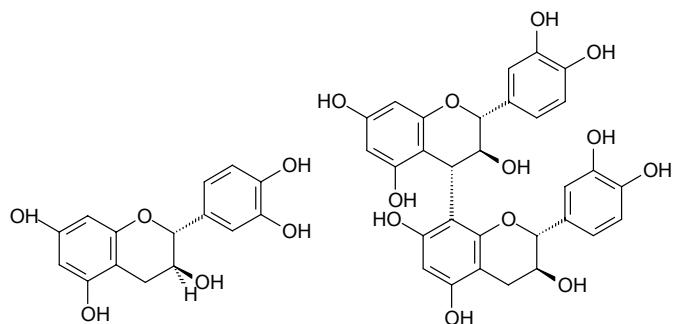


Bestimmung und Identifizierung von Flavonoiden in Gerste mit HPLC-DAD-MS/MS

Flavonoide zählen zur Gruppe der sekundären Pflanzenstoffe, und sie stellen eine umfangreiche Stoffklasse polyphenolischer Verbindungen dar, die in Lebensmitteln pflanzlicher Herkunft ubiquitär vorkommen. In zahlreichen epidemiologischen Studien konnten diesen Substanzen im menschlichen Organismus unterschiedliche protektive Wirkungsweisen nachgewiesen werden. In diesem Zusammenhang ist die Identifizierung und Quantifizierung von Flavonoiden in Gerste (s. Abbildung) von besonderer Bedeutung, da diese Getreideart als Ausgangsprodukt bei der Herstellung verschiedener Grundnahrungsmittel wie z. B. Brot und Cerealien, aber auch von Bier dient. Im Brauprozess sind oligomere Flavonoide, sogenannte Proanthocyanidine, aus lebensmitteltechnologischer Sicht jedoch unerwünscht, da sie durch Komplexbildung mit Proteinen zu einer Trübung des Bieres führen.

Abbildung: Strukturen ausgewählter Flavonoide in Gerste; Monomer (+)-Catechin (links), Dimer Procyanidin B3 (rechts)



Das Ziel dieser Arbeit bestand in der Entwicklung und Validierung eines Analysenverfahrens (Probenahme, Probenvorbereitung, chromatographische Trennung) zur Quantifizierung ausgewählter Flavonoide in Gerste. Die wesentlichen Probleme bei der Entwicklung lagen darin begründet, dass zum einen das in Gerste enthaltene Stoffspektrum an Flavonoiden bisher nur teilweise aufgeklärt ist, zum anderen, dass die Proanthocyanidine nicht kommerziell als Referenzsubstanzen erhältlich sind.

Bei der **Methodenentwicklung des HPLC-DAD-Verfahrens** lag ein besonderer Schwerpunkt auf der systematischen Erprobung verschiedenartiger analytischer Trennsäulen. Zur Extraktion der Flavonoxide aus Gerste wurden zwei Methoden der Probenvorbereitung eingesetzt, eine klassische Fest-Flüssig Extraktion mit Ultra-Turrax-Unterstützung und eine mikrowellengestützte Extraktion. Zusammenfassend hat sich zur quantitativen Bestimmung von Flavonoiden in Gerste ein chromatographisches System bestehend aus einer RP-18 Trennsäule und einem Phosphatpuffer/Acetonitril- oder einem Essigsäure/Acetonitril-Gradienten als mobile Phase als optimal erwiesen. Das entwickelte und optimierte HPLC-DAD-Verfahren wurde dann einer umfassenden **Validierung** nach international gültigen Richtlinien unterworfen.

Eine weitere Zielsetzung bestand in der **Identifizierung** der in Gerste enthaltenen Flavonoide mittels LC-DAD-MSⁿ-Untersuchungen. Anhand typischer Fragmentierungsreaktionen bzw. charakteristischer Product-Ionen erfolgte die erstmalige Erarbeitung einer systematischen Vorgehensweise zur Identifizierung von Proanthocyanidinen. Auf diese Weise konnten bisher nicht beschriebene dimere, trimere und tetramere Proanthocyanidine in Gerste identifiziert werden.

Die Anwendung des entwickelten HPLC-DAD-MS/MS-Verfahrens wurde anhand der **Bestimmung** der Flavonoid-Gehalte in drei **Braugerstensorten** demonstriert. Darüber hinaus wurden zur Verfolgung des Flavonoid-Flusses während eines **Bierbrauprozesses** verschiedene Proben untersucht. Es konnte sowohl die Abnahme der Flavonoid-Konzentration ausgehend vom Malz als Braugrundstoff bis zum fertigen Bier, als auch die Veränderung des Flavonoid-Musters in den jeweiligen Stufen des Brauprozesses nachgewiesen werden. Zu einer deutlichen Reduktion führte die Filtration des fertigen Bieres mit dem Polymer-Material PVPP, welches selektiv Polyphenole aus dem Bier absorbieren sollte, um die unerwünschte Trübung zu vermeiden. Die Effektivität dieses Filtrationsschrittes konnte bestätigt werden; im fertigen Bier waren nur monomere und dimere, aber keine höhermolekularen Flavonoide mehr nachweisbar.