

Lebensmittelchemie

**Die Zusammensetzung der Oberflächenwachse von  
Tomaten, Paprika und Auberginen**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften  
im Fachbereich Chemie und Pharmazie  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von  
Stefan Bauer  
aus Heilbronn  
2002

Dekan:	Prof. Dr. J. Leker
Erster Gutachter:	Prof. Dr. H.-P. Thier
Zweiter Gutachter:	Prof. Dr. K. Eichner
Tag der mündlichen Prüfungen:	22.01., 03.02. und 05.02.2003
Tag der Promotion:	05.02.2003

---

## **Danksagung**

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. H.-P. Thier danke ich für sein Vertrauen, mich in seinen Arbeitskreis aufzunehmen. Seine ruhige, herzliche Art, seine wertvollen Ratschläge und die schnelle und sorgfältige Korrektur förderten die Arbeit maßgeblich.

Herrn Dr. E. Schulte danke ich für viele Typs und Ideen aus seiner langjährigen Erfahrung und aus seinem umfangreichen analytischen Wissen, die besonders in der Anfangszeit den Sprung ins kalte Wasser erträglich machten.

Den Gärtnern des Instituts für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie der Universität Münster, Frau B. Jansen, Herrn L. Fennenkötter, Herrn R. Laumann, Herrn A. Niermann, Herrn J. Weber und Herrn L. Krüger danke ich für ihre Bereitschaft, die Aufzucht der Tomaten, Paprika und Auberginen zu übernehmen.

Bei allen Mitarbeitern des Instituts für Lebensmittelchemie möchte ich mich für die freundliche und offene Art bedanken, die von Anfang an eine familiäre Atmosphäre erzeugte. Mein besonderer Dank gilt Herrn K.-H. Scheele für seine nie endende Geduld und Unterstützung bei der Instandhaltung des „Geräteparks“ und Herrn O. Frandrup-Kuhr, der mit unermüdlichem Einsatz im Kampf gegen Dr. Watson die rasche Niederschrift der Arbeit ermöglichte.

---

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Struktur der Pflanzenoberfläche	1
1.2	Industriell nutzbare Pflanzenwachse	2
1.3	Oberflächenwachse anderer Pflanzen	2
1.3.1	Kohlenwasserstoffe	3
1.3.2	Höhere Oxidationsstufen	3
1.3.3	Wachsester	4
1.3.4	Triterpenalkohole	4
1.4	Einfluß von Sorte und Reifegrad	5
1.5	Zur Analyse verwendete Methoden	5
1.6	Oberflächenwachs von Paprika, Tomaten und Auberginen	6
1.7	Zielsetzung	8
<b>2</b>	<b>Extraktion und Fraktionierung</b>	<b>10</b>
2.1	Extraktion	10
2.1.1	Tomaten	10
2.1.2	Paprika und Auberginen	11
2.2	Dünnschichtchromatographie (DC)	11
2.3	Fraktionierung durch Säulenchromatographie an Kieselgel	12
2.3.1	Tomaten	13
2.3.2	Paprika und Auberginen	13
2.4	Gaschromatographie (GC)	14
<b>3</b>	<b>Identifizierung der Komponenten in der Tomatenwachs-Fraktion 1 (Kohlenwasserstoffe und Aldehyde)</b>	<b>15</b>
3.1	n-Alkane	15
3.2	iso- und anteiso-Alkane	16
3.3	Alkene	17
3.3.1	Lokalisierung von Doppelbindungen	18
3.3.1.1	Derivatisierung mit Dimethyldisulfid (DMDS)	18
3.3.1.1.1	Fraktion 1	19
3.3.1.1.2	Versuche mit Fettsäuremethylestern	23
3.3.1.2	Spaltung durch Ozonolyse	26
3.4	Identifizierung weiterer auftretender Komponenten	29
3.5	Isolierung durch Silberionen-DC	32

---

<b>4</b>	<b>Identifizierung der Komponenten in der Tomatenwachs-Fraktion 2 (Fett- und Triterpenalkohole und Fettsäuren)</b>	<b>34</b>
4.1	Gesättigte Fettalkohole und Fettsäuren	34
4.2	Ungesättigte Fettalkohole	35
4.2.1	Derivatisierung mit Nicotinsäurechlorid	37
4.2.3	Derivatisierung mit DMDS	40
4.2.3	Isolierung durch Silberionen-HPLC und IR-Spektrometrie	42
4.3	Triterpenalkohole einschließlich Sterole	43
4.3.1	Peak 18 (Stigmasterol)	45
4.3.2	Peaks 21 und 24 ( $\beta$ - und $\alpha$ -Amyrin)	45
4.3.3	Peak 20 ( $\delta$ -Amyrin)	46
4.3.4	Peak 25 (Lupeol)	50
4.3.5	Peak 19 (Taraxerol)	51
4.3.6	Peak 27 (Multiflorenol)	53
4.3.7	Peaks 28 und 29 ( $\psi$ -Taraxasterol und Taraxasterol)	55
4.3.8	Peak 22 ( $\beta$ -Sitosterol und Germanicol)	58
4.3.9	Bauernol	60
4.3.10	Peak 26 (Cycloartenol)	62
4.3.11	Peak 23	64
<b>5</b>	<b>Identifizierung der Komponenten in der Tomatenwachs-Fraktion 3 (Naringenin-chalkon)</b>	<b>68</b>
5.1	GC/MS	68
5.2	GC/FID mit On-Column-Aufgabe	71
5.3	UV-Spektrometrie	72
5.4	Präparative HPLC und $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie	74
<b>6</b>	<b>Identifizierung der Komponenten in Paprika und Auberginen</b>	<b>76</b>
6.1	Paprikawachs-Fraktion 1 (Kohlenwasserstoffe und Aldehyde)	76
6.2	Paprikawachs-Fraktion 2 (Fett- und Triterpenalkohole und Fettsäuren)	76
6.2.1	Gesättigte Fettalkohole, Fettsäuren und 2-Hydroxyfettsäuren	76
6.2.2	Sterole, Triterpenalkohole und Triterpenketon	79
6.2.2.1	Peak 16 (Campesterol)	80
6.2.2.2	Peak 24 (Glutinol)	80
6.2.2.3	Peak 25 (Isomultiflorenol)	81
6.2.2.4	Peak 36 (Friedelin)	83

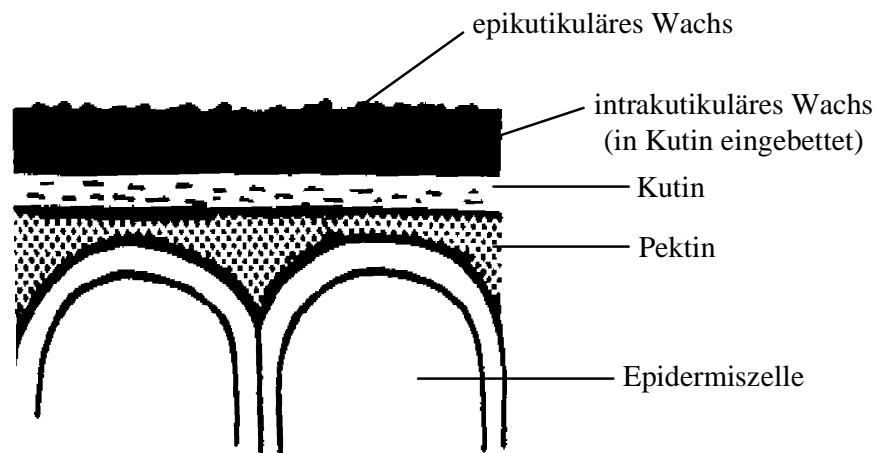
---

6.2.2.5	Peak 35 (3 $\beta$ -Friedelanol)	84
6.2.2.6	Peak 26 (Isobauerenol)	85
6.2.2.7	Peak 29	86
6.3	Auberginenwachs-Fraktion 1 (Kohlenwasserstoffe und Aldehyde)	87
6.4	Auberginenwachs-Fraktion 2 (Fett- und Triterpenalkohole und Fettsäuren)	87
<b>7</b>	<b>Quantitative Bestimmungen</b>	<b>88</b>
7.1	Extraktion	88
7.2	Gewichtsanteile der Fraktionen	89
7.3	Bestimmung der Komponenten durch GC-FID	89
7.4	Veränderungen der Wachsschicht von Tomaten während der Fruchtentwicklung	89
7.4.1	Gewichtsanteile der Fraktionen, bezogen auf die Wachsmenge	89
7.4.2	Gewichtsanteile der Fraktionen, bezogen auf die Oberfläche	91
7.4.3	Zusammensetzung der Fraktion 1	92
7.4.4	Zusammensetzung der Fraktion 2	93
7.5	Streubreite bei zahlreichen Tomatensorten	94
7.5.1	Fraktion 1	95
7.5.2	Fraktion 2	97
7.6	Zusammensetzung der Wachsschicht von Paprika	99
7.6.1	Fraktion 1	99
7.6.2	Fraktion 2	101
7.7	Zusammensetzung der Wachsschicht von Auberginen	103
7.7.1	Fraktion 1	103
7.7.2	Fraktion 2	105
<b>8</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>107</b>
<b>9</b>	<b>Arbeitsvorschriften</b>	<b>111</b>
<b>10</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>121</b>
<b>11</b>	<b>Anhang</b>	<b>128</b>

## 1 Einleitung

### 1.1 Struktur der Pflanzenoberfläche

Alle oberirdischen Teile der Pflanzen sind von einer wasserabweisenden Schicht aus Wachs umgeben, die das pflanzliche Abschlußgewebe überzieht. Dort liegt über der äußersten Schicht der Epidermiszellen zunächst eine Pektinschicht und darüber die Kutikula. Sie besteht aus Kutin, einem Biopolymeren aus miteinander veresterten Hydroxyfettsäuren, in das die sogenannten intrakutikulären Wachse eingebettet sind [1]. Darauf aufgelagert ist das epikutikuläre Wachs, entweder als amorpher Belag oder in vielfältigen kristallinen Strukturen [2] (Abb. 1).



**Abbildung 1:** Schematischer Aufbau des pflanzlichen Abschlußgewebes [3]

Das Oberflächenwachs ist wichtig für den Wasserhaushalt der Pflanze, denn es verzögert das Verdampfen des Wassers von der Oberfläche. Es ist gleichzeitig eine wirksame mechanische Barriere, die die Epidermiszellen gegen Schäden von außen schützt und das Eindringen von Mikroorganismen verhindert [1]. Die hydrophobe Oberfläche sorgt nicht zuletzt dafür, dass Staub und Schmutz nicht haften bleiben, sondern leicht durch Regen abgespült werden.

Im chemischen Sinne bezeichnet der Begriff „Wachs“ (engl. „wax“) die Ester aus Fettsäuren und Fettalkoholen. Das Wort geht zurück auf das angelsächsische „weax“ für Bienenwachs, das Material der Honigwaben von Bienen, das überwiegend aus solchen Estern besteht. Als dann pflanzliche Überzüge industriell genutzt wurden, die ähnliche physikalische und mechanische Eigenschaften hatten, wurden sie ebenfalls als „Wachs“ bezeichnet [4], z.B. Carnaubawachs und Candelillawachs. Tatsächlich kommen darin außer Wachsestern zahlreiche weitere Stoffgruppen vor.

## 1.2 Industriell nutzbare Pflanzenwachse

Wie unterschiedlich die Oberflächenwachse von Pflanzen aufgebaut sein können, wird deutlich an der Zusammensetzung einiger Vertreter, die in industriellem Maßstab im Lebensmittelbereich oder für technische Zwecke genutzt werden und deshalb schon eingehend untersucht worden sind. So sind Carnaubawachs (E 903) und Candelillawachs (E 902) europaweit zugelassen als Überzugsmittel, z.B. für Süßwaren, Knabbererzeugnisse, Nüsse oder Kaffeebohnen, zur Oberflächenbehandlung von frischen Zitrusfrüchten, Melonen, Äpfeln und Birnen und als Bestandteile der Kaumasse von Kaugummi.

Carnaubawachs wird von den Blättern der Palmen *Copernicia cerifera* oder *C. prunifera* ausgeschieden, die überwiegend in Brasilien beheimatet sind. Es enthält etwa 1 % Alkane von  $C_{20}$  bis  $C_{35}$ , 3,5 % Fettsäuren von  $C_{24}$  bis  $C_{28}$  und 10 – 15 % Fettalkohole von  $C_{28}$  bis  $C_{34}$ . Hauptbestandteile mit 80 – 85 % sind jedoch die Ester dieser Säuren und Alkohole von  $C_{46}$  bis  $C_{64}$ , Ester aus  $\omega$ -Hydroxyfettsäuren mit Fettalkoholen, z.B. Hexacosanyl- $\omega$ -Hydroxyhexacosanoat, und Diester dieser  $\omega$ -Hydroxyfettsäurester und p-Methoxy-zimtsäure [5,6].

Candelillawachs ist das Wachs von Blättern von *Euphorbia antisiphilitica*, *E. cerifera* und *Pedilanthus pavonis*, die vor allem in Mexiko vorkommen. 40 % bestehen aus Kohlenwasserstoffen, davon sind vier Fünftel Hentriacontan ( $n-C_{31}$ ). Fettalkohole und Fettsäuren von  $C_{23}$  bis  $C_{34}$  sind mit jeweils etwa 5 – 8 % vertreten, Ester von  $C_{42}$  bis  $C_{56}$ , deren Alkoholkomponenten sowohl Fettalkohole als auch  $\beta$ -Sitosterol sind, mit etwa 30 %. Das  $\delta$ -Lacton der Dihydroxyhentriacontansäure soll etwa 6 % ausmachen [5].

## 1.3 Oberflächenwachse anderer Pflanzen

Auch die Oberflächenwachse anderer Pflanzen oder Pflanzenteile sind schon häufig untersucht worden, wenn auch nur punktuell bei einzelnen Arten und Familien. Zahlreiche Arbeiten dazu stammen aus dem Bereich der Botanik oder der Biochemie der Pflanzen. Da die Analysenmethoden früher nicht ausreichend entwickelt waren, gelang es in vielen älteren Arbeiten nur, verschiedene Stoffklassen zu isolieren und zu charakterisieren, aber noch nicht, sie näher in ihre einzelnen Komponenten aufzutrennen.

Für die Lebensmittelchemie sind die Oberflächenwachse solcher Pflanzenteile von besonderem Interesse, die als Obst oder Gemüse verzehrt werden. Die äußere Wachsschicht macht dabei zwar nur einen verhältnismäßig geringen Anteil aus, ist aber integraler Bestandteil der Nahrung und sollte deshalb im einzelnen besser bekannt sein, als dies derzeit noch der Fall ist.

Wenn man die verschiedenen Stoffklassen betrachtet, die bisher in Oberflächenwachsen gefunden worden sind, so kann man unterscheiden zwischen aliphatischen Stoffen in unter-



schiedlichen Oxidationsstufen und zwischen Stoffen, die sich von Triterpenolen oder Phytosterolen ableiten.

### 1.3.1 Kohlenwasserstoffe

Kohlenwasserstoffe kommen in fast allen Wachsen vor [7]. Dominierend sind meist ungeradzahlige n-Alkane. Sie bilden eine homologe Reihe von etwa C<sub>21</sub> bis C<sub>37</sub> mit dem Schwerpunkt bei n-Nonacosan (n-C<sub>29</sub>) und n-Hentriacontan (n-C<sub>31</sub>), gelegentlich auch bei n-Heptacosan (n-C<sub>27</sub>) und n-Tritriacontan (n-C<sub>33</sub>) [8]. Die ungerade Kohlenstoffzahl deutet auf die Bildung durch Decarboxylierung geradzahliger Fettsäuren hin [7].

Verzweigte Alkane sind ebenso verbreitet, bilden aber nur selten den Hauptanteil wie z.B. bei Tabakblättern [9]. Im allgemeinen sind es iso-Alkane (2-Methyl-alkane) mit ungerader und anteiso-Alkane (3-Methyl-alkane) mit gerader Kohlenstoffzahl [10]. Seltener sind Methylverzweigungen im mittleren Bereich der Kette wie 9-, 11-, 13- und 15-Methyltriacontan in Walnußblättern [11]. Als Minorbestandteile kommen auch Alkene [12, 13, 14] mit isolierten oder konjugierten Doppelbindungen vor, deren Konformation meist noch nicht geklärt ist.

### 1.3.2 Höhere Oxidationsstufen

Hierzu gehören primäre Fettalkohole und Fettaldehyde mit gerader Kohlenstoffzahl, deren Schwerpunkt meist bei C<sub>26</sub> und C<sub>28</sub> liegt [15]. Der Aldehydanteil kann sehr unterschiedlich sein und vom Minobestandteil [15] bis zur Hauptkomponente reichen, z.B. Octacosanal im Wachs aus Zuckerrohr [10]. Verzweigte Vertreter wie iso- und anteiso-Alkan-1-ole [16, 17] oder anteiso-Aldehyde [18] sowie sekundäre Alkohole [8, 19] kommen gelegentlich ebenfalls in Spuren vor.

Das Spektrum der freien Fettsäuren (geradzahlig und gesättigt) kann von C<sub>12</sub> bis C<sub>36</sub> reichen, doch findet man meist Kohlenstoffzahlen von C<sub>24</sub> bis C<sub>30</sub> [15]. Ihr Anteil ist in der Regel gering. In einigen Wachsen wie in Weizenblättern sind auch verzweigte [16] und ungesättigte Fettsäuren [20] gefunden worden.

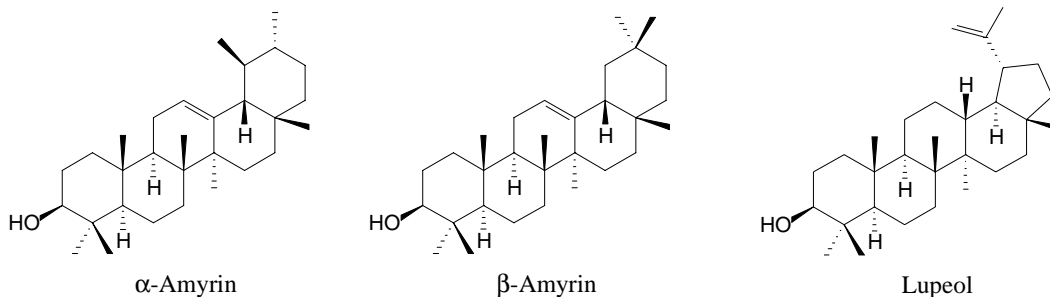
Außerdem kommen Stoffe vor, die auf Oxidation im Inneren der Kohlenstoffkette von C<sub>29</sub> bis C<sub>33</sub> zurückgehen. Dazu gehören z.B.  $\beta$ -Diketone wie Hentriacontan-10,12-dion in Rhododendronblättern [21] oder Hydroxy- $\beta$ -diketone wie 25-Hydroxyhentriacontan-14,16-dion in Roggenblättern [22]. In einigen Pflanzen wurden auch  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Ketole gefunden, z.B. 13-Hydroxyhentriacontan-16-on in *Neolitsea sericea* [23].

### 1.3.3 Wachsester

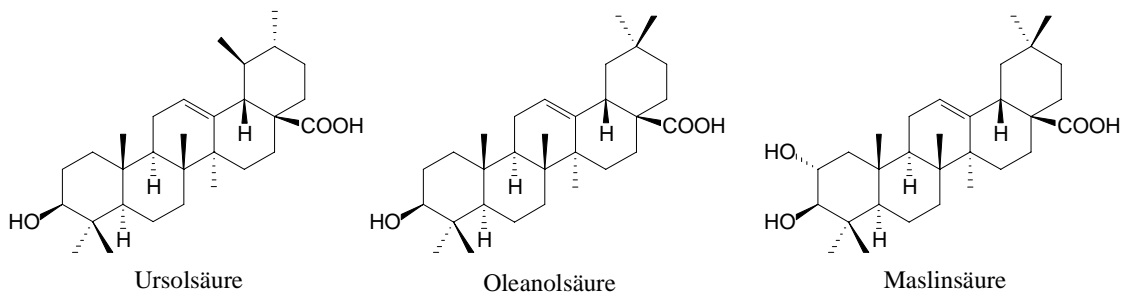
Die „Wachsester“ im engeren chemischen Sinn sind die Ester von Fettsäuren und primären Alkoholen, die beide langkettig und geradzahlig sind. Sie sind weit verbreitet und haben Kettenlängen von  $C_{32}$  bis  $C_{72}$  [10]. In Einzelfällen kommen auch die Ester von ungesättigten Fettsäuren, z.B. *trans*-2-Docosensäure in Weizenblättern [20] vor, außerdem Ester von sekundären Alkoholen, z.B. 2-Heptadecanol in Früchten von Mohn [24] oder von verzweigten Fettsäuren und Fettalkoholen wie in Blättern von Steckrübe und Grünkohl [25].

### 1.3.4 Triterpenalkohole

Sie sind in Oberflächenwachsen weit verbreitet und leiten sich von unterschiedlichen pentacyclischen Ringsystemen ab. Häufige Vertreter sind  $\alpha$ -Amyrin (Urs-12-en-3 $\beta$ -ol),  $\beta$ -Amyrin (Olean-12-en-3 $\beta$ -ol) und Lupeol (Lup-20(29)-en-3 $\beta$ -ol).



Sie kommen meist in freier Form vor, können aber auch mit kurz- und langkettigen Fettsäuren verestert sein, z.B.  $\beta$ -Amyrinacetat in Lindenblättern [26] oder Ester von  $\beta$ -Amyrin oder Lupeol mit Fettsäuren von  $C_{16}$  bis  $C_{30}$  in *Euphorbia dendroides* [27]. Manche Wachse enthalten auch Oxidationsprodukte, bei denen eine seitliche Methylgruppe zur Säure oxidiert ist. Typische Beispiele sind die Ursolsäure (3 $\beta$ -Hydroxy-12-ursen-28-carbonsäure) mit hohem Anteil in Apfelwachs [28] oder die Oleanolsäure (3 $\beta$ -Hydroxy-12-oleanen-28-carbonsäure) als Hauptbestandteil des Wachses der Weintrauben [29]. Oleanolsäure und Maslinsäure (2 $\alpha$ -Hydroxy-Oleanolsäure) sind auch Hauptbestandteile in Oliven [30].



#### 1.4 Einfluß von Sorte und Reifegrad

Die Zusammensetzung und Menge des Oberflächenwachses variiert nicht nur bei verschiedenen Pflanzenarten, sondern auch bei der gleichen Sorte in den einzelnen Teilen der Pflanze [7, 31]. Im Oberflächenwachs von Walnußblättern enthielt z.B. die Aldehydfraktion 24 % Tetraacosanal und 8 % aus Octacosanal, bei den unreifen, grünen Früchten dagegen 10 % bzw. 30 % [32]. Ebenso unterschieden sich die verschiedenen Entwicklungsstufen des gleichen Organs qualitativ und quantitativ [33, 34, 35]. So waren z.B. die Anteile an Hentriacontan ( $n\text{-C}_{31}$ ) und iso-Hentriacontan ( $\text{iso-C}_{31}$ ) in älteren Tabakblättern höher als in jüngeren, die an Tritriacontan ( $n\text{-C}_{33}$ ) geringer [36]. Im Wachs von unreifen *Citrus*-Früchten dominierten sekundäre Alkohole, die im Verlauf der Reife von primären Alkoholen und Alkanen verdrängt wurden [37]. Auch die Temperatur, Lichtintensität und Luftfeuchte haben Auswirkungen auf die Wachs-schicht [36, 38, 39, 40]: In Rosenkohlblättern gingen die Gehalte an Nonacosan, Nonacosanal und Nonacosanol bei um 20 °C höherer Temperatur um 40 % zurück. Höhere Lichtintensität oder geringere Luftfeuchte stimulierte dagegen die Bildung von Ketonen [41]. Das Wachs von Efeublättern enthielt bei 18 °C etwa 40 % Aldehyde, die bei 28 °C verschwunden waren [42].

#### 1.5 Zur Analyse verwendete Methoden

Manche Arbeiten unterscheiden zwischen epikutikulärem Wachs, das durch kurze Extraktion (10 s bis mehrere Minuten) der Oberfläche erhalten wird, und intrakutikulärem Wachs, das mehrere Stunden lang z.B. mit Chloroform und Methanol unter Rückfluß extrahiert wird [43]. Zwischen beiden zu trennen, erscheint jedoch in der Praxis nicht sinnvoll, denn sicherlich werden schon bei kurzer Extraktion auch Anteile des intrakutikulären Wachses mit erfaßt.

Im einzelnen sind sehr unterschiedliche Arbeitsweisen verwendet worden. Meist wurde mit einem unpolaren Lösungsmittel wie Chloroform [27], Hexan [44], Petrol- [45, 46] oder Diethylether [47] bei Raumtemperatur extrahiert; die Pflanzenteile wurden abgespült [48] oder ein oder mehrmals kurz [26] bis 10 min [49] darin eingetaucht. Die Lösung wurde filtriert, eingedampft und der Rückstand gewogen.

In früheren Arbeiten konnte das gewonnene Wachs nur durch Dünnschichtchromatographie (DC) und Säulenchromatographie (SC) weiter aufgetrennt werden, z.B. in Kohlenwasserstoffe, Sterolester, Wachsester, Aldehyde,  $\beta$ -Diketone, Triglyceride, Fettsäuren, Fettalkohole, Triterpenole und Sterole [50]. Durch DC wurden diese Fraktionen z.T. auch schon weiter aufgetrennt: Ungesättigte Komponenten wurden durch Silberionen-DC isoliert [15], diastereomere vivinale Diole an mit Borsäure imprägniertem Kieselgel [15], verzweigte und unverzweigte Alkane an mit Harnstoff imprägniertem Kieselgel [10, 15]. Bei der Säulenchro-

matographie an Kieselgel oder Aluminiumoxid wurden z.B. die Kohlenwasserstoffe aus dem Wachs von zahlreichen *Euphorbia*-Arten mit Pentan eluiert, danach die Ester und Aldehyde mit 2-Chlorpropan und Alkohole und Fettsäuren mit Methanol [26]. Die DC-Banden und SC-Fractionen wurden weiter charakterisiert z.B. durch die Farbreaktion nach Liebermann-Burchard für Triterpene und Sterole oder das UV-Spektrum von  $\beta$ -Diketonen durch ihr Absorptionsmaximum bei 273 nm [15]. Die IR-Spektrometrie wurde auch schon zur Unterscheidung von cis- und trans-Doppelbindungen eingesetzt [10].

Später kamen die Gaschromatographie (GC) und die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) hinzu, die bessere Trennungen möglich machten. Da die meisten Wachs-komponenten jedoch keine chromophoren Gruppen für die UV-Detektion enthalten, ist die HPLC nur selten verwendet worden, z.B. zur Trennung von Triterpenen und Sterolen an einer RP-18-Phase mit Detektion bei 210 nm [51].

Die GC ist dagegen die Methode der Wahl, um Wachsfraktionen weiter zu trennen, z.B. durch präparative GC an gepackten Säulen. Seit der Entwicklung der Kapillargaschromatographie ließen sich sogar komplexe Stoffgemische, Homologe und Positionsisomere voneinander trennen. Die Verbindung mit der Massenspektrometrie ergibt gleichzeitig Informationen über die Strukturen, die molare Masse und insbesondere die Position funktioneller Gruppen.

### 1.6 Oberflächenwachs von Tomaten, Paprika und Auberginen

In einer frühen Arbeit (1970) ist das Wachs von **Tomaten** mit Chloroform extrahiert und durch DC an Kieselgel aufgetrennt worden [52]. Wenn die Verteilung der Komponenten visuell abgeschätzt wurde, enthielt es hauptsächlich Alkane, primäre und sekundäre Alkohole, geringe Anteile an Estern, Aldehyden und Fettsäuren, aber keine Triterpenoide. Als Wachsdichte wurden  $10 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  angegeben; in zwei anderen Arbeiten (1974, 1998), die isolierte Tomatenschalen lediglich 24 Stunden mit Chloroform extrahierten, dagegen 11 bzw.  $40 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  [53, 54].

Isolierte **Tomatenschalen** sind schon 1967 mit Petrolether extrahiert worden [55]. Der Extrakt wurde verseift und der unverseifbare Rückstand an einer Kieselgelsäule in vier Fraktionen aufgetrennt, die zur GC an einer gepackten Dexsil-Säule (2 m lang, 3 mm i. D.) eingespritzt wurden. Das Petrolether-Eluat ergab hauptsächlich n-Alkane von  $\text{C}_{29}$  bis  $\text{C}_{34}$ , davon 60 % n- $\text{C}_{31}$ , 17 % n- $\text{C}_{32}$ , je 8 % n- $\text{C}_{29}$  und n- $\text{C}_{33}$  und 1 % n- $\text{C}_{34}$  sowie geringe Anteile verzweigter Alkane. Die Fraktion mit Petrolether/Diethylether (9 + 1) ergab die Triterpenole  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin, die über die IR-Spektren identifiziert wurden. Petrolether/Diethylether (8 + 2) eluierte einen höheren einwertigen Alkohol, vermutlich Cerylalkohol ( $\text{C}_{26}$ ), der in der Schale als

Ester vorgelegen hatte, und Petrolether/Diethylether (7 + 3) die Sterole Stigmasterol,  $\beta$ -Sitosterol und vermutlich Campesterol. Bei allen Substanzen blieb aber unklar, ob sie tatsächlich aus dem Wachs oder aus weiteren Bestandteilen der Schale stammten.

In einer weiteren Arbeit [56] aus dem Jahr 1974 wurde das epi- und intrakutikuläre Wachs von **Tomaten** untersucht und durch DC an Kieselgel getrennt. Das durch kurzes Extrahieren mit Benzol gewonnene epikutikuläre Wachs ( $15 - 22 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) bestand aus 81 – 87 % Alkanen, 9 – 15 % Triterpenolen und 3 – 5 % Fettsäuren. Durch GC an gepackten Säulen (3 % OV-1, 4 % SE-30 und 3 % EGSS-X) wurden die DC-Fraktionen weiter aufgetrennt. Die Alkane im epikutikulären Wachs waren unverzweigt ( $\text{C}_{25}$  bis  $\text{C}_{33}$ ) oder verzweigt ( $\text{C}_{27}$  bis  $\text{C}_{33}$ ). Weil die iso- und anteiso-Alkane gleicher Kohlenstoffzahl nicht getrennt wurden, wurden die verzweigten bei ungerader Kohlenstoffzahl der iso-Reihe, bei gerader der anteiso-Reihe zugeordnet. Die Hauptkomponente war n- $\text{C}_{31}$  (51 – 52 %), gefolgt von n- $\text{C}_{29}$  (24 – 28 %), n- $\text{C}_{33}$  (5 – 9 %) und n- $\text{C}_{32}$  (5 – 8 %). Noch sehr kleine grüne Tomaten (10 – 15 mm Durchmesser) enthielten dagegen viel verzweigte Alkane (45 – 49 %), die im Verlauf der Reife jedoch bis auf 3 % zurückgingen. Die Triterpenolfraktion (9 – 15 %, je nach Reife) bestand aus  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin (Verhältnis 1:1) und zu 10 % aus nicht näher charakterisierten Substanzen, vermutlich weitere Triterpenole. Von den Fettsäuren wurden  $\text{C}_{16}$  bis  $\text{C}_{32}$  nachgewiesen.

Ähnliche Ergebnisse wurden 1982 in einer weiteren Arbeit [57] gefunden. Das durch eine kurze Chloroformextraktion erhaltene epikutikuläre Wachs wurde auch hier durch DC an Kieselgel und GC/MS an einer gepackten Dexsil-Säule getrennt. Danach bestand es aus 29 % Kohlenwasserstoffen, 21 %  $\beta$ - und 6 % aus  $\alpha$ -Amyrin und wenig Fettsäuren. Zusätzlich zu den Befunden von 1974 wurden Naringenin (32 %) und Naringenin-chalkon (11 %) gefunden. Die Kohlenwasserstoffe bestanden aus den n-Alkanen von  $\text{C}_{27}$  bis  $\text{C}_{33}$  und den verzweigten Alkanen iso- $\text{C}_{31}$ , anteiso- $\text{C}_{30}$  und anteiso- $\text{C}_{32}$  (insgesamt 4 %). Auch hier waren die Hauptkomponenten n- $\text{C}_{31}$  (53 %) und n- $\text{C}_{29}$  (19 %). Um das intrakutikuläre Wachs zu erhalten, wurden Schalen 24 h mit Pektinase behandelt und jeweils 2 h mit Methanol, Methanol/Chloroform (1 + 1) und Chloroform extrahiert. Dieses Wachs enthielt bis zur Hälfte an Fettsäuren, insbesondere  $\text{C}_{16}$  und  $\text{C}_{18}$ , sowie die gleichen Alkane,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin und Spuren an Naringenin.

Davon abweichende Befunde ergab eine Arbeit von 1997 [58], in der nach Extraktion von **Tomaten** mit Petrolether nur die Kohlenwasserstoffe untersucht wurden. Darin wurden die Isoprenoide Pristan und Phytan gefunden. Außerdem war Pentacosan (n- $\text{C}_{25}$ ) mit 17 % die Hauptkomponente, gefolgt von je 11 – 12 % n- $\text{C}_{29}$  und n- $\text{C}_{28}$ .

Eher als Nebenbefund wird in einer Arbeit (2001) [59] erwähnt, dass im Tomatenwachs nach kurzer Chloroformextraktion die Alkene Hexacosen ( $n\text{-C}_{26}\text{-en}$ ) und Trtriacontadien ( $n\text{-C}_{33}\text{-dien}$ ) gefunden wurden, allerdings ohne Angaben zur Position und Konformation der Doppelbindungen.

In der Arbeit von 1974 [56] sind auf die gleiche Weise auch Paprika und Auberginen untersucht worden. Das epikutikuläre Wachs von **Paprika** enthielt 43 % Kohlenwasserstoffe von  $\text{C}_{25}$  bis  $\text{C}_{33}$ , 42 %  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin (Verhältnis 7:3) und 15 % Fettsäuren von  $\text{C}_{16}$  bis  $\text{C}_{32}$ . Die Hauptkomponenten der Kohlenwasserstoffe waren wie bei Tomaten  $n\text{-C}_{31}$  (45 %) und  $n\text{-C}_{29}$  (22 %), aber zusätzlich 13 %  $n\text{-C}_{27}$ . 9,6 % der Alkane waren verzweigt, darunter waren  $\text{iso-C}_{27}$  (1,9 %),  $\text{iso-C}_{29}$  (2,8 %),  $\text{iso-C}_{31}$  (2,8 %) und  $\text{iso-C}_{33}$  (1,6 %), sowie insgesamt 0,5 %  $\text{anteiso-C}_{28}$ ,  $\text{anteiso-C}_{30}$  und  $\text{anteiso-C}_{32}$ . Bei den Fettsäuren dominierten  $n\text{-C}_{16}$  (31 %) und  $n\text{-C}_{18}$  (44 %).

Auch das epikutikuläre Wachs von **Auberginen** [56] bestand etwa zur Hälfte aus Kohlenwasserstoffen (52 %). Es enthielt jedoch keine Triterpenole; stattdessen zur anderen Hälfte aus Fettsäuren von  $\text{C}_{16}$  bis  $\text{C}_{32}$  (48 %). Innerhalb der Alkane ( $n\text{-C}_{25}$  bis  $n\text{-C}_{35}$ ) war wiederum  $n\text{-C}_{31}$  (33 %) die Hauptkomponente, hier jedoch gefolgt von  $n\text{-C}_{33}$  (16 %). Außerdem war der Anteil verzweigter Alkane sehr hoch (20 %), und die  $\text{anteiso-Alkane}$  (11 %,  $\text{anteiso-C}_{28}$ ,  $\text{anteiso-C}_{30}$ ,  $\text{anteiso-C}_{32}$  und  $\text{anteiso-C}_{34}$ ) dominierten sogar über die  $\text{iso-Alkane}$  (9 %,  $\text{iso-C}_{27}$ ,  $\text{iso-C}_{29}$ ,  $\text{iso-C}_{31}$ ,  $\text{iso-C}_{33}$  und  $\text{iso-C}_{35}$ ); am stärksten war  $\text{anteiso-C}_{32}$  mit 8 % vertreten.

## 1.7 Zielsetzung

Tomaten (*Lycopersicon esculentum*) liegen unangefochten an der Spitze des Gemüseverbrauchs. Allein die europäische Produktion beläuft sich auf über 15 Millionen Tonnen pro Jahr, weltweit sollen es sogar fast 90 Millionen Tonnen sein. Der Pro-Kopf-Verbrauch in Deutschland betrug 1998 etwa 17 kg und machte damit fast 20 % des Gemüseverbrauchs aus [60]. Obwohl meist die Schale mit den Oberflächenwachsen mitverzehrt wird, ist erst wenig über die genaue Zusammensetzung dieser Wachse bekannt. Zwei ausführliche Arbeiten liegen Jahre zurück. Insbesondere jüngere Ergebnisse ließen erwarten, dass moderne analytische Methoden wie die Kapillar-Gaschromatographie mit ihrer hohen Trennleistung und die Kombination mit der Massenspektrometrie, bisher noch nicht beschriebene Komponenten im Oberflächenwachs identifizieren können, selbst wenn sie nur in geringen Anteilen darin vorkommen. In weiteren Analysen sollte die Analytik auch auf die Oberflächenwachse von Paprika (*Capsicum annum*) und Auberginen (*Solanum melongena*) als weitere Lebensmittel aus der Familie der Nachtschattengewächse ausgedehnt werden, für die bisher erst wenige Untersuchungen vorliegen.

Die Wachse sollten zunächst wie üblich mit einem Lösungsmittel von der Oberfläche der Früchte extrahiert werden. Es sollte je nach der Wachs zusammensetzung so polar sein, dass es zwar alle Wachsbestandteile löst, aber möglichst wenig weitere Substanzen. Weil die einzelnen Komponenten zu unterschiedlichen chemischen Gruppen gehören, war es sinnvoll, das Wachs als erstes durch SC, z.B. an Kieselgel, in mehrere Fraktionen aufzutrennen, die jeweils ähnliche Substanzklassen enthalten. Da eine solche Fraktionierung für die Wachse von Tomaten, Paprika und Auberginen bisher noch nicht beschrieben ist, mußten dafür zunächst geeignete Bedingungen entwickelt werden.

Jede Fraktion sollte dann in geeigneter Weise derivatisiert und durch GC/MS aufgetrennt werden. Jede Komponente sollte dann über ihr Massenspektrum und das Fragmentierungsmuster identifiziert werden. Schwierigkeiten waren hier vor allem dadurch zu erwarten, daß viele Einzelstoffe nicht als Vergleichssubstanzen erhältlich sind und veröffentlichte Massenspektren oft unter anderen Bedingungen aufgenommen wurden und sich deshalb nicht zum Vergleich eignen. In solchen Fällen sollten die Peaks in geeigneter Weise derivatisiert werden, um Aufschluß über den Strukturtyp zu erhalten. Wenn auch dies nicht zum Erfolg führte, sollte die vermutete Struktur auch durch GC/MS-Vergleich mit Inhaltsstoffen aus geeigneten Pflanzenextrakten bestätigt werden. Wenn erforderlich, sollten die Identifizierungen auch durch andere Techniken wie die IR-Spektrometrie oder NMR-Spektroskopie unterstützt werden. In allen Fällen sollten auch die quantitativen Anteile ermittelt werden, die die identifizierten Komponenten im Wachs ausmachen, z.B. durch GC mit dem FID. Da eine größere Streubreite dieser Werte je nach der Sorte zu erwarten war, sollten diese Untersuchungen auf mehrere Sorten ausgedehnt werden, um einen Überblick über die durchschnittliche Zusammensetzung und Schwankungsbreite zu bekommen. Schließlich sollten auch kurz unterschiedliche Reifegrade der Tomaten untersucht werden.

## 2 Extraktion und Fraktionierung

### 2.1 Extraktion

Um das Oberflächenwachs von Früchten und Blättern zu gewinnen, sind in früheren Arbeiten hauptsächlich unpolare Lösungsmittel wie Hexan [44], Diethylether [47] oder Chloroform [27] oder Mischungen daraus verwendet worden. Die Blätter oder Früchte wurden entweder damit abgespült [48] oder einmal oder mehrmals 10 Sekunden [50] bis 10 Minuten [49] darin eingetaucht. Um in den eigenen Arbeiten das Wachs möglichst quantitativ zu gewinnen, wurden die Früchte eingetaucht, damit die gesamte Oberfläche mit dem Lösungsmittel in Kontakt kam.

#### 2.1.1 Tomaten

Chloroform war wegen seiner hohen Dichte ungünstig, weil die Tomaten darin aufschwammen. Ein guter Ersatz war tert. Butylmethylether (TBME), der außerdem weniger toxisch ist und kaum zur Bildung von Peroxiden neigt. Da Tomatenwachs höhere Anteile an dem polaren Flavanon Naringenin und seinem Chalkon enthält [57], die in TBME schwer löslich sind, wurde dessen Polarität durch Zugabe von 10 Vol% Methanol erhöht. TBME/Methanol (9 + 1) löste über 50 mg/ml Tetracosan ( $C_{24}$ -Alkan) und war daher ausreichend, um auch unpolare Komponenten zu extrahieren.

Je nach der Größe wurden eine oder mehrere Tomaten in einem Becherglas mit dem Extraktionsgemisch bedeckt, 5 min im Ultraschallbad stehen gelassen, herausgenommen und kurz in etwa 200 ml Extraktionsgemisch in einem zweiten Becherglas getaucht. Die Lösung wurde filtriert, das Filtrat eingedampft und der Rückstand gewogen.

Um die Wirksamkeit dieses Gemisches mit dem häufig verwendeten Chloroform zu vergleichen, wurde eine Hälfte von 5 kg Tomaten mit TBME/Methanol (9 + 1), die andere mit Chloroform extrahiert. Dabei war die Ausbeute mit Chloroform niedriger, weil dieses kein Naringenin-chalkon extrahierte. Das Peakmuster der weiteren Substanzen war sehr ähnlich (Anhang Tab. A). Zwar ergab der Chloroformextrakt prozentual mehr Hentriacontan ( $n-C_{31}$ ) und Tritriacontan ( $n-C_{33}$ ) in Fraktion 1; dafür ergab das Extraktionsgemisch etwas mehr Nonacosan ( $n-C_{29}$ ). In Fraktion 2 führte Chloroform zu etwas mehr Amyrinen, das Extraktionsgemisch dagegen zu etwas mehr Alkoholen. Diese Unterschiede waren aber nur geringfügig. Insgesamt extrahierte TBME/Methanol (9 + 1) alle Stoffe, die auch mit Chloroform extrahiert wurden, und war deshalb für Tomaten geeignet.



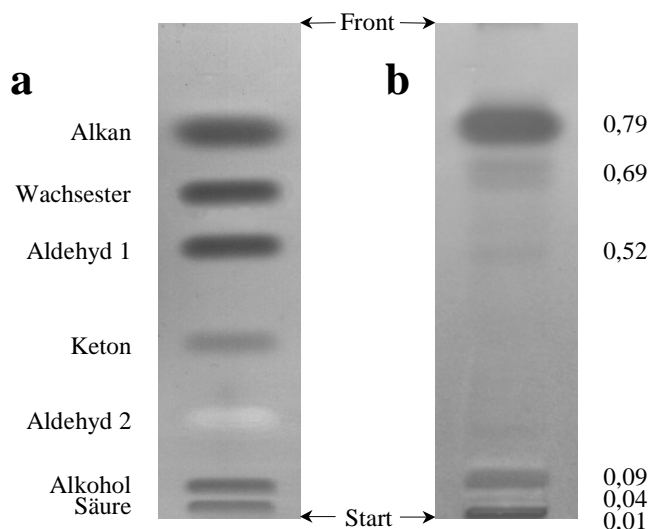
### 2.1.2 Paprika und Auberginen

In orientierenden Versuchen wurden Paprika und Auberginen ebenfalls zunächst mit TBME/Methanol (9 + 1) extrahiert. Wie die GC/MS zeigte, war hier jedoch nur ein geringer Anteil phenolischer Bestandteile enthalten und deshalb kein Zusatz von Methanol erforderlich. Anders als TBME/Methanol (9 + 1) extrahierte TBME auch keine Kohlenhydrate.

### 2.2 Dünnschichtchromatographie (DC)

Die Bestandteile von Oberflächenwachs sind früher schon häufig durch Dünnschichtchromatographie (DC) in mehrere Substanzklassen getrennt worden [50]. Um einen ersten Überblick zu erhalten, wurde der Extrakt aus Tomaten durch HPTLC an Kieselgel mit Chloroform/Hexan (1 + 1) aufgetrennt. Als Vergleich diente eine Lösung aus Tetracosan, Behenylbehenat, Docosanal, 2-Hexadecanon, Docosanol und Behensäure in Chloroform.

Wie Abb. 2a zeigt, wurden die Bestandteile der Vergleichslösung nach abnehmender Polarität getrennt. Eine Ausnahme bildete nur der Aldehyd Docosanal, der zwei Banden ergab. Die Lage der ersten Bande (Aldehyd 1) zwischen Wachsester und Keton erschien zunächst ungewöhnlich. Wie Versuche mit Tetradecanal und Untersuchung durch HPLC/MS<sup>1)</sup> ergaben, stammte sie vom trimerisierten Aldehyd.



**Abbildung 2:** HPTLC-Chromatogramme an Kieselgel 60 mit Chloroform/Hexan (1 + 1); Detektion mit Säureviolett 17

**a** Mischung aus Tetracosan, Behenylbehenat, Docosanal, 2-Hexadecanon, Docosanol und Behensäure; **b** Extraktionsrückstand der Tomatensorte „RZ 72-00“

Abb. 2b aus Tomatenwachs der Sorte „RZ 72-00“ zeigte nur drei starke Banden. Bei Rf 0,79 könnte es sich um Alkane und bei Rf 0,09 um Alkohole handeln. Die Bande mit Rf 0,01 war

<sup>1)</sup> Herrn Dr. Heinrich Luftmann, Institut für Organische Chemie, Universität Münster, danke ich für die Aufnahme der TLC-ESI-Massenspektren mit dem „ChromExtraktor“.

intensiv gelb und wurde phenolischen Bestandteilen wie dem gelben Naringenin-chalkon zugeordnet. Die weiteren Banden müssen von Substanzen stammen, die nur in geringen Anteilen vorhanden sind. Bei Rf 0,04 könnte es sich um Fettsäuren und bei Rf 0,52 um Aldehyde handeln. Zu Rf 0,69 zwischen Wachsester und Alkan konnte zunächst noch keine Aussage gemacht werden.

### 2.3 Fraktionierung durch Säulenchromatographie an Kieselgel

Als erster Schritt zur näheren Untersuchung von Wachsen sind einzelne Substanzklassen häufig durch Chromatographie an einer Säule mit Kieselgel oder Aluminiumoxid getrennt worden [10]. Eluiert wurde dabei mit Mischungen von Hexan mit Chloroform oder Diethylether [10], aber auch mit 2-Chlorpropan [26, 27] oder Methanol [26, 27]. Die Alkane ergaben dabei meist eine reine Fraktion; die folgenden Fraktionen bestanden dagegen meist aus mehreren Stoffklassen [10].

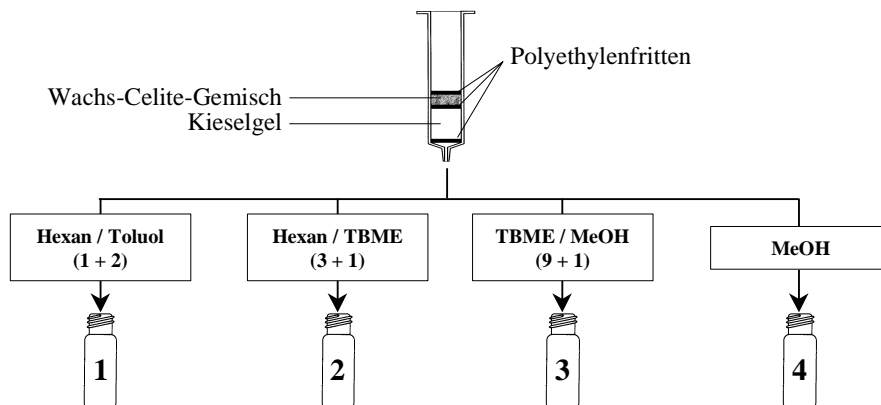
Eine solche Fraktionierung führt bei der anschließenden Untersuchung durch GC/MS zu einfacheren Chromatogrammen, die weniger Peaks enthalten. Außerdem sind viele Wachskomponenten nicht im Handel erhältlich, was ihre quantitative Bestimmung erschwert. Für Stoffe, die im Flammenionisationsdetektor (FID) einen ähnlichen Response aufweisen (z.B. Alkane, Fettalkohole), können jedoch die Peakflächen normiert werden, so dass die quantitative Bestimmung über das Gewicht der Fraktion erfolgen kann. Die Fraktionierung wurde daher so optimiert, dass eine Fraktion möglichst nur ähnliche Substanzklassen enthielt. Insbesondere durften Aldehyde nicht zusammen mit Stoffen eluiert werden, die zur GC silyliert werden müssen, denn die Silylierung kann zur Abnahme von Aldehyden führen [61].

Das Wachs wurde dazu mit genau der doppelten Menge Celite 545 innig vermischt, denn dieses ließ sich besser wiegen, war weniger zäh und klebrig und hatte eine größere Oberfläche für die anschließende Säulenchromatographie. Ohne Celite war zu befürchten, dass Komponenten im Inneren des Wachsklumpen nicht ausreichend vom Elutionsmittel gelöst werden.

Kieselgel 60 wurde über Nacht bei 150 °C getrocknet. Solches wasserfreies Kieselgel war besser geeignet zur Trennung von Alkoholen und Naringenin-chalkon als wasserhaltiges, denn das Chalkon wurde stärker gebunden und deshalb erst mit höherem TBME-Anteil eluiert als die Alkohole. Außerdem ist die Herstellung einfach, weil die korrekte Einstellung des Wassergehaltes nicht nötig ist. Um eventuelle Wasserspuren zu entfernen, kann es vor jeder Fraktionierung noch kurz nachgetrocknet werden.

In eine Kartusche, die 100 mg Kieselgel zwischen zwei Polyethylenfritten enthielt, wurden 30 mg des Wachs-Celite-Gemisches gegeben und mit einer weiteren Polyethylenfritte

bedeckt. Aus dieser kleinen Säule wurden die Komponenten des Waxes mit je 1,5 ml Elutionsmittel steigender Polarität in vier Fraktionen eluiert. Jede Fraktion wurde in einem Probengläschen aufgefangen.

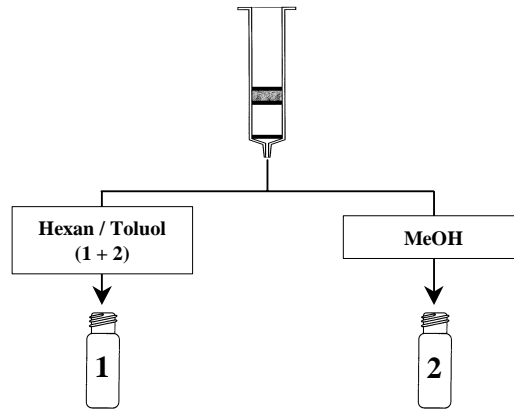


### 2.3.1 Tomaten

Hexan/Toluol (1 + 2) (Fraktion 1) eluierte Alkane, Alkene und Aldehyde. Der hohe Toluolanteil war erforderlich, damit die Aldehyde quantitativ in Fraktion 1 gelangten. Hexan/TBME (3 + 1) führte zu Fraktion 2 mit Fett- und Triterpenalkoholen sowie geringen Anteilen an Fettsäuren. Weitere geringe Anteile an Fettsäuren befanden sich auch in Fraktion 3 (TBME/Methanol, 9 + 1) zusammen mit Naringenin-chalkon und wenig Kohlenhydraten. Es gelang nicht, die Fettsäuren vollständig in der gleichen Fraktion zu eluieren: Mit unterschiedlichen Mischungen aus Hexan und TBME gelangten entweder Anteile der Alkohole oder des Chalkons in andere Fraktionen. Da jedoch die Fettsäuren nur Minorbestandteile im Tomatenwachs waren, wurde die Aufteilung in zwei Fraktionen in Kauf genommen. Wenn Fraktion 3 nur mit TBME ohne Methanol eluiert wurde, enthielt sie keine Kohlenhydrate, aber auch nicht das gesamte vorhandene Chalkon. Schließlich wurde mit Methanol (Fraktion 4) geprüft, ob noch polarere Substanzen wie z.B. Dihydroxysäuren aus dem Cutin vorhanden waren. Da dies nicht der Fall war, enthielt Fraktion 4 hauptsächlich restliches Chalkon (etwa 1 – 2 %) und einen hohen Anteil an Kohlenhydraten.

### 2.3.2 Paprika und Auberginen

Die Wachse von Paprika und Auberginen enthielten nur wenig Polyphenole aber wesentlich mehr Fettsäuren. Sie ließen sich besser quantitativ bestimmen, wenn sie in der gleichen Fraktion eluiert wurden. Das Fraktionierungsschema wurde deshalb leicht modifiziert: Nach der Elution mit Hexan/Toluol (1 + 2) wurde Fraktion 2 nur mit Methanol eluiert und enthielt dann die Fett- und Triterpenalkohole und außerdem die Fettsäuren und Hydroxyfettsäuren.



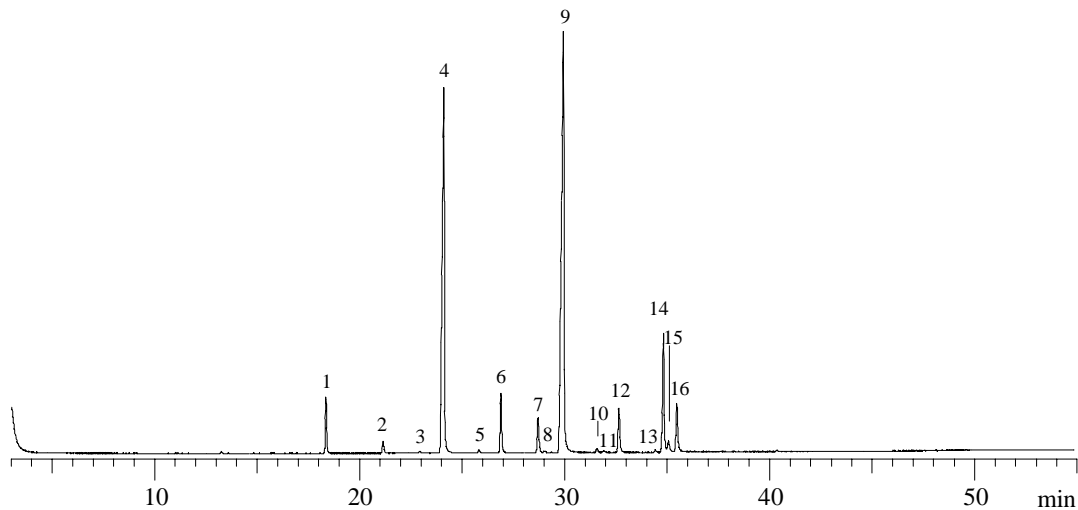
#### 2.4 Gaschromatographie (GC)

Zur gaschromatographischen Untersuchung wurde jede Fraktion mit Stickstoff eingedampft. Der Rückstand der Fraktion 1 von Tomaten, Paprika und Auberginen wurde mit 1 ml Hexan versetzt. Der Rückstand von Fraktion 2 von Tomaten, Paprika und Auberginen wurde mit 0,8 ml TBME und 0,2 ml TMSI versetzt. Der Rückstand der Fraktion 3 von Tomaten wurde auf die gleiche Weise silyliert; 0,2 ml der Lösung wurden zusätzlich mit 0,8 ml TBME verdünnt. Jeweils 1  $\mu$ l dieser Lösungen wurde zur GC/MS injiziert.

### 3 Identifizierung der Komponenten in der Tomatenwachs-Fraktion 1 (Kohlenwasserstoffe und Aldehyde)

#### 3.1 n-Alkane

Abb. 3 zeigt das Gaschromatogramm der Fraktion 1 des Waxes der Sorte „Ferrari“. Die Hauptkomponenten sind die gesättigten n-Alkane von C<sub>27</sub> bis C<sub>33</sub> (Peaks 1, 2, 4, 6, 9, 12, 16), die im Abstand von etwa 3 min eluiert wurden; die höchsten Anteile hatten n-Hentriacontan (Peak 9) mit 40 % und n-Nonacosan (Peak 4) mit 28 %. Auf diese Abb. 3 wird auch in den folgenden Abschnitten immer wieder Bezug genommen.

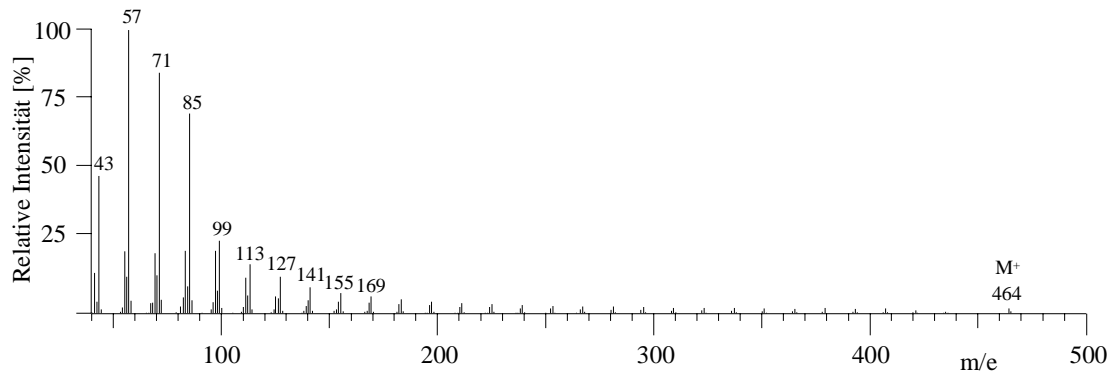


**Abbildung 3:** Gaschromatogramm der Fraktion 1 (Hexan/Toluol, 1 + 2) des Tomatenwachses der Sorte „Ferrari“

1 n-Heptacosan; 2 n-Octacosan; 3 iso-Nonacosan; 4 n-Nonacosan; 5 iso-Triacontan; 6 n-Triacontan; 7 iso-Hentriacontan; 8 anteiso-Hentriacontan; 9 n-Hentriacontan; 10 iso-Dotriacontan; 11 anteiso-Dotriacontan; 12 n-Dotriacontan; 13 iso-Tritriacontan; 14 n-Tritriacontadien; 15 n-Tritriacontatrien; 16 n-Tritriacontan

Injektion 1 µl; 60 m Quarzkapillare DB-5 (5 % Phenyl-, 95 % Methylsilikon), 0,25 mm i.D., 0,1 µm Filmdicke; Temperaturprogramm von 200 °C bis 300 °C mit 2 °C/min, 5 min isotherm; Trägergas Helium; Detektor: MSD, Ionisationsenergie 70 eV, Ionenquellentemperatur 230 °C, Quadrupoltemperatur 150 °C, Elektronenmultiplizierungsenergie 1500 V

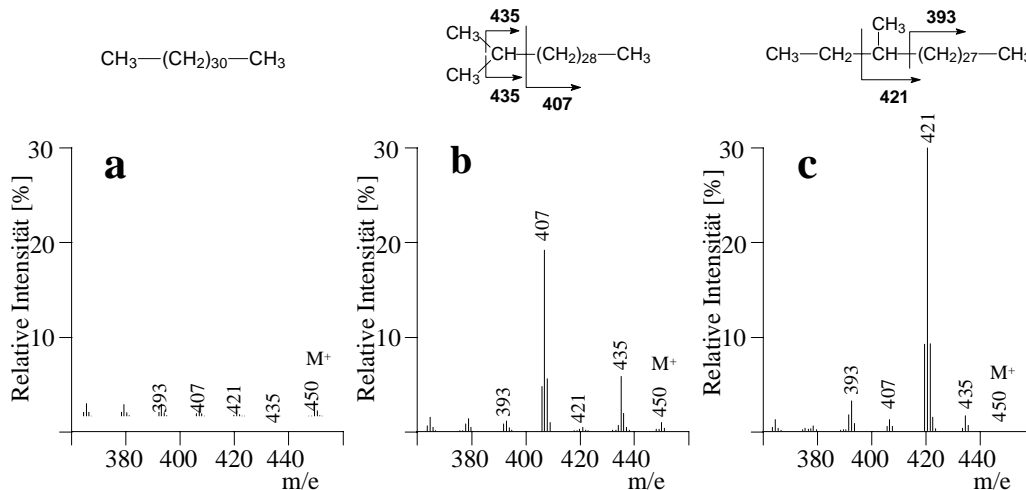
Alle n-Alkane wurden anhand ihrer Massenspektren identifiziert. Sie haben eine sehr charakteristische Intensitätsverteilung. Wie Abb. 4 am Beispiel von C<sub>33</sub>H<sub>68</sub> zeigt, liegen die größten Signale in Abständen von 14 Masseneinheiten und bilden eine homologe Reihe der Alkylionen CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub><sup>+</sup>, z.B. m/e 43, 57, 71, 85 usw. Ihre Intensität durchläuft bei C<sub>4</sub> ein Maximum und nimmt mit steigender Kohlenstoffzahl bis zu einem Minimum bei M<sup>+</sup> – 15 stetig ab. Daneben kommen schwächere Signale der Reihe CH<sub>3</sub>-CH=CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub><sup>+</sup> wie m/e 41, 55, 69, 83 usw. vor, die aus Dehydrierungen während der Fragmentierung stammen. Der Molekülpeak M<sup>+</sup> ist bei langen Kohlenstoffketten von sehr schwacher Intensität, jedoch immer meßbar [62, 63].



**Abbildung 4:** Massenspektrum von n-Tritriacontan (Peak 16) in Abb. 3

### 3.2 iso- und anteiso-Alkane

Zwischen den Peaks der n-Alkane erkennt man in Abb. 3 zusätzliche Peaks, die die typische Fragmentierung von langkettigen iso-Alkanen (2-Methylalkanen, Peaks 3, 5, 7, 10, 13) oder anteiso-Alkanen (3-Methylalkanen, Peaks 8, 11) zeigten. Sie haben bis in den Bereich von etwa  $m/e$  300 – 350 ein sehr ähnliches Massenspektrum wie die zugehörigen n-Alkane. Wie aus Abb. 5 am Beispiel von Dotriacontan ( $C_{32}H_{66}$ ) hervorgeht, sind jedoch bei einem iso-Alkan die Peaks  $M^+ - 43$  ( $M^+ - C_3H_7$ , hier  $m/e$  407) und  $M^+ - 15$  ( $M^+ - CH_3$ , hier  $m/e$  435) deutlich intensiver als bei einem n-Alkan [15].



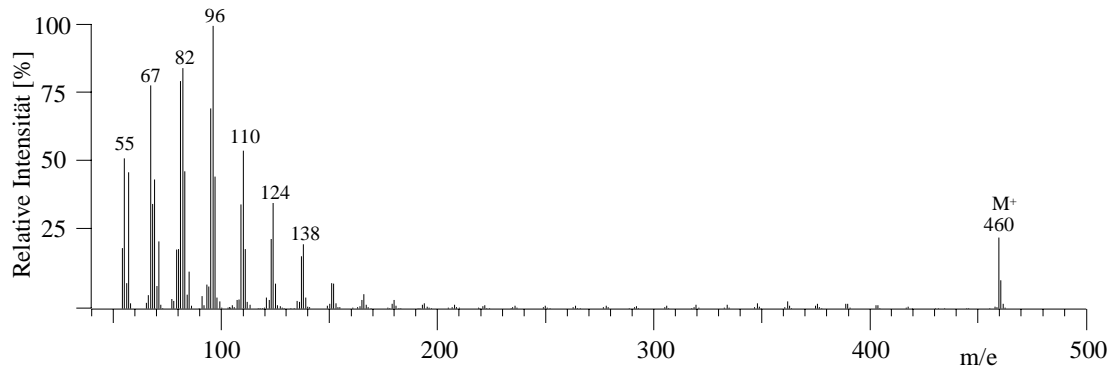
**Abbildung 5:** Ausschnitt aus dem Massenspektrum von **a** Peak 12 (n-Dotriacontan), **b** Peak 10 (iso-Dotriacontan) und **c** Peak 11 (anteiso-Dotriacontan) in Abb. 3

Das anteiso-Alkan zeigt dagegen einen intensiven Peak  $M^+ - 29$  ( $M^+ - C_2H_5$ , hier  $m/e$  421), während der Peak  $M^+ - 15$  praktisch keine Rolle spielt. Peak  $M^+ - 57$  ( $M^+ - C_4H_9$ , hier  $m/e$  393) ist etwa zwei- bis dreimal so intensiv wie bei einem iso- oder n-Alkan. Der Grund dafür ist die bevorzugte Fragmentierung der Bindungen zwischen dem C-Atom an der Verzweigungsstelle, wo sich ein stabiles Carbokation bildet, und den benachbarten C-Atomen. Bei

iso- und anteiso-Alkanen ist zusätzlich  $M^+$  schwächer als bei den n-Alkanen und kann häufig auch fehlen [15].

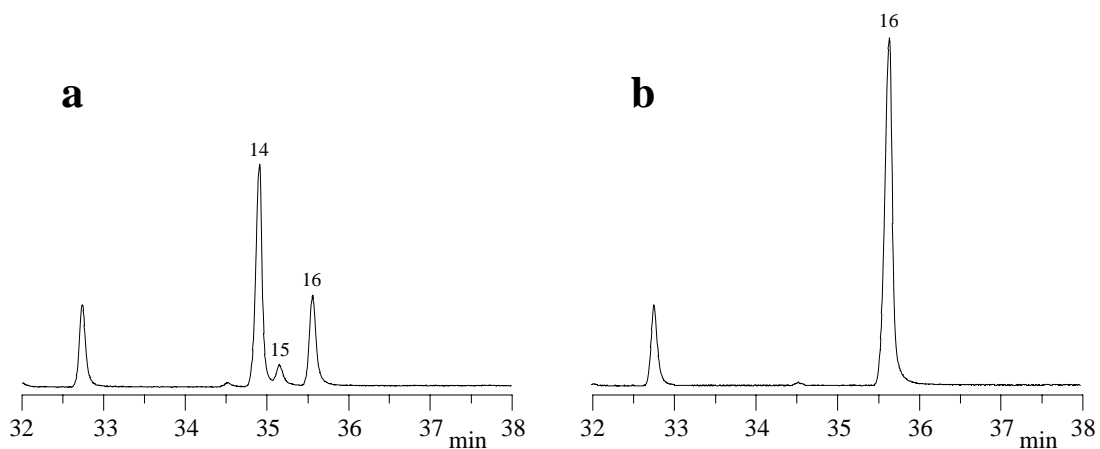
### 3.3 Alkene

Neben all diesen Alkanen traten im Gaschromatogramm kurz vor Peak *16* (n-Tritriacontan) noch die Peaks *14* (RT 34,9 min) und *15* (RT 35,1 min) mit abweichenden Massenspektren auf. Abb. 6 zeigt das Massenspektrum des Peaks *14*, der einen Anteil von 9 % in Fraktion 1 ausmachte; das Massenspektrum von Peak *15* war sehr ähnlich.



**Abbildung 6:** Massenspektrum des Peaks *14* bei RT 34,9 min in Abb. 3

Auffällig ist der ausgeprägte Peak des Molekülions bei  $m/e$  460. Außerdem traten neben den üblichen ungeradzahligem Fragmenten, z. B. von  $CH_3-(CH_2)_n^+$ , auch einige geradzahligem auf, vor allem  $m/e$  82, 96, 110, 124 und 138. Sie können durch Umlagerungen entstanden sein, wie sie an der Doppelbindung von Alkenen beobachtet werden [63, 64]. Aufgrund der Lage im Gaschromatogramm könnte es sich also um Alkene des Tritriacontans handeln. Dafür spricht auch die molare Masse von Peak *14* (460) und Peak *15* (458) im Vergleich zu Tritriacontan (464).



**Abbildung 7:** **a** Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm in Abb. 3, **b** entsprechende Stelle nach Hydrieren von Fraktion 1

*14* n-Tritriacontadien, *15* n-Tritriacontatrien, *16* n-Tritriacontan

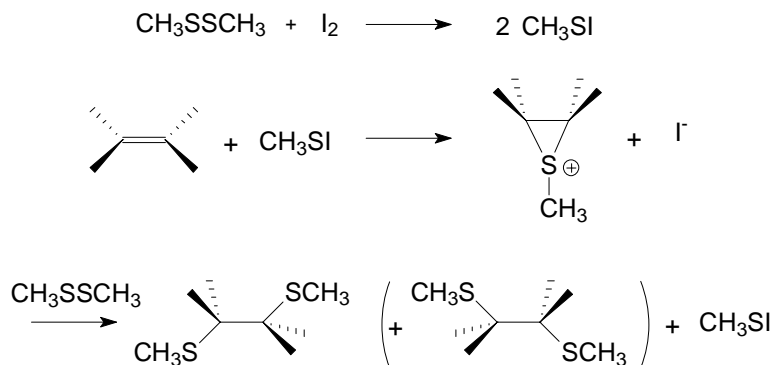
Daraufhin wurde Fraktion 1 mit Wasserstoff und Platin(IV)-oxid hydriert. Wie man in Abb. 7b erkennt, sind die beiden Peaks 14 und 15 verschwunden und die Fläche des folgenden Peaks 16 (n-Tritriacontan) hat entsprechend zugenommen. Die Peaks 14 und 15 müssen daher von Tritriacontadien bzw. -trien stammen.

### 3.3.1 Lokalisierung von Doppelbindungen

Die Lage der Doppelbindungen in Tritriacontadien und -trien kann nicht durch EI-Massenspektrometrie lokalisiert werden, denn Umlagerungen von Wasserstoff bei der Fragmentierung führen bei allen Isomeren zu sehr ähnlichen Massenspektren [63, 64]. Geeignet wäre allenfalls das Arbeiten mit chemischer Ionisation (CI), z.B. mit Stickstoffmonoxid oder Vinylmethylether als Reaktandgas [65, 66, 67]. Der klassische Weg ist, eine Doppelbindung zu derivatisieren oder sie oxidativ zu spalten und die Derivate durch GC zu charakterisieren. Üblich sind die Hydroxylierungen mit Osmiumtetroxid [68, 69], Kaliumpermanganat [69, 70], Chlorperbenzoesäure [71] oder auf andere Weise [72, 73] zu einem Diol, das dann vor der Analyse durch GC zu einem O-Isopropyliden-Derivat [74, 75], Methylester [68, 69], Alkylborsäureester [68, 70] oder Trimethylsilylether [71, 76] umgesetzt werden kann. Die Doppelbindung kann auch mit Ozon oder das Diol mit Periodsäure gespalten werden [73]. Ebenfalls möglich ist eine Diels-Alder-Reaktion, z.B. mit 5,5-Dimethoxy-1,2,3,4-tetrachlorcyclopentadien [77, 78]; das Massenspektrum des Addukts läßt sowohl auf die Lage als auch auf die Konfiguration der Doppelbindung schließen. Besonders schnell und einfach soll die Addition von Dimethyldisulfid an die Doppelbindung sein, weil der entstehende Bis-methylthioether direkt durch GC untersucht werden kann [79, 80, 81, 82].

#### 3.3.1.1 Derivatisierung mit Dimethyldisulfid (DMDS)

Bei dieser Reaktion sollen zwei Methylthiogruppen an beiden Seiten der Doppelbindung eingeführt werden:

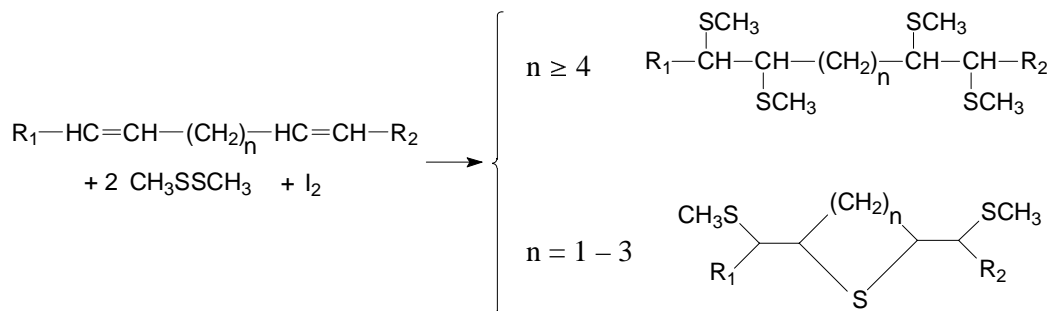


Die Reaktion verläuft aber nur dann quantitativ, wenn lediglich eine Doppelbindung vorhanden ist. Bei zwei Doppelbindungen reagiert meist nur eine davon; die zweite bleibt unverändert. In diesem Fall sind zwei Konstitutionsisomere (mit je zwei Stereoisomeren) zu erwarten,



je nachdem, welche der beiden Doppelbindungen derivatisiert worden ist. Diese Isomeren haben bei der GC an einer unpolaren Säule (z.B. DB-5) dieselbe Retentionszeit und können nur an einer stark polaren Säule wie SP-88 getrennt werden [80].

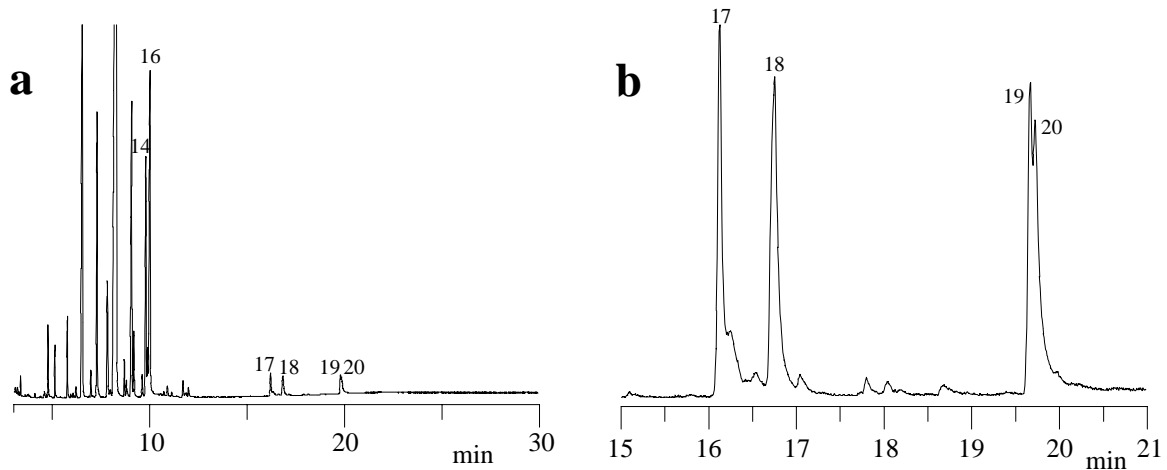
Weitere Derivate können auftreten, wenn die Doppelbindungen weiter auseinanderliegen. Sind vier und mehr Methylengruppen dazwischen, so entsteht auch der Tetramethylthioether. Wenn es nur eine, zwei oder drei Methylengruppen sind, ergibt die Reaktion mit zwei Molekülen Dimethyldisulfid einen Vier-, Fünf- bzw. Sechsring-Thioether mit zwei Alkylresten, die je eine Methylthiogruppe in  $\alpha$ -Stellung zum Ring tragen [83, 84]:



Weil dabei bis zu vier asymmetrische C-Atome beteiligt sind, können bis zu acht Diastereomere entstehen. Sie wären nur an einer polaren Säule trennbar. Da aber die Diastereomere jedoch im Massenspektrum die gleichen Fragmente ergeben, die sich nur in den Intensitäten unterscheiden, ist keine vollständige Auftrennung nötig, so daß auch eine unpolare Säule ausreicht.

### 3.3.1.1.1 Fraktion 1

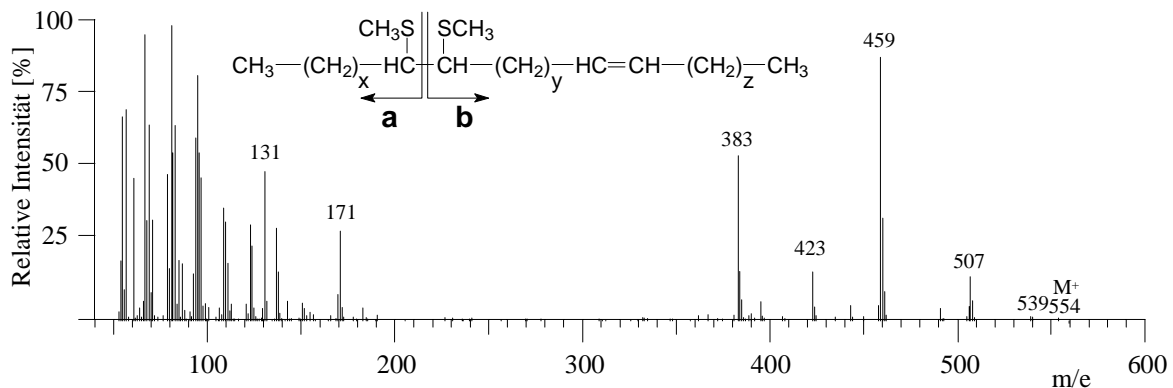
Da nur wenig an Fraktion 1 verfügbar war, wurden 5 mg davon mit 200  $\mu\text{l}$  DMDS umgesetzt; die Lösung wurde zur GC mit einem beschleunigten Temperaturprogramm eingespritzt. Wie aus Abb. 8 hervorgeht, wurden damit die Alkane zwischen 4 min und 13 min eluiert. Tritriacontadien (Peak 14) und Tritriacontatrien wurden aber nicht vollständig derivatisiert; zusätzlich traten ab 16 min mehrere neue Peaks (17 – 20) auf. In deren Massenspektren wurde jeweils das Molekülion  $\text{M}^+$  daraufhin geprüft, ob es mit der Masse von Tritriacontadien oder -trien (460 bzw. 458 g/mol) und einer oder mehrerer Massen der Methylthiogruppe (47 g/mol) in Einklang zu bringen war. Peak 17 bei RT 16,1 min ergab  $\text{M}^+$  554 (460 + 94), und die Peaks 19 bei RT 19,6 min und 20 RT 19,7 min ergaben beide  $\text{M}^+$  586 (460 + 94 + 32); alle drei Peaks waren offenbar Derivate von Tritriacontadien. Peak 18 bei RT 16,8 min ergab  $\text{M}^+$  552 (458 + 94) und konnte damit ein Derivat von Tritriacontatrien sein.



**Abbildung 8:** a Gaschromatogramm von Fraktion 1 nach Umsetzung mit DMDS, b Ausschnitt daraus

14 n-Tritriacontadien, 16 n-Tritriacontan, 17 RT 16,1 min, 18 RT 16,7 min, 19 RT 19,6 min, 20 RT 19,7 min  
Geräteeinstellungen wie in Abb. 3; Temperaturprogramm von 250 °C bis 350 °C mit 5 °C/min, 10 min isotherm

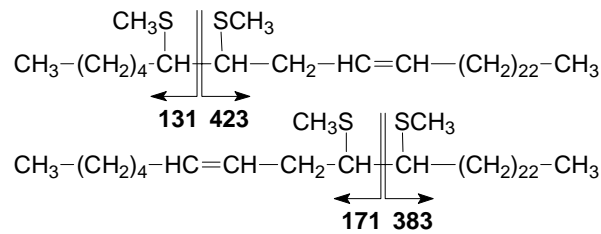
Abb. 9 zeigt das Massenspektrum von Peak 17 mit zwei Methylthiogruppen im Molekül. Dies wird deutlich an den Fragmenten m/e 539 ( $M^+ - 15$ ,  $M^+ - CH_3$ ), m/e 507 ( $M^+ - 47$ ,  $M^+ - CH_3S$ ) und m/e 459 ( $M^+ - 95$ ,  $M^+ - CH_3S - CH_3SH$ ) [83, 84]. Offensichtlich ist jeweils nur eine der beiden Doppelbindungen derivatisiert worden, so daß die zweite noch vorhanden ist. Die beiden isomeren Derivate haben auf DB-5 zweifellos dieselbe Retentionszeit, so dass das Massenspektrum von beiden Derivaten stammt.



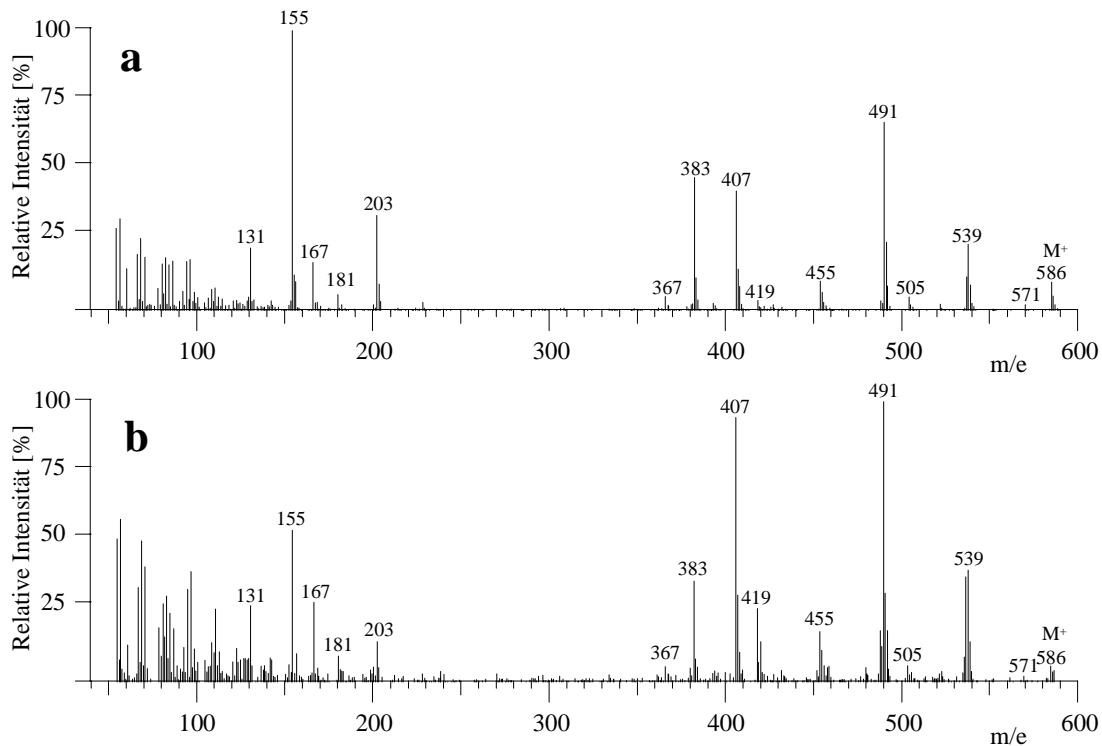
**Abbildung 9:** Massenspektrum von Peak 17 in Abb. 8 aus der Umsetzung von Fraktion 1 mit DMDS

Unter den EI-Bedingungen bei der MS werden DMDS-Derivate bevorzugt an der Stelle zwischen den beiden Substituenten gespalten [84, 85]. Die entsprechenden Bruchstücke sind die Paare m/e 131 und 423 sowie m/e 171 und 383, die jeweils den linken und den rechten Teil der ursprünglichen Kohlenwasserstoffkette mit jeweils einer Methylthiogruppe enthalten. Die Lage der Doppelbindungen geht deshalb aus den zugehörigen Fragmenten hervor: Zum ersten Isomeren gehören m/e 131 aus einer Kette mit sechs C-Atomen und m/e 423 aus einer Kette

mit 27 C-Atomen und der zweiten Doppelbindung. Umgekehrt gehören zum zweiten Isomeren  $m/e$  383 aus einer Kette mit 24 C-Atomen und  $m/e$  171 aus einer Kette mit 9 C-Atomen und der zweiten Doppelbindung.



Daraus ist zu schließen, daß die beiden Doppelbindungen die Positionen 6 und 9 im Tritriacontadien einnehmen. Abb. 10 zeigt die Massenspektren der Peaks 19 und 20 aus dem Gaschromatogramm in Abb. 8.



**Abbildung 10:** Massenspektrum von **a** Peak 19 und **b** Peak 20 in Abb. 8 aus der Umsetzung von Fraktion 1 mit DMDS

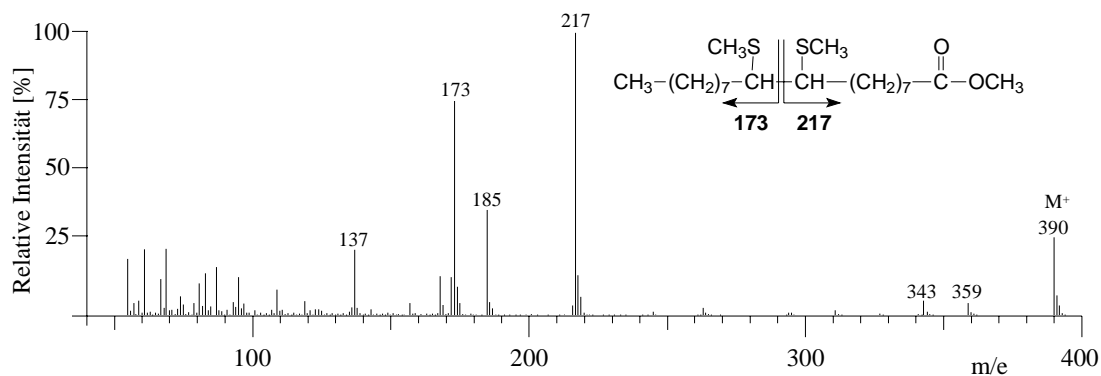
Beide Peaks hatten fast dieselbe Retentionszeit und ergaben sehr ähnliche Fragmente, die sich nur in den Intensitäten unterschieden, so daß es sich um Isomere handeln könnte. Nach der Masse des Molekülions ( $m/e$  586) waren hier ebenfalls zwei Methylthiogruppen enthalten, und dementsprechend tauchten auch wieder die Fragmente  $M^+ - \text{CH}_3$  ( $m/e$  571),  $M^+ - \text{CH}_3\text{S}$  ( $m/e$  539) und  $M^+ - \text{CH}_3\text{S} - \text{CH}_3\text{SH}$  ( $m/e$  491) auf. In diesem Fall war jedoch  $M^+$  um  $m/e$  32 größer als bei Peak 17, und das gleiche zeigte sich bei den Fragmentpaaren  $m/e$  131 und 455 sowie  $m/e$  383 und 203 aus der Spaltung der beiden Isomeren zwischen den Methylthiogrup-



201 und 453 auf ein Derivat von Tritriacontatrien hin, denn sie sind um zwei Einheiten kleiner als  $m/e$  203 und 455 beim Tritriacontadien. Die zu erwartenden weiteren Teilfragmente waren jedoch nicht vorhanden. Von welchem Derivat Peak 18 stammte, blieb also ungeklärt. Gegen ein Derivat des Triens spricht auch, dass der Anteil in Fraktion 1 (Peak 15) nur gering war, während Peak 18 in etwa ein Viertel bis ein Drittel der Gesamtfläche der neu gebildeten Peaks ausmachte.

### 3.3.1.1.2 Versuche mit Fettsäuremethylestern

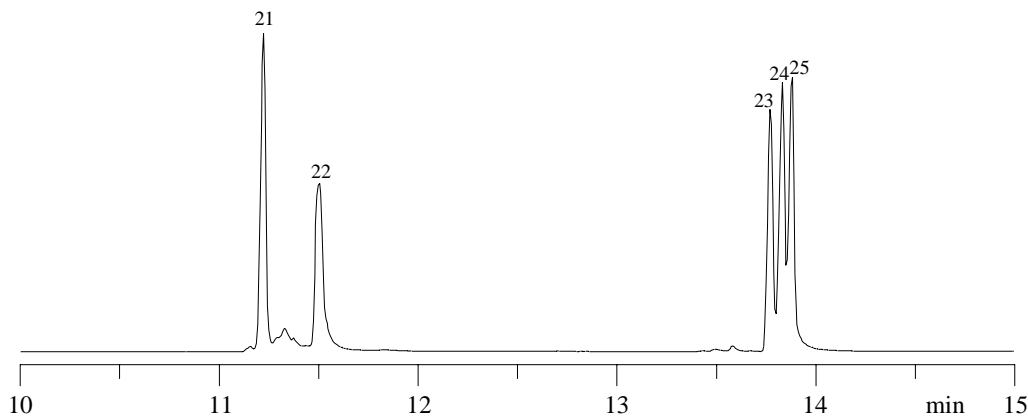
Auf der Suche nach Parallelen wurden entsprechende Versuche mit den Methylestern von Öl- und Elaidinsäure sowie von cis,cis- und trans,trans-Linolsäure durchgeführt. Bei nur einer Doppelbindung wurde fast ausschließlich das erwartete DMDS-Derivat gebildet; dabei stimmten die Massenspektren der Derivate der cis- und trans-Isomere völlig überein. Abb. 12 zeigt das Massenspektrum des betreffenden GC-Peaks bei Ölsäure, der vor allem zwischen den beiden Substituenten fragmentiert wurde.



**Abbildung 12:** Massenspektrum und Struktur des DMDS-Derivates von Ölsäuremethylester

Geräteeinstellungen wie in Abb. 3; Temperaturprogramm 3 min isotherm bei 200 °C, dann mit 10 °C/min bis 350 °C, 3 min isotherm

Bei zwei Doppelbindungen war die Ausbeute gering, und im Gaschromatogramm traten zahlreiche Peaks auf, die auf Nebenreaktionen hindeuteten. Dies ist in Abb. 13 am Beispiel von Linolsäuremethylester zu sehen. Die Ausbeute konnte auch durch Zugabe von mehr DMDS nicht erhöht werden.

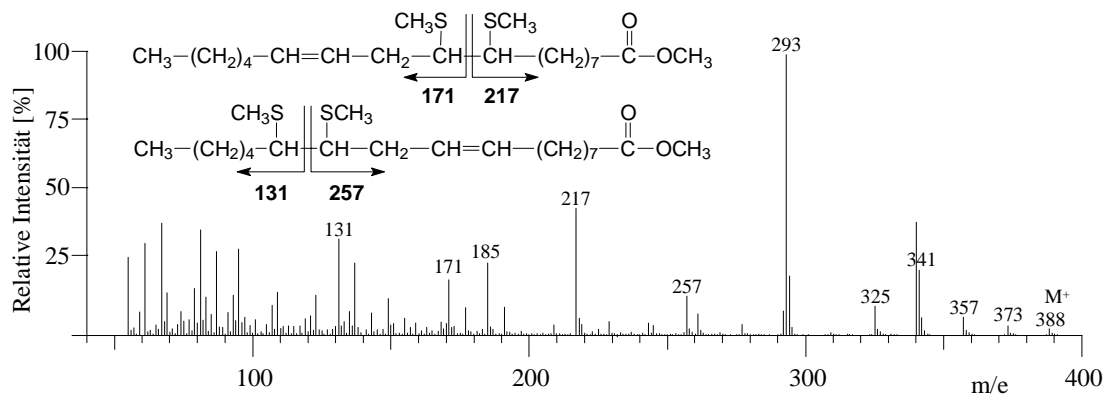


**Abbildung 13:** Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm von cis,cis-Linolsäuremethylester nach Umsetzung mit DMDS

21 RT 11,2 min, 22 RT 11,5 min, 23 RT 13,75 min, 24 RT 13,80 min, 25 RT 13,85 min

Geräteeinstellungen wie in Abb. 12

Peak 21 stammte vom typischen DMDS-Derivat an einer Doppelbindung; Abb. 14 zeigt das zugehörige Massenspektrum. Die Zuordnung basiert auf  $M^+$  bei m/e 388 und den je zwei erwarteten Fragmentpaaren pro Isomerem, also m/e 171 und 217 aus  $\Delta 9$  sowie m/e 131 und 257 aus  $\Delta 12$ . Als typische Fragmente eines Methylthioethers traten wieder  $M^+ - CH_3$  (m/e 373),  $M^+ - CH_3S$  (m/e 341) und  $M^+ - CH_3S - CH_3SH$  (m/e 293) auf.



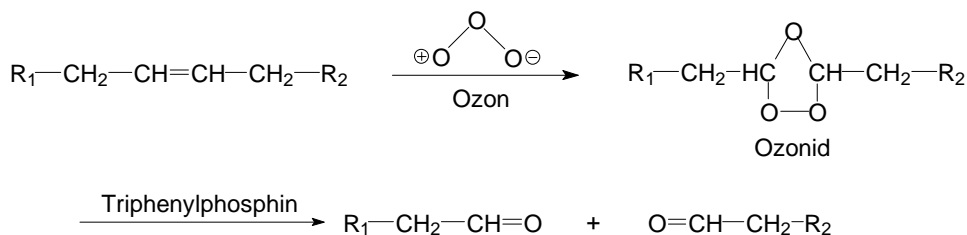
**Abbildung 14:** Massenspektrum von Peak 21 in Abb. 13

Bei Peak 22 war  $M^+$  bei m/e 372 nicht mit der Addition von Methylthiogruppen oder Schwefel zu erklären; er wurde daher nicht berücksichtigt. Die Massenspektren der Peaks 23, 24 und 25 sind in Abb. 15 dargestellt. Hier war jeweils  $M^+$  mit m/e 420 um 32 Einheiten höher als erwartet, wie dies bereits bei den Derivaten des Tritriacontadiens beobachtet worden war (Abb. 10). Wenn man von der Bildung cyclischer Thioether ausgeht, müßten diese bei Linolsäuremethylester folgende Struktur haben:



### 3.3.1.2 Spaltung durch Ozonolyse

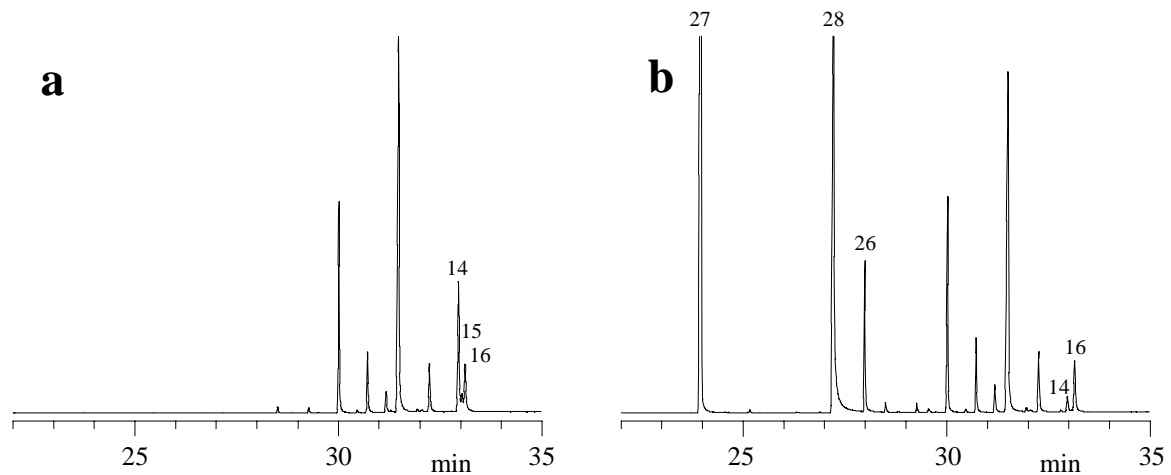
Um diese Ergebnisse auch auf andere Weise abzusichern, wurde die Doppelbindung mit Ozon gespalten, damit die Bruchstücke Aufschluß über die ursprüngliche Lage der Doppelbindung geben. Zu erwarten war wie bei den DMDS-Derivaten, dass die Fragmente des Tritriacontadiens dominieren würden. Der Vorteil des Arbeitens mit Ozon ist, dass es keine nichtflüchtigen Rückstände hinterlässt, doch darf nur so viel Ozon zugegeben werden, wie zur Bildung der Ozonide erforderlich ist. Um Nebenreaktionen so gering wie möglich zu halten, wird die Reaktion bei  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  bis  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  in einem inerten Lösungsmittel wie Pentan, Hexan oder Tetrachlorkohlenstoff durchgeführt [85, 86, 87]. Man kann dabei eine Ozonlösung in eben der richtigen Konzentration zugeben [88] oder das Ozon direkt in die Lösung einleiten und die Reaktion abbrechen, wenn überschüssiges Ozon austritt [89, 90]. An der Doppelbindung bildet sich über mehrere Stufen hinweg ein Ozonid (1,2,4-Trioxalan) [91]. Es kann reduktiv gespalten werden, entweder mit  $\text{NaBH}_4$  oder  $\text{LiAlH}_4$  [92, 93] zu zwei Alkoholen oder mit  $\text{Zn}/\text{HCl}$  [93],  $\text{H}_2/\text{Pd}$  [86, 93],  $\text{NaHSO}_3$  [94], Dimethylsulfid [88] oder Triphenylphosphin [89, 90] zu zwei Aldehyden. Bei der oxidativen Spaltung mit  $\text{BF}_3/\text{MeOH}$  [95],  $\text{Ag}_2\text{O}$  [93] oder Persäuren [93] entstehen die entsprechenden Carbonsäuren. Die Reaktion verläuft bei Verwendung von Triphenylphosphin wie folgt:



Zunächst wurde versucht, Fraktion 1 bei  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  mit n-Pentan umzusetzen, in das vorher 15 min lang Ozon eingeleitet worden war. Die Ausbeuten waren aber gering, weil offenbar das Ozon zu hoch oder zu niedrig dosiert war. Stattdessen wurde das Ozon direkt aus dem Ozonisator in die Lösung von 20 mg Fraktion 1 (aus der Fraktionierung des Wachses von 3 kg Tomaten) in Pentan eingeleitet. Die Zufuhr wurde abgebrochen, sobald überschüssiges Ozon eine Kaliumiodid-Stärke-Lösung in einem unmittelbar anschließenden Gefäß violett färbte. Die entstandenen Ozonide wurden mit 100 mg Triphenylphosphin zu den Aldehyden gespalten, die ohne weitere Derivatisierung durch GC an der Säule DB-5 getrennt wurden.

Wie Abb. 16 zeigt, hatten die Peakflächen von Tritriacontadien und -trien (Peaks 14 und 15) in Fraktion 1 nach der Ozonisierung abgenommen. Zusätzlich trat jetzt ein neuer und großer Peak (Peak 26) bei RT 28 min auf; die Peaks 27 und 28 stammten von Triphenylphosphin bzw. Triphenylphosphinoxid.



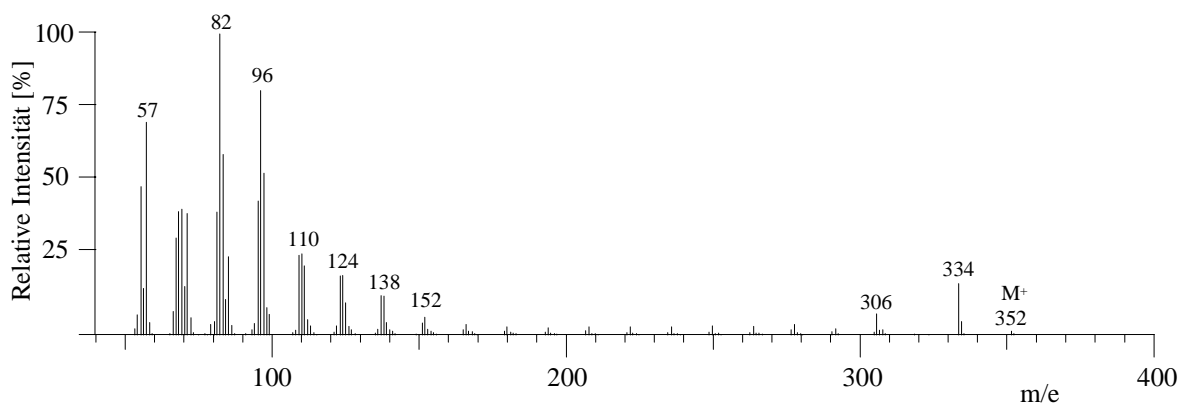


**Abbildung 16:** Ausschnitt aus den Gaschromatogrammen **a** der Fraktion 1 und **b** der Fraktion 1 nach Ozonisierung und Reduktion mit Triphenylphosphin

14 n-Tritriacontadien, 15 n-Tritriacontatrien, 16 n-Tritriacontan, 26 n-Tetracosanal, 27 Triphenylphosphin, 28 Triphenylphosphinoxid

Geräteeinstellungen wie in Abb. 3; Temperaturprogramm: 3,5 min isotherm bei 35 °C, dann mit 10 °C/min bis 300 °C, 10 min isotherm

Das Massenspektrum von Peak 26 ist in Abb. 17 dargestellt. Es zeigt das typische Fragmentierungsmuster eines langkettigen Aldehyds mit dem Molekülpeak bei  $m/e$  352. Zu erkennen sind die Abspaltung von Wasser ( $m/e$  334,  $M^+ - 18$ ) und von Acetaldehyd ( $m/e$  306,  $M^+ - 44$ ) sowie die geradzahligen Fragmente  $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-CHO}^+$  82, 96, 110, 124, 138 usw., die bei einem langkettigen Aldehyd durch Abspaltung eines Alkans über McLafferty-Umlagerungen gebildet werden [96, 97].  $M^+$  von  $m/e$  352 deutete auf Tetracosanal hin.

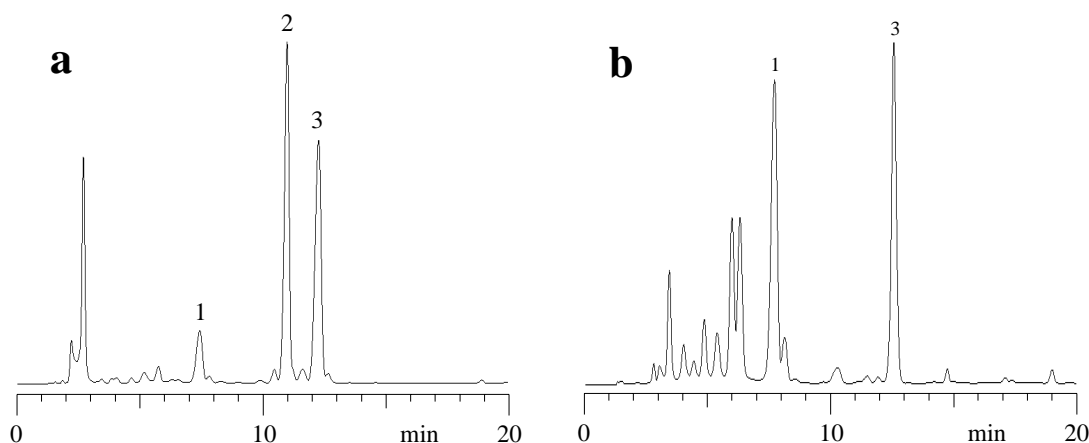


**Abbildung 17:** Massenspektrum des Peaks 26 in Abb. 15b nach Ozonolyse von Fraktion 1

Da dies nicht zum Vergleich verfügbar war, wurde es aus n-Tetracosanol durch Oxidation mit Pyridiniumchlorchromat [98, 99, 100] hergestellt und zeigte dasselbe Retentionsverhalten und Massenspektrum. Demnach müsste die Doppelbindung in Tritriacosadien zwischen  $\text{C}_9$  und  $\text{C}_{10}$  liegen und Hexanal als zweites Spaltprodukt aus der Doppelbindung vorliegen. Dies war aber

nicht der Fall, vermutlich weil das Hexanal schon während der Ozonolyse flüchtig war oder bei der GC bereits mit dem Lösungsmittelpeak eluiert wurde.

Deshalb wurden die entstandenen Aldehyde mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (DNPH) zu den entsprechenden 2,4-Dinitrophenylhydrazonen umgesetzt, die durch HPLC getrennt und mit einem UV-Detektor nachgewiesen wurden. Da die Gewinnung von Fraktion 1 viel Zeit erforderte, wurde die Derivatisierung zunächst mit Linolsäuremethylester optimiert, aus dem ebenfalls mit Ozon Hexanal entsteht. Bei geringen Konzentrationen erschwerten störende Peaks die Identifizierung der Fragmente; sie stammten vermutlich aus Verunreinigungen des Pentans und waren durch Destillieren nicht zu entfernen. Ab etwa 1 mg/ml waren aber die gesuchten Aldehyde eindeutig vom Untergrund zu unterscheiden. Wie aus Abb. 18a hervorgeht, entstanden aus Linolsäuremethylester Malondialdehyd (Peak 1) und n-Hexanal (Peak 3), die jeweils mit Vergleichssubstanzen identifiziert wurden. Peak 2 bei etwa 11 min mußte von 9-Oxo-nonansäuremethylester stammen.



**Abbildung 18:** HPLC-Chromatogramm der Reaktionsprodukte von **a** Linolsäuremethylester und **b** Fraktion 1 nach Ozonolyse und Derivatisierung mit DNPH

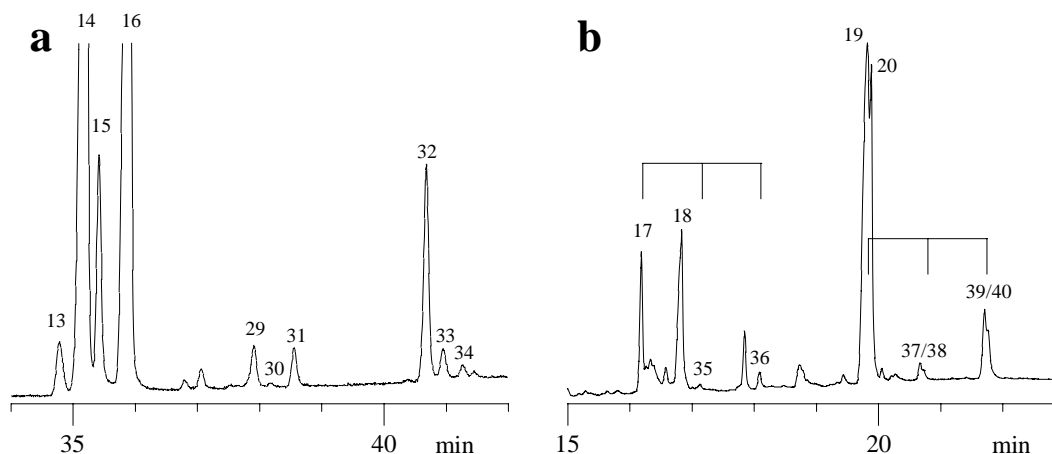
1 Malondialdehyd, 2 9-Oxo-nonansäuremethylester; 3 n-Hexanal

Säule RP-18e (250 x 4 mm); Gradient: 2 min isokratisch Acetonitril/Wasser 7 + 3 (v/v), in 15 min auf 100 % Acetonitril, 3 min isokratisch; Flußrate: 1 ml/min; Detektion: UV-Detektor bei 360 nm

Daraufhin wurden 20 mg Fraktion 1 (aus der Fraktionierung des Wachses von 3 kg Tomaten) erneut ozonisiert und die Produkte mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin umgesetzt. Wie Abb. 18b zeigt, traten Malondialdehyd (Peak 1) und n-Hexanal (Peak 3) auf; die weiteren Peaks zwischen RT 4 min und 7 min stammten aus dem Pentan. Außerdem wurde das DNP-Derivat von Tetracosanal mit einem anderen Gradienten (Acetonitril in 15 min auf TBME, Retentionszeit 6,5 min) nachgewiesen. Die Ozonolyse von Fraktion 1 ergab also n-Tetracosanal, n-Hexanal und Malondialdehyd, die aus Tritriacontadien stammten. Dies bestätigt nochmals das Ergebnis, daß die Doppelbindungen an den Positionen C<sub>6</sub> und C<sub>9</sub> liegen.

### 3.4 Identifizierung weiterer auftretender Komponenten

Bei der Untersuchung anderer Tomatensorten wurden in Fraktion 1 zusätzlich geringe Anteile von n-Alkanen von C<sub>21</sub> bis C<sub>26</sub> und mit Kettenlängen über C<sub>33</sub> gefunden, die später als Tritriacontan (Peak 16) eluiert wurden. Außerdem waren in geringeren Anteilen Aldehyde der Kettenlänge C<sub>24</sub>, C<sub>26</sub> und C<sub>32</sub> vorhanden, die anhand ihrer Massenspektren wie in Abb. 17 identifiziert wurden. Abb. 19a zeigt den entsprechenden Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm der Fraktion 1 des Waxes der Sorte „RZ 72-00“. Bei den Peaks 31 und 34 handelt es sich aufgrund des Massenspektrums um Tetra- bzw. Pentatriacontan (C<sub>34</sub>H<sub>70</sub> und C<sub>35</sub>H<sub>72</sub>).



**Abbildung 19:** Ausschnitt aus den Gaschromatogrammen **a** der Fraktion 1 der Sorte „RZ 72-00“, **b** derselben Fraktion nach Umsetzung mit DMDS

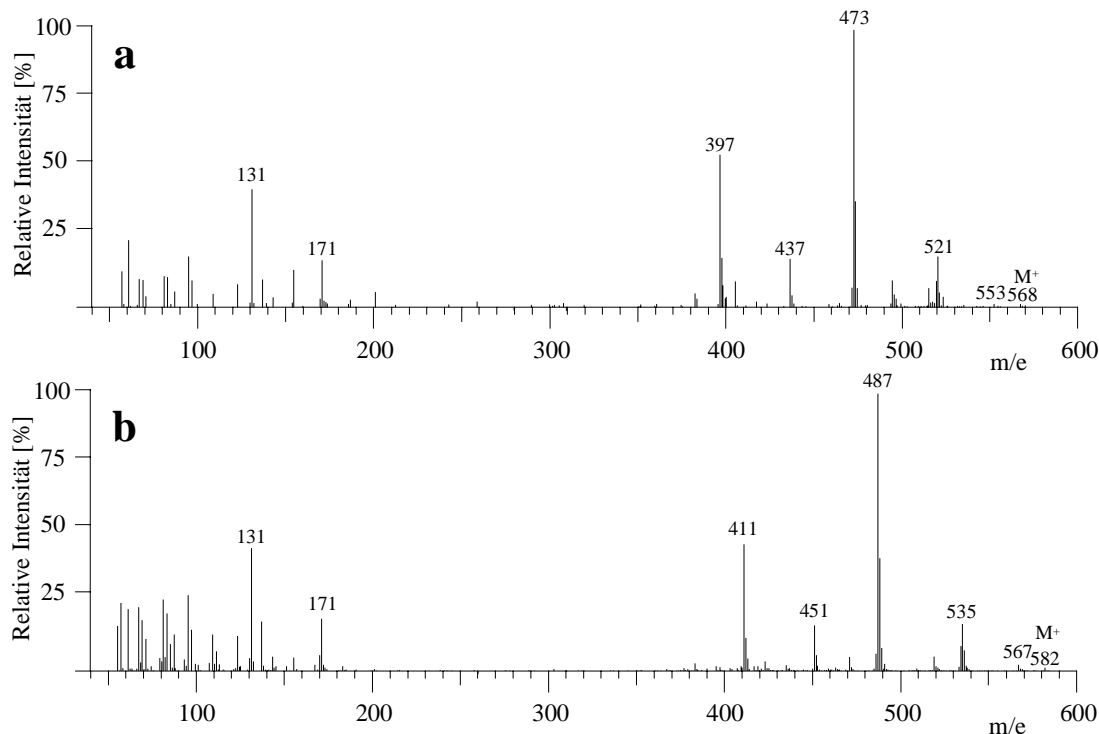
13 iso-Tritriacontan, 14 n-Tritriacontadien, 15 n-Tritriacontatrien, 16 n-Tritriacontan, 29 RT 37,8 min, 30 RT 38,2 min, 31 n-Tetracontan, 32 RT 40,6 min 33 RT 40,9 min, 34 n-Pentatriacontan

17 RT 16,1 min, 18 RT 16,7 min, 19 RT 19,6 min 20 RT 19,7 min, 35 RT 17,1 min, 36 RT 18,1 min, 37/38 RT 20,6 min, 39/40 RT 21,7 min

Geräteeinstellungen: a) wie in Abb. 3, b) wie in Abb. 8

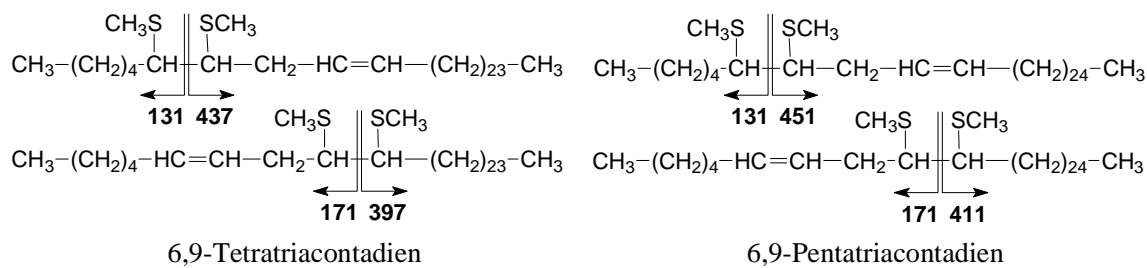
Die Massenspektren der Peaks 29 und 32 (RT 37,8 min und 40,6 min) waren dem 6,9-Tritriacontadien (Peak 14) sehr ähnlich; die Molekülpeaks waren aber um 14 bzw. 28 Massen größer. Ebenso war es bei den Peaks 30 und 33 (RT 38,2 min und 40,9 min) im Vergleich zu Peak 15 (Tritriacontatrien). Offenbar handelte es sich um die Diene und Triene des Tetra- bzw. Pentatriacontans. Abb. 19b zeigt das entsprechende Chromatogramm nach der Umsetzung von Fraktion 1 mit DMDS. Darin treten die neuen Peaks 35 – 40 auf, die aufgrund ihrer Molekülmasse mit einer Anlagerung von Methylthiogruppen oder Schwefel an Tetracontadien (Peak 29, M = 474) und Pentatriacontadien (Peak 32, M = 488) in Einklang zu bringen sind. Die Massenspektren der Peaks 35 und 36 in Abb. 20 sind den Verhältnissen bei Tritriacontadien (Abb. 10) sehr ähnlich: Die Molekülmassen m/e 568 (474 + 94) und m/e 582 (488 +

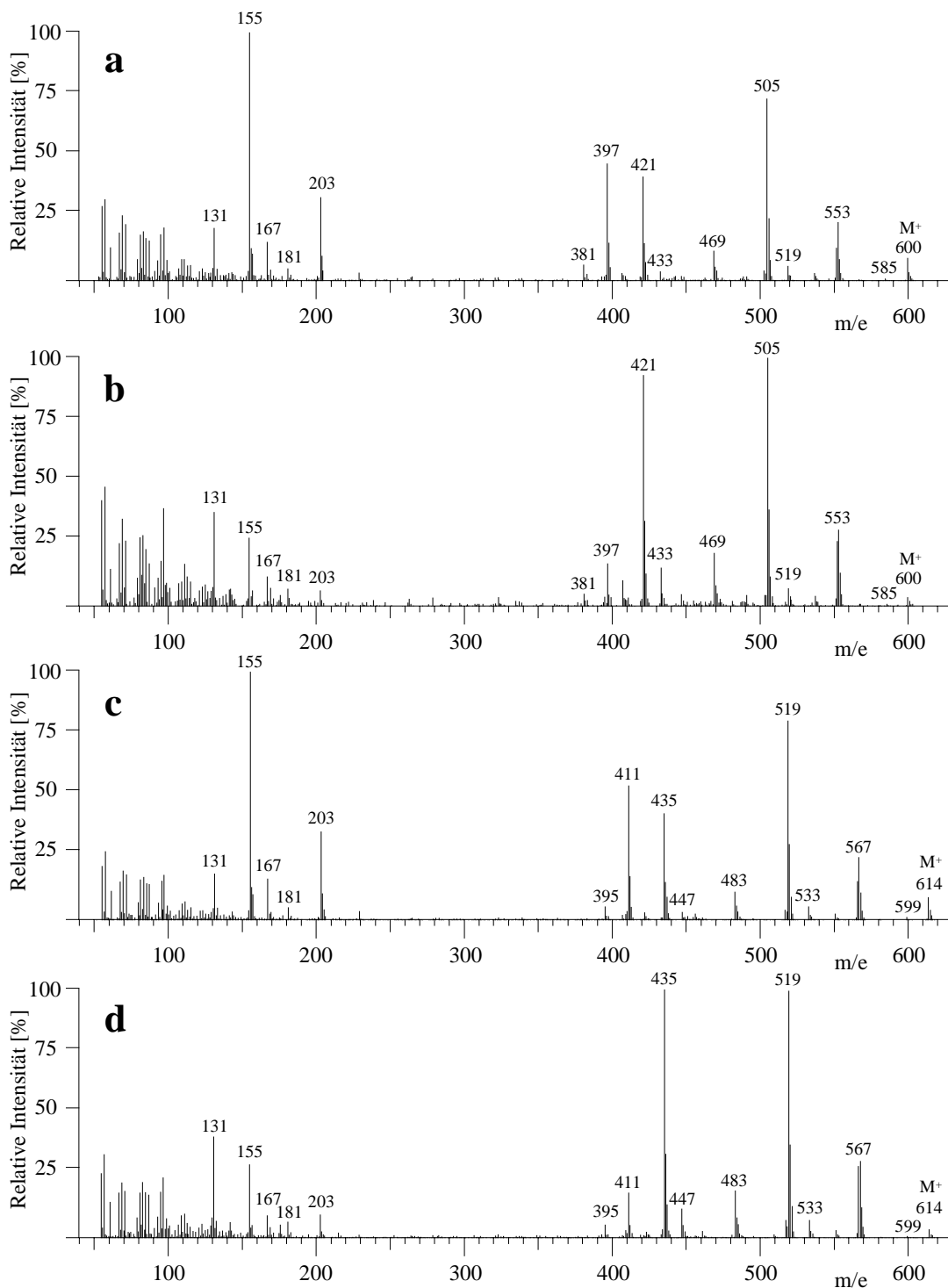
94) stammen von der Anlagerung von einem Molekül DMDS ( $M = 94$ ) an eine Doppelbindung.



**Abbildung 20:** Ausschnitt aus dem Massenspektrum von **a** Peak 35, **b** Peak 36 in Abb. 19b

Außerdem finden sich wieder die typischen Fragmente eines Methylthioethers  $M^+ - \text{CH}_3$  ( $m/e$  553 bzw. 567),  $M^+ - \text{CH}_3\text{S}$  ( $m/e$  521 bzw. 535) und  $M^+ - \text{CH}_3\text{S} - \text{CH}_3\text{SH}$  ( $m/e$  473 bzw. 487) sowie jeweils die beiden Fragmentpaare aus der Fragmentierung zwischen den Methylthiogruppen. Bei Peak 35 sind dies  $m/e$  131 und  $m/e$  437 sowie  $m/e$  171 und  $m/e$  397, bei Peak 36  $m/e$  131 und  $m/e$  451 sowie  $m/e$  171 und  $m/e$  411. Davon waren die Fragmente  $m/e$  131 und  $m/e$  171 schon bei den Derivaten des 6,9-Tritriacontadiens aufgetreten; nur sind hier die zugehörigen Teilfragmente um jeweils 14 bzw. 28 Atommassen größer. Die Doppelbindungen in Tetra- und Pentatriacontan müssen sich daher an den gleichen Positionen wie bei 6,9-Tritriacontadien befinden:

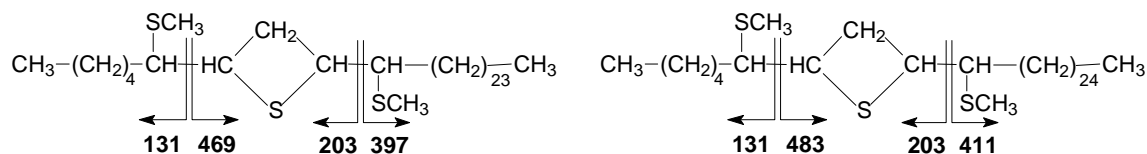




**Abbildung 21:** Ausschnitt aus dem Massenspektrum von **a** Peak 37, **b** Peak 38, **c** Peak 39 und **d** Peak 40 in Abb. 19b

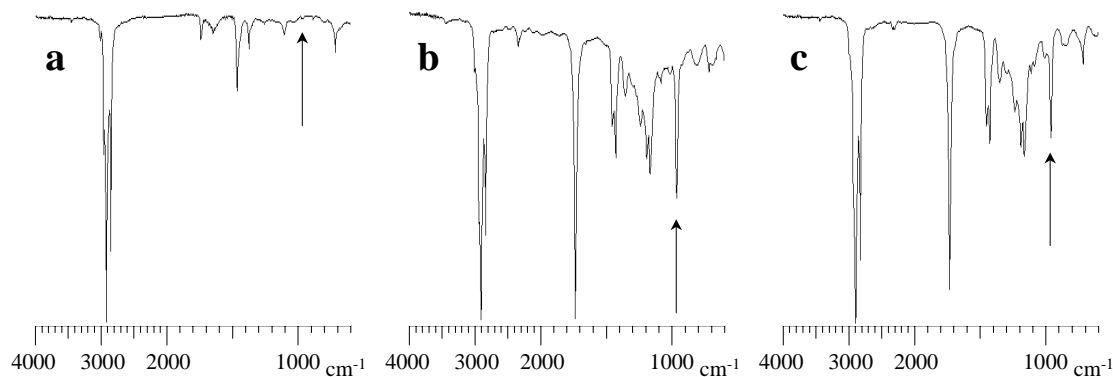
Bei den Peaks 37, 38 und 39, 40 in Abb. 19 waren die Molekülmassen um 32 Massen größer als bei den Peaks 35 und 36. Ähnlich wie beim 6,9-Tritriacontadien (Peak 19 und 20) waren dies die Derivate mit einer cyclischen Thioetherstruktur. Dies wird bestätigt beim Vergleich

der Fragmentierungsmuster der Peaks 37 bis 40 (Abb. 21) mit den Peaks 19 und 20 (Abb. 10), denn die Peaks über etwa  $m/e$  350 sind nur um 14 bzw. 28 Atommassen verschoben:



### 3.5 Isolierung durch Silberionen-DC und IR-Spektrometrie

Die Derivatisierung einer Doppelbindung mit DMDS oder ihre Spaltung durch Ozonolyse ergibt nur ihre Lage, jedoch nicht die Konfiguration. Informationen liefert z.B. die IR-Spektrometrie, denn eine trans-Doppelbindung führt zu einer starken Bande zwischen 980 und 965  $\text{cm}^{-1}$  (Deformationsschwingung  $\delta(\text{C-H})$  „out-of-plane“); eine cis-Doppelbindung zeigt dagegen kein entsprechendes Signal [101]. Fraktion 1 des Wachses der Sorte „Ferrari“ (Abb. 3) wurde deshalb zunächst durch präparative DC an mit Silbernitrat belegtem Kieselgel mit Hexan als Fließmittel aufgetrennt [102]. Das Besprühen etwa eines Fünftels der Platte mit 2,7-Dichlorfluorescein zeigte zwei im UV-Licht (254 nm) sichtbare Banden (Rf 0,17 und Rf 0,99). Der nicht besprühte Teil jeder Bande wurde von der Platte geschabt, dreimal mit etwa 1 ml Hexan extrahiert und durch GC/MS untersucht. Die Bande mit Rf 0,99 bestand nur aus den Alkanen der Fraktion 1, die Bande mit Rf 0,17 nur aus 6,9-Tritriacontadien. Die Lösung dieser Bande wurde in mehreren Anteilen zu etwa 50  $\mu\text{l}$  auf ein Natriumchloridfenster gegeben und das Hexan im Stickstoffstrom verdampft. Vom Rückstand wurde das IR-Spektrum aufgenommen.



**Abbildung 22:** IR-Spektrum von **a** Bande Rf 0,17, **b** trans,trans-Linolsäuremethylester, **c** trans-Ölsäuremethylester

Geräteinstellungen: FT-IR-Spektrometer (Fa. Perkin-Elmer, Düsseldorf, Modell Spectrum 1000), Auflösung: 1,0  $\text{cm}^{-1}$ , Bereich 4000 bis 600  $\text{cm}^{-1}$

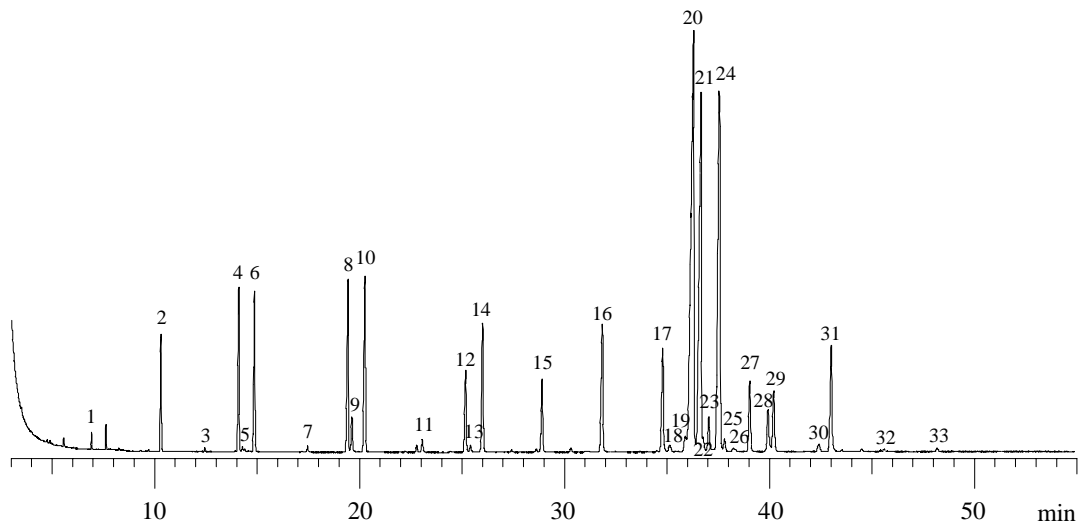
Wie Abb. 22a zeigt, ist beim Tritriacontadien im Bereich von 980 – 965  $\text{cm}^{-1}$  (Pfeil) keine Absorption zu erkennen. Entweder liegen beide Doppelbindungen in cis-Stellung vor oder eine trans-Bande wird bei dem großen Molekül nicht empfindlich genug angezeigt. Zum Ver-

gleich wurden deshalb die IR-Spektren von zwei trans-Fettsäuremethylestern aufgenommen. Die trans-Bande ist bei zwei trans-Doppelbindungen im Molekül (trans,trans-Linolsäuremethylester, Abb. 22b) intensiver, als wenn nur eine vorhanden ist (trans-Ölsäuremethylester, Abb. 22c), jedoch ist sie auch hier noch deutlich zu erkennen. Auch bei einem etwas größeren Molekül wie 6,9-Tritriacontadien müßte demnach eine trans-Doppelbindung durch eine entsprechende Bande angezeigt werden. Da dies nicht der Fall war, liegen beide Doppelbindungen in 6,9-Tritriacontadien in der cis-Konfiguration vor.

Zur Konfiguration der Doppelbindungen in den anderen Alkenen der Fraktion 1 konnte wegen der zu geringen Mengen keine Aussage gemacht werden.

## 4 Identifizierung der Komponenten in der Tomatenwachs-Fraktion 2 (Fett- und Triterpenalkohole und Fettsäuren)

Abb. 23 zeigt das Gaschromatogramm der silylierten Bestandteile in Fraktion 2 des Waxes der Sorte „RZ 72-00“. Auf dieses Chromatogramm wird in den weiteren Abschnitten von Kapitel 4 immer wieder Bezug genommen.



**Abbildung 23:** Gaschromatogramm der Fraktion 2 (Hexan/TBME, 3 + 1) des Tomatenwachses der Sorte „RZ 72-00“ nach Umsetzung mit TMSI

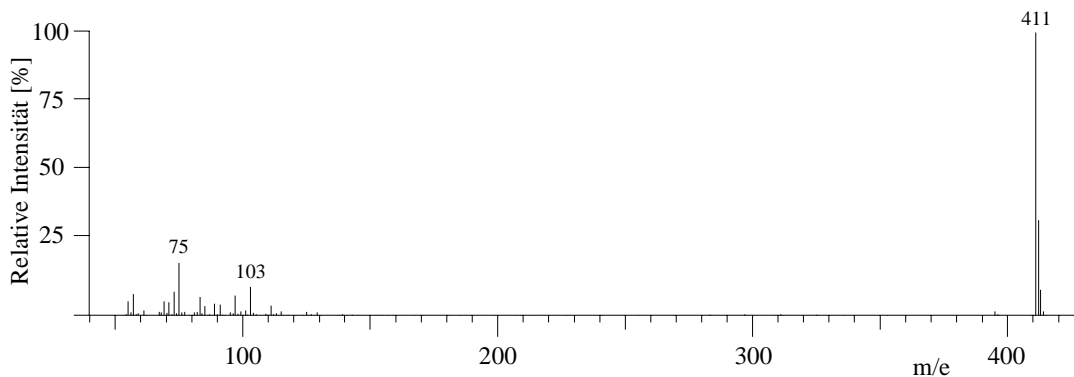
1 Octadecanol, 2 Eicosanol, 3 Heneicosanol, 4 Docosadienol, 5 Docosatrienol, 6 Docosanol, 7 Tricosanol, 8 Tetracosadienol, 9 Tetracosatrienol, 10 Tetracosanol, 11 Pentacosanol, 12 Hexacosadienol, 13 Hexacosatrienol, 14 Hexacosanol, 15 Heptacosanol, 16 Octacosanol, 17 Nonacosanol, 18 Stigmasterol, 19 Taraxerol, 20  $\delta$ -Amyrin, 21  $\beta$ -Amyrin, 22  $\beta$ -Sitosterol und Germanicol, 23 RT 37 min, 24  $\alpha$ -Amyrin, 25 Lupeol, 26 Cycloartenol, 27 Multiflorenol, 28  $\psi$ -Taraxasterol, 29 Taraxasterol, 30 RT 42,4 min, 31 Dotriacontanol, 32 Tritriacontanol, 33 Tetratriacontanol

Geräteeinstellungen wie in Abb. 3

### 4.1 Gesättigte Fettalkohole und Fettsäuren

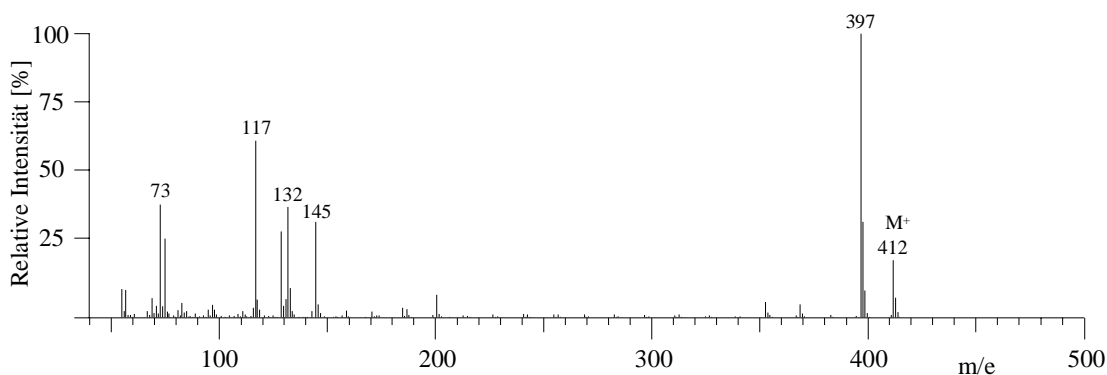
Der Bereich bis etwa 27 min enthält hauptsächlich die geradzahligen, gesättigten Fettalkohole von  $C_{18}$  bis  $C_{26}$  (Peaks 1, 2, 6, 10 und 14) sowie geringe Anteile der ungeradzahligen Homologen (Peaks 3, 7 und 11). Sie wurden anhand ihrer Massenspektren identifiziert. Wie Abb. 24 am Beispiel des Tetracosanols ( $C_{24}$ -OH, Peak 10) zeigt, fehlt der Molekülpeak  $M^+$  ( $m/e$  426), dagegen ist Fragment  $M^+ - CH_3$  ( $M^+ - 15$ ,  $m/e$  411) besonders intensiv. Zusätzlich kommen  $Si(CH_3)_2OH^+$  ( $m/e$  75) und  $Si(CH_3)_3O=CH_2^+$  ( $m/e$  103) als relativ unspezifische Fragmente eines silylierten Alkohols vor [103].





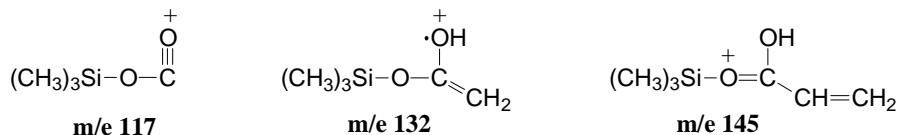
**Abbildung 24:** Massenspektrum von Peak 10 (Tetracosanol) in Abb. 23

Daneben waren in geringen Anteilen Peaks vorhanden, die anhand ihrer Massenspektren von gesättigten Fettsäuren stammen mußten.



**Abbildung 25:** Massenspektrum des TMS-Esters der Behensäure

Abb. 25 zeigt am Beispiel der Behensäure (Säure n-C<sub>22</sub>) die typischen Fragmente des TMS-Esters einer gesättigten Fettsäure. Basispeak ist M<sup>+</sup> – 15 (m/e 397) wie bei den silylierten Derivaten der Fettalkohole (Abb. 24); anders als dort ist der Molekülpeak (m/e 412) deutlich sichtbar. Die folgenden Fragmente sind charakteristisch für die silylierte Carboxylgruppe.

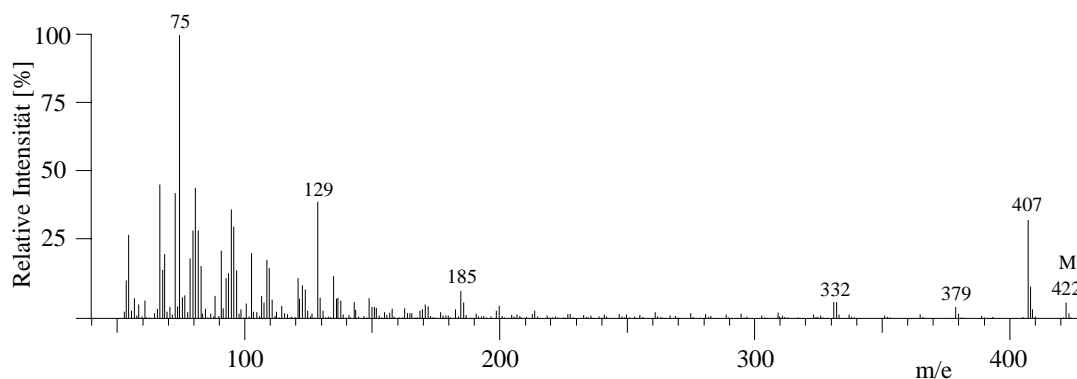


m/e 117 stammt aus dem Bruch zwischen dem Carboxylkohlenstoff und dem benachbarten Kohlenstoff der Alkylkette und m/e 132 wird durch eine McLafferty-Umlagerung gebildet; m/e 145 stammt aus einer damit verwandten Umlagerung [104].

## 4.2 Ungesättigte Fettalkohole

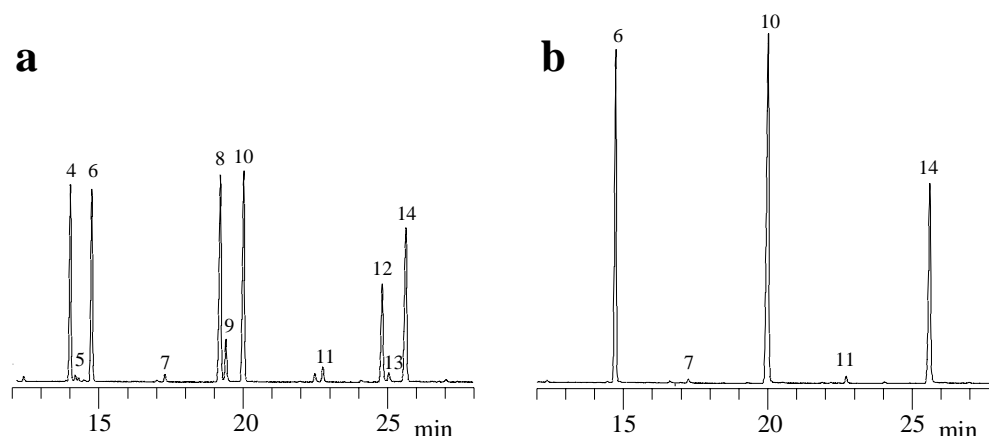
Kurz vor jedem der Fettalkohole C<sub>22</sub> (Peak 6), C<sub>24</sub> (Peak 10) und C<sub>26</sub> (Peak 14) wurden jeweils zwei Peaks mit davon abweichenden Massenspektren eluiert (Peaks 4 und 5, 8 und 9, 12 und 13). Dabei unterschied sich das Fragmentierungsmuster für die Peaks 4, 8 und 12 sowie

für 5, 9 und 13 im oberen Massenbereich nur dadurch, daß die Fragmente um 14 bzw. 28 Massen differierten. Offenbar handelt es sich um Verbindungen einer homologen Reihe. Abb. 26 zeigt beispielhaft das Massenspektrum von Peak 8. Anders als bei Tetracosanol (Abb. 24) ist der Molekülpeak  $M^+$  ( $m/e$  422) deutlich zu erkennen, allerdings hier um 4 Massen geringer.



**Abbildung 26:** Massenspektrum von Peak 8 in Abb. 23

Das Massenspektrum von Peak 9 war sehr ähnlich wie bei Peak 8; nur lag  $M^+$  nochmals zwei Massen tiefer. Dies und die Retentionszeit vor den gesättigten Fettalkoholen legt nahe, daß es sich jeweils um die gleichen Alkohole mit zwei bzw. drei Doppelbindungen handelt. Dies wurde durch Hydrieren der Fraktion 3 mit Wasserstoff an Platin(IV)-oxid bestätigt: Wie Abb. 27b zeigt, sind die Peaks 4, 5, 8, 9, 12 und 13 verschwunden und die Flächen der gesättigten Fettalkohole entsprechend angestiegen.



**Abbildung 27:** **a** Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm in Abb. 23, **b** entsprechende Stelle nach dem Hydrieren

4 Docosadienol ( $C_{22}$ -dien-OH), 5 Docosatrienol ( $C_{22}$ -trien-OH), 6 Docosanol ( $C_{22}$ -OH), 7 Tricosanol ( $C_{23}$ -OH), 8 Tetracosadienol ( $C_{24}$ -dien-OH) 9 Tetracosatrienol ( $C_{24}$ -trien-OH), 10 Tetracosanol ( $C_{24}$ -OH), 11 Pentacosanol ( $C_{25}$ -OH), 12 Hexacosadienol ( $C_{26}$ -dien-OH), 13 Hexacosatrienol ( $C_{26}$ -dien-OH), 14 Hexacosanol ( $C_{26}$ -OH)

### 4.2.1 Derivatisierung mit Nicotinsäurechlorid

Die Lage der Doppelbindung läßt sich bei Fettalkoholen besonders günstig über die Massenspektren ihrer Nicotinsäureester bestimmen, denn diese fragmentieren sehr charakteristisch: Sie werden zunächst am Stickstoffatom ionisiert; daraufhin wird ein Wasserstoff aus der Kohlenwasserstoffkette nach einer statistischen Verteilung abstrahiert. Dies führt zu einem radikalisch induzierten Kettenbruch [105, 106]:

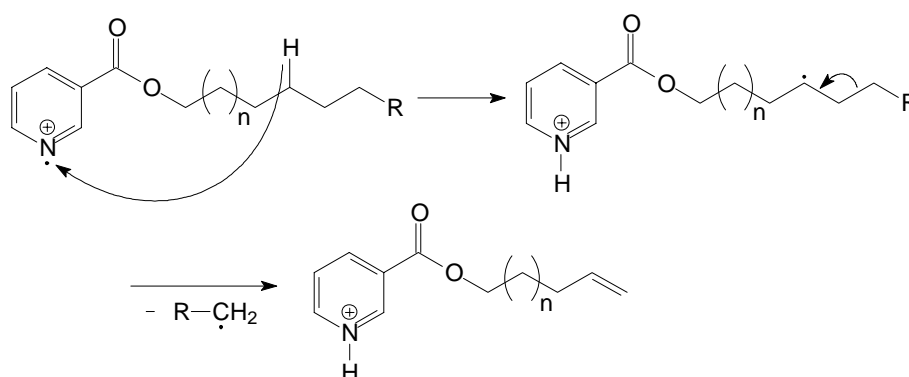
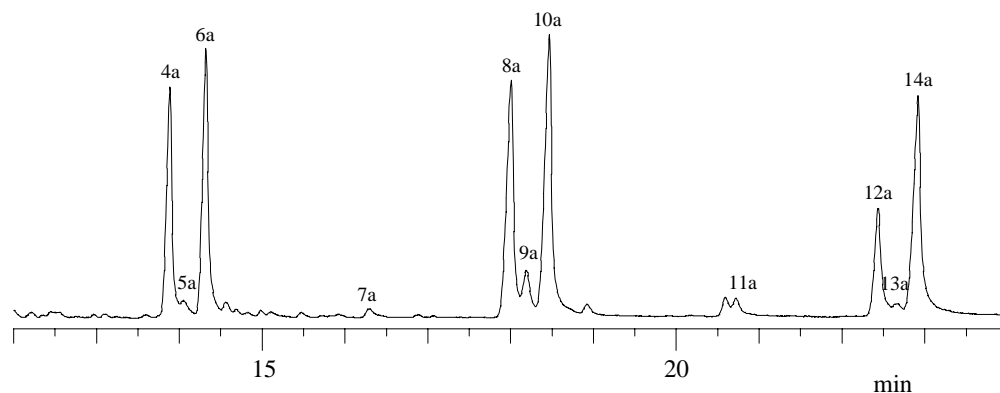


Abb. 28 zeigt die entsprechende Stelle im Gaschromatogramm, wenn Fraktion 2 nicht silyliert, sondern mit Nicotinsäurechlorid umgesetzt wurde. Die Peaks wurden über ihre Lage im Chromatogramm und das Molekülion zugeordnet (die molare Masse der Nicotinsäureester ist um 33 Massen größer als die der TMS-Ether).



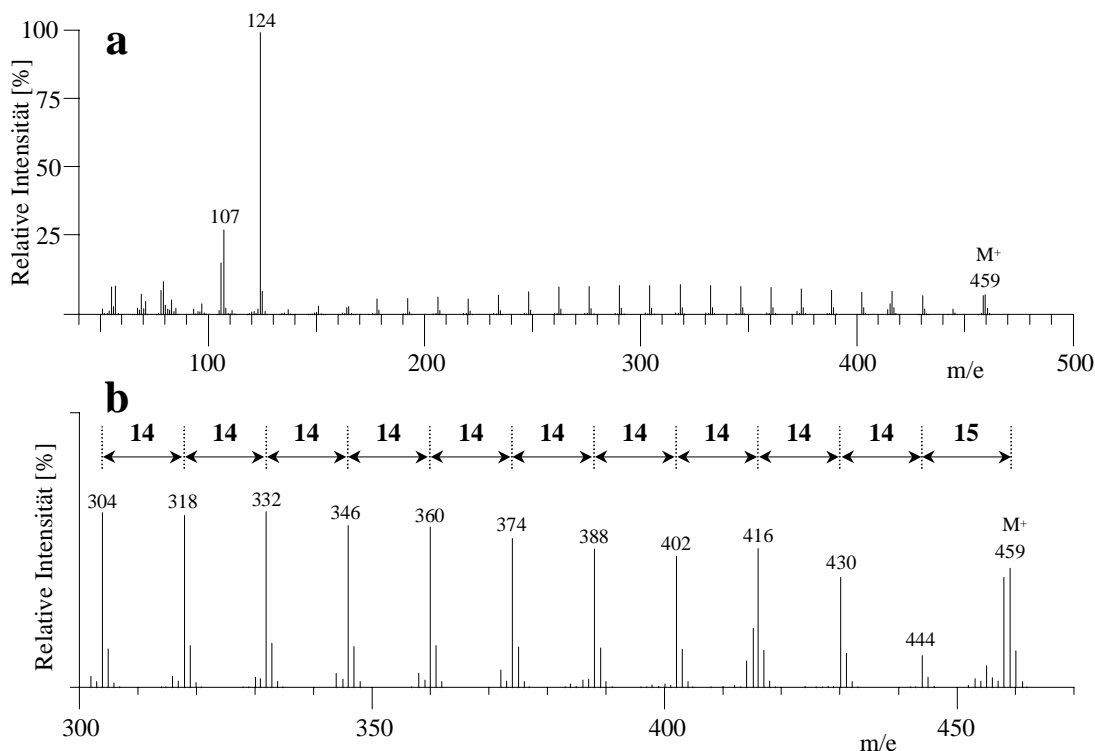
**Abbildung 28:** Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm der Fraktion 2 nach Umsetzung mit Nicotinsäurechlorid

„a“ kennzeichnet die Nicotinsäureester der entsprechenden Peaks in Abb. 27

Geräteeinstellungen wie in Abb. 3

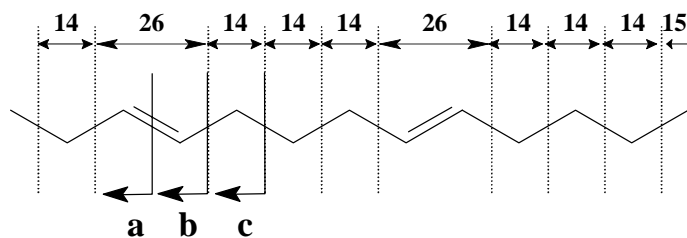
Abb. 29 zeigt das Massenspektrum des Nicotinsäureesters von Tetracosanol (Peak 10a). Der Basispeak stammt von der Abspaltung der protonierten Nicotinsäure ( $m/e$  124) [105].

Von etwa  $m/e$  170 bis  $m/e$  444 ( $M^+ - \text{CH}_3$ ,  $M^+ - 15$ ) erkennt man eine regelmäßige Abfolge von Peaks mit etwa gleicher Intensität im Abstand von 14 Atommassen. Die Fragmente unterscheiden sich also nur in der Zahl der Methylengruppen ( $m/e = 14$ ).



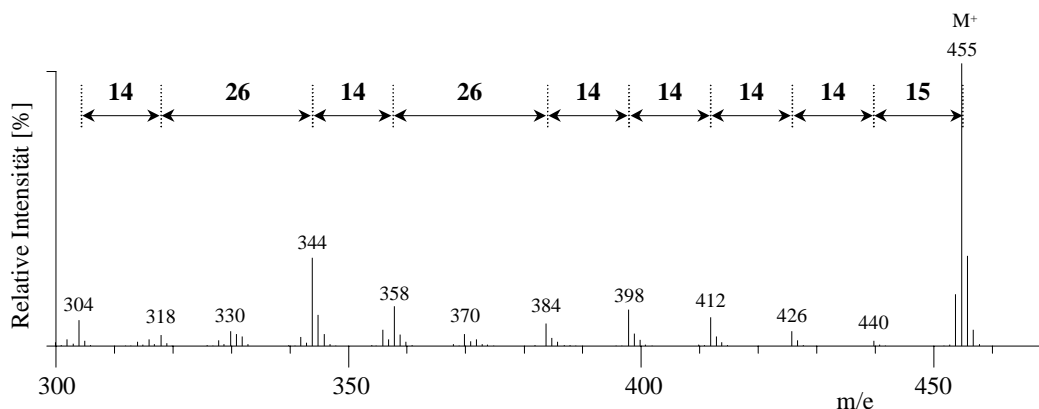
**Abbildung 29:** **a** Massenspektrum des Nicotinsäureesters von Tetracosanol (Peak 10a in Abb. 28), **b** vergrößerter Ausschnitt daraus

Sobald die Kette eine oder mehrere Doppelbindungen enthält, entstehen zusätzlich Fragmente, die sich vom übernächsten Fragment um 26 Atommassen unterscheiden [105, 107]. Sie entstehen aus dem Bruch der Bindung neben der Doppelbindung:



Das Fragment, das sich direkt aus dem Bruch der Doppelbindung (**a**) ergibt, ist etwas weniger intensiv als die benachbarten Fragmente, die durch Bruch an der Vinyl- (**b**) und Allylposition (**c**) entstehen. Wenn Doppelbindungen nur durch eine Methylengruppe getrennt sind, war Fragment **b** besonders intensiv [107]. Die Lage der Doppelbindung ergibt sich daher, wenn man vom Peak des Molekülions aus die Stelle findet, an der die Folge der CH<sub>2</sub>-Einheiten durch einen Abstand von 26 Massen unterbrochen wird. Abb. 30 zeigt den maßgeblichen Ausschnitt aus dem Massenspektrum von Peak 8a, dem Nicotinsäureester von Tetracosadienol. Wenn man es mit dem Fragmentierungsmuster von n-Tetracosanol (Abb. 29) vergleicht, ist das Molekülion m/e 455 viel intensiver als die weiteren Peaks ab m/e 300. Ausgehend von

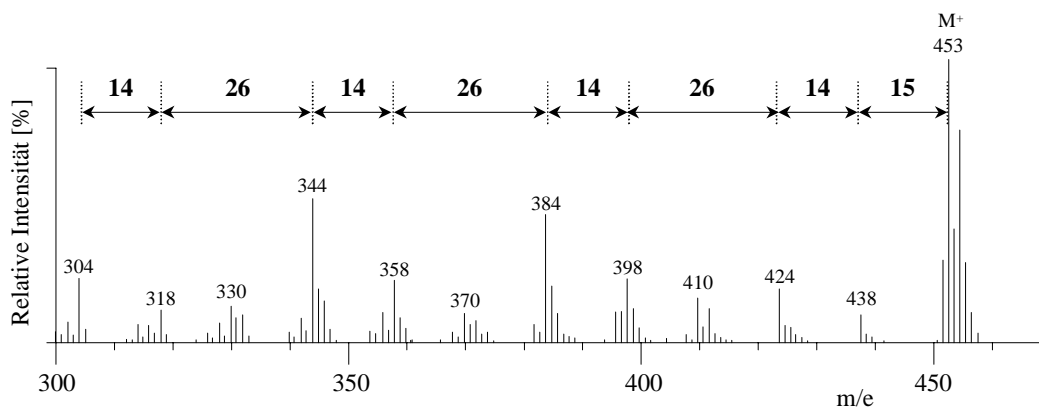
Fragment  $M^+ - CH_3$  ( $M^+ - 15$ ,  $m/e$  440) findet sich ein Abstand von 26 Massen zwischen  $m/e$  384 und  $m/e$  358 sowie zwischen  $m/e$  344 und  $m/e$  318.



**Abbildung 30:** Massenspektrum von Peak 8a in Abb. 28

Da sich demnach nur eine Methylengruppe zwischen den Doppelbindungen befindet, müßte das Fragment  $m/e$  344 aus der Spaltung an der Vinylposition etwas intensiver sein [107].

Dies wird durch Abb. 30 bestätigt. Die Doppelbindungen liegen daher an den Positionen  $\omega_6$  und  $\omega_9$ , und Peak 8 ist 15,18-Tetracosadien-1-ol.



**Abbildung 31:** Massenspektrum von Peak 9a (Tetracosatrienol) in Abb. 28

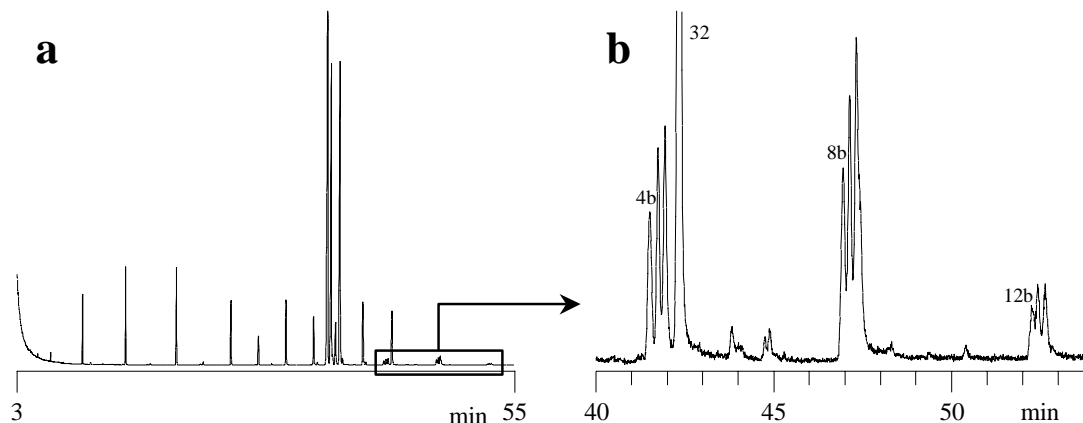
Auch im Massenspektrum von Peak 9a (Abb. 31) liegen 26 Massen zwischen  $m/e$  384 und  $m/e$  358 und zwischen  $m/e$  344 und  $m/e$  318, aber auch zusätzlich zwischen  $m/e$  424 und  $m/e$  398; außerdem sind die Fragmente an der Vinylposition  $m/e$  384 und  $m/e$  344 intensiver als die anderen. Die Doppelbindungen liegen also an den Positionen  $\omega_3$ ,  $\omega_6$  und  $\omega_9$ , und Peak 9 ist 15,18,21-Tetracosatrienol.

Analog waren die Verhältnisse bei den Massenspektren der Peaks 4a und 5a sowie 12a und 13a. Demnach stammen Peak 4 von 13,16-Docosadienol ( $\omega_6$ , 9), Peak 12 von 17,20-

Hexacosadienol ( $\omega 6$ , 9), Peak 5 von 13,16,19-Docosatrienol ( $\omega 3$ , 6, 9) und Peak 13 von 17,20,23-Hexacosatrienol ( $\omega 3$ , 6, 9).

#### 4.2.2 Derivatisierung mit DMDS

Um diese Ergebnisse auch noch auf andere Weise abzusichern, wurde Fraktion 2 der Sorte „RZ-72-00“ mit DMDS umgesetzt. Abb. 32a zeigt das Gaschromatogramm.

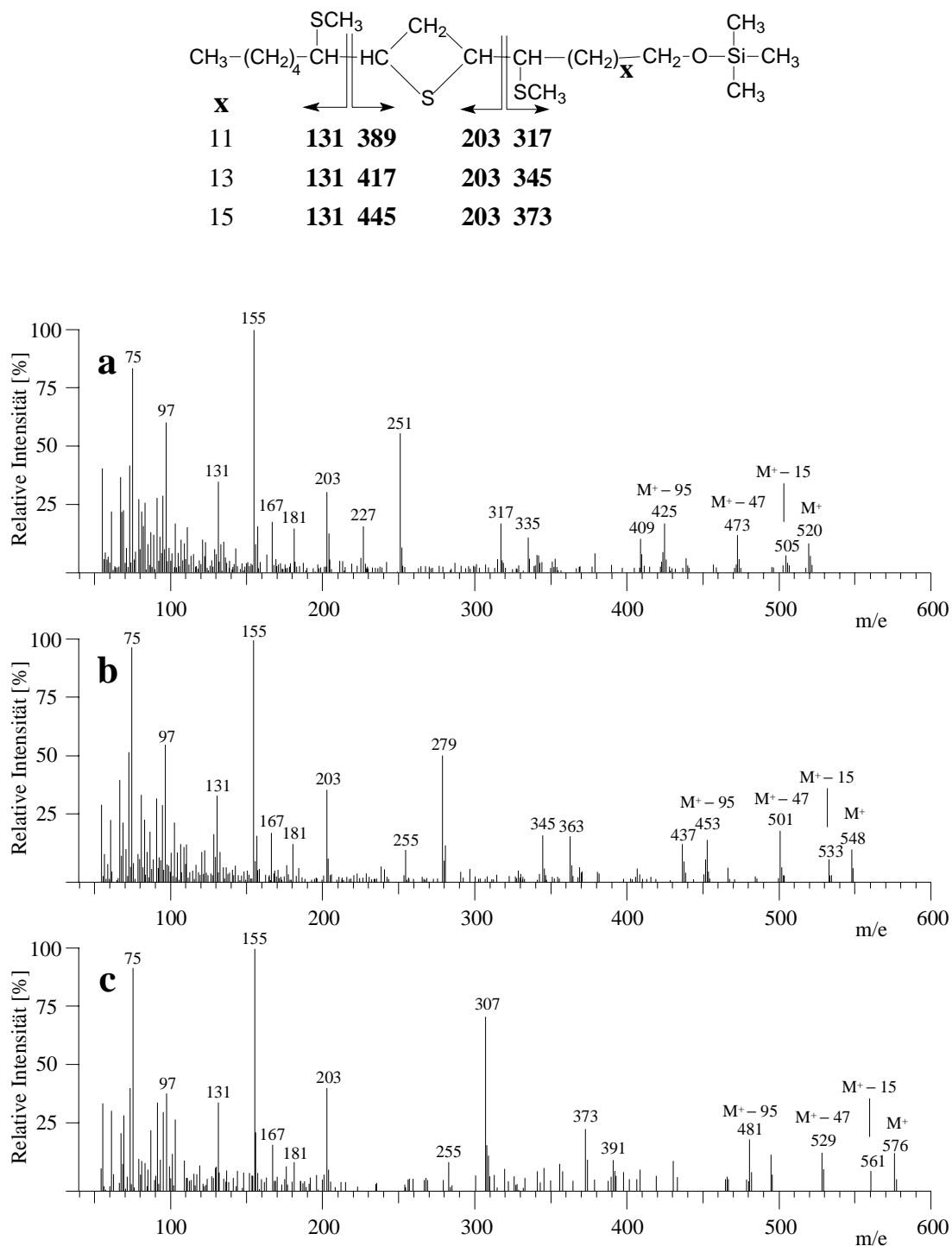


**Abbildung 32:** **a** Gaschromatogramm der Fraktion 2 nach Umsetzung mit DMDS und anschließender Silylierung, **b** Ausschnitt daraus

32 Dotriacontanol, „b“ kennzeichnet die DMDS-Derivate der entsprechenden Peaks aus Abb. 27

Geräteeinstellungen wie in Abb. 3

Wie daraus hervorgeht, sind die ungesättigten Alkohole wie nach der Hydrierung (Abb. 27b) verschwunden. Der Ausschnitt von Abb. 32b zeigt aber drei neue Peakgruppen bei etwa 41,5, 47 und 52,5 min mit jeweils drei Peaks. Anhand von  $M^+$  der Peaks *4b*, *8b* und *12b* in den Massenspektren von Abb. 33a-c wurde geprüft, ob sie mit einer Anlagerung von DMDS an die Doppelbindungen der ungesättigten Alkohole  $C_{22}$ ,  $C_{24}$  und  $C_{26}$  in Einklang standen.  $M^+$  von *4b* in der ersten Gruppe war 520, also 126 ( $94 + 32$ ) Massen größer als  $M^+$  des TMS-Ethers von Docosadienol ( $M^+$  394, Peak 4), und lässt sich durch Anlagerung von 2 Methylthiogruppen (94) und einem Schwefel (32) an Docosadienol erklären. Dasselbe gilt für *8b* in der zweiten ( $m/e$  548, Abb. 33b) und *12b* in der dritten Gruppe ( $m/e$  576, Abb. 33c). Wie bei den Alkenen haben sich also ebenfalls cyclische Thioether gebildet. Wenn sich die Doppelbindungen bei Docosa-, Tetracosa- und Hexacosadienol an den Positionen 6 und 9 befinden, haben sie folgende Struktur:



**Abbildung 33:** Massenspektrum von a Peak 4b, b Peak 8b, c Peak 12b in Abb. 32b

Abb. 33a-c zeigt jeweils die typischen Fragmente eines Methylthioethers  $M^+ - \text{CH}_3$  ( $M^+ - 15$ ),  $M^+ - \text{CH}_3\text{S}$  ( $M^+ - 47$ ) und  $M^+ - \text{CH}_3\text{S} - \text{CH}_3\text{SH}$  ( $M^+ - 95$ ). Wie bei den entsprechenden Derivaten der Alkene traten die Fragmente  $m/e$  155 (Basispeak) und  $m/e$  167 auf;  $m/e$  75 war auch schon bei den TMS-Ethern der ungesättigten Alkohole vorhanden. Der untere Massenbereich enthält auch die Fragmente  $m/e$  131 und  $m/e$  203, die aus der Fragmentierung der Bindungen

zwischen Ring und Methylthiogruppe entstanden sein müssen, aber die TMS-Gruppe nicht enthalten. Abb. 33a-c enthält aber nicht die Teilfragmente, die bei Docosa-, Tetracos- und Hexacosadienol durch Abspaltung von Fragmenten, die die TMS-Gruppe enthalten, zu erwarten wären. Im Massenspektrum der entsprechenden Derivate des Linolsäuremethylesters (Abb. 15a-c) waren die Fragmente mit dem Ring und der Estergruppe ( $m/e$  289) ebenfalls nicht vorhanden, dagegen aber Fragmente, die möglicherweise von  $m/e$  289 durch Abspaltung von  $\text{CH}_3\text{SH}$  ( $m/e$  241 aus  $289 - 48$ ) sowie  $\text{CH}_3\text{SH}$  und  $\text{CH}_3\text{OH}$  ( $m/e$  209 aus  $289 - 48 - 32$ ) stammen. Wie dort müssten auch bei den Derivaten der ungesättigten Alkohole solche Fragmente auftreten, die aus dem entsprechenden betreffenden Bruchstück durch Abspaltung von  $\text{CH}_3\text{SH}$  und  $\text{TMS-OH}$  ( $M = 90$ ) entstanden sind. Tatsächlich ist in Abb. 33a  $m/e$  251 ( $389 - 48 - 90$ ) von Docosadienol intensiv vorhanden, ebenso  $m/e$  279 ( $417 - 48 - 90$ , Abb. 33b) von Tetracosadienol und  $m/e$  307 ( $445 - 48 - 90$ , Abb. 33c) von Hexacosadienol.

Dies bestätigt nochmals, dass sich die Doppelbindungen bei den zweifach ungesättigten Fettalkoholen an den Positionen  $\omega_6$  und  $\omega_9$  befinden.

#### 4.2.3 Isolierung durch Silberionen-HPLC und IR-Spektrometrie

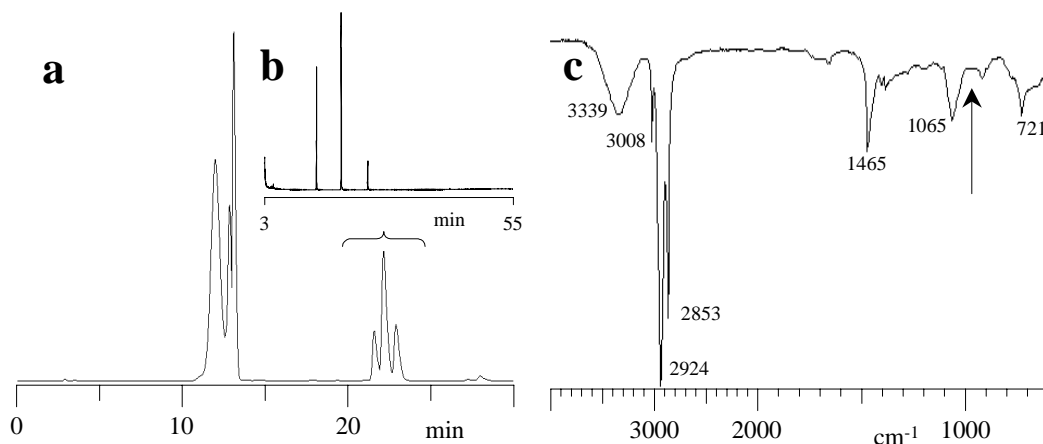
Um die Konfiguration der Doppelbindungen festzustellen, wurde zunächst wie bei den Alkenen in Fraktion 1 die Chromatographie mit Silberionen herangezogen. Hier wurde allerdings die Silberionen-HPLC erprobt, die eine bessere Trennleistung erwarten ließ und weniger Silbernitrat erfordert als die Imprägnierung einer DC-Platte. Sie ist schon häufig zur Trennung von cis- und trans-Fettsäuremethylestern und von Triglyceriden nach dem Sättigungsgrad angewendet worden [108 – 112]. Zur Durchführung gibt es mehrere Möglichkeiten, doch es erschien am günstigsten, die Silberionen fest an einen Ionenaustauscher zu binden, damit ein nachgeschalteter Detektoren nicht verunreinigt wird. Dazu wurde ein Kationenaustauscher auf Sulfonsäurebasis (Nucleosil-100 SA) in eine leere HPLC-Säule gefüllt und mit Silberionen beladen [113]. Von den zahlreichen mobilen Phasen, die bisher vorgeschlagen worden sind [108 – 112], wurde ein Gradient aus Dichlormethan und Acetonitril erprobt.

Wie Vorversuche mit Stearin-, Öl- und Linolsäuremethylester zeigten, durfte dabei der Anteil an Acetonitril nur langsam ansteigen, damit Öl- und Linolsäuremethylester getrennt wurden; mit zu wenig Acetonitril wurden dagegen ungesättigte Fettsäuremethylester erst sehr spät eluiert. Fraktioniert wurde Fraktion 2 der Sorte „Grinta“, die mit 32 % besonders viel ungesättigte Fettalkohole enthielt. Abb. 34a zeigt das Chromatogramm, bei Elution mit einem Gradienten von Dichlormethan in 20 min auf 5 % Acetonitril in Dichlormethan und mit dem Lichtstreuendetektor. Zwischen etwa 21 und 24 min wurde eine Gruppe von drei Peaks eluiert, die wegen ihrer längeren Retentionszeit ungesättigt sein mußten. Abb. 34b zeigt das GC/MS-



Chromatogramm dieser Fraktion nach dem Silylieren. Anhand der Massenspektren wurden die Peaks den drei ungesättigten Fettalkoholen Docosa-, Tetracosa- und Hexacosadienol zugeordnet.

Um genügend Substanz für die IR-Spektrometrie zu bekommen, wurde diese HPLC-Fraktionierung zehnmal wiederholt. Der Abdampfrückstand der vereinigten Fraktionen wurde in etwa 100  $\mu\text{l}$  TBME gelöst, die Lösung in Portionen zu etwa 20  $\mu\text{l}$  auf ein Natriumchloridfenster aufgetragen und das TBME vorsichtig mit Stickstoff verdampft. Abb. 34c zeigt das IR-Spektrum des Rückstandes.



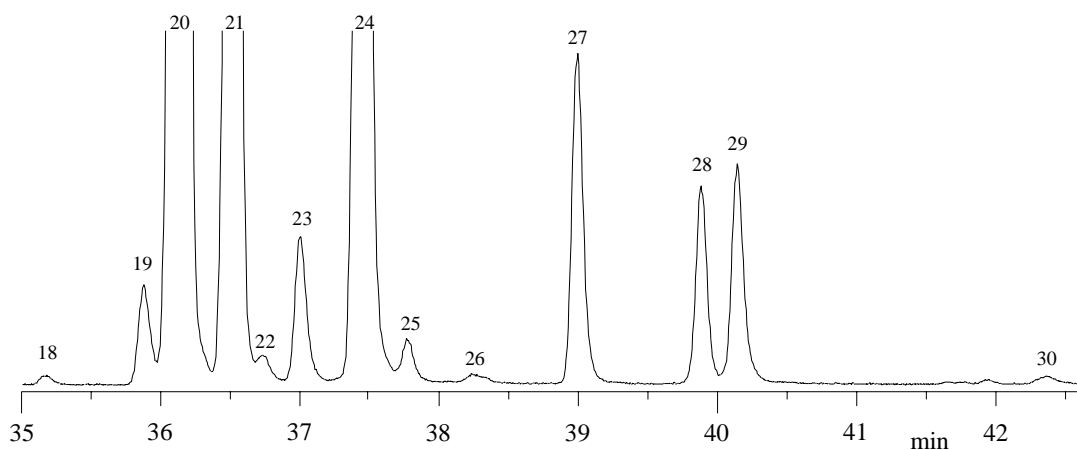
**Abbildung 34:** **a** Silberionen-HPLC-Chromatogramm von Fraktion 2 der Sorte „Grinta“, **b** Gaschromatogramm der silylierten Fraktion zwischen 21 und 24 min in **a**, **c** IR-Spektrum des Rückstandes der Fraktion zwischen 21 und 24 min in **a**

Geräteinstellungen: **a** HPLC-Säule gefüllt mit Kationenaustauscher Nucleosil SA-100 belegt mit Silberionen, 250 mm lang, 4,6 mm i.D.; Eluent: von Dichlormethan in 20 min auf 5 % Acetonitril in Dichlormethan, Fluß: 1,0 ml/min; Detektor: Lichtstreuungsdetektor bei 35 °C und 2,5 bar. **b** wie in Abb. 3; **c** wie in Abb. 22

Wesentlich darin ist der Bereich von 980 bis 960  $\text{cm}^{-1}$  (Pfeil). Dort ist keine Absorption zu erkennen, wie sie regelmäßig bei *trans*-Doppelbindungen durch „out-of-plane“-Deformationsschwingungen  $\delta(\text{C-H})$  intensiv auftritt [101]. Demnach liegen die Doppelbindungen der drei zweifach ungesättigten Fettalkohole in der *cis*-Konfiguration vor.

### 4.3 Triterpenalkohole einschließlich Sterole

Abb. 35 zeigt den vergrößerten Ausschnitt von 35 bis 42,5 min aus Abb. 23 mit den Peaks der silylierten Sterole und Triterpenalkohole. Die Massenspektren der Peaks 19 – 30 zeigten alle ein Molekülion  $\text{M}^+$  von  $m/e$  498 und wichen stark von den Spektren der Fettalkohole ab. Wenn Fraktion 3 unsilyliert injiziert wurde, verschob sich  $\text{M}^+$  nach  $m/e$  426 ( $498 - (\text{CH}_3)_3\text{Si} + \text{H}$ ), was auf eine OH-Gruppe hindeutet. Danach können die Peaks 19 – 30 also z.B. von Triterpenolen ( $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ ,  $m/e$  426) stammen.



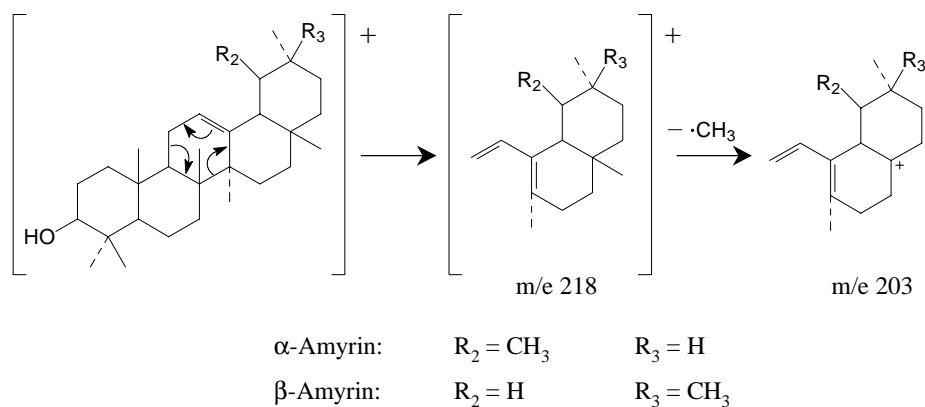
**Abbildung 35:** Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm in Abb. 23

18 Stigmasterol, 19 Taraxerol, 20  $\delta$ -Amyrin, 21  $\beta$ -Amyrin, 22  $\beta$ -Sitosterol und Germanicol, 23 RT 36,9 min, 24  $\alpha$ -Amyrin, 25 Lupeol, 26 Cycloartenol, 27 Multiflorenol, 28  $\psi$ -Taraxasterol, 29 Taraxasterol, 30 RT 42,2 min

In Wachsen sind bislang schon zahlreiche Triterpene gefunden worden, vor allem mit einem Ursan-, Olean- oder Lupangrundgerüst.

Die meisten Triterpene sind nicht als Vergleichssubstanzen verfügbar. Zur Strukturaufklärung wären besonders die NMR-Spektren geeignet, doch machen z.B. die Peaks 19, 22 oder 25 nur etwa 0,3 – 1 % von Fraktion 3 aus, entsprechend etwa 0,1 – 0,3 % im gesamten Wachs. Eine Isolierung dieser Stoffe wäre damit nur mit hohem Aufwand möglich. Deshalb wurde versucht, über die Massenspektren Hinweise auf die Strukturen zu bekommen und diese Befunde gezielt durch Vergleich mit authentischen Substanzen, mit publizierten Massenspektren oder mit geeigneten Pflanzenextrakten zu erhärten.

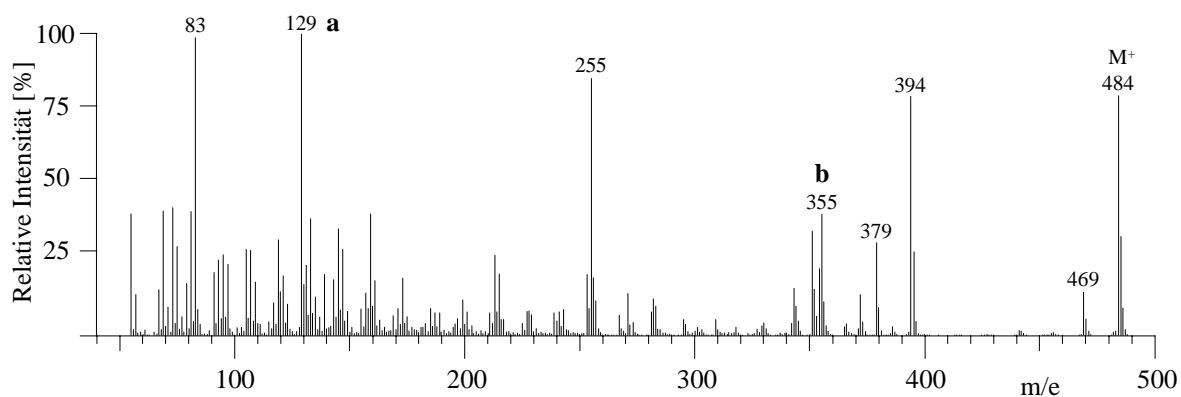
Das Grundgerüst und die Lage der Doppelbindungen beeinflussen charakteristisch die Fragmentierung, so daß das Massenspektrum oft schon eine Zuordnung zu einer bestimmten Stoffgruppe ermöglicht. Die zur Interpretation wichtigen Massen befinden sich meist zwischen  $m/e$  150 bis  $m/e$  400 [114, 115].



So ergibt ein Ursan oder Olean mit einer Doppelbindung an C<sub>12</sub> (z.B.  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin) besonders intensive Fragmente, die durch eine Retro-Diels-Alder-Reaktion (RDA-Reaktion) in Ring C entstanden sind [114 – 118].

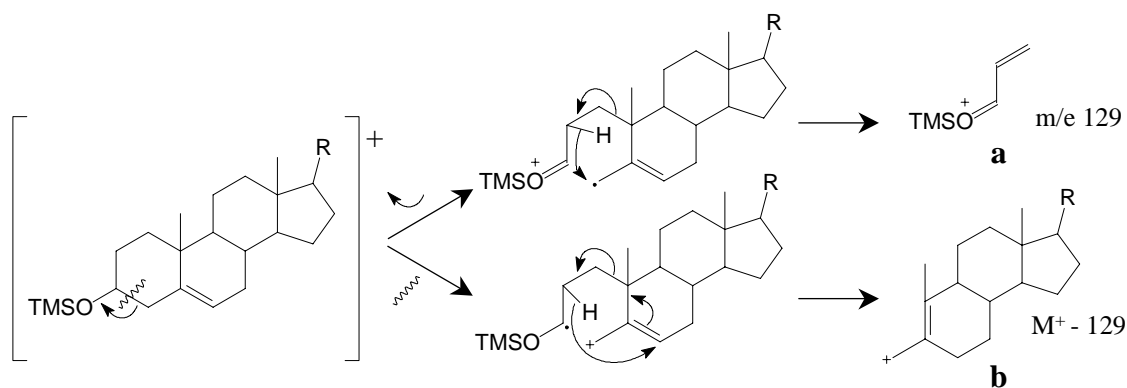
#### 4.3.1 Peak 18 (Stigmasterol)

Abb. 36 zeigt das Massenspektrum von Peak 18. Sein Basispeak m/e 129 (Fragment **a**) tritt bei TMS-Ethern von 3-Sterolen mit einer Doppelbindung zwischen C<sub>5</sub> und C<sub>6</sub> auf [119].



**Abbildung 36:** Massenspektrum von Peak 18 in Abb. 35

Er stammt von C<sub>1</sub> bis C<sub>3</sub> einschließlich der TMS-Gruppe aus der Fragmentierung von Ring A. Außerdem finden sich m/e 469 ( $M^+ - 15$ ,  $M^+ - \text{CH}_3$ ), m/e 394 ( $M^+ - 90$ ,  $M^+ - (\text{CH}_3)_3\text{Si-OH}$ ), m/e 379 ( $M^+ - 15 - 90$ ,  $M^+ - \text{CH}_3 - (\text{CH}_3)_3\text{Si-OH}$ ) sowie m/e 355 (Fragment **b**,  $M^+ - 129$ ), das die Ringe B, C und D enthält [119]:

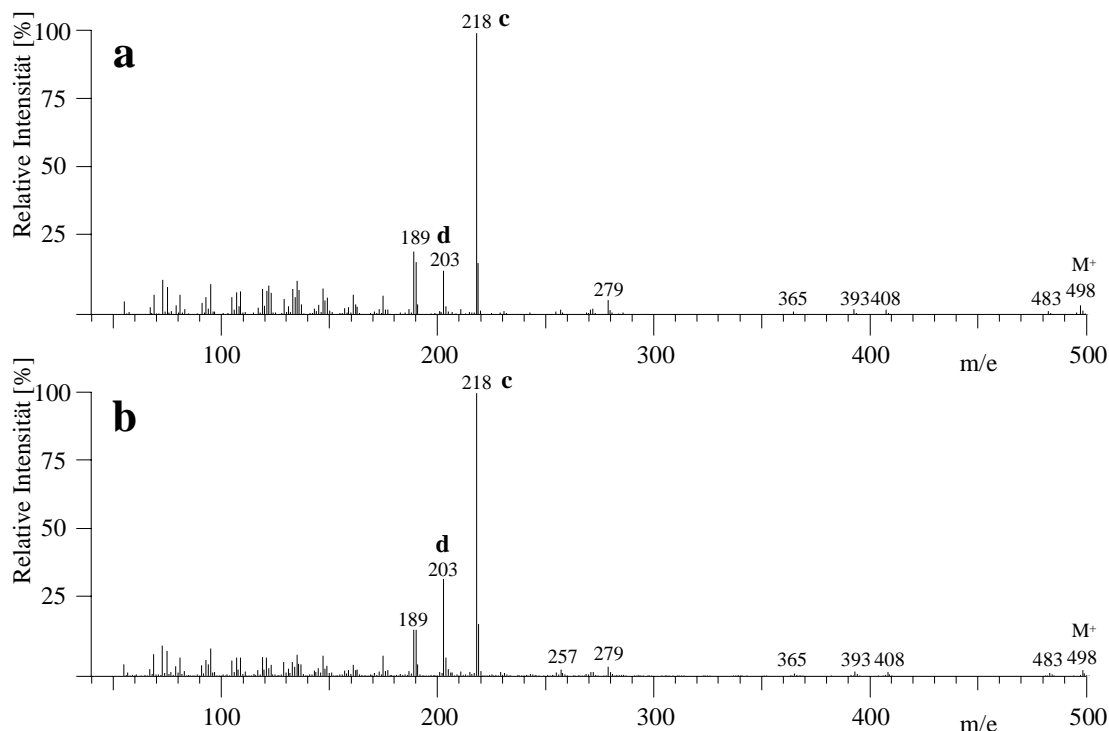


Nach der molaren Masse 484 sowie der Retentionszeit und dem Massenspektrum einer Vergleichssubstanz handelt es sich um Stigmasterol.

#### 4.3.2 Peaks 21 und 24 ( $\beta$ - und $\alpha$ -Amyrin)

Bei früheren Arbeiten [56, 57] sind  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin bereits in Tomatenwachs gefunden worden. Wie Abb. 37a für das silylierte  $\alpha$ -Amyrin zeigt, ist Fragment **c** (m/e 218) Basispeak und Fragment **d** (m/e 203) etwas weniger intensiv als bei  $\beta$ -Amyrin (Abb. 37b). Da hier Ring

A nicht beteiligt ist, haben **c** und **d** auch bei unterschiedlicher Substitution an C<sub>3</sub> die gleiche Masse.

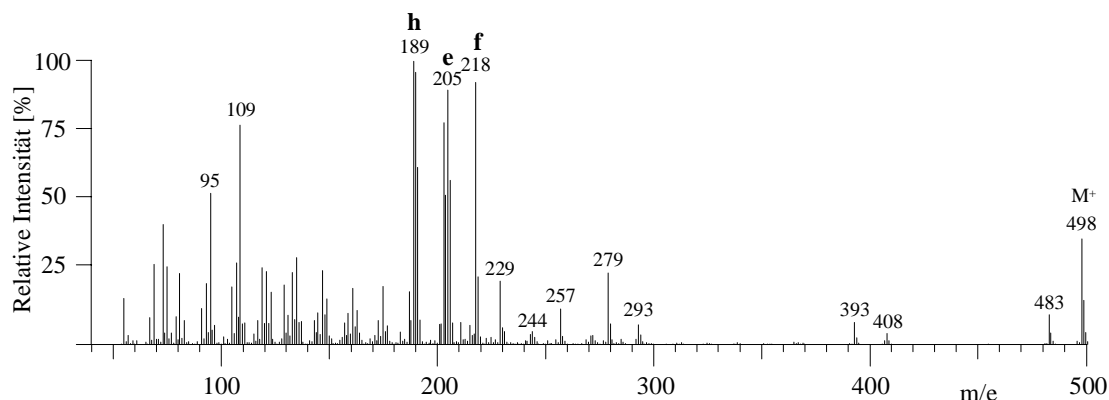


**Abbildung 37:** Massenspektren von **a** Peak 24 ( $\alpha$ -Amyrin) **b** Peak 21 ( $\beta$ -Amyrin) in Abb. 35

Zusätzlich wurden Fraktion 3 und Vergleichssubstanzen auch acetyliert, oxidiert und in freier Form zur GC an Kapillarsäulen mit Methylsilikonphasen (5 % und 50 % Phenylanteil) eingespritzt. Die Retentionszeiten nahmen dabei in der Reihenfolge silyliert, oxidiert, unsilyliert und acetyliert zu; die unsilylierten Peaks zeigten jedoch starkes Tailing und waren nicht sehr intensiv. In den Massenspektren (Anhang Abb. A und B) verschoben sich dabei nur die Fragmente, die Ring A enthalten. Auf diese Weise ließ sich die Fragmentierung besser mit Literaturspektren vergleichen, denn oft wird oft nur eines der vier Derivate beschrieben.

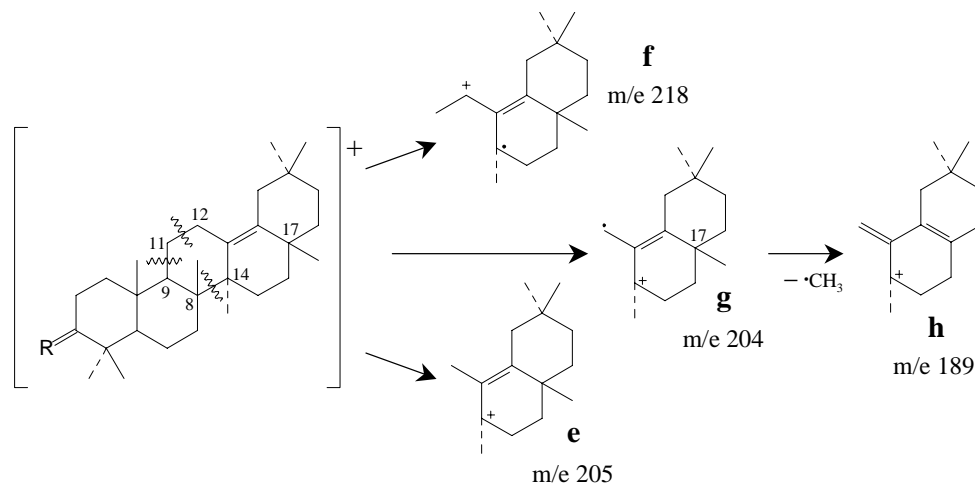
### 4.3.3 Peak 20 ( $\delta$ -Amyrin)

Peak 20 aus Abb. 35, dessen Massenspektrum Abb. 38 zeigt, wurde kurz vor  $\beta$ -Amyrin eluiert und war die Hauptkomponente von Fraktion 2. Besonders intensiv waren der Basispeak m/e 189 und die Fragmente m/e 190, m/e 203, m/e 205 und m/e 218. m/e 189 deutet auf ein Lupangerüst hin, m/e 218 dagegen auf ein Ursan oder Olean [117, 118]. Bei der acetylierten, unsilylierten und oxidierten Form (Anhang Abb. C) war jedoch m/e 205 Basispeak. m/e 189 und m/e 218 waren zwar acetyliert und unsilyliert kleiner als m/e 205, aber dennoch intensiv. Dieses Peakmuster ist bei acetylierten bzw. unsilylierten Triterpenen vom Typ des Neolupans, Ursans und Oleans mit  $\Delta^{13}(18)$  beschrieben worden [114, 117, 120].



**Abbildung 38:** Massenspektrum von Peak 20 ( $\delta$ -Amyrin) in Abb. 35

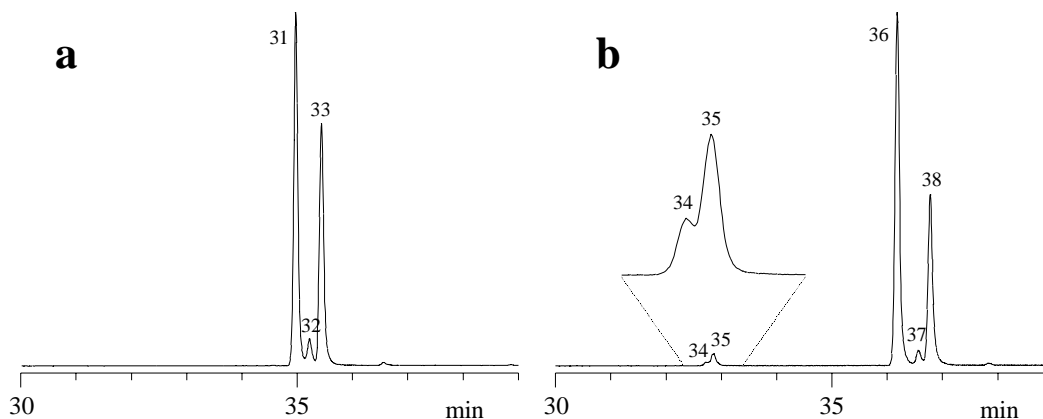
Aufgrund der Retentionszeit kam das Olean  $\delta$ -Amyrin in Frage [121]. Eine RDA-Reaktion in Ring D wie bei  $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -Amyrin führt hier nur zur Isomerisierung des Grundgerüsts, aber nicht zum Bindungsbruch. Sie ist daher nicht sichtbar, kann aber für die weitere Fragmentierung von Bedeutung sein. Für die intensiven Fragmente kann man dagegen den Bruch von Bindungen in Ring C annehmen [114, 115]. Der Bruch zwischen  $C_{11}$  und  $C_{12}$  und zwischen  $C_8$  und  $C_{14}$  führt unter Wasserstoffumlagerung zu Fragment **e** ( $m/e$  205) sowie zu Fragment **g** ( $m/e$  204), aus dem Fragment **h** ( $m/e$  189) durch Abspaltung eines Methylradikals an  $C_{17}$  entsteht. Fragment **f** ( $m/e$  218) stammt aus dem Bruch zwischen  $C_9$  und  $C_{11}$  und zwischen  $C_8$  und  $C_{14}$ .



Als Vergleich stand nur  $\delta$ -Amyrenon<sup>2)</sup> zur Verfügung, aber nicht in reiner Form (Abb. 39a). Nur die Hauptkomponente (Peak 31) war nach dem Massenspektrum  $\delta$ -Amyrenon wie in Abb. C (d) [122 – 124].

<sup>2)</sup> Herrn Prof. Dr. Eckhard Wollenweber, Institut für Botanik, Universität Darmstadt, danke ich für die Probe  $\delta$ -Amyrenon.

Das Massenspektrum von Peak 32 stimmte mit dem von  $\beta$ -Amyrenon in Abb. B (d) überein und das von Peak 33 hatte intensive Fragmente  $m/e$  177,  $m/e$  189 und  $m/e$  204, die für Germanicon (Olean-18-en-3-on) typisch sind [114, 117]. Die Vergleichssubstanz wurde mit Natriumborhydrid ( $\text{NaBH}_4$ ) reduziert [125] und silyliert und lieferte dann das Gaschromatogramm in Abb. 39b.



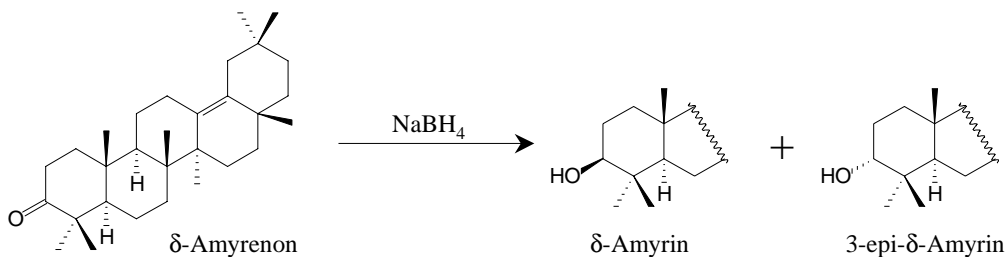
**Abbildung 39:** Gaschromatogramm **a** der  $\delta$ -Amyrenon-Vergleichsprobe, **b**  $\delta$ -Amyrenon reduziert und silyliert

31  $\delta$ -Amyrenon, 32  $\beta$ -Amyrenon, 33 Germanicon, 34 RT 33,7 min, 35 RT 33,8 min, 36  $\delta$ -Amyrin, 37  $\beta$ -Amyrin, 38 Germanicol

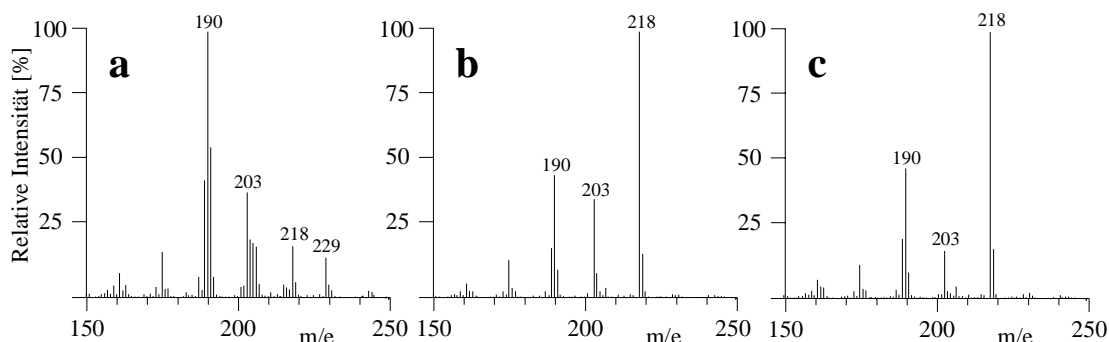
Geräteeinstellungen wie in Abb. 3

Darin war das Peakmuster zwischen 36 und 37 min ähnlich wie vor der Reduktion. Die GC/MS-Daten von Peak 36 stimmten mit Peak 20 überein; Peak 37 hatte dasselbe Massenspektrum wie  $\beta$ -Amyrin und Peak 38 wurde Germanicol zugeordnet (siehe auch 4.3.8).

Die Reduktion von  $\delta$ -Amyrenon müßte jedoch zu einem Gemisch aus  $\delta$ -Amyrin (Olean-13(18)-en-**3 $\beta$** -ol) und 3-epi- $\delta$ -Amyrin (Olean-13(18)-en-**3 $\alpha$** -ol) führen.



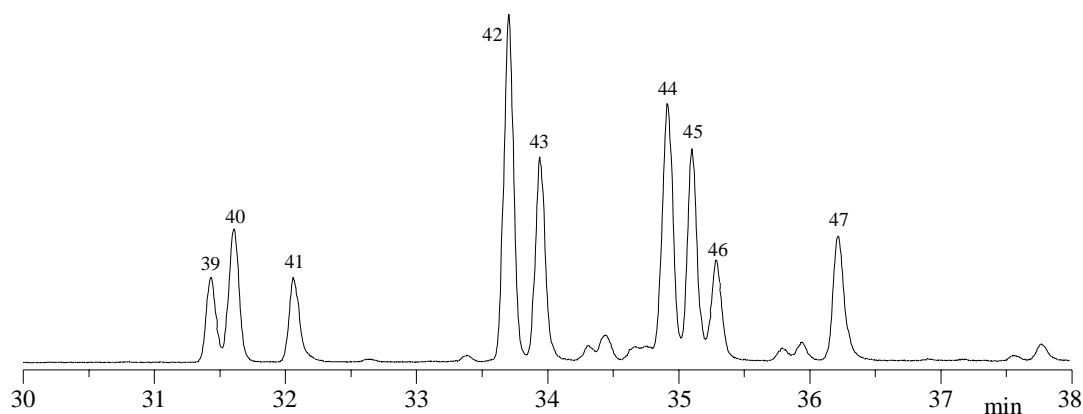
Tatsächlich enthielt Abb. 39b noch zwei kleine Peaks 34 und 35, die bei der Reduktion entstanden sind und von den entsprechenden  $3\alpha$ -Epimeren stammen können, die häufig eine geringere Retentionszeit haben [126] und bei Reduktion mit einem Hydrid nicht in gleichem Umfang wie die  $\beta$ -Isomeren entstehen [127]. Abb. 40 zeigt das Massenspektrum von Peak 35 von  $m/e$  150 bis  $m/e$  250.



**Abbildung 40:** Massenspektrum von **a** Peak 35 in Abb. 39b, **b** Peak 39 in Abb. 41, **c** Peak 41 in Abb. 41

Die ursprüngliche Vermutung ließ sich allerdings nicht erhärten, denn das Fragmentmuster unterschied sich deutlich vom Massenspektrum von Peak 20 (Abb. 38).

Bei der Reduktion von  $\delta$ -Amyrenon mit Wasserstoff war dagegen eine höhere Ausbeute des  $\alpha$ -Isomeren zu erwarten. Da zu wenig Vergleichssubstanz vorhanden war, wurde Fraktion 2 der Sorte „Rubor“ mit Pyridiniumchlorchromat (PCC) oxidiert, die vollständige Umsetzung durch GC/MS überprüft und das gebildete  $\delta$ -Amyrenon mit Wasserstoff an Platin(IV)-oxid 3 Stunden hydriert. Das Gaschromatogramm der Reaktionsprodukte (Abb. 41) enthielt nicht reduziertes  $\delta$ -Amyrenon (Peak 42),  $\beta$ -Amyrenon (Peak 43) und  $\alpha$ -Amyrenon (Peak 45) sowie die Peaks 44, 46 und 47, die durch ihr Massenspektrum  $\delta$ -,  $\beta$ - und  $\alpha$ -Amyrin zuzuordnen waren. Zusätzlich fanden sich die Peaks 39 – 41. Peak 40 hatte das gleiche Massenspektrum wie Peak 35 in Abb. 40a; bei den Peaks 39 und 41 ähnelten die Spektren denen von  $\beta$ - und  $\alpha$ -Amyrin, doch war m/e 190 intensiver (Abb. 40b und c).



**Abbildung 41:** Gaschromatogramm der Fraktion 2 der Sorte „Rubor“ nach Oxidation mit PCC, Hydrierung mit Wasserstoff an Platin(IV)-oxid und Silylieren

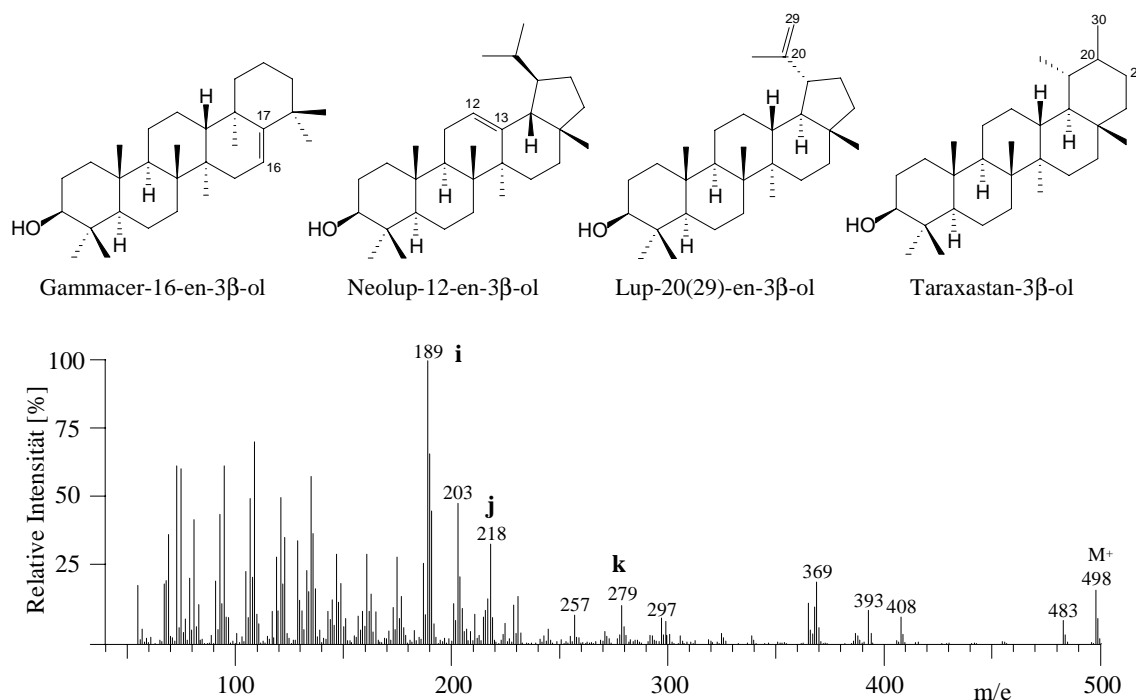
39 3-epi- $\beta$ -Amyrin, 40 3-epi- $\delta$ -Amyrin, 41 3-epi- $\alpha$ -Amyrin, 42  $\delta$ -Amyrenon, 43  $\beta$ -Amyrenon, 44  $\delta$ -Amyrin, 45  $\alpha$ -Amyrenon, 46  $\beta$ -Amyrin, 47  $\alpha$ -Amyrin

Geräteeinstellungen wie in Abb. 3, Kapillarsäule: 50 % Phenyl-50 % Methylsilikon, 30 m Länge, 0,25 mm i.D., 0,1  $\mu$ m Filmdicke

Wenn nur  $\alpha$ -Amyrin oxidiert, wieder hydriert und silyliert wurde, war ebenfalls ein Peak mit geringerer Retentionszeit vorhanden, dessen Massenspektrum mit dem von Peak 41 (Abb. 40c) übereinstimmte. Danach muß es sich also tatsächlich um die  $3\alpha$ -Epimeren von  $\beta$ - (Peak 39) und  $\alpha$ -Amyrin (Peak 41) handeln, die nun in höherer Ausbeute gebildet worden sind, und der intensive Peak 40 stammt von 3-epi- $\delta$ -Amyrin. Die Epimeren der drei Amyrine unterscheiden sich also deutlich sowohl in der Retentionszeit als auch im Fragmentierungsmuster des Massenspektrums. Peak 20 ist damit als  $\delta$ -Amyrin identifiziert.

#### 4.3.4 Peak 25 (Lupeol)

In Abb. 35 wurde Peak 25 unmittelbar nach  $\alpha$ -Amyrin eluiert. Basispeak in seinem Massenspektrum (Abb. 42) war  $m/e$  189, ähnlich wie bei Derivaten des Gammacer-16-en- $3\beta$ -ols, Neolup-12-en- $3\beta$ -ols, Lup-20(29)-en- $3\beta$ -ols und des Taraxastan- $3\beta$ -ols mit Doppelbindung zwischen  $C_{20}$  und  $C_{21}$  oder  $C_{20}$  und  $C_{30}$  [114, 115, 117, 118]:

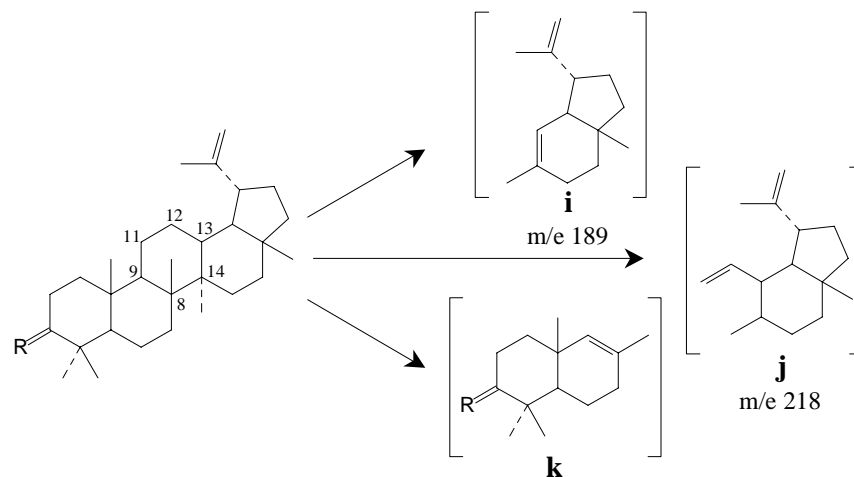


**Abbildung 42:** Massenspektrum von Peak 25 (Lupeol) in Abb. 35

Bei Neolup-12-en- $3\beta$ -ol und seinem Acetat war  $m/e$  218 fast ebenso intensiv wie der Basispeak [117]; bei Gammacer-16-en- $3\beta$ -ol und seinem Acetat hatte  $m/e$  187 etwa 70 – 80 % von dessen Intensität. Beides traf hier nicht zu. Taraxast-20(30)-en- $3\beta$ -ol (Taraxasterol) und Taraxast-20-en- $3\beta$ -ol ( $\psi$ -Taraxasterol, pseudo-Taraxasterol, Heterolupeol) unterscheiden sich nur durch die Lage der Doppelbindung und haben sehr ähnliche Massenspektren wie Lup-20(29)-en- $3\beta$ -ol (Lupeol), was die Zuordnung erschwerte. Die Lage im Chromatogramm deu-



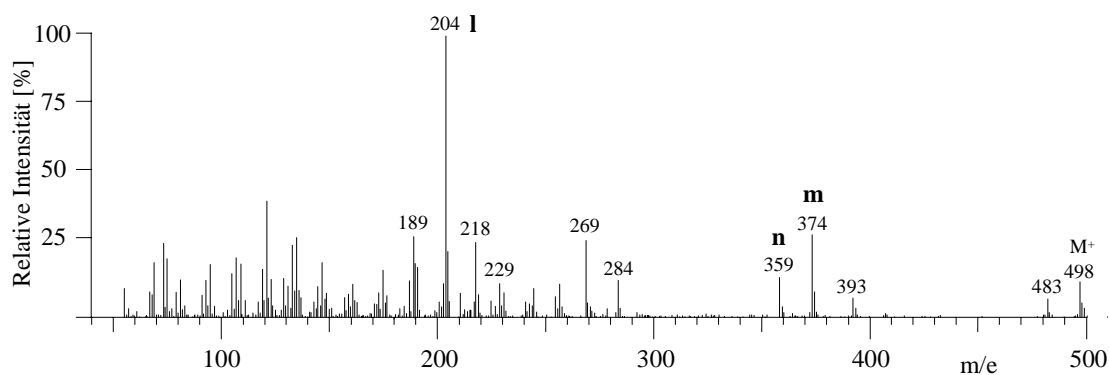
tete jedoch auf Lupeol hin, das auf DB-5 kurz nach  $\alpha$ -Amyrin eluiert wird [126]. Durch GC/MS-Vergleich mit einer Vergleichsprobe wurde dies bestätigt.



Fragment **i** ( $m/e$  189) entsteht durch Bruch zwischen  $C_8$  und  $C_{14}$  und zwischen  $C_{12}$  und  $C_{13}$  entstehen [115], Fragment **k** durch Bruch zwischen  $C_8$  und  $C_{14}$  und zwischen  $C_9$  und  $C_{11}$ . Die Masse von **k** ist je nach der Substitution an  $C_3$  verschieden (Anhang Abb. D). Alle vier Massenspektren enthalten auch  $m/e$  218 (Fragment **j**), das durch Bruch analog Fragment **k** entsteht und die Ringe D und E enthält.

#### 4.3.5 Peak 19 (Taraxerol)

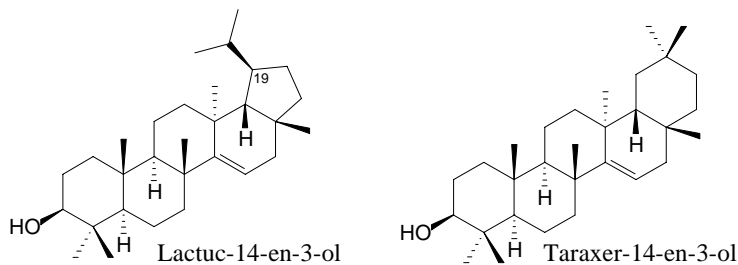
In Abb. 35 wurde Peak 19 kurz vor  $\delta$ -Amyrin (Peak 20) eluiert. In seinem Massenspektrum war Fragment **l**  $m/e$  204 der Basispeak (Abb. 43); es enthält also nicht Ring A. Auffällig sind auch Fragment **m**  $m/e$  374 und das um 15 Massen kleinere Fragment **n**  $m/e$  359.



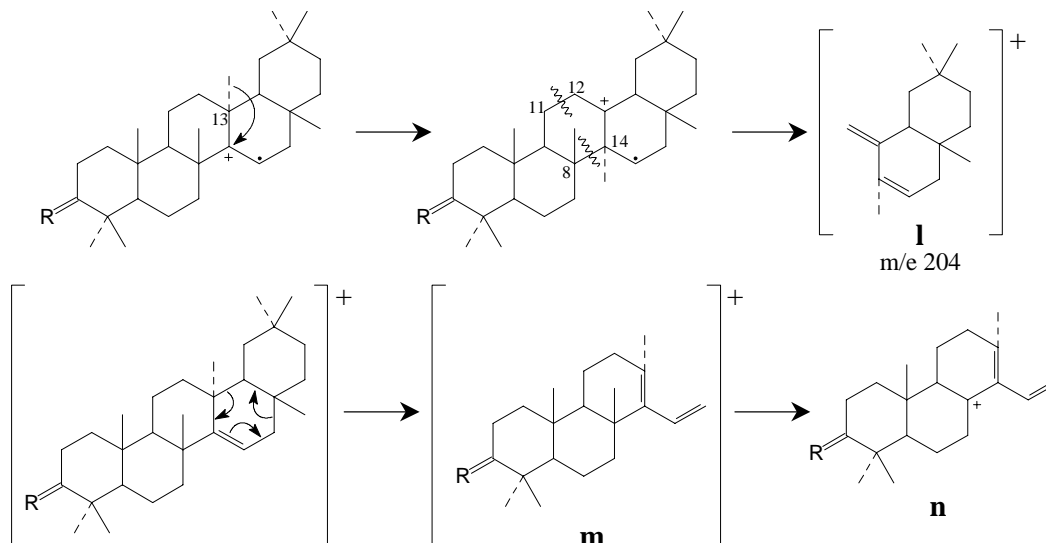
**Abbildung 43:** Massenspektrum von Peak 19 (Taraxerol) in Abb. 35

Entsprechende Fragmente ( $344 + 329$ ,  $302 + 387$  bzw.  $300 + 285$ ) traten auch bei anderer Substitution an  $C_3$  auf (Anhang Abb. E); sie waren jeweils um 124 und 139 Massen kleiner als die Molekülonen ( $m/e$  468, 426 und 424) und könnten daher Ring A enthalten. Der Ba-

sispeak m/e 204 ist z.B. bei Triterpenolen des Typs Olean-18-en-3-ol, Lactuc-14-en-3-ol und Taraxer-14-en-3-ol gefunden worden [114, 117].



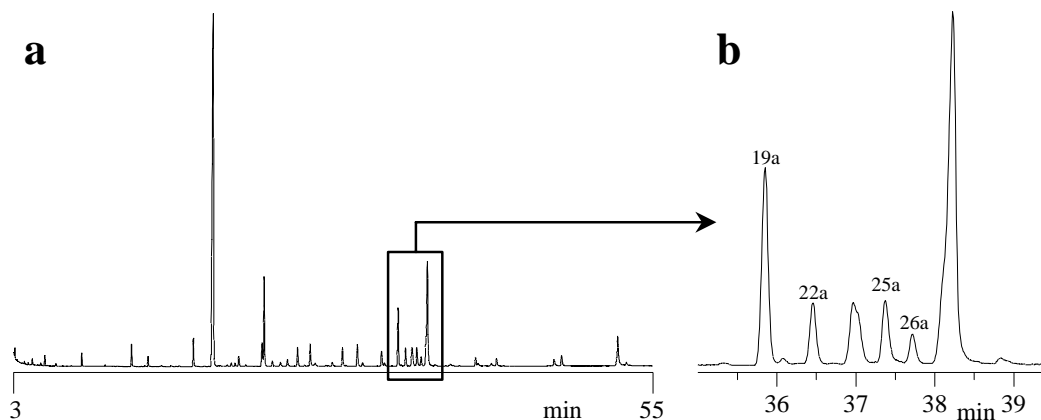
Olean-18-en-3 $\beta$ -ol kam nicht in Frage, weil andere typische Fragmente (m/e 177 und m/e 189) fehlten. Die beiden anderen fragmentieren ähnlich, doch ist für den Lactuc-14-en-3 $\beta$ -ol-Typ Fragment m/e 161 charakteristisch (Abspaltung der Isopropylgruppe an C<sub>19</sub> aus Fragment m/e 204) [117], das hier wenig auffällig war. Daher wurde vermutet, daß es sich bei Peak 19 um das silylierte Taraxer-14-en-3 $\beta$ -ol (Taraxerol) handelt.



Fragment **I** (m/e 204) entsteht, wenn an der Doppelbindung ionisiert wird; die Methylgruppe wird von C<sub>13</sub> nach C<sub>14</sub> umgelagert und es kommt zum Bruch zwischen C<sub>11</sub> und C<sub>12</sub> und zwischen C<sub>8</sub> und C<sub>14</sub> [114]. Da **I** nur aus den Ringen D und E entsteht, bleibt seine Masse auch bei unterschiedlicher Substitution an C<sub>3</sub> gleich. Durch eine RDA-Reaktion in Ring D entsteht Fragment **m** und daraus nach Abspaltung einer Methylgruppe das um 15 Massen kleinere Fragment **n**. Da beide Ring A enthalten, haben sie je nach Substitution verschiedene Massen (Anhang Abb. E).

Taraxerol soll z.B. neben  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin und Lupeol im Oberflächenwachs der Stieleiche (Deutsche Eiche, *Quercus robur*) vorkommen [128]. Daher wurden 10 Blätter aus dem Botanischen Garten der Universität Münster mit 50 ml Chloroform im Ultraschallbad extrahiert; der Extrakt wurde filtriert und im Rotationsverdampfer eingedampft. Der Rückstand

wurde in 2 ml Elutionsmittel 2 aufgenommen, die Lösung durch eine kleine Kieselgelsäule gegeben, das Eluat mit 200  $\mu$ l TMSI versetzt und zur GC/MS injiziert. Abbildung 44a zeigt das Gaschromatogramm und Abb. 44b einen Ausschnitt daraus.



**Abbildung 44:** **a** Gaschromatogramm des Rückstandes des Chloroform-Extraktes von Stieleichenblättern (*Quercus robur*) nach Aufnahme in Hexan/TBME (3 + 1), Kieselgelfraktionierung und Silylierung, **b** vergrößerter Ausschnitt daraus

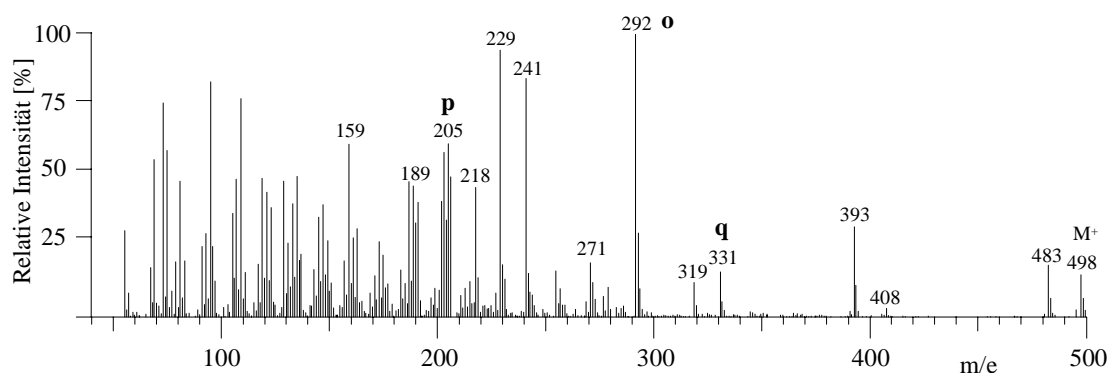
19a Taraxerol, 22a  $\beta$ -Amyrin, 25a  $\alpha$ -Amyrin, 26a Lupeol

Geräteeinstellungen wie in Abb. 3

Die einzigen Peaks, deren Massenspektren auf Triterpenole schließen ließen, wurden zwischen 35,5 und 38 min eluiert (Abb. 44b) Peak 19a stimmte in Retentionszeit und Massenspektrum mit Peak 19 in Abb. 23 überein; die Peaks 22a, 25a und 26a waren  $\beta$ - und  $\alpha$ -Amyrin und Lupeol. Peak 19a ist damit als Taraxerol identifiziert.

#### 4.3.6 Peak 27 (Multiflorenol)

Auffällig im Massenspektrum von Peak 27 in Abb. 35 (Abb. 45) sind mehrere intensive Fragmente ( $m/e$  229,  $m/e$  241,  $m/e$  205 (Fragment **p**),  $m/e$  187/189/191 und  $m/e$  218).

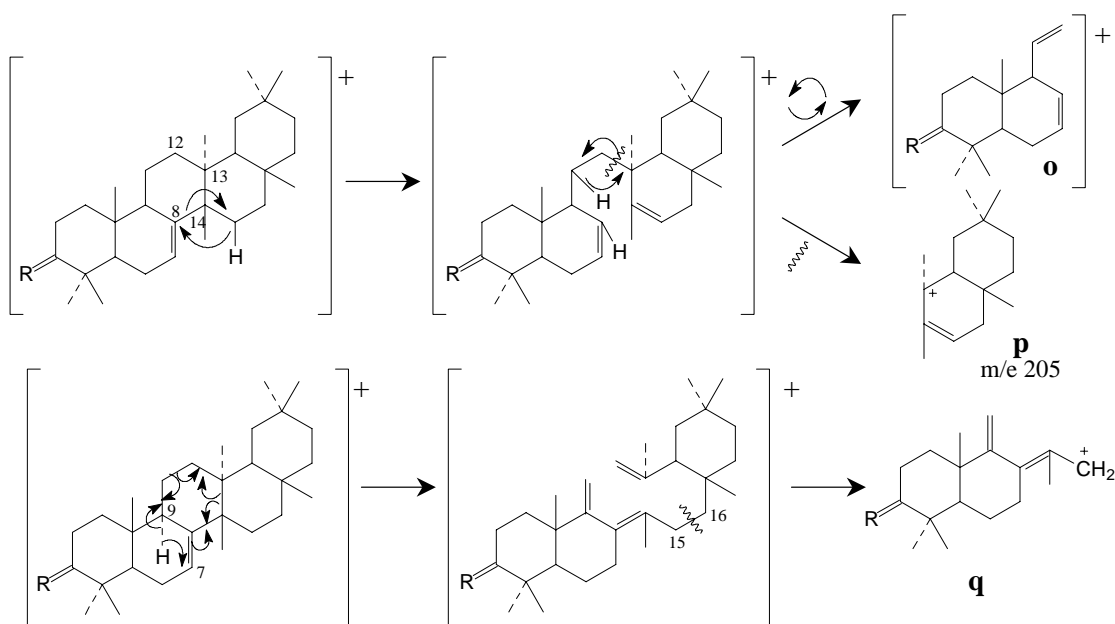


**Abbildung 45:** Massenspektrum von Peak 27 (Multiflorenol) in Abb. 35

Der Basispeak  $m/e$  292 (Fragment **o**) verschiebt sich wiederum je nach Substitution an  $C_3$  (Anhang Abb. F) und enthält also Ring A; das gleiche gilt für Fragment **q** ( $m/e$  331) und

ein Fragment mit 12 Massen weniger ( $m/e$  319). Dagegen bleibt Fragment **p** ( $m/e$  205) konstant und kann daher Ring A nicht enthalten.

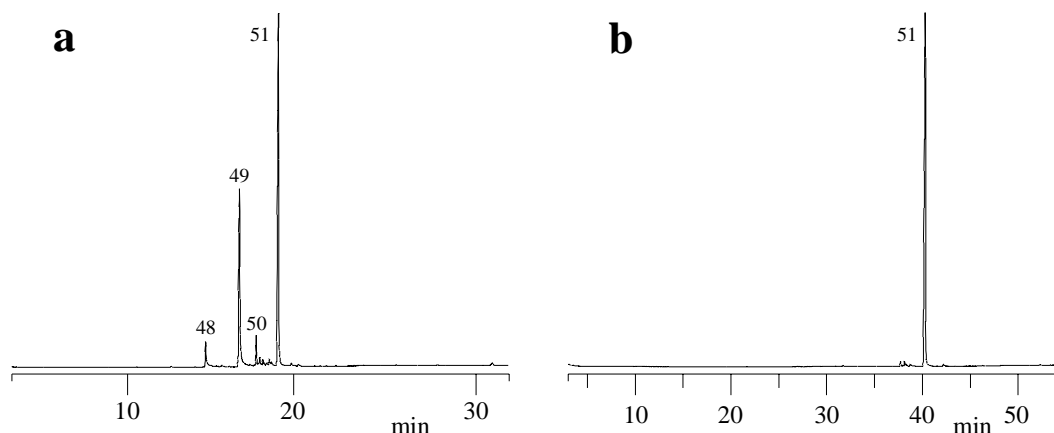
Ein Basispeak  $m/e$  262 ist nur bei Multiflor-7-en-3 $\beta$ -olacetat gefunden worden [117]. Für diese Struktur sprechen auch die übrigen Fragmentierungen [117, 129, 130] und die Lage im Chromatogramm [126, 131]. Fragment **o** enthält die Ringe A und B und soll durch Wasserstoffumlagerung und Bruch zwischen C<sub>8</sub> und C<sub>14</sub> und zwischen C<sub>12</sub> und C<sub>13</sub> entstehen. Ähnlich wird Fragment **p** ( $m/e$  205) gebildet: Hier bleibt aber die positive Ladung an den Ringen D und E und die Bindung bricht zwischen C<sub>12</sub> und C<sub>13</sub>. Fragment **q** wird offenbar durch Wasserstoffumlagerung von C<sub>9</sub> nach C<sub>7</sub> und Elektronenverschiebung in Ring C und Bruch zwischen C<sub>15</sub> und C<sub>16</sub> gebildet [114].



Multiflorenol und sein Acetat sind bereits in verschiedenen Pflanzenteilen gefunden worden, darunter auch im Oberflächenwachs der Blätter von *Bosistoa brassii* (Rutaceae) [132], *Sedum meyeri-johannis* und *Sedum brevifolium* (Crassulaceae) [129]. Das Wachs von *Sedum brevifolium* soll sogar bis zu 59 % Multiflorenolacetat, aber keine anderen Triterpene enthalten. Nach erfolgloser Suche in verschiedenen Botanischen Gärten erhielten wir schließlich 286 mg der Blätter von einem Pflanzenzüchter<sup>3)</sup>. Sie wurden dreimal mit je 1 ml Chloroform extrahiert und die vereinigten Extrakte im Stickstoffstrom eingedampft. 1  $\mu$ l der Lösung des Rückstands in 1 ml Hexan wurde zur GC injiziert; der Rest wurde von einer Säule aus 100 mg Kieselgel mit 1 ml Hexan/Toluol (1 + 2) und 1 ml Hexan/TBME (3 + 1) eluiert. Abb. 46a zeigt das Gaschromatogramm des Chloroformextrakts und Abb. 46b der Fraktion in Hexan/TBME (3 +

<sup>3)</sup> Herrn Hans Martin Schmidt, Feuchtwangen, danke ich für die Probe *Sedum brevifolium*.

1). Nach Abb. 46a machte Peak 51 über 50 % des Wachses aus; er hatte dasselbe Massenspektrum wie die acetylierte Form von Peak 27 in Abb. 35 und muß deshalb von Multiflorenolacetat stammen. Außerdem enthielt das Wachs von *Sedum brevifolium* n-Hentriacontan (n-C<sub>31</sub>, Peak 48), n-Tritriacontan (n-C<sub>33</sub>, Peak 49) und Peak 50 mit demselben Massenspektrum wie die oxidierte Form von Peak 27 (Anhang Abb. F (d)), so dass es sich um Multiflorenon handeln muß. Die Kieselgelsäule trennte die Alkane und Multiflorenon von Peak 51 (Abb. 46b), der das gleiche Retentionsverhalten zeigte wie die acetylierte Form von Peak 27 und demnach die silylierte Form von Multiflorenol war.



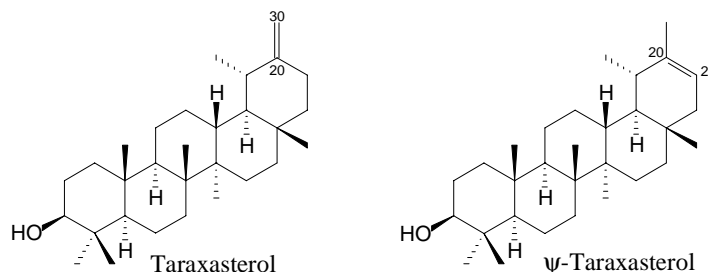
**Abbildung 46:** Gaschromatogramm des Rückstandes aus der Chloroform-Extraktion der Blätter von *Sedum brevifolium* **a** in Hexan, **b** nach Fraktionierung an Kieselgel mit Hexan/TBME (3 + 1)

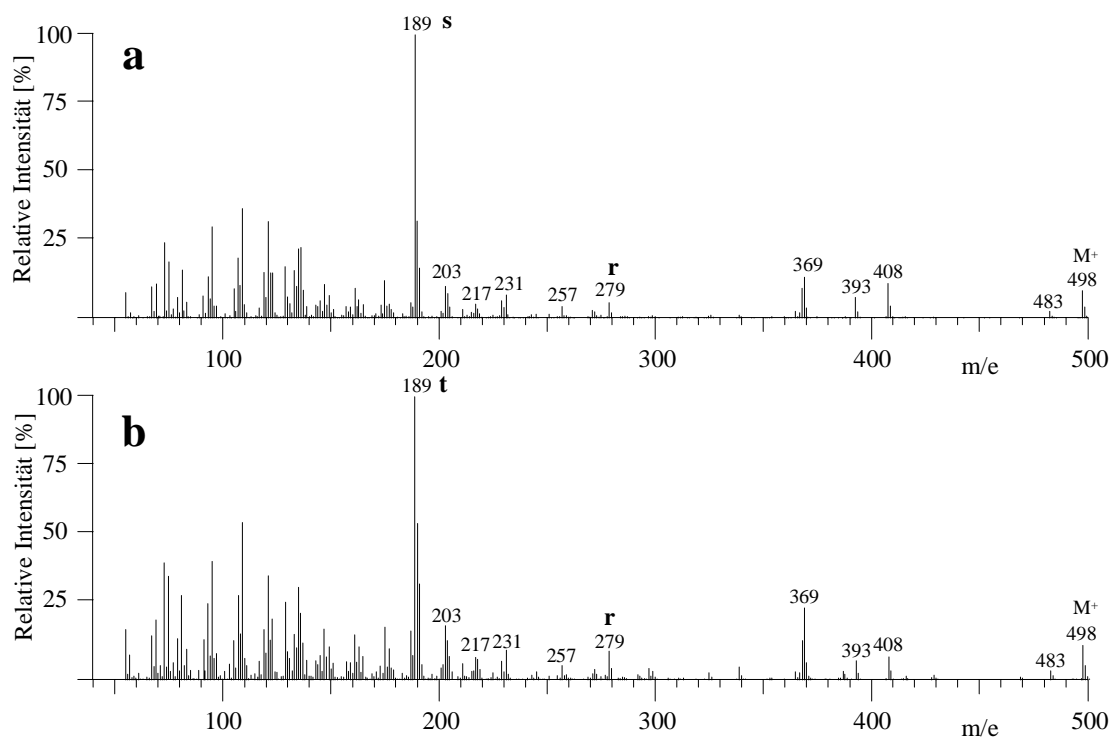
48 n-Hentriacontan, 49 n-Tritriacontan, 50 Multiflorenon, 51 Multiflorenolacetat

Geräteinstellungen: Temperaturprogramm a von 150 °C bis 300 °C mit 5 °C/min, 3 min isotherm, b wie in Abb. 3

#### 4.3.7 Peaks 28 und 29 ( $\psi$ -Taraxasterol und Taraxasterol)

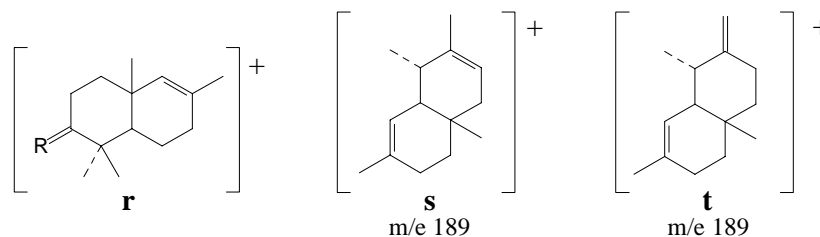
Die Peaks 28 und 29 in Abb. 35 hatten ein sehr ähnliches Massenspektrum mit Basispeaks bei m/e 189 und dem Fragment m/e 369, das bereits bereits beim Lupeol (Abb. 42) aufgetreten war. Das Fragmentierungsmuster, auch der acetylierten, unsilylierten und oxidierten Form (Anhang Abb. G und H) [117, 133 – 138] und die Lage der Peaks im Gaschromatogramm [126, 133, 136, 137] deuteten auf  $\psi$ -Taraxasterol und Taraxasterol hin:





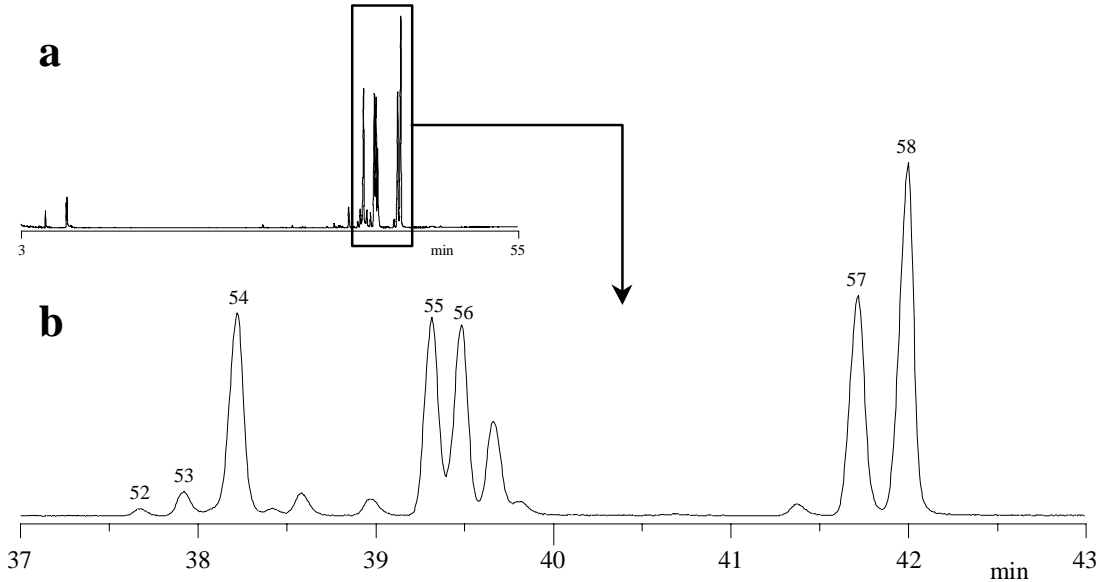
**Abbildung 47:** Massenspektren von **a** Peak 28 ( $\psi$ -Taraxasterol), **b** Peak 29 (Taraxasterol) in Abb. 35

Die Fragmentierung soll hier wie bei Lupeol verlaufen [114, 117]. Analog dazu entstehen die Fragmente **r** und **s** aus  $\psi$ -Taraxasterol bzw. **r** und **t** aus Taraxasterol:



Die beiden Triterpene sollen besonders reichlich im Latex der Wurzeln von Löwenzahn (*Taraxacum officinale*) vorkommen [121, 139]. Deshalb wurden 60 g gefriergetrocknete Wurzeln aus dem Garten des Instituts für Pharmazeutische Biologie der Universität Münster mit 200 ml Aceton homogenisiert; das Homogenat wurde filtriert, das Filtrat eingedampft und der Rückstand in 25 ml Hexan/TBME (3 + 1) gelöst. 5 ml Filtrat wurden durch eine Säule mit 100 mg Kieselgel gegeben; 1 ml Eluat wurde mit 200  $\mu$ l TMSI versetzt und zur GC injiziert. Im Gaschromatogramm (Abb. 48a) traten hauptsächlich Peaks von 37 bis 43 min auf (Abb. 48b). Nach den Massenspektren und Retentionszeiten waren Peak 52 Taraxerolacetat, Peak 53  $\delta$ -Amyrenolacetat, Peak 54  $\beta$ -Amyrenolacetat, Peak 55  $\alpha$ -Amyrenolacetat und Peak 56 Lupeolacetat. Am intensivsten waren Peak 57 und Peak 58 mit M<sup>+</sup> 468, die in Retentionszeit und

Massenspektrum mit den acetylierten Formen von Peak 28 und Peak 29 (Anhang Abb. G (b) und H (b)) übereinstimmten. Da  $\psi$ -Taraxasterolacetat an einer DB-5-Phase kurz vor Taraxasterolacetat eluiert wird [121, 126], ist Peak 28 also  $\psi$ -Taraxasterol und Peak 29 Taraxasterol.

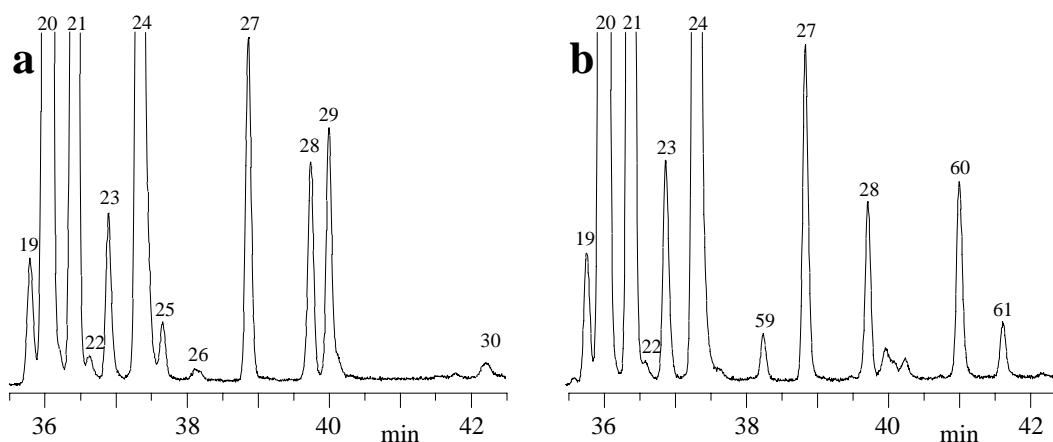


**Abbildung 48:** **a** Gaschromatogramm des Acetonextraktes von Löwenzahnwurzeln nach Reinigung an einer Kieselgelsäule mit Hexan/TBME (3 + 1) und Silylieren **b** Ausschnitt daraus

Acetate von 52 Taraxerol, 53  $\delta$ -Amyrin, 54  $\beta$ -Amyrin, 55  $\alpha$ -Amyrin, 56 Lupeol, 57  $\psi$ -Taraxasterol, 58 Taraxasterol

Geräteeinstellungen wie in Abb. 3

Um dies zu überprüfen, wurde Fraktion 2 der Sorte „Rubor“ erneut hydriert. Wie nämlich Vorversuche mit  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin sowie Lupeol ergaben, läßt sich eine Doppelbindung im Grundgerüst mit Wasserstoff an Platin(IV)-oxid nicht bzw. nur sehr langsam hydrieren, was auch schon z.B. für  $\delta$ -Amyrin beobachtet worden war [122]. Unter diesen Bedingungen reagierte nur Lupeol mit der Doppelbindung in der Seitenkette, nicht dagegen Taraxerol,  $\delta$ -Amyrin,  $\beta$ -Amyrin,  $\alpha$ -Amyrin und Multiflorenol mit der Doppelbindung im Ringsystem (Abb. 49a und b). Aus Lupeol entstand ein neuer Peak 59 (RT 38,2 min), der von Lupanol stammt. Von den Peaks 28 und 29 veränderte sich Peak 28 kaum, wohl weil die Doppelbindung wie bei  $\psi$ -Taraxasterol innerhalb des Ringes liegt.

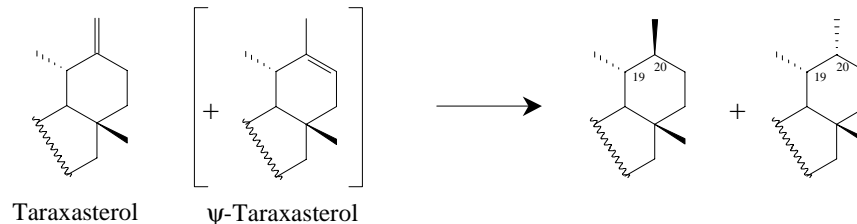


**Abbildung 49:** Gaschromatogramm der silylierten Bestandteile des Wachses der Sorte „Rubor“ **a** vor und **b** nach dem Hydrieren

19 Taraxerol, 20  $\delta$ -Amyrin, 21  $\beta$ -Amyrin, 22  $\beta$ -Sitosterol und Germanicol, 23 RT 36,9 min, 24  $\alpha$ -Amyrin, 25 Lupeol, 26 Cycloartenol, 27 Multiflorenol, 28  $\psi$ -Taraxasterol, 29 Taraxasterol, 30 RT 42,2 min, 59 Lupanol, 60 RT 41,0 min, 61 RT 41,6 min

Geräteeinstellungen wie in Abb. 3

Peak 29 verschwand dagegen zu Gunsten der neuen Peaks 60 und 61 (RT 41,0 und 41,6 min) mit fast identischen Massenspektren (Basispeak  $m/e$  189,  $M^+$   $m/e$  500). Vermutlich handelt es sich um zwei Isomere an  $C_{20}$ , je nachdem, von welcher Seite hydriert wurde:



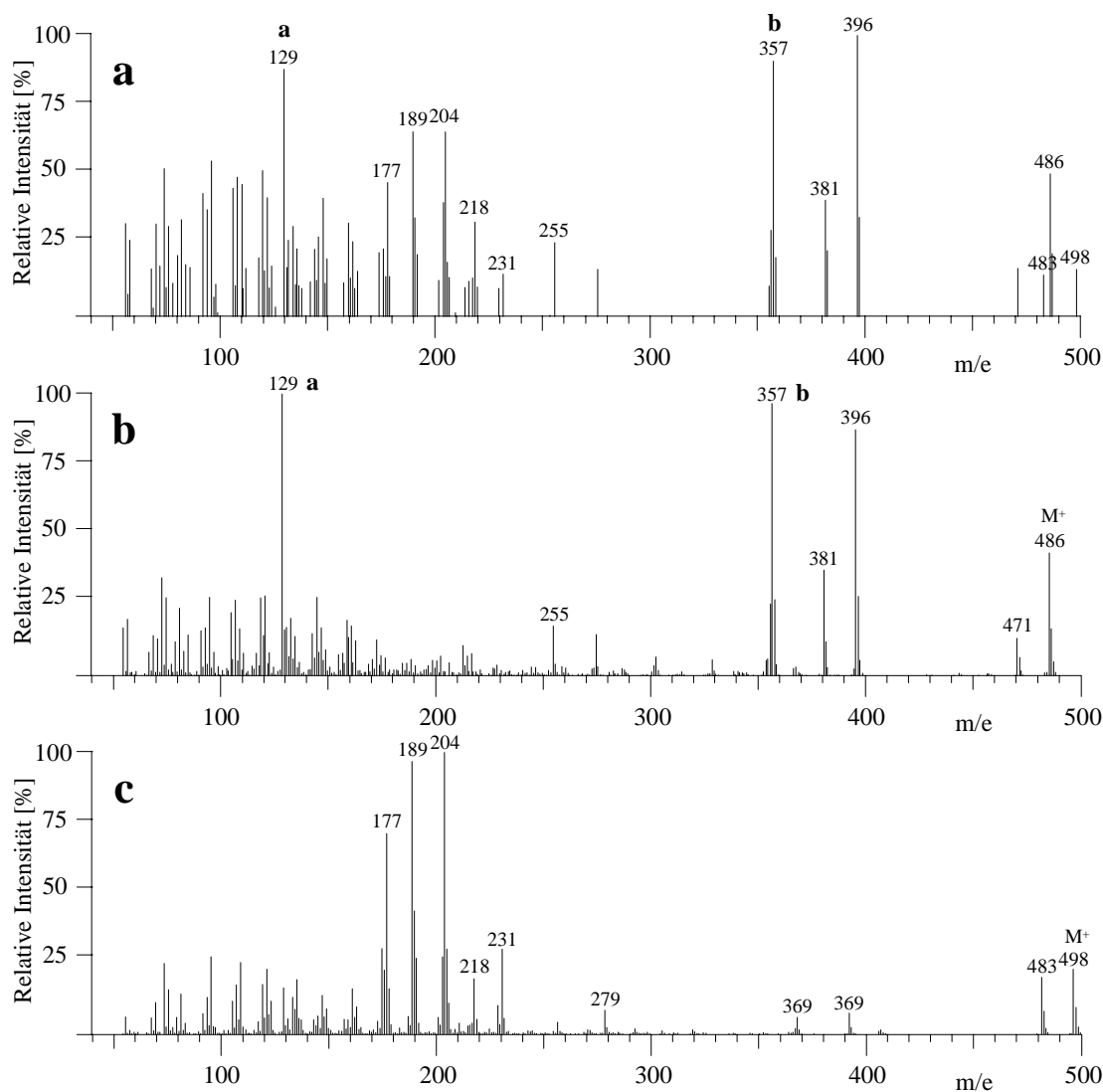
Damit ist Peak 28 als  $\psi$ -Taraxasterol und Peak 29 als Taraxasterol identifiziert.

#### 4.3.8 Peak 22 ( $\beta$ -Sitosterol und Germanicol)

Das Massenspektrum von Peak 22 ist in Abb. 50a dargestellt. Fragment  $m/e$  486 kann wegen der Massendifferenz 12 nicht aus  $m/e$  498 entstanden sein. Da jedoch beide eine Abspaltung von 15 Massen zeigen ( $m/e$  483 und  $m/e$  471), stammt Peak 23 von zwei Substanzen mit derselben Retentionszeit. Fragment **a** ( $m/e$  129) deutet wie schon bei Peak 18 (Stigmasterol) auf ein  $\Delta^5$ -Sterol hin. Eine Masse von 486 erklärt die intensiven Fragmente  $M^+ - 90$  ( $M^+ - \text{TMSOH}$ , hier  $m/e$  396),  $M^+ - 15 - 90$  ( $M^+ - \text{CH}_3 - (\text{CH}_3)_3\text{SiOH}$ , hier  $m/e$  381) und Fragment **b** ( $M^+ - 129$ , hier  $m/e$  357) mit den Ringen B, C und D erklären. Die Annahme, es könnte sich um  $\beta$ -Sitosterol handeln, wurde durch das Massenspektrum einer Vergleichssubstanz (Abb. 50b) bestätigt. Werden die zugehörigen Massen abgezogen, verbleiben hauptsächlich  $m/e$  177,  $m/e$  189,  $m/e$  204,  $m/e$  218,  $m/e$  231,  $m/e$  483 und  $m/e$  498 ( $M^+$ ). Die ersten drei



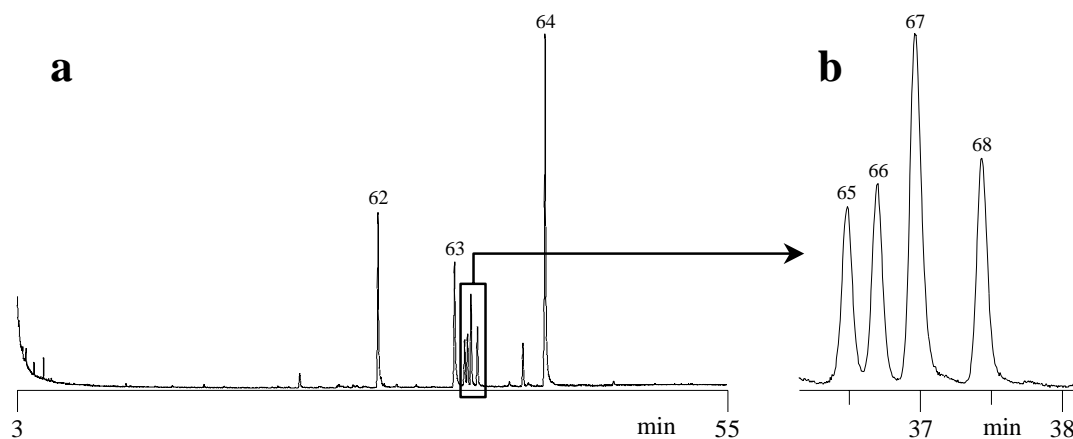
Fragmente sind charakteristisch für den Olean-18-en-3 $\beta$ -ol-Typ (Germanicol) [114, 117]; dafür spricht auch, dass Germanicol an einer DB-5-Säule unmittelbar nach  $\beta$ -Amyrin eluiert wird [126, 140].



**Abbildung 50:** Massenspektrum von **a** Peak 22 in Abb. 35, **b**  $\beta$ -Sitosterol (silyliert) **c** Peak 66 in Abb. 51

Germanicol soll neben  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin und Glutanol im Oberflächenwachs der Rispenhirse (*Panicum miliaceum*) vorkommen [140]. Daher wurden 10 Blätter aus dem Garten des Instituts für Pharmazeutische Biologie mit 50 ml Chloroform im Ultraschallbad 1 min extrahiert; die Lösung wurde filtriert, eingedampft, der Rückstand in 3 ml Hexan/TBME (3 + 1) gelöst, die Lösung durch eine Säule mit 100 mg Kieselgel gegeben und das Eluat silyliert. Die Peaks 62, 63 und 64 im Gaschromatogramm in Abb. 51a wurden anhand ihrer Massenspektren als

n-Hentriacontan (n-C<sub>31</sub>), n-Tritriacontan (n-C<sub>33</sub>) und n-Dotriacontan-1-ol (n-C<sub>32</sub>-OH) identifiziert.

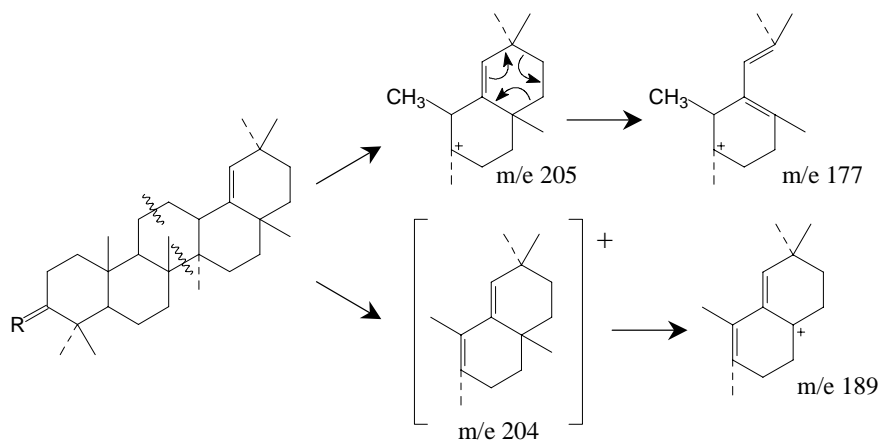


**Abbildung 51:** **a** Gaschromatogramm des Chloroformextraktes von Rispenhirseblättern nach Elution aus einer Kieselgelsäule mit Hexan/TBME (3 + 1) und Silylieren **b** Ausschnitt daraus

62 n-Hentriacontan, 63 n-Tritriacontan, 64 n-Dotriacontan-1-ol, 65  $\beta$ -Amyrin, 66 Germanicol, 67 Glutinol, 68  $\alpha$ -Amyrin

Geräteeinstellungen wie in Abb. 3

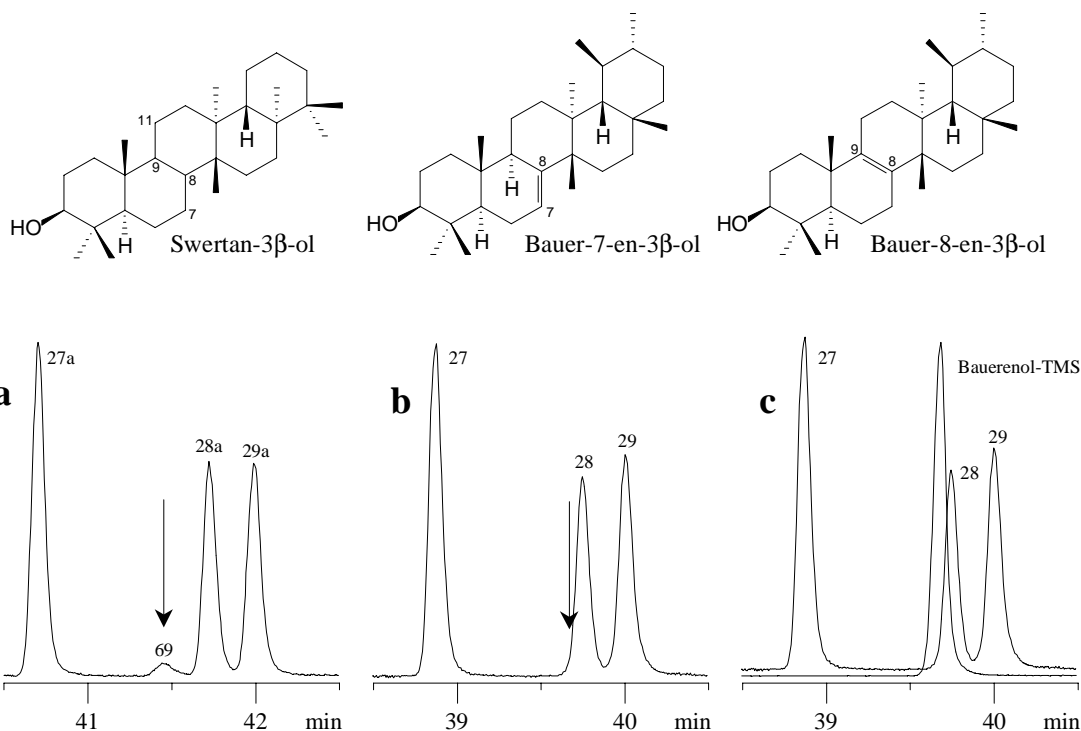
Außerdem wurden vier Peaks eluiert, deren Massenspektren auf Triterpene schließen ließen; davon waren Peak 65  $\beta$ -Amyrin und Peak 68  $\alpha$ -Amyrin. Das Massenspektrum von Peak 67 und seine Lage im Chromatogramm deuteten auf das silylierte Glutinol hin [117, 140]. Das Massenspektrum von Peak 66 in Abb. 50c entspricht mit den intensiven Fragmenten m/e 177, m/e 189, m/e 204, m/e 218 und m/e 231 dem Spektrum von Germanicol [114, 117]. Damit wurde Peak 22 als Gemisch aus Germanicol und  $\beta$ -Sitosterin identifiziert.



#### 4.3.9 Bauerenol

Wurde Fraktion 2 nicht in silylierter sondern in acetylierter Form eingespritzt, so blieb die Reihenfolge der Peaks 18 – 30 wie in Abb. 35 erhalten. Zwischen Peak 27a und Peak 28a trat jedoch ein neuer, kleiner Peak 69 bei 41,5 min auf (Abb. 52a). Das Massenspektrum von Peak

69 in Abb. 53a zeigt m/e 289 als Basispeak und m/e 229, die sich beide intensiv bei Triterpenolen des Swertan-Typs mit  $\Delta 7(8)$ ,  $\Delta 8(9)$  und  $\Delta 9(11)$  sowie bei Bauer-7-en-3 $\beta$ -ol (Bauerenol) und Bauer-8-en-3 $\beta$ -ol (Isobauerenol) finden [114, 115, 117].



**Abbildung 52:** Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm von Fraktion 2 der Sorte „RZ 72-00“  
**a** acetyliert, **b** silyliert, **c** silyliert und mit Bauerenol (silyliert) überlagert

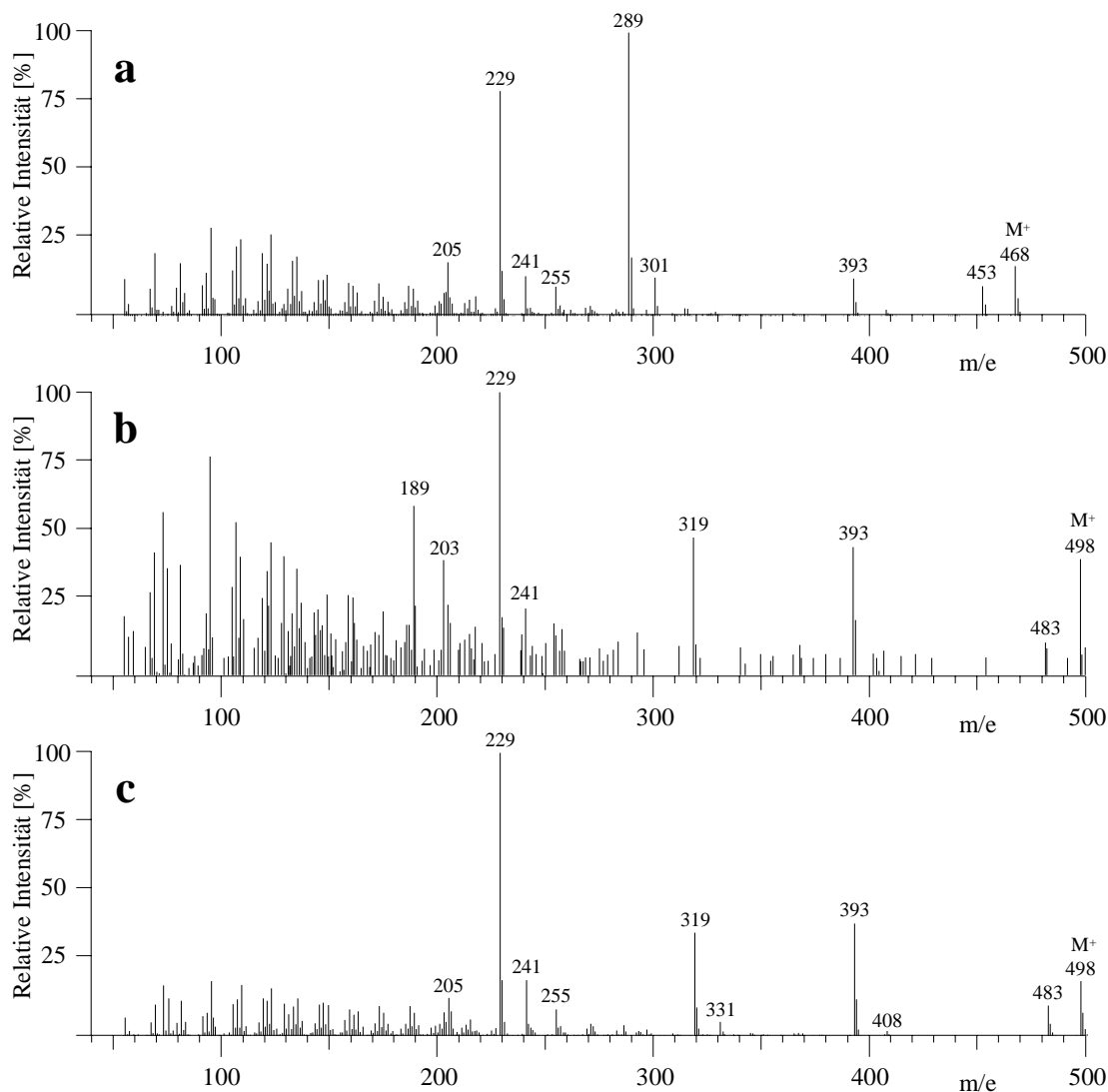
a) 27a Multiflorenolacetat, 28a  $\psi$ -Taraxasterolacetat, 29a Taraxasterolacetat, 69 Bauerenolacetat

b), c) 27 Multiflorenol, 28  $\psi$ -Taraxasterol, 29 Taraxasterol

Geräteeinstellungen wie in Abb. 3

Bei den Acetaten des Swertan-Typs soll jedoch m/e 301 etwa ebenso intensiv wie m/e 289 sein [117], was hier nicht zutrifft. Vielmehr deutete die Lage im Chromatogramm kurz vor  $\psi$ -Taraxasterol auf Bauerenol hin [126], denn Isobauerenol soll noch vor Multiflorenol (Peak 27) liegen [126]. Abb. 53b zeigt das Massenspektrum, aufgenommen an der linken Flanke von Peak 28 (Pfeil in Abb. 52b). Wenn m/e 189 und m/e 203 von  $\psi$ -Taraxasterol (Peak 28) nicht berücksichtigt werden, so fallen besonders die Fragmente m/e 229, m/e 241, m/e 319 und m/e 393 auf. Sie finden sich in sehr ähnlichem Intensitätsverhältnis in silyliertem Bauerenol<sup>4)</sup> (Abb. 53c), das eine etwas geringere Retentionszeit als  $\psi$ -Taraxasterol (Peak 28 in Abb. 52c) hat. Damit wurde Peak 69 als Bauerenolacetat identifiziert, welches in silylierter Form wegen der geringen Menge nicht von  $\psi$ -Taraxasterol abgetrennt worden ist.

<sup>4)</sup> Herrn Dr. Paul-Gerhard Gülz, Köln, danke ich für die Probe Bauerenol.

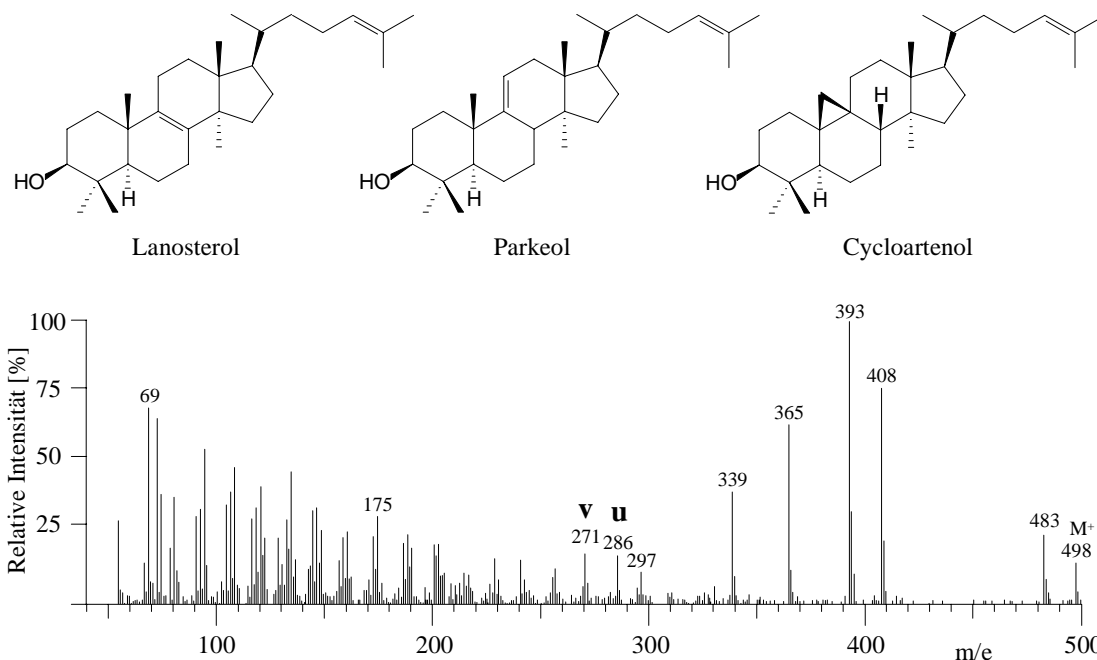


**Abbildung 53:** Massenspektrum von **a** Peak 69 in Abbildung 52a **b** linke Flanke von Peak 29 in Abbildung 52b **c** Bauerenol (silyliert).

#### 4.3.10 Peak 26 (Cycloartenol)

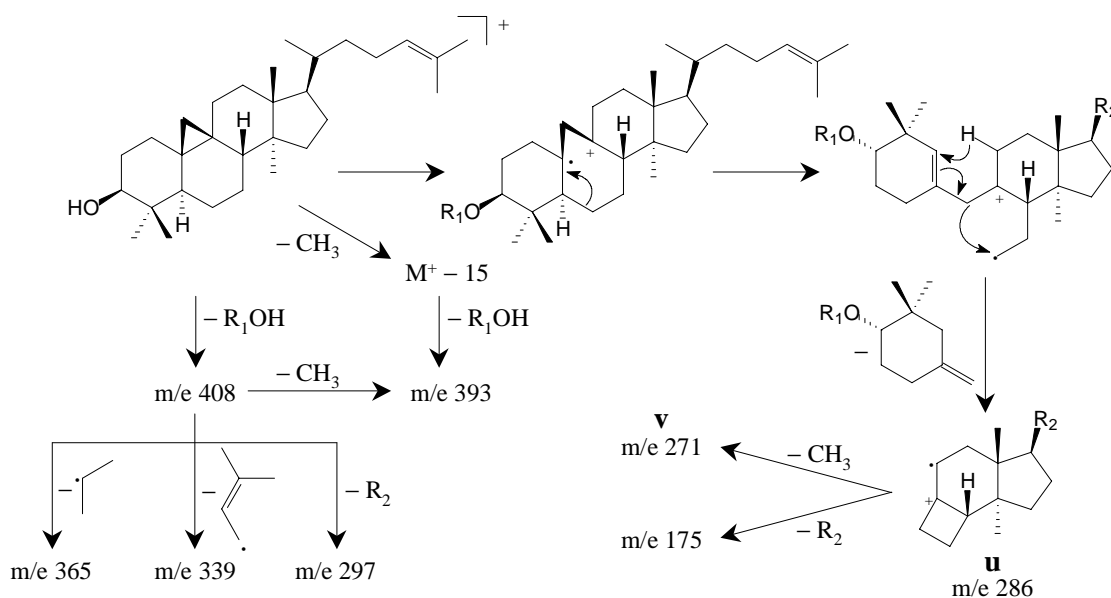
Abb. 54a zeigt das Massenspektrum des sehr kleinen Peaks 26. Darin fallen die intensiven Peaks m/e 408, m/e 393, m/e 365 und 339 sowie m/e 69 in der unteren Massenregion auf. Die intensiven Peaks m/e 393 und m/e 69 finden sich bei tetrazyklischen Triterpenen des Lanostan-Typs [139]. Dies wurde auch in eigenen Untersuchungen an Lanosterol und Parkeol<sup>5)</sup> beobachtet:

<sup>5)</sup> Herrn Dr. Seiichi Matsuda, Rice University, Houston (Texas), USA, danke ich für die Probe Parkeol.

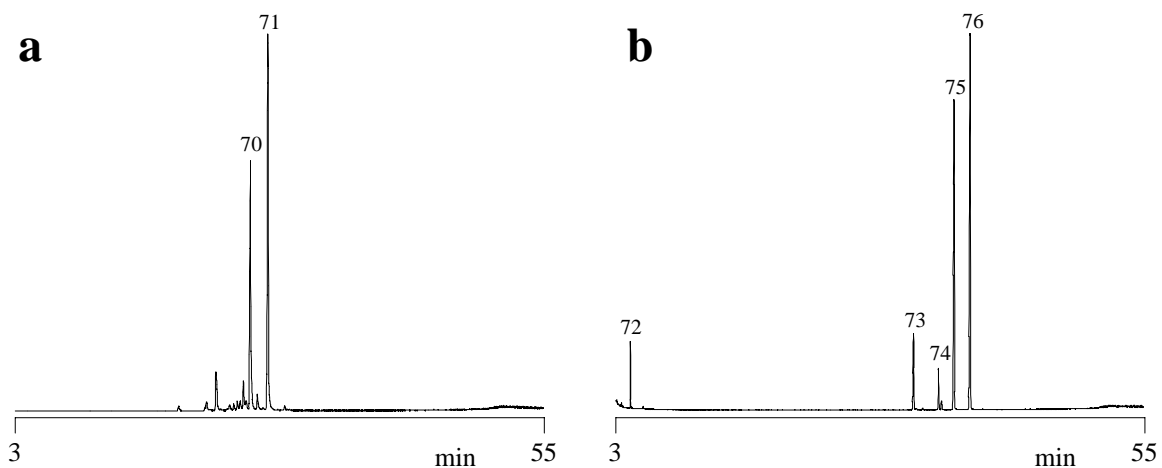


**Abbildung 54:** Massenspektrum von Peak 26 in Abb. 35

Peak 26 wurde in der acetylierten Form unmittelbar nach  $\alpha$ -Amyrinacetat eluiert, wie es auch für Cycloartenol beschrieben worden ist [131]. Fragment u (m/e 286) soll bei Cycloartenol charakteristisch für die Cyclopropylgruppe sein, da hier eine Fragmentierung unter Verlust von Ring A bevorzugt ist [142]. Fragment u und das daraus entstehende Fragment v (m/e 271) sind daher bei allen vier Derivaten vorhanden (Anhang Abb. I). Dies ist auch mit der Fragmentierung von Cycloartenol in Einklang zu bringen, bei der folgende Bruchstücke entstehen [142]:



Die Ferulasäureester von Cycloartenol und 24-Methylcycloartanol sind die Hauptkomponenten von  $\gamma$ -Oryzanol, einer Mischung verschiedener Phytosterol-Ferulasäureester aus Reiskleie [143]. Zur Gewinnung von Cycloartenol wurde die Lösung von 100 mg  $\gamma$ -Oryzanol<sup>6)</sup> in 300  $\mu$ l TBME mit 500  $\mu$ l Natriummethylatlösung (5,4 mol/l) in einem verschlossenen Reagenzglas zum Sieden erhitzt, 30 min stehen gelassen und erneut zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Mischung mit 4 ml Salzsäurelösung (0,7 mol/l) und 2 ml Dichlormethan versetzt, 10 s geschüttelt und die Dichlormethanphase mit 100 mg wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. 150  $\mu$ l davon wurden mit 50  $\mu$ l TMSI zur GC/MS injiziert.



**Abbildung 55:** **a**  $\gamma$ -Oryzanol in TBME (1 mg/ml), **b**  $\gamma$ -Oryzanol nach dem Erhitzen mit Natriummethylat, Ausschütteln mit Dichlormethan und Silylieren

70 Cycloartenylferulat, 71 24-Methylcycloartanylferulat, 72 Ferulasäure, 73 Campesterol, 74  $\beta$ -Sitosterol, 75 Cycloartenol, 76 24-Methylcycloartanol

Geräteeinstellungen wie in Abb. 3

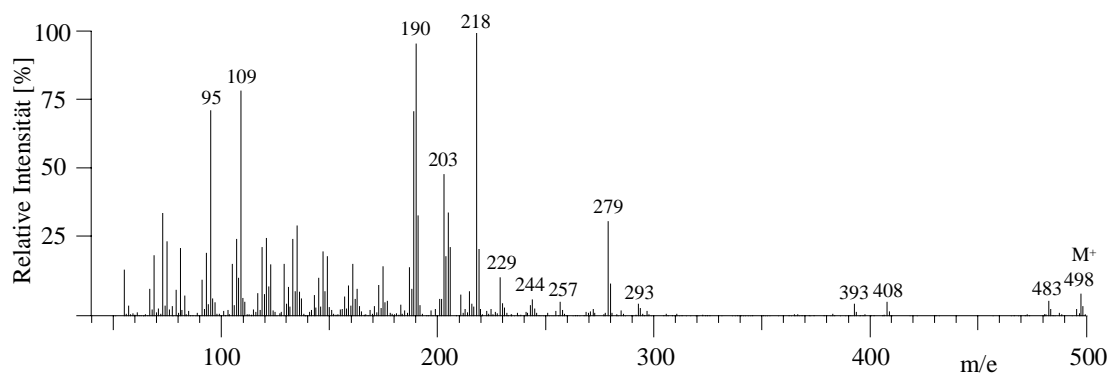
Wie Abb. 55a vor dieser Umesterung zeigt, enthielt das  $\gamma$ -Oryzanol hauptsächlich zwei Peaks (70 und 71), die anhand ihrer Massenspektren als Ferulasäureester von Cycloartenol und 24-Methylcycloartanol identifiziert wurden. Nach der Umesterung enthielt das Gaschromatogramm (Abb. 55b) außer den Peaks für Ferulasäure (Peak 72), Campesterol (Peak 73) und  $\beta$ -Sitosterol (Peak 74) überwiegend Cycloartenol (Peak 75) und 24-Methylcycloartanol (Peak 76). Peak 75 stimmte in Retentionszeit und Massenspektrum mit Peak 26 überein, der damit als Cycloartenol identifiziert wurde.

#### 4.3.11 Peak 23

Abb. 56 zeigt das Massenspektrum von Peak 23, das dem von Peak 20 ( $\delta$ -Amyrin, Abb. 38) recht ähnlich ist. Zwar sind m/e 190 und m/e 203 intensiver als m/e 189 und m/e 205 bei  $\delta$ -

<sup>6)</sup> Herrn Andreas Miller, TU München, danke ich für die Probe  $\gamma$ -Oryzanol.

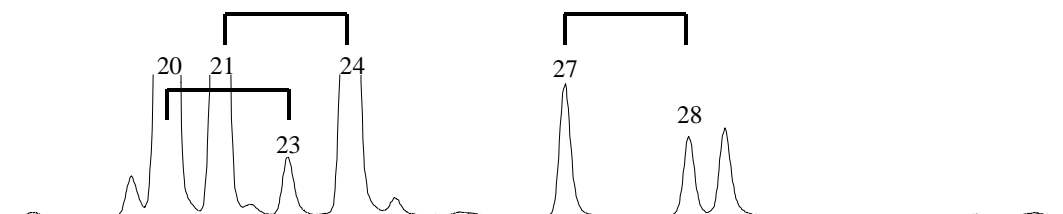
Amyrin, doch sind die Intensitäten von  $m/e$  95,  $m/e$  109,  $m/e$  229,  $m/e$  244,  $m/e$  257 und  $m/e$  279 dem  $\delta$ -Amyrin sehr ähnlich. Noch deutlicher wird dies beim Vergleich der acetylierten, unsilylierten und oxidierten Formen (Anhang Abb. J).



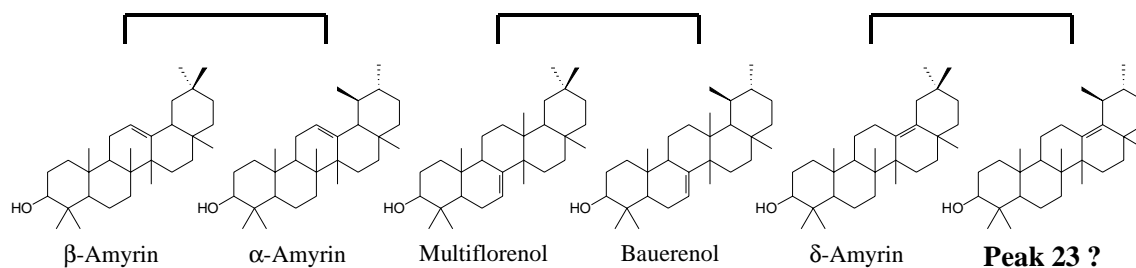
**Abbildung 56:** Massenspektrum von Peak 23 in Abb. 23

Der Stoff von Peak 23 könnte also nahe mit  $\delta$ -Amyrin verwandt sein; deshalb wurde nach weiteren möglichen Zusammenhängen gesucht.

Im Gaschromatogramm (Abb. 35) hatten die Peaks 23 und 20 ( $\delta$ -Amyrin) etwa den gleichen Abstand wie  $\alpha$ -Amyrin (24) von  $\beta$ -Amyrin (21) und Bauerenol (bei Peak 28) von Multiflorenol (27):

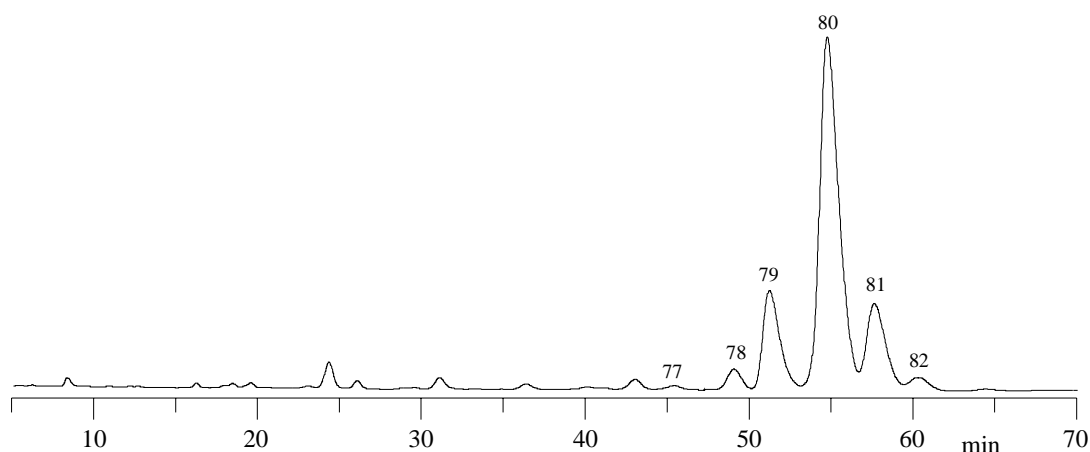


Dort wurde jeweils das Isomere, bei dem die beiden Methylgruppen an Ring E an benachbarten C-Atomen stehen, später eluiert als das entsprechende Isomere mit den zwei Methylgruppen am selben  $C_{20}$ . Es ist deshalb zwar nur spekulativ, aber nicht unwahrscheinlich, dass es sich bei Peak 23 um Urs-13(18)-en-3 $\beta$ -ol handelt, bei dem sich die Methylgruppen wie bei  $\alpha$ -Amyrin oder Bauerenol an  $C_{19}$  und  $C_{20}$  befinden:



Um die vermutete Struktur von Peak 23 durch weitere Hinweise zu erhärten, wurden die Triterpenalkohole auch durch DC an mit Silbernitrat imprägniertem Kieselgel untersucht. In An-

lehnung an die Alkene in Fraktion 1 wurde Fraktion 2 acetyliert und an einer entsprechenden DC-Platte mit Dichlormethan aufgetrennt. Das Besprühen mit 2,7-Dichlorfluorescein zeigte 4 Flecken, die abgeschabt und mit Hexan extrahiert wurden. Wie die GC/MS der Lösungen ergab, bestand Fleck 1 (Rf 0,28) aus den zweifach ungesättigten Fettalkoholen, Fleck 2 (Rf 0,73) aus Taraxasterol, Fleck 3 (Rf 0,79) aus  $\psi$ -Taraxasterol und Fleck 4 (Rf 0,83) aus Taraxerol,  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\delta$ -Amyrin, Germanicol, Peak 23, Multiflorenol und den gesättigten Fettalkoholen. Weitere Triterpenole wie Lupeol oder Cycloartenol waren nicht zu erkennen. Eine höhere Trennleistung wurde von der HPLC erwartet. Dazu haben sich in eigenen Versuchen eine RP-Phase und Gemische aus Methanol und Wasser oder Acetonitril bewährt. Acetonitril/TBME-Mischungen brachten gegenüber Acetonitril keinen Vorteil.



**Abbildung 57:** HPLC-Chromatogramm der Fraktion 2 des Wachses der Sorte „RZ 72-00“

77 Lupeol, 78 Taraxasterol, 79  $\beta$ -Amyrin und Taraxerol, 80  $\delta$ -Amyrin und die unsilylierte Form von Peak 23, 81  $\alpha$ -Amyrin und  $\psi$ -Taraxasterol, 82 Multiflorenol

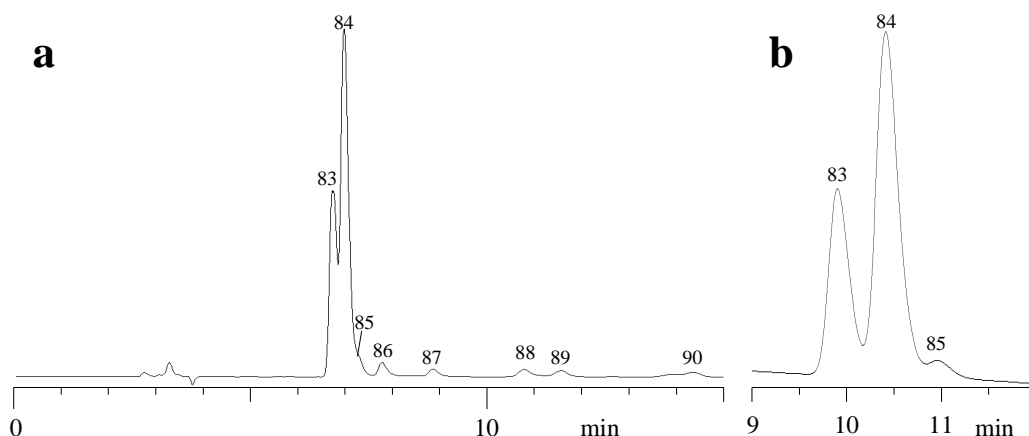
Geräteeinstellungen: Säule: RP-18e, 250 mm lang, 4,6 mm i.D., Korngröße 5  $\mu$ m; Eluent: Acetonitril/Wasser (95 + 5); Fluß: 1,0 ml/min; Temperatur: 40 °C; Detektor: UV bei 202 nm; Injektionsvolumen: 20  $\mu$ l

Abb. 57 zeigt das Chromatogramm der Fraktion 2 des Tomatenwachses der Sorte „RZ 72-00“, bei dem die Triterpenole durch Acetonitril/Wasser (95 + 5) zwischen 45 und 65 min eluiert wurden. Peak 77 war Lupeol, Peak 78 Taraxasterol und Peak 82 Multiflorenol jeweils in ziemlich reiner Form. Peak 79 bestand aus  $\beta$ -Amyrin und Taraxerol, Peak 81 aus  $\alpha$ -Amyrin und  $\psi$ -Taraxasterol. Der fragliche Peak 23 aus Abb. 35 wurde zusammen mit  $\delta$ -Amyrin als Peak 80 eluiert.

Da die Isomere  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin (Peak 81 und 79) deutlich getrennt waren,  $\delta$ -Amyrin aber nicht von der Substanz von Peak 23, erschien es eher fraglich, ob es sich dabei tatsächlich um Urs-13(18)-en-3 $\beta$ -ol handelt. Unter diesen Bedingungen sollten nämlich auch die analogen Isomere Bauerenol und Multiflorenol getrennt werden [51].



In einem zweiten Schritt wurden die Triterpenolacetate deshalb auch durch Silberionen-HPLC<sup>7)</sup> getrennt. Mobile Phase war Acetonitril/Hexan (0,08 + 99,92), das nicht nur cis- und trans-Isomere sondern auch Positionsisomere trennen soll [144]. Wie aus dem Chromatogramm (Abb. 58a) mit UV-Detektion bei 202 nm hervorgeht, wurden die Triterpenolacetate je nach der Lage ihrer Doppelbindung eluiert.



**Abbildung 58:** Silberionen-HPLC-Chromatogramme der acetylierten Fraktion 2 des Waxes der Sorte „RZ 72-00“ bei einer mobilen Phase von **a** 0,08 % Acetonitril in Hexan, **b** 0,02 % Acetonitril in Hexan

Acetate von: 83  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin, 84  $\delta$ -Amyrin, 85 Peak 23 in Abb. 35, 86 Multiflorenol, 87 Taraxerol, 88  $\psi$ -Taraxasterol, 89 Taraxasterol, 90 Lupeol

Geräteinstellungen: Säule: ChromSpher Lipids, 250 mm lang, 4,6 mm i.D., Korngröße 5  $\mu$ m; Fluß: 1,0 ml/min; Temperatur: 40 °C; Detektor: UV bei 202 nm; Injektionsvolumen: 20  $\mu$ l; Eluent: a 0,08 % Acetonitril in Hexan, b 0,02 % Acetonitril in Hexan

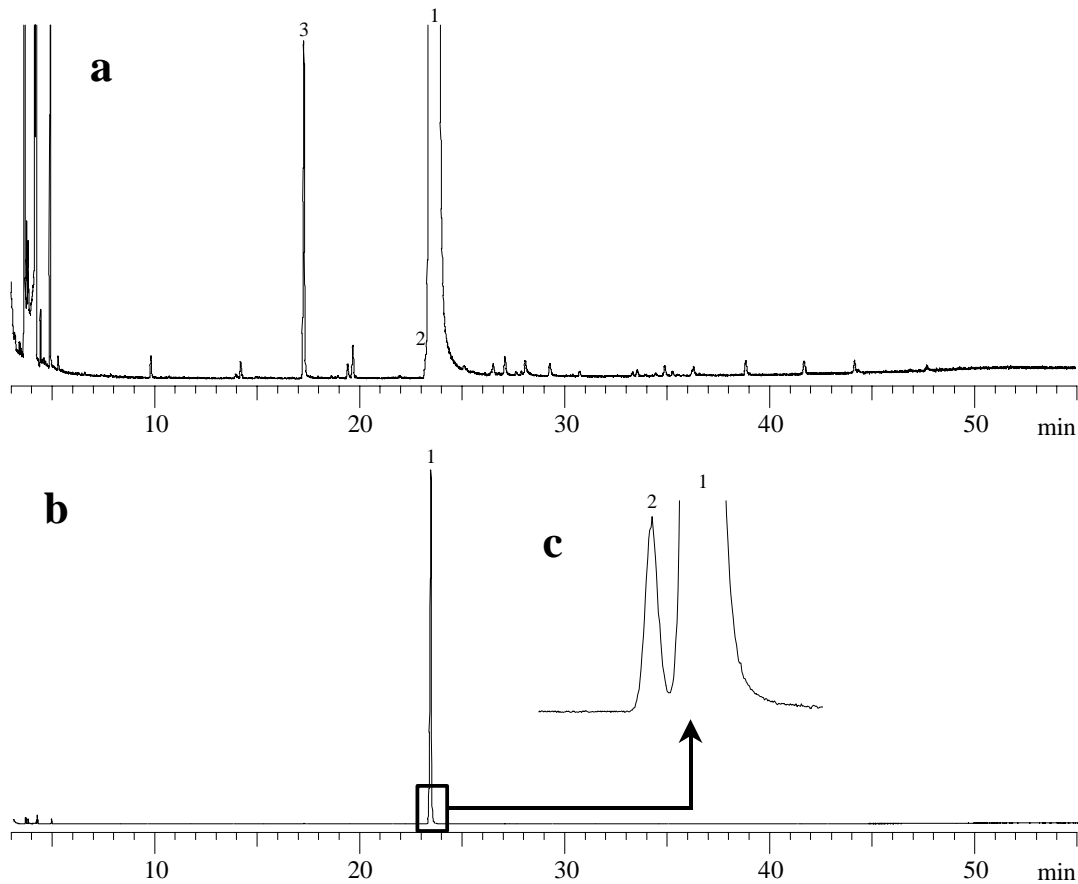
Die Untersuchung der einzelnen Peaks durch GC/MS ergab, dass nur  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin (Peak 83) mit der gleichen Lage der Doppelbindung nicht getrennt wurden. Voneinander getrennt wurden jedoch  $\delta$ -Amyrin (Peak 84) und der fragliche Peak 23 (Peak 85). Bei nur 0,02 % Acetonitril in der mobilen Phase (Abb. 58b) war dies noch deutlicher zu sehen. Die HPLC an der RP-Phase und ander Silberionenphase unterstützen daher nicht die Annahme, dass Peak 23 von Urs-13(18)-en-3 $\beta$ -ol herrührt. Die Struktur hinter Peak 23 blieb daher ungeklärt.

<sup>7)</sup> Der Fa. Varian, Darmstadt, danke ich für das Überlassen der ChromSpher Lipids-HPLC-Säule zu Testzwecken.

## 5 Identifizierung der Komponenten in der Tomatenwachs-Fraktion 3 (Naringenin-chalkon)

### 5.1 GC/MS

Abb. 59a zeigt das Chromatogramm der Fraktion 3 nach dem Silylieren, das für Abb. 59b noch verdünnt wurde.



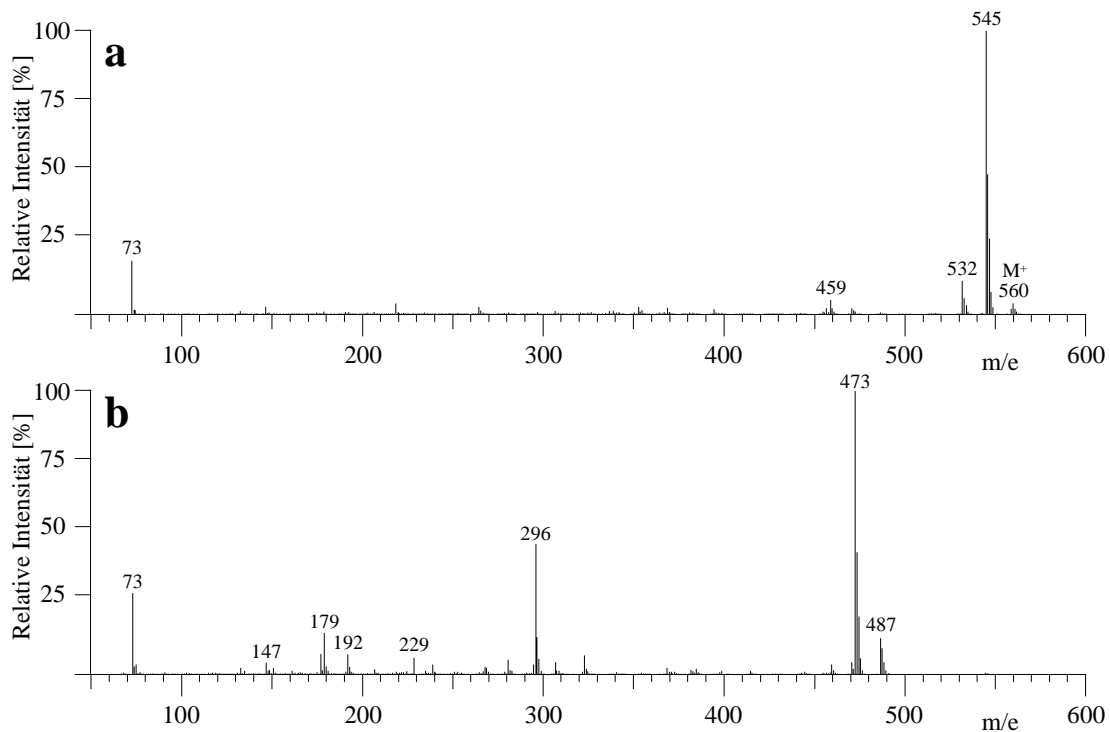
**Abbildung 59:** Gaschromatogramm der silylierten Fraktion 3 des Tomatenwachses der Sorte „RZ 72-00“ **a** unverdünnt, **b** nach Verdünnen (1:5), **c** Ausschnitt aus **b**

1 Naringenin-chalkon, 2 Naringenin, 3 Peak 3

Geräteeinstellungen wie in Abb. 3

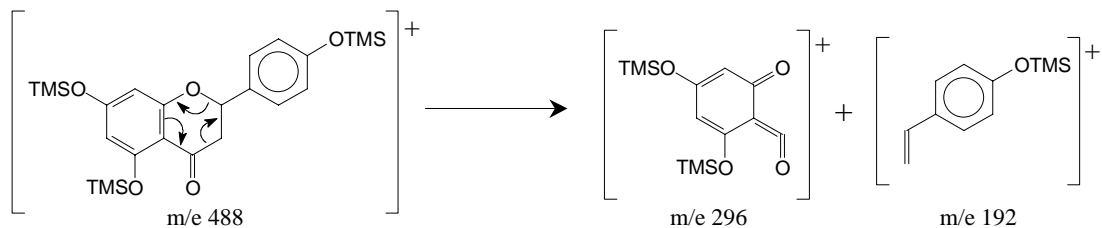
Die Hauptkomponente war Peak 1 neben mehreren kleineren Peaks; einer davon (Peak 2) wurde unmittelbar vor Peak 1 eluiert und war erst nach dem Verdünnen sichtbar. Die meisten kleinen Peaks von etwa 10 bis 45 min waren nach ihren Massenspektren die Reste von Stoffen aus Fraktion 2. Das Massenspektrum von Peak 3 war mit dem von Peak 1 identisch. Die intensiv gelbe Farbe der Fraktion 3 ließ vermuten, dass Peak 1 vom Chalkon des Flavanons Naringenin stammt, das neben Naringenin schon früher im Wachs von Tomaten gefunden worden ist [57].

Das Massenspektrum von Peak 1 in Abb. 60a wird wie bei anderen Flavanonen und Flavonen von wenigen Peaks dominiert, von denen  $M^+ - 15$  ( $M^+ - CH_3$ , hier:  $m/e$  545) oft am intensivsten ist. Der Molekülpeak  $m/e$  560 deutete auf ein vierfach silyliertes Chalkon ( $272 + 4 \times 72$ ).



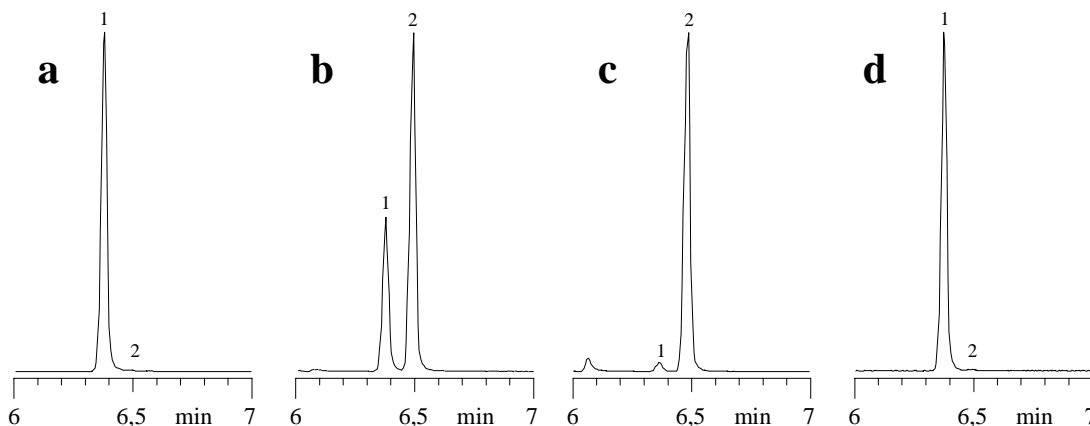
**Abbildung 60:** Massenspektrum von **a** Peak 1, **b** Peak 2 in Abb. 59

Nach dem Massenspektrum von Peak 2 in Abb. 60b könnte es sich um das silylierte Naringenin handeln. Dafür sprechen  $m/e$  473 ( $M^+ - CH_3$ ) sowie  $m/e$  296 und  $m/e$  192, die durch eine RDA-Reaktion entstehen [145]:



Die Abspaltung eines Wasserstoffes ( $M^+ - 1$ ) erschien zunächst ungewöhnlich, trat jedoch auch bei den silylierten Flavonolen Quercetin und Kämpferol auf. Wenn authentisches Naringenin in TBME silyliert und zur GC/MS eingespritzt wurde, zeigte das Gaschromatogramm einen Peak, dessen Retentionszeit und Massenspektrum mit Peak 2 übereinstimmten, aber auch einen etwas kleineren Peak mit den Eigenschaften von Peak 1. Zu ihrer weiteren Identi-

fizierung wurde ein steileres Temperaturprogramm verwendet, das allerdings die Reihenfolge der Elution vertauschte (Abb. 61).

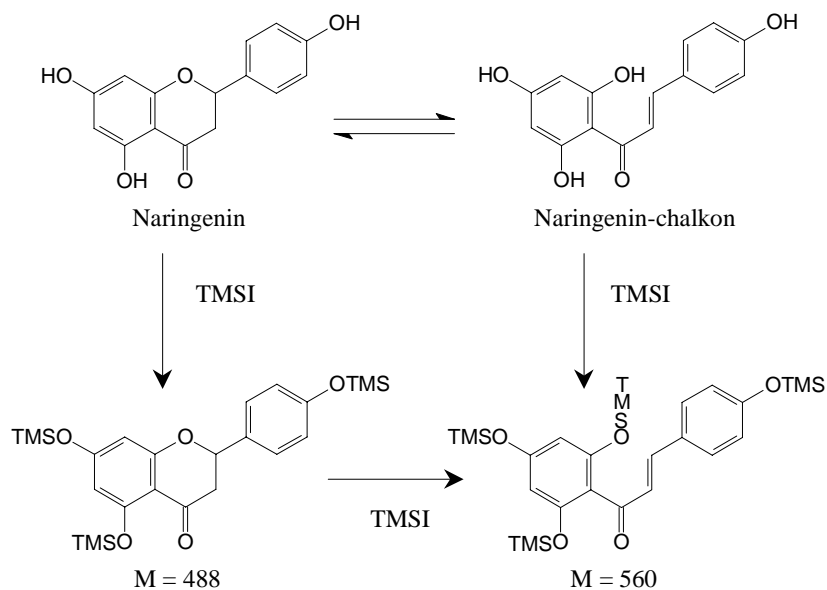


**Abbildung 61:** Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm aus der Umsetzung von **a** 0,3 mg Fraktion 3, **b** 0,3 mg Naringenin, jeweils in 900  $\mu$ l Pyridin und 100  $\mu$ l TMSI, **c** 0,3 mg Naringenin, **d** 0,3 mg Fraktion 3, jeweils in 900  $\mu$ l Pyridin, 75  $\mu$ l HMDS und 25  $\mu$ l TMCIS

1 Naringenin-chalkon, 2 Naringenin

Geräteeinstellungen wie in Abb. 3; Temperaturprogramm: von 250  $^{\circ}$ C mit 5  $^{\circ}$ C/min auf 300  $^{\circ}$ C

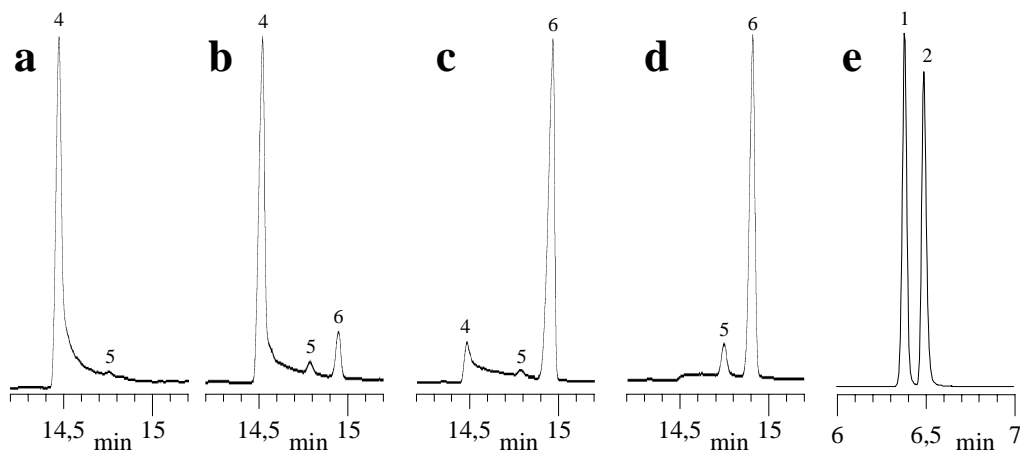
Solche Doppelpeaks bei der GC von silylierten Flavanonen sind bereits beschrieben [146] und sollen durch Isomerisierung zwischen Flavanon und dem entsprechenden Chalkon entstehen. Die Lage des Gleichgewichts soll u.a. von der Derivatisierungstemperatur und der Injektionstechnik abhängen, so dass es gegebenenfalls auch erst im heißen Injektor zur Umwandlung kommt, bei der sich das Gleichgewicht allmählich zum silylierten Chalkon (Peak 1) verschiebt [146]:



Je nachdem, ob die Silylierung vom Flavanon oder vom Chalkon ausgeht, ist das Verhältnis bei gleicher Reaktionszeit unterschiedlich [146]. Wenn Fraktion 3 mit TMSI in Pyridin silyliert wird (Abb. 61a), liegt im Gegensatz zum silylierten Naringenin (Abb. 61b) überwiegend das Chalkon (Peak 1) vor und Peak 2 von Naringenin ist nur schwach ausgeprägt. Demnach enthält Fraktion 3 überwiegend das Chalkon. Noch deutlicher wird dies, wenn anstelle von TMSI mit Hexamethyldisilazan (HMDS) und Trimethylchlorsilan (TMCIS) silyliert wird. Aus Naringenin entsteht damit fast ausschließlich Peak 2 (Abb. 61c); erst wenn die Lösung bei Raumtemperatur stehen bleibt, nimmt Peak 1 allmählich an Intensität zu. Aus Fraktion 3 entsteht dagegen wiederum hauptsächlich das Chalkon (Peak 1, Abb. 61d). Jedoch blieb zunächst unklar, wieviel Naringenin tatsächlich in Fraktion 3 vorlag.

## 5.2 GC/FID mit On-Column-Aufgabe

Zunächst wurde die hohe Injektortemperatur als Ursache für die Umwandlung von Naringenin zum Chalkon vermutet. Deshalb wurden je 0,2 µl der vier Ansätze zur Silylierung zusätzlich mit einer dünnen Nadel bei 50 °C direkt auf die Säule in einen zweiten Gaschromatographen mit FID injiziert („on column“-Aufgabe) und die Säule erst danach mit 20 °C/min auf 300 °C aufgeheizt. Wenn Fraktion 3 in Pyridin mit TMSI silyliert wurde (Abb. 62a), war beim heißen Injektor Peak 4 neben einem kleinen Peak 5 zu erkennen. Die gleiche Silylierung von Naringenin (Abb. 62b) ergab ebenfalls Peak 4 als Hauptkomponente. Dies deutete darauf hin, dass in Fr. 3 Naringenin in hohen Anteilen vorliegt.



**Abbildung 62:** Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm aus der Umsetzung von **a** 0,3 mg Fraktion 3, **b** 0,3 mg Naringenin, jeweils in 900 µl Pyridin und 100 µl TMSI, **c** 0,3 mg Naringenin in 900 µl Pyridin, 75 µl HMDS und 25 µl TMCIS, und **d** 0,3 mg Naringenin, **e** 0,3 mg Naringenin, jeweils in 900 µl Pyridin und 100 µl MSTFA

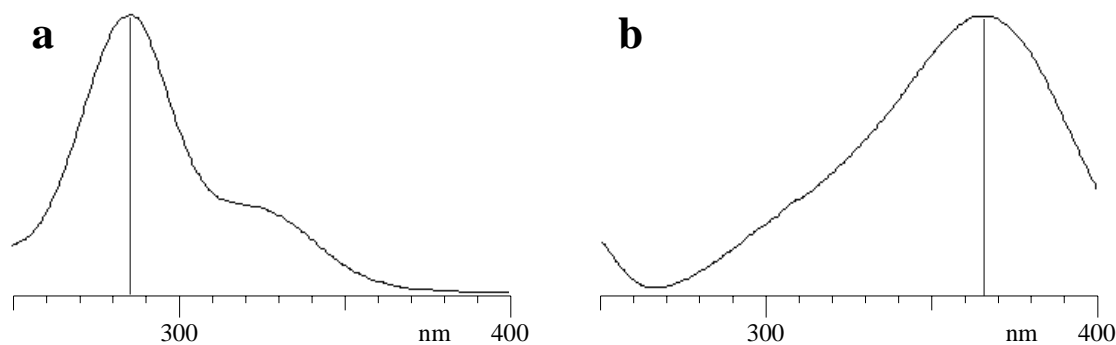
Geräteinstellungen: a-d: GC-Säule: 5 % Phenyl-, 95 % Methylsilikon, 30 m Länge, 0,32 mm i.D., 0,25 µm Filmdicke; Injektortemperatur: 50 °C; Temperaturprogramm: von 50 °C mit 20 °C/min auf 300 °C; Trägergas: Wasserstoff; Fluss: 1,0 ml/min, e: wie in Abb. 61

Wenn jedoch Naringenin mit HMDS/TMClS (Abb. 62c) oder mit N-Methyl-N-trimethylsilyl-trifluoracetamid (MSTFA) (Abb. 62d) umgesetzt wurde, war Peak 6 die Hauptkomponente. Dies und der Vergleich mit den Chromatogrammen bei heißem Injektor (Abb. 61d und Abb. 62e) zeigen, dass die Lage des Gleichgewichts auch von der Art der Silylierung beeinflusst wird. Auch die On-Column-Aufgabe ermöglichte also keine präzise Aussage über die Anteile von Naringenin in Fraktion 3.

### 5.3 UV-Spektrometrie

Das UV-Spektrum von Fraktion 3 in Methanol von 250 bis 400 nm deutete auf das Chalkon als Hauptkomponente, denn es hatte wie dieses ein Maximum bei etwa 365 nm (Abb. 63b) [146, 147]. Das Maximum für Naringenin bei 285 nm (Abb. 63a) war dagegen bei Fraktion 3 nicht zu sehen.

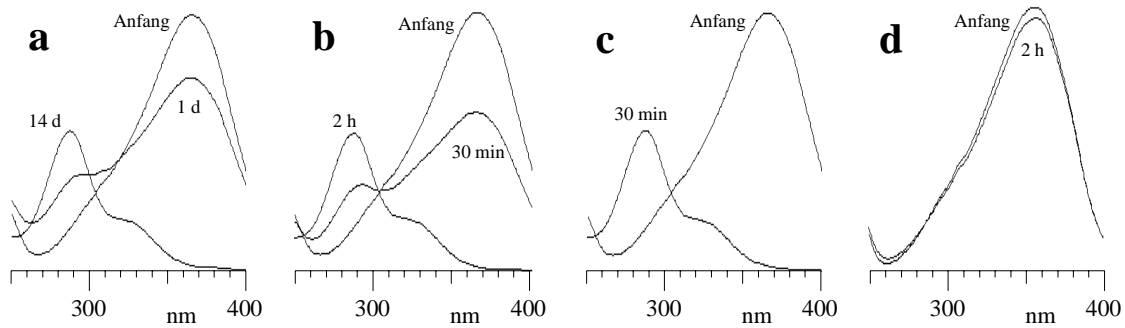
Nach früheren Untersuchungen an Tomatenschalen soll Naringenin (2 – 5 % des Gesamtgehaltes an Naringenin und seinem Chalkon) in racemischer Form vorliegen [148], weil das Chalkon cyclisiert, besonders schnell bei etwa pH 7,5 [149].



**Abbildung 63:** UV-Spektrum von **a** Naringenin in Methanol ( $c = 0,01$  mg/ml), **b** Fraktion 3 in Methanol ( $c = 0,005$  mg/ml)

Geräteeinstellungen: UV-VIS-Spektrometer (Fa. Perkin-Elmer, Modell Lambda 40), Aufnahmegeschwindigkeit: 280 nm/min, Bereich: 250 bis 400 nm

In den eigenen Versuchen hing die Umwandlungsgeschwindigkeit auch von der Temperatur und vom Lösungsmittel ab. In Methanol bei Raumtemperatur nahm das Maximum bei 365 nm in Fraktion 3 nach 1 d um etwa 30 % ab zugunsten eines neuen Maximums bei 285 nm und war nach etwa 14 d verschwunden (Abb. 64a). Das entstandene UV-Spektrum war das von Naringenin (Abb. 63a). Die Umwandlung dauerte bei 50 °C nur 2 h (Abb. 64b) und bei 70 °C nur 30 min (Abb. 64c). Im aprotischen TBME nahm dagegen das Maximum bei 365 nm sogar nach 2 h bei 70 °C nicht merklich ab (Abb. 64d).

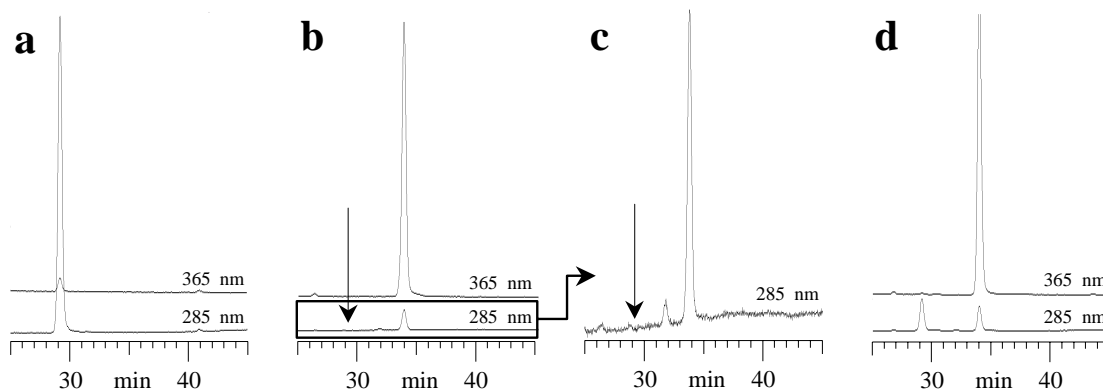


**Abbildung 64:** UV-Spektren von Fraktion 3 **a** bei Raumtemperatur, **b** bei 50 °C, **c** bei 70 °C, alle in Methanol, **d** in TBME bei 70 °C

Geräteeinstellungen wie in Abb. 63

Dies legte die Frage nahe, ob nicht schon bei der Extraktion des Waxes aus den Tomaten mit TBME/Methanol (9 + 1) und dem Eindampfen des Extraktes bei 40 °C ein Teil des Chalkons zum Naringenin cyclisiert worden war.

Um höhere Temperaturen zu vermeiden, wurde Fraktion 3 durch HPLC an einer RP-18-Phase mit dem Dioden-Array-Detektor (DAD) mit besonderem Augenmerk für die Maxima bei 365 nm und 285 nm untersucht. Wie Abb. 65a zeigt, erschien Naringenin bei etwa 29,2 min und hatte das gleiche UV-Spektrum wie in Abb. 63a.



**Abbildung 65:** HPLC-Chromatogramme **a** von Naringenin in Methanol, **b** des Methanolextraktes von Tomaten (sofort injiziert), **c** Ausschnitt aus **b**, **d** Methanolextrakt von Tomaten nach Eindampfen auf etwa ein Drittel

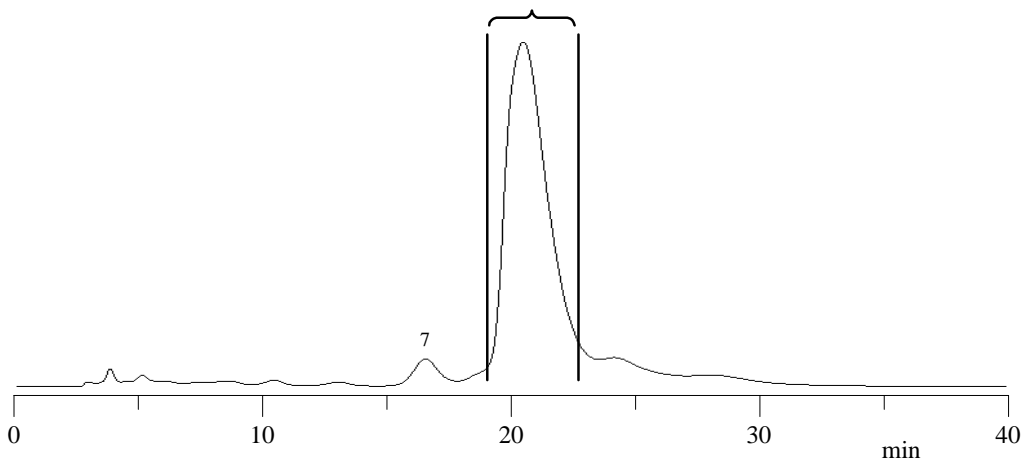
Geräteeinstellungen: HPLC-Säule: Superspher RP-18e, 250 mm Länge, 2 mm i.D., 4 µm Korngröße; Eluent: A: 1%ige Ameisensäure, B: Methanol, Gradient: von 60 % A in 40 min auf 35 % A, dann in 10 min auf 20 % A, Fluss: 0,2 ml/min, Detektor: UV bei 285 und 365 nm; Injektion: 2 µl

Da sich Naringenin und sein Chalkon gut in Methanol lösen, wurden 10 Tomaten 30 s im Ultraschallbad in 50 ml Methanol gewälzt. Die Lösung wurde filtriert und sofort zur HPLC injiziert. Im Chromatogramm (Abb. 65b) trat bei etwa 33,7 min ein Peak auf, dessen UV-Spektrum mit dem des Chalkons in Abb. 63b übereinstimmte, aber kein Peak bei der Retentionszeit des Naringenins (29,2 min; Pfeil in Abb. 65c). Wenn jedoch die Lösung im Rotations-

verdampfer auf etwa ein Drittel eingengt wurde, erschien ein Peak an dieser Stelle mit dem Maximum bei 285 nm (Abb. 65d). Man kann also davon ausgehen, dass in Fraktion 3 hauptsächlich das Chalkon vorliegt.

#### 5.4 Präparative HPLC und $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie

Um die Identität des Chalkons noch auf andere Weise abzusichern, wurden die Abdampfrückstände von 7 Fraktionen 3 in 2 ml Methanol gelöst und durch präparative HPLC an einer RP-18-Phase mit 4 ml/min Ameisensäure (1 %)/Methanol (6 + 4) als Fließmittel und Detektion bei 285 nm getrennt.



**Abbildung 66:** HPLC-Chromatogramm der Fraktion 3 bei Trennung an einer präparativen HPLC-Säule

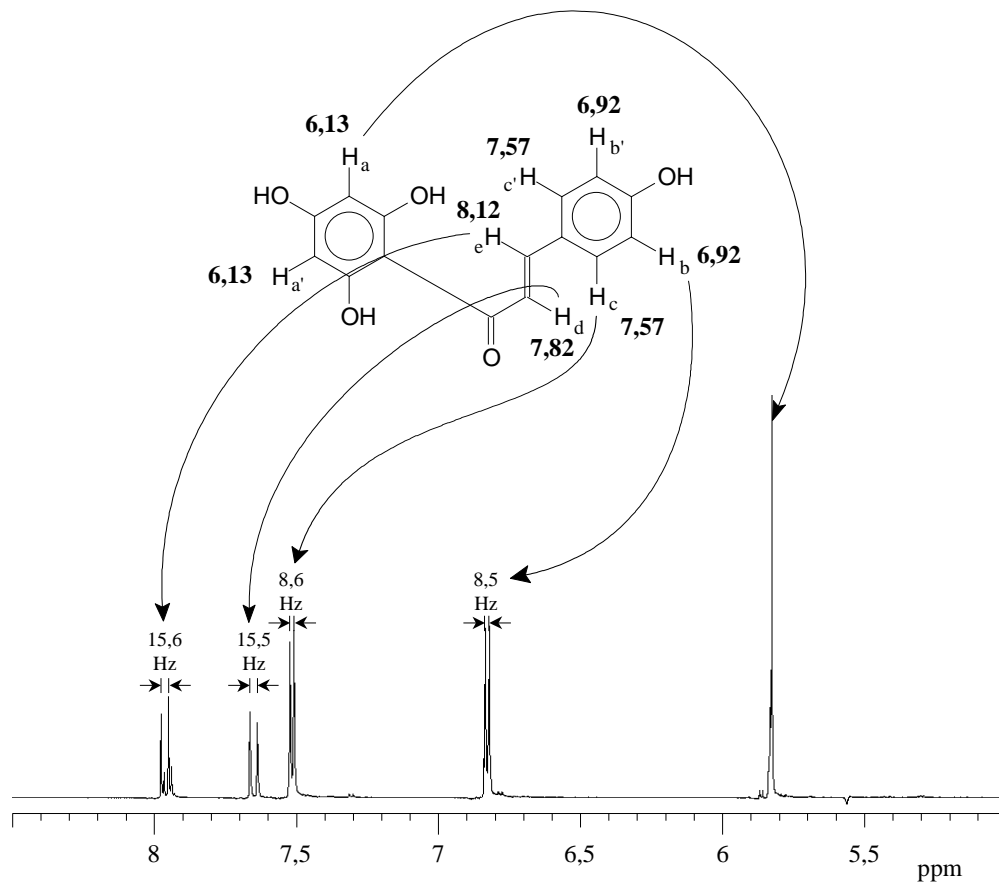
7 Naringenin

Geräteeinstellungen: HPLC-Säule: RP-18e, 250 mm Länge, 10 mm i.D., 10  $\mu\text{m}$  Korngröße; Eluent: Ameisensäure (1 %)/Methanol (60 + 40); Fluss: 4,0 ml/min, Detektion: UV bei 285 nm; Injektion: 300  $\mu\text{l}$

Der pH-Wert von 3 im Fließmittel sollte dabei eine Umwandlung des Chalkons zu Naringenin möglichst gering halten. Im Chromatogramm (Abb. 66) stammte nur der kleine Peak 7 von Naringenin. Die Fraktion von etwa 19 bis 22,5 min wurde aufgefangen und ergab 4,0 mg, die in 750  $\mu\text{l}$  deuteriertem Dimethylsulfoxid ( $\text{DMSO-D}_6$ ) gelöst wurden. Abb. 67 zeigt den für die Protonen des Chalkons maßgeblichen Ausschnitt aus dem  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum bei 600 MHz. Die Zahlen an der Formel geben die berechneten chemischen Verschiebungen in ppm an, die aber tatsächlich bis zu 0,6 ppm abweichen können. Die Integration der Peaks ergab eine Verteilung, ausgehend von etwa 8 ppm, von 1:1:2:2:2. Dabei könnte das Singulett bei 5,83 ppm (theoret. 6,13 ppm) von den beiden magnetisch äquivalenten Protonen ( $\text{H}_a$  und  $\text{H}_{a'}$ ) des B-Ringes stammen. Die magnetisch äquivalenten Protonen  $\text{H}_b$  und  $\text{H}_b$  sowie  $\text{H}_c$  und  $\text{H}_{c'}$  des A-Ringes müssen jeweils ein Dublett ergeben (hier: 6,83 und 7,62 ppm), da sie untereinander koppeln. Die Kopplungskonstanten  $^3J_{bc}$  ( $= ^3J_{b'c'}$ ) von 8,5 und 8,6 Hz liegen im Bereich



6,0 – 10,0 Hz disubstituierter Benzolringe [150]. Die Protonen der Doppelbindung  $H_d$  und  $H_e$  koppeln untereinander und ergeben jeweils ein Dublett (hier: 7,65 und 7,96 ppm). Die Kopplungskonstanten von 15,5 und 15,6 Hz deuten auf eine trans-Stellung hin [151]. Damit war das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum mit der Struktur von Naringenin-chalkon zu vereinbaren.



**Abbildung 67:**  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum<sup>8)</sup> (600 MHz) des Rückstandes (4,0 mg) der HPLC-Fraktion 19 bis 22,5 min in Abb. 66, gelöst in  $\text{DMSO-D}_6$ .

Gerät: 600 MHz-NMR (Varian Modell unit plus)

<sup>8)</sup> Der NMR-Abteilung des Instituts für Organische Chemie der Universität Münster danke ich für die Aufnahme des  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums.

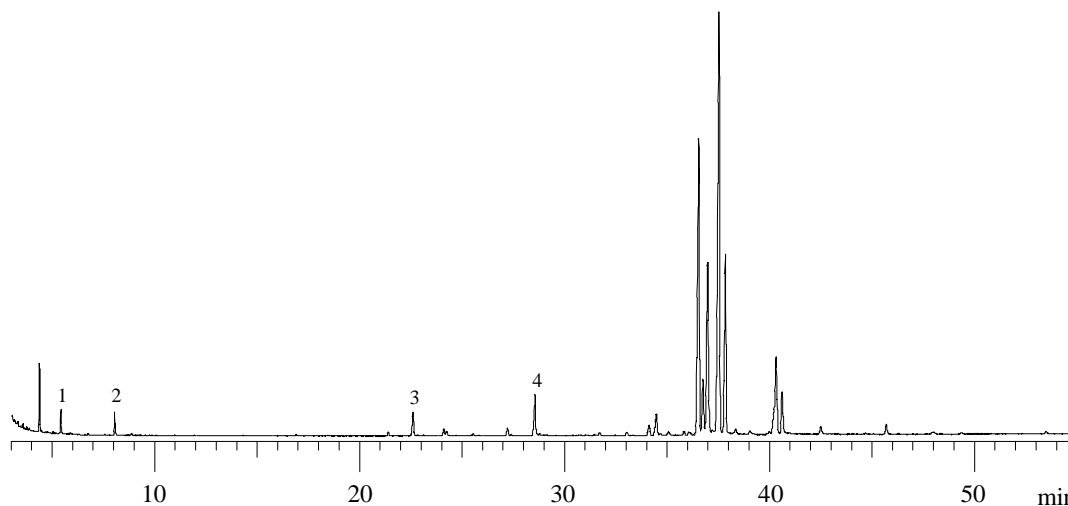
## 6 Identifizierung der Komponenten in Paprika und Auberginen

### 6.1 Paprikawachs-Fraktion 1 (Kohlenwasserstoffe und Aldehyde)

Anhand der Massenspektren wurden die n-Alkane von n-C<sub>20</sub> bis n-C<sub>35</sub>, die iso-Alkane iso-C<sub>25</sub> bis iso-C<sub>35</sub> und die Aldehyde C<sub>26</sub>, C<sub>28</sub> und C<sub>30</sub> identifiziert. Im Gegensatz zu Tomaten waren keine Alkene und keine anteiso-Alkane vorhanden. Die quantitative Zusammensetzung von Fraktion 1 wird in Kapitel 7 behandelt.

### 6.2 Paprikawachs-Fraktion 2 (Fett- und Triterpenalkohole und Fettsäuren)

Abb. 68 zeigt das Gaschromatogramm der silylierten Bestandteile in Fraktion 2 von Wachs der Sorte „Topboy“, in dem hauptsächlich Peaks von Triterpenen von 35 bis 41 min zu sehen sind. Auf dieses Chromatogramm wird in den weiteren Abschnitten von Kapitel 5 immer wieder Bezug genommen.



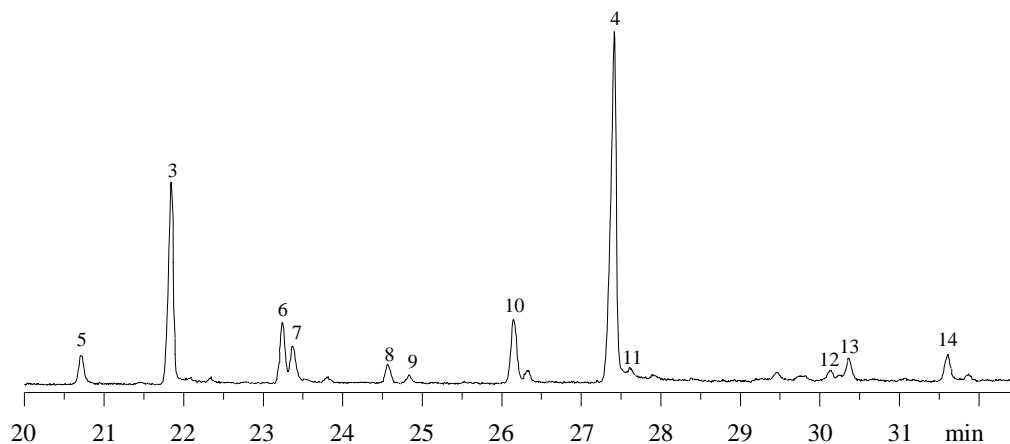
**Abbildung 68:** Gaschromatogramm der Fraktion 2 (Methanol) von Paprikawachs der Sorte „Topboy“ nach Eindampfen und Lösen des Rückstandes in 0,8 ml TBME und 0,2 ml TMSI

1 Hexadecansäure, 2 Octadecansäure, 3 Tetracosansäure, 4 Hexacosansäure

Geräteeinstellungen wie in Abb. 3

#### 6.2.1 Gesättigte Fettalkohole, Fettsäuren und 2-Hydroxyfettsäuren

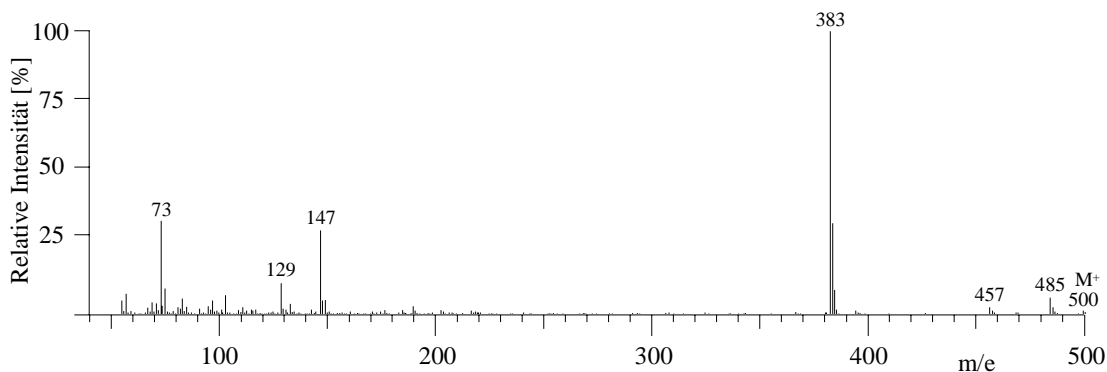
Vorher wurden bis etwa 30 min hauptsächlich die geradzahligen, gesättigten Fettsäuren C<sub>16</sub>, C<sub>18</sub>, C<sub>24</sub> und C<sub>26</sub> (Peaks 1 – 4) eluiert und durch ihre Massenspektren identifiziert. Der Bereich von 20 bis 32 min (Abb. 69) enthielt wenig ungeradzahlige Fettsäuren C<sub>25</sub> und C<sub>27</sub> (8 und 13), die Fettalkohole C<sub>26</sub>, C<sub>27</sub> und C<sub>28</sub> (9, 12 und 14), Naringenin-chalkon (6 und 7) sowie die Peaks 5, 10 und 14 mit zunächst unbekanntem Massenspektren. Diese waren sehr ähnlich; nur bei höheren Massen waren die Fragmente um 28 Einheiten verschoben, so dass die Peaks von Gliedern einer homologen Reihe stammen könnten.



**Abbildung 69:** Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm in Abb. 68

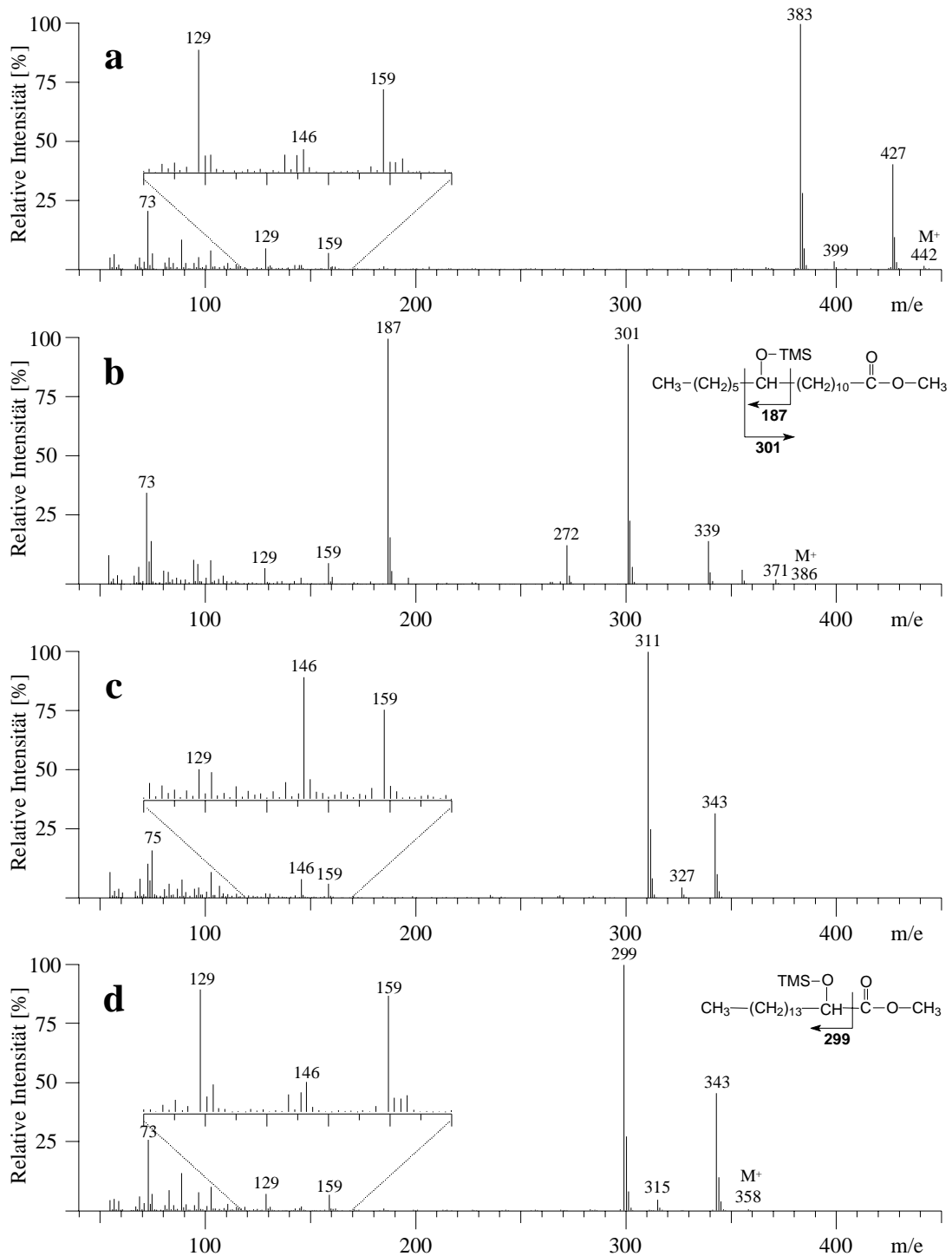
3 Tetracosansäure, 4 Hexacosansäure, 5 2-Hydroxydocosansäure, 6 und 7 Naringenin-chalkon, 8 Pentacosansäure, 9 Hexacosanol, 10 2-Hydroxytetracosansäure, 11 Heptacosanol, 12 Heptacosansäure, 13 Octacosanol, 14 2-Hydroxyhexacosansäure

Im Massenspektrum von Peak 5 (Abb. 70) waren  $m/e$  383 ( $M^+ - 117$ ),  $m/e$  73 und  $m/e$  147 besonders intensiv.  $m/e$  147 deutet auf einen Stoff mit zwei oder mehr Trimethylsilylgruppen hin [152 – 154].



**Abbildung 70:** Massenspektrum von Peak 5 in Abb. 69

Wenn Fraktion 2 zuerst mit Trimethylsilyldiazomethan methyliert und anschließend silyliert wurde, so verschob sich der Molekülpeak von  $m/e$  500 nach  $m/e$  442 (Abb. 71a). Dies spricht dafür, dass eine Carboxylgruppe nun methyliert statt silyliert worden ist ( $500 - (\text{CH}_3)_3\text{Si} + \text{CH}_3$ ,  $500 - 73 + 15$ ). Außerdem war  $m/e$  147 verschwunden, und  $m/e$  73 deutete auf eine einzelne silylierte Hydroxygruppe hin. Intensiv waren auch  $m/e$  383 ( $M^+ - 59$ ) und  $m/e$  427 ( $M^+ - 15$ ). Der Molekülpeak von  $m/e$  442 ließ auf eine Hydroxydodecansäure ( $M = 356$ ,  $442 - (\text{CH}_3)_3\text{Si} - \text{CH}_3 + 2 \text{H}$ ,  $442 - 73 - 15 + 2$ ) schließen.

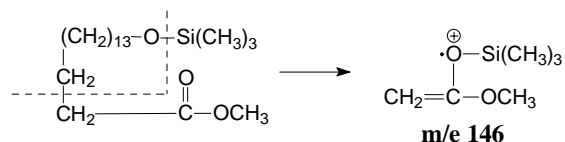


**Abbildung 71:** Massenspektren von **a** Peak 5, **b** 12-Hydroxyoctadecansäure, **c** 16-Hydroxyhexadecansäure, **d** 2-Hydroxyhexadecansäure, jeweils mit Trimethylsilyldiazomethan methyliert und mit TMSI silyliert

Die Position der Hydroxygruppe darin ergibt sich z.B. aus den Massenspektren der Pyrrolidin- [155] oder 4,4-Dimethyloxazolin-Derivate [156], aber auch der Trimethylsilylmethylester [157 – 159]. Wenn die Hydroxygruppe wie bei 12-Hydroxyoctadecansäure etwa in der

Mitte der Kette steht, so entstehen die intensivsten Fragmente aus dem Bruch zwischen dem C-Atom mit der Trimethylsilylgruppe und den benachbarten C-Atomen ( $m/e$  187 und 301 in Abb. 71b) [157]. Steht dagegen die Hydroxygruppe wie bei 16-Hydroxyhexadecansäure (Abb. 71c) am Ende der Kette, so enthielt das Massenspektrum  $M^+ - 15$  ( $m/e$  343) wie bei Peak 5; der Basispeak war aber nicht  $M^+ - 59$  sondern  $M^+ - 47$  ( $m/e$  311).

Zusätzlich war  $m/e$  146 im Vergleich intensiver als  $m/e$  129 und  $m/e$  159 bei Peak 5 (Abb. 71a).



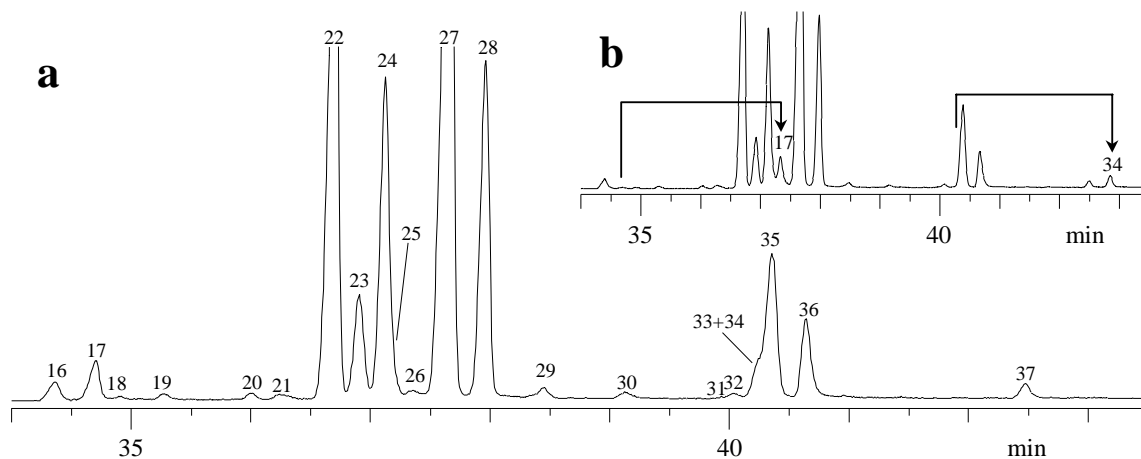
$M^+ - 59$  aus dem Bruch zwischen der Carboxyl- und der Trimethylsilylgruppe fällt nur bei einer 2-Hydroxyfettsäure intensiv aus [158]. Dies wurde am Massenspektrum von 2-Hydroxyhexadecansäure bestätigt, in dem  $M^+ - 59$  ( $m/e$  299) sogar der Basispeak war (Abb. 71d). Das weitere Fragmentierungsmuster war der methylierten und silylierten Substanz von Peak 5 sehr ähnlich. Damit waren die Peaks 5, 10 und 14 als 2-Hydroxydocosan-, 2-Hydroxytetracosan- und 2-Hydroxyhexacosansäure identifiziert.

Anhand der Massenspektren konnten als weitere Bestandteile in Fraktion 2 zusätzlich die 2-Hydroxyfettsäuren  $C_{20}$ ,  $C_{21}$ ,  $C_{23}$  und  $C_{25}$  identifiziert werden.

Wenn die Suspension des Wachs-Celite-Gemisches in TBME 30 s im Ultraschallbad stehen blieb und die Lösung nach Zentrifugieren mit TMSI silyliert wurde, so wurden die Peaks der drei 2-Hydroxyfettsäuren größer als nach der Elution vom Kieselgel mit Methanol. Offenbar wurden diese Stoffe nicht vollständig eluiert. Daraufhin wurde dem Methanol zur Elution von Fraktion 2 0,1 % Citronensäure zugesetzt. Dadurch wurden die Peaks 5, 10 und 15 deutlich größer, die weiteren Peaks aber nicht.

### 6.2.2 Sterole, Triterpenalkohole und Triterpenketon

Im Bereich von 34 bis 43 min in Abb. 68 wurden überwiegend die Triterpenalkohole eluiert (Abb. 72). Hauptkomponenten waren  $\alpha$ -Amyrin (27), gefolgt von  $\beta$ -Amyrin (22), Lupeol (28) und einem noch nicht bekannten Peak 24. In Spuren vorhanden waren die schon aus Tomatenwachs bekannten Sterole Stigmasterol (19) und  $\beta$ -Sitosterol (23) und die Triterpenalkohole Taraxerol (20),  $\delta$ -Amyrin (21), Germanicol (23), Multiflorenol (30), Bauerenol (31),  $\psi$ -Taraxasterol (32) und Taraxasterol (33).

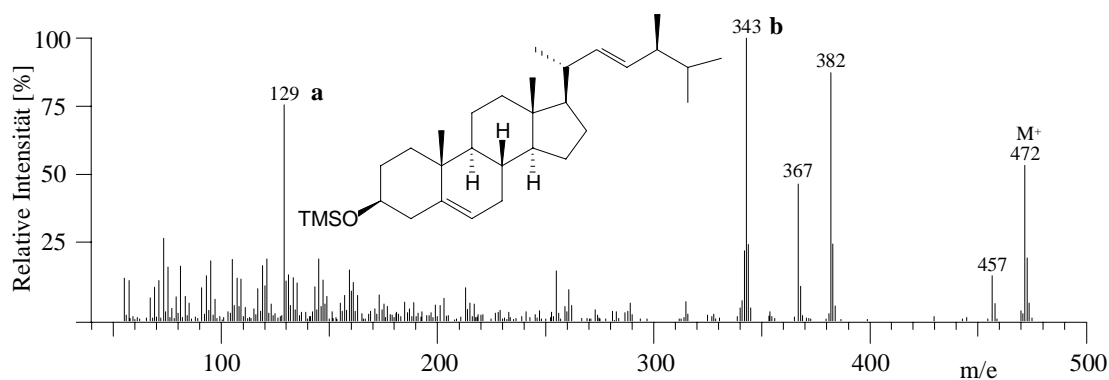


**Abbildung 72:** a Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm in Abb. 68, b nach Umsetzung mit Trimethylsilyldiazomethan und TMSI

16 Campesterol, 17 Octacosansäure, 18 Nonacosanol, 19 Stigmasterol, 20 Taraxerol, 21  $\delta$ -Amyrin, 22  $\beta$ -Amyrin, 23  $\beta$ -Sitosterol und Germanicol, 24 Glutinol, 25 Isomultiflorenol, 26 Isobauerenol, 27  $\alpha$ -Amyrin, 28 Lupeol, 29 RT 38,4 min, 30 Multiflorenol, 31 Bauerenol 32  $\psi$ -Taraxasterol, 33 Taraxasterol, 34 Triacontansäure, 35  $\beta$ -Friedelanol, 36 Friedelin, 37 RT 42,5 min

### 6.2.2.1 Peak 16 (Campesterol)

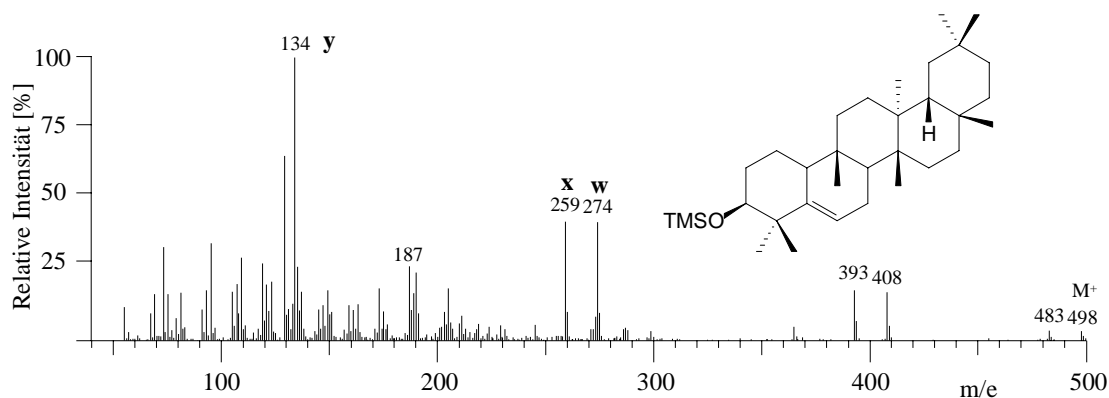
Das Massenspektrum von Peak 16 (Abb. 73) zeigte das typische Fragmentierungsmuster eines 3-Sterols mit Doppelbindung zwischen C<sub>5</sub> und C<sub>6</sub> wie bei Stigmasterol (Abb. 36) und  $\beta$ -Sitosterol (Abb. 50b). Nach der Retentionszeit und dem Massenspektrum einer Vergleichssubstanz handelte es sich um Campesterol.



**Abbildung 73:** Massenspektrum von Peak 16 (Campesterol) in Abb. 72a

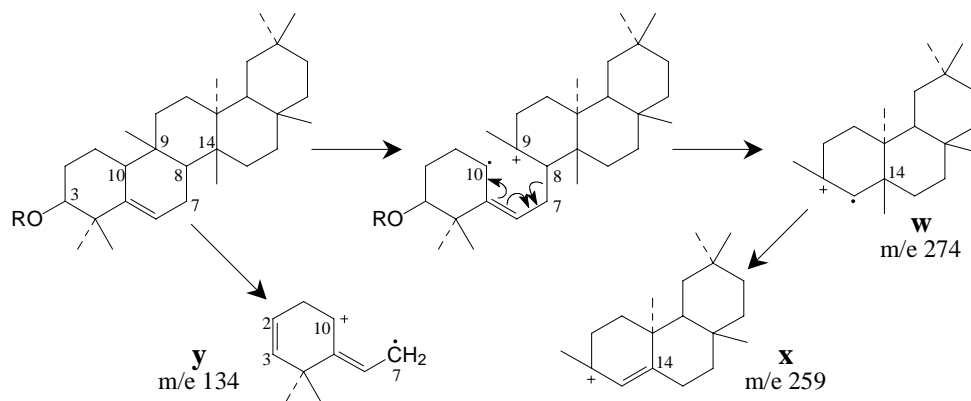
### 6.2.2.2 Peak 24 (Glutinol)

Das Massenspektrum von Peak 24 (Abb. 64) ist schon im Oberflächenwachs von *Panicum miliaceum* bei Glutinol (Peak 67 in Abb. 51b) beschrieben worden, dessen Peak die gleiche Retentionszeit wie Peak 24 hatte.



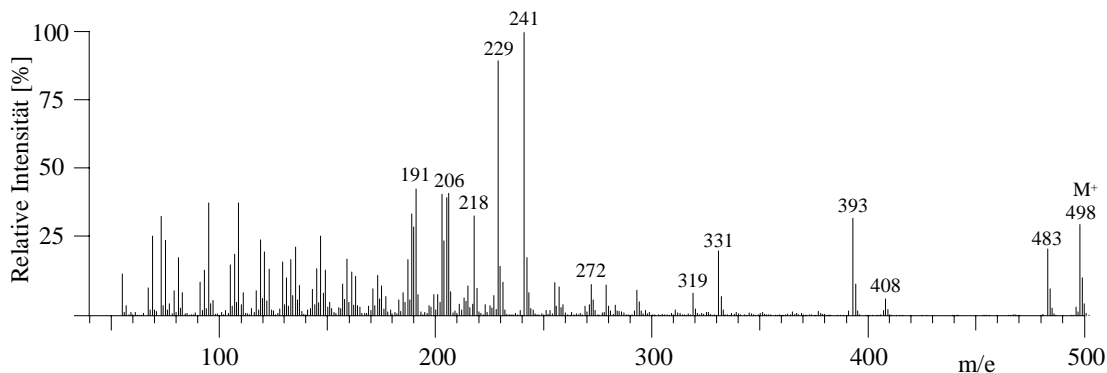
**Abbildung 74:** Massenspektrum von Peak 24 (Glutinol) in Abb. 72a

Durch Ionisation an C<sub>9</sub> und Bruch zwischen C<sub>7</sub> und C<sub>8</sub> und zwischen C<sub>9</sub> und C<sub>10</sub> soll Fragment **w** (m/e 274) und daraus Fragment **x** (m/e 259) durch Abspaltung einer Methylgruppe an C<sub>14</sub> entstehen [117]. Beide waren bei der acetylierten und oxidierten Form (Anhang Abb. K) noch intensiver. Fragment **y** (m/e 134) entsteht aus den gleichen Bindungsbrüchen, wenn die positive Ladung an Ring A bleibt und zusätzlich der Rest an C<sub>3</sub> unter Ausbildung einer Doppelbindung zwischen C<sub>2</sub> und C<sub>3</sub> abgespalten wird. Peak 24 war damit als Glutinol identifiziert.



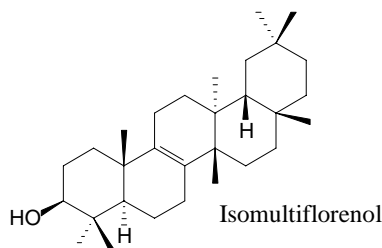
### 6.2.2.3 Peak 25 (Isomultiflorenol)

Im Massenspektrum (Abb. 75) von Peak 25 an der rechten Flanke von Peak 24 fielen m/e 229 und m/e 241 auf, die auch schon beim silylierten Multiflorenol aufgetreten waren (Abb. 45), außerdem m/e 331, m/e 319 und das Muster zwischen m/e 189 und m/e 218. Peak 25 mußte also dem Multiflorenol recht ähnlich sein. Hilfreich war der Hinweis, dass Isomultiflorenol (Multiflor-8-en-3 $\beta$ -ol) bei der GC an Methylsilikon und Phenyl-methylsilikon (je 50 %) wie Peak 25 zwischen  $\beta$ - und  $\alpha$ -Amyrin eluiert wird [126, 160].



**Abbildung 75:** Massenspektrum von Peak 25 (Isomultiflorenol) in Abb. 72a

Auch das Massenspektrum der oxidierten Form (Anhang Abb. L) deutete auf diesen Strukturtyp hin [114].

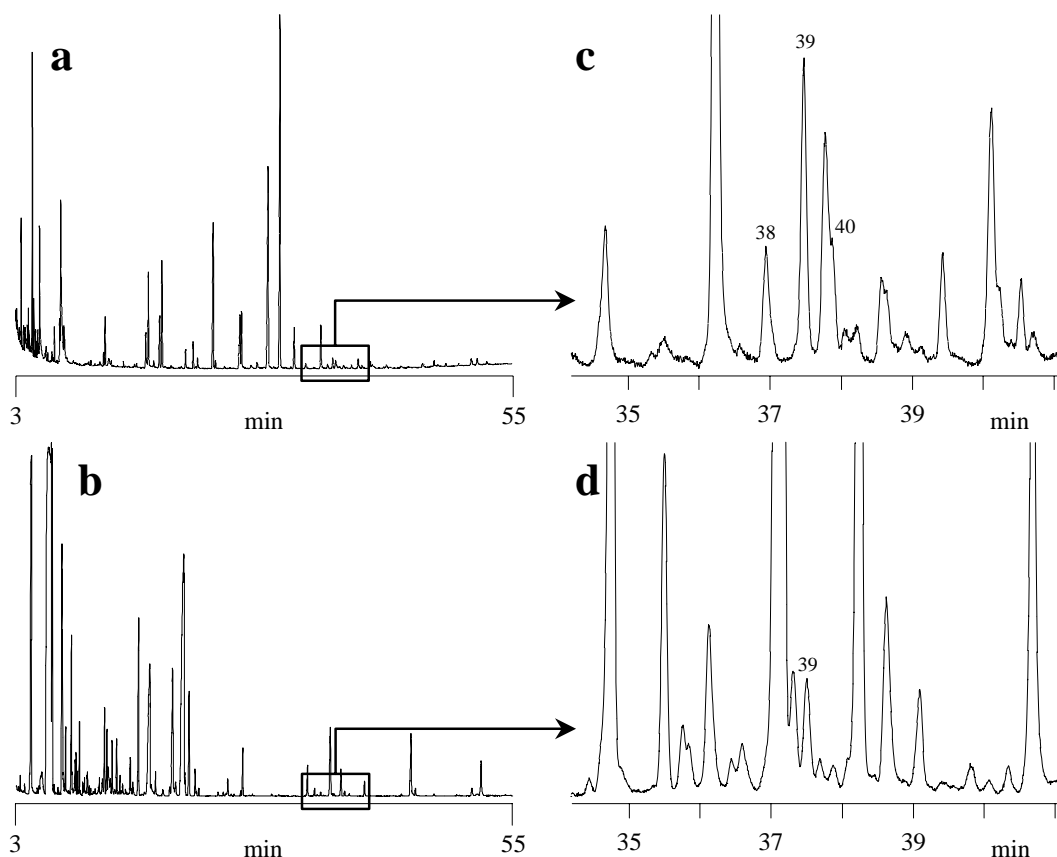


Isomultiflorenol ist bekannt als Hauptkomponente der Triterpenolfraction von Samen der *Cucurbitaceae* und soll darin bei *Cucumis sativus* (Gurken) 38 % und bei *Citrullus battich* (Wassermelone) 39 % ausmachen [131]. Daher wurden jeweils 3 g zerkleinerte Samen beider Pflanzen mit 25 ml Chloroform 1 min im Ultraschallbad extrahiert. Die Filtrate wurden eingedampft, die Rückstände mit 100  $\mu$ l Natriummethylatlösung (2 mol/l in Methanol) versetzt 30 min bei 70 °C stehen gelassen, mit 25  $\mu$ l Salzsäure (25 %) versetzt und eingedampft. Die Rückstände wurden mit 1 ml TBME und 200  $\mu$ l TMSI 10 s geschüttelt und zentrifugiert; jeweils 1  $\mu$ l der überstehenden Lösung wurde zur GC/MS injiziert.

Abb. 76a zeigt das Gaschromatogramm für Gurke und Abb. 76b für Wassermelone. Beide enthielten vor allem Fettsäuremethylester und Sterole, aber nur sehr geringe Anteile von Triterpenalkoholen.

Die einzigen Peaks, die von Triterpenolen stammen, waren 38 ( $\beta$ -Amyrin) und 40 ( $\alpha$ -Amyrin) sowie Peak 39, der aber in Massenspektrum und Retentionszeit mit Peak 25 übereinstimmte und auch bei der Wassermelone (Abb. 76d) vorhanden war. Daraus wurde geschlossen, dass Peak 25 von Isomultiflorenol stammt.





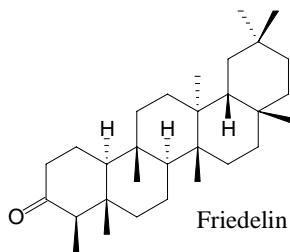
**Abbildung 76:** Gaschromatogramme der Extrakte aus Samen nach Umesterung mit Natriummethylat von **a** Gurken, **b** Wassermelonen, jeweils in 1 ml TBME und 200  $\mu$ l TMSI aufgenommen, **c** und **d** Vergrößerung daraus

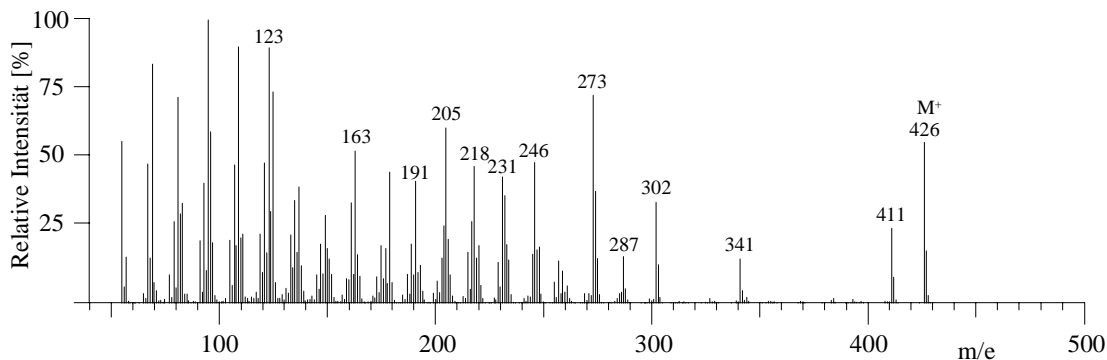
38  $\beta$ -Amyrin, 39 Isomultiflorenol, 40  $\alpha$ -Amyrin

Geräteeinstellungen wie in Abb. 3

#### 6.2.2.4 Peak 36 (Friedelin)

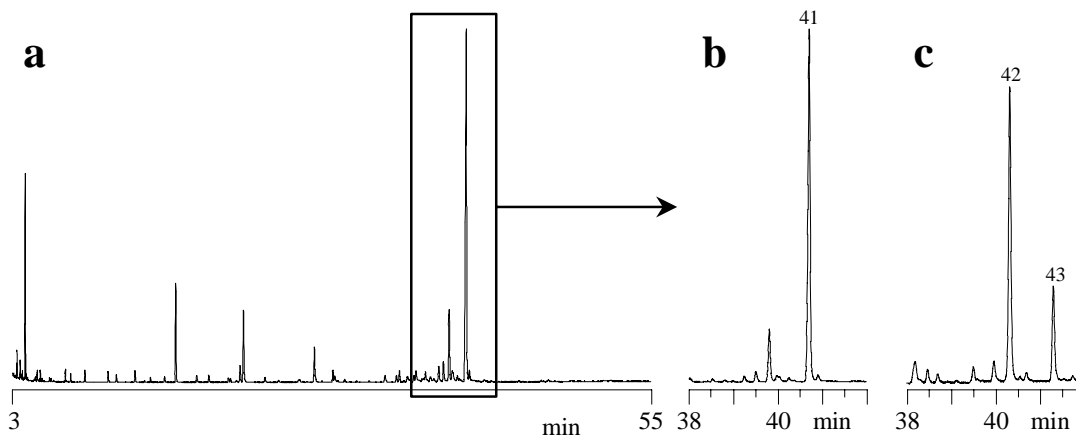
Abb. 77 zeigt das Massenspektrum von Peak 36 in Abb. 72a. Darin ist der Molekülpeak  $m/e$  426 typisch für einen unsilylierten Triterpenalkohol. Das Massenspektrum veränderte sich aber nicht, wenn Fraktion 2 mit mehr TMSI versetzt, acetyliert und oxidiert wurde. Dies ließ vermuten, dass es sich um ein Triterpenketon handelt. Die Retentionszeit und die MS-Fragmente  $m/e$  123, 205 273, 302, 341 deuteten auf Friedelin hin [114, 117, 126, 161].





**Abbildung 77:** Massenspektrum von Peak 36 (Friedelin) in Abb. 72a

Friedelin ist als Hauptkomponente im Oberflächenwachs der Grapefruit (*Citrus paradisi*) beschrieben worden [162]. Daher wurde eine Frucht in 50 ml Chloroform gewälzt und das Filtrat eingedampft. Die Lösung von 3 mg des Rückstandes in 2 ml TBME wurde durch 100 mg Kieselgel gegeben und 1  $\mu$ l des Eluates zur GC/MS injiziert. Die Hauptkomponente im Gaschromatogramm (Abb. 78a) war Peak 41, der in Massenspektrum und Retentionszeit mit Peak 36 übereinstimmte. Peak 36 war damit als Friedelin identifiziert.

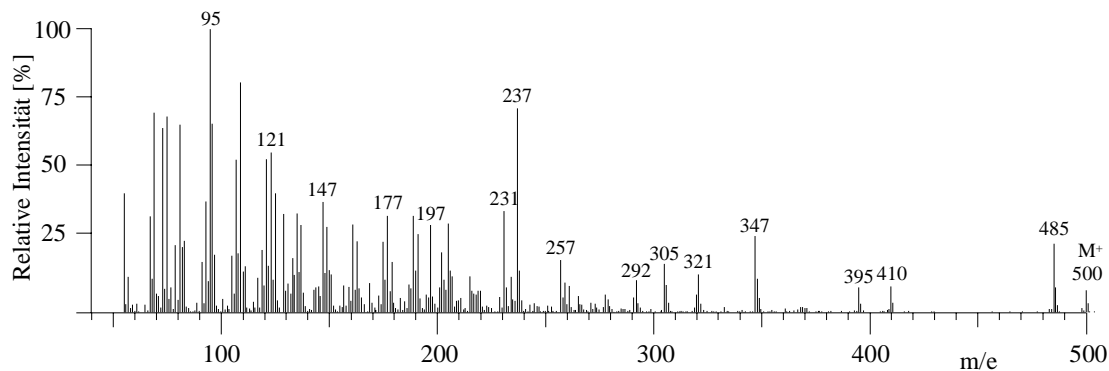


**Abbildung 78:** a Gaschromatogramm des Chloroform-Extrakts einer Grapefruitfrucht (*Citrus paradisi*) nach Lösen des Rückstandes in TBME und Kieselgelfraktionierung, b vergrößerter Ausschnitt daraus, c nach Hydrierung mit Wasserstoff an Platin(IV)-oxid

41 Friedelin, 42 3 $\beta$ -Friedelanol, 43 3 $\alpha$ -Friedelanol

### 6.2.2.5 Peak 35 (3 $\beta$ -Friedelanol)

Wenn Fraktion 2 zuerst mit Trimethylsilyldiazomethan und erst danach mit TMSI umgesetzt wurde, verschob sich Peak 34 (Triacontansäure, Abb. 72b), so dass das Massenspektrum von Peak 35 (Abb. 79) ungestört aufgenommen werden konnte. Bemerkenswert war darin der Molekülpeak (m/e 500), der um 2 Massen höher lag als bei den anderen silylierten Triterpenalkoholen.

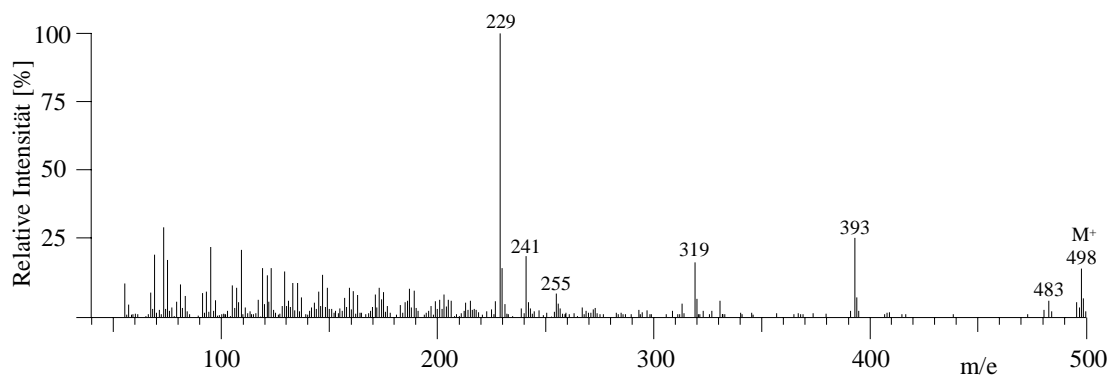


**Abbildung 79:** Massenspektrum von Peak 35 (3 $\beta$ -Friedelanol) in Abb. 72b

Wenn Fraktion 2 mit Pyridiniumchlorchromat (PCC) oxidiert wurde, so nahm die Fläche von Friedelin (Peak 36) zu; Peak 35 mußte also von einer reduzierten Form von Friedelin stammen. Wenn das Wachs der Grapefruit mit Wasserstoff an Platin(IV)-oxid hydriert wurde, verschwand Friedelin (41, Abb. 78b) zu Gunsten von zwei neuen Peaks (42 und 43, Abb. 77c), die von 3 $\alpha$ - und 3 $\beta$ -Friedelanol stammen mußten. Der größere Peak 42 stimmte dabei in Massenspektrum und Retentionszeit mit Peak 35 überein. Wie beim Hydrieren der Fraktion 2 von Tomaten mußte sich überwiegend das 3 $\beta$ -Isomere gebildet haben. Dafür spricht auch, dass an DB-5 3 $\beta$ -Friedelanol vor 3 $\alpha$ -Friedelanol [126] und Friedelin [163, 164] eluiert wird. Peak 35 stammte demnach von 3 $\beta$ -Friedelanol.

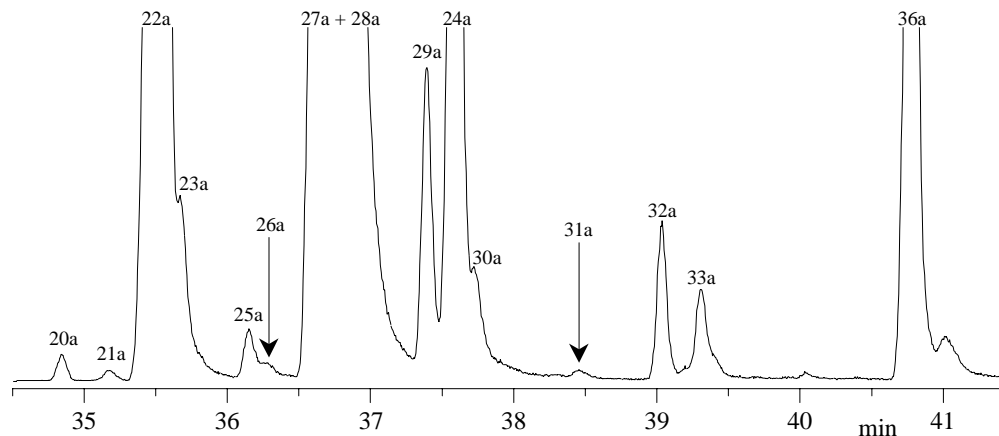
#### 6.2.2.6 Peak 26 (Isobauerenol)

Das Massenspektrum von Peak 26 (Abb. 80) war fast identisch mit dem von Bauerenol (Abb. 53c). Die Massenspektren der Acetate von Bauerenol und Isobauerenol (Bauer-8-en-3 $\beta$ -ol) sollen sehr ähnlich sein [118], doch käme auch 3-epi-Bauerenol in Frage.



**Abbildung 80:** Massenspektrum von Peak 26 (Isobauerenol) in Abb. 72a

Abb. 81 zeigt einen Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm von Fraktion 2 der Paprikasorte „Sweet Banana“ nach Oxidation mit PCC. Dadurch hatte sich die Elutionsreihenfolge kaum verändert, nur Glutinin (*24a*) wurde nach Peak *29a* eluiert.



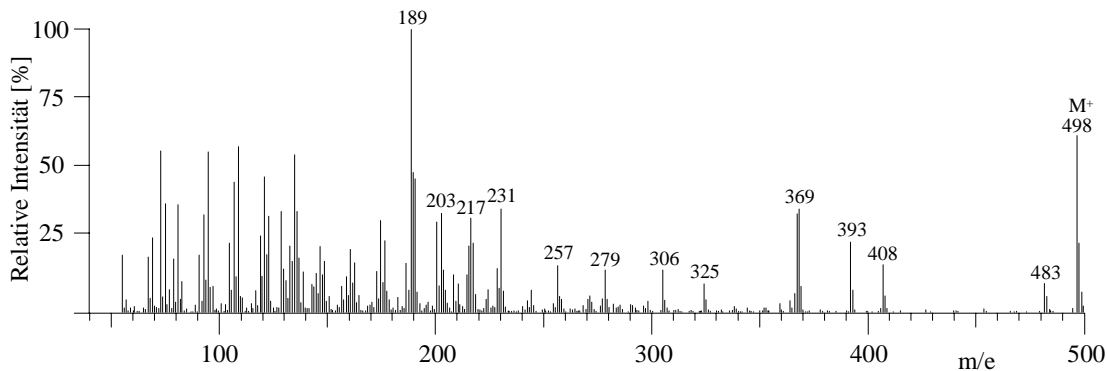
**Abbildung 81:** Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm von Fraktion 2 der Sorte „Sweet Banana“ nach Oxidation mit PCC

Die mit „a“ gekennzeichneten Peaks sind die oxidierten Formen der Triterpenalkohole in Abb. 72a: *20a* Taraxeron, *21a*  $\delta$ -Amyrenon, *22a*  $\beta$ -Amyrenon, *23a* Germanicon, *24a* Glutinin, *25a* Isomultiflorenon, *26a* Isobauerenenon, *27a*  $\alpha$ -Amyrenon, *28a* Lupeon, *29a* RT 37,4 min, *30a* Multiflorenon, *31a* Bauerenenon, *32a*  $\psi$ -Taraxasteron, *33a* Taraxasteron, *36a* Friedelin

Unmittelbar auf Isomultiflorenon (*25a*) folgte Peak *26a*, dessen Massenspektrum (Anhang Abb. M (c)) fast identisch mit dem von Bauerenenon war [115]. Peak *31a* ergab dasselbe Massenspektrum und mußte also von Bauerenenon stammen, auch aufgrund der Elution zwischen Multiflorenon (*30a*) und  $\psi$ -Taraxasteron (*32a*). Wenn Peak *26* in Abb. 72a von 3-epi-Bauerenenol herrührte, so hätte das Gaschromatogramm nur einen Peak enthalten dürfen, denn 3-epi-Bauerenenol und Bauerenenol (Peak *31* in Abb. 72a) werden beide zu Bauerenenon oxidiert. Damit ist es sehr wahrscheinlich, dass Peak *26* von Isobauerenenol stammt.

### 6.2.2.7 Peak 29

Abb. 82 zeigt das Massenspektrum von Peak 29 in Abb. 72a.



**Abbildung 82:** Massenspektrum von Peak 29 in Abb. 72a

Der Basispeak  $m/e$  189 und die Peaks  $m/e$  203 und  $m/e$  369 wurden auch schon bei Lupeol (Abb. 42) und den beiden Taraxasterolen (Abb. 47a und b) beobachtet. Wie dort kam auch  $m/e$  207 in der unsilylierten Form und  $m/e$  205 in der oxidierten Form vor. Auffällig waren  $m/e$  231 und besonders  $m/e$  306, das sich je nach Rest R verschob (acetyliert 276, unsilyliert 234 und oxidiert 232, Anhang Abb. N). Ungewöhnlich waren auch  $m/e$  201 (acetyliert) und  $m/e$  177 (oxidiert). Das Fragmentierungsmuster konnte jedoch keiner Substanz zugeordnet werden, so dass die Struktur von Peak 29 ungeklärt blieb.

### **6.3 Auberginenwachs-Fraktion 1 (Kohlenwasserstoffe und Aldehyde)**

Anhand der Massenspektren wurden n-Alkane von n-C<sub>23</sub> bis n-C<sub>36</sub> identifiziert. Einen hohen Anteil bis zu 39 % hatten die verzweigten Alkane iso-C<sub>27</sub> bis iso-C<sub>35</sub> und anteiso-C<sub>29</sub> bis anteiso-C<sub>36</sub>. Wie bei Tomaten und Paprika war der Anteil der Aldehyde (C<sub>26</sub>, C<sub>28</sub> und C<sub>30</sub>) gering. Über die qualitative Zusammensetzung informiert Kapitel 7.

### **6.4 Auberginenwachs-Fraktion 2 (Fett- und Triterpenalkohole und Fettsäuren)**

Wie bei Paprika kamen Fettsäuren von C<sub>16</sub> bis C<sub>32</sub> vor, die bei Auberginen sogar den Hauptanteil (60 %) von Fraktion 2 ausmachten. Ebenso wie bei Paprika konnten 2-Hydroxyfettsäuren von C<sub>22</sub> bis C<sub>26</sub> identifiziert werden. Fettalkohole waren von C<sub>24</sub> bis C<sub>29</sub> vorhanden. Von den Triterpenolen kamen nur  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin, Lupeol und geringe Mengen Germanicol vor, deren Anteile (12 % zusammen mit Stigmasterol und  $\beta$ -Sitosterol) geringer als bei Tomaten und Paprika waren. Über die qualitative Zusammensetzung informiert Kapitel 7.

## 7 Quantitative Bestimmungen

### 7.1 Extraktion

Um zu ermitteln, wie oft extrahiert werden muß, um das Wachs quantitativ von der Schale abzulösen, wurden 80 Tomaten dreimal mit jeweils frischem Extraktionsgemisch (TBME/Methanol 9 + 1) extrahiert. Die erste Extraktion ergab 78,5 %, die zweite 13,2 % und die dritte 8,3 %, bezogen auf die Summe der Extrakte.

Die Untersuchung der Extrakte durch GC/MS zeigte jedoch, daß der Hauptteil der zweiten und insbesondere der dritten Extraktion keine typischen Wachsbestandteile wie Alkane oder Fettalkohole enthielt, sondern Kohlenhydrate und andere nicht näher identifizierte Substanzen, die z.T. auch nicht mehr von der Kieselgelsäule eluiert wurden.

Tab. 1 zeigt die Aufteilung der drei Extrakte auf die Kieselgel-Fractionen. Vom ersten Extrakt fanden sich 31,5 % in Fraktion 1, 19,3 % in Fraktion 2 und 26,4 % in Fraktion 3; 22,8 % verblieben auf der Säule. Im zweiten und dritten Extrakt nahmen die Anteile in diesen Fraktionen stark ab, wobei jedoch das Peakmuster recht ähnlich blieb.

**Tabelle 1:** Prozentuale Anteile der extrahierten Bestandteile bei drei Extraktionen nacheinander und Verteilung auf die einzelnen Fraktionen bei der SC an Kieselgel

	Extraktion		
	1	2	3
Gesamt	78,5	13,2	8,3
Kieselgel-Fraktion 1	24,7	1,1	0,5
Kieselgel-Fraktion 2	15,2	1,5	0,7
Kieselgel-Fraktion 3	20,7	3,0	0,6
Summe 1 – 3	60,6	5,6	1,8
nicht eluiert	17,9	7,6	6,5

Dabei wurden die Ausbeuten in den Kieselgel-Fractionen aus der ersten Extraktion ausgewogen. Die Fraktionen aus der zweiten und dritten Extraktion waren allerdings zu gering, um zuverlässig gewogen zu werden. Dort wurde das Gewicht jeder Fraktion über das Gaschromatogramm berechnet, indem die Summe der Peakflächen mit der aus der ersten Extraktion verglichen wurde. Ein zugesetzter Standard stellte sicher, dass dabei der Fehler durch abweichendes Einspritzen möglichst gering blieb.

Der Anteil an Substanzen, die nicht mehr vom Kieselgel eluiert wurden und damit nicht zu den Wachsbestandteilen gehörten, machte im ersten Extrakt 17,9 % aus, im zweiten 7,6 % und im dritten 6,5 %, jeweils bezogen auf die gesamte extrahierte Menge. Die Summe der eigentlichen Wachsbestandteile in den Fraktionen 1 – 3 war 68,0 %; davon erschienen 60,6 % schon im ersten Extrakt. Eine einmalige Extraktion war also ausreichend, um neun Zehntel des Oberflächenwachses zu extrahieren.

Da bei jeder Extraktion die Tomatenschale aufplatzen kann, so dass Bestandteile aus dem Fruchtfleisch mitextrahiert werden, wurde später keine zweite Extraktion mehr durchgeführt.

## 7.2 Gewichtsanteile der Fraktionen

Jeweils 30 mg Wachs-Celite-Gemisch wurden fünfmal bei Tomaten und zweimal bei Paprika und Auberginen fraktioniert. Dabei wurden gleichartige Fraktionen jeweils in dasselbe gewogene Gläschen eluiert; das Eluat wurde mit Stickstoff eingedampft und der Rückstand nach der letzten Elution gewogen.

Je nach der Fraktion betrug die Auswaage nur etwa 5 bis 30 mg. Um die Wiederholbarkeit der Arbeitsweise zu kontrollieren, wurde das Wachs-Celite-Gemisch der Tomatensorte „RZ 72-00“ exemplarisch fünfmal nacheinander fraktioniert. Die Standardabweichungen für die gefundenen Anteile der Fraktionen lagen zwischen 0,11 bis 0,20 % und belegten die gute Wiederholbarkeit.

## 7.3 Bestimmung der Komponenten durch GC-FID

Zur Bestimmung der Anteile der Komponenten in den Fraktionen wurden die Eluate wie unter 2.4 gelöst bzw. gleichzeitig silyliert. Zusätzlich wurden die Fraktionen 2 und 3 von Tomaten und Fraktion 2 von Auberginen und Paprika jeweils mit 0,2 ml Hexafluorxyllol versetzt. 1 µl jeder Lösung wurde zur GC mit dem FID injiziert.

Hier wurde geprüft, wie gut die Flächenverhältnisse der Peaks bei fünf Fraktionierungen nacheinander übereinstimmten. Zunächst wurde sichergestellt, dass der FID Squalan als Beispiel für Alkane und silyliertes Cholesterol als Beispiel für Fett- und Triterpenalkohole von 0 bis 5 mg/ml linear anzeigte.

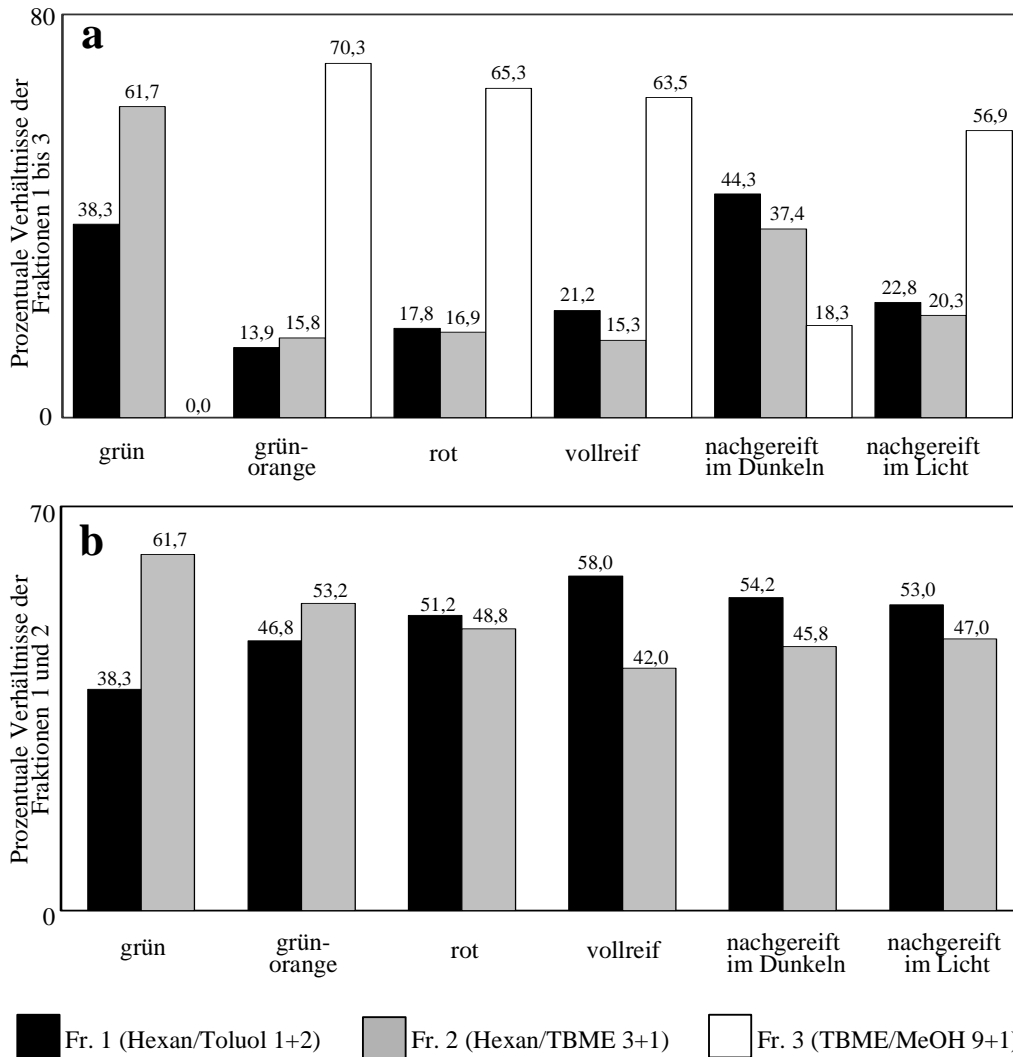
Daraufhin wurden wiederum fünfmal je 30 mg Wachs-Celite-Gemisch der Tomatensorte „RZ 72-00“ fraktioniert. Jede Fraktion wurde im Stickstoffstrom eingedampft, wie oben silyliert und zur GC mit dem FID eingespritzt. Die Standardabweichungen für die einzelnen Komponenten lagen zwischen 0,001 und 0,113 % in Fraktion 1 und zwischen 0,001 und 0,080 % in Fraktion 2 (Anhang Tab. B). Dies belegte die Zuverlässigkeit der quantitativen GC-Bestimmung.

## 7.4 Veränderungen der Wachsschicht von Tomaten während der Fruchtentwicklung

### 7.4.1 Gewichtsanteile der Fraktionen, bezogen auf die Wachsmenge

Die Zusammensetzung des Oberflächenwachses von Früchten und anderen Pflanzenteilen hängt nicht nur von genetischen Faktoren und dem Klima ab, sondern auch von der Entwicklungsstufe der Pflanze. Solche Veränderungen der Wachsschicht bei Tomaten [56, 57] und anderen Pflanzen [33 – 37] während der Fruchtreife sind schon früher beschrieben worden.

In eigenen Versuchen wurden dazu beispielhaft die vier Reifestadien grün, grün-orange, rot und vollreif der Tomatensorte „RZ 72-00“ untersucht. „Grün-orange“ Tomaten waren schon zur Hälfte orange gefärbt; „vollreife“ Tomaten waren nach der Rotreife noch 10 Tage am Strauch hängen geblieben. Häufig erntet man Tomaten schon vor der Rotreife und lässt sie anschließend nachreifen. Um dies zu simulieren, wurden grün-orange Tomaten geerntet; die eine Hälfte blieb im Dunkeln, die andere Hälfte im Licht auf der Fensterbank bis zur Rotreife liegen.



**Abbildung 83:** Prozentuale Verhältnisse der Fraktionen der Sorte „RZ 72-00“ im Verlauf der Reifung. **a** Fraktionen 1 – 3, **b** Fraktionen 1 und 2, jeweils bezogen auf deren Summe

Grüne Tomaten enthielten kein Naringenin-chalkon, und das Wachs bestand nur aus 38 % Fraktion 1 und 62 % Fraktion 2 (Abb. 83a). Im grün-orangen Zustand war der Anteil an Naringenin-chalkon auf 70 % angestiegen und ging dann wieder von rot bis vollreif etwas zu-

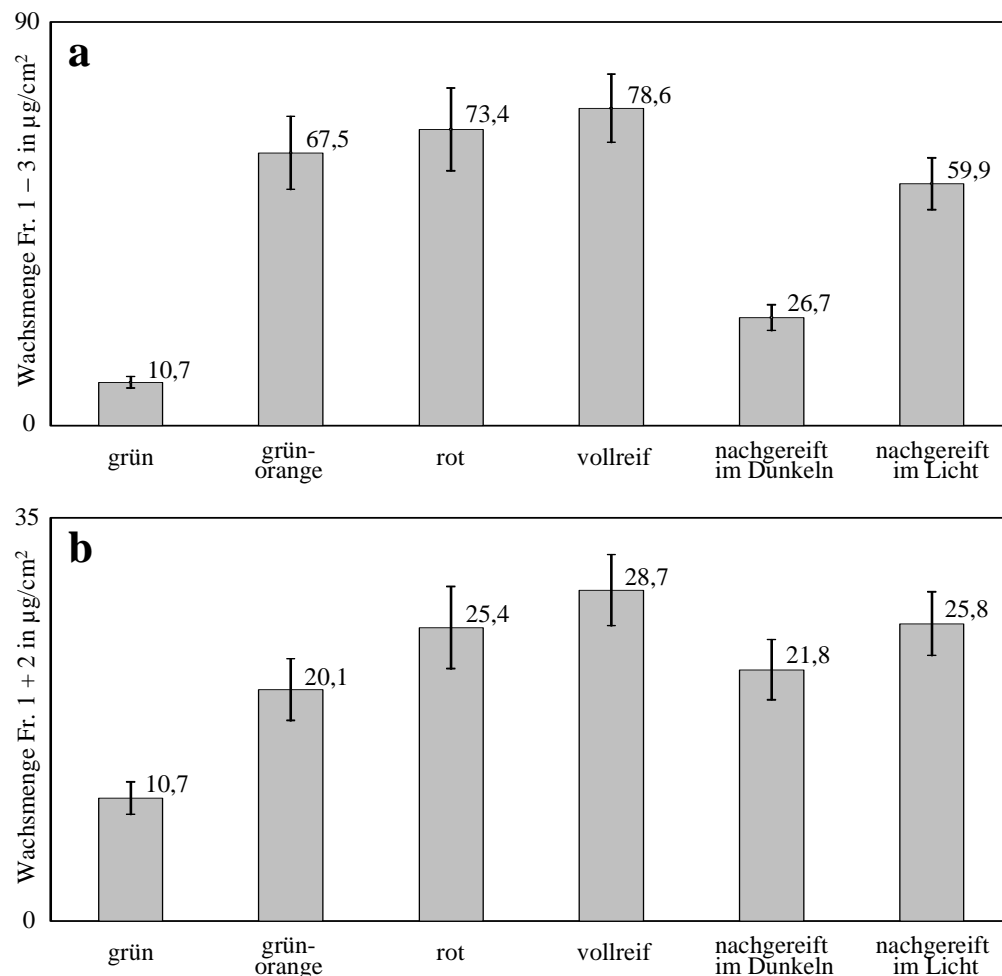


rück. Beim Nachreifen im Dunkeln ging er stark zurück bis auf 18 %, im Licht dagegen nur auf 57 %.

Vergleicht man die Verhältnisse der Fraktionen 1 und 2 zueinander (Abb. 83b), so überwiegt im grünen Stadium Fraktion 2 (62 %) über Fraktion 1 (38 %). Dieses Verhältnis wurde mit zunehmender Reife kleiner, bis es schließlich in der Vollreife umgekehrt bei 58 % Fraktion 1 zu 42 % Fraktion 2 lag. Bei der Nachreifung im Dunkeln und im Licht waren die Werte recht ähnlich.

#### 7.4.2 Gewichtsanteile der Fraktionen, bezogen auf die Oberfläche

Um die Menge an Wachs pro Flächeneinheit abzuschätzen, wurde der kleinste und größte Durchmesser der Tomaten gemessen, daraus die kleinste und größte Kugeloberfläche berechnet und der Mittelwert als Durchschnitt genommen.



**Abbildung 84:** Wachsmenge in  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  von Tomaten der Sorte „RZ 72-00“ im Verlauf der Reifung. **a** Fraktionen 1 – 3, **b** Fraktionen 1 + 2, jeweils bezogen auf deren Summe

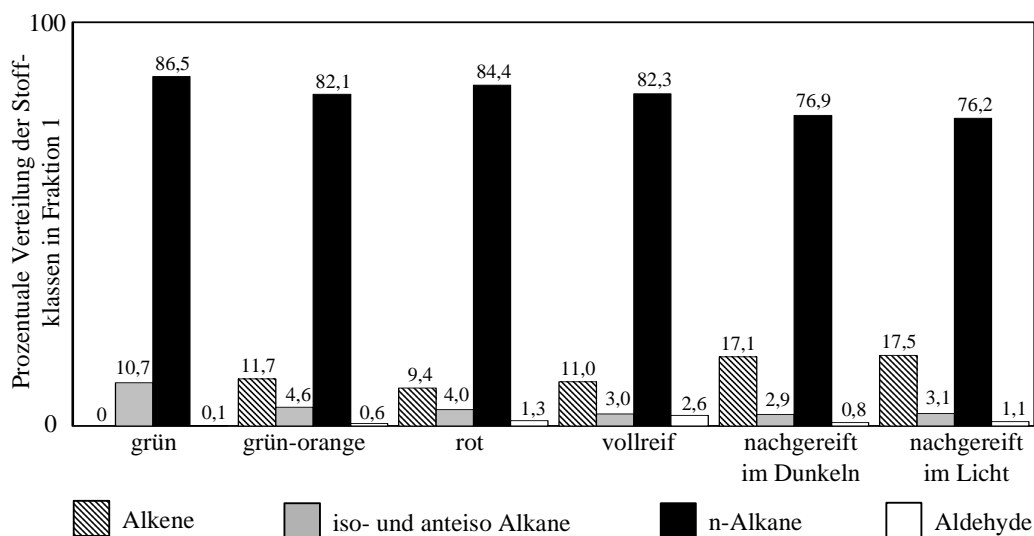
Wenn die Summe der Fraktionen 1 – 3 auf die Oberfläche bezogen wird, so enthielten die grünen Tomaten im Mittel nur  $10,7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  Wachs. Wie Abb. 84a zeigt, stieg die Dichte der

Wachsschicht während der Reife über 67,5 und 73,4 auf 78,6  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  an. Diese starke Erhöhung ist in erster Linie auf die Bildung von Naringenin-chalkon zurückzuführen. Bei der Nachreife im Dunkeln ging die Wachsschicht von 67,5  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  stark auf 26,7  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  zurück, im Licht aber nur auf 59,9  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

Werden nur die Fraktionen 1 und 2 (ohne Naringenin-chalkon) betrachtet (Abb. 84b), so nahm der Anteil ebenfalls von 10,7  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (grün) bis 28,7  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (vollreif) zu. Die Zunahme der Wachsmenge in Abb. 84a beruhte also nicht nur auf der Bildung des Chalkons. Nach der Nachreife hatte sich in beiden Fällen der Zustand bei der Ernte (grün-orange) kaum verändert.

### 7.4.3 Zusammensetzung der Fraktion 1

Abb. 85 zeigt die prozentuale Verteilung der Komponenten in Fraktion 1 von Tomaten der Sorte „RZ 72-00“ während der Reifung. In allen Stadien dominierten die n-Alkane mit über 76 %; Hauptkomponenten waren Hentriacontan (n-C<sub>31</sub>), gefolgt von Nonacosan (n-C<sub>29</sub>). Bei grünen Tomaten fiel besonders der hohe Anteil von Nonacosan (28 %) im Vergleich zu den folgenden Stadien (Vollreife 17 %) auf (Anhang Tab. E). Das Verhältnis von Hentriacontan zu Nonacosan lag im grünen Stadium bei 1,5, danach bei 2,8 bis 3,0 und nach der Nachreife bei 2,9 und 3,3.



**Abbildung 85:** Prozentuale Verhältnisse von Alkenen, iso- und anteiso-Alkanen, n-Alkanen und Aldehyden in Fraktion 1 von Tomaten der Sorte „RZ 72-00“ im Verlauf der Reifung

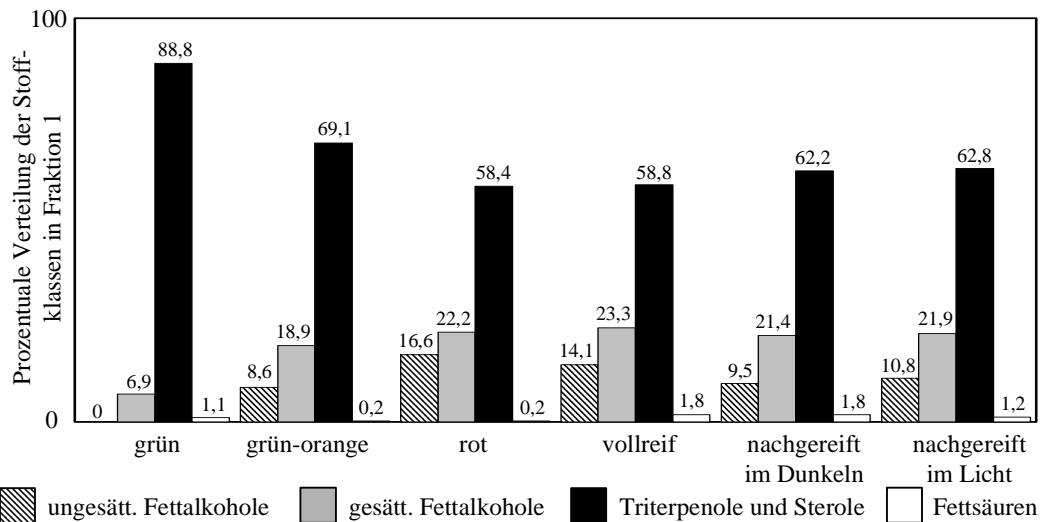
Differenz zu 100 %: nicht identifizierte Peaks

Der Anteil verzweigter Alkane war bei grünen Tomaten am höchsten (10,7 %) und ging später bis auf 3,0 % bei Vollreife zurück. Hauptkomponente war immer iso-Hentriacontan (iso-C<sub>31</sub>), das bei den grünen Tomaten 7,9 % der Fraktion 1 ausmachte (Anhang Tab. E).

Alkene waren bei grünen Tomaten nicht vorhanden, erreichten aber schon im grün-orangen Stadium 11,7 % und blieben dann etwa konstant. Besonders hoch war der Anteil bei der Nachreife (17 %). Hauptkomponente war jeweils Trtriacontadien ( $n\text{-C}_{33}\text{-dien}$ ). Der Anteil an Aldehyden nahm vom grünen (0,1 %) zum vollreifen Stadium (2,6 %) nur wenig zu. Eine Übersicht über alle zugehörigen Meßwerte findet sich im Anhang, Tab. E.

#### 7.4.4 Zusammensetzung der Fraktion 2

Wie schon Fraktion 1 enthielt auch Fraktion 2 im grünen Stadium noch keine ungesättigten Substanzen, hier Alkadien- und trienole (Abb. 86). Ihr Anteil nahm dann von grün-orange (8,6 %) nach rot (16,6 %) zu und ging bei Vollreife (14,1 %) wieder etwas zurück. Die Hauptkomponente war Tetracosadienol ( $n\text{-C}_{24}\text{-dien-OH}$ ) (Anhang Tab. F).



**Abbildung 86:** Prozentuale Verhältnisse von ungesättigten und gesättigten Fettalkoholen, Triterpenalkoholen, Sterolen und Fettsäuren in Fraktion 2 von Tomaten der Sorte „RZ 72-00“ im Verlauf der Reifung

Differenz zu 100 %: nicht identifizierte Peaks

Der Anteil an gesättigten Fettalkoholen nahm ebenfalls von grün (6,9 %) bis vollreif (23,2 %) stetig zu; entsprechend nahmen die prozentualen Anteile an Triterpenolen und Sterolen ab. Die Sterole (Stigmasterol,  $\beta$ -Sitosterol) machten davon aber nur etwa 0,5 % aus. Die Summe war im grünen Stadium (88,8 %) am höchsten und ging über 69,1 % (grün-orange) auf 58,4 % (rot) zurück; in der gleichen Größenordnung lagen die Werte bei der Nachreife (62 – 63 %) (Anhang Tab. F). Das Muster der Triterpenole war in allen Reifestadien sehr ähnlich (Tab. 2).

**Tabelle 2:** Prozentuale Anteile der Triterpenole in Fraktion 2 in den unterschiedlichen Reifestadien, bezogen auf deren Summe

MW: Mittelwert, s: Standardabweichung

	grün	grün- orange	rot	vollreif	nachge- reift im Dunkeln	nachge- reift im Licht	MW	s
<b>Taraxerol</b>	1,9	1,9	2,0	1,9	2,0	2,0	<b>2,0</b>	0,05
<b><math>\delta</math>-Amyrin</b>	41,2	41,2	40,7	40,6	39,6	40,6	<b>40,7</b>	0,59
<b><math>\beta</math>-Amyrin</b>	22,2	20,7	21,5	22,3	23,9	22,6	<b>22,2</b>	1,08
<b>Peak 23</b>	0,7	2,1	1,9	1,6	1,6	1,8	<b>1,6</b>	0,49
<b><math>\alpha</math>-Amyrin</b>	22,3	22,2	21,7	21,6	21,3	21,4	<b>21,8</b>	0,41
<b>Lupeol</b>	0,7	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8	<b>0,8</b>	0,05
<b>Cycloartenol</b>	0,5	0,6	0,7	0,7	0,5	0,6	<b>0,6</b>	0,09
<b>Multiflorenol</b>	4,3	4,4	4,5	4,3	4,2	4,1	<b>4,3</b>	0,14
<b><math>\psi</math>-Taraxasterol*</b>	2,8	2,9	3,0	3,0	2,9	2,9	<b>2,9</b>	0,08
<b>Taraxasterol</b>	3,4	3,3	3,4	3,3	3,2	3,3	<b>3,3</b>	0,08

\* Summe  $\psi$ -Taraxasterol und Bauerenol

Die Hauptkomponente war jeweils  $\delta$ -Amyrin (im Mittel 40,7 %), gefolgt von etwa gleichen Anteilen  $\beta$ -Amyrin (im Mittel 22,2 %) und  $\alpha$ -Amyrin (im Mittel 21,8 %). Fettsäuren (C<sub>22</sub>, C<sub>24</sub>, C<sub>26</sub>, C<sub>28</sub>, C<sub>30</sub> und C<sub>32</sub>) machten insgesamt jeweils nur bis 1,8 % aus.

### 7.5 Streubreite bei zahlreichen Tomatensorten

Um einen Eindruck von der Streubreite der Ergebnisse bei unterschiedlichen Tomatensorten zu erhalten, wurde das Wachs von weiteren 25 Sorten im Stadium der Rotreife untersucht (Anhang Tab. C). Davon wurden die Sorten „Culina“, „Ferrari“ und „Soleiro“ im Sommer 2000, die Sorten „Panovy“, „Rougella“ und „Rubor“ im Sommer 2000 und im Sommer 2001, die Sorte „Vitella“ im Sommer 2001 und die anderen Sorten im Sommer 2002 untersucht. In die folgenden Betrachtungen wurde zudem auch die Sorte „RZ 72-00“ (rot) einbezogen.

**Tabelle 3:** Prozentuale Verteilung des Wachses von 23 Tomatensorten auf die Kieselgel-Fractionen 1 – 3 (oben) und auf die Fractionen 1 und 2 (unten), jeweils bezogen auf die Summe

(ohne die Sorten „Cuor die Bue“, „Noire de Crimée“ und „Rose de Berne“)

MW: Mittelwert, s: Standardabweichung

	Schwankungsbreite	MW	Median	s
Fraktion 1	15,3 – 42,0	<b>23,7</b>	22,0	6,04
Fraktion 2	6,3 – 30,5	<b>18,0</b>	17,3	6,16
Fraktion 3	36,7 – 78,4	<b>58,3</b>	61,3	10,45
Fraktion 1	46,8 – 70,8	<b>58,4</b>	59,6	7,52
Fraktion 2	29,2 – 53,2	<b>41,6</b>	40,4	7,52

Tab. 3 zeigt die prozentuale Verteilung des Wachses von 23 Sorten auf die 3 Fraktionen. Drei Sorten, die kein Naringenin-chalkon (Fraktion 3) enthielten, wurden dabei nicht berücksichtigt. Im Mittel fanden sich 23,7 % in Fraktion 1, 18,0 % in Fraktion 2 und 58,3 % in Fraktion 3, allerdings mit großer Schwankungsbreite. Wenn nur die Fraktionen 1 und 2 berücksichtigt wurden, so machte Fraktion 1 im Mittel 58,4 % aus und Fraktion 2 41,6 % (Verhältnis im Mittel 1,5 mit Schwankungsbreite 0,9 – 2,4).

Wenn wiederum die Wachsmenge pro Quadratcentimeter abgeschätzt wurde (Anhang Tab. D), so ergab sich insgesamt ein Mittelwert von  $49,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  (Schwankungsbreite  $26,7 - 78,6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) und allein für die Fraktionen 1 und 2 von  $20,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  (Schwankungsbreite  $10,7 - 31,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ).

Offensichtlich bestanden deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Sorten, deshalb wurden die Komponenten der Fraktionen 1 und 2 näher untersucht.

### 7.5.1 Fraktion 1

Tab. 4 zeigt die mittlere Zusammensetzung von Fraktion 1 nach den vier Substanzklassen. Vorherrschend waren n-Alkane (81,3 %), gefolgt von n-Alkadienen und -trienen mit 11,4 %. iso- und anteiso-Alkane (4,2 %) und Aldehyde (1,2 %) hatten nur geringere Anteile. Der Median und der Mittelwert waren jeweils sehr ähnlich, so dass von einer Normalverteilung ausgegangen und eine Standardabweichung berechnet wurde.

**Tabelle 4:** Prozentuale Verteilung der Substanzklassen in Fraktion 1 von 26 Tomatensorten

MW: Mittelwert, s: Standardabweichung

	Schwankungsbreite	MW	Median	s
n-Alkane	69,8 – 95,0	<b>81,3</b>	81,0	5,31
iso- und anteiso-Alkane	1,8 – 5,6	<b>4,2</b>	4,2	0,89
n-Alkadiene und -triene	0,0 – 21,7	<b>11,4</b>	11,8	4,95
Aldehyde	0,1 – 2,9	<b>1,2</b>	1,0	0,83

Die einzelnen Meßwerte sind im Anhang in Tab. E aufgeführt. Wie daraus hervorgeht, wich „L. pimpinellifolium“ deutlich von den sonst gefundenen Werten ab. Fraktion 1 enthielt hier 95,0 % n-Alkane, 1,8 % iso- und anteiso-Alkane, nur 0,1 % Aldehyde und keine Alkene. Besonders hohe Anteile an Alkadienen und -trienen hatten dagegen z.B. „Vanessa“ (21,7 %), „Rose de Berne“ (18,5 %), „Rougella“ (Ernte 2000, 18,0 %) und „Rubor“ (Ernte 2000, 17,6 %).

Tab. 5 zeigt die mittlere Zusammensetzung von Fraktion 1. Vorherrschend waren die n-Alkane von  $\text{C}_{27}$  bis  $\text{C}_{35}$ , bei einigen Sorten auch bis  $\text{C}_{21}$ . Die Hauptkomponente war immer n-

Hentriacontan (n-C<sub>31</sub>, im Mittel 45,5 %). Besonders viel davon enthielt die Sorte „Gardener’s Delight“ (61,1 %). Zweitstärkste Komponente war n-Nonacosan (n-C<sub>29</sub>, im Mittel 17,4 %), doch hatten die Sorten „Cuor di Bue“ (12,0 %), „Rougella (Ernte 2001)“ (9,5 %), „Vanessa“ (8,2 %), „Vitella“ (8,7 %) und eine Sorte spanischer Tomaten aus dem Handel (9,0 %) einen besonders niedrigen Anteil (Anhang Tab. E). Diese Sorten enthielten stattdessen viel n-Tritriacontadien (n-C<sub>33</sub>-dien) oder n-Tritriacontan (n-C<sub>33</sub>). Bei „Ingegnoli Gigante Lisco“ erreichte n-Nonacosan (33,8 %) sogar fast den Anteil von n-Hentriacontan (34,4 %).

An dritter Stelle in Fraktion 1 kam n-Tritriacontadien (n-C<sub>33</sub>-dien, im Mittel 8,9 %). Ausnahmen davon waren die beiden spanischen Sorten aus dem Handel und die Sorte „RZ 72-00“, die dafür mehr Tritriacontan (n-C<sub>33</sub>) enthielten. Weitere Komponenten mit nennenswerten Anteilen waren n-Tritriacontan (n-C<sub>33</sub>, im Mittel 6,8 %), n-Dotriacontan (n-C<sub>32</sub>, im Mittel 5,3 %) und n-Triacontan (n-C<sub>30</sub>, im Mittel 4,4 %).

**Tabelle 5:** Prozentuale Zusammensetzung der Fraktion 1 von 26 Tomatensorten

MW: Mittelwert, s: Standardabweichung

Fraktion 1	Schwankungsbreite	MW	Median	s
n-C <sub>21</sub>	0,00 – 0,15	<b>0,03</b>	0,00	0,038
n-C <sub>22</sub>	0,00 – 0,15	<b>0,03</b>	0,00	0,040
n-C <sub>23</sub>	0,00 – 0,44	<b>0,17</b>	0,13	0,138
n-C <sub>24</sub>	0,00 – 0,14	<b>0,02</b>	0,00	0,039
n-C <sub>25</sub>	0,00 – 0,18	<b>0,07</b>	0,08	0,057
n-C <sub>26</sub>	0,00 – 0,18	<b>0,06</b>	0,05	0,051
n-C <sub>27</sub>	0,10 – 3,01	<b>0,76</b>	0,45	0,795
n-C <sub>28</sub>	0,19 – 1,40	<b>0,58</b>	0,47	0,306
iso-C <sub>29</sub>	0,00 – 0,53	<b>0,13</b>	0,09	0,134
n-C <sub>29</sub>	8,19 – 33,80	<b>17,35</b>	15,70	7,147
iso-C <sub>30</sub>	0,10 – 0,47	<b>0,29</b>	0,30	0,107
n-C <sub>30</sub>	2,65 – 8,70	<b>4,37</b>	4,24	1,087
iso-C <sub>31</sub>	0,93 – 3,35	<b>2,47</b>	2,51	0,524
anteiso-C <sub>31</sub>	0,00 – 0,58	<b>0,25</b>	0,23	0,138
n-C <sub>31</sub>	34,35 – 61,07	<b>45,50</b>	46,35	5,336
iso-C <sub>32</sub>	0,11 – 0,86	<b>0,46</b>	0,45	0,139
anteiso-C <sub>32</sub>	0,15 – 0,58	<b>0,29</b>	0,26	0,110
n-C <sub>32</sub>	2,86 – 8,02	<b>5,27</b>	5,09	1,602
iso-C <sub>33</sub>	0,09 – 0,45	<b>0,30</b>	0,30	0,077
n-C <sub>33</sub> -dien	0,00 – 16,62	<b>8,93</b>	9,32	3,894
n-C <sub>33</sub> -trien	0,00 – 3,20	<b>1,44</b>	1,37	0,728
n-C <sub>33</sub>	2,51 – 11,45	<b>6,78</b>	6,43	2,150
n-C <sub>34</sub> -dien	0,00 – 0,37	<b>0,12</b>	0,10	0,081
n-C <sub>34</sub>	0,06 – 0,35	<b>0,18</b>	0,17	0,076
n-C <sub>35</sub> -dien	0,00 – 2,48	<b>0,77</b>	0,70	0,487
n-C <sub>35</sub> -trien	0,00 – 0,45	<b>0,13</b>	0,12	0,094
n-C <sub>35</sub>	0,03 – 0,16	<b>0,08</b>	0,07	0,036
Aldehyd n-C <sub>24</sub>	0,00 – 2,33	<b>0,80</b>	0,49	0,706
Aldehyd n-C <sub>26</sub>	0,00 – 0,45	<b>0,11</b>	0,06	0,114
Aldehyd n-C <sub>32</sub>	0,07 – 0,74	<b>0,29</b>	0,29	0,146
nicht ident. Peaks	0,91 – 3,72	<b>1,97</b>	1,76	0,821

### 7.5.2 Fraktion 2

Tab. 6 zeigt die mittlere Zusammensetzung der vier Substanzklassen in Fraktion 2 (Anhang Tab. F). Hier dominierten die Triterpene (73,8 %). Den höchsten Anteil hatten die Sorten „San Marzano“ (83,2 %), „Noire de Crimée“ (82,9 %) und „Rougella (Ernte 2001)“ (82,9 %), den geringsten „Grinta“ (52,4 %), „L. pimpinellifolium“ (53,8 %) und „RZ 72-00“ (58,4 %). Hier waren stattdessen die Fettalkohole besonders häufig: „Grinta“ hatte mit 32,7 % den höchsten Gehalt an ungesättigten und „L. pimpinellifolium“ mit 41,9 % den höchsten Gehalt an gesättigten Fettalkoholen.

**Tabelle 6:** Prozentuale Verteilung der Substanzklassen von 26 Tomatensorten in Fraktion 2

MW: Mittelwert, s: Standardabweichung

	Schwankungsbreite	MW	Median	s
Triterpene	52,4 – 83,2	<b>73,8</b>	76,6	8,97
Gesättigte Fettalkohole	8,0 – 41,9	<b>16,3</b>	14,8	7,31
Ungesättigte Fettalkohole	0,0 – 32,7	<b>4,3</b>	2,6	6,88
Fettsäuren	0,2 – 6,0	<b>1,9</b>	1,5	1,60

„Gardener’s Delight“ und „L. pimpinellifolium“ enthielten keine ungesättigten Fettalkohole und „Bloody Butcher“ (0,6 %), „Moneymaker“, „Rougella (Ernte 2001)“ und „Rubor (Ernte 2001)“ (alle 0,7 %) nur sehr geringe Anteile. Durchschnittlich lagen die gesättigten Fettalkohole (16,3 %) um den Faktor vier höher als die ungesättigten (4,3 %).

Tab. 7 zeigt die mittlere Zusammensetzung von Fraktion 2. Hauptkomponente war immer  $\delta$ -Amyrin (im Mittel 29,7 %), gefolgt von etwa gleichen Anteilen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin (16,1 % und 16,4 %). Eine Ausnahme davon machte nur „Grinta“, bei der Docosadienol ( $C_{24}$ -dien-OH) mit 13,8 % zweitstärkste Komponente war (Anhang Tab. F) und die den höchsten Anteil weiterer ungesättigter Fettalkohole aufwies. Von den gesättigten Fettalkoholen traten besonders  $C_{30}$ -OH (im Mittel 2,7 %) und  $C_{32}$ -OH (4,8 %) auf, am meisten bei „L. pimpinellifolium“ (9,3 %  $C_{30}$ -OH, 7,6 %  $C_{32}$ -OH) (Anhang Tab. F).

**Tabelle 7:** Prozentuale Zusammensetzung der Fraktion 2 von 26 Tomatensorten

MW: Mittelwert, s: Standardabweichung

Fraktion 2	Schwankungsbreite	MW	Median	s
C <sub>18</sub> -OH	0,00 – 0,45	<b>0,08</b>	0,06	0,082
C <sub>19</sub> -OH	0,02 – 1,12	<b>0,23</b>	0,15	0,277
C <sub>20</sub> -OH	0,00 – 3,56	<b>0,34</b>	0,11	0,717
C <sub>21</sub> -OH	0,00 – 0,33	<b>0,02</b>	0,00	0,063
C <sub>22</sub> -dien-OH	0,00 – 8,31	<b>0,81</b>	0,27	1,854
C <sub>22</sub> -trien-OH	0,00 – 0,34	<b>0,05</b>	0,02	0,082
C <sub>22</sub> -OH	0,07 – 3,22	<b>0,53</b>	0,23	0,722
C <sub>23</sub> -OH	0,00 – 0,42	<b>0,11</b>	0,08	0,098
C <sub>24</sub> -dien-OH	0,00 – 13,82	<b>1,58</b>	0,77	2,948
C <sub>24</sub> -trien-OH	0,00 – 2,34	<b>0,26</b>	0,11	0,536
C <sub>24</sub> -OH	0,04 – 5,64	<b>0,71</b>	0,33	1,154
C <sub>25</sub> -OH	0,00 – 0,58	<b>0,10</b>	0,05	0,133
C <sub>26</sub> -dien-OH	0,00 – 6,97	<b>1,46</b>	1,08	1,426
C <sub>26</sub> -trien-OH	0,00 – 0,94	<b>0,13</b>	0,07	0,204
C <sub>26</sub> -OH	0,10 – 3,64	<b>0,66</b>	0,32	0,901
C <sub>27</sub> -OH	0,12 – 2,89	<b>0,67</b>	0,52	0,654
C <sub>28</sub> -OH	0,33 – 5,07	<b>1,27</b>	0,85	1,162
C <sub>29</sub> -OH	1,04 – 5,10	<b>2,23</b>	2,03	0,926
C <sub>30</sub> -OH	0,77 – 9,25	<b>2,69</b>	2,35	1,753
C <sub>31</sub> -OH	0,29 – 1,40	<b>0,61</b>	0,61	0,233
C <sub>32</sub> -OH	1,99 – 7,62	<b>4,83</b>	4,66	1,466
C <sub>33</sub> -OH	0,13 – 1,14	<b>0,43</b>	0,39	0,215
C <sub>34</sub> -OH	0,22 – 2,09	<b>0,78</b>	0,73	0,389
Stigmasterol	0,15 – 1,03	<b>0,39</b>	0,34	0,181
Taraxerol	0,94 – 1,71	<b>1,43</b>	1,49	0,205
δ-Amyrin	19,24 – 34,66	<b>29,69</b>	31,02	4,100
β-Amyrin	11,46 – 20,34	<b>16,39</b>	16,24	2,151
β-Sitosterol*	0,07 – 0,56	<b>0,15</b>	0,12	0,098
Peak 23	1,04 – 1,70	<b>1,36</b>	1,36	0,188
α-Amyrin	10,48 – 18,70	<b>16,09</b>	16,88	2,165
Lupeol	0,37 – 0,74	<b>0,58</b>	0,61	0,110
Cycloartenol	0,11 – 0,58	<b>0,34</b>	0,33	0,122
Multiflorenol	2,11 – 3,53	<b>3,05</b>	3,21	0,388
ψ-Taraxasterol**	1,47 – 2,43	<b>2,03</b>	2,06	0,278
Taraxasterol	1,36 – 2,80	<b>2,35</b>	2,40	0,338
Σ Fettsäuren	0,21 – 6,00	<b>1,85</b>	1,46	1,604
nicht ident. Peaks	1,86 – 6,93	<b>3,71</b>	3,64	1,216

\* Summe β-Sitosterol und Germanicol

\*\* Summe ψ-Taraxasterol und Bauerenol

Das Verhältnis von β- zu α-Amyrin lag im Durchschnitt bei 1,0 (s = 0,14), mit den größten Abweichungen bei „Supersteak“ (0,8), „Ingegnoli Gigante Liscio“ (0,8), „Culina“ (1,4) und „L. pimpinellifolium“ (1,4). Wenn man dagegen die Anteile der Triterpenole auf ihre Summe bezieht, so sieht man in Tab. 8, dass das Muster recht einheitlich ist. Größere Abweichungen gab es z.B. bei „Cuor di Bue“ (β-Amyrin 28,3 %) und „L. pimpinellifolium“ (δ-Amyrin 36,9 %).



**Tabelle 8:** Prozentuale Verteilung der Triterpenole in Fraktion 2 von 26 Tomatensorten, bezogen auf deren Summe

MW: Mittelwert, s: Standardabweichung

	Schwankungsbreite	MW	Median	s
<b>Taraxerol</b>	1,8 – 2,1	<b>1,9</b>	1,5	0,21
<b>δ-Amyrin</b>	36,9 – 42,8	<b>40,4</b>	31,0	4,10
<b>β-Amyrin</b>	18,4 – 28,3	<b>22,5</b>	16,2	2,15
<b>Peak 23</b>	1,5 – 2,3	<b>1,9</b>	1,4	0,19
<b>α-Amyrin</b>	19,9 – 23,1	<b>21,9</b>	16,9	2,17
<b>Lupeol</b>	0,6 – 1,0	<b>0,8</b>	0,6	0,11
<b>Cycloartenol</b>	0,2 – 0,8	<b>0,5</b>	0,3	0,12
<b>Multiflorenol</b>	3,8 – 4,4	<b>4,2</b>	3,2	0,39
<b>ψ-Taraxasterol*</b>	2,5 – 3,0	<b>2,8</b>	2,1	0,28
<b>Taraxasterol</b>	2,6 – 3,4	<b>3,2</b>	2,4	0,34

\* Summe ψ-Taraxasterol und Bauerenol

## 7.6 Zusammensetzung der Wachsschicht von Paprika

Tab. 9 zeigt die Verteilung des Wachses der grünen, gelben oder roten Paprikafrüchte von 12 Sorten (Anhang Tab. G) auf die Fraktionen 1 und 2. Fraktion 1 enthielt im Mittel 39,0 %, Fraktion 2 61,0 % der Komponenten. Die größte Abweichung zeigte die Sorte „Yolo Wonder B“ (grün), mit 27,8 % in Fraktion 1 und 72,2 % in Fraktion 2 (Anhang Tab. H). Das Gewichtsverhältnis der Fraktionen war also umgekehrt wie bei den Tomaten (58 : 42).

**Tabelle 9:** Prozentuale Verteilung des Wachses von 12 Paprikasorten auf die Kieselgel-Fraktionen 1 und 2

MW: Mittelwert, s: Standardabweichung

	Schwankungsbreite	MW	Median	s
Fraktion 1	27,8 – 44,5	<b>39,0</b>	39,8	4,39
Fraktion 2	55,5 – 72,2	<b>61,0</b>	60,3	4,39

Da die meisten Paprikafrüchte einer Kugel nicht mehr ähnlich waren, konnten weder die Oberfläche noch die Wachsmenge pro Flächeneinheit abgeschätzt werden.

### 7.6.1 Fraktion 1

Tab. 10 zeigt die mittlere Zusammensetzung von Fraktion 1 nach den geradkettigen und verzweigten Alkanen und Aldehyden; Alkene waren nicht vorhanden. Dabei hatten die n-Alkane mit 87,0 % einen noch höheren Anteil als bei Tomaten (81,3 %). Auch der Anteil der verzweigten Alkane (9,9 %) war wesentlich höher (Tomaten 4,2 %). Er war besonders hoch bei „Frühzauber“ (15,5 %) und „Pusztagold“ (15,0 %) und am niedrigsten bei „Holländischen

Paprika“ (rot) (3,5 %). Die Aldehyde (1,3 %) lagen ähnlich hoch wie bei Tomaten (1,2 %), hatten allerdings etwas unterschiedliche Kettenlängen (Anhang Tab. I).

**Tabelle 10:** Prozentuale Verteilung der Substanzklassen in Fraktion 1 von 12 Paprikasorten

MW: Mittelwert, s: Standardabweichung

	Schwankungsbreite	MW	Median	s
n-Alkane	81,4 – 92,5	<b>87,0</b>	87,2	3,11
iso- und anteiso-Alkane	3,5 – 15,5	<b>9,9</b>	10,0	3,54
Aldehyde	0,3 – 2,3	<b>1,3</b>	1,3	0,57

**Tabelle 11:** Prozentuale Zusammensetzung der Fraktion 1 von 12 Paprikasorten

MW: Mittelwert, s: Standardabweichung

Fraktion 1	Schwankungsbreite	MW	Median	s
<b>n-C<sub>20</sub></b>	0,0 – 0,22	<b>0,02</b>	0,00	0,064
<b>n-C<sub>21</sub></b>	0,0 – 0,24	<b>0,02</b>	0,00	0,069
<b>n-C<sub>22</sub></b>	0,0 – 0,27	<b>0,02</b>	0,00	0,078
<b>n-C<sub>23</sub></b>	0,04 – 0,28	<b>0,10</b>	0,08	0,071
<b>n-C<sub>24</sub></b>	0,02 – 0,24	<b>0,07</b>	0,04	0,067
<b>iso-C<sub>25</sub></b>	0,00 – 0,01	<b>0,00</b>	0,00	0,005
<b>n-C<sub>25</sub></b>	0,46 – 1,90	<b>0,94</b>	0,86	0,429
<b>n-C<sub>26</sub></b>	0,14 – 0,45	<b>0,29</b>	0,28	0,088
<b>iso-C<sub>27</sub></b>	0,23 – 2,35	<b>1,10</b>	1,10	0,612
<b>n-C<sub>27</sub></b>	5,24 – 13,42	<b>7,96</b>	7,94	2,321
<b>iso-C<sub>28</sub></b>	0,06 – 0,53	<b>0,26</b>	0,21	0,161
<b>n-C<sub>28</sub></b>	0,67 – 1,21	<b>0,91</b>	0,90	0,170
<b>iso-C<sub>29</sub></b>	1,07 – 5,44	<b>3,49</b>	3,56	1,321
<b>n-C<sub>29</sub></b>	18,82 – 35,10	<b>23,55</b>	21,68	4,640
<b>iso-C<sub>30</sub></b>	0,08 – 0,79	<b>0,41</b>	0,37	0,212
<b>n-C<sub>30</sub></b>	1,11 – 2,02	<b>1,70</b>	1,75	0,300
<b>iso-C<sub>31</sub></b>	1,26 – 4,72	<b>3,22</b>	3,24	1,031
<b>n-C<sub>31</sub></b>	37,66 – 52,65	<b>45,12</b>	45,14	5,168
<b>iso-C<sub>32</sub></b>	0,09 – 0,58	<b>0,32</b>	0,33	0,146
<b>n-C<sub>32</sub></b>	0,43 – 1,38	<b>0,95</b>	0,98	0,266
<b>iso-C<sub>33</sub></b>	0,61 – 1,30	<b>1,03</b>	1,07	0,209
<b>n-C<sub>33</sub></b>	2,45 – 6,98	<b>4,96</b>	5,04	1,304
<b>n-C<sub>34</sub></b>	0,02 – 0,16	<b>0,07</b>	0,07	0,050
<b>iso-C<sub>35</sub></b>	0,05 – 0,13	<b>0,08</b>	0,08	0,019
<b>n-C<sub>35</sub></b>	0,21 – 0,60	<b>0,34</b>	0,32	0,122
<b>Aldehyd n-C<sub>26</sub></b>	0,11 – 0,65	<b>0,27</b>	0,22	0,156
<b>Aldehyd n-C<sub>28</sub></b>	0,00 – 0,87	<b>0,45</b>	0,46	0,228
<b>Aldehyd n-C<sub>30</sub></b>	0,18 – 1,10	<b>0,55</b>	0,49	0,283
<b>nicht ident. Peaks</b>	0,80 – 2,92	<b>1,80</b>	1,81	0,703

Tab. 11 zeigt die mittlere Zusammensetzung von Fraktion 1. Die Hauptkomponente war wie bei den Tomaten Hentriacontan (n-C<sub>31</sub>) mit 45,1 %, gefolgt von Nonacosan (n-C<sub>29</sub>, 23,6 %). Das Verhältnis n-C<sub>31</sub>/n-C<sub>29</sub> schwankte je nach Sorte zwischen 1,1 bei „Sweet banana“ und 2,7 bei „Holländische Paprika“ (rot) (Anhang Tab. I). An dritter Stelle kam aber hier Heptacosan

(n-C<sub>27</sub>) mit 8,0 %; das bei Tomaten nur 0,8 % erreichte. Auffällig waren auch die niedrigeren Anteile an Triacontan (n-C<sub>30</sub>, 1,7 %, Tomaten 4,4 %) und Dotriacontan (n-C<sub>32</sub>, 1,0 %, Tomaten 5,3 %). Anders als bei den Tomaten traten hier bei allen Sorten nur iso-Alkane auf, aber keine anteiso-Alkane; der Bereich der Kettenlänge war etwas breiter (C<sub>25</sub> – C<sub>35</sub>).

### 7.6.2 Fraktion 2

Tab. 12 zeigt die mittlere Zusammensetzung von Fraktion 2 nach den vier Substanzklassen. Wie bei den Tomaten machten Triterpene (56,4 %) mehr als die Hälfte aus. Allerdings hatten hier die Fettalkohole (1,3 %) nur geringe Anteile, dagegen waren Fettsäuren (28,8 %) die zweitstärkste Komponente. Bemerkenswert ist auch der hohe Anteil an 2-Hydroxyfettsäuren (8,3 %): am meisten enthielten die roten Sorten mit 12,0 %, die gelben weniger (7,4 %) und die grünen nur 5,0 %.

**Tabelle 12:** Prozentuale Verteilung der Substanzklassen von 12 Paprikasorten in Fraktion 2

MW: Mittelwert, s: Standardabweichung

	Schwankungsbreite	MW	Median	s
Triterpene	48,4 – 65,8	<b>56,4</b>	54,1	6,14
Fettalkohole	0,7 – 2,0	<b>1,3</b>	1,3	0,37
Fettsäuren	18,7 – 36,5	<b>28,8</b>	28,8	4,96
2-Hydroxyfettsäuren	3,3 – 15,5	<b>8,3</b>	8,8	3,69

Tab. 13 zeigt die mittlere Zusammensetzung von Fraktion 2. Hauptkomponenten waren fast immer  $\alpha$ -Amyrin (18,3 %) und  $\beta$ -Amyrin (15,2 %), gefolgt von Lignocerinsäure (Säure n-C<sub>24</sub>, 10,4 %). Deren Anteile stiegen sogar in den grünen Früchten „Bell Boy“ auf 16,3 % und von „Holländischen Paprika“ auf 16,2 %, so dass dort Lignocerinsäure sogar zweitstärkste Komponente in Fraktion 2 war. Das Spektrum der Fettsäuren reichte von C<sub>16</sub> bis C<sub>32</sub> und enthielt außer Lignocerinsäure vor allem Cerotinsäure (Säure n-C<sub>26</sub>, 7,6 %). Auch bei den 2-Hydroxyfettsäuren (Bereich C<sub>20</sub> bis C<sub>26</sub>) waren C<sub>24</sub> (3,8 %) und C<sub>26</sub> (1,3 %) am stärksten vertreten. Hauptkomponenten der Triterpenole waren wiederum  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin. Anders als bei Tomaten war aber  $\delta$ -Amyrin (0,5 %) nur ein Minorbestandteil, Lupeol (7,4 %) dagegen die drittstärkste Komponente. Glutinol (5,1 %), Isobauerenol und Isomultiflorenol (zusammen 0,9 %), 3 $\beta$ -Friedelanol (3,0 % zusammen mit Taraxasterol) und Friedelin (2,0 %) sowie Campesterol (0,5 %) waren in Tomaten nicht gefunden worden. Tab. 14 zeigt die Zusammensetzung der Triterpenole, jeweils bezogen auf deren Summe.

**Tabelle 13:** Prozentuale Zusammensetzung der Fraktion 2 von 12 Paprikasorten

MW: Mittelwert, s: Standardabweichung

Fraktion 2	Schwankungsbreite	MW	Median	s
<b>C<sub>24</sub>-OH</b>	0,05 – 0,17	<b>0,09</b>	0,09	0,037
<b>C<sub>26</sub>-OH</b>	0,10 – 0,30	<b>0,19</b>	0,18	0,070
<b>C<sub>27</sub>-OH</b>	0,00 – 0,22	<b>0,14</b>	0,15	0,066
<b>C<sub>28</sub>-OH</b>	0,28 – 0,99	<b>0,58</b>	0,58	0,197
<b>C<sub>29</sub>-OH</b>	0,11 – 0,44	<b>0,28</b>	0,29	0,097
<b>Säure n-C<sub>16</sub></b>	0,00 – 1,42	<b>0,35</b>	0,19	0,447
<b>Säure n-C<sub>18</sub></b>	0,00 – 1,59	<b>0,37</b>	0,23	0,468
<b>Säure n-C<sub>20</sub></b>	0,09 – 0,25	<b>0,17</b>	0,16	0,050
<b>Säure n-C<sub>21</sub></b>	0,05 – 0,27	<b>0,09</b>	0,06	0,065
<b>Säure n-C<sub>22</sub></b>	0,39 – 1,68	<b>0,90</b>	0,83	0,425
<b>Säure n-C<sub>23</sub></b>	0,08 – 0,32	<b>0,20</b>	0,19	0,07
<b>Säure n-C<sub>24</sub></b>	3,53 – 16,25	<b>10,40</b>	10,09	3,954
<b>Säure n-C<sub>25</sub></b>	0,31 – 0,97	<b>0,69</b>	0,69	0,213
<b>Säure n-C<sub>26</sub></b>	3,33 – 9,84	<b>7,60</b>	8,21	1,913
<b>Säure n-C<sub>27</sub></b>	0,12 – 0,42	<b>0,28</b>	0,28	0,093
<b>Säure n-C<sub>28</sub></b>	1,69 – 5,42	<b>3,52</b>	3,51	1,347
<b>Säure n-C<sub>30</sub></b>	0,99 – 5,12	<b>2,81</b>	2,62	1,264
<b>Säure n-C<sub>32</sub></b>	0,57 – 2,88	<b>1,47</b>	1,49	0,784
<b>2-OH-C<sub>20</sub>-Säure</b>	0,00 – 0,11	<b>0,06</b>	0,06	0,036
<b>2-OH-C<sub>21</sub>-Säure</b>	0,00 – 0,14	<b>0,08</b>	0,08	0,038
<b>2-OH-C<sub>22</sub>-Säure</b>	0,89 – 2,83	<b>1,73</b>	1,70	0,518
<b>2-OH-C<sub>23</sub>-Säure</b>	0,10 – 3,61	<b>1,18</b>	0,89	0,907
<b>2-OH-C<sub>24</sub>-Säure</b>	1,45 – 7,85	<b>3,82</b>	4,00	1,814
<b>2-OH-C<sub>25</sub>-Säure</b>	0,00 – 0,59	<b>0,26</b>	0,26	0,172
<b>2-OH-C<sub>26</sub>-Säure</b>	0,23 – 2,72	<b>1,27</b>	1,01	0,940
<b>Campesterol</b>	0,16 – 0,87	<b>0,53</b>	0,55	0,281
<b>Stigmasterol</b>	0,08 – 0,41	<b>0,22</b>	0,23	0,111
<b>Taraxerol</b>	0,32 – 0,91	<b>0,49</b>	0,46	0,169
<b>δ-Amyrin</b>	0,32 – 0,74	<b>0,50</b>	0,50	0,115
<b>β-Amyrin</b>	12,56 – 18,27	<b>15,17</b>	14,27	2,194
<b>Σ β-Sitosterol + Germanicol</b>	0,38 – 2,28	<b>1,26</b>	0,97	0,705
<b>Glutininol</b>	4,17 – 6,29	<b>5,13</b>	5,18	0,723
<b>Σ Isobauernol + Isomultiflorenol</b>	0,45 – 1,25	<b>0,87</b>	0,87	0,235
<b>α-Amyrin</b>	14,12 – 23,83	<b>18,31</b>	17,74	3,119
<b>Lupeol</b>	4,52 – 14,14	<b>7,41</b>	6,33	3,137
<b>Peak 29</b>	0,10 – 2,67	<b>0,64</b>	0,21	0,859
<b>Multiflorenol</b>	0,15 – 0,58	<b>0,38</b>	0,41	0,130
<b>ψ-Taraxasterol*</b>	0,16 – 0,86	<b>0,50</b>	0,45	0,269
<b>Σ 3β-Friedelanol + Taraxasterol</b>	2,15 – 3,93	<b>3,03</b>	3,10	0,492
<b>Friedelin</b>	1,23 – 2,45	<b>2,00</b>	2,15	0,408
<b>nicht ident. Peaks</b>	2,19 – 6,90	<b>5,05</b>	5,16	1,148

\* Summe ψ-Taraxasterol und Bauerenol

Wenn man die Standardabweichungen in Tab. 14 betrachtet, so war der Anteil von β-Amyrin recht konstant; α-Amyrin (26,8 – 39,6 %) und Lupeol (9,7 – 22,2 %) zeigten jedoch größere Schwankungen. Insgesamt unterscheidet sich das Triterpenmuster der Paprika durch die ge-

ringen Anteile von  $\delta$ -Amyrin, Multiflorenol und  $\psi$ -Taraxasterol und die hohen von Lupeol und  $\alpha$ -Amyrin deutlich vom Muster bei der Tomate.

**Tabelle 14:** Prozentuale Verteilung der Triterpenole in Fraktion 2 von 12 Paprikasorten, bezogen auf deren Summe

ohne Germanicol

MW: Mittelwert, s: Standardabweichung

	Schwankungsbreite	MW	Median	s
<b>Taraxerol</b>	0,6 – 1,8	<b>0,9</b>	0,9	0,32
<b><math>\delta</math>-Amyrin</b>	0,6 – 1,2	<b>0,9</b>	0,9	0,17
<b><math>\beta</math>-Amyrin</b>	26,4 – 30,3	<b>27,8</b>	27,8	1,13
<b>Glutinol</b>	6,6 – 12,4	<b>9,6</b>	9,8	1,84
<b>Isomultiflorenol*</b>	1,7 – 2,4	<b>1,6</b>	1,7	0,52
<b><math>\alpha</math>-Amyrin</b>	26,8 – 39,6	<b>33,6</b>	34,2	3,78
<b>Lupeol</b>	9,7 – 22,2	<b>13,4</b>	11,2	4,56
<b>Peak 29</b>	0,2 – 4,2	<b>1,1</b>	0,4	1,42
<b>Multiflorenol</b>	0,2 – 1,1	<b>0,7</b>	0,8	0,25
<b><math>\psi</math>-Taraxasterol**</b>	0,3 – 1,6	<b>0,9</b>	0,9	0,50
<b><math>3\beta</math>-Friedelanol***</b>	4,2 – 7,8	<b>5,6</b>	5,2	1,16
<b>Friedelin</b>	2,0 – 4,9	<b>3,8</b>	3,8	0,98

\* Summe Isomultiflorenol und Isobaueranol

\*\* Summe  $\psi$ -Taraxasterol und Baueranol

\*\*\* Summe  $3\beta$ -Friedelanol und Taraxasterol

## 7.7 Zusammensetzung der Wachsschicht von Auberginen

Tab. 15 zeigt die Verteilung des Wachses der drei untersuchten Auberginensorten auf die Kieselgelfractionen 1 und 2. Bemerkenswert ist, dass in Fraktion 1 bereits drei Viertel des Wachses eluiert wurden.

**Tabelle 15:** Prozentuale Verteilung des Wachses von 3 Auberginensorten auf die Kieselgel-Fractionen 1 und 2

MW: Mittelwert, s: Standardabweichung

	Schwankungsbreite	MW	Median	s
Fraktion 1	74,4 – 81,1	<b>76,9</b>	75,4	3,65
Fraktion 2	18,9 – 25,7	<b>23,1</b>	24,6	3,65

### 7.7.1 Fraktion 1

Tab. 16 zeigt die Verteilung des Wachses auf die drei Substanzklassen, die auch bei Paprika aufgetreten waren. Hier machten die verzweigten Alkane sogar ein Drittel der Kohlenwasserstoffe aus, dabei dominierten sogar die anteiso-Alkane mit 20,8 % über die iso-Alkane mit 13,3 %. Aldehyde waren wiederum nur in geringer Menge (1,0 %) vorhanden.

**Tabelle 16:** Prozentuale Verteilung der Substanzklassen in Fraktion 1 von 3 Auberginensorten

MW: Mittelwert, s: Standardabweichung

	Schwankungsbreite	MW	Median	s
n-Alkane	57,7 – 63,7	<b>61,5</b>	63,1	3,32
iso- und anteiso-Alkane	30,5 – 39,0	<b>34,2</b>	33,0	4,38
Aldehyde	0,6 – 1,2	<b>1,0</b>	1,3	0,31

Wie aus Tab. 17 mit der prozentualen Zusammensetzung von Fraktion 1 hervorgeht, kamen Alkane von C<sub>23</sub> bis C<sub>36</sub> vor.

**Tabelle 17:** Prozentuale Zusammensetzung der Fraktion 1 von 3 Auberginensorten

MW: Mittelwert, s: Standardabweichung

Fraktion 1	Schwankungsbreite	MW	Median	s
n-C <sub>23</sub>	0,03 – 0,07	<b>0,05</b>	0,04	0,021
n-C <sub>24</sub>	0,03 – 0,06	<b>0,05</b>	0,05	0,015
n-C <sub>25</sub>	0,53 – 0,97	<b>0,72</b>	0,65	0,227
n-C <sub>26</sub>	0,02 – 1,32	<b>0,72</b>	0,82	0,656
iso-C <sub>27</sub>	0,03 – 0,07	<b>0,04</b>	0,03	0,023
n-C <sub>27</sub>	4,23 – 8,63	<b>6,55</b>	6,79	2,210
iso-C <sub>28</sub>	0,05 – 0,30	<b>0,13</b>	0,05	0,144
n-C <sub>28</sub>	1,58 – 2,48	<b>1,97</b>	1,84	0,463
iso-C <sub>29</sub>	0,53 – 1,46	<b>1,13</b>	1,40	0,520
anteiso- C <sub>29</sub>	0,09 – 0,29	<b>0,18</b>	0,17	0,101
n-C <sub>29</sub>	4,53 – 5,79	<b>5,03</b>	4,77	0,669
iso-C <sub>30</sub>	0,27 – 0,88	<b>0,58</b>	0,60	0,305
anteiso- C <sub>30</sub>	0,93 – 2,79	<b>1,81</b>	1,72	0,934
n-C <sub>30</sub>	2,34 – 3,43	<b>2,75</b>	2,49	0,591
iso-C <sub>31</sub>	2,52 – 5,53	<b>4,39</b>	5,11	1,630
anteiso- C <sub>31</sub>	0,79 – 1,30	<b>1,12</b>	1,26	0,284
n-C <sub>31</sub>	17,37 – 24,32	<b>20,91</b>	21,04	3,477
iso-C <sub>32</sub>	0,97 – 1,77	<b>1,45</b>	1,62	0,425
anteiso- C <sub>32</sub>	6,37 – 8,46	<b>7,33</b>	7,15	1,056
n-C <sub>32</sub>	5,51 – 6,20	<b>5,94</b>	6,12	0,377
iso-C <sub>33</sub>	3,86 – 4,84	<b>4,33</b>	4,29	0,491
anteiso- C <sub>33</sub>	2,02 – 2,62	<b>2,35</b>	2,41	0,304
n-C <sub>33</sub>	10,63 – 16,73	<b>13,01</b>	11,67	3,263
iso-C <sub>34</sub>	0,44 – 0,69	<b>0,59</b>	0,63	0,131
anteiso- C <sub>34</sub>	4,93 – 8,01	<b>6,61</b>	6,89	1,559
n-C <sub>34</sub>	0,98 – 2,08	<b>1,67</b>	1,94	0,599
iso-C <sub>35</sub>	0,45 – 0,86	<b>0,68</b>	0,72	0,208
anteiso- C <sub>35</sub>	0,48 – 1,02	<b>0,78</b>	0,84	0,275
n-C <sub>35</sub>	0,99 – 2,74	<b>1,98</b>	2,22	0,899
anteiso- C <sub>36</sub>	0,38 – 0,92	<b>0,65</b>	0,64	0,270
n-C <sub>36</sub>	0,06 – 0,19	<b>0,14</b>	0,17	0,070
Aldehyd n-C <sub>26</sub>	0,11 – 0,18	<b>0,14</b>	0,14	0,035
Aldehyd n-C <sub>28</sub>	0,35 – 0,79	<b>0,61</b>	0,70	0,323
Aldehyd n-C <sub>30</sub>	0,15 – 0,25	<b>0,21</b>	0,23	0,053
nicht ident. Peaks	2,18 – 5,28	<b>3,40</b>	2,74	1,652

Hauptkomponente war wiederum Hentriacontan ( $n\text{-C}_{31}$ , 20,9 %). An zweiter Stelle lag hier aber Tritriacontan ( $n\text{-C}_{33}$ , 13,0 %) und nicht Nonacosan ( $n\text{-C}_{29}$ ) wie bei Tomaten und Paprika. Auffällig war der hohe Anteil an anteiso-Dotriacontan (anteiso- $\text{C}_{32}$ , 7,3 %), der sogar über dem des  $n$ -Alkans ( $n\text{-C}_{32}$ , 5,9 %) lag; ähnlich war dies auch bei anteiso-Tetratriacontan (anteiso- $\text{C}_{34}$ , 6,6 %) und  $n$ -Tetratriacontan ( $n\text{-C}_{34}$ , 1,7 %). Bei den iso-Alkanen traten besonders iso- $\text{C}_{31}$  (4,4 %) und iso- $\text{C}_{33}$  (4,3 %) hervor.

### 7.7.2 Fraktion 2

Abb. 18 zeigt die mittlere Zusammensetzung von Fraktion 2 nach den vier Substanzklassen. Danach waren Triterpenole und Sterole im Mittel nur zu 12,1 % vorhanden. Der Anteil von Fettalkoholen (10,4 %) lag zwar höher als in Paprika (1,3 %), aber niedriger als in Tomaten (insgesamt 20,6 %). Die 2-Hydroxyfettsäuren lagen ähnlich wie bei Paprika; die Fettsäuren machten aber mit 59,6 % die Hauptmenge von Fraktion 2 aus.

**Tabelle 18:** Prozentuale Verteilung der Substanzklassen von 3 Auberginensorten in Fraktion 2

MW: Mittelwert, s: Standardabweichung

	Schwankungsbreite	MW	Median	s
Triterpene und Sterole	7,7 – 14,4	<b>12,1</b>	14,2	3,82
Fettalkohole	5,9 – 16,4	<b>10,4</b>	8,8	5,43
Fettsäuren	56,5 – 65,7	<b>59,6</b>	56,7	5,28
2-Hydroxyfettsäuren	2,5 – 17,9	<b>8,3</b>	4,4	8,38

Wie aus Tab. 19 hervorgeht, war die Hauptkomponente Cerotinsäure (Säure  $n\text{-C}_{26}$ , 10,7 %), gefolgt von Lignocerinsäure (Säure  $n\text{-C}_{24}$ , 8,9 %) und Montansäure (Säure  $n\text{-C}_{28}$ , 8,2 %); beachtliche Anteile hatten auch Palmitin- (Säure  $n\text{-C}_{16}$ , 7,5 %) und Stearinsäure (Säure  $n\text{-C}_{18}$ , 6,9 %). Auch bei den 2-Hydroxyfettsäuren war  $\text{C}_{26}$  (2-OH- $\text{C}_{26}$ -Säure, 3,3 %) intensiver als  $\text{C}_{24}$  (2-OH- $\text{C}_{24}$ -Säure, 2,5 %). Bei den Alkoholen war Octacosanol ( $\text{C}_{28}\text{-OH}$ , 5,8 %) stark ausgeprägt.

Von den Triterpenolen traten nur  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin, Lupeol und geringe Mengen Germanicol auf; das Verhältnis  $\alpha$ -Amyrin/Lupeol lag bei 0,8. Bemerkenswert war noch der Gehalt an Stigmasterol und  $\beta$ -Sitosterol, der 23 – 46 % der Summe von Triterpenolen und Sterolen ausmachte.

**Tabelle 19:** Prozentuale Zusammensetzung der Fraktion 2 von 3 Auberginensorten

MW: Mittelwert, s: Standardabweichung

Fraktion 2	Schwankungsbreite	MW	Median	s
<b>C<sub>24</sub>-OH</b>	0,44 – 1,33	<b>0,97</b>	1,13	0,467
<b>C<sub>26</sub>-OH</b>	0,91 – 2,79	<b>1,74</b>	1,53	0,958
<b>C<sub>27</sub>-OH</b>	0,77 – 1,73	<b>1,19</b>	1,07	0,491
<b>C<sub>28</sub>-OH</b>	3,37 – 9,55	<b>5,82</b>	4,54	3,283
<b>C<sub>29</sub>-OH</b>	0,41 – 1,01	<b>0,64</b>	0,51	0,321
<b>Säure n-C<sub>16</sub></b>	6,14 – 9,56	<b>7,48</b>	6,74	1,826
<b>Säure n-C<sub>18</sub></b>	4,03 – 9,71	<b>6,89</b>	6,94	2,840
<b>Säure n-C<sub>20</sub></b>	0,61 – 1,39	<b>1,02</b>	1,07	0,392
<b>Säure n-C<sub>21</sub></b>	0,26 – 2,33	<b>1,10</b>	0,70	1,091
<b>Säure n-C<sub>22</sub></b>	1,82 – 2,75	<b>2,24</b>	2,15	0,471
<b>Säure n-C<sub>23</sub></b>	0,16 – 0,93	<b>0,57</b>	0,62	0,387
<b>Säure n-C<sub>24</sub></b>	7,02 – 10,32	<b>8,94</b>	9,49	1,717
<b>Säure n-C<sub>25</sub></b>	2,04 – 2,54	<b>2,36</b>	2,51	0,280
<b>Säure n-C<sub>26</sub></b>	9,56 – 12,18	<b>10,70</b>	10,35	1,344
<b>Säure n-C<sub>27</sub></b>	2,04 – 2,95	<b>2,46</b>	2,40	0,458
<b>Säure n-C<sub>28</sub></b>	6,84 – 8,97	<b>8,17</b>	8,69	1,157
<b>Säure n-C<sub>29</sub></b>	1,75 – 4,82	<b>2,97</b>	2,33	1,631
<b>Säure n-C<sub>30</sub></b>	0,87 – 3,06	<b>1,90</b>	1,78	1,100
<b>Säure n-C<sub>32</sub></b>	2,64 – 3,10	<b>2,84</b>	2,77	0,237
<b>2-OH-C<sub>22</sub>-Säure</b>	0,25 – 1,82	<b>0,92</b>	0,68	0,811
<b>2-OH-C<sub>23</sub>-Säure</b>	0,00 – 1,22	<b>0,46</b>	0,17	0,661
<b>2-OH-C<sub>24</sub>-Säure</b>	0,64 – 5,73	<b>2,48</b>	1,06	2,825
<b>2-OH-C<sub>25</sub>-Säure</b>	0,00 – 2,92	<b>1,09</b>	0,35	1,594
<b>2-OH-C<sub>26</sub>-Säure</b>	1,09 – 7,32	<b>3,30</b>	1,50	3,485
<b>Stigmasterol</b>	1,56 – 4,08	<b>2,42</b>	1,63	1,435
<b>β-Amyrin</b>	0,90 – 4,25	<b>2,24</b>	1,56	1,775
<b>β-Sitosterol*</b>	1,29 – 2,46	<b>1,85</b>	1,81	0,586
<b>α-Amyrin</b>	1,68 – 2,95	<b>2,45</b>	2,72	0,677
<b>Lupeol</b>	2,16 – 3,79	<b>3,10</b>	3,36	0,845
<b>nicht ident. Peaks</b>	8,38 – 11,50	<b>9,68</b>	9,15	1,625

\* überwiegend β-Sitosterol mit geringem Anteil Germanicol



## 8 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit nutzte die modernen Verfahren der Lebensmittelanalytik, um unsere Kenntnisse über die Zusammensetzung der Oberflächenwachse von Tomaten, Paprika und Auberginen zu erweitern und auf den neuesten Stand zu bringen. Aufbauend auf älteren Arbeiten wurden dabei zahlreiche noch nicht beschriebene Komponenten vor allem durch GC/MS identifiziert und die Anteile aller Komponenten in unterschiedlichen Sorten quantitativ bestimmt.

Das Oberflächenwachs wurde während 5 min im Ultraschallbad extrahiert und zwar bei Tomaten mit tert. Butylmethylether (TBME)/Methanol (9 + 1), bei Paprika und Auberginen nur mit TBME. Der Abdampfrückstand des Extraktes wurde gewogen und mit der doppelten Menge Celite 545 vermischt, damit die Komponenten leichter daraus extrahierbar werden. 30 mg dieses Gemisches wurden durch Säulenchromatographie an 100 mg Kieselgel mit je 1,5 ml von Lösungsmitteln steigender Polarität fraktioniert. Nach Optimierung der Elutionsbedingungen ergaben sich bei Tomaten drei Fraktionen mit Kohlenwasserstoffen und Aldehyden (Hexan/Toluol, 1 + 2), mit Fettalkoholen, Fettsäuren und Triterpenalkoholen (Hexan/TBME, 3 + 1) und mit Naringenin-chalkon (TBME/Methanol, 9 + 1). Bei Paprika und Auberginen wurden Kohlenwasserstoffe und Aldehyde auf dieselbe Weise eluiert; danach kam aber nur eine zweite Fraktion mit Methanol, die Fett- und Triterpenalkohole, Fettsäuren und 2-Hydroxyfettsäuren enthielt.

Zur quantitativen Bestimmung wurde diese Fraktionierung fünfmal nacheinander ausgeführt und der Rückstand in jeder Fraktion gewogen. Das Wachs von 26 untersuchten Tomatensorten enthielt im Mittel 24 % Fraktion 1 (Spanne 15 – 42 %), 18 % Fraktion 2 (Spanne 6 – 31 %) und 58 % Fraktion 3 (Spanne 37 – 78 %). Wenn man Naringenin-chalkon (Fraktion 3) außer acht läßt, das in Paprika und Auberginen nur in Spuren vorkommt, entfallen im Mittel 58 % auf Fraktion 1 und 42 % auf Fraktion 2. Bei den 12 untersuchten Paprikasorten verteilte sich das Wachs dagegen im Mittel zu 39 % auf Fraktion 1 (Spanne 28 – 45 %) und zu 61 % auf Fraktion 2 (Spanne 56 – 72 %). Abweichend davon enthielt das Wachs von drei Auberginensorten besonders viel Kohlenwasserstoffe, denn im Mittel fanden sich 77 % (Spanne 74 – 81 %) in Fraktion 1 und nur 23 % (Spanne 19 – 26 %) in Fraktion 2.

Da Tomaten annähernd kugelförmig sind, ließ sich die mittlere Wachsmenge pro Fläche zu  $50 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  (Spanne  $27 - 79 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) abschätzen.

Alle Fraktionen aus der Kieselgelsäule wurden durch GC an Kapillarsäulen optimal aufgetrennt und die Massenspektren aller Komponenten aufgenommen. Die Fraktion 1 von Tomaten enthielt überwiegend n-Alkane (81 %, Spanne 70 – 95 %) von n-C<sub>27</sub> bis n-C<sub>35</sub>. Die

Hauptkomponente bei allen Sorten war n-Hentriacontan (n-C<sub>31</sub>) mit im Mittel 46 % (Spanne 34 – 61 %), gefolgt von n-Nonacosan (n-C<sub>29</sub>) mit 17 % (Spanne 8 – 34 %). Außerdem wurden die n-Alkadiene und -triene C<sub>33</sub>, C<sub>34</sub> und C<sub>35</sub> identifiziert, die im Mittel 11 % ausmachten. Ihre Struktur wurde durch Hydrierung mit Wasserstoff an Platin(IV)-oxid bestätigt. Um die Lage der Doppelbindungen in den Alkadienen zu ermitteln, wurden die Addukte mit Dimethyldisulfid (DMDS) hergestellt und ihre Massenspektren ausgewertet, aber auch die bei Ozonolyse entstandenen Aldehyde durch GC/MS und deren 2,4-Dinitrophenylhydrazone durch HPLC bestimmt. Danach lagen die Doppelbindungen jeweils in Position 6 und 9. Die DC an silbernitrat-haltigem Kieselgel und die IR-Spektrometrie der eluierten Flecke ergab die cis,cis-Konformation. Demnach handelt es sich bei der drittstärksten Komponente (im Mittel 8,9 %) um cis,cis-6,9-Tritriacontadien. Nicht zuletzt enthielt Fraktion 1 auch geringe Anteile an den Aldehyden n-C<sub>24</sub>, n-C<sub>26</sub> und n-C<sub>30</sub> (Summe im Mittel 1,2 %) und den verzweigten Alkanen iso-C<sub>29</sub>, iso-C<sub>31</sub>, iso-C<sub>32</sub>, iso-C<sub>33</sub>, anteiso-C<sub>31</sub> und anteiso-C<sub>32</sub> (Summe im Mittel 4,2 %).

In der silylierten Fraktion 2 wurden erstmals gesättigte Fettalkohole von n-C<sub>18</sub> bis n-C<sub>34</sub> (im Mittel 16 %) identifiziert. Außerdem fanden sich die zwei- und dreifach ungesättigten Fettalkohole n-C<sub>22</sub>, n-C<sub>24</sub> und n-C<sub>26</sub> (4,3 %); die Struktur wurde wieder durch Hydrierung an Platin(IV)-oxid bestätigt. Da diese Fettalkohole noch nie in freier Form in einem Pflanzenwachs beschrieben sind, wurde die Lage der Doppelbindungen sowohl über die Massenspektren der DMDS-Addukte als auch über die Massenspektren der Derivate mit Nicotinsäurechlorid bestimmt. Wie die jeweilige Fragmentierung zeigte, lagen die Doppelbindungen in Position ω6 und ω9, bei den dreifach ungesättigten in ω3, ω6 und ω9. Durch Silberionen-HPLC wurden die zweifach ungesättigten Fettalkohole isoliert; die IR-Spektrometrie ergab in allen drei Fällen cis-Konformationen.

Den Hauptteil von Fraktion 2 machten jedoch Triterpenole (77 %, Spanne 52 – 83 %) aus, von denen nur wenige als Vergleichssubstanzen erhältlich sind. Zur Zuordnung der GC-Peaks wären zwar die NMR-Spektren hilfreich, doch waren die vorhandenen Mengen nur äußerst gering. Deshalb wurden die Triterpenole nicht nur silyliert, sondern auch acetyliert, oxidiert und unsilyliert zur GC/MS injiziert und die jeweiligen Massenspektren im Detail interpretiert oder mit publizierten Spektren verglichen. Soweit möglich wurde auch zurückgegriffen auf den MS-Vergleich mit Stoffen, die aus anderen Arbeitsgruppen stammten oder selbst aus geeigneten Pflanzen extrahiert wurden. Außer den schon in Tomaten beschriebenen α- und β-Amyrin wurden hier erstmals mehrere weitere Triterpenole gefunden. Davon war δ-Amyrin (30 %) sogar die Hauptkomponente von Fraktion 2. Als weitere Triterpenole wurden identifiziert: Multiflorenol (3,1 %), Taraxasterol (2,4 %), ψ-Taraxasterol (2,0 %), Taraxerol

(1,4 %), Lupeol (0,6 %), Cycloartenol (0,3 %) und Spuren von Germanicol und Bauerenol. Außerdem enthielt Fraktion 2 Stigmasterol (0,4 %),  $\beta$ -Sitosterol (0,2 % zusammen mit Germanicol) und freie Fettsäuren (1,9 %).

In Fraktion 3 wurde durch GC/MS, UV-Spektroskopie, HPLC und  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie geklärt, dass das Wachs von Tomaten hauptsächlich Naringenin-chalkon und höchstens geringe Anteile an Naringenin enthält. Das früher beschriebene Naringenin hatte sich wohl dort aus Naringenin-chalkon gebildet.

An einer Sorte wurden exemplarisch die vier Reifezustände „grün“, „grün-orange“, „rot“ und „vollreif“ untersucht, einschließlich der Nachreife von grün-orangen Tomaten im Licht und im Dunkeln. Dabei ergaben sich teils große Unterschiede in der Wachsdichte und in der Zusammensetzung, die zeigen, dass Alkene, ungesättigte Fettalkohole und Naringenin-chalkon erst im Verlauf der Reife gebildet werden.

Bei Paprika war das Bild in Fraktion 1 ähnlich wie bei Tomaten, allerdings mit quantitativen Unterschieden. Weniger Aldehyden (1,3 %) standen mehr verzweigte Alkane (9,9 %) gegenüber, die hier nur aus iso-Alkanen bestanden und keine anteiso-Alkane enthielten. Hauptbestandteile waren wiederum n-Alkane (87 %, Spanne 81 – 93 %) von n-C<sub>20</sub> bis n-C<sub>35</sub>, vor allem Hentriacontan (n-C<sub>31</sub>, 45 %) und Nonacosan (n-C<sub>29</sub>, 24 %).

In Fraktion 2 dominierten ebenfalls die Triterpenole (56 %, Spanne 48 – 66 %). Wenig gesättigten Fettalkoholen (C<sub>24</sub> – C<sub>29</sub>, 1,3 %) standen hier besonders viel Fettsäuren von C<sub>16</sub> bis C<sub>32</sub> (29 %) gegenüber. Neu waren die 2-Hydroxyfettsäuren von C<sub>20</sub> bis C<sub>26</sub> (8,3 %) vorhanden. Die Identifizierung der Triterpenole wurde wie bei Tomaten durchgeführt. Hier fanden sich wieder  $\alpha$ - (18,3 %) und  $\beta$ -Amyrin (15,2 %), Lupeol (7,4 %),  $\delta$ -Amyrin (0,5%), Taraxerol (0,5 %), Multiflorenol (0,4 %),  $\psi$ -Taraxasterol (0,5 % zusammen mit Bauerenol) und Spuren von Germanicol und Taraxasterol. Als neue Triterpenole hinzu kamen Glutinol (5,1 %), 3 $\beta$ -Friedelanol (3,0 % zusammen mit Taraxasterol), Isobauerenol und Isomultiflorenol (zusammen 0,9 %) und das Triterpenketon Friedelin (2,0 %). Als Phytosterole waren  $\beta$ -Sitosterol (1,3 % zusammen mit Germanicol), Stigmasterol (0,2 %) und Campesterol (0,5 %) vorhanden.

Fraktion 1 von Auberginen enthielt wenig Aldehyde (1,0 %), viel n-Alkane von n-C<sub>23</sub> bis n-C<sub>36</sub> (62 %) und beachtliche Anteile verzweigter Alkane (34 %). Dies waren überwiegend anteiso-Alkane von anteiso-C<sub>29</sub> bis anteiso-C<sub>36</sub> (21 %), aber auch iso-Alkane (13 %) von iso-C<sub>27</sub> bis iso-C<sub>35</sub>.

---

In Fraktion 2 lag der Anteil der gesättigten Fettalkohole von C<sub>24</sub> bis C<sub>29</sub> (10 %) zwar höher als bei Paprika (1,3 %), aber niedriger als bei Tomaten (16 %). Der Anteil der 2-Hydroxyfettsäuren von C<sub>22</sub> bis C<sub>26</sub> (8,3 %) war ähnlich wie bei Paprika. Gesättigte Fettsäuren von C<sub>16</sub> bis C<sub>32</sub> machten mit 60 % den Hauptteil von Fraktion 2 aus; dagegen waren die Gehalte an Triterpenolen und Sterolen (12 %) nur gering. Die Triterpenole, die bisher noch nicht in Auberginen beschrieben worden sind, bestanden aus  $\alpha$ - (2,5 %) und  $\beta$ -Amyrin (2,2 %), Lupeol (3,1 %) und wenig Germanicol.

## **9      Arbeitsvorschriften**

### **9.1      Häufig verwendete Geräte und Hilfsmittel**

Automatische Mikroliter-Pipette, Einstellbereich 50 – 200 µl und 200 – 1000 µl (Fa. Hirschmann, Eberstadt, Modell Laborpette)

Vakuum-Rotationsverdampfer (Fa. Büchi, Flawil/Schweiz, Modell Rotavapor R-114) mit Wasserbad (Büchi Modell B-480) und Vakuumpumpe (Fa. Vacuubrand, Wertheim, Modell MZ C2)

Ultraschallbad (Fa. Bandelin, Berlin, Modell Sonorex RK 100)

Trockenschrank (Fa. Binder, Tuttlingen, Nr. 18053300002020)

Reagenzgläser, 10 ml, mit Schraubgewinde SVL-15, und Schraubdeckel mit PTFE-beschichteter Gummidichtung (Fa. Corning, Wiesbaden, Nr. 611-52)

GC-Gläschen, 2 ml Inhalt, mit Schraubgewinde und Schraubdeckel mit PTFE beschichteter Dichtung (Fa. Supelco, Deisenhofen, Nr. 854165)

Zentrifuge (Fa. Heraeus, Hanau, Modell Megafuge 10)

Heizblock (Fa. Barkey, Leopoldshöhe, Modell clinitherm, Typ vapo therm mobil SEE)

Bechergläser 800 ml und 1000 ml

### **9.2      Häufig verwendete Chemikalien**

Natrium, 40%ige Suspension in Öl (Fa. Aldrich, Steinheim, Nr. 21,712-3)

tert. Butylmethylether (TBME) (Fa. Roth, Karlsruhe, Nr. 6746.3), dest. über Natrium

Hexan (Isomeregemisch) (Roth Nr. 7782.2), dest. über Natrium

Methanol (Fluka Nr. 24228), dest. über Kaliumhydroxid (Fa. Merck, Darmstadt, Nr. 105033)

Acetonitril (Fluka Nr. 33019), dest. über Phosphorpentoxid (Fa. Fluka, Buchs/Schweiz, Nr. 79612)

Chloroform (Merck Nr. 102442), dest. über Phosphorpentoxid

Diethylether (Fluka Nr. 24005)

Toluol (Fa. Riedel, Seelze, Nr. 320249)

Isopropanol (Riedel Nr. 33539)

Ethanol (Roth Nr. P075.1)

Dichlormethan (Merck Nr. 106050)

Isooctan (Fluka Nr. 59050)

Pyridin (Fluka Nr. 82704)

Stickstoff 4.8 (Fa. Westfalen, Münster, Nr. 26491030)

Wasserstoff 5.0 (Westfalen Nr. 26491954)

Helium 4.6 (Westfalen Nr. 26491673)

1-Trimethylsilyl-imidazol (TMSI) (Fluka Nr. 92751)

1,3-Bistrifluoromethyl-benzol (HFX) (Aldrich Nr. 25,118-6)

Natriumsulfat (Merck Nr. 106639), 24 h bei 150 °C getrocknet

Natriumthiosulfat (Fluka Nr. 72049)

### 9.3      Vergleichssubstanzen

*Fettsäuremethylester*: Öl- (Nr. 75160), Elaidin- (Nr. 45119), Linol- (Nr. 62280) und Linol-elaidinsäuremethylester (Nr. 62155), alle Fluka

*Triterpenole*:  $\alpha$ -Amyrin (Roth Nr. 7000.1),  $\beta$ -Amyrin (Roth Nr. 7001.1) und Lupeol (Sigma Nr. L-5632)

*Wachsvergleiche*: Tetracosan (Fluka Nr. 87090), Behenylbehenolat (Sigma Nr. B-3630), 2-Hexadecanon (Fluka Nr. 69250), Docosanol (Fluka Nr. 43960), Behensäure (Fluka Nr. 11909) und Tetracosanol (Fluka Nr. 87100)

*Aldehyde*: Acetaldehyd (Fluka Nr. 70), Propionaldehyd (Merck Nr. 822133), Butyraldehyd (Fluka Nr. 20710), Valeraldehyd (Merck Nr. 808504), Capronaldehyd (Merck Nr. 802672), Oenanthaldehyd (Fluka Nr. 75170), Caprylaldehyd (Fluka Nr. 21630), Pelargonaldehyd (Fa. Haarman & Reimer, Holzminden, Nr. 103798) und Caprinaldehyd (Fluka Nr. 21400)

Malondialdehyd-tetrabutylammoniumsalz (Fluka Nr. 63287)

*Hydroxyfettsäuren*: 12-Hydroxystearinsäure (Sigma Nr. H-6877), 16-Hydroxypalmitinsäure (Aldrich Nr. 17,749-0) und 2-Hydroxypalmitinsäure (Sigma Nr. H-7021)

Naringenin (Roth Nr. 8524.1)

### 9.4      Extraktion der Früchte

#### Geräte und Reagenzien

Spitzkolben, 50 ml

Faltenfilter 595<sup>1</sup>/<sub>2</sub>, 185 mm Ø (Fa. Schleicher & Schuell, Dassel, Nr. 311647)

Extraktionslösung: TBME/Methanol, 9 + 1 (v/v)

Celite 545 (Fluka Nr. 22140), bei 550 °C gegläht

#### Arbeitsweise

Je nach ihrer Größe wurden ein bis drei **Tomaten** in einem Becherglas mit so viel Extraktionslösung versetzt, dass sie eben bedeckt waren. Das Becherglas blieb 5 min im Ultraschallbad stehen; die Tomaten wurden mit einer Tiegelzange herausgenommen und damit nochmals kurz in Extraktionslösung in einem weiteren Becherglas getaucht. Beide Extrakte wurden vereinigt und filtriert; das Filtrat wurde im Rotationsverdampfer auf 30 ml eingengt, das Konzentrat unter Nachspülen mit dreimal 3 ml Extraktionslösung in einen gewogenen Spitzkolben überführt, im Rotationsverdampfer eingedampft und der Rückstand gewogen.

Von **Paprika** und **Auberginen** wurde jeweils eine Frucht wie oben, jedoch mit TBME anstelle der Extraktionslösung, extrahiert.

### 9.5      Herstellung der Wachs-Celite-Mischung

Der Rückstand im Spitzkolben wurde mit genau der doppelten Menge Celite und 10 ml TBME versetzt. Die Suspension wurde im Ultraschallbad 30 s rotiert und bei 50 °C im Stick-

stoffstrom eingedampft. Der Rückstand wurde nochmals in einer Reibschale vermischt und bei 5 °C aufbewahrt.

## 9.6      Fraktionierung des Wachs-Celite-Gemisches

### Geräte und Reagenzien

Kartuschen zur Festphasenextraktion, 1 ml Inhalt, 6,5 cm lang, 0,6 cm i.D. (Supelco Nr. 57023), mit zugehörigen Polyethylenfritten (Supelco Nr. 57244)

Edelstahlkanülen, 0,90 x 70 mm (Fa. Servopharma, Wesel, Nr. L10107)

Kieselgel 60, 40 – 63 µm Korngröße (Merck Nr. 109385), 24 h bei 150 °C getrocknet

### Arbeitsweise

In eine Kartusche, in der sich eine Polyethylenfritte befand, wurden 100 mg Kieselgel gegeben; die Füllung wurde mit einer zweiten Polyethylenfritte bedeckt. Darauf wurden 30 mg des Wachs-Celite-Gemisches aus 9.5 und eine weitere Polyethylenfritte gegeben. Die Kartusche wurde an einem Stativ befestigt und am unteren Ende mit einer Edelstahlkanüle verbunden, deren Ausgang in ein GC-Gläschen führte.

Bei **Tomaten** gab man zunächst 1,5 ml Hexan/Toluol (1 + 2) auf die Kartusche (Fraktion 1), danach 1,5 ml Hexan/TBME (3 + 1) (Fraktion 2), 1,5 ml TBME/Methanol (9 + 1) (Fraktion 3) und 1,5 ml Methanol (Fraktion 4). Jede Fraktion wurde in einem getrennten GC-Gläschen gesammelt.

Bei **Paprika** und **Auberginen** gab man zunächst 1,5 ml Hexan/Toluol (1 + 2) auf die Kartusche (Fraktion 1), danach 1,5 ml Methanol (Fraktion 2). Wiederum wurde jede Fraktion in einem getrennten GC-Gläschen gesammelt.

Jede Fraktion wurde im GC-Gläschen im Heizblock bei 70 °C durch Überleiten eines schwachen Stickstoffstroms eingedampft.

## 9.7      Untersuchung der Fraktionen durch GC

Aus der Fraktionierung nach 9.6 wurden die Rückstände der Fraktionen 1 aus **Tomaten**, **Paprika** und **Auberginen** in 1 ml Hexan gelöst. Die Rückstände der Fraktionen 2 bis 4 aus **Tomaten** wurden in 0,8 ml TBME und 0,2 ml TMSI gelöst; bei Fraktion 3 wurden 0,2 ml davon zusätzlich mit 0,8 ml TBME verdünnt. Der Rückstand der Fraktion 2 aus **Paprika** und **Auberginen** wurde ebenfalls in 0,8 ml TBME und 0,2 ml TMSI gelöst. Jeweils 1 µl jeder dieser Lösungen wurde zur GC/MS injiziert.

Zur Untersuchung mit dem Flammenionisationsdetektor (FID) wurden zu jeder silylierten Lösung 0,2 ml HFX gegeben.

### 9.7.1    GC/MS

#### Gerät

Gaschromatograph (Fa. Hewlett-Packard, Waldbronn, Modell 6890 Series GC), mit automatischem Probengeber (Hewlett-Packard Modell 6890 Series) und massenselektivem Detektor (Hewlett-Packard Modell 5973 mass selective detector)

Injektortemperatur	350 °C
Injektionsvolumen	1 µl, Split 1:10
Transferline	340 °C
Quadrupol	150 °C
Ionenquelle	230 °C
Full-Scan-Modus	Massenbereich m/e 50–800, 2,0 scans/s
Multiplierspannung	1500 V
Trägergas	Helium, 2,0 ml/min
Kapillarsäule 1	Rtx–5 (Fa. Restek, Bad Soden, Nr. 10211), 60 m lang, i.D. 0,25 mm, 0,1 µm Filmdicke
Kapillarsäule 2	Rtx–50 (Restek Nr. 10508), 30 m lang, i.D. 0,25 mm, 0,1 µm Filmdicke
Temperaturprogramm	3 min isotherm bei 200 °C, mit 2 °C/min auf 300 °C, 5 min isotherm

### 9.7.2    GC mit FID

#### Gerät

Gaschromatograph (Fa. Hewlett-Packard, Modell 6890 Series GC), mit automatischem Probengeber (Hewlett-Packard, Modell 6890 Series)

Injektortemperatur	340 °C
Injektionsvolumen	1 µl, Split 1:10
Trägergas	Wasserstoff, 1,5 ml/min
Detektor	FID; 350 °C
Spülgas	Stickstoff, 45,0 ml/min
Brenngase	Wasserstoff, 40 ml/min, Luft, 450 ml/min
Kapillarsäule 1	Rtx–5 (Restek Bad Soden Nr. 10211), 60 m lang, i.D. 0,25 mm, 0,1 µm Filmdicke
Temperaturprogramm	3 min isotherm bei 200 °C, mit 2 °C/min auf 300 °C, 5 min isotherm

### 9.7.3    GC mit Cool-On-Column-Technik

#### Gerät

Gaschromatograph (9.7.2) mit Cool-On-Column-Injektor, bestehend aus Septumhalterung (Nr. 19245–80521), Einsatz (Nr. 19245–20525) und Spritze (Nr. 5182–0836), alle Hewlett-Packard

Injektortemperatur	50 °C (übrige Einstellungen wie 9.7.2)
Kapillarsäule	DB–5 (J&W Nr. 123.5631), 30 m lang, i.D. 0,32 mm, 0,25 µm Filmdicke
Temperaturprogramm	von 50 °C mit 20 °C/min auf 300 °C



## 9.8      Derivatisierungen

### 9.8.1    Hydrierung der Fraktionen 1 und 2 und von $\delta$ -Amyrenon

Die Lösung des Rückstandes einer Kieselgelfraktion, von 3 mg Vergleichssubstanz oder des Rückstandes nach 9.8.7 in 3 ml Hexan wurde mit 20 mg Platin(IV)-oxid-Hydrat (Merck Nr. 807346) und einem Rührstäbchen versetzt und das Reagenzglas mit einem durchbohrten Schraubdeckel mit zwei PTFE-Schläuchen (1 mm i.D.) verschlossen. Unter Rühren wurden durch einen Schlauch zunächst 5 min Stickstoff und danach 30 min Wasserstoff (jeweils 5 Bläschen pro s) in die Lösung eingeleitet. Die Suspension wurde durch einen Bausch Watte (mit TBME extrahiert) filtriert, die Watte mit dreimal 1 ml TBME nachgespült und das Filtrat im Stickstoffstrom eingedampft.

### 9.8.2    Ozonisierung

#### Geräte und Chemikalien:

Kühlaggregat mit Kühlfinger (Fa. Holzwart, Bindlach, Typ EK-60L)

Ozongenerator (Fa. Fischer, Bonn-Bad Godesberg, Typ OZ 500-M): 1,0 ml/min Sauerstoff (Westfalen Nr. 26490010) wurde durch einen PTFE-Schlauch (2 mm i.D.) in den Ozongenerator (eingestellt auf Stufe 0,1) geleitet; das austretende Gas wurde nach 5 min verwendet

Dewar-Gefäß, 29 cm hoch, 8 cm i.D.

Pentan (Fluka Nr. 76871)

Kaliumiodid-Stärkelösung: 2 ml der Lösung von 1 g Kaliumiodid (Merck Nr. 105040) in 9 ml Wasser mit 1 ml der aufgekochten Lösung von 1 g Stärke (Riedel Nr. 33615) in 9 ml Wasser mischen

Triphenylphosphin (Merck Nr. 108270)

Dinitrophenylhydrazinlösung: 150 mg 2,4-Dinitrophenylhydrazin (Merck Nr. 103081) in 7,5 ml Acetonitril und 1 ml Phosphorsäure (Merck Nr. 100563) lösen

#### Arbeitsweise

Die Lösung des Rückstandes aus einer Kieselgelfraktion oder von 10 mg Fettsäuremethylester in 3 – 5 ml Pentan wurde in einem Gläschen mit durchbohrtem Schraubdeckel mit zwei PTFE-Schläuchen (1 mm i.D.) verschlossen und das Gläschen in einem Dewar-Gefäß mit Methanol auf – 60 °C gekühlt. Durch den einen Schlauch wurde das Gas aus dem Ozongenerator in die Lösung geleitet; der zweite Schlauch führte in Kaliumiodid-Stärkelösung. Sobald sich diese violett färbte, wurde die Ozonzufuhr abgebrochen und 1 min lang Stickstoff eingeleitet. Die Lösung wurde mit 100 mg Triphenylphosphin versetzt, sofort und nach 15 min geschüttelt und zur GC/MS eingespritzt.

Zur HPLC wurde die Lösung stattdessen noch bei – 60 °C mit 2 ml Dinitrophenylhydrazinlösung und 100 mg Triphenylphosphin versetzt, sofort und nach 15 min geschüttelt, mit 3 ml Wasser versetzt und nochmals geschüttelt. Die obere Phase wurde abgenommen und

die untere Phase mit 3 ml Pentan nachgewaschen; die vereinigten oberen Phasen wurden im Stickstoffstrom eingedampft und der Rückstand in 1 ml Acetonitril gelöst.

### **9.8.3    Derivatisierung mit Dimethyldisulfid (DMDS)**

Der Rückstand einer Kieselgelfraktion oder 3 mg Vergleichssubstanz wurde mit 0,2 ml DMDS (Fluka Nr. 40221) und 10 µl Iodlösung (60 mg/ml in Diethylether) versetzt, die Lösung verschlossen 30 min bei 70 °C und 10 min bei Raumtemperatur stehen gelassen und mit 0,2 ml Isooctan/Isopropanol (9 + 1, v/v) und 0,4 ml Natriumthiosulfatlösung (5 g/100 ml) versetzt. Das Gläschen wurde geschüttelt, 5 min mit 3000 U./min zentrifugiert und die obere Phase abgenommen.

### **9.8.4    Acetylierung**

Die Lösung des Rückstandes von Fraktion 2 (Tomaten, Paprika) in 150 µl Pyridin und 150 µl Essigsäureanhydrid (Fluka Nr. 45830) wurde 30 min verschlossen bei 70 °C stehen gelassen, mit 0,5 ml Wasser versetzt und dreimal mit je 0,3 ml Hexan ausgeschüttelt. Die vereinigten oberen Phase wurden im Stickstoffstrom eingedampft; der Rückstand wurde in 1 ml Hexan gelöst.

### **9.8.5    Derivatisierung mit Nicotinsäurechlorid**

Die Lösung des Rückstandes der Kieselgelfraktion 2 (Tomaten) in 0,3 ml Pyridin wurde mit 10 mg Nicotinsäurechlorid-Hydrochlorid (Aldrich Nr. 21,338–1) versetzt und 30 min verschlossen bei 70 °C stehen gelassen.

### **9.8.6    Reduktion mit Natriumborhydrid**

Die Lösung von 3 mg δ-Amyron in 0,2 ml TBME wurde mit 0,1 Natriumborhydridlösung (Merck Nr. 106372, 10 mg/ml in Isopropanol) versetzt, verschlossen 18 h stehen gelassen und mit 30 µl Salzsäure (1 mol/l, Merck Nr. 109057) und 0,3 ml TBME versetzt. Das verschlossene Gläschen wurde geschüttelt, die obere Phase abgenommen und die untere Phase noch zweimal mit je 0,3 ml TBME gewaschen. Die vereinigten TBME-Phasen wurden mit 50 mg Natriumsulfat getrocknet und im schwachen Stickstoffstrom eingedampft.

### **9.8.7    Oxidation mit Pyridiniumchlorchromat**

Die Lösung des Rückstandes der Kieselgelfraktion 2 oder von Docosanol bzw. Tetracosanol in 0,5 ml Dichlormethan wurde mit 5 mg Pyridiniumchlorchromat (Fluka Nr. 82807) versetzt und die Suspension unter Rühren 5 h stehen gelassen. Sie wurde mit 0,2 ml Diethylether versetzt, die überstehende Lösung abdekantiert und der Rückstand noch dreimal mit 0,1 ml Diethylether gewaschen. Die vereinigten Lösungen wurden auf eine kleine Säule mit 100 mg

Kieselgel 60 gegeben, die Säule mit 1 ml Diethylether eluiert und das Eluat im Stickstoffstrom eingedampft.

### **9.8.8 Methylierung**

Die Lösung des Rückstandes der Kieselgelfraktion 2 oder von 1 mg der Hydroxyfettsäuren in 0,1 ml Methanol wurde mit 50 µl Trimethylsilyldiazomethan (Aldrich Nr. 36,283–2) versetzt und im Stickstoffstrom eingedampft.

## **9.9 Dünnschichtchromatographie (DC)**

### **9.9.1 HPTLC**

#### **Geräte**

DC-Auftragegerät Linomat IV (Fa. Camag, Berlin, Nr. 22.7806), Betriebsbedingungen: Druckluft 2 bar; Plattenbreite 100 mm; Startposition 10 mm; Bandenlänge 10 mm; Zwischenraum 10 mm; Auftragegeschwindigkeit 4 s/µl

Probendosierspritze für Linomat IV (Camag Nr. 695.0014)

Flachbodenkammer, 10 x 10 cm, mit Glasdeckel (Camag Nr. 120151), Boden mit Filterpapier zur Kammersättigung bedeckt

Chromatogramm-Tauchvorrichtung III (Camag Nr. 22.6604)

Tauchkammer für Platten bis 20 x 10 cm ohne Deckel

#### **Reagenzien**

HPTLC-Fertigplatten Kieselgel 60 (Merck Nr. 105641), 20 x 10 cm, Schichtdicke 0,2 mm. Sie wurden mit einem Schneidegerät (Fa. Desaga, Berlin, Nr. 121200) auf 10 x 10 cm halbiert und 45 min lang im Trockenschrank auf 120 °C erhitzt

Färbelösung: 50 mg Säureviolett 17 (Aldrich Nr. 21,057–9), 1,5 mg Glycin (Fluka Nr. 50049) und 1,2 mg Natriumchlorid (Riedel Nr. 31434) wurden im Ultraschallbad in 100 ml Wasser gelöst; die Lösung wurde mit 1,5 ml Salzsäure (1 mol/l, Merck Nr. 109057) versetzt

Vergleichslösung: Je 1 mg/ml Tetracosan, Behenylbehenolat, Docosanal (hergestellt nach 9.8.7), 2-Hexadecanon, Docosanol, und Behensäure in 1 ml Chloroform/Methanol, 9 + 1 (v/v)

Entfärbelösung: 50 ml Essigsäure (Fluka Nr. 45740) mit 450 ml Wasser mischen

Fließmittel: Chloroform/Hexan, 1 + 1 (v/v)

#### **Arbeitsweise**

5 mg des Wachsextraktes aus Tomaten (9.4) wurden in 1 ml Chloroform/Methanol 1 + 1 (v/v) gelöst. 30 µl davon und 30 µl der Vergleichslösung wurden auf eine HPTLC-Fertigplatte aufgetragen. Die Platte wurde mit dem Fließmittel entwickelt und 10 min zum Trocknen liegen gelassen. Sie wurde in die Färbelösung getaucht und sofort wieder herausgezogen. Sie blieb dann mit der Schicht nach unten 15 min lang unter Rühren in der Entfärbelösung liegen und wurde 5 min bei Raumtemperatur und 15 min bei 70 °C getrocknet.

## 9.9.2 Silberionen-DC

### Geräte und Reagenzien

Tauchkammer für Dünnschichtplatten 20 x 20 cm

UV-Lampe (Desaga Modell Cab Uvis/131300)

Ethanolische Silbernitratlösung: 75 ml einer Lösung von 20 g Silbernitrat (Roth Nr. 9370.1) in 80 g Wasser mit 75 ml Ethanol mischen

DC-Platte: Alufolie, 20 x 20 cm, beschichtet mit Kieselgel 60 (Merck Nr. 105553): Eine Platte wurde 30 s lang in die ethanolische Silbernitratlösung getaucht; nach dem Abtropfen blieb sie 20 min bei 70 °C und 10 min bei Raumtemperatur im Dunkeln liegen

### Arbeitsweise

0,1 ml der Lösung von fünf Rückständen der Kieselgelfraktion 1 oder der Rückstand der acetylierten Fraktion 2 in 0,3 ml Hexan wurde auf eine DC-Platte aufgetragen und die Platte mit Dichlormethan entwickelt. Sie wurde 10 min im Dunkeln stehen gelassen, mit dem Sprühreagenz (2,7-Dichlorfluorescein, Merck Nr. 109676, 0,1 g/100 ml Ethanol) besprüht und unter einer UV-Lampe (366 nm) betrachtet. An den Flecken im Chromatogramm wurde jeweils das Kieselgel mit einem Spatel abgekratzt, in ein Gläschen überführt, mit 1 ml Hexan versetzt und das verschlossene Gläschen geschüttelt. Die überstehende Lösung wurde abdekantiert und im schwachen Stickstoffstrom auf etwa 0,1 ml eingeeengt.

## 9.10 HPLC

### Geräte

**HPLC-Anlage 1**, bestehend aus Pumpe (Merck Modell L-6200), integriertem Gradientenmischer und Gradientensteuerung, UV-VIS-Detektor (Merck Modell L-4250), Lichtstreuendetektor (Fa. SEDERE, Alfortville/Frankreich, Modell Sedex 55), Lösungsmittelentgaser (Fa. VDS Optilab, Montabaur, Modell Degasys DG 1310) und Thermostatelement (VDS Optilab Modell Jetstream 2)

**HPLC-Anlage 2** (Hewlett-Packard Modell Series 1100), bestehend aus Lösungsmittelentgaser (Nr. G1322A), Pumpe (Nr. G1311A), Autosampler (Nr. G1329A), Thermostatelement (Nr. G1330), Säulenhaltung (Nr. G1316A) und DAD-Detektor (Nr. G1315A)

**HPLC-Anlage 3** (Merck Modell LaChrom), bestehend aus Pumpe (Modell L-7100), Interface (Modell D-7000), UV-VIS-Detektor (Modell L-7420), Dioden-Array-Detektor (Modell L-7450) und Thermostatelement (VDS Optilab Modell Jetstream 2)

**HPLC-Säule 1:** RP-18e, 25 cm lang, 4,6 mm i.D., 5 µm Korngröße (Merck Nr. 1.50169)

**HPLC-Säule 2:** Kationenaustauscher belegt mit Silberionen „Chromspher Lipids“ (Fa. Varian, Darmstadt, Nr. CP28313), 25 cm lang, 4,6 mm i.D., 5 µm Korngröße

**HPLC-Säule 3:** Kationenaustauscher belegt mit Silberionen

Herstellung: Die Pumpe (HPLC-Anlage 1) wurde über die Edelstahlkapillare (Fa. Knauer, Oberursel, Nr. 4207550050, 40 cm lang, 0,5 mm i.D. zur Verbindung von Pumpe und Vorratsgefäß) an den Vorratsbehälter angeschlossen, der durch die Adapter (zum Füllen von NOMET-Säulen, Übergangsstück auf Rohr 0,25“ i.D. (Fa. Müller, Fridolfing, Nr.728315) und von Rohr 0,25“ i.D. auf Gewinde 10 mm, Knauer Nr. 800108) mit dem oberen Ende der Leer-

säule (NO-MET-Leersäule aus PEEK, 25 cm lang, 4,6 mm i.D., Müller Nr. 728305) verbunden war; die Überwurfmutter, die Fritte und der Dichtring wurden dabei vom oberen Säulenende abgenommen. An das untere Ende der Leersäule wurde die Edelstahlkapillare (10 cm lang, 0,5 mm i.D.) mit der mitgelieferten Fritte und den Verschraubungen angeschraubt. In den Vorratsbehälter (Knauer Nr. 80.11) wurden nacheinander 8 ml Lösungsmittelgemisch (Cyclohexanol (Merck Nr. 822328)/Toluol, 5 + 4, v/v) und die Suspension von 2,7 g Kationenaustauscher (Nucleosil 5 SA für HPLC, Korngröße 5 µm, Fa. Macherey-Nagel, Düren, Nr. 712240) in 55 ml Lösungsmittelgemisch gegossen, der Vorratsbehälter wurde verschlossen und die Suspension in die Leersäule gefüllt, indem 500 ml Methanol bei 200 bar durchpumpt wurden. Das Injektionsventil (Fa. Rheodyne, Cotati/USA, Nr. 7125, mit Probenschleife 50 µl aus PEEK-Kapillarrohr, 0,5 mm i.D., 25 cm lang) wurde zwischen Säule und Pumpe eingebaut und alle Edelstahlkapillaren wurden durch solche aus PEEK ersetzt. Auch die Überwurfmutter mit Dichtring und Fritte vom Säulenanfang wurde wieder angeschraubt. Die fertige Säule wurde 1 h lang mit 0,5 ml/min Ammoniumacetatlösung (Merck Nr. 101115, 10 g/l bidest. Wasser) und anschließend 1 h lang mit 1 ml/min bidest. Wasser gespült. Mit dem Injektionsventil wurden mit einer Spritze (mit Glaskolben und Stempel mit PTFE-Dichtung, 100 µl, Fa. Hamilton, Darmstadt, Nr. 81000) 2 ml Silbernitratlösung (1 g/5 ml) in 40 Portionen zu je 50 µl im Abstand von jeweils 30 s auf die Säule gegeben und 1 h lang mit 1 ml/min Methanol nachgewaschen, wobei sich ein Säulenvordruck von etwa 80 bar einstellte. Die letzten 10 ml Eluat mußten nach Zugabe von 1 ml Natriumchloridlösung (0,1 g/100 ml) klar bleiben. Falls noch eine Trübung durch Silberchlorid auftrat, wurde die Säule weiter mit Methanol gewaschen. Sobald das Eluat nach Zugabe von Natriumchloridlösung klar blieb, wurde die Säule nacheinander mit 50 ml Dichlormethan (Fa. Acros, Geel/Belgien, Nr. 26833) und 50 ml n-Hexan (Acros Nr. 26836) gespült.

**HPLC-Säule 4:** Superspher RP–18e (Merck Nr. 1.50193), 25 cm lang, 2 mm i.D., 4 µm Korngröße

**HPLC-Säule 5:** RP–18e (Merck Nr. 1.50858), 25 cm lang, 10 mm i.D., 10 µm Korngröße

#### **Trennung der Dinitrophenylhydrazone:**

HPLC-Anlage 1 (UV-Detektion bei 360 nm), HPLC-Säule 1, Injektion: 20 µl

Eluent 1: 2 min isokratisch Acetonitril/Wasser (7 + 3, v/v), in 15 min auf 100 % Acetonitril, 3 min isokratisch; Flußrate: 1 ml/min

Eluent 2: Von Acetonitril in 15 min auf TBME; Flußrate: 1 ml/min

#### *Vergleichslösungen:*

Aldehydlösung: Jeweils 20 mg der Aldehyde (9.3) in 10 ml Acetonitril lösen. 0,5 ml davon mit 0,5 ml Dinitrophenylhydrazinlösung (9.8.2) versetzen.

Malondialdehydlösung: 5 mg Malondialdehyd-tetrabutylammoniumsalz in 0,5 ml Dinitrophenylhydrazinlösung (9.8.2) und 0,5 ml Acetonitril lösen.

Tetracosanalösung: 1 mg Tetracosanal (9.8.7) in 0,25 ml Dinitrophenylhydrazinlösung (9.8.2) und 0,25 ml Acetonitril lösen.

#### **Trennung der Fettsäureacetate (Fraktion 2 Tomaten):**

HPLC-Anlage 1 (Lichtstreuendetektor bei 35 °C, Spülgas: Stickstoff 2,5 bar), HPLC-Säule 3, Injektion: 20 µl

Eluent: Von Dichlormethan in 20 min auf 5 % Acetonitril in Dichlormethan; Flußrate: 1 ml/min

**Trennung der Triterpenole:**

HPLC-Anlage 2 (UV-Detektion bei 202 nm), HPLC-Säule 1 (bei 40 °C), Injektion: 20 µl

Eluent: Acetonitril/Wasser (95 + 5, v/v); Flußrate: 1,0 ml/min

**Trennung der Triterpenolacetate:**

HPLC-Anlage 1 (UV-Detektion bei 202 nm), HPLC-Säule 2 (bei 40 °C), Injektion: 20 µl

Eluent 1: 0,08 % Acetonitril in Hexan; Flußrate: 1,0 ml/min

Eluent 2: 0,02 % Acetonitril in Hexan; Flußrate: 1,0 ml/min

**Trennung der Fraktion 3 (Tomaten):**

HPLC-Anlage 3 (DAD und UV-Detektion bei 285 nm und 365 nm), HPLC-Säule 4, Injektion: 2 µl

Eluent: Von Ameisensäure (1 g/100 ml)/Methanol, 60 + 40 (v/v) in 40 min auf Ameisensäure (1 g/100 ml)/Methanol, 35 + 65 (v/v), dann in 10 min auf Ameisensäure (1 g/100 ml)/Methanol, 20 + 80 (v/v); Flußrate: 0,2 ml/min

HPLC-Anlage 3 (UV-Detektion bei 285 nm), HPLC-Säule 5, Injektionsvolumen: 300 µl

Eluent: Ameisensäure (1 g/100 ml)/Methanol, 6 + 4 (v/v); Flußrate: 4,0 ml/min

**10 Literaturverzeichnis**

- [1] P. E. Kolattukudy: Introduction to natural waxes, in: P. E. Kolattukudy (Hrsg.): Chemistry and biochemistry of natural waxes. Elsevier, Amsterdam 1976, S. 1 – 15
- [2] E. A. Baker: Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes, in: D. F. Cutler, K. L. Alvin und C. E. Price (Hrsg.): The plant cuticle. Academic Press, London 1982, S. 139 – 166
- [3] P. E. Kolattukudy: *Lipids* **5** (1970), 259 – 275
- [4] R. J. Hamilton: Commercial waxes: Their composition and applications, in: R. J. Hamilton (Hrsg.): Waxes, chemistry, molecular biology and functions. The Oily Press, Dundee 1995, S. 257 – 310
- [5] R. Büll und G. v. Rosenberg: Firmenschrift: Vom Wachs, Hoechst Beiträge zur Kenntnis der Wachse, Band 1, Beitrag 5, 1961
- [6] L. E. Vandenburg und E. A. Wilder: *J. Am. Oil Chem. Soc.* **37** (1979), 514 – 521
- [7] G. Bianchi: Plant waxes, in: R. J. Hamilton (Hrsg.): Waxes, chemistry, molecular biology and functions. The Oily Press, Dundee 1995, S. 175 – 222
- [8] A. P. Tulloch: Chemistry of waxes of higher plants, in: P. E. Kolattukudy (Hrsg.): Chemistry and biochemistry of natural waxes. Elsevier, Amsterdam 1976, S. 235 – 287
- [9] T. Kaneda: *Biochemistry* **6** (1967), 2023 – 2032
- [10] T. J. Walton: Waxes, cutin and suberin. In: P. M. Dey und J. B. Harborne (Hrsg.): Methods in plant biochemistry, Vol. 4. Academic Press, London 1990, S. 106 – 158
- [11] K. Stransky, M. Streibl und V. Kubelka: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **35** (1970), 882 – 891
- [12] V. Wollrab, M. Streibl und F. Sorm: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **28** (1963), 1904 – 1913
- [13] V. Wollrab: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **32** (1967), 1304 – 1308
- [14] B. Stoianova-Ivanova, K. Mladenova und I. Malova: *Phytochemistry* **10** (1971), 2525 – 2528
- [15] P. E. Kolattukudy: Cutin, suberin and waxes, in: P. K. Stumpf (Hrsg.): The biochemistry of plants, Vol. 4. Academic Press, London 1980, S. 571 – 645
- [16] J. F. Allebone und R. J. Hamilton: *J. Sci. Food Agric.* **23** (1972), 777 – 786
- [17] E. A. Baker und P. J. Holloway: *Phytochemistry* **14** (1975), 2463 – 2467
- [18] A. G. Netting, M. J. K. Macey und H. N. Barker: *Phytochemistry* **11** (1972), 579 – 585
- [19] P. J. Holloway, C. E. Jeffree und E. A. Baker: *Phytochemistry* **15** (1976), 1768 – 1770
- [20] A. P. Tulloch und L. L. Hoffman: *Phytochemistry* **12** (1973), 2217 – 2223
- [21] D. Evans, B. A. Knights, V. B. Math und A. L. Ritchie: *Phytochemistry* **14** (1975), 2447 – 2451
- [22] A. P. Tulloch und L. L. Hoffman: *Phytochemistry* **13** (1974), 2535 – 2540

- [23] D. Takaoka, K. Umeda und M. Hiroi: *Phytochemistry* **16** (1977), 1042 – 1043
- [24] R. Jetter und M. Riederer: *Can. J. Bot.* **74** (1996), 419 – 430
- [25] T. Shepherd, G. W. Robertson, D. W. Griffiths und A. N. E. Birch: *Phytochemistry* **46** (1997), 83 – 96
- [26] H. Hemmers, P.-G. Gülz und F.-J. Marner: *Z. Naturforsch.* **43c** (1988), 799 – 805
- [27] P.-G. Gülz, H. Hemmers, J. Bodden und F.-J. Marner: *Z. Naturforsch.* **42c** (1987), 191 – 196
- [28] A. M. Silva-Fernandes, E. A. Baker und J. T. Martin: *Ann. Appl. Biol.* **53** (1964), 43 – 58
- [29] F. Radler und D. H. S. Horn: *Aust. J. Chem.* **18** (1965), 1059 – 1069
- [30] G. Bianchi, C. Murelli und G. Vlahov: *Phytochemistry* **31** (1992), 3503 – 3506
- [31] S. Hennig und P.-G. Gülz: *Z. Naturforsch.* **43c** (1988), 806 – 812
- [32] R. B. N. Prasad und P.-G. Gülz: *Phytochemistry* **29** (1990), 2097 – 2099
- [33] P.-G. Gülz, E. Müller und R. B. N. Prasad: *Phytochemistry* **30** (1991), 769 – 773
- [34] P.-G. Gülz, R. B. N. Prasad und E. Müller: *Z. Naturforsch.* **46c** (1991), 743 – 749
- [35] R. B. N. Prasad und P.-G. Gülz: *Z. Naturforsch.* **45c** (1990), 805 – 812
- [36] R. E. Wilkinson und M. J. Kasperbauer: *Phytochemistry* **11** (1972), 2439 – 2442
- [37] B. Freeman, L. Albrigo und R. H. Biggs: *J. Am Soc. Hort. Sci.* **104** (1979), 801 – 808
- [38] R. E. Wilkinson und M. J. Kasperbauer: *Phytochemistry* **19** (1980), 1379 – 1383
- [39] R. E. McDonald, H. E. Nordby und T. G. McCollum: *Hort. Sci.* **28** (1987), 311–312
- [40] J. R. C. Leavitt, D. N. Duncan, D. Penner und W. F. Meggitt: *Plant Physiol.* **61** (1978), 1034 – 1036
- [41] E. A. Baker: *New Phytol.* **73** (1974), 955 – 966
- [42] K. Haas: *Biochem. Physiol. Pflanz.* **171** (1977), 25 – 31
- [43] P.-G. Gülz: *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* **99** (1986), 89 – 97
- [44] A. P. Tulloch: *Phytochemistry* **22** (1983), 1605 – 1613
- [45] I. Salasoo: *Phytochemistry* **22** (1983), 461 – 463
- [46] M. J. K. Macey und H. N. Barber: *Phytochemistry* **9** (1970), 13 – 23
- [47] R.-M. M. Spence, O. G. Tucknott, E. A. Baker und P. J. Holloway: *Phytochemistry* **22** (1983), 1753 – 1756
- [48] E. A. Baker und G. M. Hunt: *Phytochemistry* **18** (1979), 1059 – 1060
- [49] C. M. C. Martens, S. M. M. Mesquita und W. L. C. Vaz: *Phytochem. Anal.* **10** (1999), 1 – 5
- [50] S. Misra und A. Gosh: Analysis of epicuticular waxes, in: H. F. Linskens und J. F. Jackson (Hrsg.): *Essential oils and waxes*. Springer, Berlin 1991, S. 205 – 229



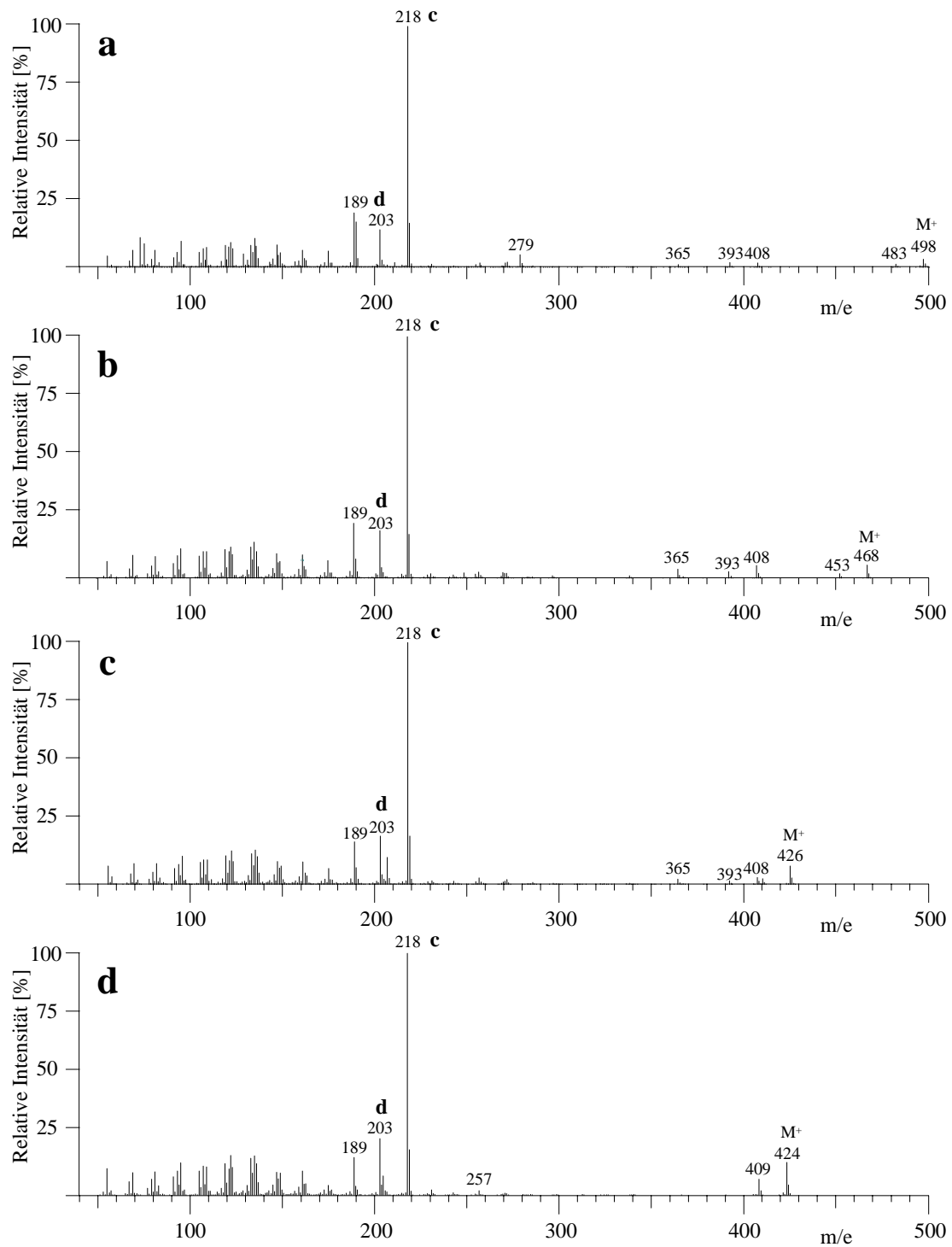
- [51] K. Tetsuo, S. Masaaki, K. Masuda und Y. Ebizuka: *Tetrahedron Lett.* **41** (2000), 7705 – 7710
- [52] P. J. Holloway und E. A. Baker: *Ann. Appl. Biol.* **66** (1970), 145 – 154
- [53] R. F. Norris: *Amer. J. Bot.* **61** (1974), 74 – 79
- [54] S. Santier und A. Chamel: *Plant Physiol. Biochem.* **36** (1998), 225 – 231
- [55] C. H. Brieskorn und H. Reinartz: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **133** (1967), 137 – 139
- [56] K. Haas: Untersuchungen zum chemischen Aufbau der Cuticula während der Organogenese von Blättern und Früchten sowie zur Cuticulartranspiration. Dissertation, Universität Hohenheim, 1974
- [57] E. A. Baker, M. J. Bukovac und G. M. Hunt: In: D. F. Cutler, K. L. Alvin und C. E. Price (Hrsg.): *The plant cuticle*. Academic Press, London 1982, S. 33 – 44
- [58] M. P. Velcheva und C. Donchev: *Phytochemistry* **45** (1997), 637 – 639
- [59] H. Tamura, M. Knoche, Y. Hayashi und M. J. Bukovac: *J. Pesticide Sci.* **26** (2001), 16 – 20
- [60] Auskunft der Zentralen Markt- und Preisberichtsstelle (ZMP), Bonn
- [61] R. Naß, C. Markstädter, V. Hauke und M. Riederer: *Phytochem. Anal.* **9** (1998), 112 – 118
- [62] J. Seibl: *Massenspektrometrie*. Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt 1970, S. 101 – 104
- [63] H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams: *Mass spectrometry of organic compounds*. Holden-Day, San Francisco 1967, S. 49 – 93
- [64] J. T. Bursey, M. M. Bursey und D. G. I. Kingston: *Chem. Rev.* **73** (1973), 196 – 198
- [65] M. Bambagiotti, S. A. Coran, V. Giannellini, F. F. Vincieri, S. Daolio und P. Traldi: *Org. Mass Spectrom.* **18** (1983), 133 – 134
- [66] A. Brauner, H. Budzikiewicz und W. Boland: *Org. Mass Spectrom.* **17** (1982), 161 – 164
- [67] R. Chai und A. G. Harrison: *Anal. Chem.* **53** (1981), 34 – 37
- [68] V. Dommes, F. Wirtz-Peitz und W.-H. Kunau: *J. Chromatogr. Sci.* **14** (1976), 360 – 366
- [69] W. G. Niehaus und R. Ryhage: *Anal. Chem.* **40** (1968), 1840 – 1847
- [70] B. Zaidman, A. Kisilev, Y. Sasson und N. Garti: *J. Am. Oil Chem. Soc.* **65** (1988), 611 – 615
- [71] G. Mallet, C. Dimitriadis und E. Ucciani: *Rev. Fr. Corps Gras* **32** (1985), 439 – 446
- [72] H.-P. Thier: *Chemiker-Ztg.* **89** (1965), 767 – 769
- [73] D. E. Minnikin: *Chem. Phys. Lipids* **21** (1978), 313 – 347
- [74] J. A. McCloskey und M. J. McClelland: *J. Am. Chem. Soc.* **87** (1965), 5090 – 5093
- [75] R. E. Wolff, G. Wolff und J. A. McCloskey: *Tetrahedron* **22** (1966), 3093 – 3101
- [76] E. G. Perkins und C. J. Argoudelis: *Lipids* **4** (1969), 619 – 621

- [77] D. A. Kidwell und K. Biemann: *Anal. Chem.* **54** (1982), 2462 – 2465
- [78] B. D. Bhatt, S. Ali und J. V. Prasad: *J. Chromatogr. Sci.* **31** (1993), 113 – 119
- [79] G. W. Francis und K. Veland: *J. Chromatogr.* **219** (1981), 379 – 384
- [80] K. Yamamoto, A. Shibahara, T. Nakayama und G. Kajimoto: *Chem. Phys. Lipids* **60** (1991), 39 – 50
- [81] W. Thies: *Fat Sci. Technol.* **95** (1993), 20 – 23
- [82] H.-R. Buser, H. Arn, P. Guerin und S. Rauscher: *Anal. Chem.* **55** (1983), 818 – 822
- [83] M. Vincenti, G. Guglielmetti, G. Cassani und C. Tonini: *Anal. Chem.* **59** (1987), 694 – 699
- [84] D. A. Carlson, C.-S. Roan, R. A. Yost und J. Hector: *Anal. Chem.* **61** (1989), 1564 – 1571
- [85] L. Gattermann und H. Wieland: *Die Praxis des organischen Chemikers*. De Gruyter, Berlin 1962, S. 335 – 336
- [86] O. S. Privett und C. J. Nickell: *J. Am. Oil Chem. Soc.* **39** (1962), 414 – 419
- [87] R. G. Kadesch: Ozonolysis of fatty acids and their derivatives, in: R. T. Holman und W. O. Lundberg (Hrsg.): *Progress in the chemistry of fats and other lipids*, Vol. 6. Macmillan, New York 1963, S. 291 – 299
- [88] W. W. Christie: *Lipid analysis*. Pergamon Press, Oxford 1973, S. 138 – 139
- [89] K. Ott und D. Meusel: *Nahrung* **34** (1990), 93 – 94
- [90] M. Beroza und B. A. Bierl: *Anal. Chem.* **39** (1967), 1131 – 1135
- [91] J. Falbe und M. Regnitz (Hrsg.): *Römpp's Chemie Lexikon*. Thieme, Stuttgart 1991, Band 4, S. 3187 – 3189
- [92] M. Mittelbach: Ozonides and ozonolysis of lipids, in: K. D. Mukherjee und N. Weber (Hrsg.): *CRC Handbook of chromatography, analysis of lipids*. CRC Press, Boca Raton, 1993, S. 163 – 172
- [93] O. W. Thiele: *Lipide, Isoprenoide und Steroide*. Thieme, Stuttgart 1979, S. 44
- [94] Autorenkollektiv: *Organikum*. Johann Ambrosius Barth, Leipzig 1993, S. 276
- [95] J. L. Sebedio und R. G. Ackman: *Can. J. Chem.* **56** (1978), 2480 – 2485
- [96] Lit. [62], S. 142 – 144
- [97] Lit. [63], S. 129 – 138
- [98] E. J. Corey und J. W. Suggs: *Tetrahedron Lett.* **31** (1975), 2647 – 2650
- [99] S. Agarwal, H. P. Tiwari und J. P. Sharma: *Tetrahedron* **46** (1990), 4417 – 4420
- [100] G. Piancatelli, A. Scettri und M. D'Auria: *Synthesis* 1982, 245 – 258
- [101] M. Hesse, H. Meier und B. Zeeh: *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*. Thieme, Stuttgart 2002, S. 47
- [102] D. Gegiou und K. Staphylakis: *J. Am. Oil Chem. Soc.* **62** (1985), 1047 – 1051
- [103] Lit. [63], S. 471 – 478

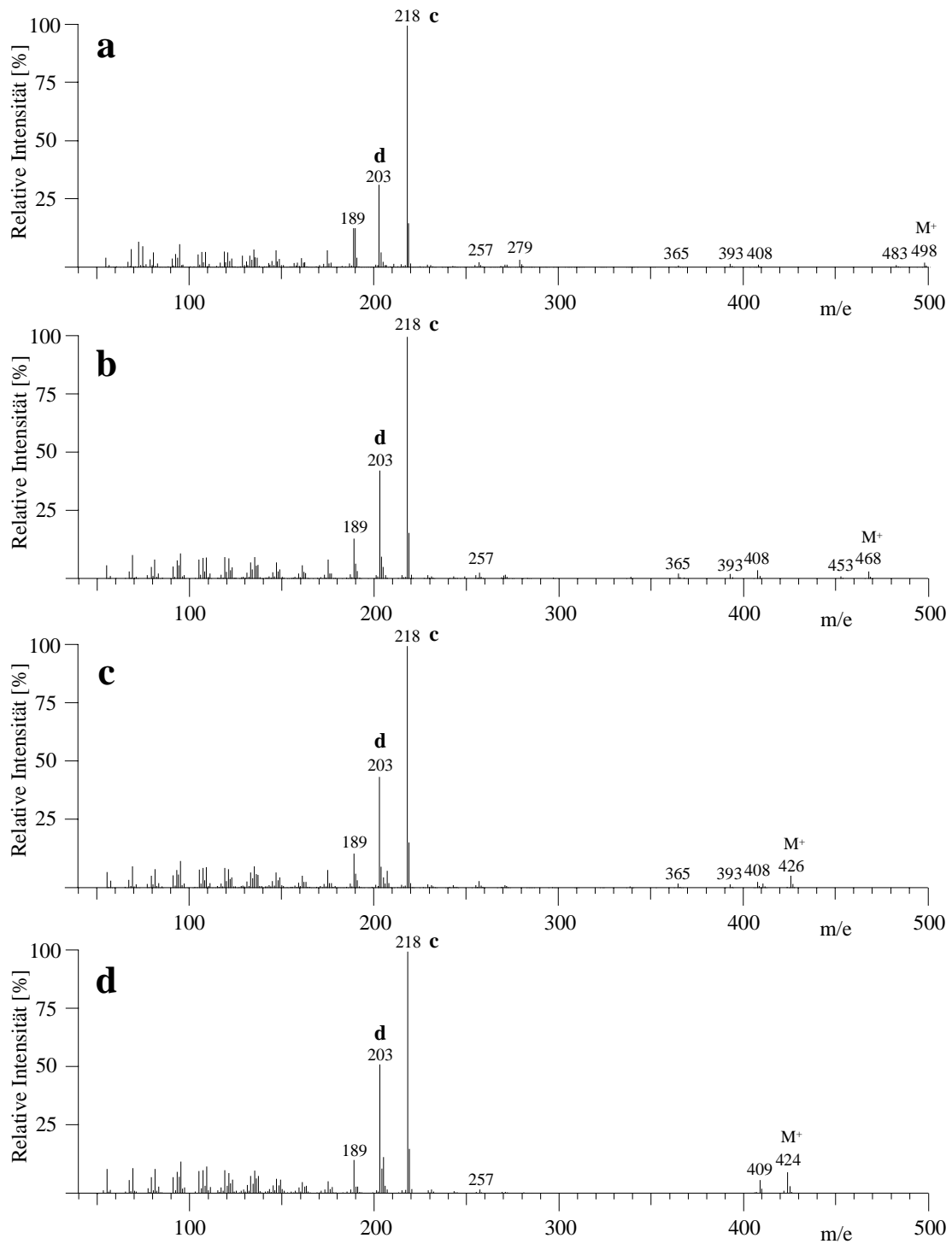
- [104] R. C. Murphy: Mass spectrometry of lipids, in: F. Snyder (Hrsg.): Handbook of lipid research, Vol. 7, Plenum Press, New York 1993, S. 82 – 83
- [105] W. Vetter und W. Meister: Org. Mass Spectrom. **16** (1981), 118 – 122
- [106] D. J. Harvey: Biomed. Environ. Mass Spectrom. **18** (1989), 719 – 723
- [107] D. J. Harvey: Biomed. Mass Spectrom. **11** (1984), 340 – 347
- [108] N. W. H. Houx und S. Voerman: J. Chromatogr. **129** (1976), 456 – 459
- [109] R. Battaglia und D. Fröhlich: Chromatographia **13** (1980), 428 – 431
- [110] E. C. Smith, A. D. Jones und E. W. Hammond: J. Chromatogr. **188** (1980), 205 – 212
- [111] G. Dobson, W. W. Christie und B. Nikolova-Damyanova: J. Chromatogr. B **671** (1995), 197 – 222
- [112] W. W. Christie: J. Chromatogr. **454** (1988), 273 – 284
- [113] L. Brühl: Charakterisierung maßgeblicher Triglyceride in Muttermilch und in Rohstoffen für Säuglingsnahrung. Dissertation, Universität Münster, 1994
- [114] H. Budzikiewicz, J. M. Wilson und C. Djerassi: J. Am. Chem. Soc. **85** (1963), 3688 – 3699
- [115] H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams: Structure elucidation of natural products by mass spectrometry – Volume II: Steroids, terpenoids, sugars and miscellaneous classes. Holden-Day, San Francisco 1964, S. 121 – 140
- [116] C. Djerassi, H. Budzikiewicz und J. M. Wilson: Tetrahedron Lett. **7** (1962), 263 – 270
- [117] K. Shiojima, Y. Arai, K. Masuda, Y. Takase, T. Ageta und H. Ageta: Chem. Pharm. Bull. **40** (1992), 1683 – 1690
- [118] L. Ogunkoya: Phytochemistry **20** (1981), 121 – 126
- [119] Lit. [63], S. 475 – 477
- [120] R. C. Heupel: Phytochemistry **24** (1985), 2929 – 2937
- [121] W. J. Baas, I. E. M. van Berkel, C. Versluis, W. Heerma und M. N. Kreyenbroek: Phytochemistry **31** (1992), 2073 – 2078
- [122] A. He, M. Wang, H. Hao, D. Zhang und K.-H. Lee: Phytochemistry **49** (1998), 2607 – 2610
- [123] E. Wollenweber: Z. Naturforsch. **29c** (1974), 362 – 363
- [124] G. D. Manners und D. G. Davis: Phytochemistry **23** (1984), 1059 – 1062
- [125] Lit. [94], S. 510 – 514
- [126] T. Itoh, H. Tani, K. Fukushima, T. Tamura und T. Matsumoto: J. Chromatogr. **234** (1982), 65 – 76
- [127] L. F. Fieser und M. Fieser: Steroide. Verlag Chemie, Weinheim 1961, S. 295 – 299
- [128] R. B. N. Prasad, E. A. Müller und P.-G. Gülz: Phytochemistry **29** (1990), 2101 – 2103

- [129] J. F. Stevens, H. Hart, A. Bolck, J. H. Zwaving und T. M. Malingré: *Phytochemistry* **35** (1994), 389 – 399
- [130] M. A. Palmer und B. N. Bowden: *Phytochemistry* **16** (1977), 459 – 463
- [131] T. Akihisa, Y. Inada, P. Gosh et al.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* **65** (1988), 607 – 610
- [132] I. C. Parsons, A. I. Gray und P. G. Waterman: *J. Nat. Prod.* **56** (1993), 46 – 53
- [133] A. P. Tulloch und L. L. Hoffman: *Phytochemistry* **21** (1982), 1639 – 1642
- [134] S. N. Hooper, R. F. Chandler, E. Lewis und W. D. Jamieson: *Lipids* **17** (1982), 60 – 63
- [135] R. V. Madrigal, R. D. Plattner und C. R. Smith: *Lipids* **10** (1975), 208 – 213
- [136] R. F. Chandler, S. N. Hooper, D. L. Hooper, W. D. Jamieson und E. Lewis: *Lipids* **17** (1982), 102 – 106
- [137] H. Hemmers, P.-G. Gülz, F.-J. Marner und V. Wray: *Z. Naturforsch.* **44c** (1989), 193 – 201
- [138] H. Hemmers, P.-G. Gülz und F.-J. Marner: *Z. Naturforsch.* **44c** (1989), 563 – 567
- [139] S. Burrows und J. C. E. Simpson: *J. Chem. Soc.* 1938, 2042 – 2047
- [140] A. P. Tulloch: *Phytochemistry* **21** (1982), 2251 – 2255
- [141] M. D. Garcia, M. T. Saenz, M. C. Ahumada und A. Cert: *J. Chromatogr. A* **767** (1997), 340 – 342
- [142] R. T. Aplin und G. M. Hornby: *J. Chem. Soc.* 1966, 1078 – 1079
- [143] Z. Xu und J. S. Godber: *J. Agric. Food Chem.* **47** (1999), 2724 – 2728
- [144] Fa. Varian, Darmstadt: *Chromatography and spectroscopy supplies* (2001 – 2002), S. 230
- [145] E. Wollenweber, R. Wehde, M. Dörr, G. Lang und J. F. Stevens: *Phytochemistry* **55** (2000), 965 – 970
- [146] C. S. Creaser, M. R. Koupai-Abyazani und G. R. Stephenson: *J. Chromatogr.* **586** (1991), 323 – 328
- [147] G. H. Hunt und E. A. Baker: *Phytochemistry* **19** (1979), 1415 – 1419
- [148] M. Krause und R. Galensa: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **194** (1992), 29 – 32
- [149] J. N. M. Mol, M. P. Robbins, R. A. Dixon und E. Veltkamp: *Phytochemistry* **24** (1985), 2267 – 2269
- [150] Lit. [101], S. 113
- [151] D. H. Williams und I. Fleming: *Spektroskopische Methoden zur Strukturaufklärung*. Thieme, Stuttgart 1979, S. 109
- [152] Lit. [62], S. 180 – 181
- [153] D. J. Harvey und J. M. Tiffany: *Biomed. Mass Spectrom.* **11** (1984), 353 – 359
- [154] C. H. Brieskorn und L. Kabelitz: *Phytochemistry* **10** (1971), 3195 – 3204
- [155] A. P. Tulloch: *Lipids* **20** (1985), 652 – 663
- [156] G. Dobson und W. W. Christie: *Eur. J. Lipid Sci. Techn.* **104** (2002), 36 – 43

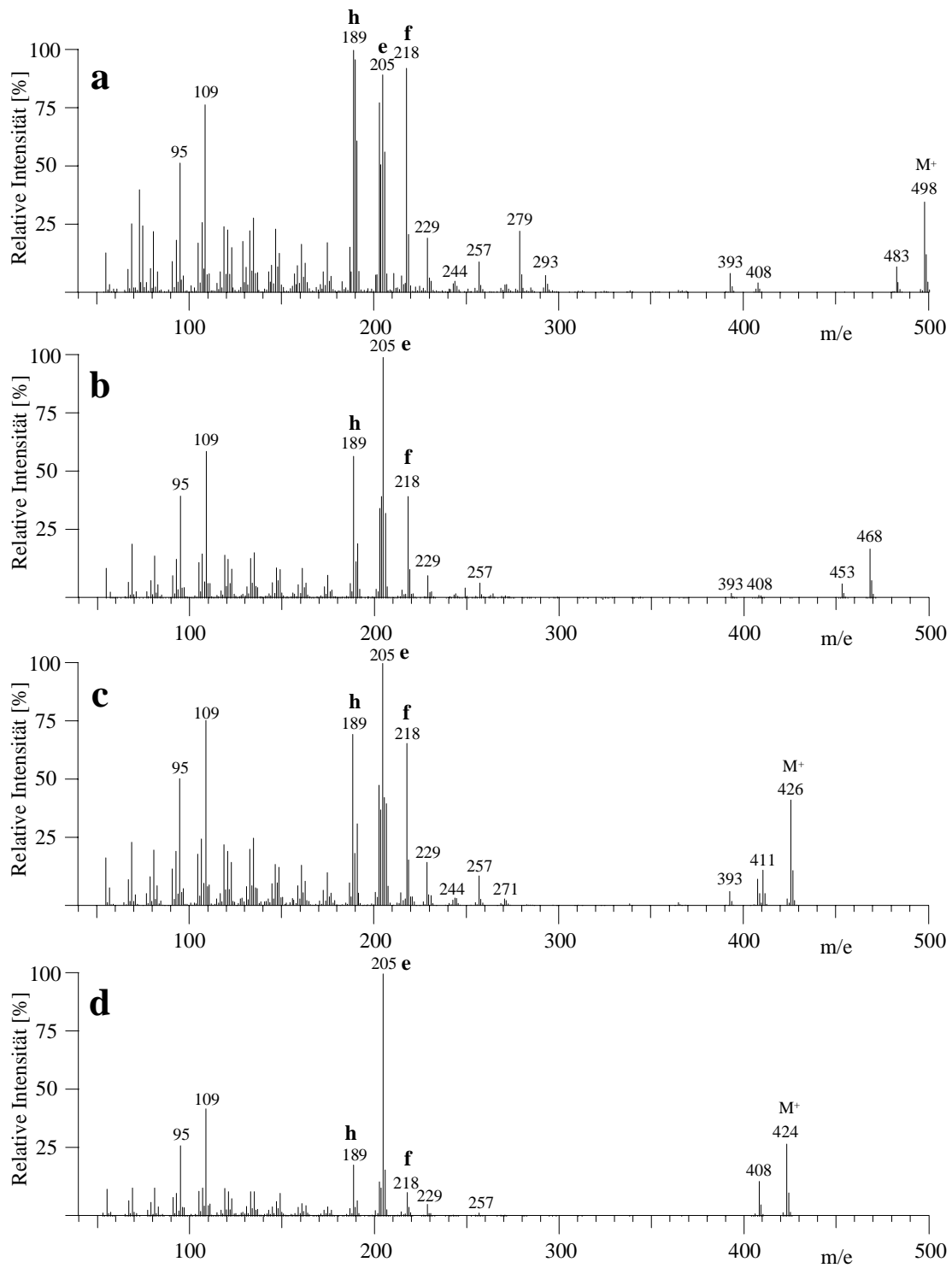
- 
- [157] P. Capella, C. Galli und R. Fumagalli: *Lipids* **3** (1968), 431 – 438
- [158] N. Nicolaides, V. G. Soukup und E. C. Ruth: *Biomed. Mass Spectrom.* **10** (1983), 441 – 449
- [159] R. A. Laine, N. D. Young, J. N. Gerber und C. C. Sweeley: *Biomed. Mass Spectrom.* **1** (1974), 10 – 14
- [160] K. O. Esuoso, H. Lutz, E. Bayer und M. Kutubuddin: *J. Agric. Food Chem.* **48** (2000), 231 – 234
- [161] P.-G. Gülz, R. W. Scora, E. Müller und F.-J. Marner: *J. Agric. Food Chem.* **35** (1987), 716 – 720
- [162] H. E. Nordby und R. E. McDonald: *J. Agric. Food Chem.* **42** (1994), 708 – 713
- [163] P. Campos, J. H. Y. Vilegas und F. M. Lancas: *J. Radioanal. Nuclear Chem.* **224** (1997), 99 – 102
- [164] J. Corsino, P. R. F. de Carvalho, M. J. Kato et al.: *Phytochemistry* **55** (2000), 741 – 748

**11 Anhang**

**Abbildung A:** Massenspektren von  $\alpha$ -Amyrin (Peak 24 in Abb. 23) **a** silyliert, **b** acetyliert, **c** unsilyliert, **d** oxidiert

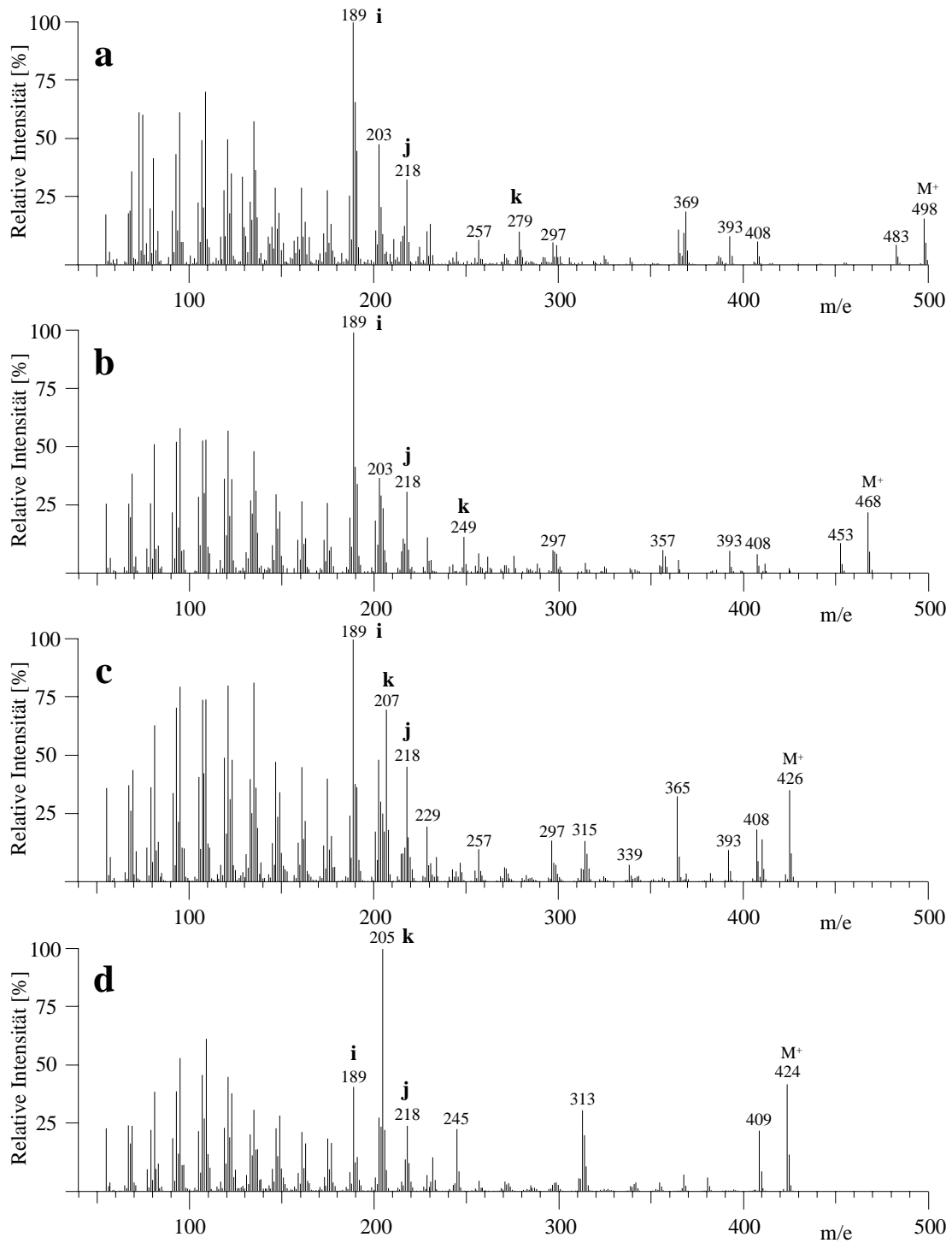


**Abbildung B:** Massenspektren von  $\beta$ -Amyrin (Peak 21 in Abb. 23) **a** silyliert, **b** acetyliert, **c** unsilyliert, **d** oxidiert

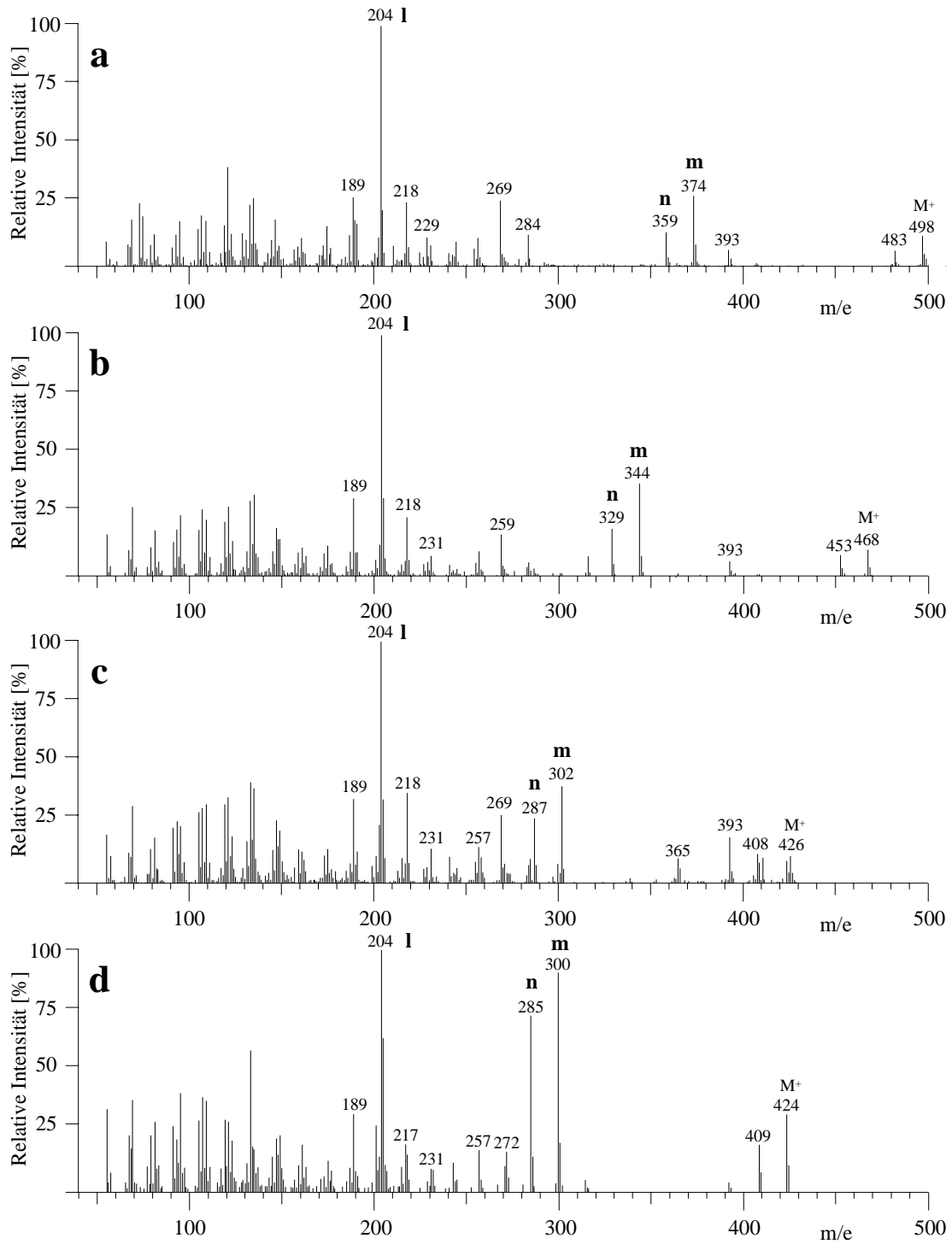


**Abbildung C:** Massenspektren von  $\delta$ -Amyrin (Peak 20 in Abb. 23) **a** silyliert, **b** acetyliert, **c** unsilyliert, **d** oxidiert

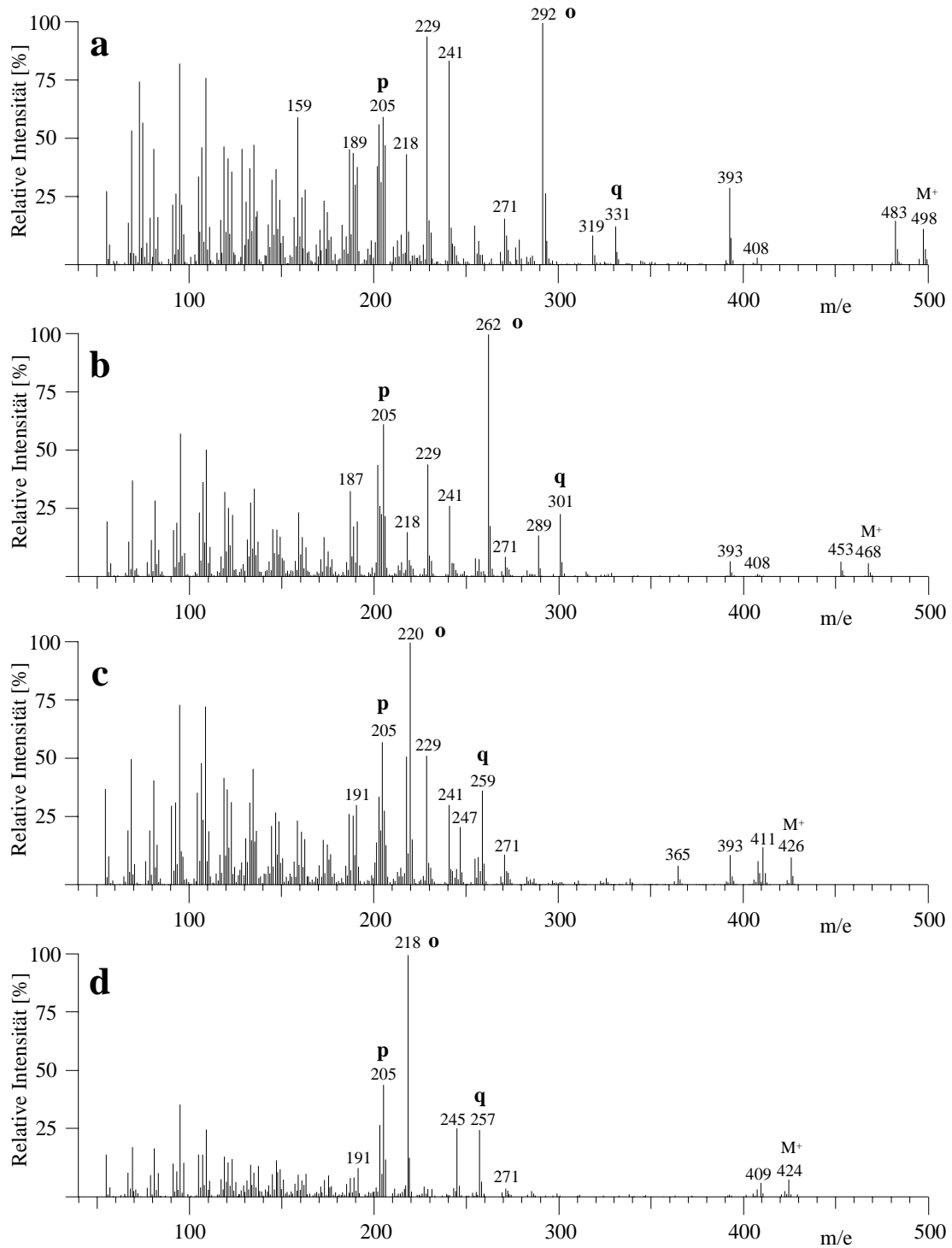




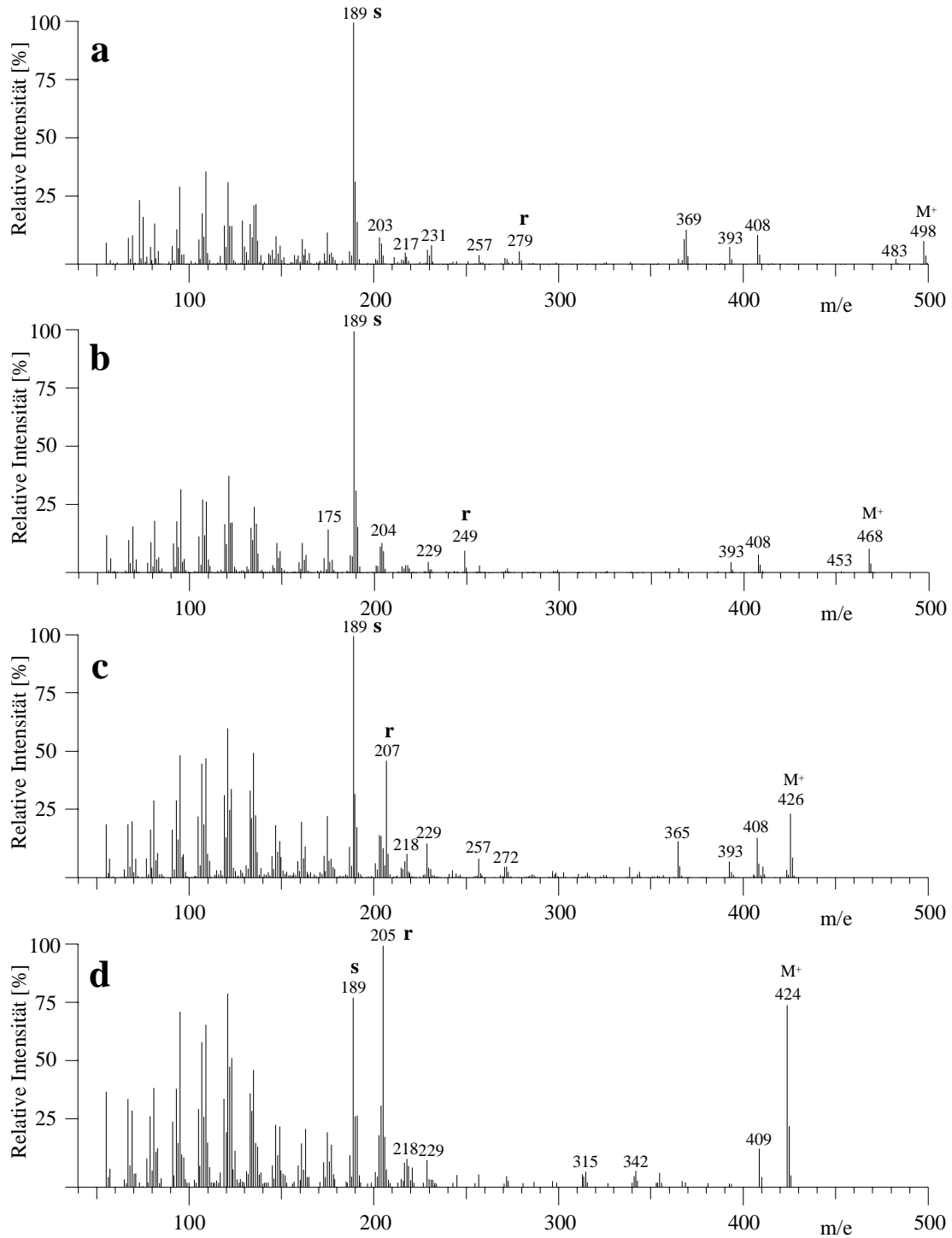
**Abbildung D:** Massenspektren von Lupeol (Peak 25 in Abb. 23) **a** silyliert, **b** acetyliert, **c** unsilyliert, **d** oxidiert



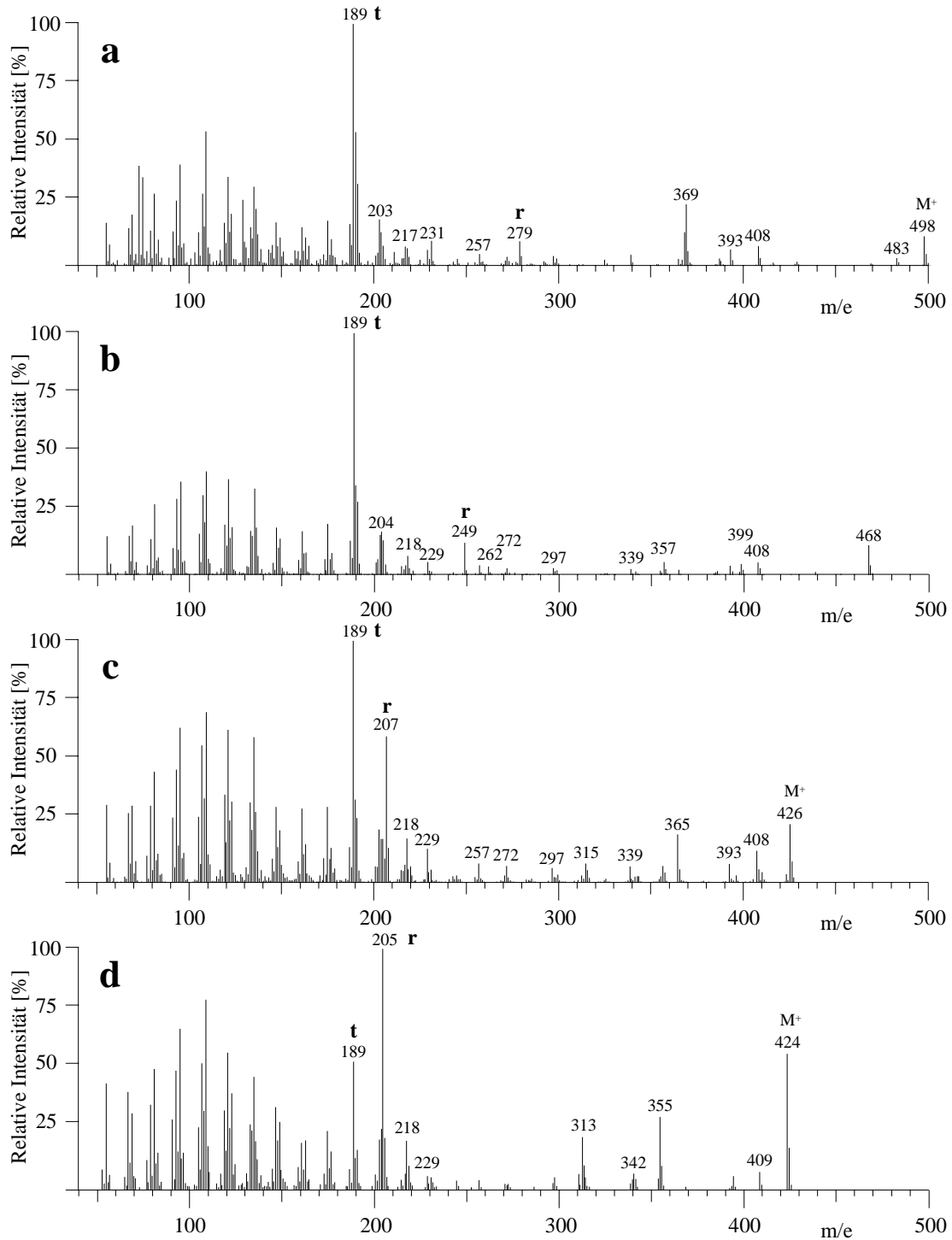
**Abbildung E:** Massenspektren von Taraxerol (Peak 19 in Abb. 23) **a** silyliert, **b** acetyliert, **c** unsilyliert, **d** oxidiert



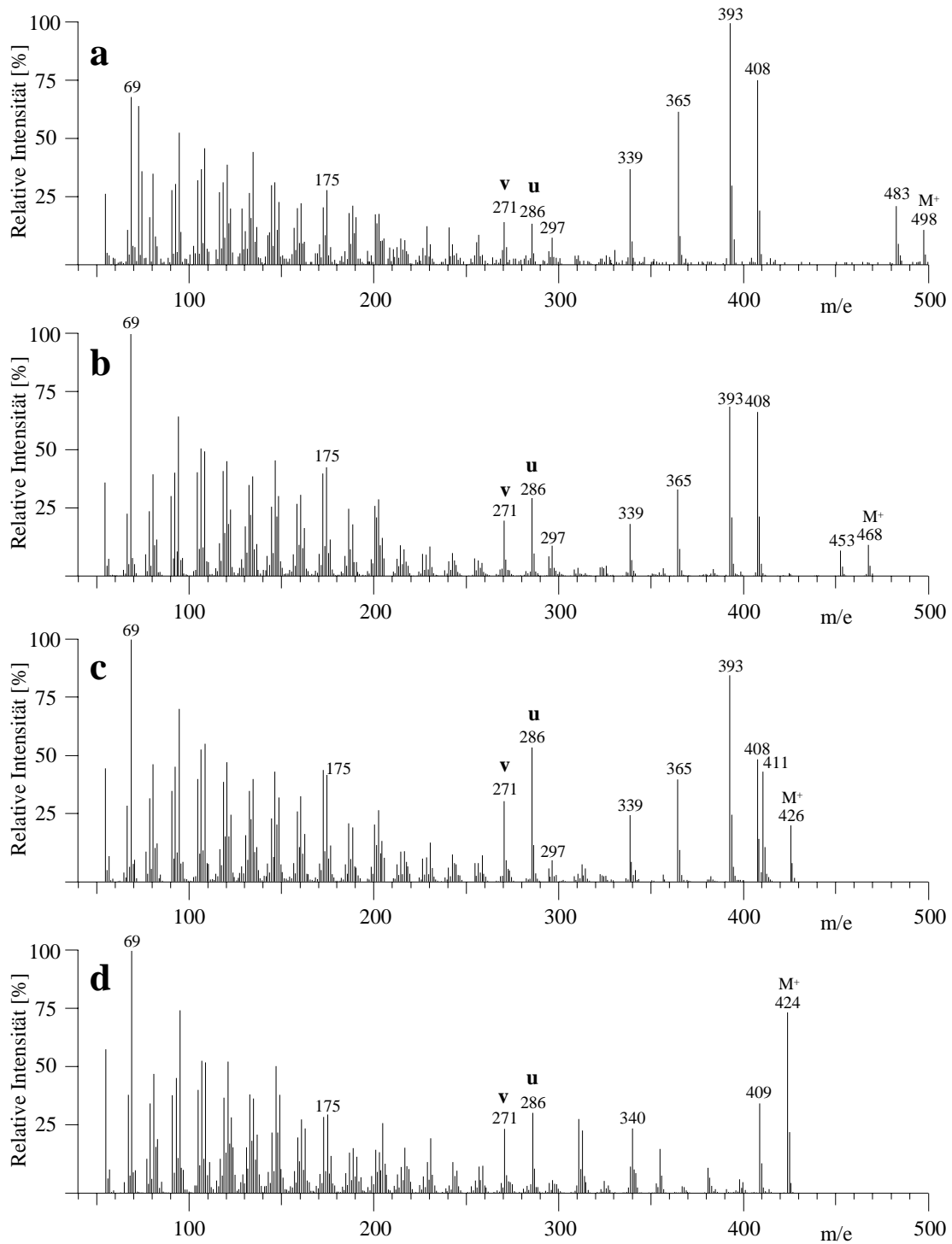
**Abbildung F:** Massenspektren von Multiflorenol (Peak 27 in Abb. 23) **a** silyliert, **b** acetyliert, **c** unsilyliert, **d** oxidiert



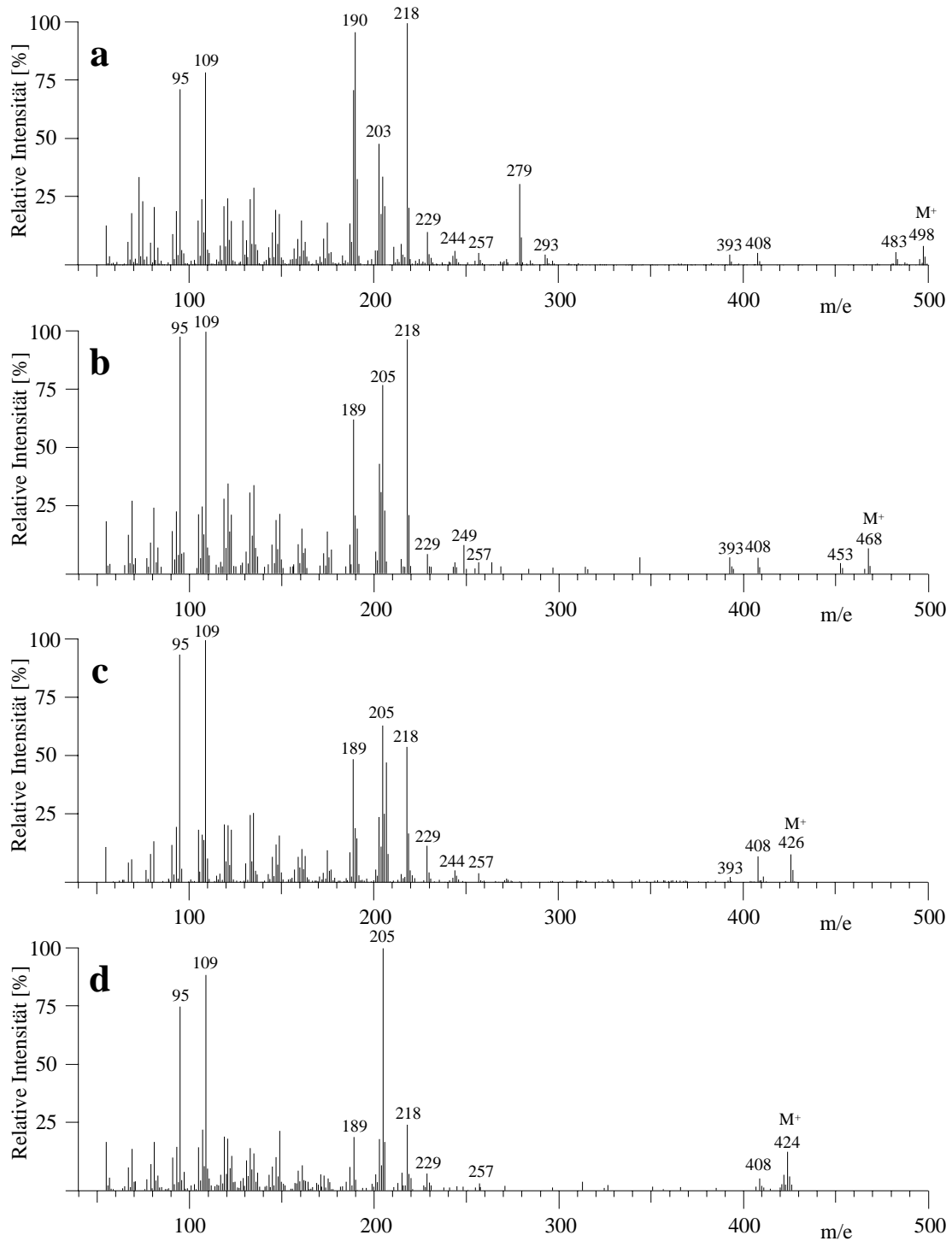
**Abbildung G:** Massenspektren von  $\psi$ -Taraxasterol (Peak 28 in Abb. 23) **a** silyliert, **b** acetyliert, **c** unsilyliert, **d** oxidiert



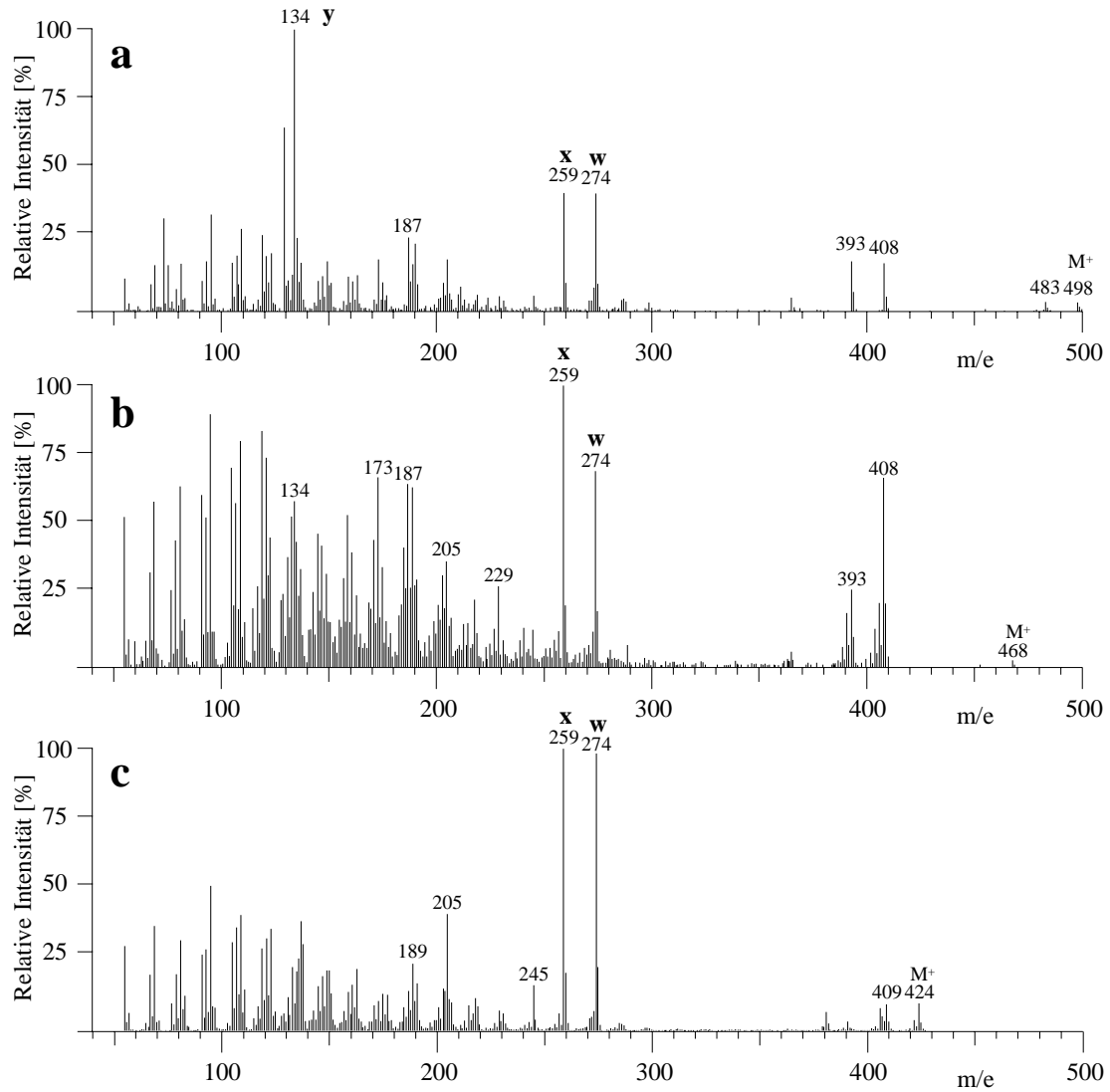
**Abbildung H:** Massenspektren von Taraxasterol (Peak 29 in Abb. 23) **a** silyliert, **b** acetyliert, **c** unsilyliert, **d** oxidiert



**Abbildung I:** Massenspektren von Cycloartenol (Peak 26 in Abb. 23) **a** silyliert, **b** acetyliert, **c** unsilyliert, **d** oxidiert

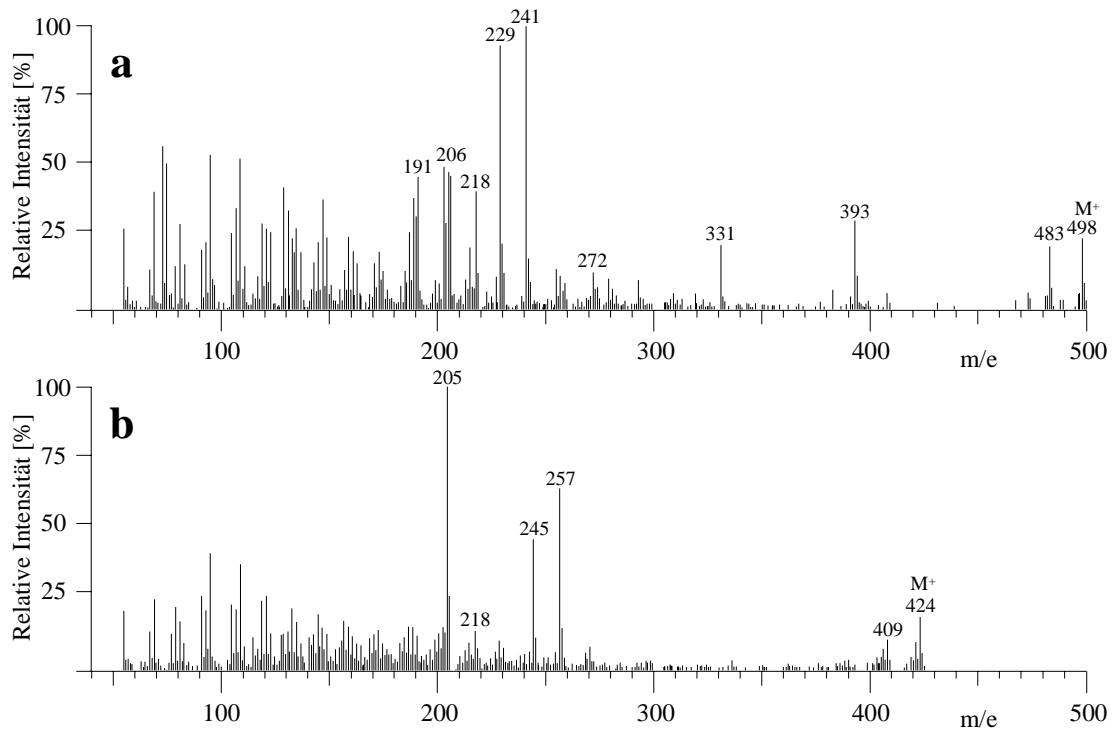


**Abbildung J:** Massenspektren von Peak 23 in Abb. 23 **a** silyliert, **b** acetyliert, **c** unsilyliert, **d** oxidiert

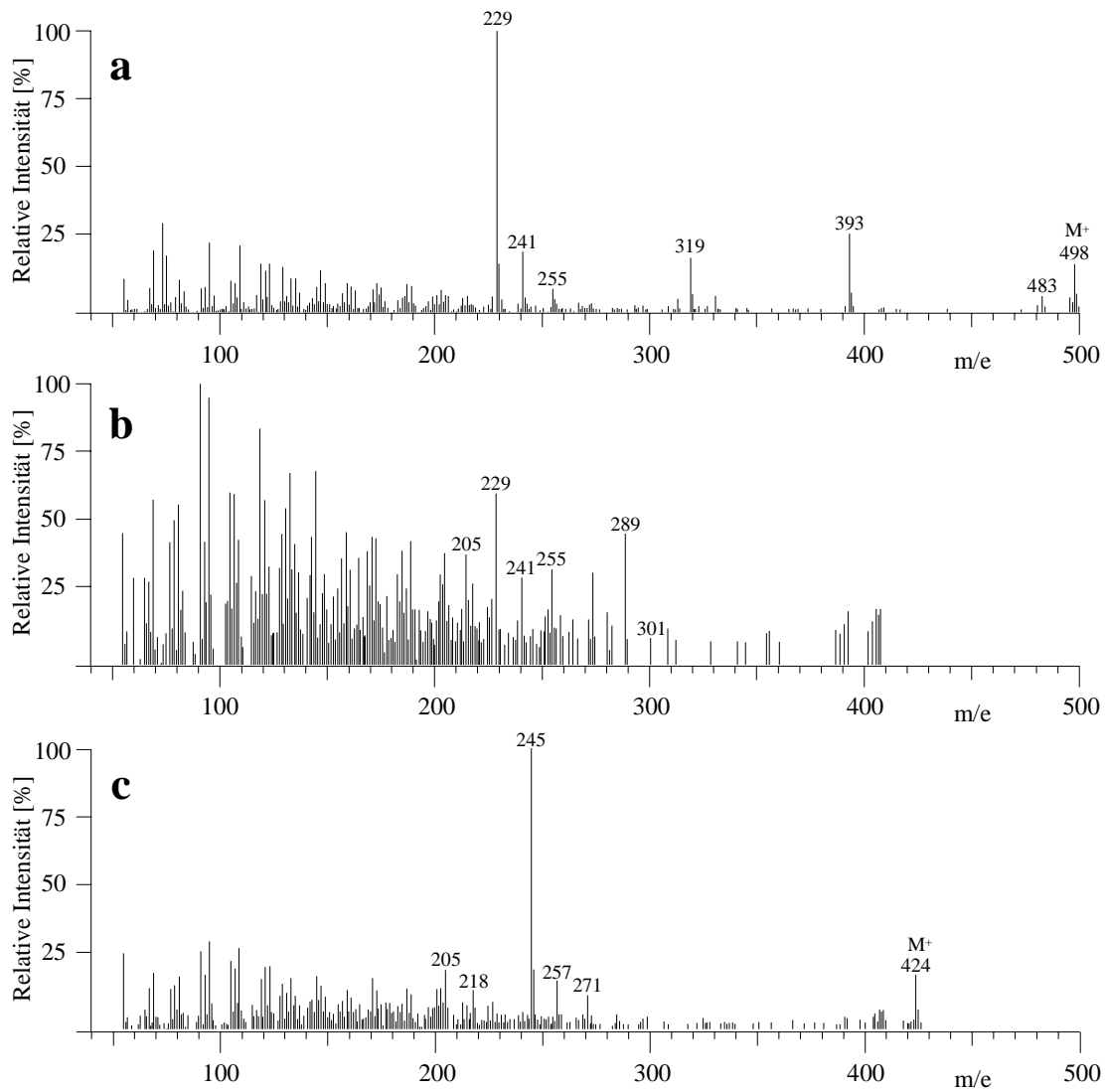


**Abbildung K:** Massenspektren von Glutinol (Peak 24 in Abb. 72a) **a** silyliert, **b** acetyliert, **c** oxidiert

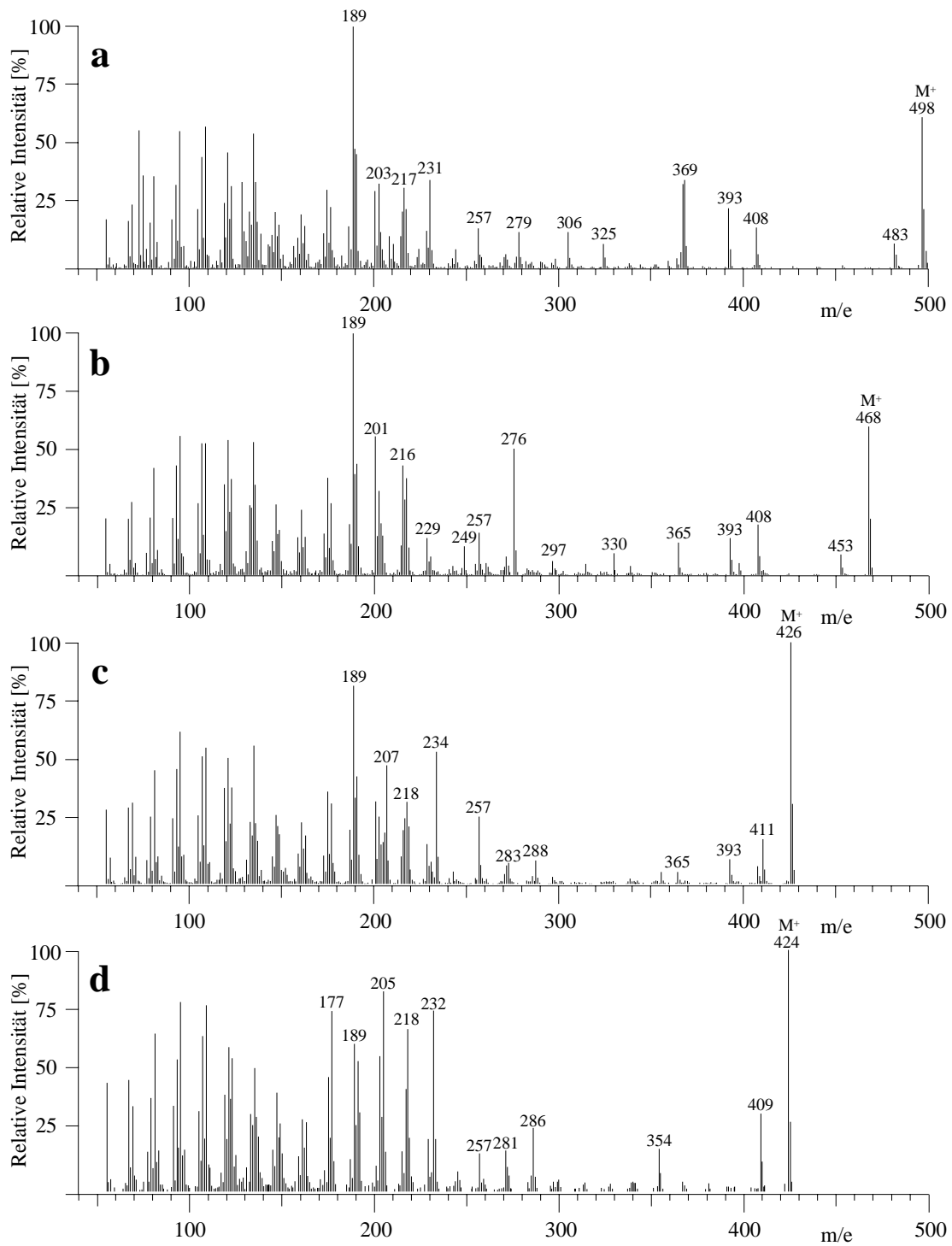




**Abbildung L:** Massenspektren von Isomultiflorenol (Peak 25 in Abb. 72a) **a** silyliert, **b** oxidiert



**Abbildung M:** Massenspektren von Isobauerenol (Peak 26 in Abb. 72a) **a** silyliert, **b** acetyliert, **c** oxidiert



**Abbildung N:** Massenspektren von Peak 29 in Abb. 72a **a** silyliert, **b** acetyliert, **c** unsilyliert, **d** oxidiert

**Tabelle A:** Prozentuale Verteilung der Komponenten der Fraktionen 1 und 2 bei Extraktion von 5 kg Tomaten der gleichen Sorte mit Chloroform (CHCl<sub>3</sub>) und TBME/Methanol (9 + 1)

n-C<sub>x</sub>: n-Alkan, iso-C<sub>x</sub>: iso-Alkan, anteiso-C<sub>x</sub>: anteiso-Alkan, n-C<sub>x</sub>-dien/trien: Alkadien/-trien, Säure n-C<sub>x</sub>: Fettsäure, C<sub>x</sub>-OH: Fettalkohol, C<sub>x</sub>-dien/trien-OH: ungesättigter Fettalkohol, jeweils mit x C-Atomen

Fraktion 1	CHCl <sub>3</sub>	TBME / MeOH (9+1)	Fraktion 2	CHCl <sub>3</sub>	TBME / MeOH (9+1)
n-C <sub>21</sub>	–	–	Säure n-C <sub>16</sub>	0,69	0,40
n-C <sub>22</sub>	–	–	C <sub>18</sub> -OH	0,04	0,09
n-C <sub>23</sub>	0,26	0,33	Säure n-C <sub>18</sub>	0,11	0,11
n-C <sub>24</sub>	–	–	C <sub>19</sub> -OH	0,22	0,20
n-C <sub>25</sub>	0,03	0,02	C <sub>20</sub> -OH	0,12	0,17
n-C <sub>26</sub>	0,09	0,08	C <sub>22</sub> -dien-OH	0,30	0,51
n-C <sub>27</sub>	0,24	0,26	C <sub>22</sub> -trien-OH	0,04	0,11
n-C <sub>28</sub>	0,63	0,60	C <sub>22</sub> -OH	0,12	0,23
iso-C <sub>29</sub>	0,10	0,08	C <sub>23</sub> -OH	0,17	0,31
n-C <sub>29</sub>	11,49	12,25	C <sub>24</sub> -dien-OH	0,56	1,04
iso-C <sub>30</sub>	0,29	0,25	C <sub>24</sub> -trien-OH	0,14	0,33
n-C <sub>30</sub>	4,73	4,77	C <sub>24</sub> -OH	0,18	0,40
iso-C <sub>31</sub>	2,18	2,12	Säure n-C <sub>24</sub>	4,07	4,10
anteiso-C <sub>31</sub>	0,07	0,07	C <sub>25</sub> -OH	0,04	0,08
n-C <sub>31</sub>	52,45	51,03	C <sub>26</sub> -dien-OH	0,36	0,57
iso-C <sub>32</sub>	0,45	0,46	C <sub>26</sub> -trien-OH	0,03	0,07
anteiso-C <sub>32</sub>	0,27	0,27	C <sub>26</sub> -OH	0,09	0,23
n-C <sub>32</sub>	7,09	6,86	Säure n-C <sub>26</sub>	0,31	0,37
iso-C <sub>33</sub>	0,38	0,41	C <sub>27</sub> -OH	0,29	0,53
n-C <sub>33</sub> -dien	4,10	4,08	C <sub>28</sub> -OH	0,50	0,75
n-C <sub>33</sub> -trien	0,86	0,80	C <sub>29</sub> -OH	1,74	2,30
n-C <sub>33</sub>	10,28	9,24	Stigmasterol	0,39	0,29
n-C <sub>34</sub> -dien	0,08	0,10	Taraxerol	1,73	1,34
n-C <sub>34</sub>	0,19	0,20	δ-Amyrin	29,81	28,21
n-C <sub>35</sub> -dien	0,51	0,51	β-Amyrin	21,26	19,02
n-C <sub>35</sub> -trien	0,14	0,12	β-Sitosterol*	0,19	0,15
n-C <sub>35</sub>	0,10	0,08	Peak 23	1,43	1,29
Aldehyd n-C <sub>24</sub>	1,11	2,02	C <sub>30</sub> -OH	1,14	1,83
Aldehyd n-C <sub>26</sub>	0,12	0,18	α-Amyrin	16,95	16,28
Aldehyd n-C <sub>32</sub>	0,17	0,17	Lupeol	0,45	0,44
nicht ident. Peaks	1,59	2,64	Cycloartenol	0,39	0,44
			Multiflorenol	3,2	3,07
			Säure n-C <sub>30</sub>	0,28	0,58
			C <sub>31</sub> -OH	0,48	0,64
			ψ-Taraxasterol**	1,96	1,87
			Taraxasterol	2,24	2,11
			C <sub>32</sub> -OH	2,61	4,64
			Säure n-C <sub>32</sub>	0,20	0,44
			C <sub>33</sub> -OH	0,40	0,50
			C <sub>34</sub> -OH	0,54	0,86
			nicht ident. Peaks	4,23	3,10

–: &lt; 0,01

\* Summe β-Sitosterol und Germanicol

\*\* Summe ψ-Taraxasterol und Bauerenol

**Tabelle B:** Wiederholbarkeit der GC-Bestimmung der prozentualen Anteile der Komponenten der Fraktionen 1 und 2 im Wachs der Tomatensorte „RZ 72-00“ aus Fünffachbestimmungen

MW: Mittelwert; s: Standardabweichung; n-C<sub>x</sub>: n-Alkan, iso-C<sub>x</sub>: iso-Alkan, anteiso-C<sub>x</sub>: anteiso-Alkan, n-C<sub>x</sub>-dien/trien: Alkadien/-trien, Säure n-C<sub>x</sub>: Fettsäure, C<sub>x</sub>-OH: Fettalkohol, C<sub>x</sub>-dien/trien-OH: ungesättigter Fettalkohol, jeweils mit x C-Atomen

Fraktion 1	MW	s	Fraktion 2	MW	s
n-C <sub>21</sub>	0,13	0,004	Säure n-C <sub>16</sub>	0,08	0,006
n-C <sub>22</sub>	0,14	0,001	C <sub>18</sub> -OH	0,08	0,008
n-C <sub>23</sub>	0,31	0,004	Säure n-C <sub>18</sub>	0,09	0,005
n-C <sub>24</sub>	0,14	0,003	C <sub>19</sub> -OH	0,06	0,003
n-C <sub>25</sub>	0,15	0,003	C <sub>20</sub> -OH	0,69	0,003
n-C <sub>26</sub>	0,14	0,002	C <sub>22</sub> -dien-OH	2,79	0,008
n-C <sub>27</sub>	0,86	0,007	C <sub>22</sub> -trien-OH	0,08	0,004
n-C <sub>28</sub>	0,41	0,007	C <sub>22</sub> -OH	1,74	0,005
iso-C <sub>29</sub>	0,06	0,001	C <sub>23</sub> -OH	0,18	0,021
n-C <sub>29</sub>	16,71	0,057	C <sub>24</sub> -dien-OH	5,66	0,016
iso-C <sub>30</sub>	0,13	0,004	C <sub>24</sub> -trien-OH	0,74	0,002
n-C <sub>30</sub>	3,12	0,018	C <sub>24</sub> -OH	2,06	0,018
iso-C <sub>31</sub>	1,79	0,014	Säure n-C <sub>24</sub>	0,44	0,038
anteiso-C <sub>31</sub>	0,16	0,004	C <sub>25</sub> -OH	0,20	0,002
n-C <sub>31</sub>	46,42	0,113	C <sub>26</sub> -dien-OH	3,96	0,013
iso-C <sub>32</sub>	0,37	0,003	C <sub>26</sub> -trien-OH	0,41	0,002
anteiso-C <sub>32</sub>	0,22	0,002	C <sub>26</sub> -OH	0,89	0,007
n-C <sub>32</sub>	4,70	0,015	Säure n-C <sub>26</sub>	0,17	0,006
iso-C <sub>33</sub>	0,29	0,003	C <sub>27</sub> -OH	1,21	0,008
n-C <sub>33</sub> -dien	8,56	0,080	C <sub>28</sub> -OH	1,60	0,015
n-C <sub>33</sub> -trien	1,04	0,026	C <sub>29</sub> -OH	2,70	0,016
n-C <sub>33</sub>	8,69	0,015	Stigmasterol	0,31	0,015
n-C <sub>34</sub> -dien	0,11	0,003	Taraxerol	1,11	0,029
n-C <sub>34</sub>	0,21	0,002	δ-Amyrin	22,87	0,047
n-C <sub>35</sub> -dien	1,24	0,016	β-Amyrin	12,63	0,050
n-C <sub>35</sub> -trien	0,15	0,002	β-Sitosterol*	0,07	0,018
n-C <sub>35</sub>	0,13	0,003	Peak 23	1,06	0,023
Aldehyd n-C <sub>24</sub>	1,41	0,038	C <sub>30</sub> -OH	3,21	0,026
Aldehyd n-C <sub>26</sub>	0,26	0,008	α-Amyrin	12,13	0,035
Aldehyd n-C <sub>32</sub>	0,72	0,031	Lupeol	0,43	0,001
nicht ident. Peaks	1,15	0,054	Cycloartenol	0,36	0,033
			Multiflorenol	2,42	0,005
			Säure n-C <sub>30</sub>	0,67	0,056
			C <sub>31</sub> -OH	0,57	0,007
			ψ-Taraxasterol**	1,65	0,010
			Taraxasterol	1,83	0,009
			C <sub>32</sub> -OH	6,32	0,041
			Säure n-C <sub>32</sub>	0,46	0,080
			C <sub>33</sub> -OH	0,41	0,004
			C <sub>34</sub> -OH	0,90	0,011
			nicht ident. Peaks	4,76	0,043

–: < 0,01

\* Summe β-Sitosterol und Germanicol

\*\* Summe ψ-Taraxasterol und Bauerenol

**Tabelle C: Untersuchte Tomatensorten**

Die Nummern beziehen sich auf die Zahlen in den Tabellen D bis F

Nr.	Sorte	Nr.	Sorte
1	F1 RZ 72-00 (grün)	18	Noire de Crimée
2	F1 RZ 72-00 (grün-orange)	19	Panovy (Ernte 2000)
3	F1 RZ 72-00 (rot)	20	Panovy (Ernte 2001)
4	F1 RZ 72-00 (vollreif)	21	Panovy (veredelt)
5	F1 RZ 72-00 (nachgereift im Dunkeln)	22	Rose de Berne
6	F1 RZ 72-00 (nachgereift im Licht)	23	Rougella (Ernte 2000)
7	Bloody Butcher	24	Rougella (Ernte 2001)
8	F1 Cencara	25	Rubor (Ernte 2000)
9	F1 Cobra	26	Rubor (Ernte 2001)
10	Culina	27	F1 San Marzano
11	Cuor di Bue	28	Soleiro
12	Ferrari	29	Superprecoce marmande VF
13	Gardener's Delight	30	F1 Supersteak
14	F1 Grinta	31	Vanessa
15	Ingegnoli Gigante Liscio	32	Vitella
16	Lycopersicon pimpinellifolium	33	Spanische Tomaten 1
17	Moneymaker	34	Spanische Tomaten 2

Saatgut der Sorte „F1 RZ 72-00“ wurde freundlicherweise von der Firma Rijk Zwaan, De Lier, Niederlande, zur Verfügung gestellt. Es wurde im März 2001 ausgesät und die Pflanzen wurden im Gewächshaus des Gartens des Instituts für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie der Universität Münster bis zur Ernte im August/September 2001 kultiviert.

Saatgut der Sorten „Bloody Butcher“, „F1 Cencara“, „F1 Cobra“, „Cuor di Bue“, „Gardener's Delight“, „F1 Grinta“, „Ingegnoli Gigante Liscio“, „Noire de Crimée“, „Rose de Berne“, „F1 San Marzano“, „Superprecoce marmande VF“ und „F1 Supersteak“ wurden von der Fa. Graines Baumaux, Nancy, Frankreich, gekauft und wie „F1 RZ 72-00“ kultiviert. Die folgenden Sorten wurden von der Gärtnerei Reher, Nottuln-Appelhülsen, gekauft: „Culina“, „Ferrari“, „Panovy“, „Rougella“, Rubor“, „Soleiro“ im Juli 2000 und „Vitella“, „Panovy“, „Panovy (veredelt)“, „Rougella“ und „Rubor“ im Juli 2001. Bei „Panovy (veredelt)“ handelt es sich um eine Kreuzung der Sorte „Panovy“ mit einer anderen Tomatensorte; genauere Angaben konnten nicht erhalten werden.

Bei „Lycopersicon pimpinellifolium“ handelt es sich um eine Wildform, die wie die Sorte „Moneymaker“ vom Garten des Instituts für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie der Universität Münster bezogen wurde.

Die Sorte „Vanessa“ wurde im Juli 2001 bei der Gärtnerei Bauer, Heilbronn, gekauft.

Die beiden spanischen Tomatensorten wurden im Februar 2001 vom Ratio Großmarkt in Münster gekauft: Spanische Tomaten 1, Bezeichnung: „Tomate En Grappe“; Spanische Tomaten 2, Bezeichnung: „Bonny“.

**Tabelle D:** Prozentuale Verteilung des Wachses von 34 Tomaten und Wachsmenge in  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , bezogen auf die Fraktionen 1 + 2 (A) oder Fraktionen 1 – 3 (B)

Der Durchmesser der Sorten „L. pimpinellifolium“ (Nr. 16) und „Superprecoce marmande“ (Nr. 29) wurde nicht bestimmt

Nr.	Fraktion [%]			A: Wachs [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ]		B: Wachs [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ]	
	1	2	3	Streubreite	MW	Streubreite	MW
1	38,3	61,7	–	9,3 – 12,1	10,7	–	–
2	13,9	15,8	70,3	17,4 – 22,7	20,1	58,5 – 76,5	67,5
3	17,7	16,9	65,4	21,9 – 29,0	25,5	63,1 – 83,6	73,4
4	21,2	15,3	63,5	25,6 – 31,8	28,7	70,1 – 87,1	78,6
5	44,3	37,4	18,3	19,2 – 24,4	21,8	23,5 – 29,9	26,7
6	22,8	20,3	56,9	23,0 – 28,6	25,8	53,4 – 66,3	59,9
7	25,2	18,4	56,4	10,6 – 14,5	12,6	24,4 – 33,2	28,8
8	21,6	24,1	54,3	20,1 – 24,6	22,4	44,0 – 53,8	48,9
9	21,5	13,3	65,2	18,1 – 28,3	23,2	51,9 – 81,3	66,6
10	28,2	26,9	44,9	19,4 – 27,8	23,6	35,3 – 50,5	42,9
11	68,3	31,7	–	14,5 – 32,4	23,5	–	–
12	25,7	28,5	45,8	27,5 – 34,9	31,2	50,7 – 64,5	57,6
13	26,6	13,1	60,3	9,1 – 12,7	10,9	23,0 – 32,0	27,5
14	24,2	25,5	50,3	8,7 – 39,3	21,0	17,4 – 79,0	48,2
15	23,3	14,6	62,1	16,0 – 32,7	24,4	42,1 – 86,1	64,1
16	15,3	6,3	78,4	–	–	–	–
17	24,4	12,4	63,2	15,5 – 20,2	17,9	42,0 – 54,8	48,4
18	60,1	29,9	–	10,4 – 23,8	17,1	–	–
19	20,3	23,1	56,6	18,9 – 22,6	20,8	43,5 – 52,1	47,8
20	18,3	18,0	63,7	14,7 – 18,6	16,7	40,7 – 51,3	46,0
21	18,4	13,1	68,5	12,7 – 17,6	15,2	40,2 – 55,9	48,1
22	63,9	36,1	–	14,2 – 27,2	20,7	–	–
23	29,7	22,6	47,7	18,4 – 22,5	20,5	35,2 – 42,9	39,1
24	20,5	13,9	65,6	13,5 – 18,2	15,9	39,2 – 52,8	46,0
25	18,9	18,9	62,2	19,2 – 22,6	20,9	50,8 – 59,7	55,3
26	21,9	17,7	60,4	17,1 – 22,1	19,6	43,1 – 55,8	49,5
27	21,1	13,5	65,4	14,0 – 34,6	24,3	40,4 – 100,0	70,2
28	27,1	30,5	42,5	29,1 – 33,8	31,5	50,5 – 58,8	54,7
29	21,0	13,8	65,2	–	–	–	–
30	22,0	11,2	66,8	11,3 – 27,3	19,3	34,1 – 82,5	58,3
31	38,1	25,2	36,7	15,8 – 24,7	20,3	24,9 – 39,1	32,0
32	17,2	11,8	71,0	13,5 – 21,6	17,6	46,6 – 74,4	60,5
33	26,0	14,0	60,0	13,6 – 17,5	15,6	34,0 – 43,8	38,9
34	42,0	19,5	38,5	18,4 – 24,5	21,4	29,9 – 39,8	34,9

**Tabelle E:** Prozentuale Verhältnisse der Komponenten in Fraktion 1 von 34 Tomaten: Unterschiedliche Reifestadien von Sorte „F1 RZ 72-00“ (Nr. 1 – 6) und unterschiedliche Tomatensorten (7 – 34), davon 3 aus zwei Erntejahren

n-C<sub>x</sub>: n-Alkan, iso-C<sub>x</sub>: iso-Alkan, anteiso-C<sub>x</sub>: anteiso-Alkan, n-C<sub>x</sub>-dien/trien: Alkadien/-trien, jeweils mit x C-Atomen

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>n-C<sub>21</sub></b>	–	–	0,03	0,13	–	–	0,08	0,06	–	–	–	–
<b>n-C<sub>22</sub></b>	–	–	0,04	0,14	–	–	0,08	0,05	–	–	–	–
<b>n-C<sub>23</sub></b>	–	–	0,13	0,32	–	0,04	0,17	0,09	0,27	–	0,41	–
<b>n-C<sub>24</sub></b>	–	–	0,03	0,13	–	–	0,07	0,05	–	–	–	–
<b>n-C<sub>25</sub></b>	–	–	0,05	0,15	0,02	0,04	0,07	0,10	0,08	–	0,08	0,14
<b>n-C<sub>26</sub></b>	–	–	0,06	0,13	0,01	0,02	0,08	0,08	0,13	–	0,04	0,06
<b>n-C<sub>27</sub></b>	0,75	0,59	0,63	0,85	0,59	0,71	0,23	1,78	0,73	0,72	0,45	3,01
<b>n-C<sub>28</sub></b>	1,42	0,39	0,42	0,41	0,27	0,32	0,87	0,94	0,61	0,55	0,38	0,96
<b>iso-C<sub>29</sub></b>	0,27	0,08	0,06	0,05	0,05	0,02	0,09	0,42	0,09	0,03	0,12	0,24
<b>n-C<sub>29</sub></b>	28,19	16,94	16,64	16,76	13,68	15,53	30,69	26,15	18,06	17,01	12,04	27,58
<b>iso-C<sub>30</sub></b>	1,13	0,28	0,17	0,12	0,12	0,11	0,39	0,39	0,22	0,24	0,20	0,32
<b>n-C<sub>30</sub></b>	7,93	4,59	4,10	3,17	3,12	3,63	8,70	4,49	4,20	3,58	3,18	3,85
<b>iso-C<sub>31</sub></b>	7,04	2,95	2,41	1,79	1,78	1,92	2,76	2,72	1,98	1,77	2,15	2,76
<b>anteiso-C<sub>31</sub></b>	0,08	0,20	0,18	0,16	0,21	0,21	0,58	0,19	0,20	0,14	0,51	0,37
<b>n-C<sub>31</sub></b>	42,76	47,25	49,20	46,42	44,51	44,39	39,80	38,39	44,88	48,33	43,83	39,28
<b>iso-C<sub>32</sub></b>	1,13	0,50	0,48	0,36	0,35	0,39	0,31	0,48	0,40	0,33	0,45	0,44
<b>anteiso-C<sub>32</sub></b>	0,55	0,27	0,32	0,21	0,15	0,20	0,36	0,30	0,15	0,19	0,21	0,33
<b>n-C<sub>32</sub></b>	1,96	4,81	4,57	4,64	5,14	4,39	3,74	5,09	5,09	5,33	6,15	3,21
<b>iso-C<sub>33</sub></b>	0,54	0,31	0,35	0,28	0,28	0,26	0,16	0,28	0,26	0,22	0,36	0,34
<b>n-C<sub>33</sub>-dien</b>	–	9,14	7,43	8,47	12,52	13,30	5,41	5,88	9,33	9,32	12,76	9,25
<b>n-C<sub>33</sub>-trien</b>	–	1,40	1,17	1,07	1,95	1,71	0,62	1,41	1,23	2,09	1,47	1,37
<b>n-C<sub>33</sub></b>	3,37	7,29	8,23	8,74	9,13	6,86	2,51	6,16	6,70	6,86	8,66	3,48
<b>n-C<sub>34</sub>-dien*</b>	–	0,07	0,07	0,11	0,19	0,19	0,03	0,09	0,11	0,16	0,12	0,10
<b>n-C<sub>34</sub></b>	0,07	0,16	0,15	0,21	0,26	0,15	0,10	0,18	0,16	0,16	0,23	0,07
<b>n-C<sub>35</sub>-dien</b>	–	0,91	0,69	1,22	2,01	2,05	0,30	0,58	1,03	0,98	0,73	0,47
<b>n-C<sub>35</sub>-trien</b>	–	0,14	0,08	0,14	0,40	0,25	0,04	0,16	0,12	0,24	0,09	0,07
<b>n-C<sub>35</sub></b>	–	0,10	0,13	0,13	0,16	0,10	0,05	0,09	0,07	0,05	0,09	0,04
<b>Aldehyd n-C<sub>24</sub></b>	–	0,10	0,63	1,13	0,07	0,35	0,44	0,28	1,65	0,05	1,80	0,22
<b>Aldehyd n-C<sub>26</sub></b>	–	0,00	0,11	0,22	0,03	0,08	0,00	0,06	0,19	0,00	0,19	0,07
<b>Aldehyd n-C<sub>32</sub></b>	0,08	0,49	0,52	1,22	0,66	0,64	0,15	0,41	0,39	0,11	0,29	0,21
<b>nicht ident. Peaks</b>	2,73	1,04	0,92	1,12	2,34	2,14	1,12	2,65	1,67	1,54	3,01	1,76

–: < 0,01

\* Spur n-C<sub>34</sub>-trien vorhanden



**Tabelle E (Fortsetzung):** Prozentuale Verhältnisse der Komponenten in Fraktion 1 von 34 Tomaten: Unterschiedliche Reifestadien von Sorte „F1 RZ 72-00“ (Nr. 1 – 6) und unterschiedliche Tomatensorten (7 – 34), davon 3 aus zwei Erntejahren

n-C<sub>x</sub>: n-Alkan, iso-C<sub>x</sub>: iso-Alkan, anteiso-C<sub>x</sub>: anteiso-Alkan, n-C<sub>x</sub>-dien/trien: Alkadien/-trien, jeweils mit x C-Atomen

	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
<b>n-C<sub>21</sub></b>	–	0,03	0,09	0,08	0,07	0,03	–	0,01	–	0,06	–	0,01
<b>n-C<sub>22</sub></b>	–	0,02	0,11	0,08	0,08	0,03	–	–	–	0,06	–	0,01
<b>n-C<sub>23</sub></b>	–	0,16	0,31	0,10	0,27	0,14	0,02	0,08	0,13	0,28	0,07	0,05
<b>n-C<sub>24</sub></b>	–	0,02	0,11	0,08	0,08	0,03	–	–	–	0,06	–	–
<b>n-C<sub>25</sub></b>	–	0,10	0,18	0,11	0,11	0,14	0,03	–	–	0,08	–	–
<b>n-C<sub>26</sub></b>	–	0,06	0,13	0,14	0,08	0,09	0,04	–	0,05	0,06	–	–
<b>n-C<sub>27</sub></b>	0,17	1,97	1,65	2,00	0,12	1,21	0,47	0,18	0,23	0,60	0,28	0,13
<b>n-C<sub>28</sub></b>	0,50	0,91	0,99	1,40	0,27	1,00	0,43	0,40	0,44	0,40	0,47	0,28
<b>iso-C<sub>29</sub></b>	0,08	0,37	0,53	0,24	–	0,33	0,05	0,09	0,10	0,09	0,04	0,09
<b>n-C<sub>29</sub></b>	17,02	23,63	33,80	26,10	9,35	23,15	15,70	14,61	11,07	15,48	12,34	9,50
<b>iso-C<sub>30</sub></b>	0,30	0,35	0,47	0,17	0,13	0,44	0,26	0,40	0,40	0,19	0,27	0,41
<b>n-C<sub>30</sub></b>	4,49	4,14	3,70	4,24	5,23	3,54	4,62	4,75	5,21	3,29	4,70	5,48
<b>iso-C<sub>31</sub></b>	2,12	3,03	2,32	0,93	2,51	3,12	2,54	2,91	2,98	2,01	2,25	3,35
<b>anteiso-C<sub>31</sub></b>	–	0,25	0,31	0,05	0,24	0,38	0,33	0,23	0,28	0,46	0,20	0,18
<b>n-C<sub>31</sub></b>	61,07	40,47	34,35	46,35	49,64	39,67	48,27	49,24	47,54	41,38	45,33	48,87
<b>iso-C<sub>32</sub></b>	0,45	0,48	0,34	0,11	0,54	0,46	0,44	0,52	0,64	0,37	0,48	0,76
<b>anteiso-C<sub>32</sub></b>	0,24	0,20	0,26	0,21	0,38	0,46	0,26	0,58	0,34	0,16	0,18	0,42
<b>n-C<sub>32</sub></b>	3,84	4,06	2,86	4,06	7,04	4,35	5,29	6,00	6,77	5,50	6,73	8,02
<b>iso-C<sub>33</sub></b>	0,24	0,45	0,22	0,09	0,35	0,34	0,26	0,25	0,35	0,25	0,28	0,35
<b>n-C<sub>33</sub>-dien</b>	–	7,97	8,77	–	8,15	10,15	10,39	8,81	9,75	15,29	12,61	9,92
<b>n-C<sub>33</sub>-trien</b>	–	1,05	1,13	–	1,09	1,81	2,70	1,20	2,10	2,15	3,20	2,10
<b>n-C<sub>33</sub></b>	5,50	5,30	3,51	9,89	7,98	5,85	5,67	6,15	7,46	6,30	6,37	6,43
<b>n-C<sub>34</sub>-dien*</b>	–	0,07	0,06	–	0,10	0,09	0,11	0,08	0,12	0,20	0,34	0,17
<b>n-C<sub>34</sub></b>	0,11	0,21	0,10	0,34	0,22	0,16	0,11	0,12	0,17	0,18	0,20	0,18
<b>n-C<sub>35</sub>-dien</b>	–	1,24	0,70	–	0,71	0,55	0,56	0,44	0,55	0,74	1,39	0,63
<b>n-C<sub>35</sub>-trien</b>	–	0,17	0,09	–	0,09	0,12	0,16	0,05	0,13	0,12	0,45	0,16
<b>n-C<sub>35</sub></b>	0,08	0,11	0,05	0,07	0,12	0,09	0,05	0,05	0,07	0,07	0,07	0,05
<b>Aldehyd n-C<sub>24</sub></b>	–	0,84	0,86	–	2,33	0,47	0,16	0,44	0,84	1,04	0,37	0,40
<b>Aldehyd n-C<sub>26</sub></b>	–	0,17	0,09	–	0,23	0,05	–	0,29	0,06	0,08	0,04	0,05
<b>Aldehyd n-C<sub>32</sub></b>	0,07	0,35	0,17	0,10	0,29	0,31	0,16	0,74	0,34	0,44	0,09	0,27
<b>nicht ident. Peaks</b>	3,72	1,82	1,74	3,06	2,20	1,44	0,92	1,38	1,88	2,61	1,25	1,73

–: < 0,01

\* Spur n-C<sub>34</sub>-trien vorhanden

**Tabelle E (Fortsetzung):** Prozentuale Verhältnisse der Komponenten in Fraktion 1 von 34 Tomaten: Unterschiedliche Reifestadien von Sorte „F1 RZ 72-00“ (Nr. 1 – 6) und unterschiedliche Tomatensorten (7 – 34), davon 3 aus zwei Erntejahren

n-C<sub>x</sub>: n-Alkan, iso-C<sub>x</sub>: iso-Alkan, anteiso-C<sub>x</sub>: anteiso-Alkan, n-C<sub>x</sub>-dien/trien: Alkadien/-trien, jeweils mit x C-Atomen

	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
<b>n-C<sub>21</sub></b>	–	–	0,15	–	0,03	–	–	–	0,01	–
<b>n-C<sub>22</sub></b>	–	–	0,15	–	0,04	–	–	–	0,01	–
<b>n-C<sub>23</sub></b>	0,03	0,06	0,44	0,02	0,35	0,22	0,38	0,07	0,37	0,28
<b>n-C<sub>24</sub></b>	–	–	0,14	–	0,05	–	–	–	–	–
<b>n-C<sub>25</sub></b>	0,03	–	0,15	0,14	0,13	0,04	0,08	–	0,11	–
<b>n-C<sub>26</sub></b>	0,04	–	0,14	0,05	0,18	0,02	–	–	0,00	0,07
<b>n-C<sub>27</sub></b>	0,58	0,13	0,41	2,56	0,33	0,54	0,28	0,10	0,23	0,41
<b>n-C<sub>28</sub></b>	0,59	0,34	0,39	0,82	0,29	0,77	0,19	0,26	0,20	0,87
<b>iso-C<sub>29</sub></b>	0,07	0,10	0,07	0,24	0,05	0,12	–	–	–	0,14
<b>n-C<sub>29</sub></b>	16,11	10,80	13,89	24,61	12,72	24,51	8,19	8,73	8,99	14,79
<b>iso-C<sub>30</sub></b>	0,28	0,39	0,22	0,35	0,15	0,41	0,10	0,32	0,11	0,30
<b>n-C<sub>30</sub></b>	4,78	5,21	3,37	3,42	2,65	3,74	4,50	4,12	4,48	4,91
<b>iso-C<sub>31</sub></b>	2,38	3,03	2,60	2,56	2,26	2,84	1,88	3,33	2,04	2,20
<b>anteiso-C<sub>31</sub></b>	0,33	0,16	0,33	0,18	0,31	0,40	0,20	0,15	0,05	0,08
<b>n-C<sub>31</sub></b>	43,91	50,94	45,32	46,67	46,79	41,35	39,76	46,75	52,44	49,68
<b>iso-C<sub>32</sub></b>	0,40	0,64	0,45	0,39	0,35	0,48	0,45	0,86	0,51	0,45
<b>anteiso-C<sub>32</sub></b>	0,20	0,57	0,35	0,24	0,28	0,25	0,20	0,31	0,22	0,27
<b>n-C<sub>32</sub></b>	3,35	7,45	4,40	3,77	3,91	3,03	7,57	7,66	7,74	6,37
<b>iso-C<sub>33</sub></b>	0,25	0,30	0,34	0,31	0,29	0,33	0,23	0,45	0,31	0,38
<b>n-C<sub>33</sub>-dien</b>	13,97	8,47	11,72	6,03	11,91	10,15	16,62	10,94	3,66	4,23
<b>n-C<sub>33</sub>-trien</b>	2,38	1,51	1,31	0,94	1,41	1,28	1,88	1,72	0,32	1,04
<b>n-C<sub>33</sub></b>	5,50	6,90	8,57	4,58	9,48	4,08	8,35	10,64	11,45	8,09
<b>n-C<sub>34</sub>-dien*</b>	0,19	0,12	0,10	0,06	0,10	0,09	0,37	0,16	0,15	0,09
<b>n-C<sub>34</sub></b>	0,12	0,17	0,22	0,06	0,22	0,09	0,35	0,26	0,34	0,17
<b>n-C<sub>35</sub>-dien</b>	0,85	0,48	1,29	0,37	1,43	0,85	2,48	1,04	0,92	0,44
<b>n-C<sub>35</sub>-trien</b>	0,17	0,10	0,15	0,05	0,17	0,10	0,36	0,16	0,10	0,10
<b>n-C<sub>35</sub></b>	0,05	0,06	0,16	0,03	0,15	0,04	0,14	0,10	0,14	0,07
<b>Aldehyd n-C<sub>24</sub></b>	0,35	0,49	1,37	0,10	0,10	1,38	1,69	0,59	2,17	2,05
<b>Aldehyd n-C<sub>26</sub></b>	–	0,05	0,20	0,06	0,06	0,12	0,35	0,00	0,45	0,18
<b>Aldehyd n-C<sub>32</sub></b>	0,13	0,42	0,30	0,35	0,35	0,36	0,23	0,37	0,28	0,20
<b>nicht ident. Peaks</b>	2,96	1,11	1,30	1,04	3,46	2,41	3,17	0,91	2,20	2,14

–: < 0,01

\* Spur n-C<sub>34</sub>-trien vorhanden

**Tabelle F:** Prozentuale Verhältnisse der Komponenten in Fraktion 2 von 34 Tomaten: Unterschiedliche Reifestadien von Sorte „F1 RZ 72-00“ (Nr. 1 – 6) und unterschiedliche Tomatensorten (7 – 34), davon 3 aus zwei Erntejahren

C<sub>x</sub>-OH: Fettalkohol, C<sub>x</sub>-dien/trien-OH: ungesättigter Fettalkohol, jeweils mit x C-Atomen

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>C<sub>18</sub>-OH</b>	0,03	0,09	0,14	0,06	0,07	0,05	0,04	0,15	0,05	0,05	0,10	0,14
<b>C<sub>19</sub>-OH</b>	–	0,08	0,02	0,05	0,33	0,09	0,12	0,16	0,33	0,05	0,82	0,09
<b>C<sub>20</sub>-OH</b>	0,02	0,95	1,56	0,68	0,74	0,79	0,06	1,31	0,19	0,11	0,13	0,59
<b>C<sub>21</sub>-OH</b>	–	0,06	0,01	0,02	0,05	0,04	–	–	–	–	–	0,03
<b>C<sub>22</sub>-dien-OH</b>	–	2,09	4,66	2,88	1,94	2,32	–	4,74	0,29	0,28	0,19	0,65
<b>C<sub>22</sub>-trien-OH</b>	–	0,08	0,18	0,08	0,05	0,06	–	0,26	0,07	0,05	0,02	0,02
<b>C<sub>22</sub>-OH</b>	0,05	1,77	2,13	1,69	1,51	1,84	0,34	1,44	0,31	0,23	0,22	1,46
<b>C<sub>23</sub>-OH</b>	–	0,19	0,18	0,18	0,13	0,13	0,06	0,25	0,08	0,03	0,18	0,10
<b>C<sub>24</sub>-dien-OH</b>	–	3,75	6,68	5,84	4,23	4,41	0,16	7,97	0,73	0,64	0,49	1,96
<b>C<sub>24</sub>-trien-OH</b>	–	0,57	1,00	0,79	0,59	0,56	0,00	1,78	0,11	0,11	0,11	0,23
<b>C<sub>24</sub>-OH</b>	0,11	2,21	2,62	2,02	1,81	2,14	0,09	1,33	0,33	0,48	0,28	2,17
<b>C<sub>25</sub>-OH</b>	0,04	0,21	0,22	0,20	0,18	0,19	–	0,22	0,07	0,14	0,04	0,36
<b>C<sub>26</sub>-dien-OH</b>	–	1,87	3,64	4,12	2,39	3,17	0,43	3,14	1,40	2,01	0,64	2,52
<b>C<sub>26</sub>-trien-OH</b>	–	0,25	0,44	0,42	0,25	0,29	–	0,61	0,08	0,14	0,04	0,16
<b>C<sub>26</sub>-OH</b>	0,27	0,69	0,87	0,90	0,78	0,90	0,11	0,53	0,34	1,36	0,29	3,54
<b>C<sub>27</sub>-OH</b>	0,47	0,71	0,91	1,22	0,97	1,01	0,28	0,77	0,90	0,12	0,52	2,89
<b>C<sub>28</sub>-OH</b>	0,57	1,06	1,25	1,64	1,44	1,48	0,83	0,80	1,13	3,10	0,66	4,69
<b>C<sub>29</sub>-OH</b>	1,12	2,27	2,49	2,80	2,41	2,77	5,10	1,56	2,49	3,76	1,39	3,72
<b>C<sub>30</sub>-OH</b>	1,55	2,24	2,47	3,46	3,42	2,89	4,90	1,72	2,78	5,23	1,47	3,88
<b>C<sub>31</sub>-OH</b>	0,31	0,57	0,53	0,56	0,57	0,60	0,77	0,37	0,68	0,80	0,49	0,55
<b>C<sub>32</sub>-OH</b>	1,90	4,62	5,42	6,51	5,49	5,52	3,37	3,21	7,11	6,81	4,74	5,01
<b>C<sub>33</sub>-OH</b>	0,18	0,39	0,42	0,42	0,44	0,48	0,26	0,39	0,66	0,43	0,39	0,30
<b>C<sub>34</sub>-OH</b>	0,25	0,75	0,92	0,92	1,03	1,00	0,22	0,62	1,31	0,73	1,27	0,65
<b>Stigmasterol</b>	0,30	0,32	0,26	0,26	0,38	0,33	0,46	0,56	0,19	0,36	0,49	0,24
<b>Taraxerol</b>	1,69	1,32	1,14	1,13	1,24	1,22	1,49	1,25	1,50	1,32	1,52	1,05
<b>δ-Amyrin</b>	36,43	28,30	23,61	23,68	24,43	25,31	31,02	25,51	30,82	28,08	26,82	23,02
<b>β-Amyrin</b>	19,65	14,22	12,48	13,01	14,72	14,08	19,56	13,45	14,66	14,67	20,34	14,17
<b>Σ β-Sitosterol + Germanicol</b>	0,15	0,11	0,09	0,10	0,12	0,09	0,09	0,11	0,13	0,10	0,14	0,08
<b>Peak 23</b>	0,62	1,41	1,08	0,92	0,99	1,14	1,49	1,22	1,28	1,07	1,09	1,04
<b>α-Amyrin</b>	19,69	15,22	12,62	12,60	13,13	13,32	16,53	13,63	16,49	15,61	14,29	12,86
<b>Lupeol</b>	0,63	0,48	0,44	0,44	0,48	0,48	0,65	0,49	0,59	0,47	0,67	0,39
<b>Cycloartenol</b>	0,43	0,40	0,40	0,41	0,33	0,37	0,30	0,42	0,32	0,11	0,47	0,22
<b>Multiflorenol</b>	3,76	3,05	2,62	2,52	2,62	2,58	3,00	2,58	3,13	2,98	2,70	2,42
<b>Σ ψ-Taraxasterol + Bauerenol</b>	2,44	2,00	1,74	1,78	1,77	1,81	1,98	1,74	2,19	1,86	1,91	1,50
<b>Taraxasterol</b>	3,00	2,28	1,95	1,90	1,95	2,06	2,36	2,08	2,37	2,22	2,19	1,84
<b>Σ Fettsäuren</b>	1,08	0,24	0,21	1,83	1,81	1,16	1,23	0,67	1,63	0,76	5,96	2,45
<b>nicht ident. Peaks</b>	3,26	3,18	2,60	1,96	5,21	3,32	2,70	2,96	3,26	3,73	6,93	3,01

–: < 0,01

**Tabelle F (Fortsetzung):** Prozentuale Verhältnisse der Komponenten in Fraktion 2 von 34 Tomaten: Unterschiedliche Reifestadien von Sorte „F1 RZ 72-00“ (Nr. 1 – 6) und unterschiedliche Tomatensorten (7 – 34), davon 3 aus zwei Erntejahren

C<sub>x</sub>-OH: Fettalkohol, C<sub>x</sub>-dien/trien-OH: ungesättigter Fettalkohol, jeweils mit x C-Atomen

	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
<b>C<sub>18</sub>-OH</b>	0,07	0,12	0,05	0,45	–	0,08	0,04	0,06	0,03	0,05	0,04	0,04
<b>C<sub>19</sub>-OH</b>	1,12	0,18	0,28	0,95	0,46	0,29	0,03	0,06	0,06	0,20	0,04	0,06
<b>C<sub>20</sub>-OH</b>	0,07	0,16	0,10	3,56	–	0,29	0,12	0,06	0,11	0,18	0,03	–
<b>C<sub>21</sub>-OH</b>	–	0,10	–	0,33	–	–	–	–	–	–	–	–
<b>C<sub>22</sub>-dien-OH</b>	–	8,31	0,19	–	0,10	0,32	0,27	0,12	0,25	0,36	0,12	0,05
<b>C<sub>22</sub>-trien-OH</b>	–	0,34	0,03	0,00	0,01	0,08	0,02	0,01	0,02	0,08	0,01	–
<b>C<sub>22</sub>-OH</b>	0,12	0,91	0,22	3,22	0,25	0,33	0,18	0,11	0,20	0,29	0,07	0,23
<b>C<sub>23</sub>-OH</b>	–	0,23	0,08	0,42	0,13	0,06	0,04	0,06	0,05	0,08	0,08	–
<b>C<sub>24</sub>-dien-OH</b>	–	13,82	0,72	–	0,25	0,83	0,95	0,40	0,78	0,94	0,77	0,19
<b>C<sub>24</sub>-trien-OH</b>	–	2,34	0,08	–	0,05	0,17	0,17	0,04	0,13	0,18	0,12	0,03
<b>C<sub>24</sub>-OH</b>	0,36	1,00	0,29	5,64	0,29	0,40	0,33	0,15	0,28	0,35	0,16	0,04
<b>C<sub>25</sub>-OH</b>	0,05	0,23	0,07	0,58	0,02	0,06	0,08	0,05	0,01	0,05	0,05	–
<b>C<sub>26</sub>-dien-OH</b>	–	6,97	2,34	–	0,26	0,60	1,86	0,59	0,68	0,71	2,91	0,46
<b>C<sub>26</sub>-trien-OH</b>	–	0,94	0,10	–	0,07	0,07	0,18	0,04	0,07	0,06	0,24	0,00
<b>C<sub>26</sub>-OH</b>	0,60	0,66	0,42	1,83	0,19	0,42	0,76	0,19	0,25	0,26	0,54	0,12
<b>C<sub>27</sub>-OH</b>	0,34	1,11	0,87	1,57	0,14	0,68	0,67	0,27	0,28	0,60	0,50	0,16
<b>C<sub>28</sub>-OH</b>	1,32	0,90	1,18	1,80	0,33	0,65	1,95	0,90	1,11	0,85	1,45	0,56
<b>C<sub>29</sub>-OH</b>	2,03	1,10	2,99	1,78	1,96	1,14	2,84	2,60	2,03	2,26	1,97	1,83
<b>C<sub>30</sub>-OH</b>	2,15	1,25	3,18	9,25	1,13	0,77	4,18	3,61	2,36	2,35	2,80	2,69
<b>C<sub>31</sub>-OH</b>	0,61	0,29	0,45	1,40	0,63	0,29	0,65	0,75	0,73	0,52	0,65	0,89
<b>C<sub>32</sub>-OH</b>	3,29	1,99	3,99	7,62	4,18	2,24	5,13	6,19	6,85	5,72	4,31	4,92
<b>C<sub>33</sub>-OH</b>	0,21	0,16	0,28	0,62	0,62	0,13	0,35	0,62	0,63	0,31	0,34	0,50
<b>C<sub>34</sub>-OH</b>	0,48	0,35	0,39	0,85	1,07	0,38	0,57	0,76	1,24	1,12	0,46	0,59
<b>Stigmasterol</b>	0,31	0,15	0,43	1,03	0,57	0,53	0,29	0,29	0,22	0,58	0,33	0,27
<b>Taraxerol</b>	1,57	1,00	1,47	0,94	1,67	1,61	1,40	1,51	1,44	1,49	1,46	1,60
<b>δ-Amyrin</b>	31,71	21,24	31,88	19,24	32,67	34,06	30,16	31,80	31,58	30,14	31,99	34,66
<b>β-Amyrin</b>	18,60	11,46	14,01	14,47	16,19	17,28	16,24	17,98	16,21	17,17	16,21	16,21
<b>Σ β-Sitosterol + Germanicol</b>	0,13	0,07	0,14	0,56	0,13	0,12	0,13	0,12	0,10	0,15	0,16	0,09
<b>Peak 23</b>	1,49	1,04	1,29	1,22	1,60	1,54	1,29	1,36	1,49	1,34	1,43	1,57
<b>α-Amyrin</b>	17,18	11,28	17,21	10,48	17,38	18,25	16,86	17,17	17,41	16,02	17,99	18,70
<b>Lupeol</b>	0,63	0,40	0,61	0,37	0,63	0,74	0,74	0,61	0,55	0,60	0,53	0,64
<b>Cycloartenol</b>	0,13	0,42	0,29	0,44	0,58	0,23	0,28	0,40	0,38	0,55	0,29	0,41
<b>Multiflorenol</b>	3,30	2,21	3,18	2,11	3,37	3,37	3,21	3,21	3,41	3,05	3,35	3,53
<b>Σ ψ-Taraxasterol + Bauerenol</b>	2,03	1,47	2,06	1,58	2,28	2,40	2,02	2,21	2,21	2,09	2,12	2,43
<b>Taraxasterol</b>	2,40	1,70	2,52	1,36	2,61	2,80	2,40	2,51	2,52	2,42	2,55	2,76
<b>Σ Fettsäuren</b>	1,51	1,05	2,38	1,40	3,12	3,15	0,96	0,78	0,42	2,94	0,99	0,41
<b>nicht ident. Peaks</b>	6,19	3,05	4,23	2,93	5,06	3,64	2,65	2,41	3,91	3,94	2,94	3,36

–: < 0,01

**Tabelle F (Fortsetzung):** Prozentuale Verhältnisse der Komponenten in Fraktion 2 von 34 Tomaten: Unterschiedliche Reifestadien von Sorte „F1 RZ 72-00“ (Nr. 1 – 6) und unterschiedliche Tomatensorten (7 – 34), davon 3 aus zwei Erntejahren

C<sub>x</sub>-OH: Fettalkohol, C<sub>x</sub>-dien/trien-OH: ungesättigter Fettalkohol, jeweils mit x C-Atomen

	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
<b>C<sub>18</sub>-OH</b>	0,03	0,03	0,07	0,14	–	0,06	0,07	0,05	0,08	0,06
<b>C<sub>19</sub>-OH</b>	0,04	0,06	0,16	0,12	0,15	0,13	0,16	0,04	0,20	0,24
<b>C<sub>20</sub>-OH</b>	0,10	0,03	0,14	0,49	–	0,16	0,05	0,06	0,18	0,03
<b>C<sub>21</sub>-OH</b>	–	–	–	0,03	–	–	–	–	–	–
<b>C<sub>22</sub>-dien-OH</b>	0,28	0,07	0,31	0,37	0,33	0,37	0,09	0,16	0,52	0,06
<b>C<sub>22</sub>-trien-OH</b>	0,00	–	0,08	0,02	0,08	–	–	–	0,10	–
<b>C<sub>22</sub>-OH</b>	0,25	0,10	0,22	1,28	0,35	0,31	0,07	0,23	0,23	0,16
<b>C<sub>23</sub>-OH</b>	0,06	–	0,13	0,08	0,06	0,11	0,06	0,07	0,30	0,25
<b>C<sub>24</sub>-dien-OH</b>	0,93	0,26	1,00	0,99	1,06	1,28	0,36	0,35	1,04	0,29
<b>C<sub>24</sub>-trien-OH</b>	0,12	–	0,12	0,11	0,13	0,13	0,03	–	0,32	–
<b>C<sub>24</sub>-OH</b>	0,40	0,06	0,29	1,99	0,09	0,41	0,08	0,12	0,41	0,23
<b>C<sub>25</sub>-OH</b>	0,08	–	–	0,32	–	0,05	0,02	–	0,07	0,08
<b>C<sub>26</sub>-dien-OH</b>	1,45	0,36	1,26	1,66	1,08	1,95	1,04	0,60	0,57	1,17
<b>C<sub>26</sub>-trien-OH</b>	0,10	–	0,11	0,09	0,11	0,09	0,04	–	0,07	0,03
<b>C<sub>26</sub>-OH</b>	0,84	0,10	0,19	3,64	0,12	0,26	0,12	0,11	0,23	0,32
<b>C<sub>27</sub>-OH</b>	0,72	0,16	0,29	2,48	0,25	0,57	0,28	0,20	0,53	0,29
<b>C<sub>28</sub>-OH</b>	1,82	0,59	0,41	5,07	0,44	0,73	0,38	0,46	0,76	0,75
<b>C<sub>29</sub>-OH</b>	2,63	2,27	1,04	3,56	1,27	1,94	1,44	1,92	2,31	1,39
<b>C<sub>30</sub>-OH</b>	2,31	3,38	0,87	4,28	1,17	1,97	1,17	1,58	1,84	1,22
<b>C<sub>31</sub>-OH</b>	0,54	0,94	0,29	0,62	0,34	0,41	0,51	0,83	0,64	0,56
<b>C<sub>32</sub>-OH</b>	4,41	6,51	3,21	4,94	4,11	4,46	3,95	7,18	4,66	4,44
<b>C<sub>33</sub>-OH</b>	0,32	0,66	0,22	0,27	0,24	0,27	0,59	1,14	0,50	0,64
<b>C<sub>34</sub>-OH</b>	0,53	0,88	0,50	0,52	0,77	0,57	0,88	2,09	0,86	1,17
<b>Stigmasterol</b>	0,50	0,18	0,56	0,30	0,34	0,38	0,59	0,26	0,29	0,45
<b>Taraxerol</b>	1,41	1,57	1,61	1,16	1,71	1,53	1,66	1,53	1,34	1,58
<b>δ-Amyrin</b>	30,21	33,21	33,62	24,03	33,14	32,98	32,67	32,52	28,30	30,31
<b>β-Amyrin</b>	17,69	17,74	18,12	15,81	18,74	14,20	18,06	17,92	17,99	17,64
<b>Σ β-Sitosterol + Germanicol</b>	0,16	0,12	0,11	0,12	0,12	0,40	0,16	0,10	0,16	0,13
<b>Peak 23</b>	1,38	1,32	1,70	1,43	1,62	1,50	1,60	1,51	1,29	1,28
<b>α-Amyrin</b>	16,88	17,92	17,99	13,46	17,50	17,74	17,17	17,15	16,34	16,36
<b>Lupeol</b>	0,50	0,61	0,66	0,39	0,68	0,66	0,66	0,67	0,44	0,66
<b>Cycloartenol</b>	0,23	0,22	0,39	0,11	0,43	0,33	0,49	0,27	0,44	0,30
<b>Multiflorenol</b>	3,21	3,39	3,45	2,52	3,34	3,38	3,29	3,24	3,09	2,89
<b>Σ ψ-Taraxasterol + Bauerenol</b>	2,01	2,30	2,36	1,56	2,27	2,30	2,26	2,31	1,88	1,94
<b>Taraxasterol</b>	2,40	2,66	2,66	1,90	2,61	2,61	2,51	2,65	2,13	2,32
<b>Σ Fettsäuren</b>	0,85	0,44	1,93	1,83	1,46	1,64	1,72	0,23	6,00	5,53
<b>nicht ident. Peaks</b>	4,61	1,86	3,93	2,31	3,89	4,12	5,77	2,45	3,89	5,23

–: < 0,01

**Tabelle G:** Untersuchte Sorten von Paprika (Nr. 1 – 12) und Auberginen (Nr. 13 – 15)

Die Nummern beziehen sich auf die Zahlen in den Tabellen H bis K

Nr.	Sorte	Nr.	Sorte
1	Frühzauber (rot)	9	Liebesapfel (rot)
2	Sweet banana (gelb)	10	Holländische Paprika (rot)
3	Bell Boy (grün)	11	Holländische Paprika (gelb)
4	Topgirl (rot)	12	Holländische Paprika (grün)
5	Pusztagold (gelb)		
6	Goldflamme (gelb)	13	Holländische Auberginen
7	Topboy (gelb)	14	Spanische Auberginen
8	Yolo Wonder B (grün)	15	Moneymaker Nr. 1

Saatgut der Sorten „Frühzauber“, „Sweet Banana“, „Bell Boy“, „Topgirl“, „Pusztagold“, „Goldflamme“, „Topboy“, „Yolo Wonder B“, „Liebesapfel“ und „Moneymaker“ stammte von der Fa. Julius Wagner, Heidelberg und wurde im März 2002 ausgesät. Die Pflanzen wurden im Gewächshaus des Gartens des Instituts für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie der Universität Münster bis zur Ernte im August/September 2002 kultiviert.

Die drei Paprikasorten Nr. 10 – 12 wurden im August 2001 im Aldi-Markt in Münster gekauft. Jeweils eine rote, gelbe und grüne Paprika befanden sich im selben Gebinde mit der Bezeichnung: „Paprika Herkunftsland: Holland“, weiterer Aufdruck: L31–5.

Die beiden Auberginensorten Nr. 13 und 14 wurden im Oktober 2002 vom Ratio Großmarkt in Münster gekauft: Holländische Auberginen, Bezeichnung: „Fossa Eugenia“; Spanische Auberginen, Bezeichnung: „Pambo“

**Tabelle H:** Prozentuale Verteilung des Wachses von 12 Paprika- und 3 Auberginensorten auf die Fraktionen 1 + 2

Sorte	Fraktion [%]		Sorte	Fraktion [%]	
	1	2		1	2
1	36,7	63,3	9	42,9	57,1
2	41,5	58,5	10	44,5	55,5
3	36,0	64,0	11	41,3	58,7
4	38,3	61,7	12	41,2	58,8
5	37,7	62,3			
6	38,1	61,9	13	74,3	25,7
7	41,7	58,3	14	75,4	24,6
8	27,8	72,2	15	81,1	18,9

**Tabelle I:** Prozentuale Verhältnisse der Komponenten in Fraktion 1 von 12 Paprikasortenn-C<sub>x</sub>: n-Alkan, iso-C<sub>x</sub>: iso-Alkan, jeweils mit x C-Atomen

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>n-C<sub>20</sub></b>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,22	–
<b>n-C<sub>21</sub></b>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,24	–
<b>n-C<sub>22</sub></b>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,27	–
<b>n-C<sub>23</sub></b>	0,07	0,06	0,09	0,07	0,09	0,06	0,04	0,08	0,04	0,20	0,28	0,10
<b>n-C<sub>24</sub></b>	0,04	0,02	0,05	0,04	0,05	0,03	0,03	0,03	0,04	0,17	0,24	0,07
<b>iso-C<sub>25</sub></b>	0,01	0,01	0,01	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<b>n-C<sub>25</sub></b>	1,42	0,57	0,93	1,22	1,90	0,63	1,19	0,79	0,67	0,46	0,53	1,01
<b>n-C<sub>26</sub></b>	0,44	0,14	0,24	0,25	0,45	0,23	0,29	0,27	0,23	0,28	0,35	0,29
<b>iso-C<sub>27</sub></b>	2,35	1,27	1,17	1,21	1,93	0,72	1,43	0,97	0,56	0,23	0,39	1,02
<b>n-C<sub>27</sub></b>	10,73	5,34	8,1	7,78	13,42	7,08	8,16	8,60	6,84	5,24	5,77	8,4
<b>iso-C<sub>28</sub></b>	0,51	0,43	0,15	0,11	0,17	0,09	0,13	0,13	0,08	0,01	0,05	0,11
<b>n-C<sub>28</sub></b>	1,14	0,77	1,01	0,67	0,93	1,01	0,83	1,21	0,73	0,74	0,87	0,99
<b>iso-C<sub>29</sub></b>	5,44	3,78	4,75	3,34	5,09	3,12	3,93	4,21	2,36	1,07	1,79	2,96
<b>n-C<sub>29</sub></b>	20,31	35,10	25,9	18,82	21,19	25,55	20,94	27,58	18,94	22,17	20,95	25,13
<b>iso-C<sub>30</sub></b>	0,71	0,55	0,21	0,15	0,17	0,15	0,21	0,23	0,20	0,03	0,06	0,11
<b>n-C<sub>30</sub></b>	2,02	1,11	1,75	1,50	1,21	2,02	1,84	1,64	1,88	1,74	2,01	1,65
<b>iso-C<sub>31</sub></b>	4,52	2,74	3,98	3,42	4,72	2,87	3,79	3,84	3,06	1,26	1,91	2,52
<b>n-C<sub>31</sub></b>	40,32	40,22	41,16	50,44	37,66	46,81	47,27	40,49	51,29	52,65	49,67	43,47
<b>iso-C<sub>32</sub></b>	0,48	0,39	0,12	0,11	0,10	0,10	0,10	0,13	0,15	0,05	0,11	0,10
<b>n-C<sub>32</sub></b>	0,99	0,43	0,97	0,76	0,60	0,98	0,87	0,92	1,06	1,31	1,38	1,07
<b>iso-C<sub>33</sub></b>	1,30	0,77	1,09	1,05	1,26	1,03	1,10	1,26	1,12	0,61	0,85	0,94
<b>n-C<sub>33</sub></b>	4,39	2,45	4,27	5,46	3,68	4,77	5,30	4,04	5,91	6,84	6,98	5,41
<b>n-C<sub>34</sub></b>	0,06	0,02	0,09	0,04	0,02	0,07	0,02	0,05	0,08	0,16	0,15	0,13
<b>iso-C<sub>35</sub></b>	0,13	0,08	0,08	0,08	0,08	0,09	0,09	0,08	0,08	0,05	0,06	0,09
<b>n-C<sub>35</sub></b>	0,32	0,21	0,38	0,26	0,22	0,37	0,31	0,21	0,30	0,52	0,60	0,41
<b>Aldehyd-C<sub>26</sub></b>	0,11	0,21	0,37	0,19	0,47	0,16	0,14	0,29	0,23	0,20	0,22	0,65
<b>Aldehyd-C<sub>28</sub></b>	–	0,48	0,73	0,32	0,57	0,38	0,19	0,52	0,43	0,52	0,42	0,87
<b>Aldehyd-C<sub>30</sub></b>	0,21	1,10	0,62	0,30	0,43	0,41	0,18	0,55	0,4	0,91	0,62	0,81
<b>nicht ident. Peaks</b>	1,98	1,75	1,04	1,87	2,13	0,80	1,27	1,13	2,90	2,42	2,92	1,43

–: &lt; 0,01

**Tabelle J:** Prozentuale Verhältnisse der Komponenten in Fraktion 2 von 12 PaprikasortenSäure n-C<sub>x</sub>: Fettsäure, C<sub>x</sub>-OH: Fettalkohol, 2-OH-C<sub>x</sub>-Säure: 2-Hydroxyfettsäure, jeweils mit x C-Atomen

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>C<sub>24</sub>-OH</b>	0,09	0,09	0,10	0,06	0,08	0,05	0,05	0,15	0,08	0,09	0,06	0,17
<b>C<sub>26</sub>-OH</b>	0,19	0,10	0,30	0,19	0,17	0,13	0,24	0,13	0,30	0,15	0,13	0,27
<b>C<sub>27</sub>-OH</b>	0,19	0,09	0,20	0,16	0,14	0,17	0,22	0,08	0,22	0,11	0,10	0,00
<b>C<sub>28</sub>-OH</b>	0,60	0,28	0,99	0,44	0,38	0,56	0,73	0,43	0,70	0,63	0,45	0,75
<b>C<sub>29</sub>-OH</b>	0,33	0,18	0,39	0,24	0,11	0,30	0,31	0,15	0,44	0,34	0,26	0,28
<b>Säure n-C<sub>16</sub></b>	0,80	0,62	0,47	0,51	1,42	0,37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Säure n-C<sub>18</sub></b>	0,88	0,22	0,19	0,29	1,59	0,23	0,00	0,00	0,00	0,51	0,50	0,00
<b>Säure n-C<sub>20</sub></b>	0,18	0,23	0,16	0,17	0,25	0,11	0,14	0,11	0,16	0,22	0,16	0,09
<b>Säure n-C<sub>21</sub></b>	0,06	0,06	0,05	0,05	0,07	0,05	0,05	0,11	0,15	0,27	0,06	0,12
<b>Säure n-C<sub>22</sub></b>	0,44	1,68	1,37	0,39	1,27	0,85	0,40	1,05	0,56	0,80	0,72	1,24
<b>Säure n-C<sub>23</sub></b>	0,20	0,16	0,32	0,08	0,12	0,27	0,15	0,29	0,18	0,19	0,19	0,24
<b>Säure n-C<sub>24</sub></b>	7,30	11,52	16,25	3,53	10,78	13,05	5,46	13,45	8,73	9,39	9,13	16,18
<b>Säure n-C<sub>25</sub></b>	0,76	0,31	0,97	0,35	0,61	0,97	0,62	0,82	0,82	0,59	0,62	0,83
<b>Säure n-C<sub>26</sub></b>	8,52	3,33	8,03	5,72	9,70	8,77	8,39	6,48	9,84	6,95	6,23	9,18
<b>Säure n-C<sub>27</sub></b>	0,34	0,12	0,22	0,23	0,21	0,39	0,42	0,19	0,36	0,35	0,32	0,23
<b>Säure n-C<sub>28</sub></b>	4,05	1,69	2,54	3,60	2,00	4,86	5,42	1,72	4,89	5,03	3,41	3,03
<b>Säure n-C<sub>30</sub></b>	2,45	2,78	1,73	2,39	0,99	4,61	4,07	1,32	2,91	5,12	3,10	2,24
<b>Säure n-C<sub>32</sub></b>	1,56	0,57	0,64	1,42	0,63	2,01	2,88	0,67	1,67	2,63	1,85	1,16
<b>2-OH-C<sub>20</sub>-Säure</b>	0,09	0,10	0,05	0,09	0,00	0,05	0,08	0,08	0,11	0,06	0,05	0,00
<b>2-OH-C<sub>21</sub>-Säure</b>	0,14	0,07	0,06	0,08	0,00	0,07	0,09	0,04	0,09	0,14	0,09	0,08
<b>2-OH-C<sub>22</sub>-Säure</b>	1,98	1,68	1,33	1,70	1,06	1,49	2,19	0,89	1,98	2,83	1,88	1,69
<b>2-OH-C<sub>23</sub>-Säure</b>	3,61	0,88	0,84	0,77	0,42	1,79	1,78	0,81	0,94	1,32	0,10	0,89
<b>2-OH-C<sub>24</sub>-Säure</b>	4,54	2,84	2,12	4,23	1,45	3,77	5,26	1,58	4,65	7,85	4,77	2,76
<b>2-OH-C<sub>25</sub>-Säure</b>	0,44	0,09	0,11	0,26	0,00	0,26	0,39	0,10	0,32	0,59	0,36	0,16
<b>2-OH-C<sub>26</sub>-Säure</b>	1,96	0,23	0,42	2,49	0,37	1,23	0,78	0,31	2,41	2,72	1,71	0,66
<b>Campesterol</b>	0,29	0,16	0,75	0,71	0,19	0,72	0,39	0,21	0,85	0,82	0,87	0,39
<b>Stigmasterol</b>	0,10	0,08	0,28	0,28	0,17	0,13	0,30	0,10	0,41	0,31	0,34	0,16
<b>Taraxerol</b>	0,32	0,71	0,91	0,35	0,38	0,45	0,49	0,55	0,47	0,35	0,44	0,46
<b>δ-Amyrin</b>	0,41	0,60	0,53	0,44	0,74	0,40	0,32	0,59	0,40	0,46	0,54	0,55
<b>β-Amyrin</b>	13,89	17,28	13,99	18,27	18,24	12,56	13,54	18,16	13,79	12,78	14,96	14,55
<b>Σ β-Sitosterol + Germanicol</b>	0,38	0,79	2,08	1,15	0,41	0,77	1,75	0,75	2,28	2,10	1,86	0,79
<b>Glutanol</b>	4,18	5,17	5,61	4,17	4,23	5,47	6,29	5,90	5,18	4,46	5,75	5,09
<b>Σ Isobauerenol + Isomultiflorenol</b>	0,76	0,73	1,25	0,45	0,73	0,93	0,85	1,10	0,89	0,94	0,64	1,22
<b>α-Amyrin</b>	14,12	20,96	17,80	17,67	23,83	15,67	15,39	23,68	16,54	16,59	19,25	18,25
<b>Lupeol</b>	11,54	11,34	5,39	14,14	6,81	4,52	6,51	6,84	4,99	4,91	6,14	5,73
<b>Peak 29</b>	1,91	1,37	0,16	2,67	0,15	0,14	0,37	0,15	0,10	0,26	0,31	0,11
<b>Multiflorenol</b>	0,33	0,26	0,31	0,54	0,58	0,52	0,24	0,15	0,40	0,43	0,42	0,42
<b>ψ-Taraxasterol</b>	0,32	0,74	0,19	0,40	0,79	0,37	0,16	0,18	0,49	0,69	0,86	0,84
<b>Σ 3β-Friedelanol + Taraxasterol</b>	3,27	3,08	3,24	3,05	2,52	3,46	3,93	3,31	3,11	2,15	2,82	2,40
<b>Friedelin</b>	1,60	2,01	2,32	1,47	1,23	2,29	2,45	2,23	2,20	1,68	2,09	2,45
<b>nicht ident. Peaks</b>	4,88	4,80	5,34	4,80	5,18	5,19	6,90	5,14	5,39	2,19	6,46	4,34



**Tabelle K:** Prozentuale Verhältnisse der Komponenten in Fraktion 1 und 2 von 3 Auberginensorten

n-C<sub>x</sub>: n-Alkan, iso-C<sub>x</sub>: iso-Alkan, anteiso-C<sub>x</sub>: anteiso-Alkan, Säure n-C<sub>x</sub>: Fettsäure, C<sub>x</sub>-OH: Fettalkohol, 2-OH-C<sub>x</sub>-Säure: 2-Hydroxyfettsäure, jeweils mit x C-Atomen

Fraktion 1	13	14	15	Fraktion 2	13	14	15
n-C <sub>23</sub>	0,04	0,07	0,03	C <sub>24</sub> -OH	0,44	1,33	1,13
n-C <sub>24</sub>	0,05	0,06	0,03	C <sub>26</sub> -OH	0,91	2,79	1,53
n-C <sub>25</sub>	0,65	0,53	0,97	C <sub>27</sub> -OH	0,77	1,73	1,07
n-C <sub>26</sub>	1,32	0,82	0,02	C <sub>28</sub> -OH	3,37	9,55	4,54
iso-C <sub>27</sub>	0,03	0,03	0,07	C <sub>29</sub> -OH	0,41	1,01	0,51
n-C <sub>27</sub>	6,79	4,23	8,63	Säure n-C <sub>16</sub>	9,56	6,74	6,14
iso-C <sub>28</sub>	0,05	0,05	0,30	Säure n-C <sub>18</sub>	9,71	6,94	4,03
n-C <sub>28</sub>	2,48	1,58	1,84	Säure n-C <sub>20</sub>	0,61	1,07	1,39
iso-C <sub>29</sub>	1,40	0,53	1,46	Säure n-C <sub>21</sub>	0,26	2,33	0,70
anteiso-C <sub>29</sub>	0,17	0,09	0,29	Säure n-C <sub>22</sub>	1,82	2,15	2,75
n-C <sub>29</sub>	5,79	4,53	4,77	Säure n-C <sub>23</sub>	0,16	0,62	0,93
iso-C <sub>30</sub>	0,88	0,27	0,6	Säure n-C <sub>24</sub>	10,32	7,02	9,49
anteiso-C <sub>30</sub>	1,72	0,93	2,79	Säure n-C <sub>25</sub>	2,51	2,04	2,54
n-C <sub>30</sub>	3,43	2,34	2,49	Säure n-C <sub>26</sub>	12,18	9,56	10,35
iso-C <sub>31</sub>	5,53	2,52	5,11	Säure n-C <sub>27</sub>	2,40	2,04	2,95
anteiso-C <sub>31</sub>	1,30	0,79	1,26	Säure n-C <sub>28</sub>	6,84	8,69	8,97
n-C <sub>31</sub>	24,32	21,04	17,37	Säure n-C <sub>29</sub>	4,82	1,75	2,33
iso-C <sub>32</sub>	1,77	0,97	1,62	Säure n-C <sub>30</sub>	1,78	3,06	0,87
anteiso-C <sub>32</sub>	7,15	6,37	8,46	Säure n-C <sub>32</sub>	2,77	2,64	3,10
n-C <sub>32</sub>	6,12	6,20	5,51	2-OH-C <sub>22</sub> -Säure	0,25	1,82	0,68
iso-C <sub>33</sub>	4,29	3,86	4,84	2-OH-C <sub>23</sub> -Säure	0,17	–	1,22
anteiso-C <sub>33</sub>	2,02	2,62	2,41	2-OH-C <sub>24</sub> -Säure	0,64	1,06	5,73
n-C <sub>33</sub>	10,63	16,73	11,67	2-OH-C <sub>25</sub> -Säure	0,35	–	2,92
iso-C <sub>34</sub>	0,44	0,63	0,69	2-OH-C <sub>26</sub> -Säure	1,09	1,50	7,32
anteiso-C <sub>34</sub>	4,93	8,01	6,89	Stigmasterol	1,56	4,08	1,63
n-C <sub>34</sub>	0,98	2,08	1,94	β-Amyrin	4,25	1,56	0,90
iso-C <sub>35</sub>	0,45	0,86	0,72	β-Sitosterol*	1,81	2,46	1,29
anteiso-C <sub>35</sub>	0,48	1,02	0,84	α-Amyrin	2,95	2,72	1,68
n-C <sub>35</sub>	0,99	2,74	2,22	Lupeol	3,79	3,36	2,16
anteiso-C <sub>36</sub>	0,38	0,92	0,64	nicht ident. Peaks	11,50	8,38	9,15
n-C <sub>36</sub>	0,06	0,19	0,17				
Aldehyd-C <sub>26</sub>	0,14	0,18	0,11				
Aldehyd-C <sub>28</sub>	0,79	0,70	0,35				
Aldehyd-C <sub>30</sub>	0,25	0,23	0,15				
nicht ident. Peaks	2,18	5,28	2,74				

–: < 0,01

\* überwiegend β-Sitosterol mit geringem Anteil Germanicol

---

## Lebenslauf

**Name:** Stefan Bauer  
geboren am 9.12.1972 in Heilbronn

**Familienstand:** ledig

**Eltern:** Eduard Bauer  
Dorothea Bauer, geb. Rick

**Schulbildung:** 1979 bis 1983 Grundschulen in Heilbronn  
1983 bis 1992 Justinus-Kerner-Gymnasium in Heilbronn

**Hochschulreife:** 27.05.1992 am Justinus-Kerner-Gymnasium in Heilbronn

**Studium:** WS 1992 bis WS 1994 Chemie-Diplom  
WS1994 bis SS 1997 Lebensmittelchemie  
an der Universität Karlsruhe

**Praktisches Jahr:** 01.11.1997 bis 31.10.1998 am Chemischen und  
Veterinäruntersuchungsamt der Stadt Stuttgart

**Promotionsstudiengang:** WS 1999 bis WS 2002  
an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

**Prüfungen:** 14.10.1994 Diplom-Chemiker-Vorprüfung  
24.10.1995 Zwischenprüfung für Lebensmittelchemiker  
20.05.1997 Erste Staatliche Prüfung für Lebensmittelchemiker  
15.12.1998 Zweite Staatliche Prüfung für Lebensmittelchemiker

**Tätigkeiten:** 01.09.1999 bis 31.08.2000 Wissenschaftliche Hilfskraft  
01.09.2000 bis 31.12.2002 Wissenschaftlicher Mitarbeiter  
am Institut für Lebensmittelchemie der Westfälischen  
Wilhelms-Universität Münster  
  
seit 01.02.2001 Dozent für die Fächer „Biochemie der  
Ernährung“ und „Lebensmittelkonservierung“ an der Diätschule  
des St. Franziskus-Hospitals GmbH in Münster

**Praktika:** 01.09.1997 bis 31.10.1997 Praktikum im analytischen Labor der  
Deutschen Linoleum Werke in Bietigheim-Bissingen  
  
01.03.1999 bis 31.07.1999 Praktikum bei der Europäischen  
Kommission in der Generaldirektion XXIV (Verbraucherschutz  
und Verbraucherpolitik) in Brüssel, Belgien

**Beginn der Dissertation:** 01.09.1999 am Institut für Lebensmittelchemie der  
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster bei Herrn Prof.  
Dr. H.-P. Thier