID-Spektrum des Cystinpeptids XVII (W)

LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids XVII (W) mit dem Precursor-Ion m/z 1068,2 [M+3H]³⁺

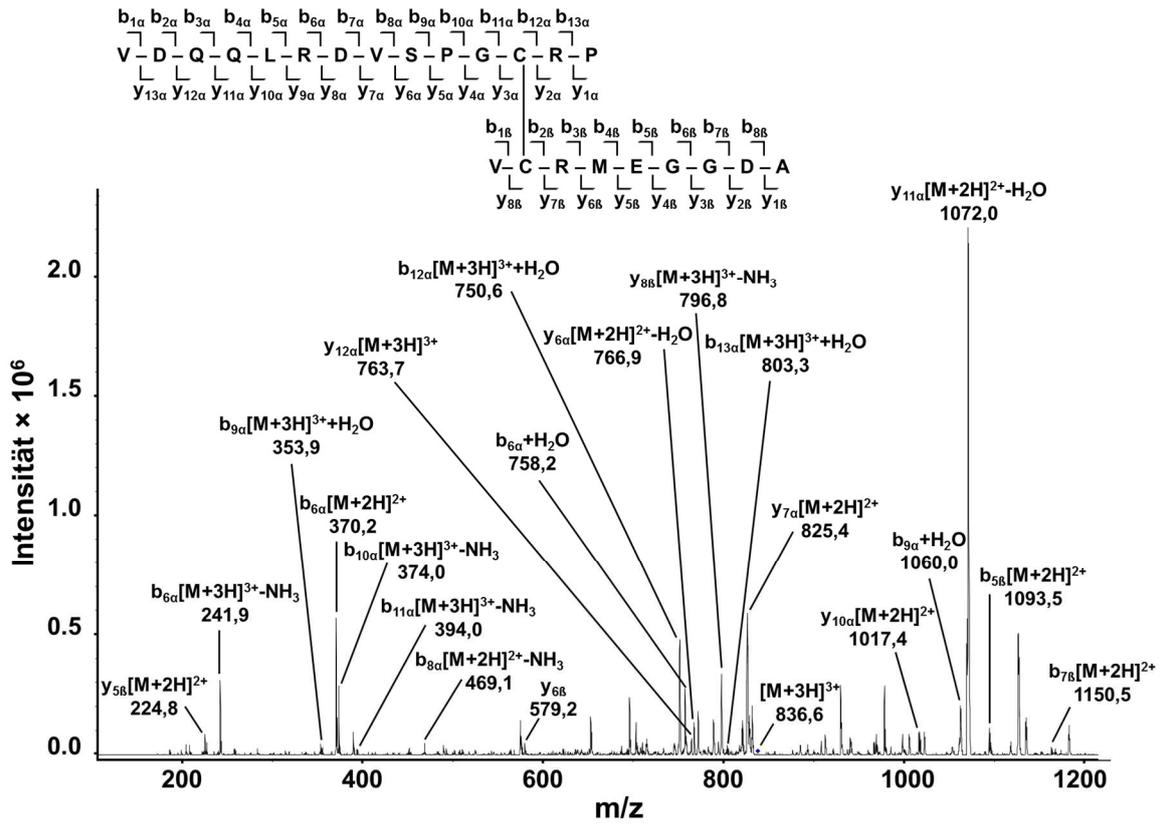


Abbildung 7.22: CID-Spektrum des Cystinpeptids XVII (A)
 LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids XVIII (A) mit dem Precursor-Ion m/z 836,6 $[M+3H]^{3+}$

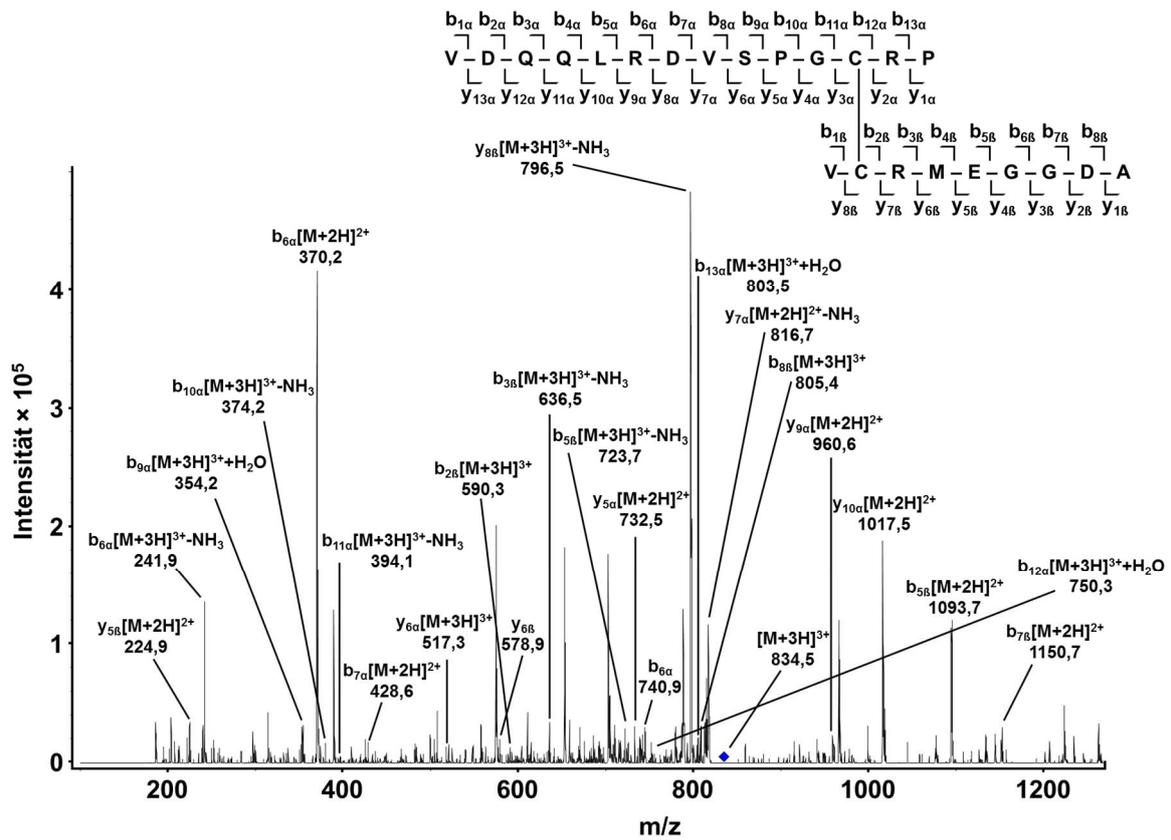


Abbildung 7.23: CID-Spektrum des Cystinpeptids XVIII (W)

LC-MS²-Spektrum (CID) des Cystinpeptids XVIII (W) mit dem Precursor-Ion m/z 834,5 $[M+3H]^{3+}$

7.4 Ergebnisse verschiedener Versuche

Zu 3.8.3: Korrelationsanalysen

Tabelle 7.15: Spezifische Volumina (spez. V.) der Brötchen des MOMT der 30 Mehle

Herstellung von Brötchen aus verschiedenen Mehlmischungen und -sorten (Erntejahre 2013 und 2014) mit dem Mikro-Opti-Mix-Test (MOMT; anteigen bei 300 U/min im registrierenden Spiralkneter bis zum Maximum der Drehmoment-Zeit-Kurve, Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung).

Bezeichnung der Mehle	Knetzeit [s]	spez. V. [mL/g Brot]	Bezeichnung der Mehle	Knetzeit [s]	spez. V. [mL/g Brot]
Industriemischungen, Rosenmühle, 2013			Handelssorten, Detmold, 2014		
Standard	120	2,5 \pm 0,0	Akteur	120	3,5 \pm 0,1
Bun	90	3,3 \pm 0,3	Kerubino	100	3,7 \pm 0,2
Keks	100	2,6 \pm 0,2	Capo	120	3,1 \pm 0,3
Industriemehle, Okermühle, 2013			Discus	90	2,3 \pm 0,2
Mischung 1	100	3,0 \pm 0,2	Matrix	80	2,8 \pm 0,1
JB Asano	100	3,0 \pm 0,3	Tobak	70	3,1 \pm 0,1
Julius	100	3,4 \pm 0,2	Biscay	65	2,3 \pm 0,2
Opal	120	3,7 \pm 0,2			
Projektsorten, Freising, 2013			Mischungen, Handelsmehle, 2014 ¹		
Capo	170	2,2 \pm 0,1	AJ 25	120	3,3 \pm 0,0
JB Asano	100	2,2 \pm 0,2	AJ 50	140	3,4 \pm 0,2
Julius	100	1,9 \pm 0,0	AT 25	100	2,9 \pm 0,2
Discus	100	1,9 \pm 0,1	AT 50	110	3,0 \pm 0,2
Matrix	60	1,7 \pm 0,1	JT 25	70	3,1 \pm 0,2
Tobak	100	2,0 \pm 0,0	JT 50	90	3,0 \pm 0,1
Primus	90	1,7 \pm 0,1	JT 75	100	2,9 \pm 0,1
Winnetou	60	2,3 \pm 0,1	AJT 33	110	3,2 \pm 0,3

¹ Durch die Abkürzungen werden die Mischungen beschrieben. Die Buchstaben stellen die Anfangsbuchstaben der Sorten in der jeweiligen Mischung dar (A=Akteur, J=Julius, T=Tobak) und die Zahl entspricht dem prozentualen Mischungsverhältnis der erst genannten Sorte, wobei AJT 33 zu je 3 gleichen Teilen der Mehlsorten besteht.

Tabelle 7.16: Spezifische Volumina (spez. V.) der Brötchen des MBT der 30 Mehle

Herstellung von Brötchen aus verschiedenen Mehlmischungen und -sorten (Erntejahre 2013 und 2014) mit dem Mikrobacktest (MBT; anteigen bei 22 °C und 63 U/min im Farinograph bis zur optimalen Teigentwicklungszeit bei 550 BE, Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung).

Bezeichnung der Mehle	Knetzeit [min]	spez. V. [mL/g Brot]	Bezeichnung der Mehle	Knetzeit [min]	spez. V. [mL/g Brot]
Industriemischungen, Rosenmühle, 2013			Handelssorten, Detmold, 2014		
Standard	6,5	4,6 \pm 0,1	Akteur	6,2	3,9 \pm 0,1
Bun	7,5	4,5 \pm 0,1	Kerubino	6,7	4,4 \pm 0,2
Keks	6,2	4,2 \pm 0,1	Capo	4,8	3,8 \pm 0,0
Industriemehle, Okermühle, 2013			Discus	6,4	2,3 \pm 0,2
Mischung 1	7,7	4,4 \pm 0,1	Matrix	4,2	3,6 \pm 0,1
JB Asano	6,7	4,5 \pm 0,2	Tobak	4,7	4,0 \pm 0,1
Julius	6,0	3,9 \pm 0,1	Biscay	2,4	2,7 \pm 0,0
Opal	7,7	4,5 \pm 0,1			
Projektsorten, Freising, 2013			Mischungen, Handelsmehle, 2014 ¹		
Capo	8,0	3,9 \pm 0,2	AJ 25	4,9	3,9 \pm 0,1
JB Asano	5,0	3,9 \pm 0,2	AJ 50	5,2	4,3 \pm 0,2
Julius	6,2	3,4 \pm 0,2	AT 25	5,5	4,4 \pm 0,1
Discus	3,0	2,8 \pm 0,2	AT 50	5,4	4,4 \pm 0,1
Matrix	4,4	3,5 \pm 0,2	JT 25	4,7	3,8 \pm 0,2
Tobak	5,4	3,4 \pm 0,1	JT 50	5,9	3,7 \pm 0,1
Primus	3,0	2,7 \pm 0,2	JT 75	4,4	3,7 \pm 0,1
Winnetou	3,0	3,6 \pm 0,1	AJT 33	5,5	4,3 \pm 0,2

¹ Durch die Abkürzungen werden die Mischungen beschrieben. Die Buchstaben stellen die Anfangsbuchstaben der Sorten in der jeweiligen Mischung dar (A=Akteur, J=Julius, T=Tobak) und die Zahl entspricht dem prozentualen Mischungsverhältnis der erst genannten Sorte, wobei AJT 33 zu je 3 gleichen Teilen der Mehlsorten besteht.

Tabelle 7.17: Spezifische Volumina (spez. V.) der Brötchen des RMT der 30 Mehle

Herstellung von Brötchen aus verschiedenen Mehlmischungen und -sorten (Erntejahre 2013 und 2014) mit dem Rapid-Mix-Test (RMT; 1 min anteigen im Stephan Mixer, Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung). Die Versuche wurden an der Arbeitsgemeinschaft Getreideforschung e. V., Detmold, Deutschland durchgeführt.

Bezeichnung der Mehle	spez. V. [mL/g Brot]	Bezeichnung der Mehle	spez. V. [mL/g Brot]
Industriemischungen, Rosenmühle, 2013		Handelssorten, Detmold, 2014	
Standard	6,2 \pm 0,1	Akteur	7,0 \pm 0,0
Bun	6,4 \pm 0,0	Kerubino	7,0 \pm 0,0
Keks	5,9 \pm 0,1	Capo	7,1 \pm 0,0
Industriemehle, Okermühle, 2013		Discus	6,7 \pm 0,0
Mischung 1	6,4 \pm 0,0	Matrix	6,1 \pm 0,0
JB Asano	6,5 \pm 0,1	Tobak	6,4 \pm 0,0
Julius	6,0 \pm 0,0	Biscay	5,5 \pm 0,0
Opal	6,7 \pm 0,1		
Projektsorten, Freising, 2013		Mischungen, Handelsmehle, 2014 ¹	
Capo	5,2 \pm 0,0	AJ 25	6,6 \pm 0,1
JB Asano	5,3 \pm 0,0	AJ 50	6,7 \pm 0,0
Julius	4,7 \pm 0,0	AT 25	6,7 \pm 0,0
Discus	4,4 \pm 0,0	AT 50	7,0 \pm 0,0
Matrix	5,4 \pm 0,0	JT 25	6,3 \pm 0,1
Tobak	4,9 \pm 0,0	JT 50	6,3 \pm 0,1
Primus	3,9 \pm 0,1	JT 75	6,2 \pm 0,1
Winnetou	4,9 \pm 0,0	AJT 33	6,7 \pm 0,0

¹ Durch die Abkürzungen werden die Mischungen beschrieben. Die Buchstaben stellen die Anfangsbuchstaben der Sorten in der jeweiligen Mischung dar (A=Akteur, J=Julius, T=Tobak) und die Zahl entspricht dem prozentualen Mischungsverhältnis der erst genannten Sorte, wobei AJT 33 zu je 3 gleichen Teilen der Mehlsorten besteht.

Tabelle 7.18: Feuchtklebergehalte der 30 Mehle

Gravimetrische Bestimmung des Feuchtklebergehalts von verschiedenen Mehlmischungen und -sorten (Erntejahre 2013 und 2014), bezogen auf 10 g Mehl (Mehlfeuchte = 14 %), in Anlehnung an ICC-Standard Nr. 137 (Mittelwert \pm SD, Dreifachbestimmung).

Bezeichnung der Mehle	Feuchtklebergehalt [g/10 g Mehl]	Bezeichnung der Mehle	Feuchtklebergehalt [g/10 g Mehl]
Industriemischungen, Rosenmühle, 2013		Handelssorten, Detmold, 2014	
Standard	3,05 \pm 0,01	Akteur	3,28 \pm 0,02
Bun	3,24 \pm 0,07	Kerubino	3,14 \pm 0,06
Keks	2,48 \pm 0,01	Capo	3,50 \pm 0,02
Industriemehle, Okermühle, 2013		Discus	3,02 \pm 0,11
Mischung 1	3,21 \pm 0,04	Matrix	2,69 \pm 0,05
JB Asano	2,93 \pm 0,02	Tobak	2,78 \pm 0,01
Julius	3,24 \pm 0,04	Biscay	2,66 \pm 0,02
Opal	3,16 \pm 0,02		
Projektsorten, Freising, 2013		Mischungen, Handelsmehle, 2014 ¹	
Capo	2,61 \pm 0,02	AJ 25	2,88 \pm 0,03
JB Asano	2,32 \pm 0,02	AJ 50	3,02 \pm 0,03
Julius	1,63 \pm 0,03	AT 25	2,80 \pm 0,03
Discus	1,46 \pm 0,02	AT 50	2,95 \pm 0,02
Matrix	2,22 \pm 0,04	JT 25	2,66 \pm 0,03
Tobak	1,65 \pm 0,02	JT 50	2,75 \pm 0,03
Primus	1,44 \pm 0,01	JT 75	2,74 \pm 0,02
Winnetou	1,17 \pm 0,02	AJT 33	3,04 \pm 0,03

¹ Durch die Abkürzungen werden die Mischungen beschrieben. Die Buchstaben stellen die Anfangsbuchstaben der Sorten in der jeweiligen Mischung dar (A=Akteur, J=Julius, T=Tobak) und die Zahl entspricht dem prozentualen Mischungsverhältnis der erst genannten Sorte, wobei AJT 33 zu je 3 gleichen Teilen der Mehlsorten besteht.

Tabelle 7.19: Rohproteingehalte der 30 Mehle

Bestimmung der Rohproteingehalte von verschiedenen Mehlmischungen und -sorten (Erntejahre 2013 und 2014) mittels Dumas-Analyse, angegeben als prozentuale Anteile, bezogen auf die Trockenmasse (TM) in den Mehlen (Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung).

Bezeichnung der Mehle	Proteingehalt der TM [%]	Bezeichnung der Mehle	Proteingehalt der TM [%]
Industriemischungen, Rosenmühle, 2013		Handelssorten, Detmold, 2014	
Standard	12,0 \pm 0,2	Akteur	12,8 \pm 0,1
Bun	12,9 \pm 0,2	Kerubino	12,0 \pm 0,1
Keks	9,9 \pm 0,1	Capo	13,3 \pm 0,0
Industriemehle, Okermühle, 2013		Discus	11,9 \pm 0,1
Mischung 1	12,4 \pm 0,1	Matrix	10,2 \pm 0,1
JB Asano	11,7 \pm 0,1	Tobak	10,7 \pm 0,0
Julius	12,4 \pm 0,2	Biscay	10,5 \pm 0,0
Opal	12,2 \pm 0,1		
Projektsorten, Freising, 2013		Mischungen, Handelsmehle, 2014 ¹	
Capo	10,6 \pm 0,1	AJ 25	11,3 \pm 0,1
JB Asano	9,6 \pm 0,0	AJ 50	11,8 \pm 0,1
Julius	7,4 \pm 0,0	AT 25	11,4 \pm 0,1
Discus	7,7 \pm 0,1	AT 50	11,8 \pm 0,0
Matrix	9,0 \pm 0,0	JT 25	10,8 \pm 0,2
Tobak	7,5 \pm 0,1	JT 50	10,8 \pm 0,1
Primus	7,1 \pm 0,0	JT 75	10,6 \pm 0,1
Winnetou	8,5 \pm 0,1	AJT 33	12,2 \pm 0,0

¹ Durch die Abkürzungen werden die Mischungen beschrieben. Die Buchstaben stellen die Anfangsbuchstaben der Sorten in der jeweiligen Mischung dar (A=Akteur, J=Julius, T=Tobak) und die Zahl entspricht dem prozentualen Mischungsverhältnis der erst genannten Sorte, wobei AJT 33 zu je 3 gleichen Teilen der Mehlsorten besteht.

Tabelle 7.20: Fallzahlen der 30 Mehle

Fallzahl von verschiedenen Mehlmischungen und -sorten (Erntejahre 2013 und 2014) nach ICC-Standard Nr. 107 (Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung). Die Versuche wurden vom Max Rubner-Institut in Detmold (Deutschland) durchgeführt.

Bezeichnung der Mehle	Fallzahl [s]	Bezeichnung der Mehle	Fallzahl [s]
Industriemischungen, Rosenmühle, 2013		Handelssorten, Detmold, 2014	
Standard	457,8 \pm 6,9	Akteur	432,7 \pm 2,5
Bun	464,0 \pm 3,3	Kerubino	313,0 \pm 1,0
Keks	443,0 \pm 0,5	Capo	433,3 \pm 2,5
Industriemehle, Okermühle, 2013		Discus	400,0 \pm 1,0
Mischung 1	486,0 \pm 9,3	Matrix	339,7 \pm 1,5
JB Asano	441,2 \pm 14,6	Tobak	426,3 \pm 4,0
Julius	377,0 \pm 1,3	Biscay	487,3 \pm 6,7
Opal	508,3 \pm 10,9		
Projektsorten, Freising, 2013		Mischungen, Handelsmehle, 2014 ¹	
Capo	464,3 \pm 3,6	AJ 25	437,7 \pm 6,8
JB Asano	451,2 \pm 3,8	AJ 50	423,3 \pm 2,9
Julius	436,5 \pm 7,8	AT 25	398,3 \pm 2,1
Discus	422,0 \pm 3,8	AT 50	418,7 \pm 1,2
Matrix	422,8 \pm 6,2	JT 25	383,0 \pm 3,6
Tobak	409,5 \pm 5,8	JT 50	406,3 \pm 2,9
Primus	422,0 \pm 4,8	JT 75	403,3 \pm 3,8
Winnetou	359,5 \pm 2,3	AJT 33	416,7 \pm 1,5

¹ Durch die Abkürzungen werden die Mischungen beschrieben. Die Buchstaben stellen die Anfangsbuchstaben der Sorten in der jeweiligen Mischung dar (A=Akteur, J=Julius, T=Tobak) und die Zahl entspricht dem prozentualen Mischungsverhältnis der erst genannten Sorte, wobei AJT 33 zu je 3 gleichen Teilen der Mehlsorten besteht.

Tabelle 7.21: Gehalte der Osbornefraktionen der 30 Mehle

Quantitative Bestimmung der Osborneproteinfractionen (Albumine+Globuline, ALGL; Gliadine, GLIA; Glutenine, GLUT), nach modifizierter Osbornefraktionierung, Trennung mittels RP-HPLC und UV-Detektion (210 nm) von verschiedenen Mehlmischungen und -sorten (Erntejahre 2013 und 2014; Mittelwert \pm SD, Dreifachbestimmung).

Bezeichnung		[mg/g Mehl]					
Mehl	ALGL	GLIA	GLUT	Mehl	ALGL	GLIA	GLUT
Industriemischungen, Rosenmühle, 2013				Handelssorten, Detmold, 2014			
Standard	17,4 \pm 0,2	63,4 \pm 0,9	30,0 \pm 0,4	Akteur	15,0 \pm 0,5	65,0 \pm 0,7	31,5 \pm 0,9
Bun	17,1 \pm 0,2	72,3 \pm 1,6	31,5 \pm 0,3	Kerubino	14,6 \pm 0,1	59,3 \pm 1,0	29,8 \pm 0,3
Keks	17,2 \pm 0,0	50,3 \pm 2,3	25,0 \pm 0,1	Capo	16,6 \pm 0,2	65,5 \pm 1,0	33,1 \pm 1,4
Industriemehle, Okermühle, 2013				Discuss	13,7 \pm 0,3	61,3 \pm 0,8	29,0 \pm 0,9
Mischung 1	15,2 \pm 0,3	67,4 \pm 0,8	28,4 \pm 0,7	Matrix	13,8 \pm 0,1	47,5 \pm 0,2	26,6 \pm 0,7
JB Asano	16,0 \pm 0,1	63,9 \pm 1,6	26,8 \pm 0,5	Tobak	13,6 \pm 0,1	55,8 \pm 0,3	25,8 \pm 0,7
Julius	15,5 \pm 0,2	68,4 \pm 1,1	29,7 \pm 0,4	Biscay	15,0 \pm 0,1	54,1 \pm 0,6	20,4 \pm 0,3
Opal	14,8 \pm 0,3	64,4 \pm 0,1	29,8 \pm 0,5				
Projektsorten, Freising, 2013				Mischungen, Handelsmehle, 2014 ¹			
Capo	14,5 \pm 0,2	57,2 \pm 1,5	26,3 \pm 0,6	AJ 25	12,8 \pm 0,3	58,7 \pm 0,4	26,2 \pm 0,4
JB Asano	14,3 \pm 0,5	54,2 \pm 0,7	21,1 \pm 0,3	AJ 50	13,5 \pm 0,2	59,9 \pm 2,9	26,2 \pm 0,2
Julius	13,3 \pm 0,3	39,7 \pm 0,6	17,8 \pm 0,1	AT 25	14,4 \pm 0,4	58,8 \pm 0,1	25,5 \pm 0,6
Discuss	14,4 \pm 0,6	41,4 \pm 0,4	14,9 \pm 0,3	AT 50	14,6 \pm 0,1	61,6 \pm 0,7	26,9 \pm 0,6
Matrix	15,1 \pm 0,3	47,6 \pm 1,5	19,2 \pm 1,0	JT 25	13,5 \pm 0,4	55,6 \pm 0,6	23,3 \pm 1,0
Tobak	14,5 \pm 0,5	39,8 \pm 0,5	14,2 \pm 0,5	JT 50	13,2 \pm 0,2	54,5 \pm 1,5	22,8 \pm 0,8
Primus	14,0 \pm 0,3	36,0 \pm 1,3	15,4 \pm 0,1	JT 75	12,8 \pm 0,2	52,5 \pm 0,4	24,3 \pm 0,8
Winnetou	17,2 \pm 0,3	46,4 \pm 0,6	14,9 \pm 0,4	AJT 33	13,8 \pm 0,2	60,7 \pm 1,2	27,7 \pm 0,5

¹ Durch die Abkürzungen werden die Mischungen beschrieben. Die Buchstaben stellen die Anfangsbuchstaben der Sorten in der jeweiligen Mischung dar (A=Akteur, J=Julius, T=Tobak) und die Zahl entspricht dem prozentualen Mischungsverhältnis der erst genannten Sorte, wobei AJT 33 zu je 3 gleichen Teilen der Mehlsorten besteht.

Tabelle 7.22: Gehalte der Gliadintypen der 30 Mehle

Quantitative Bestimmung der Gliadintypen nach Osborne (Gliadine, GLIA), nach modifizierter Osbornefraktionierung, Trennung mittels RP-HPLC und UV-Detektion (210 nm) von verschiedenen Mehlmischungen und -sorten (Erntejahre 2013 und 2014; Mittelwert \pm SD, Dreifachbestimmung).

Bezeichnung	[mg/g Mehl]					[mg/g Mehl]				
	ω_5 -GLIA	$\omega_{1,2}$ -GLIA	α -GLIA	Y-GLIA	Mehl	ω_5 -GLIA	$\omega_{1,2}$ -GLIA	α -GLIA	Y-GLIA	Mehl
Industriemischungen, Rosenmühle, 2013										
Standard	4,7 \pm 0,1	6,9 \pm 0,1	29,6 \pm 0,6	22,2 \pm 0,3	Akteur	5,3 \pm 0,1	5,7 \pm 0,0	32,8 \pm 0,4	21,2 \pm 0,3	
Bun	6,3 \pm 0,1	7,3 \pm 0,1	36,6 \pm 1,3	22,1 \pm 0,1	Kerubino	4,3 \pm 0,1	4,2 \pm 0,1	29,3 \pm 0,4	21,5 \pm 0,6	
Keks	3,7 \pm 0,1	5,1 \pm 0,2	23,7 \pm 1,1	17,8 \pm 0,9	Capo	4,7 \pm 0,1	4,7 \pm 0,1	32,4 \pm 0,5	23,7 \pm 0,4	
Industriemehle, Okermühle, 2013										
Mischung 1	5,9 \pm 0,0	6,9 \pm 0,0	32,2 \pm 0,6	22,4 \pm 0,3	Matrix	2,6 \pm 0,0	4,5 \pm 0,0	22,2 \pm 0,1	18,2 \pm 0,1	
JB Asano	5,4 \pm 0,1	5,8 \pm 0,1	29,0 \pm 0,9	23,7 \pm 0,6	Tobak	4,1 \pm 0,0	4,6 \pm 0,0	28,4 \pm 0,2	18,7 \pm 0,1	
Julius	6,1 \pm 0,1	7,7 \pm 0,1	33,8 \pm 0,7	20,8 \pm 0,3	Biscay	3,9 \pm 0,0	4,4 \pm 0,0	26,0 \pm 0,2	19,8 \pm 0,4	
Opal	6,2 \pm 0,0	7,5 \pm 0,1	30,7 \pm 0,3	20,0 \pm 0,2						
Projektsorten, Freising, 2013										
Capo	4,6 \pm 0,1	6,0 \pm 0,1	26,9 \pm 0,7	19,7 \pm 0,6	AJ 25	4,3 \pm 0,0	4,9 \pm 0,0	31,3 \pm 0,3	18,2 \pm 0,2	
JB Asano	5,0 \pm 0,1	5,0 \pm 0,0	24,1 \pm 0,3	20,1 \pm 0,3	AJ 50	5,0 \pm 0,4	5,5 \pm 0,4	30,7 \pm 1,3	18,7 \pm 0,8	
Julius	3,6 \pm 0,0	4,1 \pm 0,0	18,2 \pm 0,4	13,8 \pm 0,2	AT 25	4,0 \pm 0,0	4,5 \pm 0,0	30,6 \pm 0,1	19,7 \pm 0,2	
Discus	3,4 \pm 0,0	4,2 \pm 0,0	18,1 \pm 0,1	15,7 \pm 0,2	AT 50	4,3 \pm 0,1	4,8 \pm 0,0	32,1 \pm 0,3	20,4 \pm 0,3	
Matrix	3,4 \pm 0,1	4,6 \pm 0,1	22,2 \pm 0,7	17,4 \pm 0,6	JT 25	3,6 \pm 0,1	4,2 \pm 0,1	28,9 \pm 0,3	18,9 \pm 0,2	
Tobak	3,6 \pm 0,0	4,1 \pm 0,0	18,2 \pm 0,2	13,9 \pm 0,2	JT 50	3,8 \pm 0,1	4,4 \pm 0,1	28,6 \pm 1,0	17,7 \pm 0,4	
Primus	3,7 \pm 0,0	4,6 \pm 0,1	15,3 \pm 0,7	12,4 \pm 0,5	JT 75	3,4 \pm 0,1	4,0 \pm 0,0	28,5 \pm 0,1	16,6 \pm 0,3	
Winnetou	3,2 \pm 0,1	6,9 \pm 0,1	20,4 \pm 0,3	15,9 \pm 0,1	AJT 33	4,1 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1	32,0 \pm 0,7	20,1 \pm 0,4	
Mischungen, Handelsmehle, 2014 ¹										
Capo	4,6 \pm 0,1	6,0 \pm 0,1	26,9 \pm 0,7	19,7 \pm 0,6	AJ 25	4,3 \pm 0,0	4,9 \pm 0,0	31,3 \pm 0,3	18,2 \pm 0,2	
JB Asano	5,0 \pm 0,1	5,0 \pm 0,0	24,1 \pm 0,3	20,1 \pm 0,3	AJ 50	5,0 \pm 0,4	5,5 \pm 0,4	30,7 \pm 1,3	18,7 \pm 0,8	
Julius	3,6 \pm 0,0	4,1 \pm 0,0	18,2 \pm 0,4	13,8 \pm 0,2	AT 25	4,0 \pm 0,0	4,5 \pm 0,0	30,6 \pm 0,1	19,7 \pm 0,2	
Discus	3,4 \pm 0,0	4,2 \pm 0,0	18,1 \pm 0,1	15,7 \pm 0,2	AT 50	4,3 \pm 0,1	4,8 \pm 0,0	32,1 \pm 0,3	20,4 \pm 0,3	
Matrix	3,4 \pm 0,1	4,6 \pm 0,1	22,2 \pm 0,7	17,4 \pm 0,6	JT 25	3,6 \pm 0,1	4,2 \pm 0,1	28,9 \pm 0,3	18,9 \pm 0,2	
Tobak	3,6 \pm 0,0	4,1 \pm 0,0	18,2 \pm 0,2	13,9 \pm 0,2	JT 50	3,8 \pm 0,1	4,4 \pm 0,1	28,6 \pm 1,0	17,7 \pm 0,4	
Primus	3,7 \pm 0,0	4,6 \pm 0,1	15,3 \pm 0,7	12,4 \pm 0,5	JT 75	3,4 \pm 0,1	4,0 \pm 0,0	28,5 \pm 0,1	16,6 \pm 0,3	
Winnetou	3,2 \pm 0,1	6,9 \pm 0,1	20,4 \pm 0,3	15,9 \pm 0,1	AJT 33	4,1 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1	32,0 \pm 0,7	20,1 \pm 0,4	

¹ Durch die Abkürzungen werden die Mischungen beschrieben. Die Buchstaben stellen die Anfangsbuchstaben der Sorten in der jeweiligen Mischung dar (A=Akteur, J=Julius, T=Tobak) und die Zahl entspricht dem prozentualen Mischungsverhältnis der erst genannten Sorte, wobei AJT 33 zu je 3 gleichen Teilen der Mehlsorten besteht.

Tabelle 7.23: Gehalte der Glutenuntereinheiten nach Osborne der 30 Mehle

Quantitative Bestimmung der Glutenuntereinheiten nach Osborne (Glutenin, GLUT; niedermolekulare Untereinheiten, LMW-UE; hochmolekulare Untereinheiten, HMW-UE), nach modifizierter Osbornefraktionierung, Trennung mittels RP-HPLC und UV-Detektion (210 nm) von verschiedenen Mehlmischungen und -sorten (Erntejahre 2013 und 2014; Mittelwert \pm SD, Dreifachbestimmung).

Bezeichnung	[mg/g Mehl]			Bezeichnung			
	ω_b -GLIA	LMW-UE	HMW-UE	Mehl	ω_b -GLIA	LMW-UE	HMW-UE
Mehl							
Industriemischungen, Rosenmühle, 2013				Handelsorten, Detmold, 2014			
Standard	1,9 \pm 0,0	18,6 \pm 0,3	9,5 \pm 0,1	Akteur	1,9 \pm 0,1	19,8 \pm 0,6	9,8 \pm 0,2
Bun	2,1 \pm 0,0	19,3 \pm 0,2	10,1 \pm 0,1	Kerubino	2,0 \pm 0,0	19,3 \pm 0,2	8,5 \pm 0,1
Keks	1,7 \pm 0,0	15,8 \pm 0,1	7,5 \pm 0,0	Capo	1,9 \pm 0,1	21,9 \pm 1,1	9,3 \pm 0,2
Industriemehle, Okermühle, 2013				Discus	1,4 \pm 0,0	18,2 \pm 0,6	9,4 \pm 0,3
Mischung 1	2,1 \pm 0,0	17,4 \pm 0,5	8,9 \pm 0,2	Matrix	1,7 \pm 0,0	17,5 \pm 0,5	7,4 \pm 0,2
JB Asano	2,0 \pm 0,0	16,6 \pm 0,3	8,2 \pm 0,2	Tobak	1,8 \pm 0,1	16,7 \pm 0,5	7,3 \pm 0,2
Julius	2,2 \pm 0,0	18,0 \pm 0,3	9,5 \pm 0,1	Biscay	1,4 \pm 0,0	13,5 \pm 0,3	5,5 \pm 0,1
Opal	2,3 \pm 0,0	17,6 \pm 0,4	9,9 \pm 0,1				
Projektsorten, Freising, 2013				Mischungen, Handelsmehle, 2014 ¹			
Capo	1,9 \pm 0,0	16,9 \pm 0,4	7,5 \pm 0,2	AJ 25	1,7 \pm 0,0	16,5 \pm 0,3	8,0 \pm 0,1
JB Asano	1,9 \pm 0,0	13,1 \pm 0,2	6,1 \pm 0,1	AJ 50	1,8 \pm 0,0	16,5 \pm 0,0	7,9 \pm 0,1
Julius	1,6 \pm 0,0	11,7 \pm 0,1	4,5 \pm 0,0	AT 25	1,7 \pm 0,0	16,6 \pm 0,5	7,2 \pm 0,1
Discus	1,5 \pm 0,0	9,4 \pm 0,2	4,0 \pm 0,1	AT 50	1,8 \pm 0,0	17,2 \pm 0,3	7,9 \pm 0,3
Matrix	2,0 \pm 0,0	12,2 \pm 0,7	5,0 \pm 0,2	JT 25	1,3 \pm 0,0	16,0 \pm 0,7	6,0 \pm 0,2
Tobak	1,6 \pm 0,0	9,0 \pm 0,3	3,6 \pm 0,1	JT 50	1,3 \pm 0,0	15,1 \pm 0,5	6,4 \pm 0,3
Primus	1,6 \pm 0,1	10,0 \pm 0,1	3,8 \pm 0,1	JT 75	1,6 \pm 0,0	15,6 \pm 0,5	7,1 \pm 0,2
Winnetou	1,7 \pm 0,0	8,6 \pm 0,2	4,6 \pm 0,1	AJT 33	1,8 \pm 0,0	17,5 \pm 0,4	8,4 \pm 0,1

¹ Durch die Abkürzungen werden die Mischungen beschrieben. Die Buchstaben stellen die Anfangsbuchstaben der Sorten in der jeweiligen Mischung dar (A=Akteur, J=Julius, T=Tobak) und die Zahl entspricht dem prozentualen Mischungsverhältnis der erst genannten Sorte, wobei AJT 33 zu je 3 gleichen Teilen der Mehlsorten besteht.

Tabelle 7.24: Mikrozugversuche mit Teigen aus 30 Mehlen

Dehnwiderstand (maximale Höhe der Kurve), Dehnbarkeit (Schnittpunkt mit der Basislinie nach dem Abreißen) und Dehnarbeit (Fläche unter der Kurve) bestimmt an einem TA.XT. plus Texture Analyser von verschiedenen Mehlmischungen und -sorten (Erntejahre 2013 und 2014; Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung).

Bezeichnung der Mehle	Dehnwiderstand R_{max} [N]	Dehnbarkeit E_{max} [mm]	Dehnenenergie (Fläche) DE [N x mm]	Bezeichnung der Mehle	Dehnwiderstand R_{max} [N]	Dehnbarkeit E_{max} [mm]	Dehnenenergie (Fläche) DE [N x mm]
Industriemischungen, Rosenmühle, 2013				Handelssorten, Detmold, 2014			
Standard	0,19 \pm 0,02	76,6 \pm 4,6	11,4 \pm 0,8	Akteur	0,25 \pm 0,02	105,14 \pm 5,63	20,19 \pm 1,29
Bun	0,25 \pm 0,00	75,6 \pm 2,8	15,6 \pm 0,1	Kerubino	0,23 \pm 0,01	89,69 \pm 3,88	16,08 \pm 1,05
Keks	0,21 \pm 0,01	56,0 \pm 0,9	9,9 \pm 0,5	Capo	0,23 \pm 0,01	116,89 \pm 4,32	20,60 \pm 1,15
Industriemehle, Okermühle, 2013				Discus	0,37 \pm 0,01	60,84 \pm 5,64	17,93 \pm 1,86
Mischung 1	0,24 \pm 0,01	66,1 \pm 3,4	12,9 \pm 0,5	Matrix	0,27 \pm 0,01	85,37 \pm 6,20	19,00 \pm 1,70
JB Asano	0,18 \pm 0,03	78,0 \pm 2,8	11,6 \pm 1,8	Tobak	0,23 \pm 0,01	82,93 \pm 6,21	15,80 \pm 1,36
Julius	0,17 \pm 0,02	89,7 \pm 4,4	11,8 \pm 0,8	Biscay	0,12 \pm 0,01	99,56 \pm 3,29	10,33 \pm 1,12
Opal	0,25 \pm 0,02	58,0 \pm 4,2	11,9 \pm 0,7	Mischungen, Handelsmehle, 2014 ¹			
Projektsorten, Freising, 2013				Mischungen, Handelsmehle, 2014 ¹			
Capo	0,27 \pm 0,01	53,9 \pm 3,5	11,8 \pm 0,7	AJ 25	0,16 \pm 0,00	93,11 \pm 1,07	11,59 \pm 0,52
JB Asano	0,25 \pm 0,01	49,3 \pm 3,7	10,0 \pm 1,5	AJ 50	0,17 \pm 0,01	81,50 \pm 1,20	11,15 \pm 0,80
Julius	0,24 \pm 0,01	36,9 \pm 1,3	7,0 \pm 0,1	AT 25	0,13 \pm 0,01	83,39 \pm 5,50	9,28 \pm 0,70
Discus	0,17 \pm 0,02	34,6 \pm 0,9	4,7 \pm 0,3	AT 50	0,15 \pm 0,01	88,37 \pm 2,01	10,98 \pm 0,49
Matrix	0,24 \pm 0,02	48,7 \pm 1,7	9,3 \pm 0,5	JT 25	0,15 \pm 0,02	69,73 \pm 3,48	9,01 \pm 0,50
Tobak	0,18 \pm 0,02	40,6 \pm 1,2	6,0 \pm 0,5	JT 50	0,15 \pm 0,00	72,36 \pm 1,94	9,11 \pm 0,10
Primus	0,16 \pm 0,01	37,7 \pm 3,2	4,9 \pm 0,2	JT 75	0,15 \pm 0,00	71,26 \pm 1,85	9,16 \pm 0,70
Winnetou	0,07 \pm 0,00	61,3 \pm 1,1	4,1 \pm 0,1	AJT 33	0,15 \pm 0,00	97,78 \pm 3,75	11,39 \pm 0,83

¹ Durch die Abkürzungen werden die Mischungen beschrieben. Die Buchstaben stellen die Anfangsbuchstaben der Sorten in der jeweiligen Mischung dar (A=Akteur, J=Julius, T=Tobak) und die Zahl entspricht dem prozentualen Mischungsverhältnis der erst genannten Sorte, wobei AJT 33 zu je 3 gleichen Teilen der Mehlsorten besteht.

Tabelle 7.25: Zugversuche mit Teigen aus 30 Mehlen an einem Extensographen (Dehnwiderstand)

Dehnwiderstand nach 45, 90 und 135 min von verschiedenen Mehlmischungen und -sorten (Erntejahre 2013 und 2014; Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung). Die Versuche wurden vom Max Rubner-Institut in Detmold (Deutschland) durchgeführt.

Bezeichnung	Dehnwiderstand nach [BE]			Bezeichnung	Dehnwiderstand nach [BE]		
	45 min	90 min	135 min		Mehl	45 min	90 min
Industriemischungen, Rosenmühle, 2013							
Standard	266,0 \pm 4,8	315,3 \pm 15,8	348,7 \pm 31,0	Akteur	285,8 \pm 11,6	400,8 \pm 16,7	457,7 \pm 21,2
Bun	354,3 \pm 50,2	482,0 \pm 22,0	526,8 \pm 23,8	Kerubino	309,8 \pm 4,2	368,2 \pm 7,3	350,5 \pm 6,5
Keks	385,3 \pm 18,6	584,5 \pm 26,6	626,7 \pm 46,5	Capo	300,5 \pm 9,1	392,7 \pm 4,3	420,3 \pm 5,2
Industriemehle, Okermühle, 2013							
Mischung 1	285,3 \pm 12,0	378,5 \pm 29,0	407,7 \pm 29,0	Discus	469,3 \pm 7,4	706,7 \pm 19,5	762,3 \pm 40,9
JB Asano	302,0 \pm 15,4	441,2 \pm 22,7	475,8 \pm 25,4	Matrix	254,0 \pm 11,0	343,7 \pm 18,0	380,3 \pm 12,5
Julius	272,3 \pm 21,1	347,7 \pm 34,9	354,3 \pm 40,3	Tobak	218,2 \pm 10,2	270,0 \pm 3,8	273,8 \pm 6,5
Opal	343,8 \pm 22,9	450,7 \pm 31,3	502,5 \pm 56,4	Biscay	190,2 \pm 10,3	315,5 \pm 7,4	396,5 \pm 24,6
Projektarten, Freising, 2013							
Capo	461,7 \pm 9,4	732,5 \pm 48,8	856,2 \pm 18,8	Mischungen, Handelsmehle, 2014 ¹			
JB Asano	462,3 \pm 8,7	698,5 \pm 25,0	728,0 \pm 18,4	AJ 25	234,3 \pm 6,8	384,3 \pm 19,0	435,3 \pm 22,7
Julius	64,7 \pm 0,8	71,0 \pm 4,9	62,7 \pm 3,3	AJ 50	225,0 \pm 6,2	317,0 \pm 9,0	392,0 \pm 10,1
Discus	433,8 \pm 9,4	594,3 \pm 28,9	557,7 \pm 16,6	AT 25	190,7 \pm 8,1	220,3 \pm 61,8	279,3 \pm 24,0
Matrix	426,3 \pm 8,1	639,7 \pm 33,3	621,2 \pm 13,6	AT 50	192,0 \pm 11,8	286,3 \pm 11,7	314,0 \pm 7,5
Tobak	420,5 \pm 1,3	549,8 \pm 21,0	597,3 \pm 30,2	JT 25	180,0 \pm 5,6	246,7 \pm 4,0	246,0 \pm 15,1
Primus	419,3 \pm 27,0	571,0 \pm 64,6	513,0 \pm 7,1	JT 50	200,0 \pm 8,7	285,3 \pm 18,6	313,0 \pm 13,5
Winnetou	207,8 \pm 5,9	296,5 \pm 1,7	305,7 \pm 13,3	JT 75	203,3 \pm 7,5	308,7 \pm 10,0	369,7 \pm 6,7
				AJT 33	210,7 \pm 5,5	314,7 \pm 10,0	363,3 \pm 17,8

¹ Durch die Abkürzungen werden die Mischungen beschrieben. Die Buchstaben stellen die Anfangsbuchstaben der Sorten in der jeweiligen Mischung dar (A=Akteur, J=Julius, T=Tobak) und die Zahl entspricht dem prozentualen Mischungsverhältnis der erst genannten Sorte, wobei AJT 33 zu je 3 gleichen Teilen der Mehlsorten besteht.

Tabelle 7.26: Zugversuche mit Teigen aus 30 Mehlen an einem Extensographen (Dehnbarkeit)

Dehnbarkeit nach 45, 90 und 135 min von verschiedenen Mehlmischungen und -sorten (Erntejahre 2013 und 2014; Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung). Die Versuche wurden vom Max Rubner-Institut in Detmold (Deutschland) durchgeführt.

Bezeichnung	Dehnbarkeit nach [mm]			Bezeichnung			Dehnbarkeit nach [mm]		
	45 min	90 min	135 min	Mehl	45 min	90 min	135 min		
Industriemischungen, Rosenmühle, 2013									
Standard	165,7 \pm 4,5	157,8 \pm 5,6	157,7 \pm 6,8	Akteur	173,5 \pm 4,5	154,2 \pm 3,3	190,8 \pm 73,0		
Bun	171,2 \pm 3,1	155,7 \pm 11,3	143,5 \pm 6,5	Kerubino	170,2 \pm 5,5	160,8 \pm 3,9	190,3 \pm 56,9		
Keks	138,7 \pm 6,5	115,0 \pm 3,0	101,0 \pm 0,0	Capo	185,7 \pm 6,3	170,8 \pm 5,3	199,5 \pm 65,4		
Industriemehle, Okermühle, 2013									
Mischung 1	168,3 \pm 8,8	152,2 \pm 1,0	145,0 \pm 10,5	Discus	126,5 \pm 2,3	107,5 \pm 2,2	182,7 \pm 141,4		
JB Asano	157,5 \pm 4,3	144,8 \pm 4,8	133,8 \pm 8,8	Matrix	157,5 \pm 1,8	146,5 \pm 5,2	177,5 \pm 63,2		
Julius	168,0 \pm 6,9	160,7 \pm 9,5	158,7 \pm 2,8	Tobak	156,2 \pm 0,8	152,2 \pm 1,5	177,5 \pm 43,8		
Opal	167,5 \pm 2,8	155,7 \pm 3,8	149,8 \pm 2,1	Biscay	130,5 \pm 1,8	114,8 \pm 3,2	144,8 \pm 72,9		
Projektorten, Freising, 2013									
Capo	135,3 \pm 7,1	108,2 \pm 3,3	97,0 \pm 4,4	Mischungen, Handelsmehle, 2014 ¹					
JB Asano	120,0 \pm 0,5	93,3 \pm 1,4	88,0 \pm 1,8	AJ 25	147,7 \pm 2,1	135,0 \pm 5,3	128,0 \pm 7,9		
Julius	101,7 \pm 3,8	83,7 \pm 4,6	73,0 \pm 2,3	AJ 50	158,3 \pm 5,0	148,7 \pm 2,1	140,7 \pm 2,1		
Discus	86,2 \pm 1,6	71,3 \pm 1,5	67,8 \pm 5,3	AT 25	156,0 \pm 1,0	152,7 \pm 6,1	146,3 \pm 5,5		
Matrix	123,5 \pm 3,3	101,2 \pm 2,8	96,7 \pm 1,0	AT 50	163,7 \pm 6,1	151,3 \pm 3,1	143,7 \pm 3,5		
Tobak	107,7 \pm 2,1	87,2 \pm 3,8	76,2 \pm 7,2	JT 25	152,0 \pm 5,3	146,3 \pm 4,9	142,3 \pm 12,9		
Primus	78,5 \pm 2,6	56,8 \pm 3,8	56,7 \pm 1,0	JT 50	155,0 \pm 1,7	141,0 \pm 2,0	135,7 \pm 1,5		
Winnetou	101,3 \pm 4,7	82,0 \pm 1,3	77,0 \pm 4,0	JT 75	154,0 \pm 4,6	137,0 \pm 7,0	128,3 \pm 2,1		
				AJT 33	170,0 \pm 3,6	154,3 \pm 5,5	149,3 \pm 3,5		

¹ Durch die Abkürzungen werden die Mischungen beschrieben. Die Buchstaben stellen die Anfangsbuchstaben der Sorten in der jeweiligen Mischung dar (A=Akteur, J=Julius, T=Tobak) und die Zahl entspricht dem prozentualen Mischungsverhältnis der erst genannten Sorte, wobei AJT 33 zu je 3 gleichen Teilen der Mehlsorten besteht.

Tabelle 7.27: Zugversuche mit Teigen aus 30 Mehlen an einem Extensographen (Energie)

Energie nach 45, 90 und 135 min von verschiedenen Mehlmischungen und -sorten (Erntejahre 2013 und 2014; Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung). Die Versuche wurden vom Max Rubner-Institut., Detmold, Deutschland durchgeführt.

Bezeichnung	Energie nach [cm ²]			Bezeichnung			Energie nach [cm ²]		
	45 min	90 min	135 min	Mehl	45 min	90 min	135 min		
Industriemischungen, Rosenmühle, 2013									
Standard	87,8 \pm 2,3	98,7 \pm 4,0	108,0 \pm 5,3	Akteur	105,2 \pm 6,3	121,3 \pm 7,4	126,0 \pm 2,2		
Bun	130,3 \pm 12,3	151,0 \pm 13,2	144,0 \pm 9,3	Kerubino	107,7 \pm 5,8	111,8 \pm 6,4	102,0 \pm 3,3		
Keks	94,0 \pm 3,0	103,3 \pm 0,8	88,5 \pm 5,1	Capo	121,0 \pm 6,7	140,5 \pm 4,1	133,5 \pm 2,6		
Industriemehle, Okermühle, 2013									
Mischung 1	99,3 \pm 7,9	113,2 \pm 8,3	110,7 \pm 14,9	Discus	100,3 \pm 4,7	111,5 \pm 3,9	103,0 \pm 6,1		
JB Asano	94,3 \pm 1,6	116,8 \pm 7,3	110,0 \pm 5,8	Matrix	75,8 \pm 2,9	90,8 \pm 5,8	94,0 \pm 4,4		
Julius	92,0 \pm 1,8	110,5 \pm 6,5	108,0 \pm 11,8	Tobak	63,2 \pm 2,1	73,3 \pm 1,8	70,8 \pm 3,1		
Opal	117,7 \pm 8,0	138,0 \pm 1,0	141,3 \pm 9,2	Biscay	40,7 \pm 1,3	53,0 \pm 2,3	57,5 \pm 2,6		
Projektsorten, Freising, 2013									
Capo	109,2 \pm 7,7	115,7 \pm 2,0	111,8 \pm 8,7	Mischungen, Handelsmehle, 2014 ¹	67,3 \pm 1,5	91,3 \pm 3,1	91,3 \pm 5,7		
JB Asano	87,5 \pm 1,3	87,8 \pm 1,3	82,7 \pm 1,3	AJ 25	71,7 \pm 1,5	88,7 \pm 6,0	96,7 \pm 4,2		
Julius	64,7 \pm 0,8	71,0 \pm 4,9	62,7 \pm 3,3	AJ 50	56,3 \pm 1,5	71,0 \pm 4,4	72,3 \pm 3,5		
Discus	51,5 \pm 1,7	55,0 \pm 3,5	50,5 \pm 1,8	AT 25	62,3 \pm 0,6	80,7 \pm 4,0	79,7 \pm 4,2		
Matrix	85,0 \pm 1,7	91,2 \pm 1,5	81,3 \pm 1,0	AT 50	51,7 \pm 4,6	64,3 \pm 3,2	59,3 \pm 5,1		
Tobak	63,8 \pm 0,8	61,5 \pm 3,5	57,8 \pm 2,8	JT 25	59,0 \pm 1,0	71,7 \pm 2,3	72,7 \pm 4,2		
Primus	45,0 \pm 2,2	48,7 \pm 4,6	46,8 \pm 1,3	JT 50	60,7 \pm 1,5	75,0 \pm 7,2	77,7 \pm 3,5		
Winnetou	31,8 \pm 1,3	34,2 \pm 0,6	33,3 \pm 1,8	JT 75	74,7 \pm 2,1	90,7 \pm 7,1	100,3 \pm 0,6		

¹ Durch die Abkürzungen werden die Mischungen beschrieben. Die Buchstaben stellen die Anfangsbuchstaben der Sorten in der jeweiligen Mischung dar (A=Akteur, J=Julius, T=Tobak) und die Zahl entspricht dem prozentualen Mischungsverhältnis der erst genannten Sorte, wobei AJT 33 zu je 3 gleichen Teilen der Mehlsorten besteht.

Zu 3.8.4: Diskussion

Tabelle 7.28: Vergleich der spezifischen Brotvolumina (spez. V.) aus dem Mikro-Opti-Mix-Test (MOMT) und dem Mikrobacktest (MBT)

Herstellung von Brötchen aus verschiedenen Mehlmischungen und -sorten (Erntejahre 2013 und 2014) mit dem MOMT (anteigen bei 300 U/min im registrierenden Spiralkneter bis zum Maximum der Drehmoment-Zeit-Kurve) und dem MBT (anteigen bei 22 °C und 63 U/min im Farinograph bis zur optimalen Teigentwicklungszeit bei 550 BE) zur Bestimmung der spezifischen Volumina (spez. V.; Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung).

Bezeichnung der Mehle	spez. V. [mL]		Bezeichnung der Mehle	spez. V. [mL]	
	MBT	MOMT		MBT	MOMT
Industriemischungen, Rosenmühle, 2013			Handelssorten, Detmold, 2014		
Standard	4,6 \pm 0,1	2,5 \pm 0,0	Akteur	3,9 \pm 0,1	3,5 \pm 0,1
Bun	4,5 \pm 0,1	3,3 \pm 0,3	Kerubino	4,4 \pm 0,2	3,7 \pm 0,2
Keks	4,2 \pm 0,1	2,6 \pm 0,2	Capo	3,8 \pm 0,0	3,1 \pm 0,3
Industriemehle, Okermühle, 2013			Discus	3,3 \pm 0,1	2,3 \pm 0,2
Mischung 1	4,4 \pm 0,1	3,0 \pm 0,2	Matrix	3,6 \pm 0,1	2,8 \pm 0,1
JB Asano	4,5 \pm 0,2	3,0 \pm 0,3	Tobak	4,0 \pm 0,1	3,1 \pm 0,1
Julius	3,9 \pm 0,1	3,4 \pm 0,2	Biscay	2,7 \pm 0,0	2,3 \pm 0,2
Opal	4,5 \pm 0,1	3,7 \pm 0,2			
Projektsorten, Freising, 2013			Mischungen, Handelsmehle, 2014 ¹		
Capo	3,9 \pm 0,2	2,2 \pm 0,1	AJ 25	3,9 \pm 0,1	3,3 \pm 0,0
JB Asano	3,9 \pm 0,2	2,2 \pm 0,2	AJ 50	4,3 \pm 0,2	3,4 \pm 0,2
Julius	3,4 \pm 0,2	1,9 \pm 0,0	AT 25	4,4 \pm 0,1	2,9 \pm 0,2
Discus	2,8 \pm 0,2	1,9 \pm 0,1	AT 50	4,4 \pm 0,1	3,0 \pm 0,2
Matrix	3,4 \pm 0,1	1,7 \pm 0,1	JT 25	3,8 \pm 0,2	3,1 \pm 0,2
Tobak	2,7 \pm 0,2	2,0 \pm 0,0	JT 50	3,7 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1
Primus	3,6 \pm 0,1	1,7 \pm 0,1	JT 75	3,7 \pm 0,1	2,9 \pm 0,1
Winnetou	3,6 \pm 0,1	2,3 \pm 0,1	AJT 33	4,3 \pm 0,2	3,2 \pm 0,3

¹ Durch die Abkürzungen werden die Mischungen beschrieben. Die Buchstaben stellen die Anfangsbuchstaben der Sorten in der jeweiligen Mischung dar (A=Akteur, J=Julius, T=Tobak) und die Zahl entspricht dem prozentualen Mischungsverhältnis der erst genannten Sorte, wobei AJT 33 zu je 3 gleichen Teilen der Mehlsorten besteht.

Tabelle 7.29: Variation der Wasserzugabe im Mikrobacktest (MBT)

Herstellung von Brötchen mit der Mehlmischung Premium (Rosenmühle, Industrievermahlung) mit dem MBT (anteigen bei 22 °C und 63 U/min im Farinograph bis zur optimalen Teigentwicklungszeit bei 550 BE) und Variation der Wasserzugabe zur Bestimmung der spezifischen Volumina (spez. V.; Mittelwert \pm SD, jeweils Dreifachbestimmung).

Optimale Wasserzugabe \pm x %	Knetzeit [min]	spez. V. [mL/g]	Statistisch signifikant³ ? (spez. V.)
+ 1 %	5 (BE = 500)	3,9 \pm 0,3	ja
Optimum (6,08 mL)	7	4,5 \pm 0,1	(Kontrolle)
- 1 %	6	4,5 \pm 0,3	-
- 2 %	6	4,2 \pm 0,1	-
- 3 % (u) ¹	3	3,9 \pm 0,0	ja
- 3 % (ü) ²	9	4,5 \pm 0,1	-
- 4 % (u) ¹	2	3,4 \pm 0,1	ja
- 4 % (ü) ²	10	4,7 \pm 0,0	-
- 5 % (u) ¹	1	3,0 \pm 0,2	ja
- 5 % (ü) ²	11	4,4 \pm 0,2	-

¹ unterknetet

² überknetet

³ einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA), Bonferroni t-Test, Signifikanzniveau = 0,05

Zu 3.10.1: Korrelationsanalysen

Tabelle 7.30: Gehalte des Gluteninmakropolymers (GMP) und Natriumdodecylsulfat-löslichen (SDSL) Anteils der 30 Mehle

Quantitative Bestimmung des GMP- und SDSL-Anteils, nach Extraktion mit SDS, Reduktion von GMP mit DTT, Trennung mittels GP-HPLC und UV-Detektion (210 nm) von verschiedenen Mehlmischungen und -sorten (Erntejahre 2013 und 2014; Mittelwert \pm SD, Dreifachbestimmung).

Bezeichnung der Mehle	SDSL [mg/g Mehl]	GMP [mg/g Mehl]	Bezeichnung der Mehle	SDSL [mg/g Mehl]	GMP [mg/g Mehl]
Industriemischungen, Rosenmühle, 2013			Handelssorten, Detmold, 2014		
Standard	85,3 \pm 2,6	9,8 \pm 0,3	Akteur	105,5 \pm 0,8	6,0 \pm 0,3
Bun	97,8 \pm 5,4	12,6 \pm 0,7	Kerubino	100,2 \pm 0,3	3,1 \pm 0,2
Keks	72,3 \pm 3,4	8,8 \pm 0,5	Capo	108,0 \pm 0,9	5,7 \pm 0,3
Industriemehle, Okermühle, 2013			Discus	98,2 \pm 1,2	5,0 \pm 0,1
Mischung 1	92,4 \pm 4,4	11,1 \pm 0,6	Matrix	83,4 \pm 0,5	3,3 \pm 0,1
JB Asano	87,0 \pm 3,1	9,1 \pm 0,4	Tobak	88,9 \pm 0,4	3,5 \pm 0,1
Julius	93,9 \pm 3,1	9,4 \pm 0,3	Biscay	88,6 \pm 0,1	2,6 \pm 0,2
Opal	90,9 \pm 4,2	11,2 \pm 0,4			
Projektsorten, Freising, 2013			Mischungen, Handelsmehle, 2014 ¹		
Capo	75,8 \pm 1,2	13,7 \pm 0,2	AJ 25	91,9 \pm 0,4	3,7 \pm 0,2
JB Asano	71,4 \pm 0,6	11,0 \pm 0,7	AJ 50	95,2 \pm 0,8	4,1 \pm 0,1
Julius	62,6 \pm 1,5	2,1 \pm 0,1	AT 25	94,7 \pm 0,5	3,0 \pm 0,1
Discus	65,6 \pm 0,6	1,5 \pm 0,1	AT 50	97,4 \pm 0,4	3,5 \pm 0,1
Matrix	76,4 \pm 1,7	2,4 \pm 0,2	JT 25	89,6 \pm 0,3	2,8 \pm 0,1
Tobak	59,2 \pm 1,1	5,3 \pm 0,3	JT 50	88,5 \pm 1,2	3,0 \pm 0,1
Primus	58,8 \pm 1,0	2,1 \pm 0,1	JT 75	88,8 \pm 0,8	3,1 \pm 0,1
Winnetou	68,2 \pm 3,5	1,7 \pm 0,1	AJT 33	98,8 \pm 0,3	3,9 \pm 0,0

¹ Durch die Abkürzungen werden die Mischungen beschrieben. Die Buchstaben stellen die Anfangsbuchstaben der Sorten in der jeweiligen Mischung dar (A=Akteur, J=Julius, T=Tobak) und die Zahl entspricht dem prozentualen Mischungsverhältnis der erst genannten Sorte, wobei AJT 33 zu je 3 gleichen Teilen der Mehlsorten besteht.

Tabelle 7.31: Gehalte der Proteinuntereinheiten des Gluteninmakropolymers (GMP) der 30 Mehle

Gehalte der Proteinuntereinheiten und Proteinfraktionen in GMP (hochmolekulare Untereinheiten, HMW-UE; niedermolekulare Untereinheiten, LMW-UE; Albumine+Globuline, ALGL), nach Extraktion mit SDS, Reduktion mit DTT, Trennung mittels GP-HPLC und UV-Detektion (210 nm) von verschiedenen Mehlmischungen und -sorten (Erntejahre 2013 und 2014; Mittelwert \pm SD, Dreifachbestimmung).

Bezeichnung		[mg/g Mehl]					
Mehl	HMW-UE	LMW-UE	ALGL	Mehl	HMW-UE	LMW-UE	ALGL
Industriemischungen, Rosenmühle, 2013		Handelssorten, Detmold, 2014					
Standard	2,7 \pm 0,1	5,9 \pm 0,1	1,2 \pm 0,1	Akteur	1,3 \pm 0,1	3,7 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1
Bun	3,6 \pm 0,2	7,7 \pm 0,4	1,3 \pm 0,1	Kerubino	0,4 \pm 0,0	1,9 \pm 0,2	0,8 \pm 0,0
Keks	2,2 \pm 0,1	5,4 \pm 0,3	1,2 \pm 0,1	Capo	1,2 \pm 0,1	3,6 \pm 0,2	0,9 \pm 0,0
Industriemehle, Okermühle, 2013		Discus					
Mischung 1	2,9 \pm 0,1	6,6 \pm 0,7	1,6 \pm 0,1	Matrix	0,5 \pm 0,0	2,1 \pm 0,1	0,7 \pm 0,0
JB Asano	2,2 \pm 0,1	5,6 \pm 0,2	1,3 \pm 0,1	Tobak	0,6 \pm 0,0	2,2 \pm 0,1	0,7 \pm 0,0
Julius	2,3 \pm 0,1	5,7 \pm 0,2	1,4 \pm 0,0	Biscay	0,4 \pm 0,0	1,6 \pm 0,1	0,6 \pm 0,0
Opal	2,7 \pm 0,1	6,9 \pm 0,3	1,6 \pm 0,1	Mischungen, Handelsmehle, 2014 ¹			
Projektsorten, Freising, 2013		AJ 25					
Capo	3,5 \pm 0,2	8,8 \pm 0,1	1,4 \pm 0,0	AJ 25	0,7 \pm 0,1	2,4 \pm 0,1	0,6 \pm 0,0
JB Asano	2,7 \pm 0,2	6,9 \pm 0,4	1,4 \pm 0,1	AJ 50	0,8 \pm 0,0	2,7 \pm 0,0	0,6 \pm 0,0
Julius	0,4 \pm 0,0	1,2 \pm 0,0	0,5 \pm 0,0	AT 25	0,5 \pm 0,0	1,9 \pm 0,1	0,6 \pm 0,0
Discus	0,3 \pm 0,0	0,9 \pm 0,1	0,3 \pm 0,0	AT 50	0,6 \pm 0,0	2,3 \pm 0,1	0,6 \pm 0,0
Matrix	0,4 \pm 0,0	1,4 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	JT 25	0,5 \pm 0,0	1,7 \pm 0,1	0,6 \pm 0,0
Tobak	0,9 \pm 0,1	3,4 \pm 0,2	1,0 \pm 0,0	JT 50	0,6 \pm 0,0	1,9 \pm 0,0	0,5 \pm 0,0
Primus	0,4 \pm 0,0	1,2 \pm 0,0	0,5 \pm 0,0	JT 75	0,6 \pm 0,0	1,9 \pm 0,1	0,6 \pm 0,0
Winnetou	0,3 \pm 0,0	0,9 \pm 0,1	0,5 \pm 0,0	AJT 33	0,8 \pm 0,0	2,6 \pm 0,0	0,5 \pm 0,0

¹ Durch die Abkürzungen werden die Mischungen beschrieben. Die Buchstaben stellen die Anfangsbuchstaben der Sorten in der jeweiligen Mischung dar (A= Akteur, J=Julius, T=Tobak) und die Zahl entspricht dem prozentualen Mischungsverhältnis der erst genannten Sorte, wobei AJT 33 zu je 3 gleichen Teilen der Mehlsorten besteht.

7.5 Statistiktabelle

Zu 3.8.1: Bestimmung der optimalen Knetbedingungen

Tabelle 7.32: Signifikanzen der Unterschiede der spezifischen Brotvolumina (spez. V.) bei verschiedenen Anteigbedingungen

Statistische Signifikanzen (Einfaktorielle Varianzanalyse = Anova) der Unterschiede zwischen den spezifischen Volumina (spez. V.) [mg/g Brot] aus den Vorversuchen mit dem neuen registrierenden Spiralkneter zur Bestimmung der optimalen Drehzahl und Knetzeit, wobei die Teile aus einer Premiummehlmischung (E-Qualität, Erntejahr 2013, Rosenmühle) hergestellt wurden, angegeben als p-Werte.

Knetgeschwindigkeit [U/min]/Anteigdauer [s]	100+200 ¹	200/140	200/160	300/120	300/180	400/100	400/180	500/80	500/120	500/180	600/60	600/120	700/120
200/140	1,000												
200/160	1,000	1,000											
300/120	1,000	1,000	1,000										
300/180	0,483	0,727	0,634	0,501									
400/100	1,000	1,000	1,000	1,000	0,891								
400/180	1,000	1,000	1,000	1,000	0,424	1,000							
500/80	0,010**	0,022**	0,016**	0,010**	0,607	0,042**	0,008**						
500/120	0,073	0,147	0,113	0,077	0,981	0,251	0,061	1,000					
500/180	0,991	0,936	0,966	0,989	0,092	0,822	0,995	0,002**	0,012**				
600/60	0,102	0,215	0,164	0,109	0,999	0,368	0,084	0,970	1,000	0,015**			
600/120	0,872	0,977	0,950	0,884	1,000	0,998	0,827	0,266	0,785	0,282	0,932		
700/120	0,114	0,050*	0,070	0,108	<	0,024**	0,138	<	<	0,887	<	0,002**	
700/120+ ²	0,999	0,976	0,991	0,998	0,001***	0,893	1,000	0,001***	0,001***	0,010**	0,001***	0,011**	0,306

*signifikant: $p \leq 0,05$; **hoch signifikant $p \leq 0,01$; ***sehr hoch signifikant $p \leq 0,001$

¹ Versuch bei dem zuerst 1 min bei 100 U/min und anschließend 2 min bei 200 U/min angeteigt wurde

² Versuch, der mit Eiswasser durchgeführt wurde

Zu 3.8.1: Bestimmung der optimalen Knetbedingungen

Tabelle 7.33: Signifikanzen der Unterschiede der spezifischen Brotvolumina (spez. V.) bei unterschiedlichen Drehzahlen

Statistische Signifikanzen der Unterschiede zwischen den spez. V. [mg/g Brot der 10 Mehlproben], die durch den Mikro-Opti-Mix-Test (MOMT) bei 300 bzw. 500 U/min in der Knetphase erreicht wurden, angegeben als p-Werte (t-Test).

Vgl. der spez. V. der Backversuche in Bezug auf die Drehzahlen 300 vs. 500 U/min

	U/min
Akteur ¹	0,418
Winnetou ¹	0,029*
Premium ²	0,203
Standard ²	0,022*
Bun ²	0,028*
Keks ²	0,895
Mischung 1 ³	0,210
JB Asano ⁴	0,977
Julius ⁴	0,472
Opal ⁴	0,132

*signifikant: $p \leq 0,05$; **hoch signifikant $p \leq 0,01$; ***sehr hoch signifikant $p \leq 0,001$

¹ Körner von IG Pflanzenzucht, München; Laborvermahlung, Jahrgang 2013

² Industriemischungen der Rosenmühle, Landshut, Jahrgang 2013

³ Industriemischung der Okermühle, Hedwigsburg, Jahrgang 2013

⁴ Mehlsorten der Okermühle, Hedwigsburg, Jahrgang 2013

Zu 3.8.3: Korrelationsanalysen

Tabelle 7.34: Pearson Produkt Moment Korrelation indirekter Qualitätsparameter mit dem spezifischen Brotvolumen (spez. V.) aus drei Backversuchen

Statistische Signifikanzen (Pearson Produkt Moment Korrelation) der Unterschiede zwischen dem spez. V. [mL/g Brot] aus den Backtests MOMT, MBT, RMT und den indirekten Qualitätsparametern aus den Bestimmungen des Feuchtklebers, Rohproteingehalt, Fallzahlbestimmung, Osborneproteinfraktionen und Teigzugversuche (Kieffer Rig und Extensograph). Die statistischen Signifikanzen wurden jeweils von 30 verschiedenen Mehlen (12 Mischungen, 18 Sorten, Erntejahre 2013 und 2014, unterschiedliche Bezugsquellen) als p-Werte angegeben.

Verfahren	Indirekter Qualitätsparameter ¹	Signifikanzniveau (p) ² des Korrelationskoeffizienten (r) ³		
		Vs.	MOMT (spez. V.)	MBT (spez. V.)
MOMT	spez. V.		< 0,001***	< 0,001***
MBT	spez. V.	< 0,001***		< 0,001***
RMT	spez. V.	< 0,001***	< 0,001***	
Feuchtkleberbestimmung	Klebergehalt	< 0,001***	< 0,001***	< 0,001***
Dumas-Analyse	Rohproteingehalt	< 0,001***	< 0,001***	< 0,001***
Fallzahlbestimmung	Fallzahl	0,709	0,577	0,825
Osborne Fraktionierung RP-HPLC	ALGL	0,918	0,117	0,907
	GLIA	< 0,001***	< 0,001***	< 0,001***
	ω ₅ -GLIA	0,003**	0,002**	0,015**
	ω _{1,2} -GLIA	0,126	0,013	0,371
	α-GLIA	< 0,001***	< 0,001***	< 0,001***
	γ-GLIA	< 0,001***	< 0,001***	< 0,001***
	GLUT	< 0,001***	< 0,001***	< 0,001***
	ω b-GLIA	0,020**	< 0,001***	0,064
	HMW-UE	< 0,001***	< 0,001***	< 0,001***
	LMW-UE	< 0,001***	< 0,001***	< 0,001***
	GLIA /GLUT ⁴	0,017**	0,040**	0,002**
	Gesamtgluten LMW/HMW ⁴	< 0,001***	< 0,001***	< 0,001***
Teigzugversuch (Mikromaßstab) Kieffer Rig	R _{max}	0,982	0,561	0,326
	E _{max}	< 0,001***	0,036**	< 0,001***
	DE	0,001***	0,047**	< 0,001***
Teigzugversuch Extensograph	R _{max} , 45 min	0,050*	0,349	0,127
	R _{max} , 90 min	0,030**	0,256	0,118
	R _{max} , 135 min	0,085	0,489	0,302
	E _{max} , 45 min	< 0,001***	< 0,001***	< 0,001***
	E _{max} , 90 min	< 0,001***	< 0,001***	< 0,001***
	E _{max} , 135 min	< 0,001***	0,010**	< 0,001***
	DE, 45 min	0,024*	0,002**	0,007**
	DE, 90 min	0,002**	< 0,001***	< 0,001***
	DE, 135 min	< 0,001	< 0,001	< 0,001***

¹ ALGL = Albumine + Globuline, GLIA = Gliadine, GLUT = Glutenine, Gesamtgluten = GLIA + GLUT, R_{max} = Dehnwiderstand, E_{max} = Dehnbarkeit, DE = Dehnergie

² *signifikant: p ≤ 0,05; **hoch signifikant p ≤ 0,01; ***sehr hoch signifikant p ≤ 0,001

³ Pearson Produkt Moment Korrelation

⁴ Verhältnisse nicht linear korrelierbar

Zu 3.10.1: Korrelationsanalysen

Tabelle 7.35: Pearson Produkt Moment Korrelation der Ergebnisse der SDSL/GMP-Fraktionierung von 30 Mehlen mit den spezifischen Brotvolumina (spez. V.) aus drei Backversuchen

Statistische Signifikanzen (Pearson Produkt Moment Korrelation) der Unterschiede zwischen dem spez. V. [mL/g Brot] aus den Mikrobacktests MOMT, MBT, RMT und den indirekten Qualitätsparametern aus den Bestimmungen der SDSL/GMP-Fraktionierung. Die statistischen Signifikanzen wurden jeweils von 30 verschiedenen Mehlen (12 Mischungen, 18 Sorten, Erntejahre 2013 und 2014, unterschiedliche Bezugsquellen) als p-Werte angegeben.

Verfahren	Indirekter Qualitätsparameter ¹	Signifikanzniveau ² (p) des Korrelationskoeffizienten ³ (r)			
		Vs.	MOMT (spez. V.)	MBT (spez. V.)	RMT (spez. V.)
SDSL/GMP-Fraktionierung GP-HPLC	SDSL		< 0,001***	0,002**	< 0,001***
	GMP		0,277	0,003**	0,374
	HMW-UE		0,330	0,003**	0,478
	LMW-UE		0,265	0,003**	0,335
	LMW/HMW ⁴		0,873	0,042*	0,667

¹ SDSL = Natriumdodecylsulfat-lösliche Anteil, GMP = Gluteninmakropolymer, HMW-UE = hochmolekulare Untereinheiten, LMW-UE = niedermolekulare Untereinheiten

² *signifikant: $p \leq 0,05$; **hoch signifikant $p \leq 0,01$; ***sehr hoch signifikant $p \leq 0,001$

³ Pearson Produkt Moment Korrelation

⁴ Verhältnisse nicht linear korrelierbar

Tabelle 7.36: Pearson Produkt Moment Korrelation der Ergebnisse der SDSL/GMP-Fraktionierung von 15 Mehlen mit den spezifischen Brotvolumina (spez. V.) aus drei Backversuchen

Statistische Signifikanzen (Pearson Produkt Moment Korrelation) der Unterschiede zwischen dem spez. V. [mL/g Brot) aus den Mikrobacktests MOMT, MBT, RMT und den indirekten Qualitätsparametern aus den Bestimmungen der SDSL-GMP-Fraktionierung. Die statistischen Signifikanzen wurden jeweils von 15 verschiedenen Mehlen des Jahrgangs 2013 und 2014 als p-Werte angegeben.

Verfahren	Indirekter Qualitätsparameter ¹	Signifikanzniveau (p) ² des Korrelationskoeffizienten (r) ³			
		Vs.	MOMT (spez. V.)	MBT (spez. V.)	RMT (spez. V.)
Projektsorten, Industriesorten- und Mischungen des Jahrgangs 2013 (15 Mehle)					
SDSL/GMP-Fraktionierung GP-HPLC	SDSL		< 0,001***	< 0,001***	< 0,001***
	GMP		0,006**	< 0,001***	0,002**
	HMW-UE		0,005**	< 0,001***	0,002**
	LMW-UE		0,007**	< 0,001***	0,003**
	LMW/HMW ⁴		0,003**	< 0,001***	0,004**
Handelsorten und deren Mischungen des Jahrgangs 2014 (15 Mehle)					
SDSL/GMP-Fraktionierung GP-HPLC	SDSL		0,150	0,190	< 0,001***
	GMP		0,467	0,791	0,011*
	HMW-UE		0,308	0,678	0,014*
	LMW-UE		0,527	0,765	0,010*
	LMW/HMW ⁴		0,142	0,291	0,057

¹ SDSL = Natriumdodecylsulfat-lösliche Anteil, GMP = Gluteninmakropolymer, HMW-UE = hochmolekulare Untereinheiten, LMW-UE = niedermolekulare Untereinheiten

² *signifikant: $p \leq 0,05$; **hoch signifikant $p \leq 0,01$; ***sehr hoch signifikant $p \leq 0,001$

³ Pearson Produkt Moment Korrelation

⁴ Verhältnisse nicht linear korrelierbar