

canus an. Diese Produkte werden bezüglich eines hohen Gehaltes sowie einer Vielfalt an phenolischen Substanzen in Verbindung mit hohen antioxidativen Kapazitäten und zahlreichen gesundheitsfördernden Effekten beworben. Für die Konsumenten ist es von Interesse, ob diese Produkte die beworbenen Phenolgehalte enthalten, authentisch sind und ob die ausgelobten Wirkungen durch einen Verzehr gewährleistet werden können. Darüber hinaus ist es aber auch oftmals nicht klar, ob Veränderungen im Phenolprofil durch Verarbeitung des Pflanzenmaterials auftreten. Das Ziel dieser Arbeit war es die phenolischen Inhaltsstoffe in C.-incanus-Tee zu identifizieren, deren spezifischen antioxidativen Kapazitäten zu bestimmen und die thermische Stabilität während des Teekochens zu charakterisieren.

C.-incanus-Tee enthält eine Vielfalt phenolischer Verbindungen, darunter Phenolsäuren, Flavanole, Flavonolglycoside und Ellagittannine. Mittels LC-DAD-ESI-MS/MS wurden anhand von Retentionszeiten, UV- und Massenspektren 41 phenolische Verbindungen identifiziert, darunter u. a. Gallussäure, Rosmarinsäure, (Epi-)catechin, (Epi-)gallocatechin, Myricitrin, Rutin und Quercitrin. Auch konnten Dimere der Flavan-3-ole, Ellagsäure und -derivate nachgewiesen werden [2]. Diesen phenolischen Substanzen konnten vergleichsweise hohe antioxidative Kapazitäten mittels LC-online-TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) zugeordnet werden. Dabei wiesen die höchsten antioxidativen Kapazitäten Myricitrin, HHDP-Glucose, Gallocatechin, Gallussäure und Catechin auf [2]. Bezüglich der thermischen Stabilität der phenolischen Substanzen wurde beim Kochen von C.-incanus-Tee mit zunehmendem Mineralstoffgehalt des Kochwassers eine signifikante Abnahme ausgewählter phenolischer Verbindungen beobachtet. Auch hatten die Parameter Kochtemperatur und -dauer einen Einfluss auf die Extraktionsausbeuten der phenolischen Inhaltsstoffe [2].

Für die Zubereitung von C.-incanus-Tee resultiert aus den Ergebnissen dieser Arbeit, dass die Auswahl geeigneter Parameter, insbesondere dem Kochwasser, entscheidend ist. Aus einer unvorteilhaften Auswahl kann ein geringer Gehalt an phenolischen Verbindungen im Tee, verbunden mit vergleichsweise niedrigen antioxidativen Kapazitäten für die Verbraucher resultieren. Eine Präzipitation phenolischer Substanzen bedingt durch den Mineralstoffgehalt des Kochwassers könnte eine mögliche Erklärung hierfür darstellen.

1. Barrajón-Catalán E et al (2011) *Phytochem Anal.* 22: 303–312

2. Riehle P et al (2012) *Food Res. Int.* DOI: 10.1016/j.foodres.2012.09.020

Methodenentwicklung zu Bestandsdifferenzierung von Seelachs

K. Behrmann^{1,2}, A. Fritsch^{2,3}, H. Rehbein², M. Fischer¹

¹Hamburg School of Food Science; ²Max-Rubner-Institut, Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel – Institut für Sicherheit und Qualität bei Milch und Fisch, Hamburg; ³Hochschule für angewandte Wissenschaften Hamburg, Fakultät Life Science

Der Schutz von Fischbeständen rückt im Zuge eines stärkeren Bewusstseins der Bevölkerung für den Schutz natürlicher Ressourcen immer mehr in den Fokus. Bei der Mehrzahl der im Handel vertriebenen Fischereierzeugnissen werden die gesetzlich vorgeschriebenen Angaben durch genauere Angaben zum Fanggebiet ergänzt. Bei Seelachs werden unter anderem die Fangregionen Nordsee, Norwegische See, Färöer und Island unterschieden. Die ökologische Bewertung in den Fischführern von NGOs wie Greenpeace und WWF erfolgt inzwischen stets nach Meeresregionen getrennt. Nachhaltige Fischereien können sich durch den MSC zertifizieren lassen. Die Zertifizierung erfolgt bezogen auf einzelne Unternehmen für je ein bestimmtes Gebiet und ist hinsichtlich der Anforderungen an die Rückverfolgbarkeit einer Bio-Zertifizierung nicht unähnlich. Bei einigen Herstellern werden auf der Verpackung Nummern- oder QR-

Codes angegeben, die netzbasiert eine genaue Fangposition zum jeweiligen Produkt angeben. Als etikettierte Angaben unterliegen diese der lebensmittelrechtlichen Nachprüfung [4, 9].

Eine Überprüfung dieser Angaben beschränkt sich bisher auf die Dokumentenprüfung. Mit der zu Hilfenahme populationsgenetischer Informationen, wäre auch eine Überprüfung dieser Angaben anhand biologischer Informationen möglich und damit ein echter Bezug zwischen der Ware und ihrer Herkunft.

Obwohl der Seelachs zu den 10 beliebtesten Speisefischen gehört und mit einem Anlandevolumen von etwa 400000 t in der EU erhebliche Bedeutung hat, ist über die Populationen wenig bekannt. Die Unterteilung erfolgt mehr oder weniger anhand politischer Grenzen. Die verfügbaren Informationen stammen aus Markierungsstudien der letzten 50 Jahre. Arbeiten zur genetischen Differenzierung wurden bislang nicht veröffentlicht [7, 11, 12]. Die Autoren testeten genetische Verfahren zur Unterscheidung von Seelachsen aus verschiedenen Beständen. Hierbei handelt es sich naturgemäß um statistische Daten, da die Trennung der Bestände nicht vollständig ist. Es werden Abschnitte nicht kodierender DNA verwendet, da diese sich schneller verändern als die kodierenden Abschnitte. In der Regel sind große Probenzahlen und mehrere Marker nötig sind um eine Differenzierung zwischen den Beständen vornehmen zu können. Als Verfahren wurden getestet:

- Mikrosatelliten-PCR (MSat, auch „Short Tandem Repeats“ SSR genannt),
- RAPD-PCR (Random Amplified Polymorphic DNA),
- EPIC-PCR (Exon Primed Intron Crossing).

MSat sind Abschnitte in denen sich kurze Sequenzen (2–6 bp) sehr oft wiederholen. Hierbei kommt es leicht zu Kopierfehlern um genau ein Motiv. Getestet wurde die Übertragung von Mikrosatellitensystemen verwandter Spezies, da für den Seelachs keine funktionsfähigen MSat-Systeme beschrieben wurden [5, 12].

MSat bieten einen hohen Informationsgehalt und unterliegen einer schnellen Veränderung bei auftretenden Bestandsdifferenzierungen. Die Übertragung von Primersystemen anderer Spezies war nur in wenigen Fällen möglich.

Die RAPD-PCR ist eine Fingerprinting-Methode bei der mit sehr kurzen Primern (10 bp) unspezifische Muster erzeugt werden, die sich dann statistisch auswerten lassen [1, 3]. Der zeitintensiven Optimierung, um eine vertretbare Reproduzierbarkeit zu erreichen, stehen Daten mit in der Regel einen geringem Informationsgehalt gegenüber.

Bei der EPIC-PCR binden die Primer auf Exons bekannter proteinkodierender Kerngene, was eine Anwendung der Primer auf eine Vielzahl von Spezies erlaubt. Die Introns sind weniger gut konserviert, die darin auftretenden Abweichungen werden für diese Analysen genutzt. Dabei wurden die Intronsequenzen durch Sequenzierung und RFLP untersucht. Die neu entwickelte Methode der SLCP (Loop-SSCP) fand ebenfalls Anwendung, da hiermit auch geringfügige Veränderungen innerhalb eines Introns ohne technischen Aufwand leicht unterschieden werden können [2, 6, 8, 13].

Primer für die EPIC-PCR sind aus der Literatur leicht zugänglich, der Entwicklungsaufwand der Adaption auf neue Spezies ist gering. Der Informationsgehalt der Introns ist aber unterschiedlich, so dass eine größere Anzahl Introns getestet werden sollte, um geeignete und aussagekräftige Systeme zu erhalten. Die Tatsache, dass diese Proteine oder Teile davon oft an mehreren Orten des Genoms codiert sind führt t. w. zur Amplifizierung mehrerer Allele, was die Auswertung erschweren kann.

Genetische Analysen können einen Beitrag zu Überprüfung der Herkunftsangaben von Fischereierzeugnissen liefern. Für genetisch wenig erforschte Spezies stehen verschiedene Methoden zur Verfügung von denen die Mikrosatelliten- und EPIC-PCR den Fingerprintingmethoden deutlich vorzuziehen sind.

1. Ali BA, Huang TH, Qin DN, Wang XM (2004) Reviews in Fish Biology and Fisheries 14: 443–453
2. Atarhouch T, Rami M, Cattaneo-Berberi G, Ibanez C, Augros S, Boissin E, Dakkak A, Berberi P (2003) BioTechniques 35: 676–682
3. Bardakci F, Skibinski DOF (1994) Heredity 73: 117–123
4. Bundesverband der deutschen Fischindustrie und des Fischgroßhandels e.V. www.fischverband.de/fanggebietskennzeichnung/initiative/, Stand 17.12.2012
5. Chistiakov DA; Hellemans B, Volckaert FAM (2006) Aquaculture 255: 1–29
6. Fritsch A (2012) Differenzierung von Seelachsbeständen mit Hilfe der EPIC-PCR, Master Thesis, Masterstudiengang Food Science, HAW Hamburg
7. Homrum Ei (2012) The Effects of Climate and Ocean Currents on Faroe Saithe, Ph.D.-Thesis, Naturvisindadeildin, Frodskaparsetur Føroya, S. 18–19
8. Lessa EP (1992) Mol. Biol. Evol. 9(2): 323–330
9. MSC, http://www.msc.org/de, Stand: 17.12.2012
10. Ogden R (2008) Fish and Fisheries 9: 462–472
11. Reinsch HH (1976) Köhler und Steinköhler. A. Ziemsen Verlag, Lutherstadt Wittenberg
12. Reiss, H. (2009) Fish and Fisheries 10: 361–395
13. Zhou H, Kunhareang S, Gong H, Fang Q, Hu J, Luo Y, Hickford JGH (2011) Analytical Biochemistry 408: 340–341

Bestimmung von Stoffwechselmetaboliten des Benzylisothiocyanates in menschlichen Serumproben nach der Aufnahme von Kapuzinerkresse

S. Platz¹, C. Kühn¹, S. Schiess², M. Schreiner³, M. Kemper², A. Pfeiffer², S. Rohn¹

¹Universität Hamburg, Hamburg School of Food Science, Institut für Lebensmittelchemie, ²Nuthetal, ³Großbeeren

Die Kapuzinerkresse gehört zur Ordnung der Brassicales und wurde zur Arzneipflanze des Jahres 2013 gewählt. Die pharmakologische Wirkung der Kapuzinerkresse ist auf das enthaltene aromatische Glucosinolat (Glucotropaeolin) zurückzuführen, welches nach Gewebsverletzung durch endogene Myrosinasen zu Benzylisothiocyanat (BITC) hydrolysiert werden kann. Aufgrund des lipophilen Charakters wird BITC schnell im menschlichen Darm resorbiert, mit Glutathion konjugiert und schrittweise zur Mercaptursäure (N-Acetyl-S-(N-benzylthiocarbamoyl)-L-cystein) abgebaut und im Urin ausgeschieden. Das BITC besitzt eine antimikrobielle Aktivität und wird sowohl im Zell- als auch im Tierversuch durch die Induktion von Phase-II-Enzymen und Einleitung der Apoptose als potentiell antikanzerogen diskutiert [1, 2]. In diesem Zusammenhang stellen sowohl die Bioverfügbarkeit als auch die Kinetik der verschiedenen Metabolite eine bedeutsame Fragestellung dar.

Ziel des Forschungsprojektes war die Entwicklung und Validierung einer sensitiven und robusten LC-ESI-MS/MS-Multimethode zur Bestimmung der Glutathion-Konjugate des BITC in menschlichen Serumproben (Urin, Plasma). Es erfolgte zunächst die organische Synthese der verschiedenen Stoffwechselmetabolite BITC-Glutathion, BITC-N-Acetylcystein (BITC-NAC), BITC-Cysteinylglycin sowie BITC-Cystein und anschließend deren Charakterisierung mittels NMR und MS. Die Vorbereitung der Serumproben erfolgte durch Festphasenextraktion und die Quantifizierung mittels Multiple-Reaction-Monitoring im negativen Ionenmodus. Im Rahmen einer Humanstudie wurden nach dem Verzehr von gefriergetrockneten Blättern der Kapuzinerkresse Blut und Urin zu verschiedenen Zeitpunkten entnommen. In den Urinproben konnte BITC-NAC und BITC-Cys, in den Blutplasmaproben alle BITC-Metabolite bestimmt werden. Der höchste Gehalt an Mercaptursäure wurde in Urin nach 4 h, in Blutplasma nach 3 h nachgewiesen. Diese Erkenntnisse helfen die Relevanz von Glucosinolaten im Bereich der medizinischen Forschung und Ernährung weiter aufzudecken.

1. Beevi SS, Mangamoori LN (2009) Foodborne Pathog Dis. 6: 129–136
2. Srivastava SK, Singh SV (2004) Carcinogenesis 29(9): 1701–1709

Identifizierung sowie relative Quantifizierung von Schlüsselmetaboliten des Diabetes Mellitus mittels massenspektrometrischer Verfahren

P. Werner, M. Fischer

Trotz der hohen Prävalenz des Diabetes Mellitus und des metabolischen Syndroms, sowie der daraus resultierenden sozioökonomischen Folgen sind die heute angewendeten diagnostischen Verfahren lediglich dazu geeignet, einen bereits prävalenten Diabetes Mellitus zu erkennen. Einer schnellen und validierten Methode zur Frühdiagnostik, besonders des Diabetes Mellitus Typ II, käme somit eine besondere Bedeutung zu. Die dargestellte Arbeit befasst sich mit dem Identifizieren und Analysieren von Lipid-Schlüsselmetaboliten zu Diabetes Mellitus und dem metabolischen Syndrom, welche eine auf Massenspektrometrie basierende Diagnostik und Frühdiagnostik des Diabetes Mellitus aus minimalinvasiv gewonnenen Proben, wie Blut oder Urin, ermöglichen und zu einem besseren Verständnis der Stoffwechselfvorgänge während der Entstehung eines prävalenten Diabetes Mellitus führen sollen. Methodisch basiert das Vorhaben auf dem Auffinden entsprechender Schlüsselmetabolite durch den Vergleich der Metabolitmuster von Proben diabetischer und gesunder Individuen bzw. der Analyse von Veränderungen einzelner Schlüsselmetabolite während des Krankheitsverlaufs. Auf diese Weise identifizierte, zur Diagnostik und Frühdiagnostik von Diabetes Mellitus und dem metabolischen Syndrom geeignete, Schlüsselmetabolite werden anschließend in eine Screening-Methode zur absoluten Quantifizierung implementiert.

Eine besondere Bedeutung kommt bei diesem analytischen Vorgehen der Extraktion der Metabolite zu. Besonders bei der Extraktion aus Blutplasma bzw. -Serum muss beachtet werden, dass bestimmte Bestandteile, wie beispielsweise Proteine, vollständig abgetrennt werden müssen, da sie die spätere Analyse stören können. Neben sehr einfachen und schnellen Extraktionsmethoden, welche für einen qualitativen Nachweis für eine Vielzahl von Metaboliten verschiedener Stoffklassen geeignet sind, empfiehlt es sich spezielle Extraktionsmethoden für Metabolite bestimmter Polaritäten oder Stoffklassen zu entwickeln, damit eine möglichst quantitative Extraktion erreicht werden kann. Eine solche Methode wurde für unpolare Substanzen im besonderen Hinblick auf die Lipidklasse der Sphingolipide entwickelt.

Es hat sich gezeigt das mit Flüssigkeitschromatographie gekoppelte massenspektrometrische Systeme in der Lage sind, in einem Analyseschritt mehrere hundert bis über tausend Metabolite qualitativ und vielfach auch quantitativ nachzuweisen. Im Hinblick auf die große Diversität der während der Ätiologie des metabolischen Syndroms und des Diabetes Mellitus auftretenden Stoffwechseleränderungen, welche sich in qualitativen und quantitativen Veränderungen von Metaboliten unterschiedlichster Stoffeigenschaften äußert, wurden jeweils Methoden zur Detektion und Identifikation von Metaboliten unterschiedlicher Polaritätseigenschaften entwickelt.

Poster(-vorträge)

Edelkakaokomponenten in der Fruchtpulpa von Kakao-Elite-Klonen

K. Ulbrich¹, E. Hegmann¹, E. Zacharias¹, W. Phillips², S. Rohn¹, D. Kadow¹, R. Lieberei¹

¹Universität Hamburg, Hamburg school of food science, Institut für Lebensmittelchemie, ²Turrialba /CR

Die Samen des Kakaobaums (*Theobroma cacao* L.) sind der wichtigste Rohstoff für Schokoladenprodukte. Sie stellen au-