

Die Entwicklung einer modifizierten SE-HPLC Methode zur Beurteilung der Proteinqualität von Getreidekörnern

S. Wroblewitz*, L. Hüther*, H. Wätzig⁺, S. Dänicke*

* Institut für Tierernährung, Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, Bundesallee 50, 38116 Braunschweig, Deutschland

⁺ Institut für Medizinische und Pharmazeutische Chemie, Technische Universität Braunschweig, Beethovenstr. 55, 38106 Braunschweig, Deutschland

stefanie.wroblewitz@fli.bund.de

EINLEITUNG

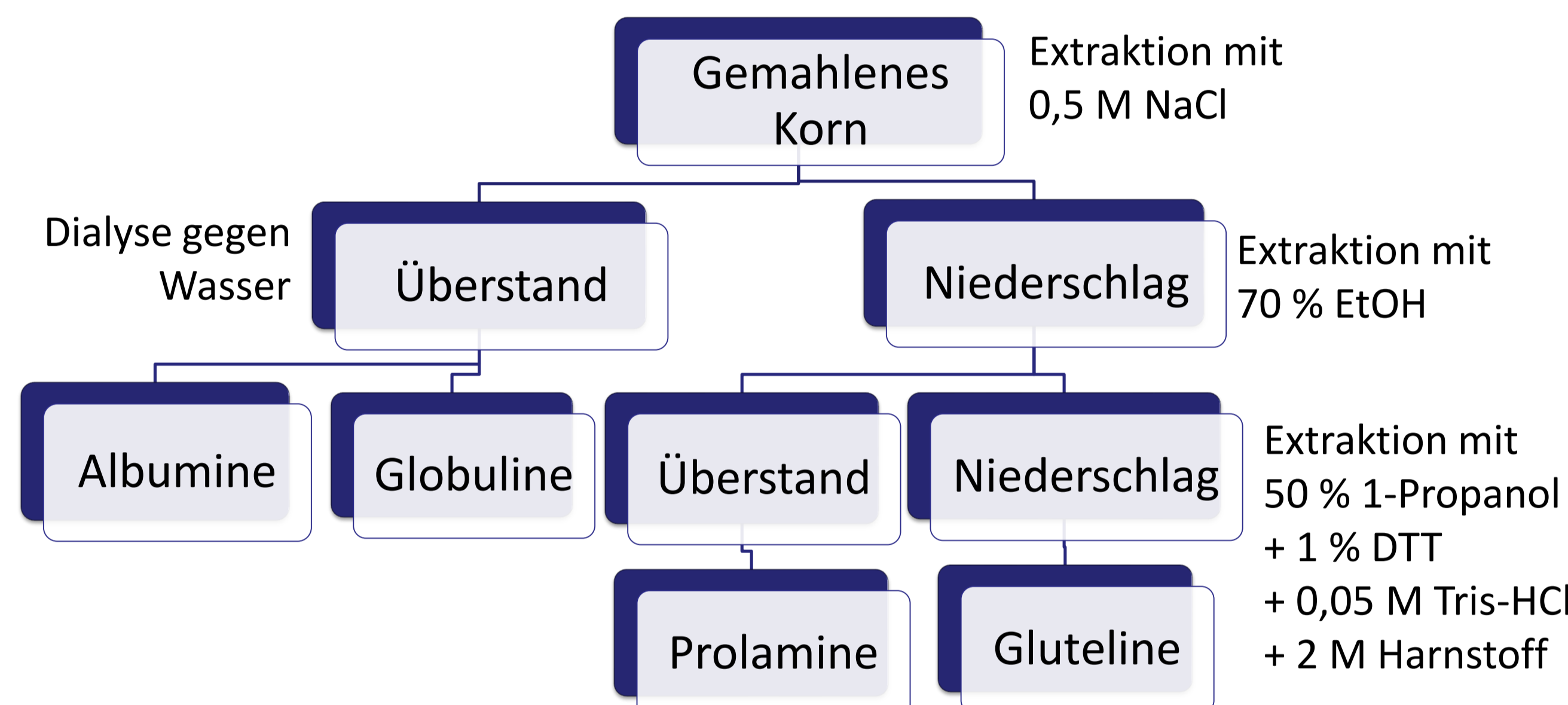
Untersuchungen zufolge beeinflusst ein Anstieg der atmosphärischen CO₂-Konzentration merklich den Rohproteingehalt und das Aminosäuremuster von Getreide. Inwiefern diese Veränderungen auf einzelne Proteinfractionen zurückzuführen sind, ist bisher kaum untersucht worden. Daher bestand das Ziel der vorliegenden Arbeit in der Entwicklung einer modifizierten SE-HPLC Methode, die es ermöglicht, zeit- und kosteneffektiv Veränderungen in der Proteinqualität zu erfassen. Im Rahmen eines laufenden Projektes wurden daher Körner von Getreide, das unter unterschiedlichen klimatischen Bedingungen angebaut wurde, laboranalytisch und chromatographisch charakterisiert, um Veränderungen der im Getreidekorn enthaltenen Proteinfractionen genauer beurteilen zu können.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Reinheit der Prolamine und Gluteline nach erfolgter Osborne-Fraktionierung konnte mittels SDS-PAGE bestätigt werden. Eine vielversprechende Methode zur Charakterisierung der isolierten Proteinfractionen wurde mit Hilfe der SE-HPLC entwickelt. Nach der Bestimmung von Validierungsparametern, wie Präzision, LOD und LOQ können Unterschiede in der Qualität und Quantität der Proteinfractionen und mögliche genetische und klimatisch bedingte Einflüsse bestimmt werden.

MATERIAL UND METHODEN

Osborne - Fraktionierung



SDS - PAGE

- TGX Mini-Protean Bio-Rad 4 – 20 %
- Marker: Roti® - Mark Prestained
- Elektrophorese: 30 min bei 50 V, 1 Stunde bei 200 V
- Färbung: Coomassie Brilliant Blue G – 250

SE - HPLC

- Säule: Phenomenex 3 µm Yarra SEC-2000; 300 x 7,8 mm
- Eluenten: Gradient aus zwei 0,05 M Phosphatpuffern (pH = 6,94 & 6,60), die beide 0,1 % SDS enthalten, in 30 min
- Flussrate: 0,7 mL/min
- Injektionsvolumen: 50 µL

ERGEBNISSE

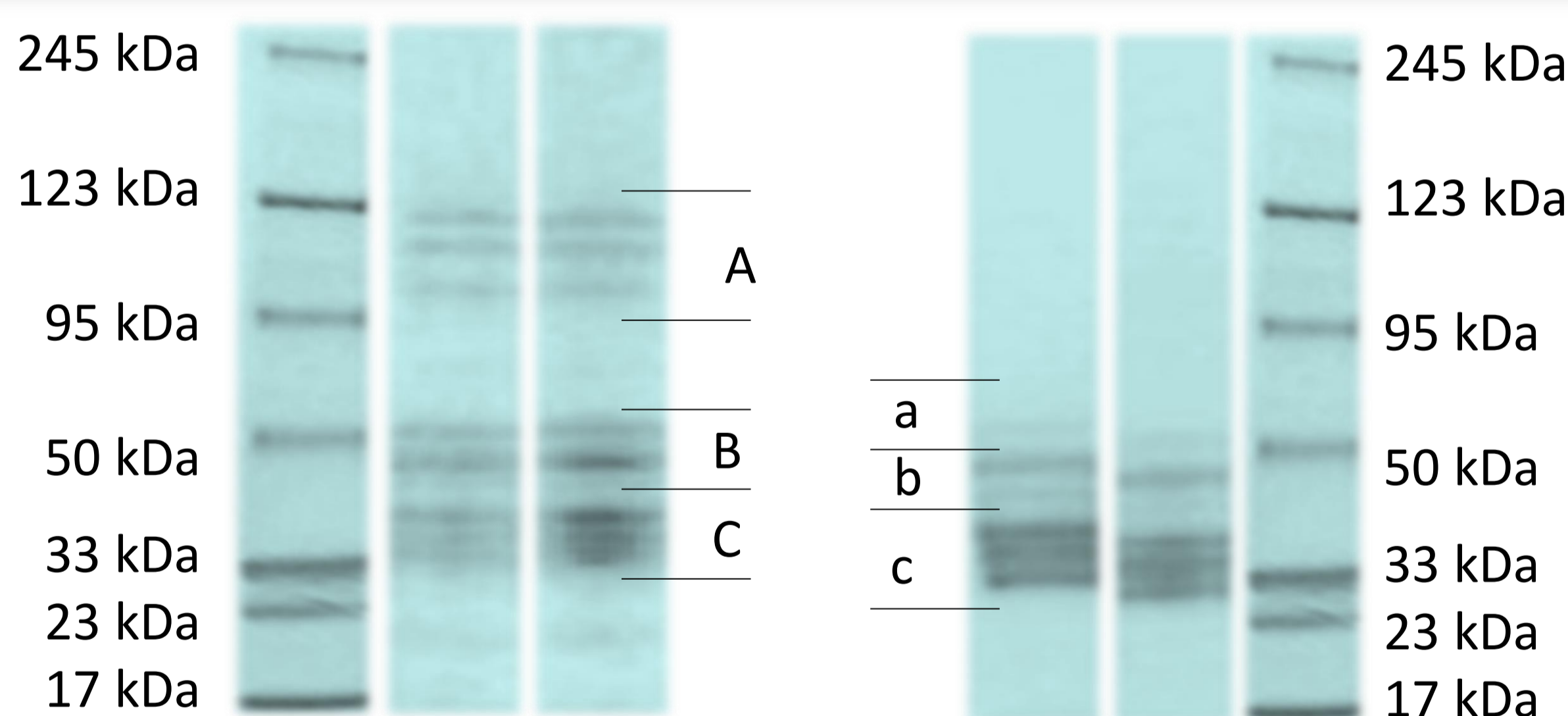


Abb. 1: SDS-PAGE der Prolamin- und Glutelinfraktion (Gliadine und Glutenine) von Winterweizenextrakten
A, High Molecular Weight (HMW) Glutenine, x - Typ;
B, HMW Glutenine, y - Typ;
C, Low Molecular Weight (LMW) Glutenine;
a, ω5 - Gliadine; b, ω1,2 - Gliadine; c, α-, β- and γ - Gliadine

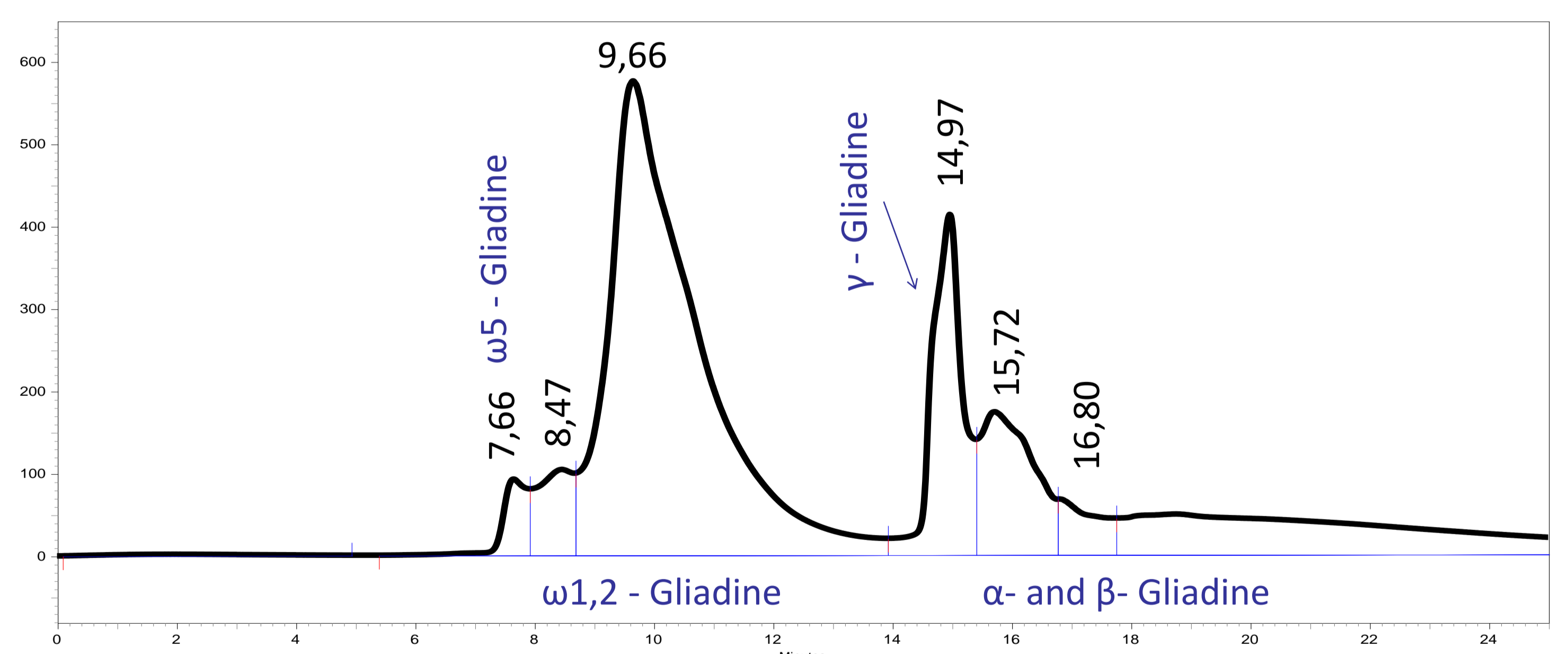


Abb. 2: SE-HPLC Chromatogramm von Winterweizenprolaminen (Gliadine), Größenbestimmung erfolgte durch Standardproteine

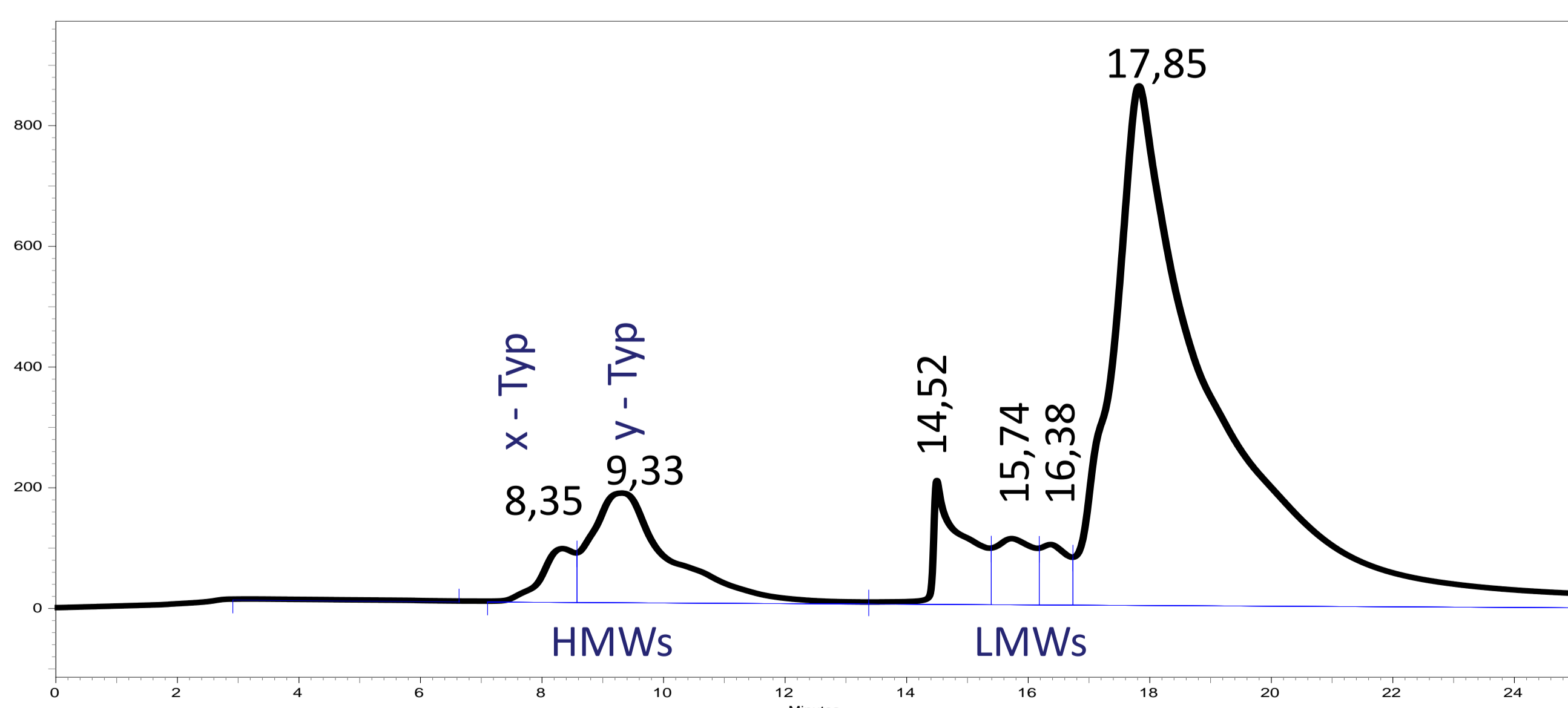


Abb. 3: SE-HPLC Chromatogramm von Winterweizenglutelinen (Glutenine), Größenbestimmung erfolgte durch Standardproteine

Tabelle 1: Validierungsparameter von Standardweizenglutelinen

	Präzision Fläche _{gepooled} (RSD%, n=20)	Tag zu Tag Präzision Fläche (RSD%, n=60)	LOD (S/N = 3; µg/mL)	LOQ (S/N = 10; µg/mL)
HMW Glutenine, x - Typ	4,07	13,9	92	308
HMW Glutenine, y - Typ	2,46	13,2	38	127
LMW Glutenine (Peak 1)	4,09	9,75	8	26
LMW Glutenine (Peak 2)	1,92	5,08	22	74
LMW Glutenine (Peak 3)	2,26	6,39	60	199
LMW Glutenine (Peak 4)	1,51	3,22	3	11

DANKSAGUNG

Die Förderung des Vorhabens erfolgt aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) aufgrund eines Beschlusses des deutschen Bundestages. Die Projekträgerchaft erfolgt über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung.