

BÖL

Bundesprogramm
Ökologischer
Landbau

Charakterisierung von Getreide aus ökologischem und konventionellem Anbau - Anwendung von Protein-Profilings- Techniques und Inhaltsstoffanalysen

Characterisation of cereal grain from organic and conventional farming – application of protein profiling techniques and analysis of individual compounds

FKZ: 02OE069

Projektnehmer:

Max Rubner-Institut, Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel
Institut für Sicherheit und Qualität bei Getreide
Schützenberg 12, 32756 Detmold
Tel.: +49 5231 741 0
Fax: +49 5231 741 100
E-Mail: poststelle@mri.bund.de
Internet: <http://www.mri.bund.de>

Autoren:

Langenkämper, G; Zörb, C.; Betsche, T.

Gefördert vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz
im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau (BÖL)

Abschlussbericht

**„Charakterisierung von Getreide aus ökologischem und konventionellem Anbau -
Anwendung von „Protein-Profilings-Techniques“ und Inhaltsstoffanalysen“**

Projektnummer: 02OE069

Forschungsprojekt im Bundesprogramm Ökologischer Landbau

Laufzeit und Berichtszeitraum: 01.11.2005 bis 31.10.2007

Bearbeiter:

Dr. G. Langenkämper (Projektleitung)

PD. Dr. C. Zörb

Dr. T. Betsche

Bundeforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel
Institut für Biochemie von Getreide und Kartoffeln
Schützenberg 12
32756 Detmold

Zusammenarbeit mit anderen Stellen:

Forschungsinstitut für biologischen Landbau, Frick (Schweiz) und Forschungsanstalt
Agroscope Reckenholz-Tänikon, Zürich (Schweiz)

Universität Bielefeld, Abteilung Proteom- und Metabolomforschung am Lehrstuhl für
Genetik

Universität Köln, Zentrum für Molekulare Medizin Köln, Zentrale Bioanalytik

INHALTSVERZEICHNIS

1	Ziele und Aufgabenstellung des Projekts	3
1.1	Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	4
1.2	Planung und Ablauf des Projekts	7
2	Material und Methoden	8
2.1	Weizenanbau	8
2.2	Probenverarbeitung und –lagerung	9
2.3	Analytik von Inhaltsstoffen	9
2.4	Zweidimensionale Gel-Elektrophorese und Massenspektrometrie von Proteinen	11
3	Ergebnisse	14
3.1	Protein-Profiling	14
3.1.1	Protein-Auftrennung (2D Gel-Elektrophorese)	14
3.1.2	Proteinidentifizierung	16
3.1.3	Profiling mit speziellen Proteingruppen	17
3.2	Analyse von einzelnen Inhaltsstoffen	18
3.2.1	Tausendkornmasse	18
3.2.2	Protein- und Stärkegehalte	19
3.2.3	Mineralstoffe	20
3.2.4	Ballaststoffe, Fruktane, Gesamt-Oxalsäure, lösliche Oxalsäure und Phytinsäure	22
3.2.5	Antioxidative Parameter	24
3.2.6	Lipide	27
3.3	Metaboliten-Profile	28
3.4	Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse, bisherige und geplante Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse	29
4	Zusammenfassung	31
5	Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen	33
6	Literaturverzeichnis	35
7	Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen zum Projekt	39

1 Ziele und Aufgabenstellung des Projekts

Anhand definierten Probenmaterials aus parallelem ökologischem und konventionellem Anbau wurde mit Hilfe von Protein-Profilung eine vergleichende Charakterisierung des Proteoms von Weizen durchgeführt. Das Ergebnis des Vorhabens ist ein Profil von verschiedenen stark auftretenden Proteinen in ökologisch und konventionell angebautem Weizen. In weitergehenden Studien kann auf dieser Grundlage aufgeklärt werden, ob die differentiell auftretenden Proteine direkt oder indirekt z. B. über Stoffwechselaktivität in der Pflanze die ernährungsphysiologische Qualität (Gesundheitswert) von Lebensmitteln beeinflussen. Zusätzlich kann ein solches Profil als Grundlage für einen Herkunftsnachweis dienen und somit im Sinne des Verbraucherschutzes von großem Wert sein.

Inhaltsstoffanalysen, die sowohl mit Profiling-Methoden als auch mit klassischen Methoden durchgeführt werden, dienen der Charakterisierung des Weizens hinsichtlich der ernährungsphysiologischen Qualität. Gesamtziel des Forschungsvorhabens ist also eine umfassende biochemische Charakterisierung von Weizen bei kontrollierten ökologischen und konventionellen Anbauformen.

Im Rahmen der Bekanntmachung Nr. 04/03/51 (April 2003) über die Durchführung von Forschungs- und Entwicklungsprojekten im Bereich des Bundesprogramms Ökologischer Landbau war das generelle Ziel, die Qualität (Eignungswert, Genusswert, Gesundheitswert) ökologisch erzeugter Lebensmittel, auch im Vergleich zu konventionell erzeugten Lebensmitteln, zu erfassen und analytisch zu prüfen. Die hier vorgestellten Ergebnisse des Forschungsprojekts 02OE069 haben Bezug zu folgenden, konkreten Themensetzungen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau:

- Vergleichende Bewertung von pflanzlichen Rohstoffen und daraus hergestellten Lebensmitteln aus konventionellem und ökologischem Anbau (Getreide, Kartoffeln, Ölsaaten, Obst, Gemüse);
- Gehalte und funktionelle Eigenschaften sekundärer Pflanzenstoffe von pflanzlichen Lebensmitteln aus dem ökologischen und konventionellen Anbau (Gemüse, Obst, Getreide);
- Entwicklung und Weiterentwicklung ganzheitlicher Untersuchungsmethoden;
- Entwicklung von Methoden zur Identifizierung von ökologisch erzeugten Produkten auf der Endverbraucherstufe.

1.1 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Positive Auswirkungen des ökologischen Landbaus auf Agro-Ökosysteme, besonders die Biodiversität und die Bodenfruchtbarkeit, sind durch wissenschaftliche Daten gut belegt (Mäder et al., 2002). Zudem gehen viele Verbraucher davon aus, dass ökologische Lebensmittel sicherer und gesünder seien als konventionelle (Bourn und Prescott, 2002, Kuhnert et al., 2003). Diese Verbrauchermeinung ist ein Grund für den wachsenden Erfolg von Produkten aus dem ökologischen Landbau. Ein wissenschaftlicher Nachweis, dass ökologische Lebensmittel eine ernährungsphysiologisch bessere Qualität haben, ist allerdings schwierig zu erbringen. Eine umfangreiche Literaturstudie aus dem Jahr 2003 stellt fest, dass zwar häufig Unterschiede hinsichtlich verschiedener Inhaltsstoffe auftreten, wegen widersprüchlicher Ergebnisse jedoch keine eindeutigen Folgerungen abgeleitet werden können (Tauscher et al., 2003). Eine der möglichen Ursachen für die Widersprüche in den Ergebnissen wurde im Probenmaterial gesehen, das vielfältigen Einflüssen ausgesetzt war, die nicht im Zusammenhang mit ökologischem oder konventionellem Landbau stehen (Harker, 2004). Um diese Einflüsse und Unwägbarkeiten zu vermeiden, wurde für die hier vorgestellte Arbeit auf Probenmaterial aus dem DOK-Feldversuch zurückgegriffen. Der DOK-Feldversuch umfasst verschiedene ökologische und konventionelle Anbausysteme und wird seit 1978 kontinuierlich in der Nähe von Basel durchgeführt (Mäder et al., 2006). Der Anbau identischer Sorten und gleicher Fruchtfolgen bei gleichen klimatischen Bedingungen und homogenem Bodentyp gewährleisten weitestgehend gleiche Bedingungen bei den ökologischen und konventionellen Anbausystemen. Lediglich Form und Menge der Düngung und die Pflanzenschutzmaßnahmen sind spezifisch unterschiedlich für die jeweiligen Anbausysteme (Mäder et al., 2002, Mäder et al., 2006). Weizen des DOK-Feldversuchs eignet sich daher hervorragend, um belastbare Vergleichsstudien zur Qualität von Weizen verschiedener landwirtschaftlicher Systeme durchzuführen.

Dieses Forschungsprojekt nutzt grundsätzlich andere Methoden, als die mit denen der Weizen des DOK-Feldversuchs zuvor untersucht wurde. Daher ergeben die erzielten Ergebnisse in Verbindung mit den Ergebnissen anderer Forschungsarbeiten zur Qualität des DOK-Weizens (Mäder et al., 2007, Meier-Ploeger et al., 2003) ein viel umfassenderes, komplementäres Gesamtbild.

Vom Standpunkt der Pflanzenphysiologie gesehen, ergibt sich die generelle Frage nach der Wahrscheinlichkeit, dass sich Weizen aus ökologischer und konventioneller Produktion

unterscheidet. Pflanzenbiologische und mikrobiologische Forschungsarbeiten haben zweifelsfrei gezeigt, dass einige Umweltfaktoren, die u. a. landbauabhängig sind, Auswirkungen auf den pflanzlichen Stoffwechsel haben (Bray et al., 2000, Hammond-Kosack und Jones, 2000). Dazu gehören z. B. Art der Nährstoff-/Mineralstoffversorgung, Bestandsdichte, Bodenmikroorganismen, Pflanzenpathogene und Bodenqualität (Abb. 1).

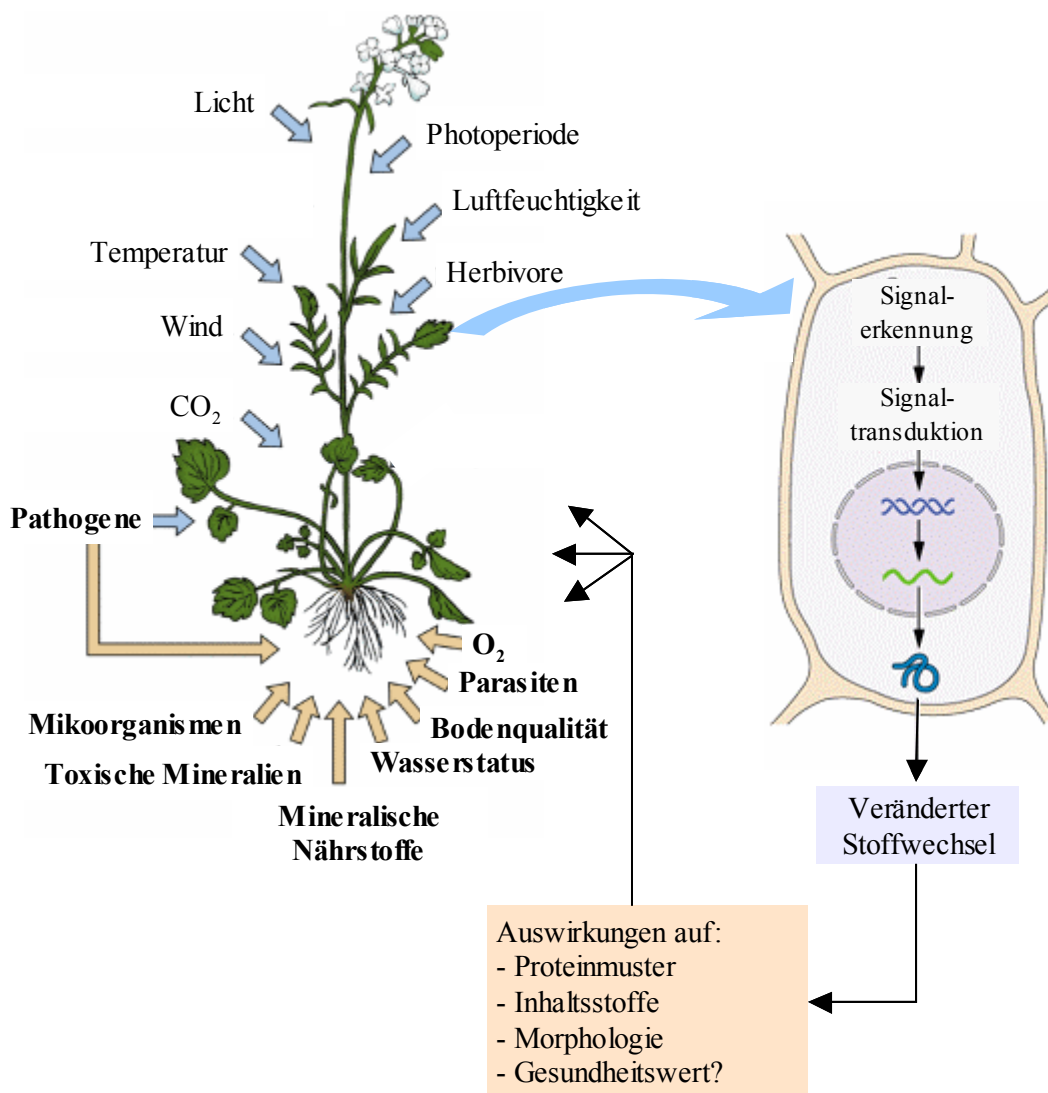


Abbildung 1: Pflanzen reagieren auf Umweltsignale auf zellulärer Ebene und als gesamter Organismus

Erkennung und Transduktion der Signale resultieren in der Regel in veränderter Genexpression auf zellulärer Ebene. Die veränderte Genexpression kann Auswirkungen auf die Protein- und Inhaltsstoffzusammensetzung, die Morphologie und gegebenenfalls auch den Gesundheitswert der gesamten Pflanze haben. Parameter, die sich zwischen ökologischem und konventionellem Anbau potentiell unterscheiden sind fett gedruckt. Verändert nach: Buchanan et al. (2000).

Der DOK-Feldversuch hat übererzeugende Daten geliefert, die belegen, dass sowohl Pflanzenernährung als auch Bodenqualität in den verschiedenen Anbauvarianten verschieden sind (Mäder et al., 2002). Grundsätzlich ist daher davon auszugehen, dass sich ökologisch und konventionell angebaute Pflanzen in Teilen ihres Stoffwechsels unterscheiden. Diese Unterschiede sind vermutlich in den vegetativen Organen am deutlichsten ausgeprägt (Kartoffeln, Karotten, Blattgemüse), können sich aber auch auf die generativen Organe, also die Körner bei Getreide, auswirken.

Zur Erfassung der Unterschiede zwischen ökologisch und konventionell angebauten Pflanzen ist die analytische Bestimmung einzelner Inhaltsstoffe ein Ansatzpunkt, der aber aus konzeptionellen Gründen nur ein sehr geringes Spektrum der möglichen Änderungen erfassen kann. Eine Reihe von methodischen Konzepten, die es erlauben den pflanzlichen Stoffwechsel umfassender zu analysieren, werden mit dem Begriff „Profiling-Techniques“ bezeichnet. Diese Techniken werden seit einigen Jahren eingesetzt, um z. B. die Effekte und Wirkungen von Variablen wie Stress, Hormonen oder Arzneimitteln auf Organismen aufzuklären. Grundsätzlich ermöglichen die Profiling-Techniken die Erfassung der gesamten Bandbreite des Stoffwechsels auf den Ebenen der mRNA (Transcripte), der Proteine (Lottspeich, 1999) und auch der Stoffwechselmetabolite (Fiehn et al., 2000). Der betrachteten Stoffklasse entsprechend werden die Methoden mit den Begriffen Transcriptomics, Proteomics und Metabolomics umschrieben.

Das Proteom des Weizenkorns wurde in den letzten Jahren für verschiedene wissenschaftliche Fragestellungen mit Protein-Profiling untersucht, z. B. zur Identifizierung von Proteinen als genetische Marker für die Züchtung (Cornish et al., 2001), zur Charakterisierung der Proteinzusammensetzung in unreifem und reifem Endosperm (Skylas et al., 2000, Vensel et al., 2005), zur Aufklärung der biologischen Funktion einzelner Proteine wie Thioredoxin (Wong et al., 2004) und zur Untersuchung der Auswirkung von Hitzestress auf die Proteinexpression (Majoul et al., 2003). Die Anwendung der Profiling-Techniken zur vergleichenden Charakterisierung von Pflanzen wurde erst vor kurzem in zwei Publikationen beschrieben. Lehesranta et al. (2007) verwendeten Proteomics, um Kartoffeln aus ökologischem und konventionellem Anbau zu vergleichen. Lu et al. (2005) verwendeten Weizen-DNA-Chips zur Charakterisierung des Transcriptoms von Weizen aus intensiver und extensiver Landwirtschaft. Protein-Profiling zur Charakterisierung von Weizen aus ökologischem und konventionellem Anbau wurde unseres Wissens bisher nicht durchgeführt.

1.2 Planung und Ablauf des Projekts

Das Projekt hat zum Ziel, mögliche Unterschiede zwischen ökologischem und konventionellem Weizen mit Hilfe von Protein-Profilung und Inhaltsstoffanalysen zu erkennen und zu spezifizieren. Die Planung der Arbeitsziele des Projekts war ausgerichtet auf diese zwei methodischen Ansätze, Protein-Profilung und Inhaltsstoffanalysen.

Im Labor wurde zunächst die Extraktion von Gesamtprotein aus Weizen und die anschließende zweidimensionale (2D) Gel-Elektrophorese der Weizenproteine etabliert. Die 2D Gele wurden durch Bildauswertung densitometrisch analysiert. Das Ergebnis dieser Analysen ist ein Protein-Profil der im Weizen exprimierten Proteine. Als nächster Schritt folgte die Identifizierung individueller Proteine aus den 2D Gelen über Massenspektrometrie und Datenbanksuche (Peptide Mass Fingerprinting).

Parallel wurden zur Grundcharakterisierung des Weizens durch klassische Analytik die Gehalte an folgenden Inhaltsstoffen bestimmt: Mineralstoffe, Gesamtstickstoff und Stärke. Als ernährungsphysiologisch relevante Parameter wurden die Gehalte von Phytinsäure, Ballaststoffen, Oxalsäure, phenolische Substanzen und Glutathion ermittelt. Die Antioxidative Kapazität sowie die Aktivitäten der Enzyme Peroxidase und Glutathionreduktase wurden bestimmt.

Während der Projektlaufzeit konnte eine Zusammenarbeit mit der Abteilung Proteom- und Metabolomforschung am Lehrstuhl für Genetik der Universität Bielefeld angestoßen und erfolgreich etabliert werden. Im Rahmen dieser Zusammenarbeit wurde ein Metaboliten-Profilung von Weizenschroten durchgeführt.

Um aussagekräftige und belastbare Ergebnisse zu erhalten, wurden in diesem Projekt die große Mehrzahl der Parameter an Weizen aus zwei Erntejahren, 2003 und 2005, untersucht. Die wünschenswerte Erfassung von noch mehr Ernten war im Rahmen des Projekts nicht möglich. Der Weizen stammte aus dem schweizerischen DOK-Feldversuch, in dem unter kontrollierten Bedingungen verschiedene ökologische und konventionelle Anbauvarianten angelegt sind.

2 Material und Methoden

2.1 Weizenanbau

Körner des Winterweizens (*Triticum aestivum* L. cv. Titlis) der Ernten 2003 und 2005 wurden vom DOK-Feldversuch bezogen. Der DOK-Feldversuch wird seit 1978 in der Nähe von Basel vom Forschungsinstitut für biologischen Landbau, Frick (Schweiz) und der Forschungsanstalt Agroscope Reckenholz-Tänikon, Zürich (Schweiz), durchgeführt. Für eine detaillierte Beschreibung des Feldversuchs wird auf die Arbeiten von Mäder et al. (2002, 2006) verwiesen. In der hier vorgestellten Arbeit wurde Weizen von zwei ökologischen Anbausystemen, die als bio-organisch (Org) und bio-dynamisch (Dyn) bezeichnet wurden, verwendet. Konventioneller Weizen des DOK-Feldversuchs wurde in integrierten Anbausystemen produziert, in denen entweder nur mineralischer Dünger (M) oder mineralischer und organischer Dünger (OM) eingesetzt wurden. Die Menge an organischem Dünger betrug bei den zwei ökologischen Anbausystemen 1,4 Düngergroßvieheinheiten pro Hektar, und in den konventionellen Systemen entsprach die Düngemenge der schweizerischen Standardempfehlung für Pflanzenbau. Für jede der beschriebenen vier Anbausysteme wurde eine weitere Düngestufe mit der Hälfte der oben beschriebenen Düngemenge angelegt. Der Weizen mit geringerer Düngestufe wurde im Rahmen dieser Arbeiten nur auf eine relativ geringe Anzahl von Parametern analysiert. Bezogen auf Stickstoff, Phosphor und Kalium waren die Düngemengen zwischen 34 und 51 % niedriger in den ökologischen Anbausystemen (Mäder et al., 2002). Weizen, der während des Anbaus nicht gedüngt worden war, wurde ebenfalls in die Untersuchung einbezogen („Null“). Dieser Weizen erhielt Nährstoffe durch zwei Klee-Gras-Kulturen in einer siebenjährigen Fruchtfolge und Stickstoff-Einträge durch die Atmosphäre. Sämtliche Varianten wurden in randomisierten Parzellen in vierfacher Wiederholung angebaut (Abb. 2).



Abbildung 2: DOK-Langzeitversuch in Therwil bei Basel, Schweiz
(Fotographie: FiBL, Schweiz)

Fruchtfolgen, Sorten und Bodenbearbeitung waren in allen Anbausystemen identisch. Ernte und Reinigung des Weizens erfolgte durch FiBL/ART.

2.2 Probenverarbeitung und –lagerung

Die Weizenkörner (ca. 100 g) wurden mit einer Zentrifugalmühle aus Titan (Fa. Retsch) zu Schrot vermahlen. Der Siebeinsatz hatte eine Porengröße von 0,5 mm. Sämtliche analytischen Arbeiten wurden mit diesem Material durchgeführt. Für die Bestimmung der Elementkonzentrationen wurde ein Aliquot des Weizenschrots bei 4°C gelagert. Für alle weiteren Untersuchungen wurde ein zweites Aliquot bei -80°C gelagert. Rückstellproben (ganze Weizenkörner) wurden bei ca. 17°C dunkel gelagert. Die Tausendkornmasse (TKM) wurde durch Wiegen dreier Aliquote à 100 Körner ermittelt.

2.3 Analytik von Inhaltsstoffen

Elementbestimmungen

Der Probenaufschluss und die Elementbestimmung wurde durchgeführt wie von Langenkämper et al. (2006a) beschrieben. Die Elementbestimmung von Cd, Pb und Ni erfolgte mittels flammenloser Atomabsorptions-Spektroskopie und Zeemann-Untergrundkorrektur, die der Elemente Fe, Mg und Zn durch Flammen-AAS.

Proteingehalt

In den Weizenproben der Ernte 2003 wurde Stickstoff (N) nach den Methode von Kjeldahl (EN ISO 3188, 1994) und in Proben der Ernte 2005 nach der Methode von Dumas (ICC STANDARD No.167, 2000) bestimmt. Die ermittelten Stickstoffgehalte wurden mit dem Faktor 5,7 in Proteingehalte umgerechnet.

Oxalsäure

Die Gehalte an Gesamt-Oxalsäure und and löslicher Oxalsäure wurden enzymatisch ermittelt wie von Fretzdorff (2005) beschrieben.

Phytinsäure

Phytinsäuregehalte wurden mit der Eisenbindemethode nach Wheeler und Ferrel (1971) bestimmt.

Stärke

Stärkegehalte wurde durch enzymatischen Abbau (AOAC Methode 996.11) unter Einsatz des kommerzieller Kits K-TSTA (Megazyme, Irland) bestimmt (McCleary et al., 1997).

Fruktan

Fruktangehalte wurden nach der AOAC Methode 999.03 bestimmt wie von Fretzdorff und Welge (2003) beschrieben.

Lösliche und unlösliche Ballaststoffe

Die Gehalte an löslichen und unlöslichen Ballaststoffen wurden mit einer enzymatisch-gravimetrischen Methode (Anonym, 1997, Lee et al., 1992) bestimmt.

Glutathion

Glutathionreduktase-Aktivität und Glutathiongehalte wurden bestimmt wie zuvor beschrieben (Langenkämper et al., 2006a).

Peroxidase

Peroxidase-Aktivität wurde bestimmt wie von Fretzdorff (1980) beschrieben.

Antioxidative Kapazität

Antioxidative Kapazität wurde mit dem Radikalfänger DPPH (2,2-Diphenyl-1-picralhydrozyl) bestimmt (Langenkämper et al., 2006b).

Phenol

Lösliches Phenol und Gesamt-Phenol wurde mit dem Folin-Ciocalteu Reagenz bestimmt (Langenkämper et al., 2006b).

Metaboliten-Profile

Metaboliten-Profile wurden in methanolischen Extrakten von Weizenproben mit Hilfe von Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) aufgenommen (Zörb et al., 2006).

Lipide

Lipide wurden bestimmt wie von Helmerich und Köhler (2002) beschrieben: Lipidextrakte wurden mittels Dünnschichtchromatographie (DC) aufgetrennt. Die DC-Ergebnisse wurden mit Hilfe eines Laborscanners digitalisiert und densitometrisch ausgewertet.

Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Ergebnisse wurde mit dem Test nach Tukey mit Hilfe des SAS Programms (SAS Institute Inc., USA) durchgeführt. Signifikanz wurde auf dem 5 % Niveau getestet. Für jedes der verschiedenen Anbausysteme wurden Proben von mindestens drei unabhängigen Versuchspartzen untersucht. Gezeigt werden Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwertes (SE).

2.4 Zweidimensionale Gel-Elektrophorese und Massenspektrometrie von Proteinen

Die Erstellung von Protein-Profilen mit zweidimensionaler Gel-Elektrophorese (2D GE) und Imageanalyse sowie Massenspektrometrie war ein Hauptziel dieses Forschungsprojekts. Daher werden diese Methoden im Folgenden ausführlich beschrieben.

Proteinextraktion

Geschroteter Weizen (siehe Kapitel 2.2) wurde unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff mit Mörser und Pistill nochmals zerkleinert. Aus 200 mg Weizenschrot wurden Proteine nach einer geringfügig veränderten Methode von Görg et al. (2000) und Zörb et al. (2004) extrahiert. Das Prinzip der Extraktion ist ein Fällen der Proteine aus dem trockenen Weizenschrot mit Hilfe von Aceton, Trichloressigsäure (TCA) und Dithiothreit (DTT) und anschließendem Lösen der Proteine in hochkonzentriertem Harnstoff und Detergens. Ein 2D Clean-Up Kit (GE Healthcare, USA) wurde zur weiteren Reinigung der Proteinextrakte eingesetzt. Diese Arbeitsschritte entfernen u. a. Stärke, Lipide, organische Säuren, phenolische Verbindungen, Pigmente, Terpene und Ionen, die sich störend auf die 2D GE auswirken können. Die Proteinbestimmung in den Extrakten erfolgte mit dem 2D Quant Protein Determination Kit (GE-Healthcare, USA).

2D Gel-Elektrophorese: Isoelektrische Fokussierung (IEF) und Natriumdodecylsulfat Polyacrylamid Gel-Elektrophorese (SDS PAGE)

2D GE wurde leicht modifiziert nach etablierten Protokollen durchgeführt (Westermeier und Naven, 2002). IEF erfolgte mit 500 µg Protein in immobilisierten pH Gradienten (IPG) Gelstreifen (18 cm) mit einem linearen Gradienten von pH 3 – 10 in einer Multiphor II Elektrophoreseapparatur (GE-Healthcare, USA).

Im Anschluss an die IEF wurde die SDS PAGE (12,5 % Acrylamid) der im IPG Gelstreifen fokussierten Proteine durchgeführt. Nach Inkubation in einem Fixierungsbad wurde mit dem Farbstoff Coomassie-Blau auf Protein gefärbt. Zur Digitalisierung der 2D Gele wurden diese mit einem über Graustufen geeichten Durchlicht-Laborscanner gescannt.

Um die Lesbarkeit des Textes zu verbessern, wird in den folgenden Abschnitten der Begriff „Protein“ verwendet, wenn ein „Spot“ in einem 2D Gel gemeint ist. Es wird davon ausgegangen, dass jeder Spot in einem 2D Gel ein individuelles Polypeptid darstellt, das mit oder ohne posttranscriptionale Modifikation vorliegen kann.

Imageanalyse und statistische Auswertung

Für die beiden Erntejahre 2003 und 2005 wurden jeweils mindestens drei Feldwiederholungen von den ökologischen und konventionellen Anbauvarianten untersucht. Von jeder Variante wurden drei technische 2D Gel-Replikate erstellt. Die Auswertung der 2D Gele erfolgte über eine Spezialsoftware (Delta2D, Decodon, Deutschland), mit der die jeweiligen technischen Replikate einer Variante zu virtuellen 2D Mittelwertgelen verarbeitet wurden. Auf Basis dieser 2D Mittelwertgele wurde dann ein Vergleich des relativen Gehalts jedes einzelnen Proteins durchgeführt. Über die Einführung statistischer Kriterien und Filter wurden nur solche Proteine ausgewertet, die reproduzierbar in verschiedenen Gelen detektierbar waren. Ein weiterer Filter wurde so gesetzt, dass Proteingehalte aus konventioneller und ökologischer Anbauform nur dann als verändert akzeptiert wurden, wenn durch das Auswertungssystem ein mindestens zweifacher Unterschied der relativen Gehalte festgestellt wurde.

Proteinidentifizierung

Die Identifikation von Proteinen aus 2D Gelen durch tryptischen Verdau und Matrix-unterstützter Laserdesorptions/Ionisations-Flugzeit-Massenspektrometrie (MALDI-TOF-MS) wurde im Zentrum für Molekulare Medizin Köln (ZMMK), Zentrale Bioanalytik, der Universität Köln als Auftragsarbeit durchgeführt. Mit den experimentell erhaltenen Peptidmassen-

spektren wurden Datenbanken mit Sequenzdaten von grünen Pflanzen (z. B. Reis, Weizen und *Arabidopsis thaliana*) mit Hilfe des Programms MASCOT 1.9 durchsucht, um die Proteine zu identifizieren.

3 Ergebnisse

Grundsätzlich sind in allen Abbildungen und Tabellen Daten für Weizen von der höheren Dünge­stufe (siehe Kapitel 2.1) gezeigt. Wenn Daten für Weizen von den geringeren Dünge­stufen ermittelt wurden, ist dies in den Abbildungen angegeben.

3.1 Protein-Profilung

3.1.1 Protein-Auftrennung (2D Gel-Elektrophorese)

Die Arbeiten zum Protein-Profilung mit den Weizenproben des DOK-Versuchs innerhalb dieses Projekts sind abgeschlossen. Die Ergebnisse sind in einem Manuskript, das zur Publikation vorbereitet wird, zusammengestellt (Zörb et al., in Vorbereitung). In diesem Kapitel des Abschlussberichts werden die Ergebnisse zum Protein-Profilung in zusammenfas­sender Form präsentiert.

Zunächst wurde die Proteinaufarbeitung aus trockenem Weizenschrot mittels Aceton /DTT-Fällung und anschließender Lyse der Proteine in hochkonzentriertem Harnstoff und Detergens im Labor etabliert (siehe Kapitel 2.4). Diese Proteinaufarbeitung gründet auf der Methode von Zörb et al. (2004). Damit ist die vollständige Extraktion löslicher und auch teilweise membranständiger Proteine möglich; eine Diskriminierung von spezifischen Proteingruppen wird weitestgehend vermieden. Die Proteinextrakte wurden einer isoelektrischen Fokussie­rung unterzogen, in der eine Auftrennung der Proteine nach Ladungseigenschaften erfolgt. Im Anschluss wurden die Proteine in SDS-PAGE Gelen nach Molekülgröße getrennt, dann ange­färbt und die Ergebnisse (Gele) schließlich digitalisiert (siehe Kapitel 2.4). Abb. 3 zeigt ein Beispiel einer Gegenüberstellung von zwei Coomassie gefärbten 2D Gelen aus ökologi­chem und konventionellem Anbau.

Insgesamt wurden im Protein-Profilung aus Weizenkörnern etwa 1000 Proteine detektiert. Die relativen Gehalte dieser 1000 Proteine wurden im statistisch abgesicherten Vergleich von ökologischen und konventionellen Weizenkornproben ermittelt. Dazu wurden alle 1000 Proteine von jeweils über vierundzwanzig 2D Gelen aus den Erntejahren 2003 und 2005 miteinander verglichen. Zur Analyse wurden so genannte 'Filter' verwendet, die solche Proteine diskriminieren, die nicht statistisch signifikant in den Anbauvarianten auftraten oder

andere ausfiltert, die nicht auf allen Wiederholungen in genügend hoher Präzision wieder zu finden waren. Schließlich wurde ein weiterer Filter angewendet, der eine differenzielle Expression eines Proteins nur dann anerkennt, wenn das System mindestens einen Faktor zwei zwischen den Proteingehalten in ökologischen und konventionellen Proben feststellt.

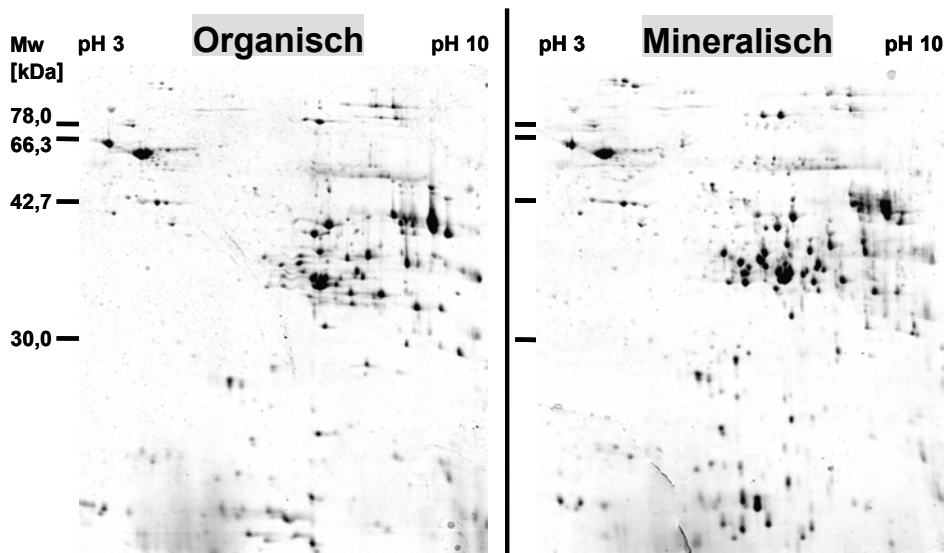


Abbildung 3: Protein-Profiling: Beispiel einer zweidimensionalen Auftrennung von Weizenkornproteinen durch kombinierte isoelektrische Fokussierung und SDS-Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese

Aufgetrennt wurden 400 µg Gesamtprotein aus Weizenschrot der Ernte 2005 des DOK-Versuchs; Molekulargewicht (kDa), vertikal. pH-Wert, horizontal. Gezeigt sind zwei Einzelgele von Weizen aus bio-organischem und konventionellem (mineralische Düngung) Anbau.

Von 1000 Proteinen konnten 25 Proteine identifiziert werden, die nach Anwendung der oben genannten strengen Qualitätskriterien in beiden Jahren unterschiedliche Gehalte in ökologischem und konventionellem Weizen aufwiesen. Nach Einbezug von starkem saisonalem Einfluss als 'Knock-out-Kriterium' beim Vergleich beider Erntejahre erfüllten noch 16 Proteine die strengen Kriterien. Diese 16 Proteine bilden eine Signatur, anhand derer die DOK-Weizenmuster aus ökologischem und konventionellem Anbau unterschieden werden können. Unter diesen 16 Proteinen sind Speicherproteine, Enzyme des Kohlenhydratstoffwechsels, eine Peroxidase und einige Proteine mit unbekannter Funktion (Details zur Proteinidentifizierung in Kapitel 3.1.2). In einem nächsten Schritt, der über den Rahmen dieses Projekt hinausgeht, soll untersucht werden, ob diese Signatur gleichfalls bei ökologischen und konventionellen Weizenproben gilt, die von verschiedenen Standorten und von verschiedenen Sorten stammen.

Vor dem Hintergrund des komplexen Gesamtstoffwechsels von Pflanzen ergeben die relativ wenigen mit verschiedenen Gehalten auftretenden Proteine, so weit identifiziert, keinen Hinweis auf Änderungen von Stoffwechselaktivitäten oder auf signifikante Reduzierung von Speicherproteinen, die für die menschliche Ernährung kritisch wären. Daher wird auf Grund der Ergebnisse des Protein-Profilings gefolgert, dass ökologischer und konventioneller DOK-Weizen hinsichtlich der untersuchten Parameter ernährungsphysiologisch gleichwertig ist.

3.1.2 Proteinidentifizierung

Die Identifizierung der Proteine in den 2D Gelen wurde per MALDI-TOF-MS durchgeführt (Abb. 4 und siehe Kapitel 2.4). Insgesamt wurden von 370 Proteinen massenspektrometrische Datensätze mit hoher Qualität erhalten.

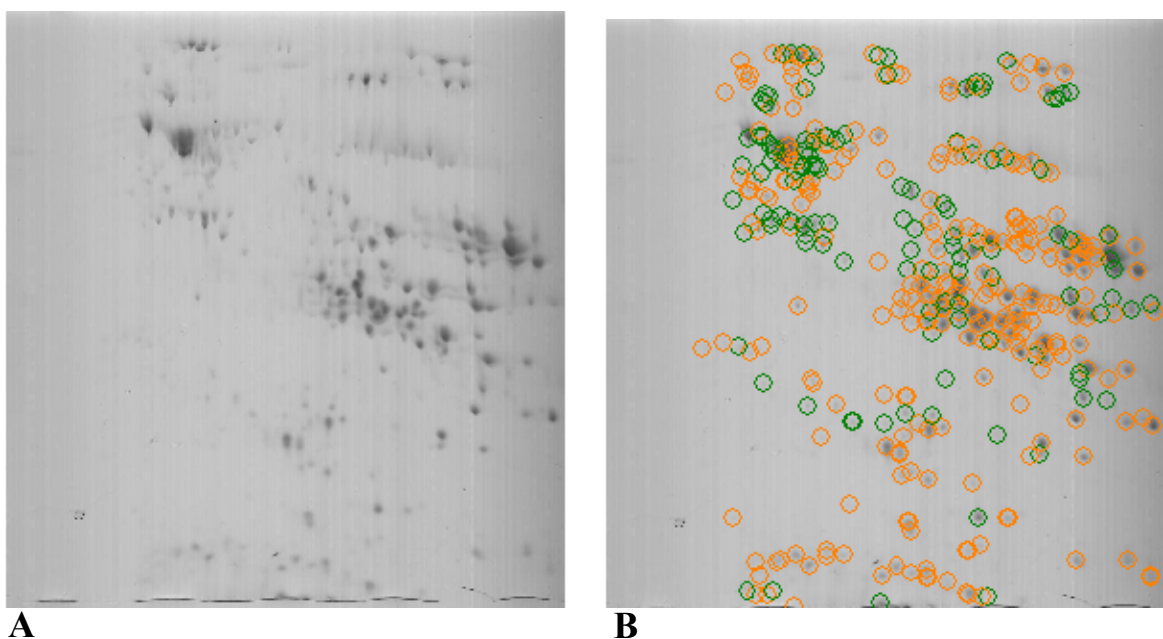


Abbildung 4: Zweidimensionale Gel-Elektrophorese und massenspektrometrische Analyse der Proteine aus Weizenschrot aus dem DOK-Versuch

A, B: Gesamtprotein (400 µg) aus Weizenschrot wurden aufgetrennt und mit Coomassie-Blau visualisiert. Anschließend wurden Proteine aus dem 2D Gel extrahiert und einer MALDI-TOF-MS Analyse unterzogen. **B:** Im 2D Gel sind Proteine markiert, von denen exakte MALDI-TOF-MS Massenspektren erzeugt wurden. Grünfarbene Kreise markieren Proteine, die in Datenbanken identifiziert werden konnten; orangefarbene Kreise zeigen Proteine, die nicht in Datenbanken beschrieben sind.

Ein Abgleich der massenspektrometrischen Daten mit solchen, die durch Genom- und EST-Sequenzierungsprojekte verschiedener Pflanzen (z. B. Reis, Weizen und *Arabidopsis thaliana*) verfügbar sind, ergab, dass 132 Proteine (36 %) identifiziert werden konnten (siehe grünfarbene Kreise in Abb. 4B, individuelle Proteinidentität nicht gezeigt). Die Identität von 238 Proteinen (64 %) konnte bisher nicht aufgeklärt werden (siehe orangefarbene Kreise in Abb. 4B). Durch anhaltende Vervollständigung der genomischen Datenbanken ist davon auszugehen, dass bald der größere Teil auch dieser Proteine identifiziert werden kann. Weitere ca. 150 Spots in den Gelen konnten wegen nicht ausreichender Proteinmenge oder anderer Störungen nicht per MALDI-TOF-MS analysiert werden.

3.1.3 Profiling mit speziellen Proteingruppen

Zusätzlich zur Gesamtproteinextraktion wurde eine Methodik angewendet, die es erlaubt Proteinfractionen aus Weizen auf 2D Gelen aufzutrennen. Basis dieser Methode ist die Fraktionierung der Weizenproteine nach Osborne in Albumine plus Globuline, Gliadine und Glutenine, die ursprünglich für Flüssigchromatographie weiterentwickelt wurde (Wieser et al., 1998). Im Hinblick auf 2D GE besteht die Schwierigkeit in der Inkompatibilität der gewonnenen Proteinfractionen, auf Grund hoher Salz- und hoher Alkoholkonzentration, mit der isoelektrischen Fokussierung. Durch Ausfällen der Proteine mit Aceton und DTT konnten die Störsubstanzen entfernt werden. Mit Hilfe dieses Schritts wurde die Methodik soweit angepasst, dass trotzdem eine sehr gute Trennqualität erreicht wurde. Weil diese Methode wesentlich aufwändiger ist als die Gesamtproteinextraktion, konnte schließlich ein Vergleich der verschiedenen Anbauvarianten über einzelne Proteinfractionen im Rahmen dieses Projekts nicht realisiert werden.

3.2 Analyse von einzelnen Inhaltsstoffen

Inhaltsstoffanalysen, die mit klassischen Methoden gezielt einzelne Substanzen nachweisen, dienen der weiteren Charakterisierung der Untersuchungsmuster. Diese Analysen sind zudem geeignet, um eventuelle Unterscheidungsmerkmale der verschiedenen Anbauformen zu identifizieren.

In den verschiedenen Anbauformen des DOK-Weizens wurden die Konzentrationen der Mineralstoffe Mg, Fe, Ni, Zn, Cd, und Pb, Gesamtprotein, Stärke, Ballaststoffe, Fruktane, Phytinsäure, Phosphat, Oxalat, Oxalat Oxidase, Glutathion und Glutathionreduktase, antioxidative Kapazität, Ascorbinsäure, Peroxidase, α -Amylase, verschiedene Lipide und das Tausendkorngewicht bestimmt.

Die Inhaltsstoffanalysen sind wegen der Fülle der Ergebnisse nicht vollständig im Einzelnen aufgeführt. Eine Auswahl wird gezeigt. Die Ergebnisse sind in den in Kapitel 7 genannten Publikationen bereits im Detail veröffentlicht bzw. liegen als Manuskripte zur Veröffentlichung vor.

3.2.1 Tausendkornmasse

Die Tausendkornmassen (TKM) waren in den beiden Erntejahren 2003 und 2005 in den verschiedenen ökologischen oder konventionellen Anbauformen gleich (Tab. 1); lediglich die TKM der nicht gedüngten Variante war in beiden Jahren signifikant geringer (Tab. 1).

Tabelle 1: Weizen-Tausendkornmassen in den Anbausystemen des DOK-Versuches für die Erntejahre 2003 und 2005

Mittelwerte von jeweils 4 Feldwiederholungen und Standardfehler des Mittelwerts (SE) sind angegeben. Signifikanz Tests ($p = 0.05$) wurden nach dem Tukey-Test-Algorithmus des Student-Verfahrens für das jeweilige Erntejahr berechnet. Unterschiedliche Buchstaben bezeichnen signifikante Unterschiede der Mittelwerte. (Dyn, biologisch-dynamisch; Org, bio-organisch; OM, organisch-mineralisch; M, mineralische Düngung; Null, keine Düngung).

Anbausysteme	TKM (g) Ernte 2003			TKM (g) Ernte 2005		
Dyn	45.3	±	0.50 ^a	42.7	±	0.33 ^a
Org	45.2	±	0.35 ^a	41.9	±	0.46 ^a
OM	45.1	±	0.07 ^a	42.8	±	0.65 ^a
M	43.8	±	0.53 ^a	43.7	±	0.60 ^a
Null	39.9	±	0.39 ^b	35.2	±	1.38 ^b

Dieses Ergebnis stimmt überein mit den Resultaten, die für DOK-Weizen aus den Fruchtfolgen von 1978 bis 1998 erhalten wurden (Mäder et al., 2007). Bei den konventionellen Anbauvarianten wurden über mehrere Fruchtfolgen zwischen 11 und 24 % höhere Weizenkorntrträge bestimmt (Mäder et al., 2007). Daraus wird gefolgert, dass die Anzahl der Halme und/oder die Anzahl Körner pro Ähre in den ökologischen Anbauvarianten verringert waren.

3.2.2 Protein- und Stärkegehalte

Der Proteingehalt variierte in den Weizen der Ernten 2003 und 2005 zwischen den verschiedenen Anbauformen (Tab. 2). Der Proteingehalt stieg mit dem wachsenden Stickstoffangebot über die Düngung: in den konventionellen Varianten OM und M wurden die signifikant höchsten Proteingehalte gefunden (Tab. 2).

Tabelle 2: Proteingehalte in Weizenkörnern des DOK-Versuchs der Ernte 2003 und 2005

Mittelwerte von jeweils 4 Feldwiederholungen und Standardfehler des Mittelwerts (SE) sind angegeben. Signifikanz Tests ($p = 0.05$) wurden nach dem Tukey-Test-Algorithmus des Student-Verfahrens für das jeweilige Erntejahr ermittelt. Unterschiedliche Buchstaben bezeichnen signifikante Unterschiede der Mittelwerte. (Dyn, Biodynamisch; Org, Bioorganisch; OM, Konventionell; M, Mineralische Düngung; Null, keine Düngung).

Anbausysteme	Proteingehalt (g/100 g)			Proteingehalt (g/100 g)		
	Ernte 2003			Ernte 2005		
Dyn	13.2	±	0.5 ^{cb}	12.7	±	0.1 ^b
Org	13.5	±	0.4 ^b	12.7	±	0.3 ^b
OM	14.8	±	0.1 ^a	15.0	±	0.6 ^a
M	15.6	±	0.2 ^a	15.0	±	0.5 ^a
Null	12.2	±	0.2 ^c	13.1	±	0.2 ^b

Ähnliche Ergebnisse haben Mäder et al. (2007) für den DOK-Weizen der Anbauperioden 1978 bis 1998 berichtet. D. h. der DOK-Weizen, der in diesem Projekt verwendet wurde, verhält sich diesbezüglich so wie nach dem Stand des Wissens zu erwarten; das Anbausystem zeigt keine Abweichung von der Norm. Der Trend zu geringeren Proteingehalten wird beim Vergleich von ökologischem und konventionellem Weizen in der Literatur häufiger beschrieben (Bolling et al., 1986, Eltun, 1996, Steineck und Liebhard, 1984).

In 2003 hatte der Weizen ohne Düngung den signifikant geringsten Proteingehalt, während in 2005 kein Unterschied zu den beiden organischen Anbauformen festzustellen war (Tab. 2).

Eine Erklärung für dieses Ergebnis ist, dass die natürliche hohe Bodenfruchtbarkeit im DOK-Feldversuch zu relativ hohen Proteinwerten im Weizen führt.

Die Stärkegehalte waren in allen drei Jahren zwischen den verschiedenen Anbauvarianten nicht signifikant unterschiedlich, mit Ausnahme der Variante M, die im Jahr 2003 signifikant weniger Stärke aufwies als alle anderen Varianten (Tab. 3). Über beide Erntejahre gesehen erwiesen sich die Stärkegehalte als nicht geeignet, um in ökologische oder konventionelle Weizen zu differenzieren. Eine ausführliche Vorstellung der Ergebnisse mit Diskussion zu Stärke, resistenter Stärke und Protein findet sich im Manuskript Bruder et al. (siehe Kapitel 7).

Tabelle 3: Stärkegehalte in Weizenkörnern des DOK Versuchs der Ernte 2003 und 2005

Mittelwerte von jeweils 4 Feldwiederholungen und Standardfehler des Mittelwerts (SE) sind angegeben. Signifikanz Tests ($p = 0.05$) wurden nach dem Tukey-Test-Algorithmus des Student-Verfahrens für das jeweilige Erntejahr ermittelt. Unterschiedliche Buchstaben bezeichnen signifikante Unterschiede der Mittelwerte. (Dyn, Biodynamisch; Org, Bioorganisch; OM, Konventionell; M, Mineralische Düngung; Null, keine Düngung).

Anbausysteme	Stärkegehalt (g/100 g)			Stärkegehalt (g/100 g)		
	Ernte 2003			Ernte 2005		
Dyn	56.6	±	0.7 ^a	61.0	±	0.4 ^a
Org	56.9	±	1.2 ^a	60.9	±	1.1 ^a
OM	57.2	±	0.9 ^a	59.7	±	0.7 ^a
M	52.4	±	0.5 ^b	60.7	±	0.2 ^a
Null	55.2	±	0.7 ^a	60.6	±	0.5 ^a

3.2.3 Mineralstoffe

Die Konzentrationen der ernährungsphysiologisch relevanten Metalle lagen in für Getreide üblichen und publizierten Bereichen. Die von uns ermittelten Konzentrationen für Mg und Zn (Langenkämper et al., 2006a) stimmen gut mit Mittelwerten überein, die von Mäder et al. (2007) für diese Elemente im DOK-Weizen über drei Fruchtfolgen veröffentlicht wurden. Für Mg (Abb. 5A) und Zn (Abb. 5D) wurden zwischen den Anbauformen im Jahr 2003 keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Für Fe (Abb. 5B) wurde in der Null-Variante eine signifikant niedrigere Konzentration festgestellt als in den gedüngten Varianten. Es ist hervorzuheben, dass jedoch kein Unterschied für Fe zwischen ökologischer oder konventioneller Anbauform bestand (Abb. 5B). Die Konzentrationen des unerwünschten Metalls Ni

variierten mit 200 – 430 µg/kg FM relativ stark in Abhängigkeit von der Anbauform. Ni-Konzentrationen waren signifikant niedriger in Org und Dyn gegenüber M und Null, aber nicht niedriger gegenüber OM. Die unterschiedlichen Ni-Konzentrationen könnten mit erhöhten organischen Anteilen im Boden und damit einer stärkeren Bindung von Ni im Boden bei Org, Dyn und OM zusammen hängen.

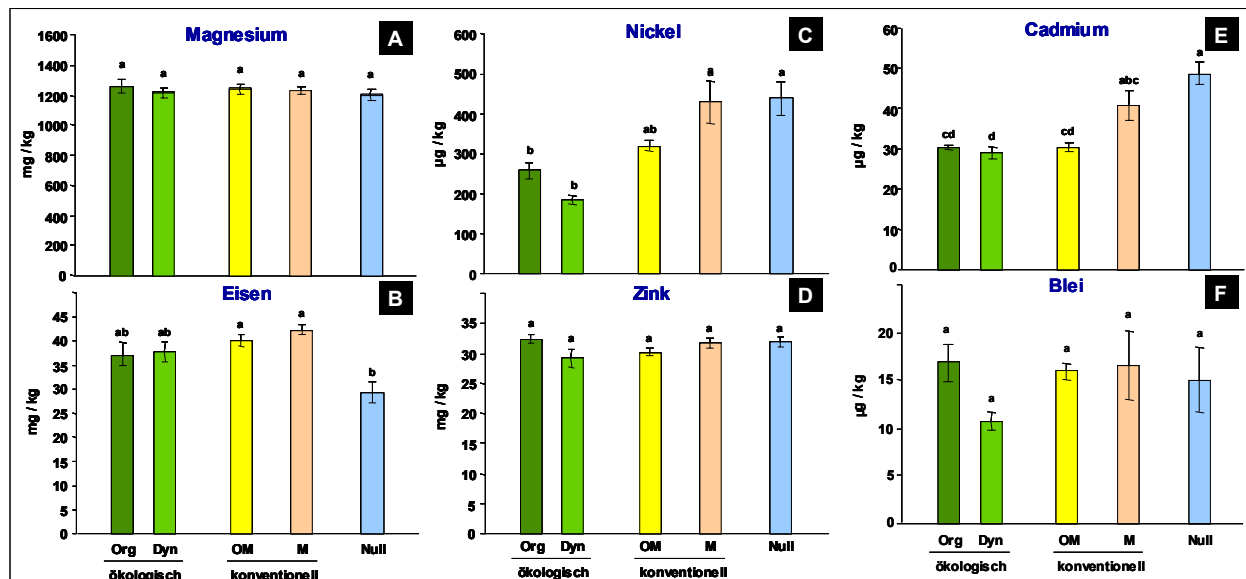


Abbildung 5: Gehalte an den Mineralstoffen Magnesium (A), Eisen (B), Nickel (C) und Zink (D) sowie den unerwünschten Mineralstoffen Cadmium (E) und Blei (F) in Weizen des DOK-Versuchs des Erntejahrs 2003

Mittelwerte von mindestens drei unabhängigen Versuchspartizellen mit Standardfehlern sind dargestellt. Statistische Signifikanzen wurden mit dem Tukey-Test ($p = 0.05$) ermittelt. Abweichende Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede der Mittelwerte an. (Org, bio-organisch, Dyn, bio-dynamisch, M, mineralisch gedüngt, OM, mineralisch und organisch gedüngt, Null, keine Düngung). [Verändert aus Langenkämper et al. (2006a)].

In Abb. 5E und F sind Konzentrationen von Cd und Pb gezeigt. Für Pb zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Anbauformen, während für Cd die Anbauformen M und Null leicht höhere Konzentrationen aufweisen als OM, Org und Dyn. Eine mögliche Erklärung könnte der mit pH 6,1 – 6,2 leicht niedrigere Boden pH-Wert der letztgenannten Varianten sein, gegenüber einem Boden pH-Wert von 6,5 – 6,9 für Org und Dyn (Mäder et al., 2002). Der pH-Wert des Bodens spielt für die Cd-Aufnahme (im Gegensatz zum Pb) in die Pflanze die größte Rolle, gefolgt von der Pflanzenart und weiteren Bodenparametern, wie z. B. dem Gehalt an organischer Substanz (Christensen, 1984). Mit durchschnittlich 30 – 50 µg Cd/kg FM und 11 – 17 µg Pb/kg FM liegen die gefundenen Konzentrationen im

gleichen, niedrigen Bereich wie in den Weizenproben der Besonderen Ernte und Qualitätsermittlung und schöpfen die EU-Höchstwerte von jeweils 200 µg/kg FM für Cd und Pb bei weitem nicht aus.

Im Vergleich der Erntejahre zeigten die Konzentrationen aller Mineralstoffe in den DOK-Weizenproben der Ernte 2005 sehr geringfügige Unterschiede zur Ernte 2003 (Daten nicht gezeigt). Es ist festzuhalten, dass die Mineralstoffkonzentrationen in allen Anbauformen in den für Weizen üblichen Bereichen lagen. Für die Elemente Ni und tendenziell auch Cd wurden in den ökologischen und konventionellen Anbauvarianten, die organisch gedüngt worden waren, geringere Konzentrationen ermittelt. Was die Suche nach Kriterien für einen Herkunftsnachweis anbetrifft, waren die Mineralstoffe also für Differenzierung von ökologischem und konventionellem Weizen aus dem DOK-Versuch nicht geeignet.

3.2.4 Ballaststoffe, Fruktane, Gesamt-Oxalsäure, lösliche Oxalsäure und Phytinsäure

Ballaststoffe und Fruktane gehören zu den erwünschten Inhaltsstoffen, die in der menschlichen Verdauung nicht verwertet werden können (Asp, 2004). Epidemiologische Studien deuten daraufhin, dass Ballaststoffe gesundheitsförderlich sind, insbesondere im Hinblick auf Fettleibigkeit, Diabetes, koronare Herzkrankheiten und einige Krebsarten (Miller Jones, 2004).

Die Gehalte an löslichen Ballaststoffen waren in Dyn (hohes Düngenniveau) am höchsten und in OM (hohes Düngenniveau) am geringsten (Abb. 6A). Waren diese beiden Extremwerte signifikant unterschiedlich, so zeigten die löslichen Ballaststoffe zwischen anderen Anbauvarianten wesentlich geringere und nicht signifikante Unterschiede (Abb. 6A). Insgesamt noch geringere Abweichungen ergab die Analyse der Gehalte der unlöslichen Ballaststoffe (Abb. 6B) und Fruktane (Abb. 6C). Die oben beschriebenen Daten wurden mit den Weizenproben der Ernte 2003 ermittelt. In den Weizenproben der Ernte 2005 waren nur in der Anbauvariante ohne Düngung (Null) signifikante höhere Ballaststoffgehalte festzustellen (Daten nicht gezeigt), d. h. die Effekte der Anbauweise auf die Ballaststoffe waren deutlich vom Erntejahr überlagert.

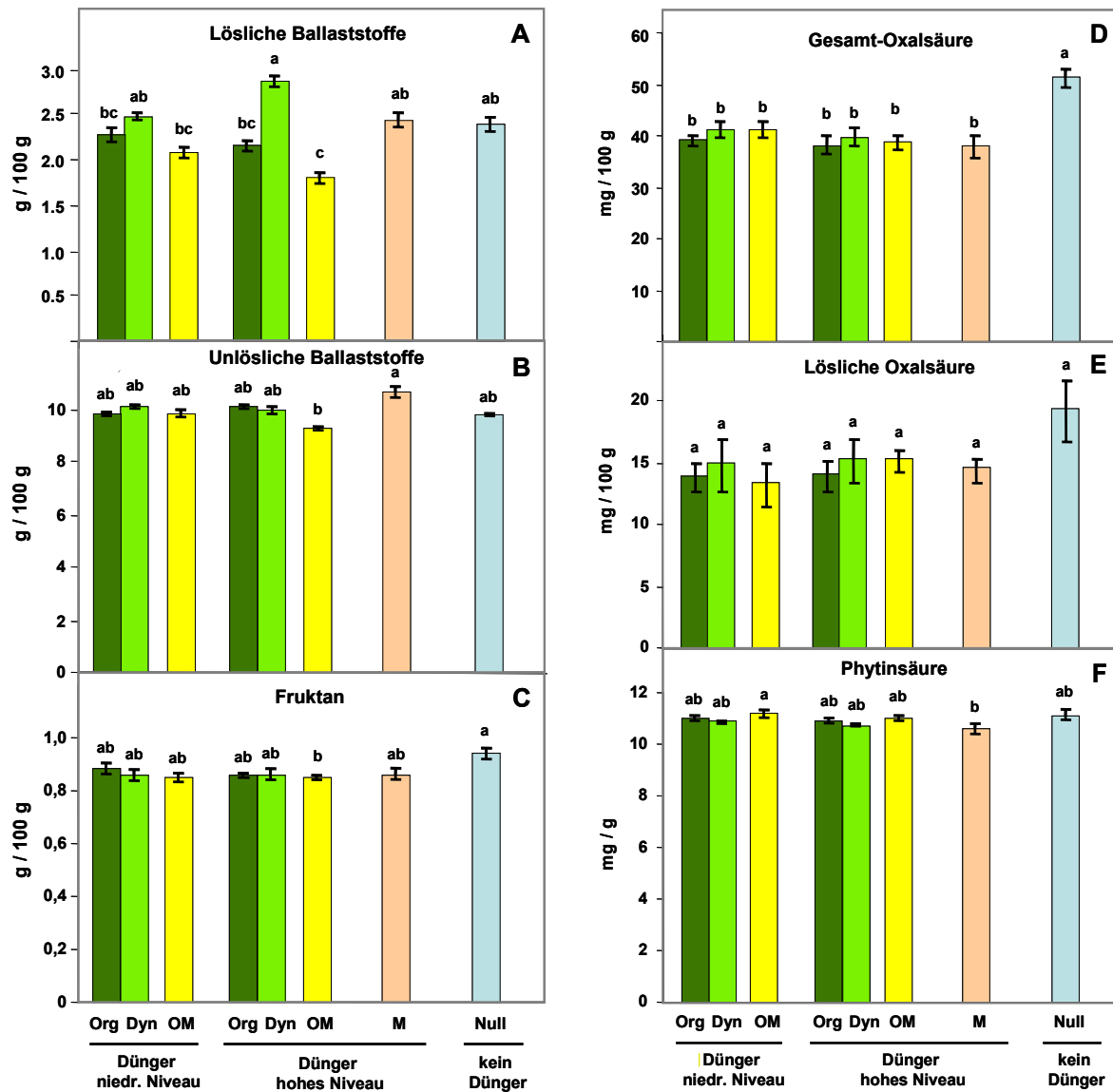


Abbildung 6: Gehalte an Ballaststoffen [löslich (A) und unlöslich (B)]; Fruktanen (C), Oxalsäuren [Gesamt-Oxalsäure (D) und löslich (E)] und Phytinsäure (F) in Weizen des DOK Versuchs des Erntejahres 2003

Mittelwerte von mindestens drei unabhängigen Versuchspartizellen mit Standardfehlern sind dargestellt. Statistische Signifikanzen wurden mit dem Tukey-Test ($p = 0.05$) ermittelt. Abweichende Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an. (Org, bio-organisch, Dyn, bio-dynamisch, M, mineralisch gedüngt, OM, mineralisch und organisch gedüngt, Null, keine Düngung). [Verändert aus Langenkämper et al. (2006b)].

Oxalsäure wird in der menschlichen und tierischen Ernährung als 'unerwünschter Inhaltsstoff' angesehen, der in vielen Pflanzen einschließlich Weizenkörnern auftritt (Fretzdorff und Betsche, 1998). Oxalsäure wird in Verbindung gebracht mit Irritation der Darmmucosa durch Oxalatkristalle, Reduktion der Bioverfügbarkeit von Mg, Ca und Fe und Steigerung des Nierenstein-Risikos bei genetisch prädisponierten Menschen (Dunwell et al., 2000, Franceschi und Libert, 1987).

Alle Anbauvarianten, bei denen gedüngt wurde, zeigten gleiche Gehalte an Gesamt- bzw. löslicher Oxalsäure (Abb. 6D und E). Lediglich bei der Variante ohne Düngung wurden signifikant erhöhte Gesamt-Oxalsäuregehalte gefunden (Abb. 6D).

Phytinsäure wurde lange Zeit einzig als ein “Antinährstoff” angesehen, da sie die Bioverfügbarkeit von Mineralien verringert (Lopez et al., 2002). In jüngerer Zeit werden aber auch positive Eigenschaften diskutiert: Phytinsäure soll wegen seiner eisenchelatierenden Wirkung als Antioxidans fungieren (Minihane und Rimbach, 2002) und dadurch sowie durch Inhibition der Tumorzellproliferation anticancerogen wirken (Shamsuddin, 2002). In den Weizenproben des DOK-Versuchs waren die Phytinsäuregehalte in der Ernte 2003 insgesamt wenig variabel (Abb. 6F). In der Ernte 2005 wurde dieses Ergebnis bestätigt: die Phytinsäuregehalte waren nur im Weizen ohne Düngung (Null) signifikant erhöht (Daten nicht gezeigt).

Das Fazit dieser Untersuchung erwünschter und unerwünschter Stoffe ist, dass hinsichtlich Ballaststoff-, Fruktan-, Oxalsäure- und Phytinsäuregehalte kein eindeutiger Trend zu höheren oder niedrigeren Gehalten in den ökologischen oder konventionellen Anbauformen festgestellt wurde. Für eine analytische Differenzierung von Weizen der verschiedenen Anbauformen des DOK-Versuchs waren diese Parameter also nicht geeignet.

3.2.5 Antioxidative Parameter

Antioxidantien haben eine große Bedeutung für die Funktionsfähigkeit von Pflanzen, weil sie toxische Sauerstoff-Radikale entgiften (Blokina et al., 2003). Antioxidantien in Lebensmitteln werden in der menschlichen Ernährung ebenfalls positiv bewertet, insbesondere im Hinblick auf Herz-Kreislaufkrankungen, bestimmte Krebsarten und degenerative Krankheiten (Stanner et al., 2004).

Um die antioxidative Kapazität der Weizenkörner aus den verschiedenen Anbauvarianten einzuschätzen, wurden unterschiedliche Tests und Analysen durchgeführt. Die antioxidative Kapazität, gemessen über die Entfernung freier Radikale (siehe Kapitel 2.3), war in ökologischen und konventionellen Anbauvarianten gleich (Abb. 7A). Ebenso wurden für die Gehalte an Gesamt- und löslichen Phenolen (Substanzen die antioxidativ wirken) keine signifikanten Unterschiede zwischen den Anbauvarianten mit Düngung gefunden (Abb. 7B und C).

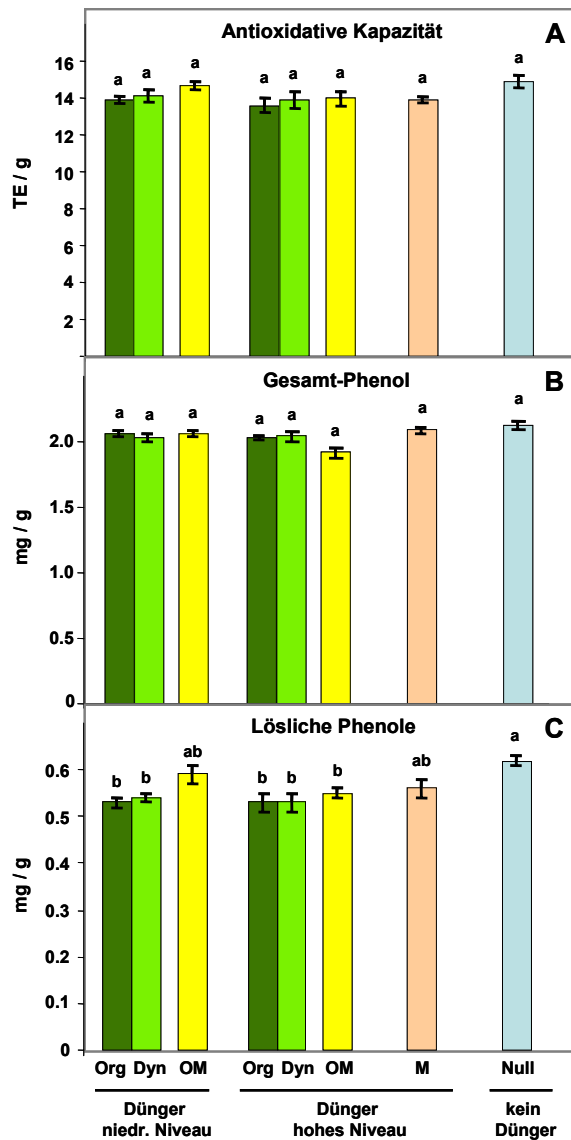


Abbildung 7: Antioxidative Kapazität (A), sowie Gehalte von Gesamt-Phenol (B) und löslichen Phenolen (C) in Weizen des DOK-Versuchs des Erntejahres 2003

Mittelwerte von mindestens drei unabhängigen Versuchspartikeln mit Standardfehlern sind dargestellt. Statistische Signifikanzen wurden mit dem Tukey-Test ($p = 0.05$) ermittelt. Abweichende Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an. (Org, bio-organisch, Dyn, bio-dynamisch, M, mineralisch gedüngt, OM, mineralisch und organisch gedüngt, Null, keine Düngung). [Verändert aus Langenkämper et al. (2006b)].

Ascorbinsäure und reduziertes Glutathion (GSH), ein cysteinhaltiges Tripeptid (N-N- γ -Glutamyl-Cysteinyl-Glycin), sind die wichtigsten antioxidativen Substanzen pflanzlicher Zellen (Noctor und Foyer, 1998). Ascorbinsäure kommt in Weizenkörnern allerdings nur in Spuren vor (Souci et al., 2000), was unsere Untersuchungen der DOK-Weizenproben bestätigten (Daten nicht gezeigt).

Was Glutathion anbetrifft, wurde in Weizenkörnern aller Anbauvarianten eine um den Faktor vier höhere Konzentration von reduziertem gegenüber oxidiertem Glutathion bestimmt (Abb. 8A und B). Ein großer Pool an reduziertem Glutathion deutet an, dass in pflanzlichen Geweben wenig oxidativer Stress vorliegt (Alscher, 1989). In den ökologisch angebaute Varianten Org und Dyn wurden im Vergleich zu den konventionellen Varianten OM und M keine signifikant unterschiedlichen Glutathiongehalte gefunden. Auch die leicht erhöhten

Mittelwerte von GSH und GSSG in den Körnern der Null-Variante sind statistisch nicht signifikant unterschiedlich von denen der Weizenkörner der Anbauformen Org, Dyn, OM und M. Die Aktivität von Glutathionreduktase war in allen Varianten gleich (Abb. 8C).

Die Peroxidase-Aktivität war in Weizen der Variante M am höchsten und in der Null-Variante signifikant am niedrigsten. In den Anbauformen Org und Dyn lagen die Aktivitäten zwischen denen der M- und der Null-Variante (Abb. 8D), wobei OM einen höheren Wert aufwies als Org und Dyn.

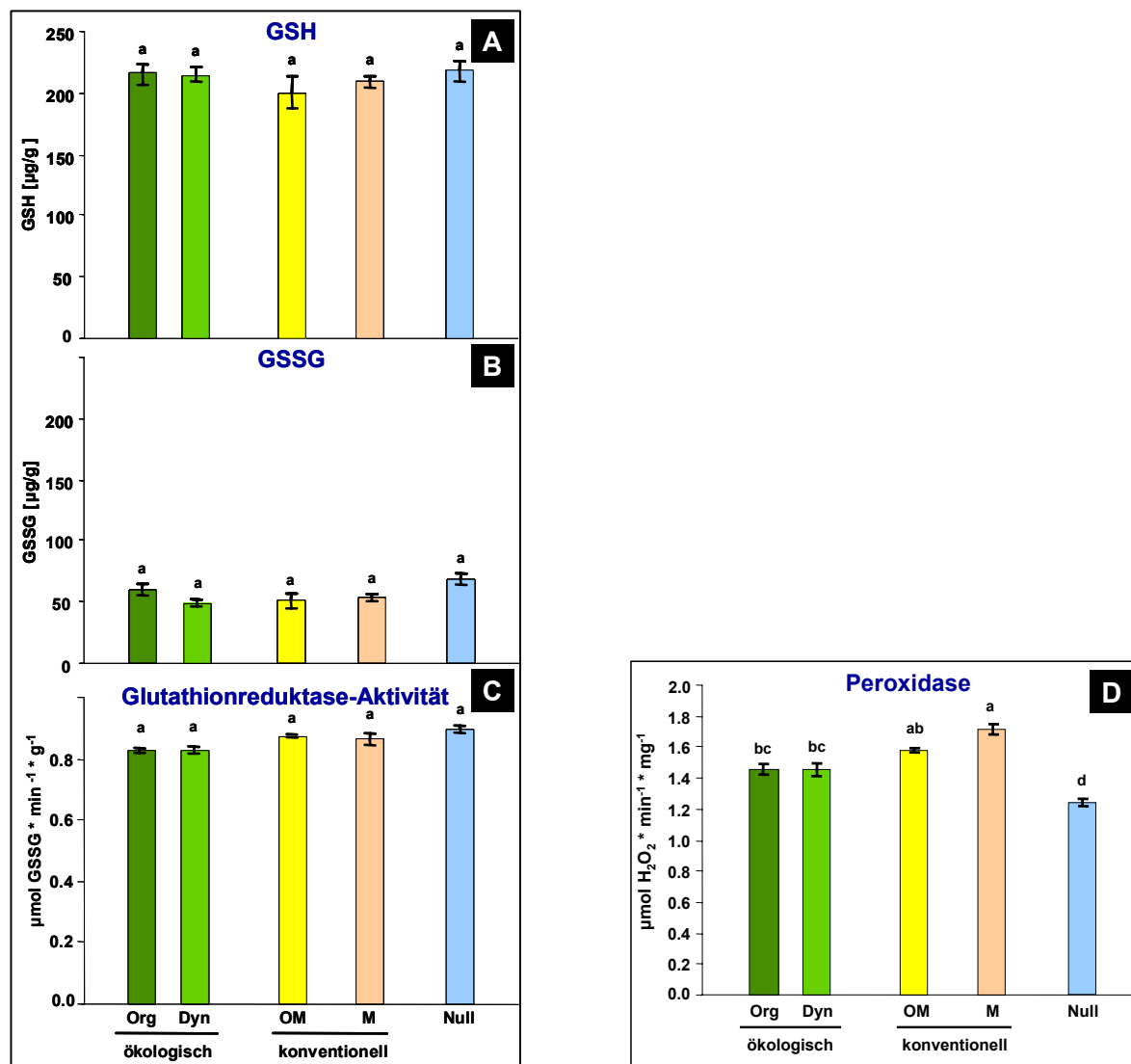


Abbildung 8: Antioxidative Substrate und Enzyme: Glutathion in reduzierter Form, GSH (A); in oxidiertes Form, GSSG (B) und Glutathionreduktase-Aktivität (C) sowie Peroxidase-Aktivität (D) in Weizen des DOK-Versuchs des Erntejahres 2003

Mittelwerte von mindestens drei unabhängigen Versuchspartikeln mit Standardfehlern sind dargestellt. Statistische Signifikanzen wurden mit dem Tukey-Test ($p = 0.05$) ermittelt. Abweichende Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an. (Org, bio-organisch, Dyn, bio-dynamisch, M, mineralisch gedüngt, OM, mineralisch und organisch gedüngt, Null, keine Düngung). [Verändert aus Langenkämper et al. (2006a)].

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Antioxidative Kapazität, die Phenol- und Glutathiongehalte, sowie die Aktivitäten der Glutathionreduktase und Peroxidase in den ökologischen und konventionellen Anbauvarianten nur geringfügig und meistens statistisch nicht signifikant verschieden waren. Was die Suche nach Kriterien für einen Herkunftsnachweis anbetrifft, waren diese Parameter also für Differenzierung von ökologischem und konventionellem Weizen aus dem DOK-Versuch nicht geeignet.

3.2.6 Lipide

Im DOK-Weizen (Erntejahr 2003) wurden relative Lipidgehalte mit Hilfe von Dünnschichtchromatographie bestimmt (siehe Kapitel 2.3). Die freien Fettsäuren bildeten die größte Gruppe der nachgewiesenen Lipide (Tab. 4).

Tabelle 4: Zusammenstellung der Lipide in Weizen des DOK-Versuchs (in relativen Einheiten) des Erntejahres 2003

Mittelwerte von jeweils 4 Feldwiederholungen sind angegeben. Signifikanz Tests ($p = 0.05$) wurden nach dem Tukey-Test-Algorithmus des Student-Verfahrens berechnet. Unterschiedliche Buchstaben bezeichnen signifikante Unterschiede der Mittelwerte. Dyn, biologisch-dynamisch; Org, bio-organisch; OM, organisch-mineralisch; M, mineralische Düngung.

Art der Lipide	Anbausysteme			
	Dyn	Org	OM	M
	Lipidgehalte (relative Einheiten)			
Freie Fettsäuren	537 ^a	707 ^a	590 ^a	618 ^a
Triacylglyceride	180 ^b	218 ^{ab}	199 ^{ab}	230 ^a
1,2-Diacylglyceride	35 ^a	39 ^a	31 ^a	41 ^a
1,3-Diacylglyceride	316 ^b	466 ^a	437 ^{ab}	458 ^{ab}
Cholesterin	366 ^a	402 ^a	429 ^a	428 ^a
Cerebroside	73 ^a	80 ^a	82 ^a	81 ^a
Phosphatidylethanolamin	51 ^a	35 ^b	36 ^b	56 ^a
Ganglioside	45 ^a	49 ^a	46 ^a	49 ^a
Arachidolyl-phosphatidylcholin	62 ^a	76 ^a	75 ^a	65 ^a
Lysophosphatidylinosit	28 ^a	36 ^a	34 ^a	31 ^a
Phosphatid Säure	12 ^a	41 ^a	38 ^a	11 ^a

Die Lipidgehalte waren insgesamt wenig unterschiedlich in Weizen der verschiedenen Anbauvarianten. Statistisch signifikante Unterschiede wurden nur bei Triacylglyceriden, 1,3-Diacylglyceriden und Phosphatidylethanolamin festgestellt (Tab. 4). Diese Unterschiede ergaben jedoch keinen eindeutigen Trend zu höheren oder niedrigeren Gehalten in den ökologischen oder konventionellen Anbauformen.

3.3 Metaboliten-Profile

Während der Projektlaufzeit konnte eine Zusammenarbeit mit der Abteilung Proteom- und Metabolomforschung am Lehrstuhl für Genetik der Universität Bielefeld etabliert werden. Im Rahmen dieser Zusammenarbeit wurde Metaboliten-Profiling von Weizenschroten aus dem DOK-Versuch des Erntejahres 2003 durchgeführt. In Abb. 9 ist exemplarisch ein Profil der mit Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) erfassten Inhaltsstoffe gezeigt.

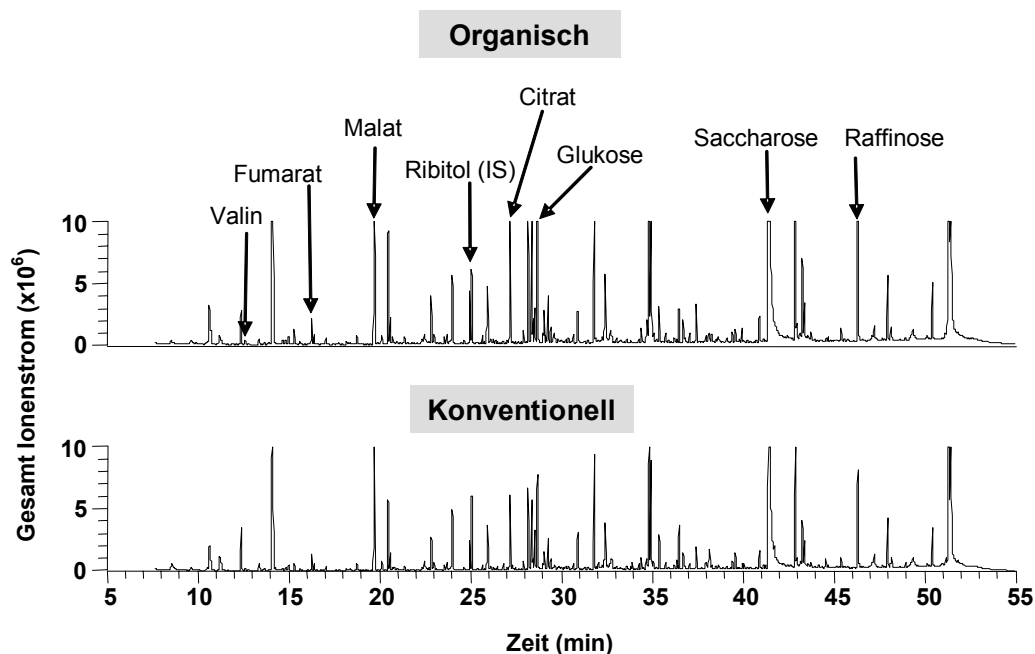


Abbildung 9: Gaschromatographische und massenspektrometrische Analyse methanollöslicher Inhaltsstoffe von Weizen des DOK-Versuchs (2003)

Oberes Chromatogramm: bio-organisch gedüngt (Organisch); unteres Chromatogramm: Organisch und mineralisch gedüngt (konventionell). Eine Auswahl identifizierter Substanzen ist gezeigt. Ribitol (IS), interner Standard. [Abbildung verändert nach Zörb et al. (2006)].

Von insgesamt etwa 250 detektierbaren Substanzen wurden 52 unterschiedliche Metabolite für die verschiedenen Anbauformen des DOK-Versuchs bestimmt und miteinander verglichen. Unter diesen Metaboliten befinden sich Aminosäuren, Alkohole, Zuckeralkohole, Zuckerphosphate und Nukleotide. Lediglich bei den acht Inhaltsstoffen α -Alanin, β -Alanin, Valin, *myo*-Inosit, Glycerat, Hydroxyglutarat, Harnstoff und Pantothersäure wurden statistisch signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den Weizen der verschiedenen Anbauformen festgestellt. Die Konzentrationsunterschiede dieser acht Inhaltsstoffe zwischen den verschiedenen Anbauformen betragen bis zu 50%. Eine Hauptkomponentenanalyse der Ergebnisse hat aber gezeigt, dass die Unterschiede in den Metabolitkonzentrationen allein nicht zur Differenzierung zwischen ökologischem und konventionellem Weizen genutzt werden konnten. Eine Möglichkeit die Ergebnisse des Metaboliten-Profilings in Kombination mit Ergebnissen anderer analytischer Techniken für einen Herkunftsnachweis zu nutzen, wird in Kapitel 5 erläutert.

Die Ergebnisse des Metaboliten-Profilings wurden im Detail veröffentlicht (Zörb et al., 2006).

3.4 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse, bisherige und geplante Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse

Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die Projektergebnisse wurden und werden durch wissenschaftliche Veröffentlichungen und durch Präsentationen auf wissenschaftlichen Tagungen einem breitem Publikum vorgestellt (s. u.).

Die Ergebnisse des Protein-Profilings haben gezeigt, dass die Anbauvarianten des DOK-Weizens unterschieden werden können. Zur Etablierung eines generellen Herkunftsnachweises von ökologisch und konventionell erzeugtem Weizen sind weitergehende Forschungsarbeiten notwendig. Diese werden in Kapitel 5 erläutert.

Bisherige und geplante Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse

Ein Teil der Ergebnisse wurde während der Projektlaufzeit in vier Veröffentlichungen in wissenschaftlichen Zeitschriften publiziert, zwei weitere Veröffentlichungen sind derzeit in Vorbereitung (siehe Kapitel 7). Verschiedene Ergebnisse des Projekts wurden bisher in insgesamt sechs Vorträgen und mit drei Postern auf wissenschaftlichen Tagungen und Konferenzen vorgestellt (siehe Kapitel 7).

Die Ergebnisse des Metaboliten-Profilings (Zörb et al., 2006) wurden von der internationalen wissenschaftlichen Sekundärpresse und auch von der Tagespresse aufgenommen und damit einem größeren Publikum zugänglich. Artikel zu dieser Veröffentlichung sind in u. a. folgenden Zeitschriften und Zeitungen erschienen: Scientific American (18.10.2006), NewScientist (20.10.2006), The Daily Telegraph (16.10.2006), The New York Times (17.10.2006) und The Columbus Dispatch (24.10.2006).

Weiterhin gehörte die Veröffentlichung von Zörb et al. (2006) auf der Internetseite des „Journal of Agricultural and Food Chemistry“ in der Periode Oktober bis Dezember 2006 zu den am meisten aufgerufenen Artikeln (siehe

http://pubs.acs.org/journals/jafcau/promo/most/most_accessed/2006q4.html).

4 Zusammenfassung

Weizen wurde umfassend hinsichtlich möglicher biochemischer Unterschiede zwischen ökologischen und konventionellen Anbauformen charakterisiert. Dazu wurden die Profiling-Techniken Proteomics und Metabolomics eingesetzt. Ergänzend wurden gezielt bestimmte Inhaltsstoffe (Einzelverbindungen) mit traditioneller Analytik bestimmt.

Für die Untersuchungen wurden Weizenkörner des DOK-Feldversuchs (Schweiz) aus zwei Erntejahren verwendet. Dieser Weizen eignet sich hervorragend, um belastbare Vergleichsstudien zur Qualität von Weizen verschiedener landwirtschaftlicher Systeme durchzuführen: Bei Einhaltung der spezifischen ökologischen und konventionellen Anbauprinzipien gewährleistet die Versuchsanlage weitestgehend gleiche Bedingungen für die verschiedenen Anbauformen.

Die Ergebnisse der Metaboliten-Profile und der Analytik von Einzelverbindungen (u. a. Gehalte an Stärke, Mineralstoffen, Ballaststoffen, Phenolen, Lipiden, Glutathion, Phytinsäure und Oxalsäure) zeigten lediglich geringfügige Unterschiede im DOK-Weizen aus unterschiedlichen Anbauvarianten. Statistisch signifikante Abweichungen wurden bei einigen der ausgewählten Inhaltsstoffe meist nur für ein Anbaujahr gefunden. Die Abweichungen lagen zudem innerhalb der bekannten Schwankungsbreiten bei Weizen. Gesamtproteingehalte waren in den ökologischen Anbauvarianten in beiden Anbaujahren signifikant geringer.

Beim Protein-Profiling, durchgeführt mit zweidimensionaler Gel-Elektrophorese, Bildauswertung und Proteinidentifizierung durch MALDI-TOF-MS ist es gelungen, die relativen Gehalte von ca. 1000 Proteinen in ökologischem und konventionellem Weizen zu bestimmen. Die unter stringenten Bedingungen durchgeführte Bildanalyse ergab, dass die Gehalte von 25 Proteinen in Weizen aus zwei Anbaujahren in den ökologischen und konventionellen Anbauvarianten signifikant verschieden waren. Nach Einbezug von saisonalen Einflüssen als Knock-out-Kriterium beim Vergleich der Effekte in den beiden Erntejahren, erfüllten noch 16 Proteine die gesetzten strengen Kriterien. Diese 16 Proteine bilden eine Signatur, anhand derer die DOK-Weizenmuster der verschiedenen Anbauvarianten unterschieden werden können. Unter diesen 16 Proteinen sind Speicherproteine, Enzyme des Kohlenhydratstoffwechsels, eine Peroxidase und einige Proteine mit unbekannter Funktion. In einem nächsten Schritt, der über den Rahmen dieses Projekt hinausgeht, soll untersucht werden, ob diese

Signatur gleichfalls bei ökologischen und konventionellen Weizenproben gilt, die von verschiedenen Standorten und von verschiedenen Sorten stammen.

Vor dem Hintergrund des komplexen Gesamtstoffwechsels von Pflanzen ergeben die relativ wenigen mit verschiedenen Gehalten auftretenden Proteine, so weit identifiziert, keinen Hinweis auf Änderungen von Stoffwechselaktivitäten, die für die menschliche Ernährung kritisch wären. Die signifikante Reduzierung des Gesamtproteingehalts ist unter Ernährungsgesichtspunkten eher ungünstig, bei der in Deutschland üblichen Zusammensetzung der Diät aber unbedenklich. Zusammenfassend wird mit Blick auf die Ergebnisse des Protein-Profiling, des Metaboliten-Profiling und der Analytik von Einzelverbindungen gefolgert, dass ökologischer und konventioneller DOK-Weizen hinsichtlich der untersuchten Parameter ernährungsphysiologisch gleich wertvoll ist.

5 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen

Insgesamt wurden die geplanten Arbeiten erfolgreich durchgeführt. Zusätzlich zu den geplanten Arbeiten konnten Metaboliten-Profile aufgenommen werden und die Gehalte weiterer Inhaltsstoffe bestimmt werden (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: Geplante Arbeiten und tatsächlich erreichte Ziele im Projekt „Charakterisierung von Getreide aus ökologischem und konventionellem Anbau - Anwendung von „Protein-Profilings-Techniques“ und Inhaltsstoffanalysen“

Geplante Arbeiten	Ernte	Tatsächlich erreichte Ziele
1. Etablierung des Protein-Profilings aus Weizenschrot	2003 2005	Protein-Profilings mit Proteinextraktion, 2D GE und Bildverarbeitung erfolgreich etabliert
2. Identifizierung von Proteinen	2003 2005	132 Proteine mit MALDI-TOF-MS und Datenbanksuche identifiziert (ZMMK, Uni Köln). 238 Proteine derzeit nicht identifizierbar, da Informationen in Datenbanken limitiert
3. Vergleich der Protein-Profilings Daten aus zwei Erntejahren	2003 2005	Datensätze für Vergleich erarbeitet; gleiche Effekte der Anbauform bei 16 Proteinen in beiden Erntejahren erkannt; Daten werden zur Veröffentlichung vorbereitet
4. Etablierung der 2D GE besonderer Proteinfractionen	2005	modifizierte Osborne-Fraktionierung und 2D GE erfolgreich durchgeführt, Auswertung nicht abgeschlossen
5. Analysen von Inhaltsstoffen mit Relevanz in der Ernährung	2003 2005	Bestimmt wurden die Gehalte von Gesamtprotein, Stärke, Mineralstoffen, Ballaststoffen und Phytinsäure; Daten wurden veröffentlicht
6. Zusätzlich zu den geplanten Arbeiten parallel durchgeführte Analysen von Inhaltsstoffen und Bestimmung von Enzymaktivitäten mit Relevanz in der Ernährung*	2003 2005	Bestimmt wurden die Gehalte von Fruktan, Phenolen, Ascorbinsäure, Glutathion, Oxalsäure und Lipiden. Gemessen wurde das antioxidative Potenzial und die Aktivitäten der Enzyme Glutathionreduktase, Oxalatoxidase, Peroxidase, α -Amylase und Esterase; Daten wurden veröffentlicht

Geplante Arbeiten	Ernte	Tatsächlich erreichte Ziele
7. Dank der Zusammenarbeit mit der Universität Bielefeld konnten zusätzlich Metaboliten-Profile aufgenommen werden	2003	Metaboliten-Profile mit GC-MS erzielt; Daten wurden veröffentlicht

*Inhaltsstoffe wurden in der Regel in beiden Erntejahren bestimmt, bei manchen Inhaltsstoffen jedoch nur in 2003

Hinweise auf weiterführende Fragestellungen

Was die Suche nach einen Herkunftsnachweis von ökologisch und konventionell erzeugtem Weizen anbetrifft, hat das Protein-Profilung des DOK-Weizens viel versprechende Ergebnisse geliefert. Es wurden 16 Proteine gefunden, die in ökologischem und konventionellem DOK-Weizen aus zwei Anbaujahren signifikant unterschiedliche Gehalte haben. Diese 16 Proteine bilden somit eine Signatur, anhand derer die DOK-Weizenmuster der verschiedenen Anbauvarianten unterschieden werden können.

Weitere Forschung ist notwendig um zu klären, ob diese Signatur auch bei Weizen unterschiedlicher Herkunft gilt. Es müssen Weizen von verschiedenen Standorten und verschiedene Weizensorten mit Protein-Profilung untersucht werden, um die natürliche Schwankungsbreite der Expression der 16 Proteine zu ermitteln. Bei Bestätigung der Signatur mit diesen Experimenten, wäre es möglich für die Proteine mit unterschiedlicher Expression einfachere und damit in der Praxis leichter nutzbare Nachweisverfahren, z. B. immunologischer Art, zu entwickeln.

Die auf Proteinen basierende Signatur könnte mit Ergebnissen weiterer Analysen, die alleine keine Differenzierung der Anbauformen erlauben, kombiniert werden, um insgesamt belastbarere Aussagen zu erzielen. Ein geeigneter Parameter dafür wäre der Gesamtproteingehalt. Weiterhin sollte geprüft werden, ob auf breiterer Datenbasis erstellte Metaboliten-Profile zum Herkunftsnachweis beitragen können.

Auf Grundlage von Transkript-Profilung beschrieben Lu et al. (2005) „diagnostische“ Gene mit unterschiedlicher Expression in Weizen aus intensiver und extensiver Landwirtschaft. Vor dem Hintergrund dieser Veröffentlichung wäre zu testen, ob Transkript-Profilung den Herkunftsnachweis von ökologisch und konventionell erzeugtem Weizen verbessern kann.

6 Literaturverzeichnis

Anonym. Bestimmung der Ballaststoffe in Lebensmitteln. [L 00.00-18], 1-6. 1997. Berlin, Beuth Verlag. Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG.

Alscher, R.G. (1989) Biosynthesis and antioxidant function of glutathione in plants. *Physiol. Plantarum* **77**:457-464.

Asp, N.-G. (2004) Definition and analysis of dietary fibre in the context of food carbohydrates. In: *Dietary Fibre. Bio-active carbohydrates for food and feed*, J.W. van der Kamp, N.-G. Asp, J. Miller Jones, und G. Schaafsma (Hrsg.), Wageningen: Wageningen Academic Publishers, S.21-26.

Blokhina, O., Virolainen, E., und Fagerstedt, K.V. (2003) Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann. Bot.* **91**:179-194.

Bolling, H., Gerstenkorn, P., und Weipert, D. (1986) Vergleichende Untersuchungen zur Verarbeitungsqualität von alternativ und konventionell angebautem Brotgetreide. *Getreide Mehl Brot* **40**:46-51.

Bourn, D. und Prescott, J. (2002) A comparison of the nutritional value, sensory qualities, and food safety of organically and conventionally produced foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **42**:1-34.

Bray, E.A., Bailey-Serres, J., und Weretilnyk, E. (2000) Responses to abiotic stresses. In: *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, B.B. Buchanan, W. Gruissem, und R.L. Jones (Hrsg.), Rockville: American Society of Plant Physiologists, S.1158-1203.

Buchanan, B.B., Gruissem, W., und Jones, R.L. (Hrsg.), (2000) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Rockville: American Society of Plant Physiologists.

Christensen, T.H. (1984) Cadmium soil sorption at low concentrations: 1. Effect of time, cadmium load, pH, and calcium. *Water Air Soil Pollu.* **21**:105-114.

Cornish, G.B., Skylas, D.J., Siriamornpun, S., Békés, F., Larroque, O.R., Wrigley, C.W., und Wootton, M. (2001) Grain proteins as markers of genetic traits in wheat. *Aust. J. Agric. Res.* **52**:1161-1171.

Dunwell, J.M., Khuri, S., und Gane, P.J. (2000) Microbial relatives of the seed storage proteins of higher plants: conservation of structure and diversification of function during evolution of the cupin superfamily. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **64**:153-179.

Eltun, R. (1996) The Apelsvoll cropping system experiment III. Yield and grain quality of cereals. *Norw. J. Agric. Sci.* **10**:7-21.

EN ISO 3188. Stärken und Stärkederivate - Bestimmung des Stickstoffgehaltes nach dem Kjeldahl-Verfahren - Volumetrisches Verfahren. (1994) Berlin, Beuth. Deutsche Normen. S. 1-4.

Fiehn, O., Kopka, J., Dormann, P., Altmann, T., Trethewey, R.N., und Willmitzer, L. (2000) Metabolite profiling for plant functional genomics. *Nat Biotechnol* **18**:1157-1161.

- Franceschi, V.R. und Libert, B.** (1987) Oxalate in crop plants. *J. Agric. Food Chem.* **35**:926-938.
- Fretzdorff, B.** (1980) Bestimmung der Peroxidase-Aktivität in Getreide. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **170**:187-193.
- Fretzdorff, B.** (2005) Vergleich ernährungsrelevanter Inhaltsstoffe in Roggenmustern aus ökologischem und konventionellem Anbau und Suche nach Indikatoren für die Anbauform. *Getreidetechnologie* **59**:281-288.
- Fretzdorff, B. und Betsche, T.** (1998) Oxalate in cereal grains, pseudocereals and their products. *Cereal Foods World* **43**:536.
- Fretzdorff, B. und Welge, N.** (2003) Fructan- und Raffinosegehalte im Vollkorn einiger Getreidearten und Pseudo-Cerealien. *Getreide Mehl Brot* **57**:3-8.
- Görg, A., Obermaier, C., Boguth, G., Harder, A., Scheibe, B., Wildgruber, R., und Weiss, W.** (2000) The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients. *Electrophoresis* **21**:1037-1053.
- Hammond-Kosack, K. und Jones, J.D.G.** (2000) Responses to plant pathogenes. In: *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, B.B. Buchanan, W. Gruissem, und R.L. Jones (Hrsg.), Rockville: American Society of Plant Physiologists, S.1102-1156.
- Harker, F.R.** (2004) Organic food claims cannot be substantiated through testing of samples intercepted in the marketplace: a horticulturalist's opinion. *Food Qual. Pref.* **15**:91-95.
- Helmerich, G. und Köhler, P.** (2002) Einfache dünnschichtchromatographische Quantifizierung von Phospholipiden. *Getreide Mehl Brot* **56**:195-197.
- ICC STANDARD No.167.** Determination of crude protein in grain and grain products for food and feed by the Dumas combustion principle. (2000) Wien. Standard Methods of the International Association for cereal Science and Technology.
- Kuhnert, H., Feindt, P.H., Wragge, S., und Beusmann, V.** Nachfrage nach Öko-Lebensmitteln: Ergebnisse einer repräsentativen Verbraucherstudie. (2003), Universität für Bodenkultur Wien, Institut für Ökologischen Landbau. 7. Wissenschaftstagung zum Ökologischen Landbau, Ökologischer Landbau der Zukunft. S. 653-654.
- Langenkämper, G., Zörb, C., Seifert, M., und Betsche, T.** (2006a) Mineralstoffkonzentration und Antioxidantien in Weizen aus ökologischem und konventionellem Anbau. *Getreidetechnologie* **60**:295-300.
- Langenkämper, G., Zörb, C., Seifert, M., Mäder, P., Fretzdorff, B., und Betsche, T.** (2006b) Nutritional quality of organic and conventional wheat. *J. Appl. Bot. Food Qual.* **80**:150-154.
- Lee, S.C., Prosky, L., und de Vries, J.W.** (1992) Determination of total, soluble and insoluble dietary fiber in foods: Enzymatic-gravimetric method, MES-TRIS buffer: Collaborative study. *J. AOAC Int.* **75**:395-416.

Lehesranta, S.J., Koistinen, K.M., Massat, N., Davies, H.V., Shepherd, L.V., McNicol, J.W., Cakmak, I., Cooper, J., Luck, L., Karenlampi, S.O., und Leifert, C. (2007) Effects of agricultural production systems and their components on protein profiles of potato tubers. *Proteomics* 7:597-604.

Lopez, H.W., Leenhardt, F., Coudray, C., und Remesy, C. (2002) Minerals and phytic acid interactions: is it a real problem for human nutrition? *Int. J. Food Sci. Technol.* 37:727-739.

Lottspeich, F. (1999) Proteomanalyse - ein Weg zur Funktionsanalyse von Proteinen. *Angew. Chem.* 111:2630-2647.

Lu, C.G., Hawkesford, M.J., Barraclough, P.B., Poulton, P.R., Wilson, I.D., Barker, G.L., und Edwards, K.J. (2005) Markedly different gene expression in wheat grown with organic or inorganic fertilizer. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 272:1901-1908.

Mäder, P., Fließbach, A., Dubois, D., Gunst, L., Fried, P., und Niggli, U. (2002) Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science* 296:1694-1697.

Mäder, P., Fließbach, A., Dubois, D., Gunst, L., Jossi, W., Widmer, F., Oberson, A., Frossard, E., Oehl, F., Wiemken, A., Gattinger, A., und Niggli, U. (2006) The DOK experiment (Switzerland). In: Long Term Field Experiments in Organic Farming. ISOFAR Scientific Series No. 1, J. Raupp, C. Pekrun, M. Oltmanns, und U. Köpke (Hrsg.), Berlin: Verlag Dr. Köster, S.41-58.

Mäder, P., Hahn, D., Dubois, D., Gunst, L., Alföldi, T., Bergmann, H., Oehme, M., Amadò, R., Schneider, H., Graf, U., Velimirov, A., Fließbach, A., und Niggli, U. (2007) Wheat quality in organic and conventional farming: results of a 21 year field experiment. *J. Sci. Food Agric.* 87:1826-1835.

Majoul, T., Bancel, E., Triboi, E., Ben Hamida, J., und Branlard, G. (2003) Proteomic analysis of the effect of heat stress on hexaploid wheat grain: Characterization of heat-responsive proteins from total endosperm. *Proteomics* 3:175-183.

McCleary, B.V., Gibson, T.S., und Mugford, D.C. (1997) Measurement of total starch in cereal products by amyloglucosidase-alpha-amylase method: Collaborative study. *J. AOAC Int.* 80:571-579.

Meier-Ploeger, A., Kahl, J., Busscher, N., Mergardt, G., Strube, J., Mende, G., Negendank, C., Stolz, P., Böhm, B., Köhl-Gies, B., Staller, B., Merschel, M., Werries, A., Rahmann, G., Weirauch, K., Treutter, D., Degert, A., und Kromidas, S. Ganzheitliche Untersuchungsmethoden zur Erfassung und Prüfung der Qualität ökologischer Lebensmittel: Stand der Entwicklung und Validierung. (2003) Bonn: Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau in der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE), S. 1-319. <http://orgprints.org/4815/>.

Miller Jones, J. (2004) Dietary fibre intake, disease prevention, and health promotion: An overview with emphasis on evidence from epidemiology. In: Dietary Fibre. Bio-active carbohydrates for food and feed, J.W. van der Kamp, N.-G. Asp, J. Miller Jones, und G. Schaafsma (Hrsg.), Wageningen: Wageningen Academic Publishers, S.143-164.

Minihane, A.M. und Rimbach, G. (2002) Iron absorption and the iron binding and anti-oxidant properties of phytic acid. *Int. J. Food Sci. Technol.* 37:741-748.

- Noctor, G. und Foyer, C.H.** (1998) Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen Under Control. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.* **49**:249-279.
- Shamsuddin, A.M.** (2002) Anti-cancer function of phytic acid. *Int. J. Food Sci. Technol.* **37**:769-782.
- Skylas, D.J., Mackintosh, J.A., Cordwell, S.J., Basseal, D.J., Walsh, B.J., Harry, J., Blumenthal, C., Copeland, L., Wrigley, C.W., und Rathmell, W.** (2000) Proteome approach to the characterisation of protein composition in the developing and mature wheat-grain endosperm. *J. Cereal Sci.* **32**:169-188.
- Souci, S.W., Fachmann, W., und Kraut, H.** (2000) Die Zusammensetzung der Lebensmittel - Nährwerttabellen. Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers.
- Stanner, S.A., Hughes, J., Kelly, C.N.M., und Buttriss, J.** (2004) A review of the epidemiological evidence for the 'antioxidant hypothesis'. *Public Health Nutrition* **7**:407-422.
- Steineck, O. und Liebhard, P.** (1984) Qualität und Ertrag von Brotgetreide aus naturwissenschaftlich-biologischer und alternativ-biologischer Pflanzenproduktion. *Allgem. Mühlen-Markt* **85**:35-40.
- Tauscher, B., Brack, G., Flachowsky, G., Henning, M., Köpke, U., Meier-Ploeger, A., Münzing, K., Niggli, U., Pabst, K., Rahmann, G., Willhöft, C., und Mayer-Miebach, E.** (2003) Bewertung von Lebensmitteln verschiedener Produktionsverfahren - Statusbericht 2003. Schriftenreihe des BMVEL Reihe A: Angewandte Wissenschaft Heft 499. Münster: Landwirtschaftsverlag.
- Vensel, W.H., Tanaka, C.K., Cai, N., Wong, J.H., Buchanan, B.B., und Hurkman, W.J.** (2005) Developmental changes in the metabolic protein profiles of wheat endosperm. *Proteomics* **5**:1594-1611.
- Westermeier, R. und Naven, T.** (2002) *Proteomics in Practice. A Laboratory Manual of Proteome Analysis.* Weinheim, Germany: Wiley-VCH.
- Wheeler, E.L. und Ferrel, R.E.** (1971) A method for phytic acid determination in wheat and wheat fractions. *Cereal Chem.* **48**:312-320.
- Wieser, H., Antes, S., und Seilmeier, W.** (1998) Quantitative determination of gluten protein types in wheat flour by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Cereal Chem.* **75**:644-650.
- Wong, J.H., Cai, N., Balmer, Y., Tanaka, C.K., Vensel, W.H., Hurkman, W.J., und Buchanan, B.B.** (2004) Thioredoxin targets of developing wheat seeds identified by complementary proteomic approaches. *Phytochemistry* **65**:1629-1640.
- Zörb, C., Langenkämper, G., Betsche, T., Niehaus, K., und Barsch, A.** (2006) Metabolite profiling of wheat grains (*Triticum aestivum* L.) from organic and conventional agriculture. *J. Agric. Food Chem.* **54**:8301-8306.
- Zörb, C., Schmitt, S., Neeb, A., Karl, S., Linder, M., und Schubert, S.** (2004) The biochemical reaction of maize (*Zea mays* L.) to salt stress is characterized by a mitigation of symptoms and not by a specific adaptation. *Plant Sci.* **167**:91-100.

7 Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen zum Projekt

Original Publikationen

Langenkämper, G.; Zörb, C.; Seifert, M.; Betsche, T. (2006) Mineralstoffkonzentrationen und Antioxidantien in Weizen aus ökologischem und konventionellem Anbau. *Getreidetechnologie* 60, 295-300.

Langenkämper, G.; Zörb, C.; Seifert, M.; Mäder, P.; Fretzdorff, B.; Betsche, T. (2006) Nutritional quality of organic and conventional wheat. *J. Appl. Bot. Food Qual.* 80, 150-154.

Zörb, C.; Langenkämper, G.; Betsche, T.; Niehaus, K.; Barsch, A. (2006) Metabolite profiling of wheat grains (*Triticum aestivum* L.) from organic and conventional agriculture. *J. Agric. Food Chem.* 54, 8301-8306.

Langenkämper, G., Bruder, A., Betsche T. Zörb, C. (2007) Biochemische Charakterisierung von ökologisch und konventionell erzeugtem Weizen aus dem DOK-Versuch: Profiling Techniken und Analytik von Einzelverbindungen. *Landbauforschung Völkenrode. Sonderheft 314*, 107-114.

Zörb, C., Betsche, T., Langenkämper, G. (in Vorbereitung) Search for diagnostic proteins to prove authenticity of organic wheat grains.

Bruder, A., Zörb, C., Langenkämper G., Lindhauer, M.G. (in Vorbereitung) Resistant starch and β -glucan in wheat grains from organic and conventional agriculture.

Tagungsbeiträge und Berichte

Langenkämper, G.; Fretzdorff, B.; Betsche, T.; Zörb, C.: Profiling von ökologisch und konventionell produzierten Lebensmitteln. Jahresbericht der Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel, 2005, S. 118-119

Langenkämper, G.; Zörb, C.; Seifert, M.; Betsche, T.: Ernährungsphysiologisch relevante Inhaltsstoffe und Metabolitprofile von Weizen aus ökologischem und konventionellem Anbau. 57. Tagung für Getreidechemie, 21.-22. Juni 2006, Detmold

Zörb, C.; Langenkämper, G.; Barsch, A.; Niehaus, K.; Betsche, T.: Profiling of wheat grains from organic agriculture to assess nutritional quality. Plant Nutrition Meets Plant Breeding, First Joint Conference, 26-28 September 2006. Universität Hohenheim, Stuttgart, (Posterbeitrag)

Langenkämper, G.; Zörb, C.; Betsche, T.: Protein Profiling von ökologisch und konventionell angebautem Weizen. Interdisziplinärer Workshop „Proteomik in der Lebenswissenschaft“, 12. Oktober 2006, Universität Gießen

Langenkämper, G.; Zörb, C.; Barsch, A.; Niehaus, K.; Seifert, M.; Betsche, T.: Profiling von ökologisch und konventionell produzierten Lebensmitteln. Jahresbericht der Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel, 2006, S. 181-182

Langenkämper, G.; Zörb, C.; Betsche, T.; Niehaus, K.: Charakterisierung von Weizen aus unterschiedlichen Anbauformen mit Profiling-Methoden. 58. Tagung für Getreidechemie, 20.-21. Juni 2007, Detmold

Zörb, C.; Betsche, T.; Niehaus, K.; Barsch, A.; Langenkämper, G.: Protein and metabolite profiles of wheat grains from organic and conventional agriculture. Botanikertagung, 3.-7. September 2007, Universität Hamburg (Posterbeitrag)

Zörb, C.; Barsch, A.; Niehaus, K.; Betsche, T. Langenkämper, G.: Qualitätsuntersuchungen von Metaboliten und Proteinen von Weizen aus ökologischem und konventionellem Anbau. Jahrestagung der Gesellschaft für Pflanzenernährung, September 2007, Humboldt-Universität zu Berlin (Posterbeitrag und Vortrag)

Langenkämper, G.: Biochemische Charakterisierung von ökologisch und konventionell erzeugtem Weizen aus dem DOK-Versuch: Profiling Techniken und Analytik von Einzelverbindungen – methodische Konzepte. Statusseminar Ressortforschung für den Ökologischen Landbau, 11. Oktober 2007, Detmold

Zörb, C.: Biochemische Charakterisierung von ökologisch und konventionell erzeugtem Weizen aus dem DOK-Versuch: Profiling Techniken und Analytik von Einzelverbindungen. Statusseminar Ressortforschung für den Ökologischen Landbau, 11. Oktober 2007, Detmold