



Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung
(Pflanzliche Nahrungsmittel)
DGQ e.V.

XXXVII. Vortragstagung

Qualität und Pflanzenzüchtung

4. - 5. März 2002
in Hannover

XXXVII. Vortragstagung,
Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung,
Pflanzliche Nahrungsmittel e.V.

ISBN 3-9805230-6-3

ISSN 1431-3596

Wissenschaftliche Leitung:

Prof. Dr. D. Treutter, Freising, Präsident

Prof. Dr. H. Bergmann, Jena

Dr. J. Habben, Hannover

Prof. Dr. T. Nilsson, Alnarp

Prof. Dr. B. Tauscher, Karlsruhe

Dr. U. Tietz, Potsdam

PD. Dr. E. Wisker, Kiel

Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung e.V.
Geschäftsstelle c/o Fachgebiet Obstbau
Technische Universität München
85350 Freising-Weihenstephan

Inhalt	III
Vorwort	VII
Methoden der Pflanzenzüchtung	
Qualitätsziele auf neuen Züchtungswegen bei landwirtschaftlichen Kulturpflanzen, <i>G. Wenzel</i>	1
Möglichkeiten der gezielten züchterischen Beeinflussung bioaktiver Inhaltsstoffe in pflanzlichen Nahrungsmitteln, <i>G. Forkmann</i>	11
Getreide	
Züchterischer Fortschritt der Backqualität von Roggen, <i>J.-M. Brümmer, M.G. Lindhauer</i>	19
Qualitätswinterweizen für den ökologischen Anbau unter regionalen Gesichtspunkten, <i>K.-J. Müller</i>	31
Agronomische und qualitative Merkmale von Emmer (<i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>dicoccum</i>), <i>H. Grausgruber, R. Tumbold, P. Lassnig, P. Ruckebauer</i>	41
Effects of <i>Fusarium</i> on protein and bread quality of winter wheat, <i>H.H. Permay, E. Pawelzik, G.A. Wolf</i>	51
Gewicht, Durchmesser und Härte von Weizen-, Roggen- und Triticalekörnern aktueller Sorten, <i>W. Flamme, G. Jansen, M. Jugert</i>	55
Untersuchungen zum Standorteinfluss auf die Kleberqualität deutscher und sibirischer Sommerweizensorten in einem Vergleichsversuch Osnabrück (D) – Barnaul (RUS), <i>L. Jäger und D. Trautz</i>	61
Bestimmung der Aktivität stärkeabbauender Enzyme im Getreide, <i>S. Seddig, R. Schmidt, W. Flamme</i>	67
Mineralstoffgehalte und Kleberzugfestigkeit von Winterweizen in Abhängigkeit von Sorte und biologisch-dynamischem Kieselpräparat, <i>I. Hagel, S. Haneklaus, E. Schnug und H. Spieß</i>	75
Content, Composition and Characteristics of Pentosans (Arabinoxylans) in Rye Grain, <i>H.-U. Jürgens, W. Flamme, G. Jansen</i>	81
Kartoffel	
Stärkequalität – eine Herausforderung für die Kartoffelzüchter, <i>N.U. Haase</i>	87
Potato tubers quality during storage: starch, protein and mineral content, <i>E. Pardede, E. Pawelzik</i>	97
Bedeutung der Sorte und der Anbauweise für die Glykoalkaloide und Nitratakkumulation in Kartoffeln und in Kartoffelprodukten, <i>J. Prugar, J. Zrůst,</i>	101
Ölpflanzen	
Qualitätentwicklungen in der Rapszüchtung, <i>C. Möllers</i>	107
Untersuchungen zur genetischen Variabilität des Tocopherolgehaltes in Winterraps, <i>V. Marwede, C. Möllers, H. C. Becker</i>	117

Glucosinolate in konventionellem Raps und Hybridraps unter dem Einfluss des <i>pat</i> -Gens und einer Glufosinatapplikation, <i>R. Rothe, H. Hartung, G. Marks, H. Bergmann, F. Schöne</i>	121
Qualitätsmerkmale in der Hanfzüchtung, <i>U. Kriese, E. Schumann, A. Peil, W. E. Weber, E. Grimm, H. Rennebau, W. Gans, B. Mathäus, L. Brühl</i>	127
Gemüse	
Innenbrand und Mineralstoffgehalte verschiedener Sorten Eis- und Kopfsalat aus biologisch-dynamischem Anbau, <i>I. Hagel, S. Haneklaus und E. Schnug</i>	133
Indolglucosinolate – Stoffe mit antikanzerogener Wirkung. Übersicht über das Potenzial einiger z. Z. im Anbau befindlicher Kohlsorten, <i>W. Schürze, F. Marthe</i>	141
Qualitätserzielung und -erhaltung durch zielorientierte Ausnutzung des genetischen Potenzials bei Spinat, <i>A. J. Keutgen</i>	149
Produktions- und ernährungsphysiologische Evaluierung neuer Artischockensorten, <i>L. Halter, R. Habegger, W.H. Schnitzler</i>	153
Physiologische Grundlagen zur Züchtung auf Kältetoleranz bei Bohne (<i>Phaseolus vulgaris</i>), <i>A. Saied, N. Keutgen, G. Noga</i>	159
Schärfe und Austrieb von Zwiebeln (<i>Allium cepa</i>) während der Lagerung, <i>J. Resemann, G. Bufler, R. Carle, H.-P. Liebig</i>	163
Samenfesten Sorten oder Hybriden – Untersuchungen an Speisemöhren aus einem Anbauvergleich an zwei Standorten des Ökologischen Landbaus, <i>M. Fleck, F. Sikora, C. Rohmund, M. Gränzdröffer, P. von Fragstein, J. Heß</i>	167
Isocumarinengehalt und Geschmack von Möhren, <i>E. Höhn, S. Gysin, B. Guggenbühl, U. Künsch, S. Mattle, H. Schärer, F. Hesford, K. Schneider</i>	173
α - und β -Carotiningehalt von Möhren: Sorten-, Standort-, Jahres- und Lagerungseinfluss, <i>U. Künsch, E. Höhn, H. Schärer, F. Hesford, K. Schneider</i>	179
Genetische Veränderung von Proteingehalt und Trypsininhibitoraktivität bei Sojabohnen früher Reifegruppen, <i>J. Vollmann, H. Wagentristsl, P. Michele</i>	183
Obst und Reben	
Fruchtqualität – das entscheidende Kriterium in der Apfelzüchtung, <i>M. Kellerhals, E. Höhn, B. Guggenbühl, R. Liebhard</i>	189
Möglichkeiten der Qualitätssteigerung durch Klonenselektion bei Reben am Beispiel des Blauen Spätburgunders, <i>E. H. Rühl, H. Konrad, B. Lindner</i>	197
Sortenschutz bei Obst - rechtlicher Rahmen für Züchtungsfortschritt und Qualitätsverbesserung, <i>E. Schulte</i>	201
Schwefeldioxid-Gehalt von ausgewähltem Trockenobst, <i>H. Taschan</i>	205
Fluoreszenz-Anregungs-Spektroskopie zur Bestimmung der Qualität von Äpfeln aus ökologischem Anbau, <i>J. Strube, P. Stolz</i>	209
Zur Wirksamkeit biodynamischer Präparate: Gehalte an Gesamtprotein und freien Aminosäuren bei Äpfeln in Abhängigkeit von den Kulturbedingungen, <i>P. Stolz, J. Strube</i>	215

Heilpflanzen

Agromische und pharmakologische Qualitätsmerkmale bei der Züchtung von Johanniskraut (<i>Hypericum perforatum</i> L.), J. Nebelmeir, E. Mann, G. Forkmann und E. F. Elstner	221
Enzymatischer Abbau endogener Pflanzeninhaltsstoffe in <i>Echinacea purpurea</i> (L.) Moench und <i>Cynara scolymus</i> L., B. Nüßlein, U. Sußner und W. Kreis	229
Anwendbarkeit der Diamant-ATR-IR-Technik bei der Qualitätsbewertung von Medizinal- und Gewürzdrogen, H. Schulz, R. Quilitzsch	239
Bioverfügbarkeit und Pharmakokinetik von Quercetinglykosiden im Menschen, E.U. Graefe, J. Wittig, S. Müller, A.-K. Riethling, B. Drewelow, H. Pforte, G. Jacobasch, H. Derendorf und M. Veit	245

Technologie

Aktuelle agrar- und verbraucherpolitische Maßnahmen und Einflüsse auf die Getreideverarbeitung, K. Münzing	253
Universal-Mikrobackversuch für Mehle mit Roggen- oder Weizen-Eigenschaften, R. Kieffer, P. Schieberle	265
Bedeutung von Ascorbinsäure bei der Brotherstellung, P. Köhler	271
Einfluss der Sorte und der Technologie auf den Carotinoidgehalt von Karottensäften, E. Schöppl, H. Dietrich, M. Ludwig, P. Paschold, P. Dietrich	279

Analysenmethoden

Geschmacksverbesserung als Ziel in der Pflanzenzüchtung, E. Hoberg, D. Ulrich	289
Möglichkeiten und Nutzen von spektrometrischen Methoden in der qualitätsorientierten Züchtung bei Obst und Gemüse, R. Quilitzsch	297
Weizenzüchtung auf hohe technologische Qualität durch induzierten Schwefelmangel?, I. Hagel	307
Wheat quality: Mycotoxins, moulds and X-ray absorption near edge structure spectroscopy of gluten proteins, B. Birzele und A. Prange	313
Der Einsatz eines NIRS-Netzwerkes als Grundlage für Qualitätsentscheidungen in Sortenversuchen, Tilmann P. und Rentel D.	323
Getreide- und Stärkeanalytik mit züchtungsrelevanten rheologischen Methoden, G. Jansen, W. Flamme	327
Instrumentelle und sensorische Analyse der Aromastoffe von gekochtem Spargel (<i>Asparagus officinalis</i> L.), D. Ulrich, E. Hoberg	331
Aroma-Monitoring mit Hilfe von Schnellmethoden in der Obst- und Gemüsezüchtung, D. Ulrich, E. Hoberg, T. Nothnagel, H. Roberg, H. Boularot	335
Entwicklung von NIRS-Kalibrierungen für die Bestimmung von Sinapoylverbindungen im Raps (<i>Brassica napus</i> L.), T. zum Felde, H. Becker, C. Möllers	341

Stichwortverzeichnis	347
----------------------	-----

Autorenindex	348
--------------	-----

Vorwort des Präsidenten

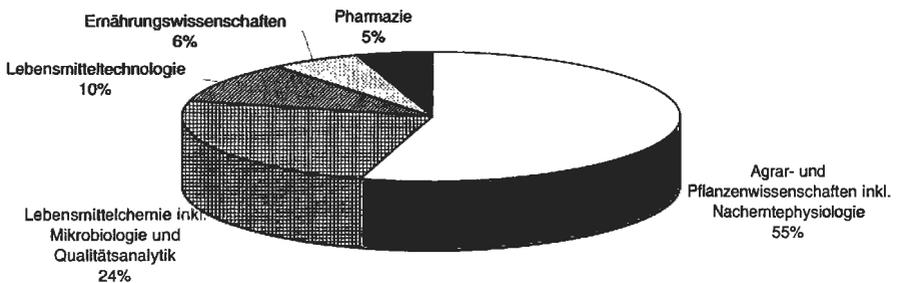
Die Qualität pflanzlicher Nahrungsmittel, die eine wesentliche Grundlage richtiger Ernährung bildet, wird durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst, mit denen sich die Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung (Pflanzliche Nahrungsmittel) e.V. in zahlreichen Tagungen intensiv auseinandergesetzt hat. Umweltbedingungen, Kulturtechnologien, Pflanzenschutzmaßnahmen und die Verarbeitung bestimmen den äußeren wie auch den inneren Wert der Nahrung. Haltbarkeit, Lagerfähigkeit, Eignung für die Verarbeitung sowie die ernährungsphysiologische Qualität und die in jüngster Zeit erkannten gesundheitsfördernden, bioaktiven Inhaltsstoffe sind die zentralen Aspekte im Mittelpunkt unseres Interesses. Die vorliegende Publikation befasst sich mit dem primären Einflussfaktor auf die Qualität, mit der Züchtung der Nahrungspflanzen. In zahlreichen Beiträgen stellen Spezialisten auf den unterschiedlichsten Gebieten den aktuellen Stand und die zukünftigen Möglichkeiten einer qualitätsorientierten Pflanzenzüchtung dar. Behandelt werden landwirtschaftliche und gärtnerische Nutzpflanzen, von Getreidearten, Ölpflanzen, Kartoffel über Gemüse und Obst bis zu Heil- und Gewürzpflanzen.

In diesen Band integriert sind auch Publikationen der von der DGQ ausgezeichneten Nachwuchswissenschaftler Ulrike Gräfe, Birgit Nüßlein, Barbara Birzele und Alexander Prange.

Allen Mitwirkenden und insbesondere dem Organisator, Herrn Dr. Habben, spreche ich auf diesem Weg herzlichen Dank aus für die gelungene und sehr informative Veranstaltung, die zwar unter einem Generalthema stand, aber, wie gewohnt, haben wir versucht, das weitreichende Interessensfeld der DGQ abzudecken. Auf die breite Fachkompetenz der Mitglieder unserer wissenschaftlichen Vereinigung sind wir besonders stolz, reicht sie doch über die Agrar- und Pflanzenwissenschaften hinaus zur Lebensmittelchemie und Mikrobiologie, zur Lebensmitteltechnologie, zu den Ernährungswissenschaften und zur Pharmazie. Diese Stärke wünsche ich der DGQ auch für künftige Veranstaltungen.

Freising-Weihenstephan, im März 2002

Prof. Dr. habil. Dieter Treutter
Präsident der DGQ



Fachkompetenz der DGQ-Mitglieder



Qualitätsziele auf neuen Züchtungswegen bei landwirtschaftlichen Kulturpflanzen

Gerhard Wenzel

Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung
Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt
Technische Universität München

Aiming for quality characteristics in agricultural crops via new breeding strategies

Today we are so well supplied with food in Europe that we do not think further progress in plant production be necessary. Classical genetics provided the foundation for successful varieties but with the increasing number of breeding aims, classical breeding tends to become too slow. Thus, it is good luck that biotechnology offers new tools with cell culture and genomics. Only through employment of these means will man continue to be more imaginative than trial and error approaches of pathogenes, more efficient as pre-determined in the metabolism and more anthropocentric than the biocentric evolution. As direct outcome of modern plant breeding strategies wich combine classical and gene technological methods, consumers are supplied with healthy crops of increased quality.

G. Wenzel, WZW, TUM, LS Pflanzenbau u. Pflanzenzüchtung. Alte Akademie 12, D-85350 Freising-Weihenstephan, gwenzel@wzw.tum.de

Einführung

Mit dem Wandel der Biologie vom Deskriptiven zum Konstruktiven erleben wir seit den 80er Jahren einen spannenden Paradigmenwechsel. Wegen der ungeheueren Komplexität des Lebendigen gelingt dieser Wechsel 100 Jahre später als in Chemie und Physik und wäre ohne die sich parallel entwickelnde Informationstechnologie nicht umsetzbar. Jetzt wird ausgehend von der Genomik, der Gensequenzierung, die Proteomik möglich und diesem Umsetzen von genetischer Information in Proteine folgen mit der Metabolomik Möglichkeiten, den Metabolismus kontrolliert zu regulieren und damit auch Schritte in Richtung erwünschter Nahrungsqualität zu gehen. Diese anwendungsorientierte Umsetzung vollzieht sich überraschend schnell im Bereich *Homo sapiens* und der zugehörigen Human-Medizin, aber auch im angewandten Sektor der Botanik, den Agrarwissenschaften, sind die Möglichkeiten erkannt. Dank der überzeugenden Leistungen bei der Produktion unserer Grundnahrungsmittel sind wir allerdings so satt, dass vielen ein weiterer Fortschritt in der Pflanzenproduktion unnötig erscheint, obwohl ein immer umweltbewussterer Verbraucher eine immer bessere Nahrungs

qualität verbunden mit einer größtmöglichen gesundheitlichen Sicherheit fordert. Unabhängig davon ist weiterer Züchtungsfortschritt gefragt, weil sich die Pflanzenproduktion in einem dynamischen Umfeld abspielt, in dem z.B. Schädlinge und Krankheiten mit immer neuen Typen die Widerstandsfähigkeit resistenter Sorten überwinden. Veränderte Virulenzen, verstärktes Umweltbewusstsein und eine immer globalere Konkurrenz sorgen dafür, dass sich ein Züchter nie auf dem Erreichten ausruhen kann, sondern stets mit modernstem Instrumentarium versuchen muss, schneller zu sein als das Milliardenheer der Schadorganismen, das uns mit immer neuen Mutanten die Nahrung streitig macht, effizienter als im Stoffwechsel vorgeben und hinreichend anthropozentrisch in einer dynamischen Evolution. Entsprechend erlaubt die moderne Züchtung heute, dem Landwirt Saatgut mit hoher Qualität und damit letztendlich dem Verbraucher optimale pflanzliche Grundnahrungsmittel oder sogar Functional Food und Nutraceuticals zu liefern. Dabei werden auch Strategien zur Nachhaltigkeit und Biodiversität verlangt (Tab. 1).

Klassische Züchtung

In den vergangenen 10 000 Jahren hat der Mensch, der als Ackerbauer den Sammler und Jäger ablöste, aus unscheinbaren Wildpflanzen durch Auslese-, Kombinations- und Hybridzüchtung unsere heutigen Kulturpflanzen geschaffen. Die Erträge stiegen von unscheinbaren 3 dt/ha auf Durchschnittswerte von über 70 dt/ha beim Weizen. Dabei war es nie die Züchtung allein, die den heutigen Leistungstand brachte - die Pflanzenproduktion wird gemeinsam von den Säulen Ackerbau, Agrochemie und Züchtung etwa gleichstark getragen.

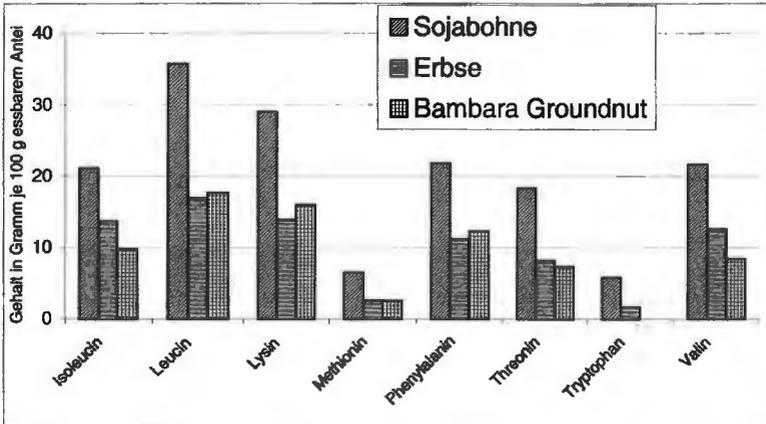
Tabelle 1: Ziele klassischer und gentechnischer Züchtung

1. Resistenz gegen:	Krankheiten	Viren Bakterien Schadpilze Schadinsekten
	abiotischen Stress	Wassermangel Hitze Salze
2. Veränderung von Inhaltsstoffen:	primäre	Stärke/Zucker Fette/Öle Proteine
	sekundäre	Pharmazeutika Vitamine
3. Verbesserung der Leistung:	Energie	Photosynthese
	Nährstoffaufnahme	Stickstoff
	Stofftransport	Nährsalze
4. Sicherung der Biodiversität:	Erhalt der Gene (nicht der Genotypen)	

Der Prozess der Selektion auch ganz neuer Fruchtarten ist nicht abgeschlossen; so wurde erst in den letzten 10 Jahren die Kreuzung zwischen Weizen und Roggen, Triticale zu einem wichtigen Futtergetreide, das vor allem in der Geflügelmast begehrt ist. Zuletzt hat das BSE Problem den Europäern ihre starke Abhängigkeit von pflanzlichen Proteinen, die vorzugsweise aus den USA in Form von Soja kommen, deutlich gemacht. Mit 7-8 Mio t europäischer Erzeugung wird lediglich ein Drittel des Bedarfs gedeckt. Hier liegen sicherlich gute Entwicklungsmöglichkeiten für Erbse und Bohne, bei denen dann natürlich die Proteinqualität zentrales Zuchtziel werden muss. Außerhalb Europas würde durch die Bearbeitung bisher

vernachlässigter Leguminosen, wie z.B. der Bambara groundnut (*Vigna subterranea* L.) dem Qualitätsziel ebenfalls entsprochen werden können, bei gleichzeitiger Erfüllung der Forderung nach Erhalt der Biodiversität. Der Gehalt wichtiger Aminosäuren der erwähnten Leguminosen ist in Abb. 1 wiedergegeben. Aus der Abbildung wird deutlich, dass es nicht leicht sein wird, die Sojabohne mit ihrer hohen Kombination essentieller Aminosäuren durch andere Leguminosen zu ersetzen.

Abbildung 1: Gehalte wichtiger Aminosäuren in Soja, Erbse und Bambara Ground Nut



Generell kommt der Züchtung auf Produktqualität immer dann Bedeutung zu, wenn eine spezielle Verwertungsrichtung bestimmte Anforderungen stellt. Gut gelungen ist dies z.B. bei der Gerste, wo Brau- und Futtergersten deutlich andere Proteingehalte fordern, und Züchtung und Pflanzenbau diese Forderungen gut erfüllen. Bei derartigen genetischen Überlegungen darf nicht außer Acht gelassen werden, dass neben dem Kerngenom auch im Cytoplasma genetische Information gespeichert ist, die sich z.B. auf den Stärkegehalt der Kartoffel deutlich auswirkt (Lössel et al. 2000). Je nach Vorliegen eines von zwei Plastidentypen in Kombination mit einem von sechs Mitochondriengenomen differiert der Stärkegehalt um bis zu 20%.

In der Regel genügt es für den Aufbau einer erfolgreichen Sorte nicht, eine einzige Eigenschaft zu verbessern, zentrale Leitkriterien für moderne Züchtungsstrategien sind die optimale Kombination von Produktqualität und Pflanzengesundheit bei höchstmöglicher Ertragsicherheit. Unter ökonomischem und ökologischem Druck haben sich so die Schwerpunkte in der Pflanzenzüchtung verschoben: Die Arbeit konzentriert sich nicht mehr auf das Ziel Maximalertrag sondern auf Sorten die eine sichere Ernte garantieren; nicht mehr auf irgendeinen Kurzzeitzutzen sondern auf Reproduzierbarkeit und Nachhaltigkeit.

Für die Genetik als Grundlage der Züchtung bedeutet dies die Arbeit mit immer komplexeren Merkmalen und damit die Hinwendung zu immer schwerer zielorientiert umzusetzenden Erbgängen. Der Zeitraum zwischen grundlegenden züchterischen Arbeiten und der Markteinführung der resultierenden neuen Sorte wird immer länger und damit teurer. Dauerte die Einzüchtung einer Eigenschaft, die nur auf einem einzigen klar definierten Gen beruht, bereits leicht 10 – 15 Jahre, muss der Züchter für die sichere Einlagerung oder gar die Kombination komplexer Merkmale leicht die doppelte Zeit einkalkulieren – zumindest wenn er das Ziel mit rein klassischen Verfahren angeht. So ist es ein glücklicher Umstand, dass die klassische

Züchtung durch die Biotechnologie mit ihren beiden Teilgebieten Zellkultur und Genomik eine Erweiterung erfahren hat.

Zellkulturtechniken

Mit schneller Vermehrung, Haploidtechniken und Zellfusion haben Methoden in die Züchtung Eingang gefunden, die es gestatten, einen wichtigen Genotyp effizient zu vermehren, in einer Generation homozygote Linien durch Verdopplung von Hapliden aufzubauen und vor allem bei vegetativ vermehrten Pflanzen in somatischen Hybriden die Eigenschaften beider Eltern ohne Meiose zu addieren. Zellkulturtechniken spielen aber auch in der Genomik eine entscheidende Rolle: Sie erlauben es zum einen, in Doppelhaploid-Populationen, in denen die heterozygoten Individuen folglich fehlen, sicherer Gene und molekulare Marker zu lokalisieren, und zum anderen aus einer einzigen transformierten Zelle eine insgesamt transformierte Pflanze zu regenerieren. Vor allem bei Monokotylen ist gerade dieser Regenerationsschritt eine entscheidende Hürde beim effizienten Einsatz des Gentransfers.

Gentransfer

Für den erfolgreichen Gentransfer gilt, dass man das zu übertragende Gen als DNA zur Verfügung haben und eine Methode besitzen muss, mit der sich die klonierte DNA in das Genom der Empfängerpflanze einbauen lässt. All diese Fragen sind in der Grundlagenforschung prinzipiell gelöst. Es sei angemerkt, dass von den ca. 25 000 Genen, die in einer Kulturpflanze vorliegen, nur ca. 10 Gene auf gentechnischem Weg ins Genom gelangen werden. Die Gentechnik veredelt ein bereits gutes Genom. Dies bedeutet, dass bei allen gentechnischen Strategien die klassische Züchtung nie ausgeklammert werden kann. Nachdem die Genübertragung bei Pflanzen mittels des Vektors *Agrobacterium tumefaciens* für ein weites Fruchtartenspektrum reproduzierbar gelöst ist, stellt sich derzeit vor allem die Forderung nach Bereitstellung von wichtigen Genen.

Tabelle 2: Genomgröße ausgewählter Organismen

Viren	1 000 b	= 1 Buchseite á 1 000 Buchstaben
Bakterien	1 000 000 bp	= 1 Buch á 1 000 Seiten
Mensch	3×10^9 bp	= Bibliothek mit 3 000 Büchern
<i>Arabidopsis</i>	$1,3 \times 10^8$ bp	= 130 Bücher
Reis	5×10^8 bp	= 500 Bücher
Gerste	5×10^9 bp	= 5 000 Bücher
Mais	5×10^9 bp	= 5 000 Bücher
Weizen	16×10^9 bp	= 16 000 Bücher

Es ist inzwischen relativ einfach, Gene zu isolieren, die monogenisch für ein Produkt kodieren; sehr viel schwieriger ist es, Gene für komplexe Eigenschaften zu isolieren. Die Züchtung mit monogenen Eigenschaften gelingt auch klassisch recht gut, weshalb der Bedarf vor allem auf Seiten polygen vererbter Eigenschaften liegt. Hier müssen noch einfallreich Wege für eine aussichtsreiche Nutzung entwickelt werden. Zentrales Problem ist die enorme Größe pflanzlicher Genome (Tab. 2), das sicherlich nicht allein durch weitere Totalsequenzierungen zu überwinden ist.

Nach ersten transgenen Sorten mit Herbizid- und/oder Insektenresistenz gelingt es jetzt in der zweiten Generation zu übertragender Zielgene, mit Genen zu arbeiten, die für ganz bestimmte Stoffwechselprodukte kodieren und damit erwünschte Qualitäten erzeugen. In Zusammenhang mit der Nahrungsqualität ist bei Reis mit dem Provitamin-A-haltigen „Golden Reis“ ein Durchbruch gelungen (Ye et al. 2000). Folgen werden Gene, die zur männlichen Sterilität führen und damit bei Weizen, aber auch bei Weizen, Reis und Gerste die Hybridzüchtung erleichtern. 2002 werden die ersten Kartoffeln mit gentechnisch erhöhtem Zeaxanthin Gehalt im Gewächshaus getestet. Weitere Objekte, die vor allem unter dem Qualitätsaspekt eine wichtige Rolle spielen sind in Tabelle 3 zusammengefasst:

Tab. 3: Ziele für Qualitätsveränderungen bei transgenen Pflanzen

Veränderte Pflanze	Eigenschaft	Fremdgen	Herkunft
Kartoffel	Cyclodextrin	Cyclodextrin Transferase	<i>Klebsiella</i>
	mehr Cytochrom	Cytochromoxidase	<i>Arabidopsis</i>
	Zeaxanthin	Zeaxanthin-Epoxidase (zep)	Kartoffel
	andere Kohlehydrate	Antisense/Cosuppression z.B. ADP Glucosepyro- Phosphorylase	<i>Echerichia coli</i>
Luzerne	neue Serumalbumine		<i>Homo sapiens</i>
	besseres Protein	Hühnerovalbumin	Huhn
Raps	besseres Protein	Lauryl-Tjhiosterase	Lorbeer
	Enkephalin	chimäres Gen	Mensch/ <i>Arabidopsis</i>
	andere Fettsäuren		Rapsverwandte
Reis	Vitamin A	3 Gene des Carotinoidwegs	<i>Narcissus/Erwinia</i>
	Allergen minus	Antisense	Reis

Gesunde Pflanze

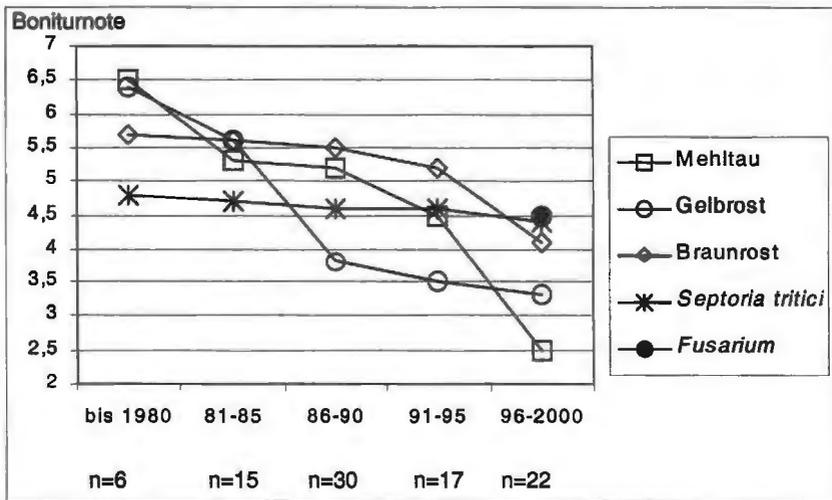
Gesunde Pflanzen sind die erste Bedingung für gute Produktqualität. Ist die Pflanze gesund, wird sie die erwünschten Nährstoffe in der zuvor ermittelten Konzentration enthalten. Die prophylaktischste Form des Pflanzenschutzes liefert die Resistenzzüchtung, die dafür sorgt, dass eine Sorte aufgrund ihrer genetischen Konstitution gar nicht erst krank werden kann. Die dauerhafte Einlagerung von Resistenzen ist somit das zentrale Ziel pflanzlicher Züchtungsforschung. Sorten mit guter Resistenz gegen Krankheiten sichern nicht nur den Ertrag beim Landwirt, sondern auch die Qualität beim Verbraucher. In der Regel haben genetisch resistente Pflanzen den zusätzlichen Vorteil, dass weniger chemischer Pflanzenschutz ausgebracht werden muss, was auch ökologisch erwünscht ist.

So finden sich im Bereich der Resistenzzüchtung in den letzten Jahren die deutlichsten Fortschritte u.a. bei der wichtigsten Fruchtart, dem Weizen (Abb. 2). Besonders schnelle Erfolge waren dort zu verzeichnen, wo die Resistenzreaktion auf einem definierten Gen beruht, das folglich zu einer qualitativen Reaktion führt (Mehltau und Roste). Bereits am Anfang der molekulargenetischen Arbeiten bei Nutzpflanzen spielte die Lokalisierung und Isolierung von Resistenzgenen eine zentrale Rolle. Besonders intensiv wurde der Mais und die Gerste bearbeitet. Für beide Fruchtarten existieren umfangreiche molekulare Genkarten, auf denen die meisten wichtigen Resistenzgene und eine große Zahl quantitativer Merkmale lokalisiert sind. Auch für den Weizen liegen zahlreiche Molekulare Marker vor, mit denen sich z.B. 15 divergente Mehlauresistenzgene spezifisch nachweisen lassen. Aufgrund der Verfügbarkeit von PCR-gestützten Nachweisverfahren ließen sich entsprechende Marker schnell in der Züchtung

tungspraxis für die Selektion einsetzen. So wurden bei der Saatzucht Schweiger, Feldkirchen, die drei Mehltaresistenzen *Pm1c* (auf Chromosom 7AL), *Pm24* (auf Chromosom 1DS) und *Pm29* (auf Chromosom 7DL) in einer vielversprechenden Linie marker-gestützt pyramidiert. Dem Züchter ist jetzt ein Werkzeug in die Hand gegeben, mit dem er früh, auch bei Ausbleiben eines sichtbaren Merkmals, das gesuchte Gen identifizieren kann. Rein klassisch, ohne die marker-gestützte Selektion wäre die Genkombination kaum möglich gewesen. Wegen des Zusammenwirkens mehrerer Abwehrgene, sollte diese Resistenz dauerhafter sein, als wenn nur ein Resistenzgen eingelagert worden wäre.

Weiterhin hilft ein immer besseres Wissen über die Reaktionen von Wirkstoffen in den Pflanzenschutzmitteln auf dem Weg zu gesunden Ernten. Auch dabei zeigen genetische Untersuchungen, welche Gene nach einem Pathogenbefall eingeschaltet werden. Bei der Kartoffel wurden mit differentiellen DNA-Techniken in einer Plasmidbibliothek 23 induzierte Gene gefunden von denen 13 ein Funktionshomologie zu bekannten Genen, z.B. zu den LRR Domänen besitzen (Wenzel et al. 1999). Es wird somit immer besser möglich endogen durch Veränderung des Genoms bzw. exogen durch spezifische Wirkstoffentwicklung den Metabolismus der Pflanze gezielt gegenüber Stress zu stärken.

Abbildung 2: Abnahme der Anfälligkeit von Weizen gegenüber wichtigen Schadpilzen



Es ist viel schwieriger Gene zu analysieren, die eine quantitative Ausprägung besitzen und die in der Regel oligogen oder polygen bedingt sind, wie bei der Taubährigkeit (*Fusarium*) oder der Spelzenbräune (*Septoria*). Fusarien geben Deoxynivalenol (DON) und Zeralenon (ZON) in Lebensmittel ab (Tab. 4) und so hat die Einlagerung von *Fusarium*-Resistenz in der Weizenzüchtung höchste Priorität. Hier wird deutlicher Fortschritt sichtbar, so liegen jetzt für die schwer zu kontrollierenden Getreide-Fusariosen bei Weizen die ersten Genlokalisierungen vor. Auf den Weizenchromosomen 5A, 3B, 6B und 7B wurden je eine *Fusarium*-Resistenz lokalisiert. Damit ist es jetzt möglich bei dieser chemisch schwer zu bekämpfenden Ährenkrankheit zu resistenteren Sorten zu kommen (Wenzel et al. 2002).

Tab. 4.: Vorkommen von DON in Lebensmitteln (Lauber und Miedaner 2001)

Lebensmittel	Probenzahl	positive Proben %	Spannweite des Toxingehalts $\mu\text{g}/\text{kg}$
Weizenmehle	60	98	15 – 1379
		39	2 - 24
Brot Gebäck	96	83	15 - 788
Nudeln	29	93	15 - 1670
Babynahrung	25	60	15 - 314

Einblick in die Genfunktion

Ist die Genstruktur aufgeklärt, folgt die ungleich schwerere Aufgabe, der Struktur die Funktion zuzuordnen. Im Fall der Resistenzgene sind überzeugende Fortschritte erzielt worden nachdem inzwischen rund 20 Resistenzgene isoliert, geklont und nach Genübertragung in anfälligen Pflanzen Resistenz bewirkten. Aus den Versuchen leitete sich ab, dass die Evolution ist beim Aufbau von Resistenzgenen sehr ökonomisch vorgegangen ist und bewährte Nucleinsäure-Motive gut konserviert hat. So finden sich bei den bisher analysierten Wirt/Pathogenkombinationen ähnliche Grundprinzipien: ein Großteil der monogen wirkenden, eine Überempfindlichkeit hervorrufenden Resistenzgene kodiert für eine begrenzte Zahl ähnlicher Proteine, die auf die Signaltransduktion der Zellen wirken, transmembrane Aktivitäten und Nucleotidbindungsstellen besitzen (z.B. Kinasen, Leucin-reiche Repeats, Tab. 5). Die Proteine sorgen damit für die Informationsweitergabe von einem Zellkompartiment in ein anderes und für die Verbindung zur DNA. Die Gene scheinen weiterhin nicht völlig

zufällig im Genom verteilt sondern sind in Clustern angeordnet zu, so dass nach Kenntnis eines spezifischen Nucleotidmotivs eine Suchstrategie möglich wird. Mit Sonden für entsprechende Motive können die riesigen Genome nach entsprechenden Clustern durchsucht werden, was die Erfolgsaussichten aktive Resistenzgene zu finden deutlich erhöht. Allerdings ist nur ein Bruchteil dieser Motive dann ein wirklich aktives Gen. So kann sich eine Strategie eröffnen bei der nicht fremde Gene genutzt werden müssen, sondern durch Aktivitätsveränderung vorhandener Gene Regulationsproteine so geschaltet werden, dass ein gezielter Eingriff in den Stoffwechsel gelingt. Das präformierte Gen könnte das erwünschte Produkt in veränderter Konzentration oder abgewandelter Form in der Zelle bereitsteht. Offen bleibt derzeit, warum sehr ähnliche Gensequenzen einmal zu einem exprimierten Genprodukt führen und in anderen Fällen inaktiv bleiben. Diese Arbeiten, im Prinzip ein angewandter Weg in die Metabolomik, ist natürlich nicht auf den Resistenzkomplex alleine beschränkt und könnte im Qualitätsbereich Parallelen finden.

Schwieriger ist die Arbeit mit quantitativen Eigenschaften (QTL). Auch dafür haben sich in der Resistenzzüchtung neue Perspektiven aufgetan: Es sieht derzeit so aus, dass quantitative Unterschiede auf kleineren genetischen Unterschieden basieren als qualitativ vererbte;

Tabelle 5: Derzeit bekannte Funktionen von Resistenzgenen (Wenzel et al. 2002)

Gruppe Jahr	Gen	Wirt/Pathogen	Protein	
I 1993	<i>PTO</i>	Tomate/	Intrazelläres Serin/Membrangebundene Threonin Kinase	
		<i>Pseudomonas</i>		
1995	<i>PTII</i>		Serin/Threonin Kinase	
II 1994, 1999	<i>RPS2,4</i>	<i>Arabidopsis/</i>	Intrazelluläres Protein/LRR/Nukleotid Bindungsstelle	
		<i>Pseudomonas</i>		
	1995	<i>RPM1</i>		
		<i>PRF</i>		
	1996	<i>Mi</i>	Tomate/Nematoden	
	1998	<i>Meu-1</i>	<i>/Macrosiphum</i>	
	1998	<i>N</i>	Tabak/TMV	
	1994	<i>L2, 6, 10</i>	<i>Linum/Cochliobolus</i>	
	1995	<i>RP5</i>	<i>Arabidopsis/Peronospora</i>	
	1997	<i>RP14</i>		
	1996	<i>Pi-ta, Pib</i>	Reis/ <i>Magnaporthe</i>	
	1999, 2000	<i>Mla1</i>	Gerste/ <i>Erysiphe</i>	
	2001	<i>Bs2</i>	<i>Capsicum/Xanthomonas</i>	
	1999			
	III 1996	<i>I 2</i>	Tomate/ <i>Fusarium</i>	Transmembran Protein/extrazelluläre LRR
		<i>Cf-2, 4,5, 9</i>	Tomate/ <i>Cladosporium</i>	
1996		<i>Hs1</i>	Zuckerrübe/ <i>Heterodera</i>	
1997		<i>Ve1, 2</i>	Tomate/ <i>Verticillium</i>	
2001				
IV und	<i>Xa21</i>	Reis/	Transmembran Protein mit intrazellulärer Kinase	
	1995	<i>Xanthomonas</i>	extrazellulären LRR	
V 1997	<i>Mlo</i>	Gerste/ <i>Erysiphe</i>	Im Kern lokalisiertes transmembran Protein	

QTL könnten Allele eines qualitativen Locus sein. Würde sich diese Beobachtung bestätigen, so sollte auch für ähnliche Qualitätsparameter, die ja häufig einem quantitativen, komplexen Erbgang folgen, eine bessere Möglichkeit bestehen, entsprechende Genloci zu finden (Lübberstedt et al. 2002). Je komplexer die jeweilige Struktur ist und je schwieriger differierende Phenotypen (auf dem Feld und molekular) zu unterscheiden sind, desto größer müssen die Populationen sein, in denen die Unterschiede reproduzierbar lokalisiert werden können. Es muss folglich bedacht werden, dass sich der Aufwand für Untersuchungen an quantitativ vererbten Komplexen nur bei wenigen wirklich wertvollen Eigenschaften auszahlt.

Ausblick

Sicherlich wird nur die intelligente Kombination von klassischen und molekularen Ansätzen zu gesundem Ernten führen und das gros der 20 – 30 000 Allele – die Suppe - durch klassische Züchtung neu kombiniert. Neben der molekularen Gendiagnose kann die Gentübertragung als weiteres Werkzeug auf diesem Weg später die Rolle des Salzes in dieser Suppe übernehmen und die Effizienz der Pflanzenzüchtung weiter steigern. Die Gentechnik kann die klassische Züchtung nicht ersetzen; sie steigert lediglich deren Effizienz; sie lenkt die natürliche Evolution - ganz wie die klassische Züchtung - den Wünschen des Menschen entsprechend.

Es wäre bedauerlich, wenn die geniale Rolle der Biologie, die gerade mit Quantensprüngen die naturwissenschaftliche Vorreiterrolle von der Physik und Chemie übernimmt, in Europa verkannt bzw. auf nicht rein wissenschaftlicher Grundlage abgelehnt würde. Es sollten jeweils Einzelfallbewertungen vorgenommen werden um ethischen Überlegungen gerecht zu werden (Busch et al. 2002). Gerade der Einsatz der Gentechnik erlaubt es, umweltrelevante Forderungen zu erfüllen.

Gleichzeitig ist diese Forschung, die aufgrund ihrer Komplexität nur in enger Begleitung durch Datennetzwerke, durch die Bioinformatik, handhabbar bleibt, ein Beispiel für angewandte Biologie. Ziel ist somit sicherlich nicht nur die maßgeschneiderte Pflanze sondern auch der modellhafte methodische Fortschritt bei der Arbeit mit hochkomplexen Systemen.

Landwirt und Verbraucher werden von einer auf Grundlage der Gentechnik flexibleren Pflanzenproduktion mit Sorten und Lebensmitteln bedient, deren Menge und Qualität gezielt ihren Forderungen angepasst ist. Es muss betont werden, dass die Gentechnik nicht alle Probleme des Pflanzenbaus und im nachgeschalteten Lebensmittelsektor lösen kann. Ferner wird die Evolution dafür sorgen, dass die dauerhafte Züchtung von Superpflanzen, die gegen viele Krankheiten resistent sind und die zudem beste Qualitäten in sich vereinigt, auch in Zukunft durch besseres ersetzt werden muss und wird. Züchtung hört auch mit dem modernen Werkzeug Gentechnik nie auf.

Literatur

- Busch RJ, Haniel A, Knoepffler N, Wenzel G: Grüne Gentechnik ein Bewertungsmodell. H Utz Verlag, München 2002.
- Lauber U, Miedaner T, (eds): Fusariumtoxine: Vorkommen, Wirkung und Prophylaxe. Abschlußbericht DFG-Forschergruppe, Universität Hohenheim, 2001.
- Lössl A, Götz M, Braun A, Wenzel G: Molecular markers of cytoplasm in potato: male sterility and contribution of different plastid-mitochondrial configurations to starch

- production. *Euphytica* 116: 221-230 (2000).
- Lübberstedt T, Mohler V, Wenzel G: Function of genetic material: Genes involved in quantitative and qualitative resistance. *Prog. Botany*. 63: 80-105 (2002).
- Wenzel G, Lübberstedt T, El-Badawy M, Mohler V: Verteilung von Resistenzgenen im Genom von Gerste und Mais und die daraus folgenden Konsequenzen für die Züchtung. 52. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter Österreichs, Gumpenstein 2002 (im Druck).
- Wenzel G, Schwarz G, Thümmel F: Approaches to understand the action of genes responsible for disease resistance in plants. In: A. Denke et al. (eds) *Different pathways through life*. pp 299-317, Lincom 1999.
- Ye X, Al-Babili S, Klöti A, Zhang J, Lucca P, Beyer P, Potrykus I: Engineering the provitamin A (β -carotene) biosynthetic pathway into rice endosperm. *Science* 287, 303-305, 2000.



Möglichkeiten der gezielten züchterischen Beeinflussung bioaktiver Inhaltsstoffe in pflanzlichen Nahrungsmitteln

Gert Forkmann

Lehrstuhl für Zierpflanzenbau und Gartenbauliche Pflanzenzüchtung, TUM Freising-
Weißenstephan, 85350 Freising

Strategies for the improvement of bioactive phytochemicals in crop plants through plant breeding

There is increasing evidence for the health-promoting properties of flavonoids, such as antioxidant, antitumor, anti-inflammatory, vascular and oestrogenic activities. The manifold functions, complex diversity and wide occurrence have made flavonoids a very attractive system for genetic, chemical, biochemical and molecular biological studies. The gained knowledge has provided the know-how and the tools for successful classical and molecular breeding strategies including genetic engineering of the flavonoid pathway. The generation of crop plants with a qualitatively and quantitatively improved pattern of bioactive flavonoids, and in addition, of carotenoids through plant breeding is discussed.

Die positive gesundheitliche Wirkung pflanzlicher Lebensmittel insbesondere beim Schutz vor Krebs und Herzinfarkt ist auf eine Reihe von speziellen Inhaltsstoffen unserer Nahrungspflanzen zurückzuführen. Neben Vitaminen, Mineralstoffen und Ballaststoffen spielen dabei die sogenannten Sekundären Pflanzeninhaltsstoffe eine entscheidende Rolle. Als Sekundärmetaboliten mit bioaktiver Wirkung werden vor allem Vertreter aus der Gruppe der Carotinoide, Glucosinolate, Polyhydroxyphenole, Saponine, Sulfide und Terpene diskutiert.

Obwohl die der gesundheitsfördernden Wirkung zugrunde liegenden Mechanismen und physiologischen Vorgänge oft noch nicht ausreichend verstanden sind, ist es eine wichtige Aufgabe, die Gehalte an bioaktiven Inhaltsstoffen zu optimieren. In einigen wichtigen Nahrungspflanzen sind nur geringe Mengen an bioaktiven Inhaltsstoffen enthalten oder das Spektrum ist auf Vertreter aus ein oder zwei Gruppen begrenzt. In einem gewissen Rahmen können hier geeignete Anbaumethoden zu einer Verbesserung beitragen. Insbesondere ist es aber die Züchtung, die mit konventionellen und biotechnologischen Methoden Gehalt und Spektrum bioaktiver Inhaltsstoffe unseren Wünschen entsprechend beeinflussen kann. Dabei müssen allerdings auch die "Wünsche" der Pflanzen berücksichtigt werden.

Für eine erfolgreiche und gezielte züchterische Beeinflussung bioaktiver Inhaltsstoffe müssen einige wichtige Voraussetzungen erfüllt sein. Dazu gehören profunde Kenntnisse zur Genetik, Chemie, Biochemie, Molekularbiologie und Funktion der entsprechenden Verbindungen oder - im modernen Sprachgebrauch - zur Genomik, Proteomik und Metabolomik.

Im einzelnen geht es dabei um die:

- Identifizierung und Charakterisierung der betreffenden Inhaltsstoffe (Chemie)
- Aufklärung der Biosynthese bzw. des Abbaus dieser Verbindungen (Enzymologie)
- Identifizierung der beteiligten Gene und die Charakterisierung ihrer Expression (klassische Genetik, Molekularbiologie)
- Klonierung der Gene und regulatorischer Sequenzen für gentechnische Strategien (Molekularbiologie)
- Aufklärung der bioaktiven Wirkung (Funktion), wobei nicht nur die Gesundheit des Menschen, sondern auch die Funktionen in der Pflanze berücksichtigt werden müssen

Die bezüglich dieser Voraussetzungen wohl am besten untersuchte Gruppe bioaktiver Inhaltsstoffe sind die Flavonoidverbindungen, die zu den schon eingangs erwähnten Polyhydroxyphenolen gehören. Im folgenden sollen sie deshalb beispielhaft für alle anderen bioaktiven Verbindungen stehen.

Flavonoide haben vielfältige Funktionen in Pflanzen und für den Menschen. Zu den wichtigen Funktionen in Pflanzen gehören:

- die Blüten/Pflanzenfärbung (Anlockung und Abschreckung)
- der Schutz vor UV-Strahlung (Schirmpigmente)
- die Abwehr von Schaderregern (Resistenzfaktoren)
- die Fertilität und Pollenkeimung
- die Aktivierung der Nodulationsgene bei der N-Fixierung
- die Wirkung als Antioxidantien
- die Wirkung als Wachstumsregulatoren und Enzyminhibitoren

Für den Menschen steht der gesundheitliche Wert im Vordergrund. Zu nennen sind hier vor allem:

- die ästhetische, psychologisch wertvolle Wirkung der Färbungen
- die antioxidative und antikanzerogene Wirkung
- die antiatherosklerotische, antithrombogene und entzündungshemmende Wirkung
- die antivirale und antimikrobielle Wirkung
- die phytoöstrogene Aktivität der Isoflavonoide

Ihre außerordentlich weite Verbreitung, ihre strukturelle Vielfalt und ihre wichtigen Funktionen haben die Flavonoide zu einem sehr attraktiven System für genetische, chemische, enzymologische und molekularbiologische Untersuchungen werden lassen. Bisher sind mehr als 6400 verschiedene Verbindungen identifiziert, die alle eine gemeinsame Grundstruktur aufweisen. Sie besteht aus zwei mit A und B bezeichneten aromatischen Ringen und einem Heterozyklus mit O im Ring, der mit C bezeichnet wird (Abb. 1). Die Vielfalt kommt einerseits dadurch zustande, dass strukturelle Änderungen am Heterozyklus auftreten, was zu den verschiedenen Flavonoidklassen führt; andererseits kann das Grundmolekül jeder Flavonoidklasse weiter hydroxyliert und methyliert sowie in vielfältiger Weise glycosyliert und acyliert werden. Von den 6400 bekannten Flavonoidverbindungen wird bisher nur einigen eine bioaktive Wirkung für den Menschen zugeschrieben (Abb. 2). Sie gehören zu den Klassen der Flavone (Apigenin- und Luteolin-Derivate), der Flavonole (Kämpferol-, Quercetin- und Myricetin-Derivate) und der rot, violett bis blau gefärbten Anthocyane (Pelargonidin-, Cyanidin- und Delphinidin-Derivate). Von besonderer Bedeutung für die bioaktive Wirkung dieser Verbindungen ist auch das Hydroxylierungsmuster des B-Rings. Weiter wichtige Verbindungen sind die Flavanole (z.B. Catechin, Epicatechin und die Proanthocyanidine) sowie die Isoflavone (z.B. Genistein und Daidzein).

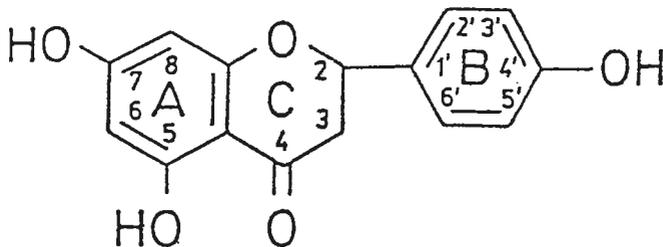


Abb. 1: Grundstruktur der Flavonoide am Beispiel des Flavanons Naringenin

Eine zusammenfassende Darstellung der Verbindungen und ihrer bioaktiven Wirkung findet sich bei Harborne und Williams (2000). Die Biosynthese der Flavonoide - und damit auch der genannten bioaktiven Verbindungen - ist weitgehend aufgeklärt. Bezüglich der Anthocyane verläuft sie über sechs Schritte, die von den Enzymen Chalkonsynthase (CHS), Chalkonisomerase (CHI), Flavanone 3-Hydroxylase (FHT), Dihydroflavonol 4-Reduktase (DFR), Anthocyanidinsynthase (ANS) und Flavonoid 3-Glucosyltransferase (FGT) katalysiert werden (Abbildung 3). Diese Enzyme sind bereits in vielen Pflanzen nachgewiesen und eingehend charakterisiert worden. Die anderen Flavonoidklassen leiten sich von Zwischenprodukten der Anthocyanbiosynthese ab. Die beteiligten Enzyme, Flavonsynthase I bzw. II (FNS I bzw. II), Isoflavonsynthase (IFS), Flavonolsynthase (FLS) und Leukoanthocyanidin 4-Reduktase (LAR), sind ebenfalls gut bekannt und charakterisiert. Für die Hydroxylierung des B-Rings in 3'- bzw. 3',5'-Position ist die Flavonoid 3'-Hydroxylase (F3'H) bzw. die Flavonoid 3',5'-Hydroxylase (F3'5'H) verantwortlich (Abbildung 3).

Bei den verschiedensten Pflanzen wurden Gene identifiziert, die die einzelnen Biosyntheseschritte kontrollieren, d.h für die entsprechenden Enzyme kodieren. Ein Ausfall der Enzymaktivität in Mutanten kann je nach Lage im Biosyntheseweg zum Verlust einer oder mehrerer Flavonoidklassen führen. Zudem gibt es eine Anzahl von Regulatorgenen, die gewebespezifisch den gesamten Biosyntheseweg oder Teile davon ab- bzw. anstellen oder die Flavonoidkonzentration beeinflussen, und es wurden Gene identifiziert, die die weiteren Modifikationen durch Hydroxylierung, Methylierung, Glycosylierung und Acylierung betreffen. Viele der Gene wurden inzwischen kloniert. So liegen Klone der CHS, CHI, FHT, DFR, ANS, FGT, FNS I und II, IFS, FLS, F3'H und F3'5'H vor. Ferner wurde bereits eine Reihe von Regulatorgenen isoliert und näher charakterisiert. Zudem sind Promotoren verfügbar, die in Abhängigkeit innerer und äußerer Faktoren eine entwicklungs- und gewebespezifische Expression der einzelnen Gene bewirken.

Zusammenfassende Darstellungen zur Genetik, Biochemie und Molekularbiologie der Flavonoide finden sich in einigen neueren Reviews (Forkmann und Heller, 1999; Bohm, 2000).

Was nützt uns nun all dieses Wissen über die Genetik, die Chemie, die Biochemie und die Molekularbiologie der bioaktiven Flavonoide? Sowohl der Anbau als auch die Züchtung von

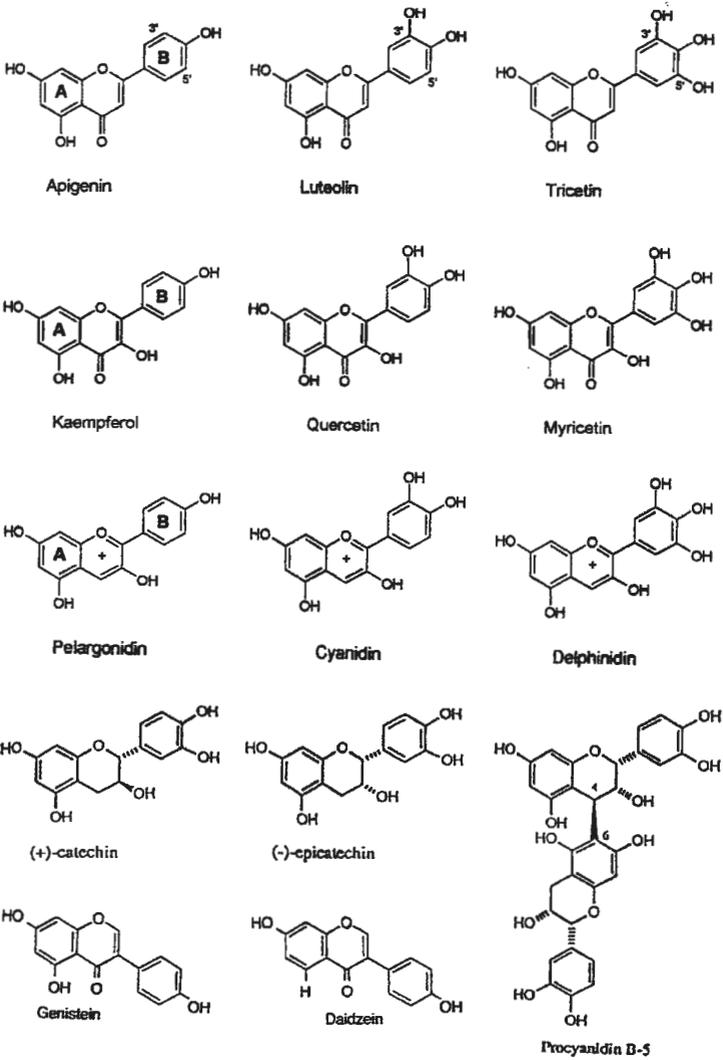


Abb. 2: Struktur wichtiger bioaktiver Flavonoidverbindungen (Aglyka)

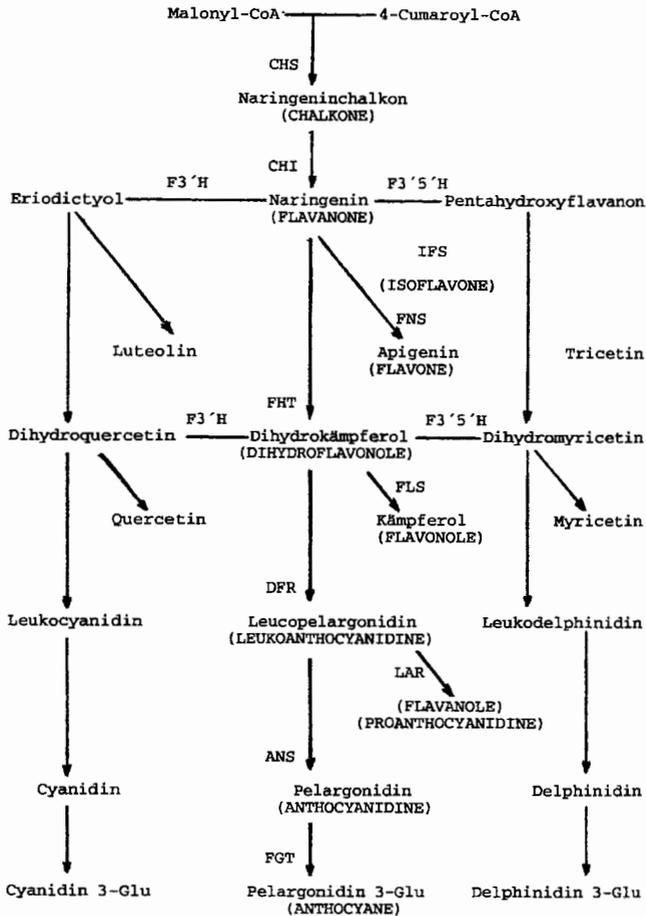


Abbildung 3: Der Biosyntheseweg zu wichtigen bioaktiven Flavonoiden (FLAVONOIDKLASSEN)

Abb. 3: Der Biosyntheseweg zu wichtigen bioaktiven Flavonoiden

Nahrungspflanzen können von diesen Kenntnissen in erheblichem Umfang profitieren. Bezüglich des Anbaus können wir den Einfluss pflanzenbaulicher Maßnahmen auf den Gehalt an bioaktiven

Flavonoiden analysieren und quantifizieren und mit Hilfe enzymologischer sowie molekularbiologischer Methoden die Synthese der Verbindungen verfolgen. Die umfassenden Kenntnisse über die Gruppe der Flavonoide erlauben aber vor allem eine gezielte züchterische Beeinflussung der entsprechenden bioaktiven Verbindungen. Dabei können sowohl konventionelle als auch molekulare Züchtungsstrategien einschließlich der Transformation von Nahrungspflanzen eingesetzt werden. Verbindungen der relevanten Flavonoidklassen kommen in Nahrungspflanzen selten gemeinsam vor. Meist sind nur Vertreter einer oder von zwei Klassen vorhanden und oft ist der Gehalt einzelner Verbindungen minimal. Es geht somit einerseits um die Erzeugung eines gewünschten Flavonoid-Spektrums bzw. Flavonoid-Designs und andererseits darum, den Gehalt einzelner Verbindungen zu erhöhen. Jede Veränderung der Flavonoidmusters muss allerdings auch pflanzenverträglich sein.

Im Bereich der klassischen Züchtung können geeignete Kreuzungspartner charakterisiert und damit gezielt ausgewählt werden. Ferner können aus spaltenden Populationen diejenigen Genotypen ausgelesen und weiter bearbeitet werden, die den besten Gehalt an bioaktiven Flavonoiden aufweisen. Das heißt, wichtige Voraussetzungen für eine Auslese- und Kreuzungszüchtung sind erfüllt.

Für die molekulare Züchtung können die folgenden Strategien genutzt werden:

- Übertragung und Expression von natürlicherweise nicht im Genpool vorhandenen Genen
- Übertragung und Expression ausgewählter Gene statt Kreuzung
- gezielte Inaktivierung von Genfunktionen (Antisense, Ko-Suppression)
- gezielte Aktivierung von vorhandenen Genen in Pflanzenteilen, die als Nahrungsmittel dienen (Übertragung von Regulatorgenen)
- Markergestützte Analyse spaltender Generationen und Selektion geeigneter Genotypen

Eine eingehende chemische und biochemische Charakterisierung des Pflanzenmaterials ist natürlich auch für den erfolgreichen Einsatz molekularer Strategien erforderlich. Darüber hinaus stehen die wichtigsten Gene für eine gezielte Beeinflussung des Flavonoidmusters zur Verfügung. Und ob klassisch oder molekular vorgegangen wird; das Ergebnis der Arbeit kann mit den verfügbaren Methoden eindeutig beschrieben werden. Das heißt, die eingangs beschriebenen Voraussetzungen für eine erfolgreiche und gezielte züchterische Beeinflussung bioaktiver Inhaltsstoffe sind für die Gruppe der Flavonoide bestens erfüllt (Dixon und Steele, 1999; Forkmann und Martens, 2001). Trotz dieser Tatsache sind die Ergebnisse einer gezielten züchterischen Beeinflussung des Gehalts an bioaktiven Flavonoiden bisher jedoch recht mager. In einer interessanten Arbeit wurde der Flavonoidgehalt von Kopfsalat untersucht, insbesondere der Gehalt an Quercetin-Derivaten. In den äußeren Blättern ist er relativ hoch, in den inneren Blättern gering. Nach Belichtung der inneren Blätter steigt der Flavonoidgehalt um das 10-20fache an, ein Hinweis darauf, das auch die inneren Blätter Kompetenz für Flavonoidsynthese haben, diese aber lichtabhängig erfolgt (Hohl et al., 2001). Bei einem Screening von 15 Linien und Sorten konnten zudem 2 Genotypen identifiziert werden, die auch ohne Licht deutliche Mengen an Quercetin in den inneren Blättern bilden sowie weitere 2 Genotypen mit allgemein deutlich höherem Quercetiningehalt (Hohl et al., 2001). Die Ergebnisse können einerseits für einen konventionellen Ansatz (weiteres Screening, Selektion von Genotypen mit hohem Flavonoidgehalt der inneren Blätter bzw. mit sehr hohem Quercetiningehalt als Kreuzungspartner) genutzt werden; andererseits könnte ein gentechnischer Ansatz (Überwindung der Lichtabhängigkeit durch Verwendung spezieller Promotoren) zum gewünschten Ziel führen, einen Salat mit einem aussen wie innen hohem Quercetiningehalt zu erzeugen.

Ähnliche Ansätze sind vor allem auch bei Nahrungspflanzen denkbar, deren Produkte gern und häufig gegessen werden, bei denen jedoch die Flavonoidkomponente nicht in gewünschtem Umfang vorhanden ist, wie beispielsweise bei Tomaten, Kartoffeln und Spinat. Dementsprechende gentechnische Ansätze wurden erst kürzlich dokumentiert (de Vos et al., 2000).

Tomaten enthalten verschiedene Carotinoide haben aber natürlicherweise nur einen geringen Flavonoidgehalt. Durch Übertragung und Expression der regulatorischen Flavonoidgene Lc bzw. C1 aus dem Mais konnte eine 60fache Erhöhung des Kämpferolgehalts in der Fruchtschale erzielt werden. Ferner führte die Übertragung und Expression des CHI-Gens aus Petunien zu einer 70fachen Erhöhung des Quercetingerhalts in der Fruchtschale (Muir et al., 2001). Die Regulatorgene Lc und C1 wurden auch in Kartoffeln übertragen. In den Knollen transgener Pflanzen konnte eine deutliche Akkumulation von Kämpferol festgestellt werden (de Vos et al., 2000).

Nicht nur bei den Flavonoiden, sondern auch bei den Carotinoiden gibt es bereits gute Voraussetzungen für eine gezielte züchterische Bearbeitung. So ist es mit konventionellen Züchtungsmethoden in den letzten Jahren gelungen, den Carotinoidgehalt einiger Gemüse erheblich zu verbessern. Hier sind insbesondere Möhren bzw. Karotten zu nennen. Ihr Carotinoidgehalt liegt normalerweise um 160mg/kg Frischgewicht. Mit Hilfe eines dementsprechend charakterisierten Ausgangsmaterials und gezielter züchterischer Bearbeitung konnten Linien mit einem Carotinoidgehalt bis zu 600mg/kg Frischgewicht erstellt werden (Simon et al., 1989; Simon, 1990, Simon 1995). Ähnliche Erfolge sind auch bei Süßkartoffeln und Tomaten zu verzeichnen (Simon, 1992), und sogar Gemüse mit sehr geringem Carotinoidgehalt wie Gurken und Blumenkohl konnten diesbezüglich deutlich verbessert werden (Simon and Navazio, 1997; Dickson et al., 1988).

Auch mit molekularen Züchtungsstrategien war es bereits möglich, den Carotinoidgehalt wichtiger Nahrungspflanzen zu optimieren. Spektakulärstes Beispiel ist hier der "Golden Rice". Dazu wurden in eine ausgewählte Reissorte mittels gentechnischer Methoden die Phytoensynthese und die Phytoendesaturase (beide aus Narzisse) sowie die Lycopinsynthese (aus einem Bakterium) übertragen und so die Synthese von Provitamin A etabliert (Ye et al., 2000). Es ist nun zu hoffen, dass mit dem Anbau des "Golden Rice" und abgeleiteter Sorten der besonders in Südostasien verbreitete und zu erheblichen gesundheitlichen Problemen führende Mangel an Vitamin A behoben werden kann. Mittels Genübertragung konnte auch in Tomaten der Gehalt an Provitamin A angehoben werden (Römer et al., 2000). In eine ähnliche Richtung zielt die Erstellung Carotinoid-haltiger Kartoffeln. Hier ist es mit Hilfe gentechnischer Methoden gelungen, die Biosynthese des Carotinoids Zeaxanthin zu etablieren (Wenzel, persönliche Mitteilung).

Dies sind erste Ansätze zur züchterischen Optimierung bioaktiver Inhaltsstoffe, die aber schon belegen, dass erfolgreich und zielgerichtet gearbeitet werden kann. Die gegenwärtig noch unbefriedigende Nutzung des vorhandenen Kenntnisstands und des methodischen Potenzials ist auf eine Reihe unterschiedlicher Faktoren zurückzuführen. So ist für eine gezielte Optimierung bioaktiver Inhaltsstoffe natürlich nicht nur eine erfolgreiche züchterische Bearbeitung ausschlaggebend. Neben der Züchtung spielen - wie bereits erwähnt - geeignete Anbaumaßnahmen eine wichtige Rolle und darüberhinaus alle Verfahren der Lagerung und Verarbeitung zum Lebensmittel, sowie ökonomische Gesichtspunkte, ernährungsphysiologische Fragen und nicht zuletzt Probleme bei der Akzeptanz durch den Verbraucher. Das heißt, die Züchtung kann nicht isoliert betrachtet werden, sondern es ist ein multidisziplinärer Ansatz erforderlich. Pflanzenzüchter, Pflanzenbauer, Verarbeitungsexperten, Ernährungswissenschaftler, Ökonomen und Sozialwissenschaftler müssen zusammenarbeiten und klären, ob ein entsprechendes Züchtungsprogramm überhaupt sinnvoll ist und nach Abwägung von Nutzen, Kosten und Risiken auf den Weg gebracht werden soll (Bliss, 1999).

Ein besonderes Problem ist hierbei die Vermarktung. Zum einen weisen viele bioaktive Inhaltsstoffe einen nicht zu unterschätzenden Nachteil auf. Abgesehen von farbgebenden Verbindungen wie Anthocyanen und Carotinoiden, ist ihr Vorhandensein und Gehalt äußerlich meist nicht sichtbar und bleibt somit dem Verbraucher verborgen. Zudem können einige Verbindungen den Geschmack erheblich beeinträchtigen. Zum anderen spielt natürlich auch die

Akzeptanz transgener Pflanzen und daraus erzeugter Lebensmittel eine entscheidende Rolle. Hier kann nur von Anfang an mit offenen Karten gespielt werden, wobei vor allem der Nutzen für den Verbraucher herausgestellt werden muss. Eine umfassende Aufklärung der Verbraucher über den gesundheitlichen Wert und eine gezielte Bewerbung von Nahrungsmitteln mit bioaktiven Inhaltsstoffen ist daher dringend notwendig. Dies könnte dann auch dazu führen, dass die für eine gezielte und erfolgreiche Züchtungsarbeit erforderlichen Finanzmittel bereitgestellt werden.

Literatur:

- F. Bliss (1999): Nutritional improvement of horticultural crops through plant breeding. *HortScience*, 34 (7), 1163-1167.
- B. Bohm (1998): Introduction to flavonoids. *Chem. and Biochem. of Organic Natural Products Vol 2*. Amsterdam: Harwood Academic Publishers.
- De Vos, R., Bovy, A., Busink, H., Muir, S., Collins, G. and M. Verhoeyen (2000): Improving health potential of crop plants by means of flavonoid pathway engineering. *Polyphenols Comm.* (1), 25-26.
- Dickson, M.H., Lee, C.Y. and A.E. Bramble (1988): Orange-curd high carot cauliflower inbreds, NY156, NY163, and NY165. *Hort Science* 23, 778-779.
- Dixon, R.A. and C.L. Steele (1999): Flavonoids and isoflavonoids- a gold mine for metabolic engineering. *Trends Plant Science*, 4 (10), 394-400.
- Forkmann, G. and W. Heller (1999): Biosynthesis of flavonoids. *Comprehensive Natural Products Chemistry*. Ed. by Sankawa U. Amsterdam: Elsevier, 713-748.
- Forkmann, G. and S. Martens (2001) Metabolic engineering and applications of flavonoids. *Curr. Op. in Biotechnology* 12, 115-160.
- Harborne J.B. and C.A. Williams (2000): Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochem.* 55, 481-504.
- Hohl, U., Neubert, B., Pforte, H., Schonhof, I. and H. Böhm (2001): Flavonoid concentrations in the inner leaves of head lettuce genotypes. *Eur Food Res Technol* 213, 205-211.
- Muir, S.R., Collins, G.J., Robinson, S., Hughes, S., Bovy, A., De Vos, C.R., Van Tunen, A.J. and M.E. Verhoeyen (2001): Overexpression of petunia chalcone isomerase in tomato results in fruit containing increased levels of flavonols. *Nat. Biotechnol.* 19, 470-474.
- S. Römer, et. al. (2000): Elevation of the provitamin A content of transgenic tomato plants. *Nat. Biotechnol.* 18, 666-669.
- Simon, P.W., Wolff, X.Y., Peterson, C.E., Kammerlohr, D.S., Rubatzky, V.E., Strandberg, J.O., Bassett, M.J. and J. White (1989): High carotene mass carrot population. *HortScience* 24, 174.
- P.W. Simon (1990): Carrots and other horticultural crops as a source of provitamin A carotenes. *HortScience* 25, 1495-1499.
- P.W. Simon (1992): Genetic improvement of vegetable carotene content. In: *Biotechnology and Nutrition*, Eds. D.D. Bills and S.-D. Kung. Proc. 3rd Int. Symp. Butterworth-Heinemann, Boston, Mass.
- P.W. Simon (1995): Genetic variation and selection for carotene content in carrots. *HortScience* 30, 706.
- Simon, P.W. and J.P. Navazio (1997): Early orange mass 400, early orange mass 402, and Late orange mass 404: High-carotene cucumber germplasm. *HortScience* 32, 144-145.
- Ye, X. et. al. (2000): Engineering the provitamin A (beta-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science* 287, 303- 305.



Züchterischer Fortschritt der Backqualität von Roggen^{*)}

J.-M. Brümmer, M.G. Lindhauer

BAGKF Detmold

Breeding Progress in the Baking Quality of Rye

Abstract: *Since many years standard methods like Falling Number by Hagberg-Perten or Brabender Amylogram have been used for the characterisation of rye for bread production. The results obtained supply very important information about the expected functionality for baking. In the past years in Germany there has been a remarkable increase in the values of these rheological methods. Although there has been a constant increase in dough yield the higher rheological values have not resulted in general in a better bread quality. A measurable bread volume of 300 ml per 100 g of rye flour in a sourdough standard baking test may be used as an orientation. Higher rye bread volumes are normally associated with a softer crumb, a better taste and a better shelflife. These positive quality aspects are not clearly enough predictable with the Falling Number and/or Amylogram-values. We recommend a new rheological method the Rye-Viscosity-Test as baking tests for additional characterisation.*

J.-M. Brümmer: BAGKF, Postfach 1354, D-32703 Detmold, Germany

Einleitung

Züchterische Ziele bei Nutzpflanzen sind im Allgemeinen Ertrag und Ertragserhaltung als sogenannter landeskultureller Wert und – soweit notwendig – gute Eigenschaften für einen vorgegebenen Verarbeitungsbereich als sogenannten technologischen Wert. Beide zusammen bestimmen dann den Marktwert einer (neuen) Sorte. Dies gilt grundsätzlich auch für den Roggen als Brotgetreide.

Züchterischer Fortschritt – Ertrag

Seit langem ist ein Anstieg im Ertragspotential von Brotroggen zu verzeichnen. Einen besonderen Schub brachte die erfolgreiche Einführung von Hybridsorten Ende der 80er Jahre. Die Abbildung 1 verdeutlicht die Sortenentwicklung der letzten drei Dekaden und zeigt die Bedeutung von Hybridsorten für diesen Bewertungspunkt.

Ertrag ist ein wichtiger Faktor für alle Anbauformen des Pflanzenbaus. Für Brotgetreide hat sich in den letzten Jahren natürlich zu dem noch immer dominierenden konventionellen Anbau ein so genannter kontrollierter, aber auch der biologische Anbau stärker entwickelt. Roggen mit seiner natürlichen Robustheit bietet hierfür besondere Vorteile. Verwender von Bio-Getreide haben über die Allgemeine EG-Verordnung zur Verwendung von landwirtschaftlichen Produkten des ökologischen Anbaus weitergehende Restriktionen erlassen, die z.B. zur Ablehnung von Hybridsorten führten. Selbstverständlich hat diese

^{*)} Veröffentlichungs-Nr. 7403 der Bundesanstalt für Getreide-, Kartoffel- und Fettforschung in Detmold und Münster

grundsätzliche Entscheidung bedeutende Auswirkungen für die ökonomischen Aspekte der Bio-Landwirtschaft.

Aufgrund der regionalen Entscheidungen und der Hauptgröße Ertrag sind die zzt. wichtigsten angebauten Roggensorten der Bundesrepublik Deutschland die in Tabelle 1 enthaltenen Roggen. Zu über 75 % werden Hybridsorten angebaut.

Zuchtziele im Hinblick auf technologische Verarbeitungseigenschaften als Brotroggen

Vom Bundessortenamt (BSA), Rettmar, Hannover werden im Hinblick auf die Eigenschaften als Brotroggen folgende Bewertungskriterien als wichtig angesehen:

- Tausendkorn-Gewichte (TKG),
- Rohproteingehalte (RPG),
- Amylogramm-Maximumwerte für Viskosität und Temperatur sowie
- Fallzahl-Ergebnisse

Dieses seit Jahren entwickelte und umgesetzte System ist mit den an der Definition und Charakterisierung von Brotroggen interessierten Kreisen abgestimmt. Dabei fällt auf, dass im Gegensatz zur Weizengraduierung neuer Sorten in Qualitätsgruppen durch das BSA beim Roggen kein Backversuch zur Beurteilung mit berücksichtigt wird.

Bei der Einführung der augenblicklichen Bewertungssysteme wurden beim Brotroggen anders als beim Backweizen die vorgenannten vier Bestimmungsmerkmale als eine ausreichende Basis zur Beschreibung neuer Roggensorten für Backzwecke angesehen. Dies war auch gerechtfertigt solange als einziger Roggenbrot-Qualitätsfaktor eine genügend elastische Brotkrume angesehen wurde.

Zur Sicherstellung dieses Verarbeitungs-Qualitätsmerkmals sind Roggenkorn-Fallzahlen von etwa 100 – 120 s oder besser charakterisiert über Brabender Amylogramm-Maximumtemperaturen von etwa 62 – 64 °C anzusehen.

Fast unmerklich haben sich aufgrund züchterischer Selektionen, aber auch unterstützt durch günstigere Witterungsverläufe während der Aufwüchse und gesicherterer Vorhersagen für einen idealen Erntezeitpunkt tendenziell ständig höhere Werte bei diesen rheologischen Methoden Fallzahl und Brabender-Amylogramm eingestellt. Insgesamt kann man die Veränderung der Erntedaten des Brotroggens auf die in Tabelle 2 dargelegten Ursachen zurückführen. Hierin liegen bereits ein wichtige Punkte, die selbstverständlich die vom BSA vorgegebenen Zuchtziele unterstützen. Trotzdem bleibt Roggen ein Auswuchs gefährdetes Getreide. Gleichzeitig wurde auch in den letzten Jahren systematischer Untersuchungen die Erkenntnis bestätigt, dass beim Roggen im Gegensatz zum Weizen eindeutig eine Standort-Dominanz vorherrscht und ein viel geringerer Sorteneinfluss das regionale Ernteergebnis beeinflusst.

Die Frage, die sich damit erhebt ist nun, geht mit der Steigerung bestimmter Kennzahlen auch eine Steigerung in den Roggenbrot-Qualitätskriterien einher? Verfolgt man die in den letzten Dekaden tatsächlich ermittelten durchschnittlichen Erntewerte, so zeigt sich ein ständiges Auf und Ab (Abbildung 2). Letztendlich sind aber die Veränderungen der verschiedenen Kennwerte mit technologischem Bezug von 1960 bis jetzt beachtlich. Während die Werte indirekter Methoden anstiegen, waren die Brotvolumen trotz gestiegener Teigeigenschaften rückläufig (Tabelle 3).

Roggenbrot-Qualitätskriterien in der Diskussion

Das frühere Qualitätskriterium „elastische Krume“ ist seit Jahren durch die vermarkteten Roggenpartien sichergestellt. Bei einer Erntemenge von etwa 4 bis 5 Mio. t jährlich und einem Jahresverbrauch von Roggen für Backzwecke von knapp 1 Mio. t der Erntemenge bestehen auch rechnerisch keine Schwierigkeiten, die notwendigen Partien zu selektieren. Bei Roggenpartien mit niedrigeren Fallzahlen und Amylogramm-Werten waren aber automatisch die wichtigen Roggenbrot-Qualitäten gut erfüllt.

Roggenbrot gilt in Deutschland als die geschmacklich intensivste und auch in der Frischhaltung am besten zu beurteilende Brotart. Partien, die andeutungsweise Auswuchskriterien zeigten und damit verarbeitungsmäßige Schwächen besaßen, konnten immer noch als Roggengrobschrot zu gut schmeckenden, saftigen und auch gut lagerfähigen Broten verarbeitet werden. Übrigens lassen sich alle nicht als Brotgetreide anzusehenden Partien, aber auch Partien anderer Getreidearten, backtechnisch eher positiv in grober Granulation (Grobschrot) als in Mehlfeinheit verarbeiten.

Die Roggen der letzten Jahre ergaben auch wegen ihrer hohen indirekten Werte eher eine straffe Brotkrume, vermindertes Lockerungsvermögen der Teige, ein geringeres Aromapotential in den Sauerteigstufen und ein kleineres Brotvolumen. Einhergehend damit verminderte, sich aber auch das Frischhaltevermögen deutlich. Trotz erhöhter Teigausbeuten, die eigentlich zu weniger festen Teigen führen müssten, waren jedoch Partien mit ständig erhöhten Fallzahl- und Amylogramm-Werten nachteilig in der Brotqualität. Fasst man den Begriff Roggenbrot-Qualität heute zusammen, so lässt er sich mit optimalen vom Rohstoff und nicht von Zutaten bestimmten höheren Volumenwerten bei möglichst weichen, aber noch elastischen, nicht klebenden, aromatischen Krumeneigenschaften beschreiben. Die Faktoren Brodlockerung und Teigeigenschaft sind aber nicht durch die indirekten Methoden des Bewertungssystems neuer Roggensorten erfassbar. Die Einführung eines Standardbackversuches in die Bewertungen wäre daher sinnvoll. Auch wäre damit erstmalig ein möglicher Sortenaspekt entsprechend der Weizengraduierung erkennbar. Allerdings ist der dafür notwendige Aufwand in Form von Standard-Mahl- und Backversuchen finanziell laut Auskunft des BSA zzt. nicht realisierbar.

Die Überprüfung zahlreicher anderer bisher bekannter Methoden in Bezug auf diese Brotkriterien hat leider auch zu keinen guten Korrelationen geführt, wie die in der folgenden Tabelle 4 dargelegten Berechnungen beweisen.

Walsroder Versuch

Für 2000 wurde nun mit dem Förderverein Pflanzenbau e.V., Walsrode ein Sortenversuch abgesprochen, dass ein Teil der Versuchsfelder zum vermeintlich optimalen üblichen Erntezeitpunkt gedroschen wurden, während der Rest mindestens zwei Wochen länger stehen bleiben sollte. Nach Ablauf dieser Frist war allerdings aufgrund der Wetterverschlechterungen an eine Ernte nicht zu denken. Somit blieben die ansonsten gleich aufgewachsenen Roggensorten etwa vier Wochen länger auf dem Halm.

Die Veränderungen in den rheologischen Standardwerten Fallzahl und Amylogramm-Maximumwerte sind zu erwarten gewesen. Die dazu gehörigen Qualitätszahlen des Standardsauerteig-Backversuches an Mehlen der Type 997 sind ebenfalls als üblich

anzusehen. Durchschnittlich haben sich zwischen dem ersten und zweiten Erntetermin die Qualitätsparameter wie folgt verändert (Tab. 4).

Tab. 4: Roggen-Versuch – Walsrode

	1. Erntetermin	2. Erntetermin
Fallzahl, s	240	175
Amylogramm-Max.-Temp. °C	70	66
Sauerteig – BV-Qualitäts-Zahl	4,60	4,90

Für die Initiatoren dieses Versuches war es nicht überraschend, dass die Roggen und die daraus im Standardmahlverfahren erhaltenen Typenmehle (T997) des 2. Erntetermins trotz, oder wie wir sagen, gerade wegen der abgefallenen, und damit einem günstigeren Bereich liegenden, rheologischen Werte eine Verbesserung des Backverhaltens zeigten.

Dass die Ergebnisse der Backversuche (Qualitätszahlen) auch nach dem 2. Termin noch nicht den höchst möglichen Wert von 5,00 erreichen, hängt damit zusammen, dass auch die Muster der zweiten Ernteperiode noch in Verarbeitungsbereichen liegen, die nur eine begrenzte Volumenentwicklung und damit verbunden nur eine bedingt saftige und weiche, gut elastische Krume und damit verbunden optimale Frischhalteleistung ermöglichen.

Optimierung einer marktgerechten Brotroggen-Qualität

Wie die Korrelationsfaktoren ausweisen, besteht eine gewisse Tendenz einer guten Roggeneignung für Backzwecke mit niedrigeren Fallzahlen und auch niedrigeren Werten im Amylogramm-Maximum und hier besonders mit der Maximum-Temperatur (Abb. 3). Dies führte zur Beschreibung von Qualitätsdaten mit angenommener guter Korrelation zum Qualitätskriterium Roggenbrotvolumen (Tab. 5).

Die insgesamt doch noch nicht befriedigenden Korrelationen haben uns veranlasst, es mit einer weiteren möglichst schnell und mit geringem Probenmaterial durchzuführenden Methode zu versuchen. Aufbauend auf den Erkenntnissen der Quellkurve nach Drews mit der Einführung eines bestimmten Puffers, darüber hinaus der Verwendungsmöglichkeit des Schrottes der Fallzahlmühle für rheologische Untersuchungen haben wir den so genannten Roggen-Viskositäts-Test (RVT) entwickelt. Dieser ermöglicht es, in etwa 30 bis 45 Minuten, also auch in Zeiten, die bei der Roggenannahme z.B. einer Mühle meistens noch erübrigt werden können, zusätzlich wichtige Informationen zu erhalten. Auch als Selektionskriterium für Züchter kann der RVT mit seinen geringen Probenmengen durchgeführt werden. Der RVT wird zzt. mit der Praxis erprobt und hat bei bisher über 100 Proben eine gewisse Korrelation zum Backvolumen gezeigt. Gleichzeitig wurde auch dadurch wieder belegt, dass mitunter auch Partien mit höheren Fallzahlen ein gutes Lockerungspotential besitzen können. Diese Eigenschaft war bisher nur der Sorte Amando eigen, die aber aufgrund ihres geringen Ertragspotentials im Anbau nicht mehr berücksichtigt wird. Amando hatte beim letzten Vergleich in der Ernte 1998 stets das höchste Brotvolumen unabhängig vom Standort sowie Fallzahl- und Amylogramm-Werte (Abb. 4).

Die bisherige ausschließliche Beurteilung von Roggen nach den Kriterien der Beschreibenden Sortenliste mit möglichst immer mehr gesteigerten Ergebnissen beim 1000-Korn-Gewicht, bei Rohprotein-, Fallzahl- und Amylogramm-Werten halten wir aufgrund der Backergebnisse der letzten Dekaden für ergänzungsbedürftig. In zunehmendem Maße werden Roggenpartien empfohlen, die mit ihren hohen rheologischen Fallzahl- und Amylogramm-Werten über das

Optimum guter Roggenbrot-Qualität hinaus gehen. Diese kann z.B. durch einen Standard-Backversuch und Ermittlung der Qualitätskriterien Teigausbeute, Lockerungsgrad, Brotvolumen, Krumenelastizität erfolgen. Zzt. besteht leider noch die Gefahr, dass die von den Züchtern ausgedrückte Situation „wir züchten für die Bundessortenamts-Bedingungen und nicht für die Bäckerei“ weiter Berechtigung hätte. Die Bevorzugung von Sorten, die unter den gut definierten Bedingungen an den verschiedenen Standorten des Wertprüfungsmaterials hohe indirekte Werte erreichen müssen, sind wie dargelegt nicht optimal für die Verarbeitungsqualität.

Das von der EU im letzten Jahr erhöhte Interventions-Kriterium Roggen-Fallzahl mindestens 120 s ist in diesem Zusammenhang beachtenswert. Eine weitere Steigerung dieses Kriteriums - wie auch schon andiskutiert wurde - lässt zwar angeblich die Interventionsbestände schrumpfen, ist aber bäckerisch gesehen praxisfremd und als eine nur in Brüsseler Amtsstuben entwickelte Überlegung zu beurteilen. Erhöhungen von Fallzahlen würden gerade den für uns in Deutschland besonders vorteilhaften Bereich von Brot-Roggenpartien für Mehl- und besonders Schrotbrote von der Intervention ausschließen und sie zu Futter-Roggen degradieren. Wir halten weiterhin Roggenfallzahlen von 120 s oder besser noch Amylogramm-Maximum-Temperaturen von mindestens 62 °C zuzüglich zu einer Überprüfung der spezifischen Lockerungsfähigkeit von Roggensorten und Roggenpartien für die bessere Charakterisierung. Diese würde auch neuere Aspekte für die Roggenzüchtung bringen, da zzt. dem Augenmerk Roggenbrotqualität nicht entsprochen werden muss.

Zusammenfassung

Züchterische Ziele bei Nutzpflanzen sind z.B. Ertrag und Ertragserhaltung sowie gute Eigenschaften für einen vorgegebenen technologischen Verarbeitungsbereich.

Seit langem ist auch ein Anstieg im Ertragspotenzial von Brotroggen zu verzeichnen. Einen besonderen Schub brachte die erfolgreiche Einführung von Hybridsorten. Obwohl Roggen in seiner natürlichen Robustheit besondere Vorteile auch für den ökologischen Anbau bietet, haben einige Verwender von Roggen für ökologische Backwaren sich von Hybridsorten abgekehrt. Selbstverständlich hat diese grundsätzliche Entscheidung bedeutende Auswirkungen auf die ökonomischen Aspekte des Bio-Roggenanbaus.

Vom Bundessortenamt werden das 1000-Korn-Gewicht, der Rohproteingehalt sowie Amylogramm-Maximumwerte und Fallzahlergebnisse als die Bewertungskriterien für Brotroggen seit Jahren in Abstimmung mit den interessierten Kreisen angesehen. Dabei fällt auf, dass im Gegensatz zur Weizengraduierung neuer Sorten in Qualitätsgruppen durch das Bundessortenamt beim Roggen kein Backversuch Grundlage der technologischen Bewertung ist. Das bisherige System war auch gerechtfertigt, solange die Roggenbrotqualität ausschließlich über eine genügend elastische Brotkrume definiert wurde.

Fast unmerklich haben sich aufgrund züchterischer Selektion, unterstützt durch günstige Witterungsverläufe während des Aufwuchses, gesicherte Vorhersagen für einen idealen Erntezeitpunkt etc., ständig steigende Werte bei diesen rheologischen Methoden eingestellt. Damit ist seit Jahren durch die vermarkteten Roggenpartien das frühere Qualitätskriterium elastische Krume sicher gewährleistet, obwohl Roggen auch weiterhin als auswuchsgefährdetes Getreide anzusehen ist.

Das Roggenbrot gilt in Deutschland als die geschmacklich intensivste und auch in der Frischhaltung besonders positiv zu beurteilende Brotart.

Mit der Sicherstellung der Krumeneigenschaften verminderte sich aber das spezifische Lockerungsvermögen der Teige und damit auch der Brote und somit die Brotqualität. Gleichzeitig ging damit ein geringeres Aromapotential in den Sauerteigstufen und eine

verminderte Brot-Frischhaltung einher. Trotz gleichzeitig erhöhter Teigausbeuten waren die Partien mit ständig erhöhten Fallzahl und Amylogrammwerten nachteilig in der Brotqualität. Dieser Faktor Teig- und Brotdockerung ist aber durch die indirekten Methoden des Bewertungssystems neuer Roggensorten nicht erfassbar. Es werden daher seit langem Vorschläge zur besseren Beschreibung von Brotroggenpartien und auch Empfehlungen für die Beurteilung der rheologischen Methoden, Fallzahl und Amylogramm-Maximumwerte gegeben. Die Einführung ergänzender Methoden und/oder die Durchführung eines Standard-Backversuches an einem definierten Typenmehl in die Bewertungen wären daher sinnvoll, sind aber wohl nur schwer realisierbar.

Literatur

1. Belohlawek, L.: Änderung der Substratspezifität proteolytischer Enzymsysteme während der Keimung und Mälzung. - Getreide und Mehl 15 (1965) 1, S.9-12
2. Brümmer, J.-M.: Possibilities and remedies of reducing sprouting damage in processing of wheat and rye to bread. - International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals 8.1998. - Detmold: Granum (1999), S. 36 - 42
3. Brümmer, J.-M.: Veränderungen bei den Verarbeitungseigenschaften von Roggen und Roggenmählerzeugnissen. - Getreide Mehl und Brot 53 (1999) 3, S. 154-162
4. Bundessortenamt: Beschreibende Sortenliste 2001. Getreide, Mais, Ölf Früchte, Leguminosen (großkörnig), Hackfrüchte (außer Kartoffeln). - Hannover: Landbuch (2001)
5. Drews, E.: Beschaffenheitsmerkmale der Pentosane des Roggenmehles. - Brot und Gebäck 24 (1970) 3, S.41-46
6. Mettler, E., W. Seibel und J.-M. Brümmer: Maturograph und Ofentriebgerät zur Beurteilung des rheologischen Verhaltens von Roggenteigen. - Getreide Mehl und Brot 46 (1992) 10, S. 300 - 307
7. Neumann, H. und J.-M. Brümmer: Definition einer neuen Qualitätszahl für die backtechnische Beurteilung von Roggen-Handelsmehlen der Typen 997/1150. - Getreide Mehl und Brot 54 (2000) 1, S. 11 - 14
8. Weipert, D. und J.-M. Brümmer: Untersuchung von Roggen und Roggenmählerzeugnissen. - Roggen - Anbau Verarbeitung Markt, Hrsg. W. Seibel und W. Steller, Behr's Verlag Hamburg (1988), S. 85 - 120
9. Weipert, D.: Auswuchs im Getreide - seine Bekämpfung und die Erfolge. - Die Mühle + Mischfüttertechnik 135 (1998) 23, S. 769 - 773
10. Weipert, D.: Roggen: Sorte und Umwelt. - 1. Teil: Indirekte Qualitätsmerkmale (Rye: cultivar and environment. - 1st part: Indirect quality parameters) - Getreide Mehl und Brot 52 (1998) 4, S. 208 - 217
11. Weipert, D.: Roggen: Sorte und Umwelt - 2. Teil: Qualitätsmerkmale und Verarbeitungswert. - Getreide Mehl und Brot 52 (1998) 5, S. 259 - 263
12. Zwingelberg, H., W. Seibel und H. Stephan: Vollkornmehle aus Weizen und Roggen - Zusammenhänge zwischen Vermahlung, Korngrößenverteilung und Backergebnis.- Getreide, Mehl und Brot 39 (1985) 1, S. 3 - 12

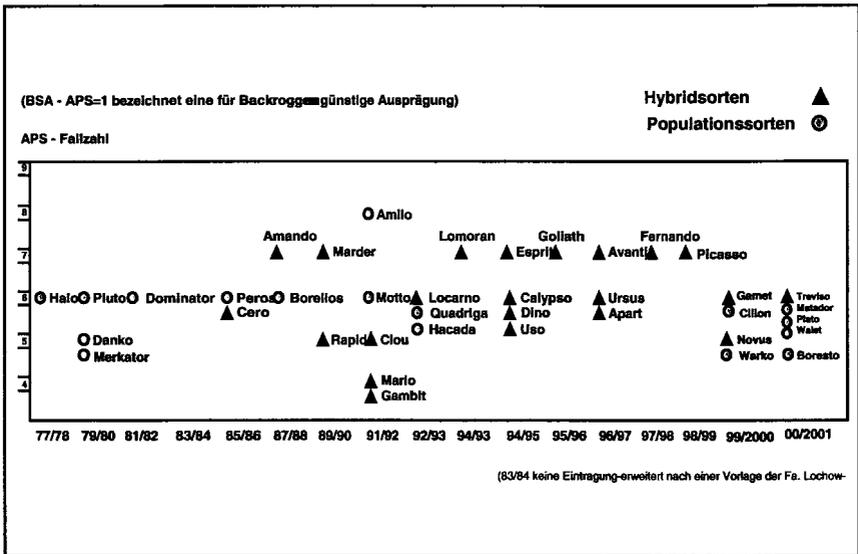


Abb.1: Ausprägungsstufen (APS) der von 1977 - 2001 zugelassenen Roggensorten für das Merkmal Falzzahl

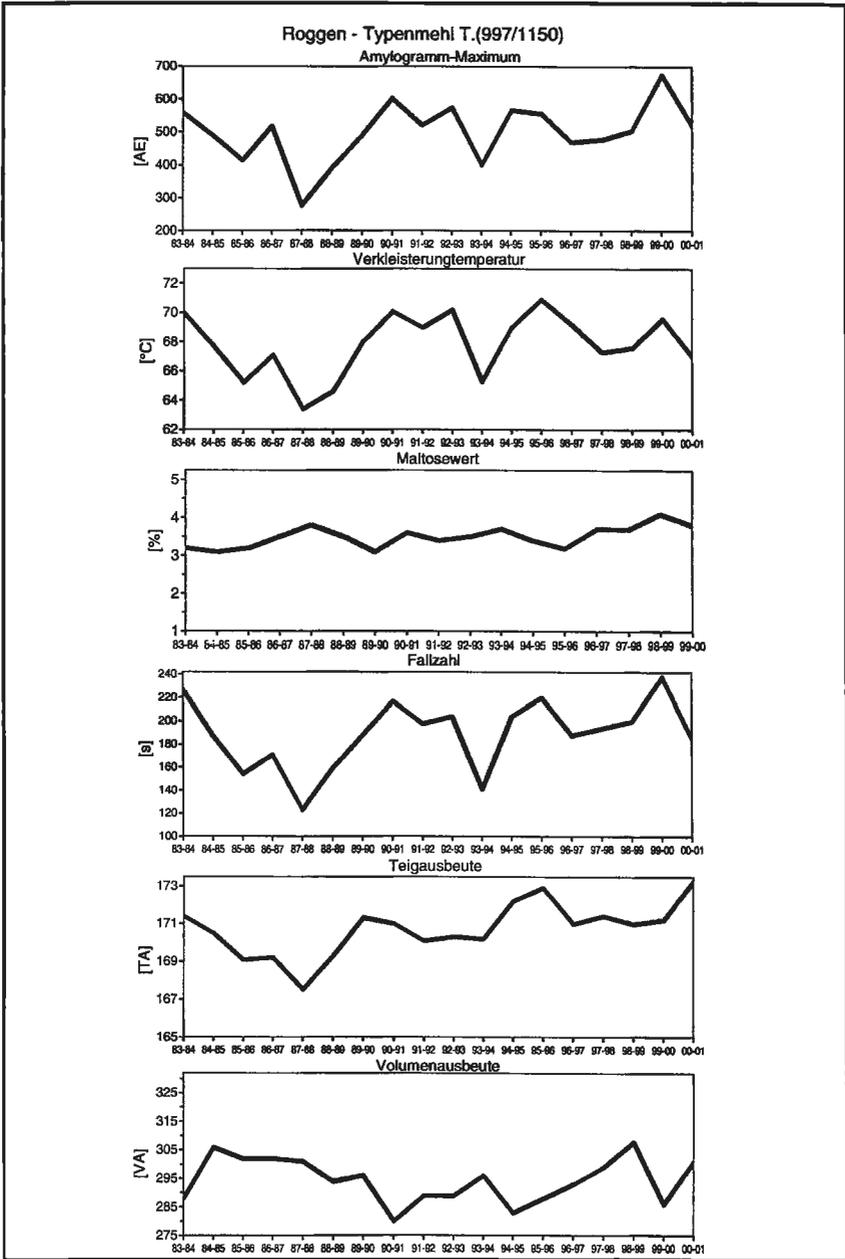


Abb.2: Jährliche Qualitätskennndaten der Roggen – Ernte und deren tendenzielle Veränderungen

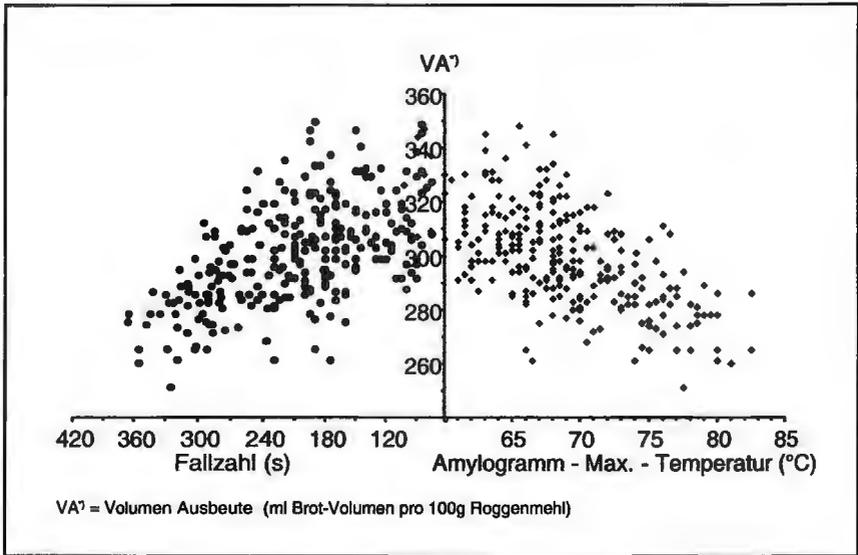


Abb.3: Beziehungen rheologischer Kennwerte zum Roggen - Brotvolumen

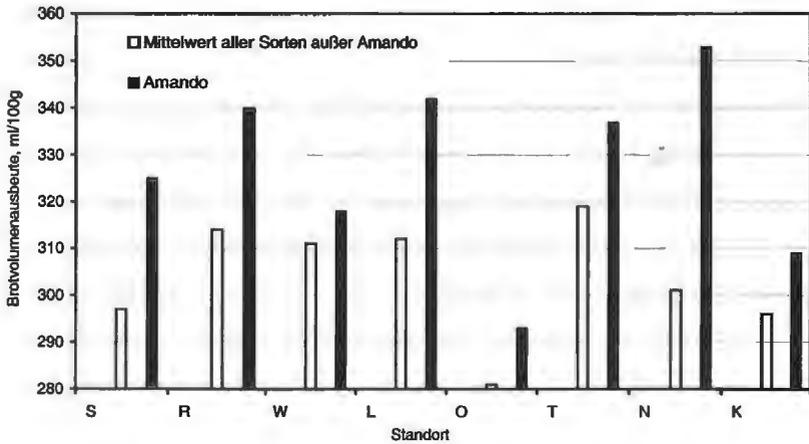


Abb.4: Brotvolumen in Abhängigkeit von Standort und Sorten (Ernte 1998)

Tabelle 1: Anteil der wichtigsten Roggensorten im Bundesgebiet (Ernte 2001)

Anteil in Prozent der Populationssorten		Anteil in Prozent der Hybridsorten	
Nikita	43	Avanti	32
Hacada	16	Fernando	25
Amilo	15	Picasso	22
Danko	13	Esprit	10
Born	6	Rapid	5
Cilion	2	Ursus	4

Tabelle 2: Langjährige Veränderungen bei Roggen und Roggenmahlerzeugnissen
(MSG ~1% i.Tr.)

- Erhöhung des Gesamtpentosangehaltes
- Verminderung des Anteils an löslichen Pentosanen
- Verminderung oder Verzögerung der Wirksamkeit der Korn eigenen α -Amylase
- Veränderungen im Sortenspektrum mit deutlichem Übergewicht der ertragsreicheren Hybridsorten
- gezielter Einsatz von Produktionsmitteln, insbesondere zur Ertragssteigerung
- Verbesserung der Erntetechnik
- Verbesserung der Nacherntebehandlung
- gewisse Veränderungen in der Mahltechnik (der Mehlausbeuten)
- gewisse Erhöhung der Mineralstoffgrenzen von Roggentypenmehlen
- erhöhte Teigausbeuten
- vermindertes Fermentationspotential (Aromasynthese) in Vorstufen und Teigen
- verminderte Quellbereitschaft bei Mehlen und Schrotten
- erhöhter Bedarf an Knetenergie
- eher nachsteifende als nachlassende Teigviskosität
- verminderte Krumenlockerung
- verbesserte, meist straffere Krumenelastizität
- verminderte Krumenweichheit und -saftigkeit
- verminderte Voraussetzungen für eine gute Frischhaltung

Tabelle 3: Durchschnittliche Veränderungen von Analysenwerten bei Roggenmehlen Type 997/1150

1960		2001
110	Fallzahl, s	220
62	Amylogr.-Temp., °C	70
200	Amylogr.-AE	670
3,0	Maltose, %	3,8
165	Teigausbeute	173
330	Volumen, ml/100g	280

Tabelle 5: Korrelationen verschiedener Kennwerte (Roggenmehl Typen 997/1150)

Brabender Max - Visko.	: Brabender Max - Temperatur	r = 0.52
Brabender Max - Visko.	: Perten Falling Number	r = 0.78
Brabender Max - Temp.	: Perten Falling Number	r = 0.96
lösliche Proteine	: gesamte Proteine	r = 0.50
lösliche Pentosane	: gesamte Pentosane	r = 0.57
lösliche Pentosane	: α - Amylase (ICC)	r = 0.50
lösliche Pentosane	: Perten Falling Number	r = -0.50
Brotvolumen	: Perten Falling Number	r = -0.56
Brotvolumen	: Brabender Max - Temperatur	r = -0.61
Brotvolumen	: Brabender Max - Viskosität	r = -0.54
Gebackene VA unter Berücksichtigung einer korrigierten TA		
VA = -350 + 1*TA - 3*Amylogramm-Max.-Temperatur		(r = 0,76)



Qualitätswinterweizen für den ökologischen Anbau unter regionalen Gesichtspunkten

Karl-Josef Müller

Getreidezüchtungsforschung Darzau

Titel: Quality winter wheat for organic farming under regional aspects

Abstract: Under organic farming on poor sandy soils in Lower Saxony the gluten content demanded by mills and bakeries cannot be obtained with modern winter wheat varieties. Also consistence of gluten becomes very tough with modern wheats. With some old varieties high gluten contents were possible, but with low yield and risk of lodging. With new breeding lines developed from crossings of old and modern wheats the demanded meal gluten content of 20% becomes possible at a satisfactory yield. The new breeding lines also have a better light competitiveness because of higher plants and higher shadowing in spring. However the same wheats planted under more intensive organic farming got a gluten which is too weak. The results indicate the necessity to distinguish between different wheat varieties for different organic environments also in description and release of new varieties for organic farming.

Address: Darzau Hof 1, 29490 Neu Darchau, Germany. eMail: k-j.mueller@darzau.de

In der Getreidezüchtungsforschung Darzau wurde unter den Bedingungen einer biologisch-dynamischen Bewirtschaftung ein umfangreiches Winterweizensortiment für den Anbau auf sandigen, trockengefährdeten Standorten evaluiert und auf der Basis der dabei entwickelten Kriterien neue Zuchtstämme selektiert. Es zeigte sich, dass die für eine konventionelle Bewirtschaftung gezüchteten, modernen Sorten unter den Bedingungen einer ökologischen Landwirtschaft bei Verwendung ausschließlich innerbetrieblich erzeugter organischer Dünger auf den besagten Standorten in den Verarbeitungsqualitäten nicht die vom Handel geforderten Parameter erreichen. Nur mit einigen wenigen, sehr alten Sorten konnten Feinschrot-Feuchtklebergehalte von deutlich über 20% (nach ICC-Standard 155 mit Vollkornschrot) und sehr weicher Kleberkonsistenz, sowie Sedimentationswerte (nach Zeleny) von über 25ml erreicht werden. Unter etwas günstigeren Anbauverhältnissen befriedigen diese Sorten in der Standfestigkeit der Pflanzen auf dem Feld aber nicht mehr und auch die Kleberkonsistenz wird dann noch wesentlich weicher. Hohe Feuchtklebergehalte lassen sich auch nur unter Ertragsverzicht realisieren, da die Menge des für die Protein- und Ertragsbildung erforderlichen Stickstoffs betrieblich und infolge einer natürlichen Mineralisation pro Flächeneinheit begrenzt ist.

Ausgangssituation

Unter ökologischen Bedingungen war es auf den leichten, trockengefährdeten Standorten in Niedersachsen bisher sehr schwierig, Qualitätsbackweizen zu erzeugen. Vor ca. 20 Jahren wurde aus Öko-Weizen nahezu ausschließlich Vollkornbrot hergestellt. Inzwischen stehen die Anforderungen an die Verarbeitungsqualität von Weizen aus ökologischer Erzeugung sogar

über denen aus konventioneller Erzeugung, da für ökologische Erzeugnisse nur wenige natürliche Backzusätze erlaubt sind.

Im Jahr 1992 wurde unter ökologischen Anbaubedingungen am Standort Tangsehl damit begonnen ein 700 Muster umfassendes Winterweizensortiment der Genbank Braunschweig auf Sedimentation und Feuchtkleber zu evaluieren. Erste Öko-Zuchtstämme von Peter Kunz aus der Schweiz konnten damals bereits mitgeprüft werden. In der Vegetation 1994/95 wurden die ersten Ertragsprüfungen durchgeführt. Schrittweise wurden Muster mit schwachem Ertrag und nicht ausreichenden Qualitätsparametern ausgeschieden. Besonders wüchsige, ausgeprägt beikrautbeschattende Muster wurden beibehalten. Einige moderne Zuchtsorten wurden noch hinzugenommen. Die zuletzt vierzig Muster aus drei Versuchsjahren zeigten, dass mit keiner der modernen Sorten, trotz des für diesen Standort zufriedenstellenden Ertragsniveaus, die geforderte Parametergrenze von 20% Schrot-Feuchtkleber im Mittel erreicht wurde (Abb.1). Einige alte Sorten und einige Zuchtstämme von Peter Kunz erfüllten die Qualitätsanforderungen, verbunden jedoch mit einem entsprechenden Minderertrag. Bei den Untersuchungen zeigte sich auch, dass oberhalb von 20% jedes Prozent Feuchtkleber mehr mit einem Ertragsverzicht verbunden ist, der durch den Qualitätsaufschlag im Preis nicht abgedeckt wurde. Mit anderen Worten, der Landwirt ist ökonomisch gesehen genötigt, gerade einmal diese Grenze zu erreichen, aber möglichst nicht darüber hinaus zu produzieren. Eine Situation, welche die Erzeugung von Weizen mit höheren Gehalten nicht gerade befördert.

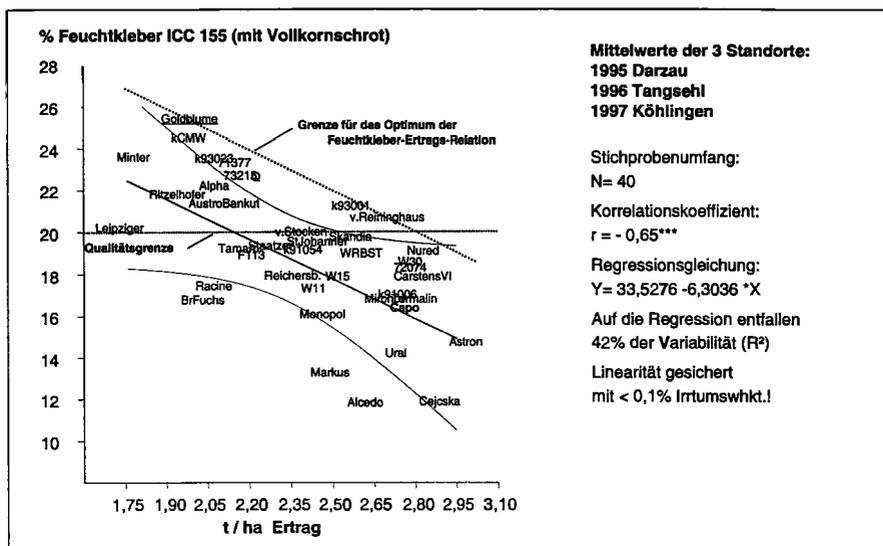


Abb.1: Verhältnis von Feuchtkleber zu Ertrag im Mittel von drei Öko-Standorten in Ost-Niedersachsen bei 40 Winterweizen (Erster Buchstabe entspricht dem Datenpaar)

Neben der eindeutig negativen Korrelation von Feuchtkleber zu Ertrag, die es besonders erschwert, unter ökologischen Bedingungen einen ertragreichen Qualitätsweizen zu erzeugen, zeigte sich auch die Notwendigkeit, die Kleberkonsistenz unter standörtlichen Gegebenheiten zu berücksichtigen.

Ein Vergleich der Kleberindizes bei 40 Winterweizen von drei Standorten zeigte, dass unter günstigeren Standortbedingungen, die höhere Feuchtklebergehalte ermöglichen, die Konsistenz des Klebers weicher wird (Abb.2). Dies bedeutet, dass Weizen, die unter intensiveren Bedingungen einen Kleber-Index zwischen 70 und 90 aufweisen, auf mageren Standorten einen sehr festen Kleber ausbilden, und Weizen, die unter mageren Standortbedingungen eine Kleber-Index zwischen 70 und 90 ausbilden, auf intensiveren Standorten unerwünscht weiche Kleberkonsistenzen erreichen.

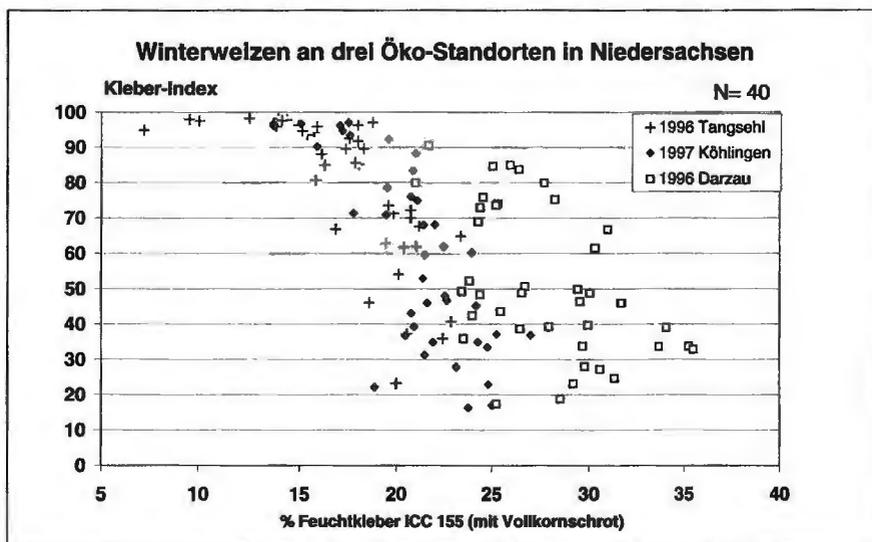


Abb.2: Die Kleberkonsistenz (Kleber-Index) in Abhängigkeit vom Feuchtklebergehalt an drei Öko-Standorten in Ost-Niedersachsen bei 40 Winterweizen

Die weicheren Konsistenzen werden insbesondere durch höhere Anteile des alkohollöslichen Gliadins im Feuchtkleber gebildet. Auf mageren Standorten sind die Gliadine hilfreich, da der Kleber mit ihnen nicht zu fest werden kann. Bei günstigerer Nährstoffversorgung wird aber überwiegend mehr Gliadin als Glutenin gebildet, so dass der Kleber dann zu weich wird. Für günstigere Standortbedingungen sind also Weizen erforderlich, die weniger Gliadin ausbilden.

Über die vergangenen Jahre hinweg zeigte sich auch, dass von den verfügbaren Handelssorten ‚Bussard‘ an den meisten Standorten die beständig besten Verarbeitungsparameter bei entsprechend hohem Ertrag lieferte. Er wurde über sieben Vegetationen hinweg an vier Öko-Zuchtstandorten als Vergleichsstandard eingesetzt und verdeutlichte das Spektrum der erzielbaren Feuchtklebergehalte und Standortpotentiale (Abb.3). Auf dem Dottenfelderhof mit seinen Aueböden wurden immer sehr hohe Gehalte bei sehr hohem Ertrag erzielt. Im Gegensatz dazu stellt das Erreichen der Feuchtkleber-Vermarktungsgrenze am Standort Darzau in Niedersachsen mit seinen sandigen Böden die Ausnahme dar. An den beiden Standorten Grub/Chiemgau und Salem/Bodensee befriedigen die Gehalte nur in einigen Jahren nicht, erfordern aber dennoch eine entsprechende Berücksichtigung bei der Selektion neuer Zuchtstämme für diese Standorte.

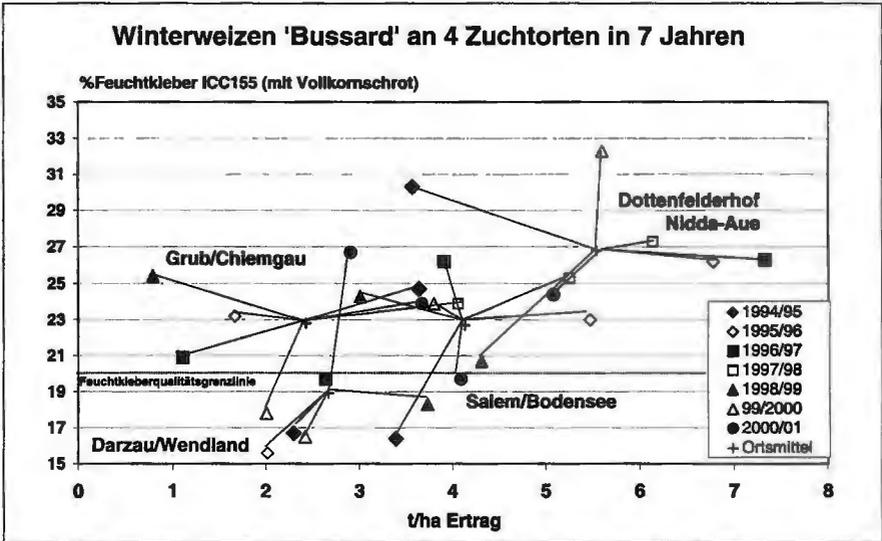


Abb.3: Verhältnis von Feuchtkleber zu Ertrag bei der Sorte ‚Bussard‘ an 4 Öko-Standorten in 7 Jahren in Relation zum jeweiligen Standortmittelwert

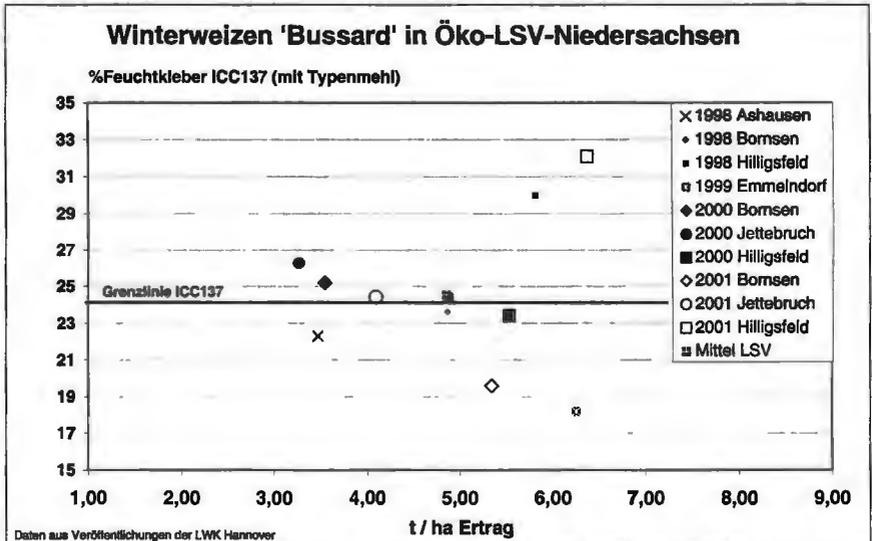


Abb.4: Verhältnis von Feuchtkleber zu Ertrag bei der Sorte ‚Bussard‘ an den Öko-Standorten der Landwirtschaftskammer Hannover in den Jahren 1998 bis 2001

Auch die Öko-Landessortenversuche (LSV) der Landwirtschaftskammer (LWK) Hannover verdeutlichen die Problematik hinsichtlich des Erreichens der geforderten

Feuchtklebergehalte. Mit Ackerzahlen von 75 am Standort Hilligsfeld (Quadratsymbole), 60 Punkten am Standort Bornsen (Rautensymbole) und 47 Punkten am Standort Jettebruch (Kreissymbole) wurden allerdings besonders günstige Standorte für die Winterweizensortenversuche gewählt. Bei den Feuchtkleberbestimmungen der LWK wird ein Typenmehl ohne Kleie verwendet (ICC 137), wodurch um ca. 4% höhere Werte entstehen als bei dem in den eigenen Untersuchungen eingesetzten Feinschrotkleberverfahren (nach ICC 155). Dementsprechend ist die Grenze für die Vermarktung als Backweizen bei den Ergebnissen der LWK mit 24% anzusetzen. Gegenüber den Mittelwerten am Standort Darzau würde das Mittel der LSV für die derzeit auch vom Bundessortenamt in den Öko-Wertprüfungen als Vergleichsstandard eingesetzte Sorte ‚Bussard‘ trotz besonders günstiger Versuchsstandorte nur um 2% höher ausfallen. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass es in Niedersachsen selbst mit einem konventionellen Aufmischweizen sehr schwierig ist, unter ökologischen Bedingungen „Backweizen“ für den Markt zu produzieren.

Stand der Regionalzüchtung

Aufgrund der Ergebnisse der Evaluierungen wurde in Darzau mit der Entwicklung von regional angepassten Winterweizen für ökologisch bewirtschaftete leichte Standorte in Niedersachsen begonnen. Es wurden insbesondere Kreuzungen zwischen alten Sorten, die sich durch hohe Feuchtklebergehalte und ausgeprägte Beikrautbeschattung auszeichneten, und modernen Sorten, die über einen hohen Feuchtkleberertrag und ausgeprägte Standfestigkeit verfügen, durchgeführt. Die in der Grafik dargestellten Zuchtstämme aus Darzau beginnen mit dem Buchstaben „m“ (Abb.5). Auch neue Öko-Zuchtstämme von Peter

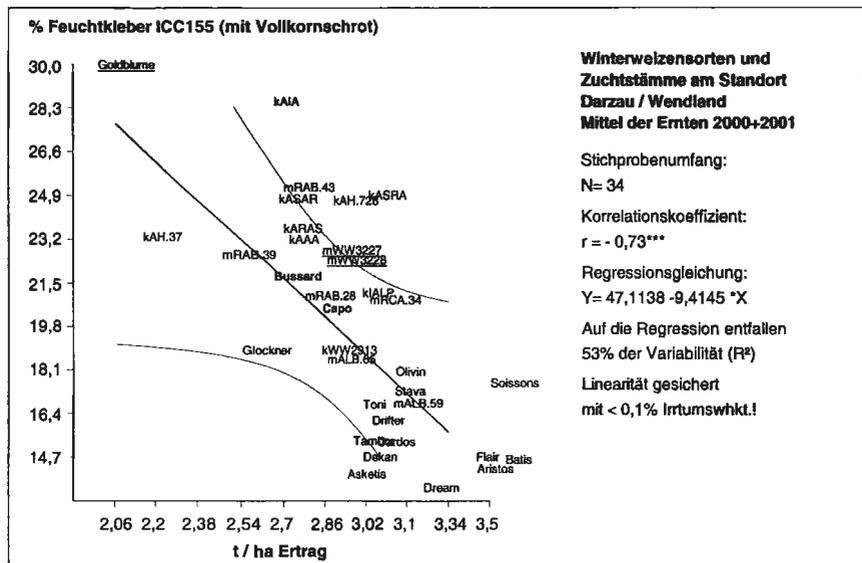


Abb.5: Verhältnis von Feuchtkleber zu Ertrag bei Öko-Zuchtstämmen im Vergleich mit konventionellen Sorten (Mittelwerte der Ernten 2000 +2001; erster Buchstabe entspricht Daten)

Kunz aus der Schweiz, beginnend mit dem Buchstaben „k“, wurden mitgeprüft, sowie neue Sorten und die Darzauer Selektion „Goldblume“ aus einem alten süddeutschen Weizen, die sich immer wieder mit den höchsten Feuchtklebergehalten hervorhob. Die modernen konventionellen Züchtungen zeigten zwar die höchsten Erträge, erreichten mit Ausnahme der Sorten „Bussard“ und „Capo“ auf diesen Standorten bisher aber nicht die Grenze zur Vermarktung als Backweizen. Inzwischen liegen neue Zuchtstämme aus Darzau und aus der Schweiz vor, die diese Sorten im Ertrag und im Feuchtklebergehalt übertreffen. Die beiden Zuchtstämme mWW3227 und mWW3228 stehen derzeit in der Öko-Wertprüfung des Bundessortenamtes.

Die besonders feuchtkleberreichen Weizen erweisen sich mit relativ niedrigen Kleber-Indices immer wieder als sehr weich in der Kleberkonsistenz (Abb.6). Angestrebt werden Kleber-Indices von 70 bis 90. Der Zusammenhang weist darauf hin, dass ein Weizen mit ausgeprägten Verarbeitungseigenschaften unter extensiven Standortbedingungen voraussichtlich keine Verarbeitungseignung unter günstigeren Standortbedingungen erreichen kann. Für Hofbäckereien mit Direktvermarktung wäre es aber durchaus interessant, einen feuchtkleberreichen Weizen mit einem geringeren Ertrag auf einer kleineren Fläche anzubauen, um andere Weizen, die ertraglich höher abschneiden können, damit aufzumischen. Die Erzeugung eines besonders feuchtkleberreichen Aufmischweizens, beispielsweise mit der Selektion „Goldblume“, wäre für Mühlen und Verarbeiter bei den derzeitigen Qualitätsaufschlägen allerdings nicht ratsam, da der für die Kleberbildung erforderliche Ertragsverzicht ohne eine besondere Auslobung der Erzeugnisse und Weitergabe der Aufschläge an die Erzeuger finanziell nicht ausgeglichen wird.

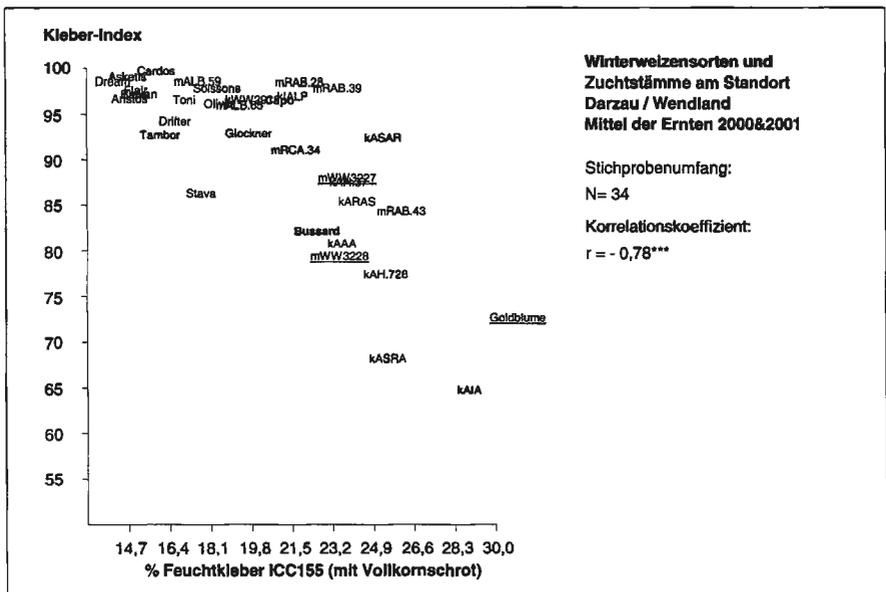


Abb.6: Die Abhängigkeit der Kleberkonsistenz vom Feuchtklebergehalt bei Öko-Zuchtstämmen und konv. Sorten (Mittelwerte der Ernten Darzau 2000+2001; 1. Buchstabe entspricht Daten)

Hinsichtlich des mit dem Sedimentationswert abgeschätzten Eiweißquell- und -aggregatbildungsvermögens in Relation zum Feuchtklebergehalt können die neuen Zuchtstämme das erforderliche Niveau erreichen und die konventionellen Sorten teilweise sogar übertreffen (Abb.7).

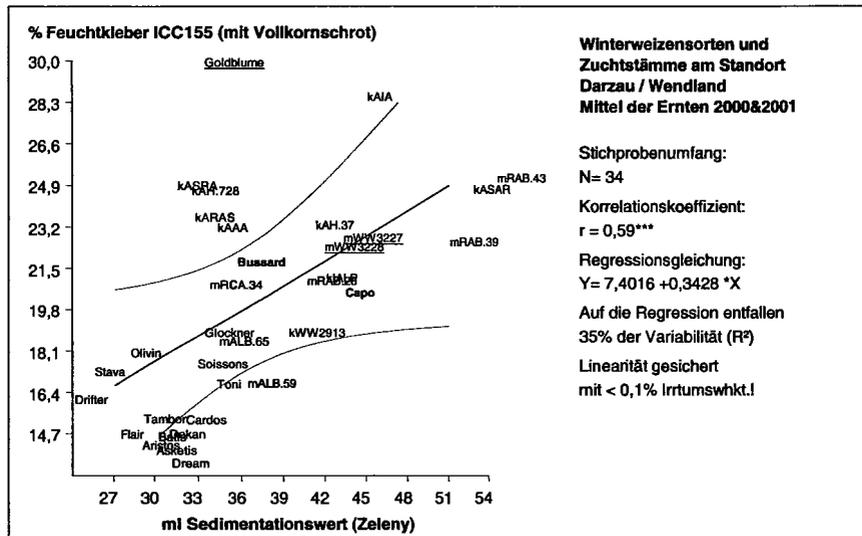


Abb.7: Sedimentationswerte in Relation zu Feuchtklebergehalten bei Öko-Zuchtstämmen und konv. Sorten (Mittelwerte der Ernten Darzau 2000+2001; erster Buchstabe entspricht Daten)

Besonders hervorzuheben ist, dass über die Qualitätsanforderungen hinaus die neuen Zuchtstämme für den ökologischen Landbau auf leichten Standorten in Niedersachsen in der Frühjahrsentwicklung frohwüchsiger sind, was in der Ende April / Anfang Mai gemessenen Wuchshöhe zum Ausdruck kommt (Abb.8). Dies führt auf ökologische Weise zu einer ausgeprägteren Unterdrückung des Beikrautwachstums durch Beschattung. Allerdings ist diesbezüglich selbstverständlich zu berücksichtigen, dass solche Sorten unter sehr günstigen Standortbedingungen im ökologischen Landbau nicht die nötige Standfestigkeit aufweisen können. Dies ist ein Grund mehr, der dafür spricht, Winterweizen für den ökologischen Landbau nach den für die Sorten vorgesehenen Standorten zu unterscheiden und voneinander abzugrenzen.

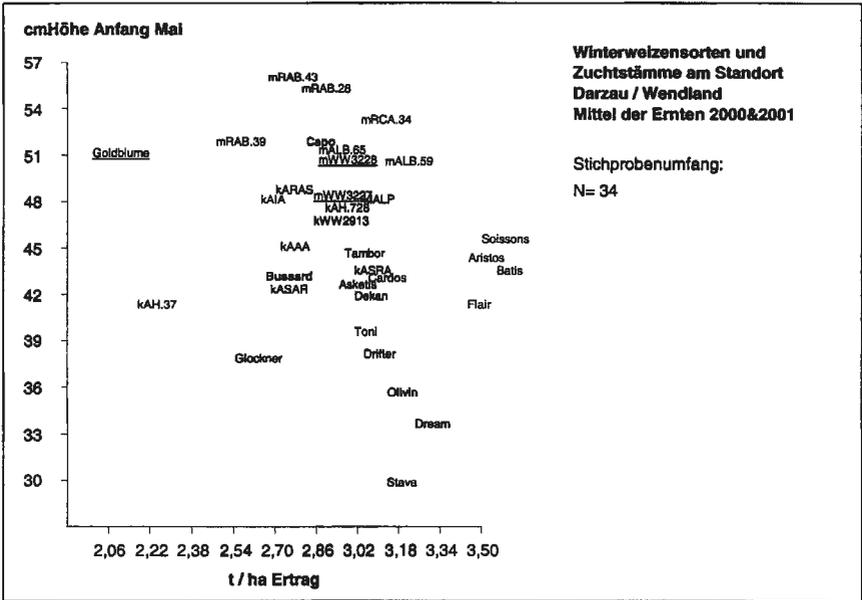


Abb.8: Bestandeshöhen Anfang Mai im Verhältnis zum Ertrag bei Öko-Zuchtstämmen und konv. Sorten (Mittelwerte der Ernten Darzau 2000+2001; erster Buchstabe entspricht Daten)

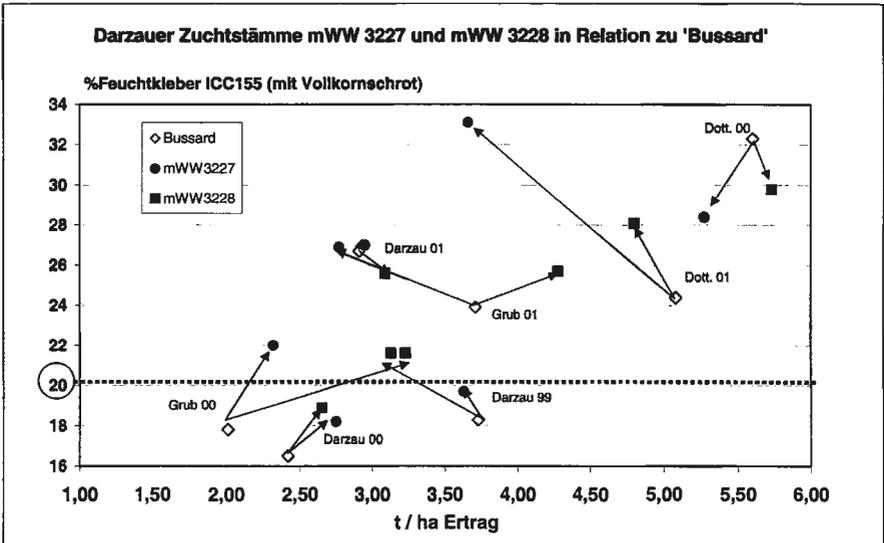


Abb.9: Feuchtklebergehalte und Erträge zwei neuer Zuchtstämme im Verhältnis zu ‚Bussard‘ an sieben Standorten

Die Ergebnisse der beiden Neuzüchtungen mWW3227 und mWW3228 an zwei anderen Öko-Zuchtstandorten weisen auf die spezifische Anbaueignung für leichte Standorte hin (Abb.9). Die allzu üppige Entfaltung auf dem sehr fruchtbaren Aueboden am Standort Dottenfelderhof führte zu geringerem Ertrag oder niedrigeren Feuchtklebergehalten als bei der Vergleichssorte. Am Standort Grub mit ebenfalls leichten Böden aber deutlich höheren Niederschlägen als in Darzau führte die unterschiedliche Neigung zu Blatt- und Ährenkrankheiten zu einer im Vergleich mit Darzau abweichenden Feuchtkleber-Ertragsrelation. Da auf den leichten, trockengefährdeten Standorten in Niedersachsen bisher lediglich der Mehltaubefall über kurze Zeitabschnitte von Bedeutung werden kann, wird der weitere Schwerpunkt in der Züchtung für den ökologischen Landbau unter regionalen Gesichtspunkten insbesondere auf eine geringere Anfälligkeit gegenüber den samenbürtigen Krankheiten Stinkbrand und Flugbrand gelegt werden müssen. Diesbezüglich weisen die modernen Sorten erhebliche Defizite auf, die bei einer Zunahme des ökologischen Landbaus in den nächsten Jahren unter dem Aspekt einer ökologischen Saatgutvermehrung an Bedeutung gewinnen werden.

Die bisherigen Bemühungen zur Züchtung von Winterweizen für die Bedingungen des ökologischen Landbaus lassen erwarten, dass vermehrte Anstrengungen dazu führen können, zukünftig auch im ökologischen Landbau über Qualitätsweizen verfügen zu können, die den Anforderungen der Verarbeiter und Landwirte gerecht werden. Die Komplexität der Zusammenhänge einzelner Eigenschaften lassen es als sinnvoll erscheinen, insbesondere bei Winterweizen den ökologisch wirtschaftenden Landwirten regional standortangepasste Sorten anzubieten, mit denen angesichts der unter ökologischen Bedingungen bedeutenderen Standortdiversifizierung eine qualitätsorientierte Erzeugung möglich wird. Die Ergebnisse legen daher nahe, ebenso in der Prüfung des landeskulturellen Wertes bei der Sortenzulassung den regionalen Anforderungen gerecht zu werden und die Anpassung an besondere Standorte gesondert zu bewerten und in der Sortenbeschreibung entsprechend zu kommentieren. ...



Agronomische und qualitative Merkmale von Emmer (*Triticum turgidum* subsp. *dicoccum*)

Heinrich Grausgruber, R. Tumpold, P. Lassnig¹, P. Ruckenbauer

Universität für Bodenkultur Wien, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung
¹Biohof Adamah, Glinzendorf, Markgrafneusiedl

*Agronomic and qualitative traits of emmer wheat (*Triticum turgidum* subsp. *dicoccum*)*

More than 30 emmer wheat accessions were tested since 1999 for their agronomic and technological traits under conventional and organic farming practices. Agronomic traits under evaluation were vernalisation response, winter hardiness, spike emergence, date of anthesis, resistance against fungal pathogens, plant height, resistance to lodging, maturity, grain yield and thousand kernel weight. Quality was described by the protein content, wet gluten content, gluten quality (Berliner test) and bread-making quality (micro-scale baking tests). A considerable variability was found for all traits. Average yield was ~400 g hulled kernels m⁻², and the mean percentage of kernels was 65%. Protein and wet gluten contents were high, 14-24% and 37-50%, respectively, however, protein quality was generally inferior. Nevertheless, several accessions showed loaf volumes comparable to quality bread wheats.

(✉) Heinrich Grausgruber, Universität für Bodenkultur, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Gregor Mendel Str. 33, A 1180 Wien. Email: grausgruber@ipp.boku.ac.at

Zusammenfassung

Ein Sortiment von 33 Emmerherkünften wurde über zwei Jahre auf agronomische und qualitative Eigenschaften überprüft. Die Versuche wurden unter konventioneller und ökologischer Bewirtschaftungsweise im Marchfeld, der „Kornkammer“ Österreichs durchgeführt. Der Anbau erfolgte sowohl im Herbst, als auch im Frühjahr, um thermo- und photoperiodische Einflüsse auf die einzelnen Herkünfte zu erfassen. An agronomischen Merkmalen wurden Auswinterung/Bestandesdichte, Zeitpunkt des Ährenschiebens/Blüte, Resistenzen gegen pilzliche Schaderreger, Wuchshöhe und Standfestigkeit erfasst. Am Erntegut wurde der Vesenertrag, der Kernanteil und das Tausendkorngewicht gemessen. Als indirekte Qualitätsparameter wurden der Proteingehalt, der Feuchtklebergehalt und die Kleberqualität herangezogen. Die Backqualität wurde mittels Mikrobackversuche von Kastenbrötchen und freigeschobenen Rundsemmeln festgestellt. Eine hohe genetische Variabilität wurde für alle Merkmale gefunden. Der durchschnittliche Vesenertrag lag bei ~400 g m⁻² und der mittlere Kernanteil betrug ~65%. Die Protein- und Feuchtklebergehalte waren hoch bis sehr hoch, 14-24% bzw. 37-50%, die Kleberqualität jedoch gering. Dennoch konnten für einige Genotypen Brotvolumina vergleichbar mit jenen von Qualitätsweizen (Aufmischweizen) erzielt werden.

Evolution und Botanik

Die Entstehung der Landwirtschaft vor ~10000 Jahren im Nahen Osten basierte auf den domestizierten Getreidearten Einkorn, Emmer und Gerste, den Leguminosenarten Kichererbse, Linse, Erbse und Wicke, sowie der Faserpflanze Lein. Das Verbreitungsgebiet des Emmer (*Triticum turgidum* subsp. *dicoccum*) befand sich an den Randgebieten des fruchtbaren Halbmonds (Lev-Yadun *et al.*, 2000). Auf dem Landweg über Kleinasien bzw. dem Seeweg entlang der östlichen Mittelmeerküsten erreichte Emmer vor ~8000 Jahren die griechischen und süditalienischen Küstengebiete (Smith, 1998). Von dort verbreitete sich Emmer in das westliche Mittelmeerbecken bzw. den Balkan. Zur Zeit der mittel- und (süd)osteuropäischen bandkeramischen Ackerbaukulturen war Emmer die dominante Getreideart (Jacomet & Kreuz, 1999). Eine besondere Bedeutung spielte der Emmer in der Evolution des hexaploiden Brotweizens (*T. aestivum*). Dieser entstand durch die spontane Hybridisierung des Wildemmers (*T. turgidum* subsp. *dicoccoides*) mit dem Ziegengras *Aegilops tauschii*.



Der tetraploide Emmer zählt neben dem diploiden Einkorn (*T. monococcum*) und dem hexaploiden Dinkel (*T. aestivum* subsp. *spelta*) zu den sogenannten „Spelzweizen“ (engl. *hulled wheats*, ital. *farro*). Beim Drusch zerbricht die Ähre in einzelne Abschnitte, die Vesen. Diese bestehen aus den Ährenspindelgliedern, Spelzen mit evt. Grannen und den Körnern. Zur Befreiung der Körner von den Spelzen bedarf es eines „Gerb-“ oder „Röllgangs“. Ein Ährchen enthält zwei Blüten bzw. Früchte, daher auch der lateinische Name *dicoccum*.



Revival „alter“ Getreidearten

Nach dem 2. Weltkrieg ist der Emmeranbau in Europa fast vollständig erloschen. Nur in wenigen strukturschwachen, v.a. gebirgigen Gebieten Italiens, Spaniens, Serbiens und Montenegros, sowie der Slowakei und Türkei, wurde er, vielfach im Gemisch mit Dinkel, kultiviert. Mitte der 1980er Jahre hat plötzlich das Interesse an Emmer, ausgehend von Italien, wieder zugenommen. Die Gründe dafür waren vielfältig: Initiativen zur Erhaltung der genetischen Diversität auf den Ackerflächen, Wahrung einer regionalen ackerbaulichen und kulinarischen Tradition (z.B. Garfagnana, Italien; Asturien, Spanien), Interesse des ökologischen Landbaus an „alten“ *low-input* Getreidearten, steigendes Interesse des Konsumenten an unkonventionellen, natürlichen und nahrhaften Getreideprodukten, etc. Die Produktpalette ist mittlerweile vielfältig und reicht vom einfachen polierten Korn als Suppeneinlage, über Brot und Gebäck, Flocken- und Teigwaren bis hin zu einem Schwarzbier und daraus hergestelltem Emmerbrand (D’Antuono & Bravi, 1996; Jenny, 2000; Matuschak, 2000). Sogar das „Abfallprodukt“ Spelzen wird mittlerweile zu Emmerspelz-Kissen verarbeitet.

Problemstellung

Österreich hat ein umfassendes Programm bestehend aus 33 Maßnahmen zur Förderung einer umweltgerechten Landwirtschaft (ÖPUL) von der EU-Kommission genehmigt bekommen, welches zu mindestens 50% von der Europäischen Union kofinanziert wird. Eines der Ziele des ÖPUL Programms ist es, die umweltfreundliche Extensivierung im pflanzlichen Bereich zu fördern. Eine Maßnahme dahingehend ist die Förderung des Anbaus „seltener landwirtschaftlicher Kulturpflanzen“, zu welchen die Getreidearten Emmer und Einkorn gezählt werden (Etz, 1998). Aufgrund dieser Förderung, sowie des steigenden Bevölkerungsanteils der gewillt ist für gesunde, biologisch produzierte, unkonventionelle und unveränderte Lebensmittel tiefer in die Geldbörse zu greifen, stieg das Interesse von Landwirten an der Produktion von Emmer und Einkorn in den letzten Jahren kontinuierlich an. Seit 2001 werden diese beiden Kulturarten, wenn auch gemeinsam, erstmals in der landwirtschaftlichen Statistik erfasst. Trotz des steigenden Interesses an Emmer und Einkorn, ist v.a. hinsichtlich des Emmers die Erfahrung von Landwirten, Müllern und Bäckern noch sehr mangelhaft. Landwirte bemängeln u.a. ausreichend zur Verfügung stehendes Saatgut, Informationen hinsichtlich Aussaattermin und -menge, Entspelungstechnologie, sowie Vermarktungsmöglichkeiten, Müller und Bäcker bemängeln wissenschaftlich fundierte Informationen über den ernährungsphysiologischen Wert von Emmergebäck. Im Rahmen dieser Problematik sollte in einem ersten Schritt das agronomische und qualitative Potential verschiedener Emmer-Herkünfte ermittelt werden.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial und Feldversuche

In Summe 32 Emmer Akzessionen aus den Genbanken des IPK Gatersleben, der BAB Linz und der Arche Noah Schiltern, sowie die moderne italienische Sorte 'Davide' (Codianni *et al.*, 1998) wurden in den Jahren 2000 und 2001 als Herbst- und Frühjahrssaat geprüft. Die Versuche wurden am Standort Raasdorf (48°15' N, 16°37' E) der Versuchswirtschaft Groß-Enzersdorf der Universität für Bodenkultur Wien durchgeführt, sowie 2001 auch auf einer biologisch bewirtschafteten Fläche des Biohof Adamah, Glinzendorf (48°15' N, 16°39' E). Beide Jahre zeichneten sich durch eine starke Frühjahrstrockenheit von Anfang März (Bestockung) bis Ende Juni (Kornfüllung) aus: 2000 betrug der Gesamtniederschlag während dieser Periode 188 mm, 2001 lediglich 156 mm.

Die Feldversuche waren als *row-column designs* angelegt. Die Verrechnung erfolgte mit ASREML (Gilmour *et al.*, 2001), wobei Wert darauf gelegt wurde mit möglichst einfachen, nachvollziehbaren Modellen einen Ausgleich von Bodenfertilitätstrends zu erreichen. Die Verrechnung über die Versuchsjahre bzw. Standorte wurde in der Folge mit trend-adjustierten Werten mit SAS, Vers. 8.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) durchgeführt.

Agronomische und Qualitäts-Merkmale

Während der Vegetationsperiode wurden folgende Merkmale erhoben: Vernalisationsbedarf und Winterhärte, Datum Ährenschieben und Blüte, Resistenzen gegenüber Mehltau, Gelb- und Braunrost, sowie Septoria-Blattflecken, Standfestigkeit und Vesenertrag. Die Krankheitsbonituren wurden, gewichtet entsprechend der ökonomischen Bedeutung der Krankheit, zu einer Anfälligkeitsszahl kombiniert. Nach Entspelung mit einem Universalschäler (US1500, Heger GbR Maschinenfabrik, Herrenberg-Oberjesingen, Deutschland) wurde der Kernanteil ermittelt. Um die Verluste bei maschineller Entspelung, entstehend durch starkes Bruchkorn (<0,8 mm), zu ermitteln, wurde im Jahre 2000 auch eine Entspelung per Hand durchgeführt. Am geschälten Material wurde das Tausendkorngewicht und der Proteingehalt bestimmt, letzterer mittels Nah-Infrarot-Transmissions-Spektroskopie

(Infratec Food and Feed Analyser, Tecator AB, Höganäs, Schweden) und/oder einem Elementaranalysegerät (CN-2000, Leco Corp., St. Josephs, MI, USA). Zur Bestimmung der Klebermenge und -qualität wurde das Korn mit einer AQC 109 Labormühle (Agromatic AG, Laupen, Schweiz) mit einer Siebmaschenweite von 250 μm vermahlen. Die Bestimmung des Feuchtklebers erfolgte entsprechend ICC Standard Methode 137/1. Die Kleberqualität wurde durch die Strukturquellzahl (Kleberquellprüfung nach Berliner) bestimmt.

Mikro-Backversuch

Zur Bestimmung der Backqualität wurden Mikro-Backversuche durchgeführt. Emmerkorn wurde mit einer König Super M1 Getreidemühle (HS Compact GesmbH, Grieskirchen, Österreich) vermahlen und abgeseibt (Maschenweite 500 μm). Teig wurde aus 50 g Mehl, 2 g Trockenhefe (+ Emulgator E472c), 1 g Salz, 1 g Weizenmalz und 3 g Margarine zubereitet. Destilliertes Wasser wurde im Ausmaß von 55% der Mehlmenge zugegeben. Der Teig wurde etwa eine Minute angekneten. Bei zu trockenem Teig erfolgte eine weitere Wasserzugabe in 2,5%-Schritten. Nach dem Ankneten erfolgte eine Knetung für 5 Minuten in einer PM900 Küchenmaschine (Kenwood Ltd., Havant, UK) mit Spiralkneteraufsatz. Anschließend wurde der Teig zwischen den beiden glatten Walzen einer Ampia 150 Pastamaschine (Marcato SpA, Campodarsego, Italien) ausgerollt, mit der Hand wieder aufgerollt, und drei Teigstücke zu je 25 g abgetrennt. Zwei Teigstücke wurden zu Kastenbrötchen geformt und in Shogren Backformen (Shogren & Shellenberger, 1954) aus Edelstahl gegeben, das dritte Teigstück wurde zu einer Rundsemmel gerollt. Es folgte eine Gare von 60 Minuten bei 40°C im Klimaschrank. Das Backen erfolgte für 30 Minuten in einem Panasonic SD-206 Brotbackautomaten (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd., Osaka, Japan), deren Knetvorrichtung entfernt und verschlossen wurde (Grausgruber *et al.*, 2001). Die Bestimmung des Brotvolumens erfolgte mittels Volumsverdrängung von *Amaranthus* sp. Samen (TKG 1 g). Zudem wurden die Abmessungen der Brötchen (Höhe der Kastenbrötchen, Höhe und Durchmesser der Rundsemeln) mittels Schublehre erfasst.

Tabelle 1: Mittelwerte der zehn ertragreichsten Akzessionen für agronomische Merkmale.

Akzession ¹	VE ² (g m ⁻²)	VEF (%)	BIOVE (g m ⁻²)	TKG (g)	WHOE (cm)	LAGR	KA
TRI 16768	576,2	-55	459,2	49,4	114	2	7,5
TRI 5127	545,5	-87	503,0	42,4	111	2	13,0
TRI 16775	535,4	-40	357,2	44,1	105	3	4,4
TRI 16444	503,5	-50	351,6	47,4	98	7	0
TRI 16796	500,2	-60	354,9	51,3	111	1	4,6
TRI 4747	490,0	-80	487,7	41,8	111	1	21,0
TRI 17213	483,1	-48	378,6	53,0	100	2	0,8
Davide	463,9	-73	-	58,2	96	1	13,9
TRI 17700 ^(W)	456,1	-8	478,3	49,3	110	3	0,8
TRI 16724 ^(W)	447,4	-35	385,9	33,6	95	3	0

¹ (W), Wechsel-Emmer,

² VE, Vesenertrag (\varnothing KW00+KW01); VEF, rel. Vesenertrag bei Frühjahrssaat (\varnothing KF00+KF01); BIOVE, Vesenertrag bei Bioanbau (\varnothing BW01); TKG, Tausendkorngewicht; WHOE, Wuchshöhe; LAGR, Lagerbonitur; KA, Krankheitsanfälligkeitzahl.

Ergebnisse

Für alle Merkmale wurde eine hohe genetische Variabilität gefunden. In den konventionell bewirtschafteten Versuchen wurde ein durchschnittlicher Vesenertrag von 370 g m^{-2} bei Herbstsaat und 191 g m^{-2} bei Frühjahrssaat erreicht. Es ergab sich somit für die Sommerungen eine Ertragsreduktion von 48%. Diese war einerseits auf die Frühjahrstrockenheit zurückzuführen, andererseits auf „reine“ Winter-Emmer im bestehenden Sortiment, für die die Vernalisationsbedürfnisse bei Frühjahrssaat nicht mehr gewährleistet werden konnten. Eine Darstellung der Variabilität im Vesenertrag in den fünf verschiedenen Umwelten, sowie des Kernanteils und der Wuchshöhe ist in Abb. 1 zu sehen. Aufgrund eher milder Winter in den letzten Jahren war es nicht möglich eine gesicherte Aussage über die Winterfestigkeit des Sortimentes zu treffen. Eine vorläufige Einteilung in Winter-, Wechsel- und Sommerformen kann somit nur provisorisch und nur für Ostösterreich gelten. Als Winterformen wurden jene Akzessionen beurteilt, die im Durchschnitt über die zwei Jahre eine Reduktion im Vesenertrag von $\geq 40\%$ bei Frühjahrssaat im Vergleich zur Herbstsaat zeigten. Als Wechselformen wurden die Herkünfte mit einer Ertragsreduktion von 0-40% bewertet, während als reine Sommerformen jene bewertet wurden, die bei Frühjahrssaat einen höheren Ertrag erreichten, als bei Herbstsaat. In Tab. 1 sind Mittelwerte für agronomische Merkmale für die zehn ertragreichsten Herkünfte angeführt. Auf der Ökofläche betrug die Ertragsreduktion im Schnitt $\sim 20\%$. Fünf Herkünfte zeigten auf der Ökofläche höhere Erträge als auf der konventionellen Versuchsfläche. Große Rangunterschiede zwischen den beiden Wirtschaftsweisen zeigten sich auch bei anderen Genotypen, so dass durchaus zwischen Extensiv- und Intensivtypen unterschieden werden kann. Der Verlust bei maschineller Entspelzung durch sehr kleine Bruchstücke ($< 0,8 \text{ mm}$) betrug im Mittel $\sim 10\%$ (Abb. 1b). Ein vermuteter Zusammenhang zwischen Wuchshöhe und Lagerbonitur wurde nicht gefunden (Abb 1c).

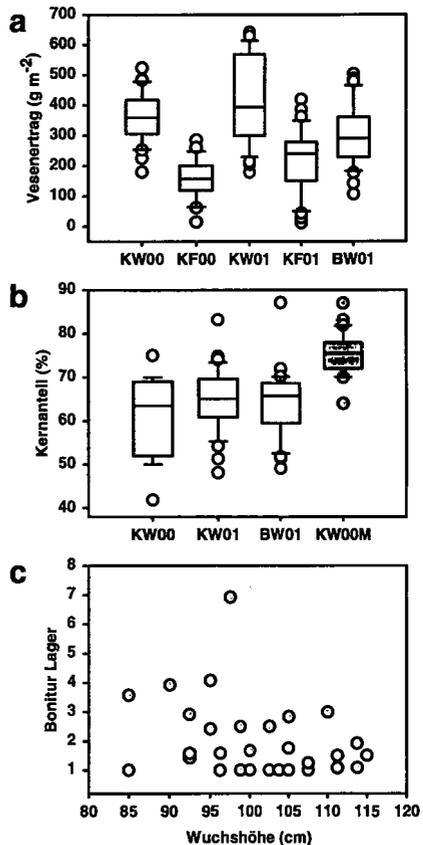


Abb. 1: Genetische Variabilität ausgewählter agronomischer Merkmale: (a) Vesenertrag (K=konventionell, B=biologisch, W=Herbst-, F=Frühjahrssaat, 00=2000, 01=2001); (b) Kernanteil (weiß=maschinell, grau=manuell); (c) Zusammenhang Wuchshöhe und Lager.

Die Krankheitsanfälligkeit des Sortiments war allgemein gering. Einzelne Akzessionen zeigten jedoch eine mittlere Anfälligkeit gegenüber Mehltau, und bei einigen weiteren brach im Jahre 2001 die Gelbrostresistenz zusammen. Braunrost und Septoria-Blattflecken traten nur vereinzelt auf der Ökofläche auf. Trotz einer höheren Anfälligkeitszahl bei den Akzessionen TRI 5127, TRI 4747 und 'Davide' zählten diese zu den ertragreichsten Genotypen (Tab. 1). Im derzeitigen österreichischen Winterweizensortiment werden Anfälligkeitszahlen zwischen 0 und 30 erreicht.

Tabelle 2: Mittelwerte der zehn proteinreichsten Akzessionen für qualitative Merkmale.

Akzession	PROT ¹ (%)	GLUT (%)	Q ₀ (ml)	BVR (ml 100g ⁻¹)	BVK (ml 100g ⁻¹)	KF	GG
TRI 4755	20,2	47,0	4,0	318,6	344,1	2,3	2,0
EM 15	19,9	50,4	2,0	266,3	321,1	2,2	2,0
Davide	19,6	47,9	2,0	298,6	282,9	4,3	2,5
TRI 5329	19,6	51,2	2,0	348,1	357,2	1,6	1,7
TRI 15125	19,4	42,8	3,0	324,8	307,8	2,7	2,0
EM 23	19,3	50,6	2,5	312,1	323,8	1,2	1,0
TRI 4277	19,3	50,8	2,0	343,2	364,0	2,3	2,3
TRI 16883	18,7	46,8	4,0	291,4	288,1	1,8	1,3
TRI 17251	18,7	47,2	4,0	273,1	305,0	1,7	1,5
EM 10	18,5	47,4	4,5	315,8	309,8	2,5	3,5

¹ PROT, Proteingehalt (NIT); GLUT, Feuchtkleber; Q₀, Strukturquellzahl (alle Ø KW01+ BW01); BVR, Brotvolumen Rundsemml; BVK, Brotvolumen Kastenbrötchen; KF, Krumenfarbe (1=braun, 3=gelb, 5=sehr hell/gräulich); GG, Geruch und Geschmack (1=wohlschmeckend, 3=neutral, 5=herb) (alle Ø KW00+KF00+ KW01+BW01).

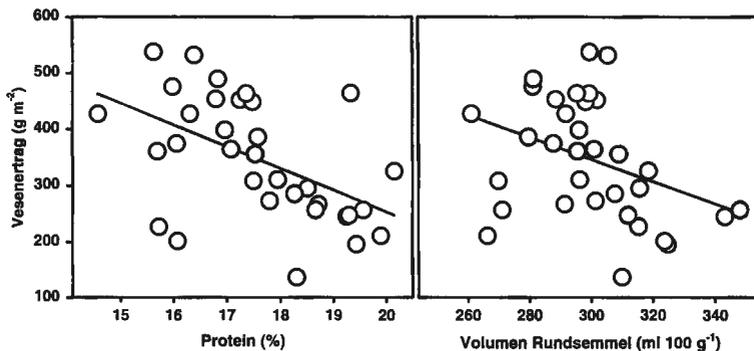


Abb. 2: Negative Beziehung zwischen Ertrag und Qualität dargestellt durch die Merkmale Proteingehalt und Brotvolumen Rundsemml.

Die Proteingehälter der Emmer Akzessionen waren hoch bis sehr hoch (Tab. 2). Zum Vergleich von Saatterminen und Landbausystemen wurden orthogonale Sortimente herangezogen. Demnach konnte 2001 bei Herbstsaat (KW01) ein mittlerer Proteingehalt von 18,1% (15,5-20,3%) erreicht werden, während er bei Frühjahrssaat (KF01) bei 20,3% (17,6-25,7%) lag. Deutlicher war der Unterschied zwischen konventioneller (KW01, \bar{x} 18,1%) und biologischer Wirtschaftsweise (BW01, \bar{x} 14,6%) (Abb. 3a). In beiden Fällen wurden die Weizenstandards 'Capo' (15,2% bzw. 12,7%) und 'Pegassos' (12,8% bzw. 12,2%) von den meisten Akzessionen übertroffen. Hoch bis sehr hoch und deutlich höher im konventionellen Anbau waren auch die Feuchtklebergehalte. Die Kleberqualität war jedoch schlecht, wodurch nur niedrige Strukturquellzahlen (1-5 ml) erreicht wurden. In diesem Fall wurde kein Unterschied zwischen den beiden Wirtschaftsweisen festgestellt (Abb. 3b). Die Qualitätsweizensorte 'Capo' erreichte im Vergleich dazu eine Strukturquellzahl von 17 ml. Die proteolytischen Quellzahlen (Q_{30}) waren sehr niedrig (0-1 ml), während sie im österreichischen Winterweizensortiment zwischen 3 ml (Futter- und sonstiger Weizen) und 20 ml (Aufmischweizen) liegen. Die Volumina für Rundsemmeln bzw. Kastenbrötchen waren größtenteils vergleichbar oder niedriger als jene für die Winterdurumsorte 'Heradur'. Einige wenige Akzessionen erreichten jedoch auch Brotvolumina gleich den Qualitätsweizensorten 'Capo' und 'Josef' (Abb. 3c). Allgemein waren die Volumina für die Kastenbrötchen höher. Für einige Akzessionen konnten zufriedenstellend voluminöse Kastenbrötchen, jedoch hinsichtlich Form und Volumen nicht befriedigende Rundsemmeln beobachtet werden. Durchwegs positiv wurde die Krumenfarbe und der Geschmack beurteilt, unabhängig vom Gebäckstyp (Tab. 2). Die Beziehung zwischen Ertrag und Qualität ist auch beim „Urweizen“ Emmer eine eindeutig negative (Abb. 2).

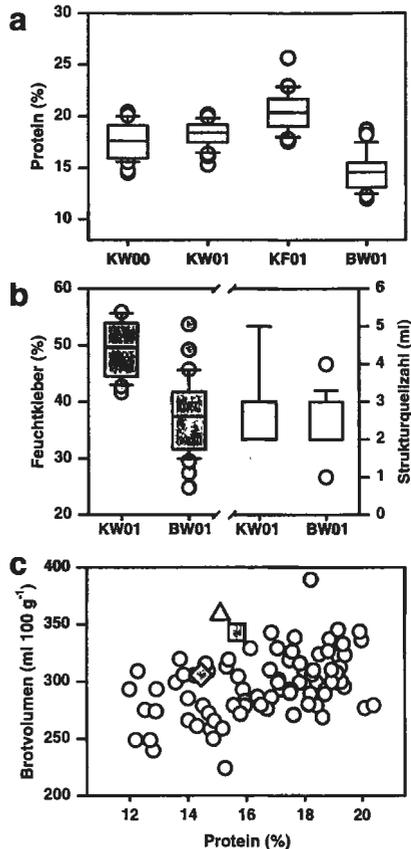


Abb. 3: Genetische Variabilität ausgewählter Qualitätsmerkmale: (a) Proteingehalt (K=konventionell, B=biologisch, W=Herbstsaat, F=Frühjahrssaat, 00=2000, 01=2001); (b) Feuchtklebergehalt (li.) und Strukturquellzahl (re.); (c) Beziehung zwischen Brotvolumen Rundsemmel und Proteingehalt (Kreise=Emmer Herkünfte, Raute='Heradur', Dreieck='Josef', Quadrat='Capo').

Diskussion und Schlussfolgerungen

Im vorliegenden Emmer Sortiment wurde eine hohe genetische Variabilität in den agronomischen und qualitativen Merkmalen festgestellt. Eine züchterische Nutzung dieser Variabilität ist möglich. Aufgrund der geringen Frühjahrsniederschläge und der milden Winter sind die Daten für Wuchshöhe, Lager und Winterhärte jedoch mit Vorsicht zu bewerten. Während die Vesenerträge der besten Akzessionen für das ostösterreichische Trockengebiet im Falle einer Herbstsaat durchaus zufriedenstellend sind, ist der Verlust durch Bruchkorn entstehend bei der mechanischen Entspelzung noch zu hoch. Da alle Akzessionen mit derselben Einstellung entspelzt wurden, ist hier noch eine Minimierung des Verlustes durch eine genotypspezifische Einstellung möglich. So konnte durch geänderte Einstellungen im Jahre 2001 dieser Verlust bereits um durchschnittlich 5% gegenüber 2000 verringert werden (Abb. 1b). Für eine schnelle und einfache genotypspezifische Einstellung des Universalschälers wäre es jedoch notwendig einen Zusammenhang zwischen Bruchkornanteil und anderen Merkmalen, z.B. Korngröße, TKG, Kornhärte etc. zu finden. Ansonsten ist das Herantasten an eine genotypspezifische Einstellung sehr zeitaufwendig. Im Rahmen eines Züchtungsprogramms sollten Genotypen mit einem höheren Kernanteil und einer leichten Schälbarkeit berücksichtigt werden.

Da die Wuchshöhe bei höheren Niederschlägen deutlich höher sein wird, und damit die Lagergefahr steigen wird, muss eine züchterische Bearbeitung in erster Linie eine Verkürzung der Halmlänge und eine Erhöhung des Ernteindex zum Ziel haben. Im vorliegenden Sortiment wurden zwar Genotypen ≤ 100 cm gefunden, diese zeigten jedoch zum Teil eine erhöhte Lagerneigung aufgrund ihrer deutlich dünneren Halme. Eine Einkreuzung von Kurzstrohgenen aus Durum kommt in einem Zuchtprogramm welches hauptsächlich auf den ökologischen Landbau ausgelegt ist allerdings nicht in Frage. Erfahrungen mit Dinkelsorten, denen Kurzstrohgene aus *Aestivum*-Weizen eingekreuzt wurden, haben gezeigt, dass solche Genintrogressionen von den Biobauern nicht akzeptiert werden. Obwohl eine gewisse Interaktion zwischen Genotyp und Wirtschaftsweise festgestellt wurde ist es sicherlich nicht sinnvoll eigens auf Extensiv- oder Intensivtypen zu selektieren. Die Bedeutung von Emmer wird sicherlich auch bei einem steigenden Interesse nur im Bereich des ökologischen Landbaus liegen, wodurch nur eine Selektion unter eben diesen *low-input* Bedingungen sinnvoll erscheint.

Aufgrund des enormen Ertragsverlustes bei Frühjahrssaat erscheint es für Ostösterreich nicht sinnvoll zu sein Emmer als Sommerung zu kultivieren, trotz der hohen Trockenheitstoleranz. Für die niederschlagsreicheren und auch schneereicheren Anbauggebiete von Oberösterreich und des Waldviertels sind allerdings, wie Erfahrungen aus der Praxis zeigen, Sommerungen durchaus zielführend. Bei in diesem Falle kürzerer Vegetationsdauer ist auch das Problem Wuchshöhe und Lager minimiert.

Emmer ist ein wohlschmeckendes, vielseitig verwendbares Getreide. Die festgestellten hohen Proteingehälter sind vergleichbar mit jenen die von Perrino *et al.* (1993) in 50 Akzessionen festgestellt wurden (14.2-20.2%, $\bar{\phi}$ 17.1%). Trotz der hohen Protein- und Feuchtklebergehalte kann die Kleberqualität aufgrund des Kleberquellungsvermögens nur als minderwertig eingestuft werden. Dennoch waren die Backversuche für einige Akzessionen sehr zufriedenstellend, da Brotvolumina erreicht wurden die mit jenen von Qualitätsweizensorten vergleichbar sind. Auch in den Qualitätsuntersuchungen von Cubadda & Marconi (1996) zeigten die Backversuche voluminöse Emmerbrote, die einen besseren Geschmack, Geruch und Farbe der Krume hervorbrachten. Emmerbrot wies zudem eine sehr feinporige Textur auf. In Versuchen mit Emmer-Teigwaren war trotz niedriger Kleberqualität und niedriger Alveograph W-Werte die Kochqualität zufriedenstellend. Heute gibt es wieder u.a. Brot, Nudeln, Ravioli und Konfekt aus Emmer (Matuschak, 2000). Diese breite Produktpalette

bestätigt, dass es durchaus möglich ist, trotz der vielfach festgestellten niedrigen Kleberqualität Emmergebäck und -teigwaren von entsprechender Qualität herzustellen. Von der Nutzungsrichtung scheint es allerdings abhängig zu sein, die vorhandene genetische Variabilität optimal auszunutzen. So konnte in unseren Backversuchen deutlich gezeigt werden, dass sich bestimmte Genotypen sehr gut für freigeschobene Gebäcke eignen, während andere sehr hohe Brotvolumina im Falle von Kastengebäcken liefern. Es besteht also eine gewisse Interaktion zwischen Genotyp und Backqualität je nach Gebäckstyp. Es muss allerdings berücksichtigt werden, dass die Rezeptur des vorliegenden Backversuches eigentlich für

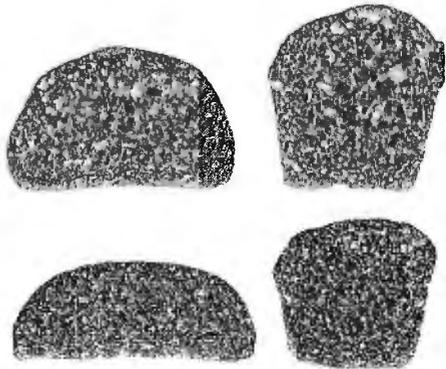


Abb. 4: Rundsemmeln und Kastenbrote von zwei Emmer Akzessionen mit unterschiedlicher Backqualität (oben: Volumina $>320 \text{ ml } 100\text{g}^{-1}$ Mehl, unten: $<300 \text{ ml } 100\text{g}^{-1}$ Mehl).

Brotweizen entwickelt worden ist. Hinsichtlich eines für den Konsumenten entsprechenden Endproduktes wird sich die Frage stellen, ob Emmer rein oder in Mehlmischungen (mit Roggen, Einkorn, etc.), ausgemahlen oder als Vollkorn, zum Einsatz kommen soll. Generell gilt, dass hinsichtlich der Verwertungsmöglichkeit von Emmer noch ein Entwicklungsbedarf seitens der Lebensmitteltechnologie besteht. Andererseits wird und soll Emmer weiterhin ein Nischenprodukt bleiben, wodurch eine regionale Vermarktung und in der Folge das Handwerk mehr gefordert sein wird und weniger die Lebensmittelindustrie.

Was macht nun Emmer einzigartig bzw. was spricht dafür Emmer für diverse Getreideprodukte einzusetzen? Sicherlich richtig ist, dass Emmer kaum züchterisch bearbeitet wurde und deshalb eine noch sehr unveränderte Getreideart darstellt. Wahrscheinlich ist, dass Emmer eine Getreidealternative für Patienten mit Allergien gegenüber *Aestivum*-Weizenproteine darstellt. Sicherlich falsch ist allerdings, dass Emmer von Zöliakiepatienten zu sich genommen werden kann. Und hier liegen wesentliche Probleme begraben bzw. besteht enormer wissenschaftlicher Handlungsbedarf. Vieles wurde über den gesundheitlichen Wert von Emmer behauptet, wenig bis nichts wurde jedoch bisher wissenschaftlich verifiziert. In der italienischen Volksmedizin gilt Emmer als Getreide mit einer geringen Nährhaftigkeit, als Essen für Kranke und Arme, Kinder und Alte, welches leicht verdaulich und bekömmlich (Papa, 1996). Nur wenig wurde bisher wissenschaftlich hinsichtlich des ernährungsphysiologischen Wertes von Emmer untersucht. Als abgesichert gilt der hohe Proteingehalt. Mittlerweile wurde in Wildemmer ein Gen für hohen Proteingehalt (*high-protein gene*, HPG) identifiziert und in *Aestivum*-Weizen transferiert (Rajaram *et al.*, 2001). Der Gehalt an essentiellen Aminosäuren (Cubbada & Marconi, 1996), sowie essentieller Mineralstoffe und Vitamine scheint sich nicht wesentlich von anderen Weizenarten zu unterscheiden. Lediglich ein geringerer Gehalt an Phytat (Cubbada & Marconi, 1996) und gewisse Unterschiede in der Rohfaser (Abdel-Aal *et al.*, 1998) konnten nachgewiesen werden. Diese wenigen Untersuchungen wurden allerdings nur an wenigen bzw. einzelnen Genotypen durchgeführt. Vieles ist überliefert, vieles bleibt offen. Fest steht: Emmer ist durchaus einzig-, zumindest eigenartig, wie auch unsere Backversuche zeigten. Der Geschmack war intensiver, sehr wohlschmeckend, die Textur sehr feinporig bis kristallin, was vor allem einen Einsatz von Emmermehl für Süßspeisen und Konfekt nahelegt.

Danksagung

Die Ökoversuchsfläche wurde von der Fam. Zoubek, Glinzendorf zur Verfügung gestellt. Herzlichen Dank dafür.

Literatur

- Codianni, P., Troccoli, A., Di Fonzo, N., Galterio, G., Pogna, N. E., 1998: Davide, prima varietà di farro migliorata geneticamente. *L'Informatore Agrario* 25, 46-49.
- Cubbada, R., Marconi, E., 1996: Technological and nutritional aspects in emmer and spelt. In: Padulosi, S., Hammer, K., Heller, J. (eds.), *Hulled Wheats. Proc. 1st Int. Workshop on Hulled Wheats*, pp. 203-211. IPGRI, Rome.
- D'Antuono, L. F., Bravi, R., 1996: The hulled wheat industry: present developments and impact on genetic resources conservation. In: Padulosi, S., Hammer, K., Heller, J. (eds.), *Hulled Wheats. Proc. 1st Int. Workshop on Hulled Wheats*, pp. 221-233. IPGRI, Rome.
- Etz, H., 1998: Die österreichische Perspektive alternativer Getreidearten. *Förderungsdienst* 46, 373-375 + 378-379 + 382-383.
- Galterio, G., Cappelloni, M., Desiderio, E., Pogna, N. E., 1994: Genetic, technological and nutritional characteristics of three Italian populations of "farrum" (*Triticum turgidum* subsp. *dicoccum*). *J. Genet. Breed.* 48, 391-398.
- Gilmour, A. R., Cullis, B. R., Welham, S. J., Thompson, R., 2001: *ASREML Reference Manual*. February 23. NSW Agriculture, Orange, Australia.
- Grausgruber, H., Kreuzmayr, A. E., Ruckebauer, P., 2001: Evaluation of the breadmaking quality of Austrian-grown wheats using an automatic home-bakery. *Cereal Res. Commun.* 29, 421-428.
- Jacomot, S., Kreuz, A., 1999: *Archäobotanik*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.
- Jenny, M., 2000: Nischenproduktion als Chance für die Artenvielfalt am Beispiel des Klettgauer Emmer/Einkorn-Projekts. *Agrarspectrum* 31, Entwicklung nachhaltiger Landnutzungssysteme in Agrarlandschaften, pp. 236-246. Verlagsunion Agrar.
- Lev-Yadun, S., Gopher, A., Abbo, S., 2000: The cradle of agriculture. *Science* 288, 1602-1603.
- Matuschak, B., 2000: Comeback auf dem Acker. *Urweizen zurück: Modellprojekt im Klettgau*. Salz & Pfeffer (Winterthur) 10/2000, 84-87.
- Papa, C., 1996: The 'farre de Montelione': landrace and representation. In: Padulosi, S., Hammer, K., Heller, J. (eds.), *Hulled Wheats. Proc. 1st Int. Workshop on Hulled Wheats*, pp. 154-171. IPGRI, Rome.
- Perrino, P., Infantino, S., Basso, P., Di Marzio, A., Volpe, N., Laghetti, G., 1993: Valutazione e selezione di farro in ambienti marginali dell'appennino molisano. *L'Informatore Agrario* 43, 41-44.
- Rajaram, S., Peña, R. J., Villareal, R. L., Mujeeb-Kazi, A., Singh, R., Gilchrist, L., 2001: Utilization of wild and cultivated emmer and of diploid wheat relatives in breeding. *Israel J. Plant Sci.* 49, Suppl. "The Aaronsohn Lectures on Wild Emmer Wheat", S93-S104.
- Shogren, M. D., Shellenberger, J. A., 1954: The design, construction, and use of micro baking equipment. *Cereal Chem.* 31, 475-482.
- Smith, B. D., 1998: *The Emergence of Agriculture*. Scientific American Library, New York.



Effects of *Fusarium* on Protein and Bread Quality of Winter Wheat

H.H. Permady¹, E. Pawelzik¹, G.A. Wolf²

¹Institute of Agricultural Chemistry, Georg-August-University, Carl-Sprengel-Weg.1,
D-37075 Göttingen, Germany. E-mail: hpermad@gwdg.de; epawelz@gwdg.de.

²Institute of Plant Pathology, Georg-August-University, Grisebach Str.6, D-37077 Göttingen,
Germany. E-mail: gwolf@gwdg.de.

Abstract. *The effect of fungal infection on protein quality on winter wheat was studied. A German winter wheat was infected at different growing stages by Fusarium culmorum. After harvest the kernels were graded based on the visual amount of infected area on the kernels as followed. (1) 0% infected, (2) 20% infected, (3) 30% infected, (4) 40% infected, (5) 70% infected, and (6) 94% infected. Protein quality was determined by wet gluten content and dough stability. Infection grade was correlated to such enzyme activity. Above 20% of infection grade led to the significant increase of proteinase activity, followed by the decrease in gluten content and dough stability. Fusarium infection had also a strong negative effect on the rheological properties of dough, as detected by the decrease of stability, extensibility and loaf volume.*

Introduction.

Fusarium head blight is a fungal infection of grain cereals and can lead to losses of grain yield quality and to mycotoxin contamination. The infection is primarily caused by *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum*. Further, *Fusarium* affects the processing quality of wheat. Meyer et al (1986) reported that German wheat infected by *F. culmorum* (W.G.Smith) Sacc. exhibited inferior baking quality, which is caused by low protein quality of the flour (Pomeranz 1988). Similar results were also reported on Manitoba wheat, where the *Fusarium* head blight caused poor flour colour, weak dough properties and unsatisfactory bread quality (Dexter et al 1996). Similar results were also found on hard red spring wheat harvested in 1994. Gluten is formed by the interactions of proteins, glutenin and gliadin, which also associate with lipid and pentosans during the dough formation. Strong dough with an extensive gluten network is suitable for bread making (Pomeranz 1988). Consequently, flour quality is influenced by the nature of the gluten and its various components. This study examines the effect of *Fusarium* infection on protein quality, protease activity and bread quality of wheat.

Material and Methods

German Winter wheat „Contra“ was grown in Germany in 1996. The wheat was inoculated with *Fusarium culmorum* at different growing stages. Plants were bonitur to evaluate the infection level of the *Fusarium culmorum* on the plants. The infection was graded between 0 and 100% and shown as Bonitur - *Fusarium* infection (%). Seeds were harvested following

maturation. After harvesting seeds were grinded with Laboratory Mill 120, from Ing.Steffan Kasten Müller GmbH, Münschen. Germany.

Fusarium infection degree were also determined immunologically with Elisa test and described by Clark & Adams (1977). Means are result of two repetition. Results are presented as fusarium protein units (FPU).

Colorimetric-micro plate assay was used to test the activity of proteinase as described by Wolf and Wirth (1996). Result are means of three repetition and presented as $Ug^{-1}ml^{-1}$

Wet gluten content was determined as described in ICC Standard No. 106/2, 1999. Means consist of two repetitions and presented in % dry matter (DM).

Water absorption, dough stability and dough softening were measured with Farinograph (Brabender Instruments Inc., South Hackensack. NJ) by AACC (1995). Means of each replicate consist of two repetitions.

Micro backing test was done on all flours (Kieffer et al., 1993). Two repetitions were done for each sample.

Results and discussion

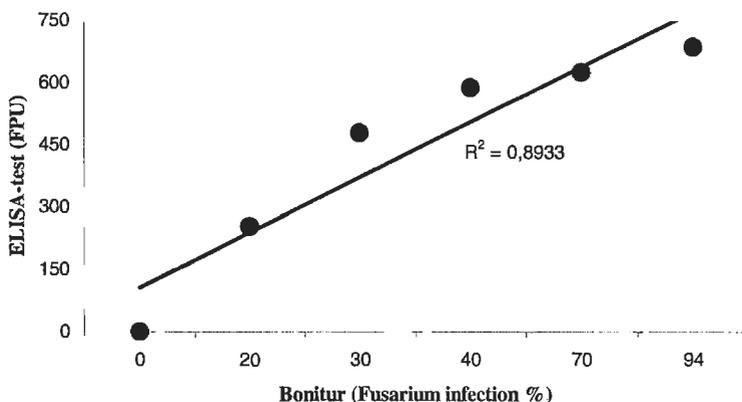


Figure 1: infection grade in wheat flour comparison between bonitur method and ELISA-test

The bonitur results were confirmed by the ELISA-test (Fig.1). Higher protein content correlated ($r^2 = 0,89$) with the bonitur value. This indicated that the increase of the Fusarium infection lead to higher Fusarium's protein content.

The increase of infection level was parallel to the increase of proteinase activity in wheat ($r^2 = 0,95$) (Fig. 2). Unlike the proteinase activity, gluten content was slightly decrease from 32% to 24% with the increase of fusarium infection (Fig.2). The increase of proteinase activity is related to Fusarium enzyme and could be responsible for degradation of gluten and dough stability. Figure 2 shows that in higher infected samples the gluten content is less than in samples with lower fusarium infection.

According to Bechtel et al. (1985) and Meyer et al. (1986), Fusarium spp. Invade wheat kernels through the pericarp and aleurone regions into endosperm, where the fungus probably degrades gluten proteins. Furthermore, fungi invade the kernel during maturation phase and disturb protein synthesis.

Inoculated flours exhibited lower water absorption, shorter development time, shorter dough stability and softer dough (Table 1). Fusarium infection greatly affected baking quality (Fig.3), this result is agreed with previous finding reported by Meyer et al. in 1986.

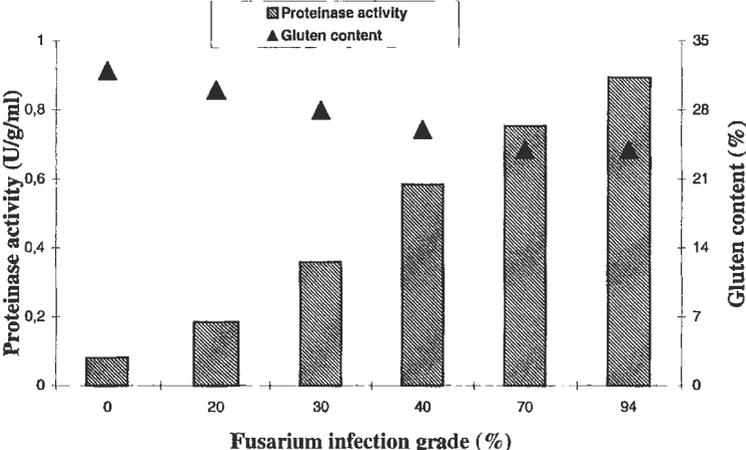


Figure 2 : Effect of Fusarium infection on proteinase activity and wet gluten content

Table 1: Effect of Fusarium infection on rheological dough properties

Dough properties	Fusarium infection grade (%)					
	0%	20%	30%	40%	70%	94%
Water absorption (%)	53,7	55,7	55,9	56,4	58,6	61,1
Dough stability (min)	1,1	1,0	1,0	0,8	0,6	0,5
Dough softening (FU)	149	207	227	240	270	294



Figure 3: Effect of Fusarium infection on bread quality. Numbers represent the infection degree.

Conclusion

The results of this study clearly show the effects of *F. culmorum* on wheat kernels. The fungal infection occurs in the field and may affect the quality of wheat. The kernels were shrivelled due to shrinkage caused by inhibition of kernel development and degradation of storage reserves. Fusarium infection of wheat ears during growing period an undesirable influence on protein quality. The result confirmed that low degree of fusarium infection on wheat plant is enough to produce the wheat flour with poor baking quality.

References :

- Clark, M.F & Adams, A.N (1977), Characteristics of the micro plate method of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of plant viruses. J. Gen.Virol.34,475-483.
- Bechtel, D.B., Kaleikau, L.A., Gaines, R.L and Seitz, LM. 1985., The effects of *Fusarium graminearum* infection on wheat kernels. Cereal Chemistry. 62:191.
- Huebner, F.R., Kaczkowski, J and Bietz, J.A. 1990. Quantitative variation in wheat proteins from grain at different stages of maturity from different spike locations. Cereal Chem. 67: 464.
- Kieffer, R; Belitz,H.D; Zweier,M; Ipfelkofer,R; Fischbeck,G.(1993), Der Rapid-Mix-Test als 10-g-Mikrobackversuch-in: Z.f. Lebensm-Unters. U-Forsch 197.134-136.
- Meyer,D., Weipert,D and Mielke,H. (1986). Beeinflussung der Qualität von Weizen durch den Befall mit *Fusarium culmorum*. Getreide Mehl und Brot. 40:35.
- Wolf, G.A. und Wirth, J.W.(1996). Soluble, dye-labelled substrates for a micro-plate assay of proteinase activity. J. of Microbiological Methods 25. 337-342
- Standard Methods of the International Association for cereal Chemistry (ICC) 1999. Vienna. Working Method for the determination of wet gluten in wheat flour.
- AACC (1995). Farinograph test, Method 54-21, approved April 1961 revised October 1994, final approval November 1995. St Paul. Minn: AACC.



Gewicht, Durchmesser und Härte von Weizen-, Roggen- und Triticalekörnern aktueller Sorten

Flamme, W.; Jansen, G.; Jugert, M.

Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Stressphysiologie
und Rohstoffqualität, Rudolf-Schick-Platz 3, 18190 Groß Lüsewitz

Weight, thickness and hardness of kernels from actual varieties of wheat, rye and triticale

A low kernel weight, a small and long spindle shape and a high toughness of cereal grains reduce the milling properties. The Single Kernel Characterization System SKCS 4100 from Perten was developed in USA, classifying wheat samples as either soft, hard, or mixed. SKCS automatically singulates kernels and determines individual kernel weight, diameter, moisture, and hardness. SKCS was successfully used for analysis of actual German cereal varieties. The values of kernel weight, diameter and moisture, determined with standard procedures, are closely correlated with SKCS-dates. The SKCS hardness indexes are in correlation with the grinding results of Brabender hardness and structure tester. With a modified kernel singulation, the mass of each crushing kernel can separate quantitatively. The broken kernels are used for wet analysis of contents and in order for development of calibrations for NIR- and NIT-spectrometers.

Prof. W. Flamme, Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Stressphysiologie und Rohstoffqualität, Rudolf-Schick-Platz 3, 18190 Groß Lüsewitz

Beim Getreide spielen neben dem Gehalt und den Eigenschaften der Inhaltsstoffe auch die Form, Farbe und Struktur der Körner eine wichtige Rolle bei der Ausprägung gewünschter Gebrauchswerte, wie z.B. Mahl- und Backqualität und bei der Stärkegewinnung. Besonders in der Getreidezüchtung, aber auch in der Produktion, dem Handel und der Verarbeitung sind schnelle, exakte und zerstörungsfrei funktionierende Analysemethoden sowohl von einzelnen Inhaltsstoffen als auch von komplexen Qualitätsmerkmalen in Anwendung. Mittels Nah Infrarot Reflexions- und Transmissions-Analysen (NIR- und NIT), durch Farbmessung und Imageanalyse wurden deutliche Fortschritte auf dem Gebiet der Qualitätsbewertung von Getreide und Getreideprodukten erzielt (Flamme et al., 2000).

"Mehle nach Maß" erfordern exakte Kenntnisse über die Länge, den Durchmesser, das Gewicht, die Dichte und die Kornhärte der Körner. Da der Wassergehalt alle Korneigenschaften beeinflusst, sollte seine Bestimmung zeitgleich mit den anderen Qualitätsfaktoren erfolgen. Besonders für die Selektion in der Getreidezüchtung sind Kenntnisse über das einzelne Korn wichtig, da sie die Evaluierung genetischer Ressourcen und die Entwicklung von Basis- und Zuchtmaterial beschleunigen. Mit dem Single Kernel Characterization System® (SKCS 4100) der Fa. Perten Instruments steht ein Gerät zur Verfügung, welches das Gewicht, den Durch-

messer, die Härte und die Feuchte am einzelnen Korn misst und als Ergebnis den Mittelwert von 300 Körnern, untersetzt mit statistischen Daten, ausgibt. In Nordamerika wird das SKCS zur Klassifizierung des umfangreichen Sortiments der angebauten Weizen mit Erfolg genutzt (AACC-Standard; Hazen and Ward, 1997; Ohm et al., 1998). In Deutschland werden die Weizensorten in Elite-, Aufmisch-, Back-, Keks- und Futterweizen (E, A, B, K, C) eingeteilt. Sie weisen im Tausendkorngewicht (TKG), im Korndurchmesser und in der Kornhärte eine hohe Variabilität auf.

Aufgabe der laufenden analytischen Arbeiten ist es, das SKCS 4100 in die Qualitätsforschung bei Weizen, Roggen und Triticale so einzubinden, dass die anfallenden SKCS-Daten in Verbindung mit NIR- und NIT-Spektroskopie, Farbmessung und Imageanalyse eine umfassende Qualitätsanalyse auf der Basis von Einzelkornuntersuchungen ermöglichen.

Aufbau und Wirkungsweise des SKCS 4100

Das SKCS (Perten Instruments North America, 1995) ist ein PC-gesteuertes Kompaktsystem, das die Bestimmung von Gewicht, Durchmesser, Härte und Feuchtigkeit einzelner Weizenkörner ermöglicht. Nach US-Standard werden ca. 300 Körner für einen Probendurchlauf benötigt. Nach dem Einfüllen der Probe in den Vakuum-Singulator erreichen die Körner über das rotierende Einzelkornaufnehmerad, das mit zehn Saugstellen in Halbsekundentakt die Körner vereinzelt und dem Messsystem zuführt. Die vom Singulator abgestreiften Körner gelangen über ein Wägeschälchen, das zur Ermittlung des Korngewichtes dient, in einen sich verengenden Spalt zwischen einer rotierenden Walze und einem sichelförmigen Messarm. Die über eine Kraftmesszelle ermittelte Kraftkurve, die Dauer des Quetschvorganges ($\hat{=}$ Korndurchmesser), die über einen Leitfähigkeitsdetektor am gequetschten Korn ermittelte Feuchte und das eingangs bestimmte Korngewicht dienen zur Ermittlung des Härteindex (HI). Bruchkörner werden eliminiert und zahlenmäßig erfasst.

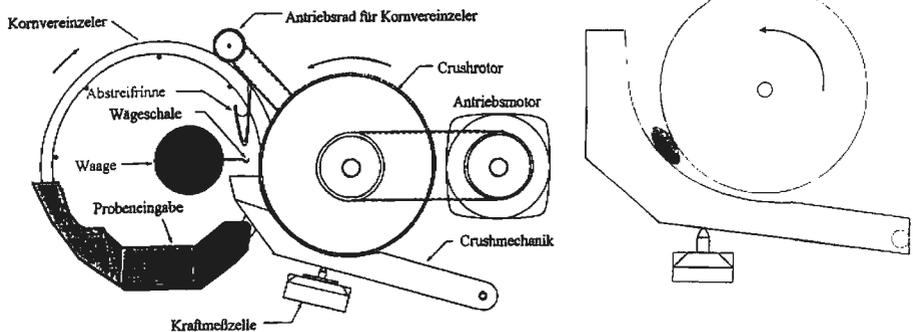


Abb. 1: Aufbau des Einzelkornanalysators SKCS-4100 Perten Instruments

Crushmechanismus

Die Einteilung der Proben nach dem HI in vier Klassen dient als Basis für die Berechnung der Kategorien hart, gemischt und weich. Die Ergebnisse sind als Histogramme mit Angabe des Mittelwertes und der Standardabweichung für die vier SKCS-Parameter abruf- bzw. speicherbar. 300 Körner liefern statistisch gesicherte Daten.

Für die Einpassung des SKCS in die Analyse von Zuchtmaterial ist zu beachten, dass im Vorfeld die Körner einer Probe vereinzelt oder als Mischprobe mittels NIT, NIR, Farbmessung und Imageanalyse gescannt werden können. Nach Durchlaufen des SKCS stehen von 300 analysierten Körnern ca. 12 g gequetschtes Korn ohne Vermischung für zerstörungsfreie und nasschemische Analysen zur Verfügung.

Durch eine Modifizierung der Vereinzlung der Körner ist es möglich, die SKCS-Daten und das gesamte gequetschte Korn von einem definierten Korn zuzuordnen. Daraus resultieren neue Möglichkeiten der Einzelkornanalyse.

Klassifizierung von Weizen mittels SKCS

Seit 1989 laufen in Zusammenarbeit mit Weizenzüchtern Projekte, die auf hohe Stärkeausbeuten bei guten Kleberqualitäten unter Berücksichtigung eines hohen Ertragsniveaus ausgerichtet sind. Über ein komplexes Analytikprogramm konnten solche Formen gefunden werden (Flamme et al., 1999).

Voraussetzungen für einen Stärkeweizen sind ein lockeres Endosperm, um hohe Mehl- und Stärkeausbeuten zu sichern. Das SKCS eignet sich für Screenings von Ausgangs- und Zuchtmaterial ebenso wie für die Beurteilung von Sorten (Abb. 2).

Tab. 1: SKCS-Härteindex (Korn), Helligkeit (L) und Gelbwert (G_{DIN}) aktueller deutscher Winterweizensorten der Ernte 2000, Groß Lüsewitz

Sorte	Klassifizierung	Härteindex	Helligkeit L	Gelbwert G_{DIN}	Anzahl Sorten
MW	E	69	74,9	0,24	10
Min	E	60	73,9	0,23	
Max	E	83	76,1	0,27	
MW	A	64	75,0	0,24	25
Min	A	52	73,9	0,22	
Max	A	73	76,6	0,27	
MW	B	64	75,1	0,24	22
Min	B	27	72,8	0,19	
Max	B	85	77,5	0,28	
MW	C	43	76,5	0,22	7
Min	C	13	75,0	0,18	
Max	C	69	78,5	0,26	
MW	aller	61	75,4	0,24	96
Min	Qualitäts-	13	72,8	0,18	
Max	klassen	85	78,5	0,28	

Die Farbe der Randschichten des Korns und des Endosperms gehören zu den „stabilen“ Sorteneigenschaften des Weizens. Die vom Carotinoidgehalt abhängige gelbe Farbe ist charakteristisch für Durumweizen, geeignet für die Teigwarenherstellung. Aber auch unter den Weichweizen werden, zurückzuführen auf Kreuzungen mit Durumweizen, sehr unterschiedliche Gelbwerte gemessen (Tab. 1). Erwartungsgemäß korrelieren Gelbwert und Kornhärte sehr eng. Dabei gab es gute Übereinstimmung zwischen den Korrelationen Griffigkeit des Weizenmehls und Gelbwert ($r = 0,813$) und SKCS-Härteindex und Gelbwert ($r = 0,826$).

SKCS-Analyse von Winterroggen

Bei der Stärkeisolation fallen bei Roggen und Triticale kein Kleber bzw. geringe Mengen koagulierbares Protein (Leimkleber) an.

Roggen ist gekennzeichnet durch hohe Gehalte an Quell- und Schleimstoffen, die dem Roggenkorn hohe Zähigkeit verleihen.

Gegenüber Weizen und auch Triticale weisen die Roggenkörner deutlich geringere Korngewichte und -durchmesser auf. Der Mittelwert und die Variabilität der SKCS-HI von Roggen liegen deutlich unter Weizen. Der Kraftaufwand bei der Zerkleinerung wird beim Roggen von der Zähigkeit bestimmt. Aus der Zähigkeit und der langgestreckten Spindelform mit geringer Korn Dicke resultieren die schlechte Trennbarkeit von Endosperm und Schale, der hohe Energieaufwand beim Vermahlen und die geringen Mehlausbeuten des Roggens.

Die SKCS-Daten belegen diese Zusammenhänge (Tab. 2). Ähnlich wie beim Weizen ($r = 0,828$) wird auch beim Roggen ein enger Zusammenhang zwischen TKG und Korn Dicke gefunden ($r = 0,837$). In Verbindung mit der Reduzierung des Pentosangehaltes wird das SKCS zur züchterischen Verbesserung der Mahlqualität von Roggen eingesetzt.

Tab. 2: Klassifizierung aktueller Winterweizen-, Winterroggen- und Wintertriticalesorten mit dem SKCS 4100, Anbau Groß Lüsewitz 2000/2001 (auswuchsfreie Muster)

Schrot	Winterweizen n = 96				Winterroggen n = 29				Wintertriticale n = 27			
	Gewicht [mg], Dicke [mm], Härteindex, Feuchte [%]											
Mittelwert	46	3,1	61	11,6	35	2,3	50	11,2	47	2,9	42	12,8
min	38	2,6	13	9,7	30	2,1	43	10,5	30	2,1	27	12,3
max	55	3,5	85	13,4	39	2,5	60	11,7	54	3,3	59	13,8

Vergleich des SKCS 4100 (Fa. Perten) und des Farinograph Struktur- und Härteprüfers (Fa. Brabender)

Parallel zum SKCS-Härteindex wurden mit dem Farinograph Härte- und Strukturprüfer Untersuchungen an Roggen durchgeführt. Der Härte- und Strukturprüfer hat sich zur Bestimmung der Härte von Weizen und der Melzmürbigkeit bewährt. Die Muster werden in einer konischen Mühle zerkleinert. Dabei werden Drehmoment und Vermahlungszeit

gemessen. Die in Tabelle 3 erhaltenen Daten (Zeit, Länge, Fläche, Höhe, Arbeit) resultieren aus einer dreimaligen Zerkleinerung von Korn, Schrot 1 und Schrot 2.

Tab. 3: Klassifizierung aktueller Winterroggensorten aus einem Versuch mit gestaffelten Ernteterminen (auswuchsfrei bis starker Auswuchs) mit dem SKCS 4100 der Fa. Perten und dem Farinograph Struktur- und Härteprüfer der Fa. Brabender Ernte 2000, Groß Lüsewitz, n = 130

Winter- roggen aktuelle Sorten	SKCS 4100					Farinograph Härte- und Strukturtester				
	FZ	Korn- gewicht	Dicke	Härte	Feuchte	Zeit	Länge	Fläche	Höhe	Arbeit
	[s]	[mg]	[mm]		[%]	[s]	[mm]	[cm ²]	[BE]	[Nm]
Mittelwert	180	36	2,4	47	11,6	27,1	90,3	87,5	2456	974
min	62	27	2,0	33	8,7	23,3	77,7	68,7	1983	764
max	389	42	2,7	59	12,3	30,7	102,4	102,5	2718	1140

Signifikante Korrelationen ergeben sich zwischen SKCS-HI und Farinograph-Maximum [BU] ($r = 0,767$) und HI und Zeit für den Durchlauf von Korn, Schrot 1 und Schrot 2 ($r = -0,663$). Für Züchtungsarbeiten ist von Interesse, dass der HI negativ mit dem Gehalt an löslichen Pentosanen ($r = -0,613$) und mit der α -Amylaseaktivität ($r = -0,472$) korreliert.

Literatur

- Flamme, W.; Jansen, G.; Jugert, M.: Analyse der Getreide- und Stärkequalität mittels NIRS- und Farbmessung. 34. Vortragsstagung der DGQ "Zerstörungsfreie Qualitätsanalyse", 22.-23.03.1999, Freising-Weihenstephan, 25-41
- Flamme, W.; Jansen, G.; Jürgens, H.-U.: Near Infrared Spectroscopy (NIR)-spectroscopy, colour measurement and single kernel characterization in rye breeding. EUCARPIA Rye Meeting, Radzikow, Polen, 04.-07.07.2001, Poster
- Hazen, S.P.; Ward, R.W.: Variation in soft winter wheat characteristics measured by the single kernel characterization system. *Crop Science* 37, 1997, 1079-1086
- Ohm, J.B.; Chung, O.K.; Deyoe, C.W.: Single-kernel characteristics of hard winter wheats in relation to milling and baking quality. *Cereal Chemistry* 75, 1998, 1, 156-161
- Perten Instruments North America: Instruction Manual SKCS 4100 (Single Kernel Characterization System).- Reno, Nevada, 1995

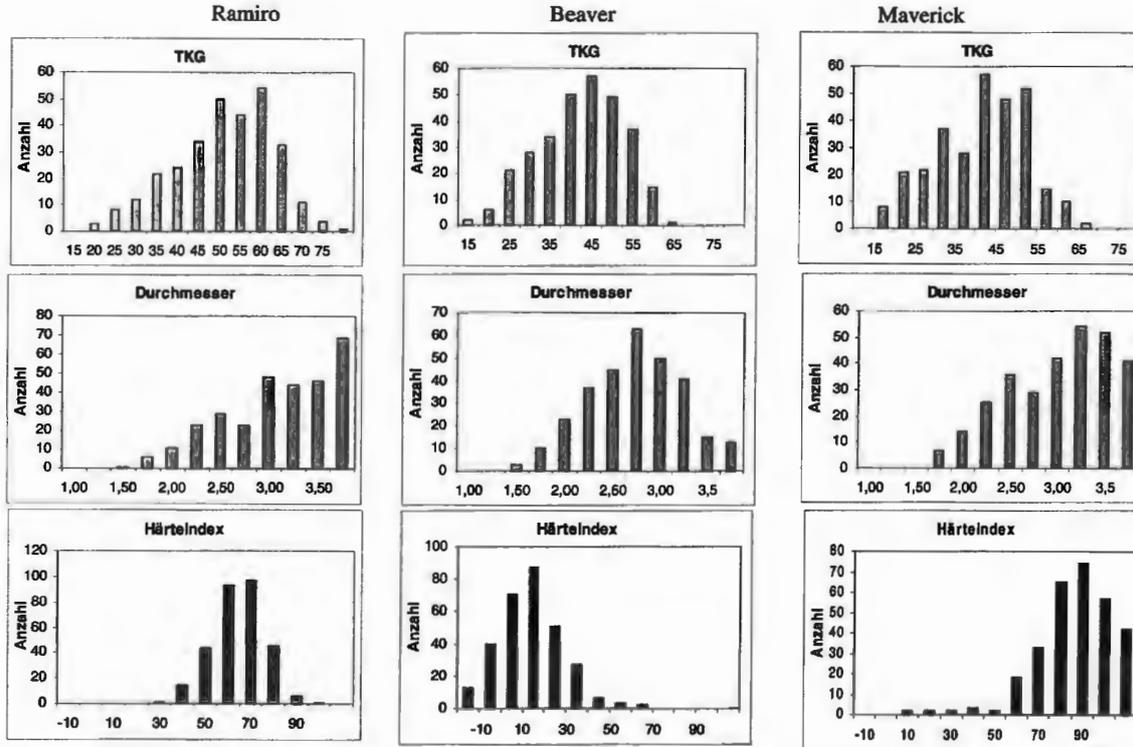


Abb. 2: Histogramme der SKCS-Daten von Winterweizensorten mit mittlerem HI (Ramiro), geringstem HI (Beaver) und höchstem HI (Maverick) von 96 untersuchten Proben, geerntet 2000 in Groß Lüsewitz



Untersuchungen zum Standorteinfluß auf die Kleberqualität deutscher und sibirischer Sommerweizensorten in einem Vergleichsversuch Osnabrück (D) – Barnaul (RUS)

Ludmilla Jäger und D. Trautz

Fachhochschule Osnabrück, FB Agrarwissenschaft, FG Umweltschonende
Landbewirtschaftung, Am Krümpel 31, D - 49090 Osnabrück

Investigation of the influence of the environment on the gluten quality of the German and Siberian spring wheat cultivars on the basis of the field experiment carried out in Osnabrück (Germany) and Barnaul (Russia).

Abstract

In a field experiment carried out at the ecological experimental farm Waldhof (Bioland) of the University of Applied Sciences at Osnabrück and at the experimental farm Prigorodnoe of the Agricultural University of Barnaul, Russia, the influence of the environment on the gluten quality of spring wheat was tested. The analysis at both sites showed a highly significant correlation between the grain sorts and the environment (year and cultivation site) and gluten protein fractions. There is no significant difference as far as the cultivar is concerned. The German cultivars showed better qualities in Barnaul, the Siberian cultivars showed lower qualities in Osnabrück.

Einleitung

Der Sonderstellung des Weizens innerhalb der Getreidearten beruht auf der Entstehung eines viskoelastischen, kohäsiven Teiges beim Anteigen von Weizenmehles mit Wasser und der damit verbundenen Backqualität (BELITZ und GROSCH 1992). Auf dem wachsendem Markt für ökologisch erzeugten Weizen stellen Verarbeiter deshalb höhere Qualitätsanforderungen hinsichtlich des Proteingehaltes im Korn sowie der Kleberqualität. Diese Anforderungen lassen sich im Ökologischer Landbau aufgrund der freiwilligen Stickstofflimitierung im System standortabhängig eher mit Sommer- als mit Winterweizen erzielen (JÄGER und TRAUTZ 2001).

Für den Einsatz im Ökologischen Landbau sind besonderes die Sommerweizensorten von Interesse, die bei der Verminderung der Stickstoffversorgung einen befriedenden Ertrag und einen gewünschten Proteingehalt liefern können.

Als eine wichtigsten Voraussetzungen für eine gute Backqualität von Weizenmehlen gilt das Weizenprotein. Die Kleberproteine Gliadine und Glutenine stellen die Hauptbestandteile des Weizenklebers dar. Die Gliadine liegen in Mehl und Kleber monomer vor und sind in wäßrigen Alkoholen z.B. 70%-igem Ethanol löslich (WIESER et al. 1991). Die Gliadine leisten einen wichtigen Beitrag zu den rheologischen Eigenschaften von Teigen; sie fungieren als „Lösungsmittel“ für die aggregierten Glutenine und werden vorwiegend für die Viskosität verantwortlich gemacht (BELITZ und GROSCH 1992). Aufgrund des Laufverhaltens folgt

eine Einteilung in ω 5-Gliadine, ω 1,2-Gliadine, α -Gliadine und γ -Gliadine (WIESER et al. 1994). Die Glutenine zeigen sich im Ethanol als unlösliche polymere Strukturen, können aber unter Zusatz von z.B. Harnstoff oder SDS (Natriumdosylsulfat) teilweise in Lösung gebracht werden (ORTH und BUSHUK 1972). Durch die inter- und intramolekularen Disulfidbildungen der polymeren Glutenine wird die Teigelastizität erreicht. Bei der Trennung des reduzierten Glutenins werden nach ansteigender Hydrophobizität zuerst gluteningebundene ω (omega)-Gliadine, dann HMW(high molecular weight)- und zuletzt LMW(low molecular weight) – Untereinheiten gemeinsam mit gluteningebundenen γ (gamma) - Gliadinen eluiert (WIESER et al. 1994).

Bisher liegen zur Frage, welchen Proteinfractionen die größte Bedeutung für die Teigeigenschaften und die Backqualität zukommt, umfangreiche Untersuchungen zur Kleberqualität von Winterweizensorten vor (WIESER et al. 1991, WIESER et al. 1994, WIRRIES 1998, HAGEL und SCHNUG 1999, KÜHLSSEN 2001).

Im Rahmen der Suche nach qualitativ hochstehenden Herkünften beschäftigt sich das Fachgebiet „Umweltschonende Landbewirtschaftung“ der FH Osnabrück seit längerem mit Sommerweizensorten aus Sibirien. Voruntersuchungen ergaben, daß sie sortenabhängig vergleichsweise gute Kleberqualität aufweisen.

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es, an einem deutschen und sibirischen Sommerweizensortiment den Einfluß des Standortes auf die Kleberqualität zu prüfen. Dabei wurden mittels RP – HPLC Analytik die Gliadin – und Gluteninfraktionen ermittelt und auf Grundlage der Ergebnisse die Auswirkungen der Standorteinfluß auf die Kleberqualität sowie die indirekte Qualitätseigenschaften der Sommerweizensorten als Grundlage zur Bewertung und Auswahl der geeigneten Sorten im Ökologischen Landbau überprüft.

Material und Methoden

Standorte

Die Versuche sind auf den Standorten Osnabrück und Barnaul (Altai Region-Rußland) angelegt worden. Osnabrück und Barnaul unterscheiden sich infolge ihrer geographischen Lage hauptsächlich in den klimatischen Bedingungen (Tab. 1).

Tab. 1: Standortcharakterisierung

Standort	Osnabrück (OS)	Barnaul (BA)
Geographische Lage	Breite 55° N Länge 8° Ö	Breite 54 ° N Länge 84 ° Ö
Höhe über NN	60 - 100 m	ca. 200 m
Bodentyp	Braunerde	Schwarzerde
Bodenart	sandiger Lehm/lehmgiger Sand	sandiger Lehm
Ø Temperatur ¹⁾	9,4 °C	1,1 °C
Ø Niederschlag ¹⁾	803 mm	479 mm
Produktionssystem	Ökologischer Landbau	Ökologischer Landbau

¹⁾Osnabrück (OS) 1981 - 1997, Barnaul (BA) 1979 – 1994

RP – HPLC – Analytik der Kleberfraktionen (Wieser et al. 1994)

Die Extraktion der Weizenproteine der untersuchten Sommerweizensorten wurde nach WIESER et al. 1994 durchgeführt. Die so gewonnenen Gliadin- und Gluteninextrakte sind mittels RP-HPLC chromatographiert und als Flächeneinheiten (AU) pro mg Mehl berechnet worden.

Tab. 2: Übersicht der chromatographischen Bedingungen für die Trennung der Kleberfraktionen

Gliadine und Glutenine	
Trennsäule	HPLC - Trennsäule (5 µl, 240 x 4,6 mm)
Trennmateriail	Nucleosil C8
Probenschleifevolumen	2 ml
Trenntemperatur	50°C
Injektionsvolumen	50 µl (Gliadin) 100 µl (Glutenin)
	500 µl 0,1% (v/v) TFA (Trifluoressigsäure) vor und nach der Probeinjektion
Eluent A:	TFA 0,1 % (v/v)/ Wasser bidest 99,9 % (v/v)
Eluent B:	Acetonitril/ TFA (99,9%/0,1%; v/v)
Gradient:	linear
FluBrate:	1,0 ml/ min
Detektion:	UV – Absorption bei 210 nm

Ergebnisse

Die Ergebnisse der Gliadin- und Gluteninanalyse (ermittelten Absorptionsflächen) der geprüften Sommerweizensorten an den Standorten Osnabrück und Barnaul sind als Relativflächen in den Tabellen 3 und 4 zusammengefasst .

Tab. 3: Relative Gliadin- und Gluteninfläche (%) der deutschen und sibirischen Sommerweizensorten am Standort Osnabrück (1998 - 99), (Gluten = 100%)

Sorte	Protein %	Gliadine					Glutenine				GLI/ GLU
		total	ω5	ω1,2	α	γ	total	ωb	HMW	LMW	
Hanno	12.0	57.7	3.3	4.0	25.1	25.2	42.3	0.9	11.5	29.9	1.4
Thasos	11.1	68.2	2.8	5.5	31.4	28.5	31.8	0.9	8.5	22.4	2.1
Naxos	11.2	68.3	2.7	6.2	28.8	30.6	31.7	1.0	9.0	21.7	2.2
Star	12.4	72.9	3.2	6.2	29.9	33.7	27.1	0.3	7.3	19.5	2.7
Triso	11.3	71.6	3.2	7.2	31.6	29.5	28.4	0.3	9.7	18.5	2.5
Mittel deut. Sorten	11.6	68.3	3.1	5.9	29.5	29.8	31.7	0.6	9.1	22.0	2.2
Anqara - 86	12.1	68.1	2.7	5.8	29.9	29.7	31.9	0.5	7.8	23.7	2.1
Tulunsakaja - 12	12.0	71.1	2.8	6.3	31.4	30.6	28.9	0.4	7.6	20.8	2.5
Altaysky Prostor	11.7	63.7	2.2	4.5	28.0	29.0	36.3	0.4	8.2	27.8	1.8
Omskaja - 23	12.4	67.4	2.1	4.4	33.2	27.6	32.6	0.4	8.5	23.7	2.1
Sibirskaja - 50	12.1	69.4	2.9	5.5	29.8	31.1	30.6	0.5	7.1	23.0	2.3
Sibirskaja - 102	12.2	68.5	3.0	5.5	28.8	31.1	31.5	0.3	7.1	24.1	2.2
Altayskaja - 92	12.5	64.9	2.5	4.6	29.6	28.2	35.1	0.6	8.2	26.4	1.8
Altayskaja - 88	12.6	63.1	2.4	3.9	30.8	26.0	36.9	0.4	8.6	28.4	1.7
Mittel sibir. Sorten	12.2	67.1	2.6	5.1	30.2	29.2	32.9	0.4	7.9	24.7	2.0
HW: Sorte	n.s. ¹⁾	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	*	n.s	n.s	n.s
Jahr	n.s	n.s	**	*	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	*	*
WW: Sorte*Jahr	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***

¹⁾n.s = nicht signifikant; HW – Hauptwirkungen; WW – Wechselwirkungen

Die zweijährigen Untersuchungen ergaben am Standort **Osnabrück** mit Ausnahme der

ob-Glutamine keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich die Hauptwirkung Sorte. Bezüglich des Faktors Jahr zeigten $\omega 5$ - und $\omega 1,2$ -Gliadine, LMW-Glutamine und das Verhältnis GII/GLU signifikante Unterschiede. Die Wechselwirkung Sorte x Jahr ist hochsignifikant. Der Gliadinanteil liegt bei den deutschen Sorten zwischen 57 % und 72,9 %, bei den sibirischen Sorten zwischen 63 % und 71 % des Gesamtglutens (Tab.3). Die dominierende Gruppen im untersuchten Sortiment sind α -Gliadine (25,1 % - 33,2 %) und γ -Gliadine (25,2 % - 33,7 %). Der prozentualer Glutenanteil am Gesamtgluten liegt am Standort Osnabrück bei den deutschen Sorten zwischen 27,1 % (Star) und 42,3 % (Hanno), bei den sibirischen Sorten zwischen 28,9 % (Tulunsckaja - 12) bis 36,9 % (Altaiskaja - 88). Im Mittel der deutschen Sorten wurden höhere Anteile an HMW - Untereinheiten festgestellt als bei den sibirischen Sorten. Den höchsten HMW - Anteile hat die Sorte Hanno (11,5%). Dagegen fielen die LWM - Untereinheiten der Glutenins bei der sibirischen Sorten deutlich höher aus (\emptyset 24,7 %).

Bei den deutschen Sorten am Standort Osnabrück wurden ein GII/GLU - Verhältnis von 1,4 bis 2,7, bei den sibirischen von 1,7 bis 2,5 ermittelt (Tab.3). Am Standort Osnabrück weisen die deutsche Sorte Hanno (1,4) sowie die sibirischen Sorten Altaiskij Prostor (1,8), Altaiskaja-88 (1,7) und Altaiskaja-92 (1,8) die günstigsten GII/GLU - Verhältnisse auf. Die höchsten GII/GLU - Verhältnisse wurden bei den deutschen Sorten Star (2,7) und Triso (2,5) sowie der sibirische Sorte Tulunsckaja - 12 (2,5) ermittelt.

Die Ergebnisse der Varianzanalyse am Standort Barnaul zeigen den hochsignifikanten Einfluß der Wechselwirkung zwischen Jahr und Sorte auf die Gliadine- und Glutamineuntereinheiten. Die Hauptwirkung des Faktors Sorte unterscheidet sich nicht signifikant, eine Hauptwirkung des Faktors Jahr liegt jedoch mit Ausnahme der γ -Gliadin vor (Tab. 4).

Tab. 4: Relative Gliadine- und Gluteninfläche (%) der deutschen und sibirischen Sommerweizensorten am Standort Barnaul (1998 - 99), (Gluten=100%)

Sorte	Protein %	Gliadine					Glutamine				GLI/GLU
		total	$\omega 5$	$\omega 1,2$	α	γ	total	ωb	HMW	LMW	
Hanno	17.7	70.2	4.9	6.2	29.8	29.4	29.8	0.2	8.9	20.6	2.5
Thasos	16.7	68.5	3.1	7.1	31.1	27.1	31.5	0.5	9.0	22.0	2.2
Naxos	16.3	70.6	2.4	7.8	30.5	29.9	29.4	0.5	8.3	20.5	2.4
Star	17.4	67.4	3.3	7.1	29.7	27.3	32.6	0.5	9.0	23.1	2.2
Triso	17.2	68.7	3.6	6.1	36.0	24.9	31.3	0.5	10.1	20.8	2.2
Mittel deut. Sorten	17.1	69.1	3.5	6.8	31.4	27.7	30.9	0.4	9.1	21.4	2.3
Angara - 86	16.5	66.4	3.3	6.7	28.1	28.2	33.6	0.6	8.7	24.3	2.0
Tulunsckaja - 12	16.4	69.0	3.0	5.9	31.5	28.6	31.0	0.4	8.4	22.2	2.2
Altaisky Prostor	15.7	63.9	3.0	5.2	27.3	28.4	36.1	0.6	8.8	26.7	1.8
Omsckaja - 23	17.0	60.9	2.6	4.6	29.7	24.0	39.1	0.8	11.8	26.4	1.5
Sibirskaja - 50	16.3	68.3	2.3	5.1	30.2	30.7	31.7	0.6	7.4	23.7	2.1
Sibirskaja - 102	16.4	66.7	2.7	5.9	30.5	27.6	33.3	0.4	8.4	24.5	2.0
Altaiskaja - 92	16.8	66.6	2.7	5.2	30.4	28.3	33.4	0.6	9.5	23.4	2.0
Altaiskaja - 88	16.6	65.1	2.4	4.9	29.7	28.1	34.9	0.6	8.5	25.8	1.9
Mittel sibir. Sorten	16.5	65.9	2.8	5.4	29.7	28.0	34.1	0.6	8.9	24.6	1.9
HW: Sorte	n.s. ¹⁾	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Jahr	***	*	n.s.	*	***	n.s.	***	***	*	***	*
WW: Sorte*Jahr	***	***	***	***	***	n.s.	***	***	***	***	***

¹⁾n.s. = nicht signifikant; HW - Hauptwirkungen; WW - Wechselwirkungen

Im Mittel der Versuchsjahre weisen die deutschen Sorten die höchste Gliadinanteile (69,1%) auf. Dies ist durch höhere α -Gliadinwerte (31,4%) bedingt. Wiederum werden bei den sibirischen Sorten die höchste Gluteninwerte gemessen. Hinsichtlich der HMW – Glutenin-Anteile sind die Unterschiede zwischen die deutschen und sibirischen Sorten geringer. Unabhängig von der Menge des Gesamtglutens zeigen die Sorten Altaiskaja – 88, Altaisky Prostor und Tulunskaja – 12 in beiden Versuchsjahren den gleichen prozentualen Anteil HMW – Glutenine am Gesamtgluten. Überdurchschnittliche LMW – Werte wurden am Standort Barnaul für Star und Thasos bzw. Altaiskiy Prostor, Omskaja – 23, Altaiskaja ermittelt.

Diskussion

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen hinsichtlich der Kleberqualität des Sommerweizensortiments einen hochsignifikanten Einfluß der Wechselwirkungen zwischen Jahr und Sorte sowohl auf den Proteingehalt als auch auf die Gliadin- und Gluteninfraktionen (Tab. 3 und 4). Die Faktoren Standort und Witterung haben einen großen Einfluß auf die Proteineinlagerung im Korn (JAHN-DEESBACH et al. 1973, SCHIPPER und JAHN-DEESBACH 1986). Die Varianzanalyse zeigt, daß die Unterschiede hinsichtlich der Gliadin- und Gluteninfraktionen nicht auf die Faktor Sorte beschränkt waren. So erreichten die deutschen Sorte Thasos und die sibirische Sorte Altaiskiy Prostor am beiden Standorten die gleiche Gliadin- und Gluteninniveau. Darüber hinaus werden deutliche Jahres- und Standorteinflüsse nachgewiesen. Die Umwelteinflüsse (Jahr, Standort) sind für die Änderung der Rangfolge einigen Sorten verantwortlich und geben ein Hinweis auf die Instabilität der Sorten hinsichtlich der Kleberproteine und die Backqualität (ROBERT und DENIS 1996). Diese Annahme kann am Beispiel der Sorte Hanno am Standort Barnaul bestätigt werden.

Nach KHAN und BUSHUK (1978) sind Gliadine und Glutenine im Kleber etwa zu gleichen Teilen enthalten. In den vorliegenden Untersuchungen dagegen nehmen Gliadine mit fast 70 % die dominierende Stellung ein, Glutenine stellen ca. 30 bis 40 % des Gesamtglutens .

Die Ergebnisse am Standorten Osnabrück und Barnaul zeigen, daß die Anteil der LMW-Glutenine am Gesamtgluten bei allen geprüften Sorten aufgrund ihrer Mengendominanz eine herausragende Stellung einnehmen. Nach WIESER (1991 et al.) bilden die LMW – Untereinheiten des Glutenins zusammen mit den α -Gliadine und γ -Gliadine die niedermolekulare Gruppe, die den Hauptanteil der Kleberproteine ausmacht und gerade deshalb von grundsätzlicher Bedeutung für die Teigelastizität.

Die HMW - Glutenin haben besondere Bedeutung für die Backeigenschaften (PAYNE et al. 1981), bilden große und stabile Gluteninaggregate und tragen auf diese Weise zur Verbesserung der physikalischen Eigenschaften des Weizensklebers bei (PAYNE et al. 1979). Die vorliegende Ergebnisse zeigen, daß der prozentuale Anteil HMW - Glutenine am Gesamtgluten sorten – und nicht standortabhängig ist.

Das Mengenverhältnis GLI/GLU steht in enger Beziehung zur Dehnbarkeit von Teig und Kleber (WIESER und SEILMEIER 1994). Möglichst niedrige GLI/GLU – Verhältniswerte sollen zu günstiger Backqualität führen, da dann ein Optimum im Verhältnis des höhermolekularen Glutenins zum niedermolekularen Gliadin erreicht ist und damit der Teig das erwünschte, stabile Proteinnetzwerk erhält (KÜHLSSEN et al. 1998). Bei Hanno im Osnabrück und Omskaja – 23 im Barnaul sind die niedrigste GLI/GLU Werte ermittelt worden, die demnach auf günstige Backqualitäten schließen lassen.

Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse zeigen, das alle Sorten hinsichtlich der Glutenmenge deutlich auf Umwelteinflüsse (Jahr und Standort) reagieren. Der prozentuale HMW – Gluteninanteil am

Gesamtgluten wird stark von der Sorte (genetisch) und weniger stark durch die Umwelt beeinflusst. Unter den Standortbedingungen in Barnaul weisen die deutschen Sorten bessere Qualitäten auf, während die sibirischen Sorten in Osnabrück qualitätsüberlegen waren. Dies ist mit den höheren Proteingehalten der deutschen Sorten am Standort Barnaul bzw. den sibirischen am Standort Osnabrück, im Vergleich zum jeweiligen Sortenmittel, zu erklären.

Literatur

- BELITZ, H.-D., W. GROSCH, 1992: Lehrbuch der Lebensmittelchemie. 4 Auflage. Springer-Verlag. 612 – 613.
- HAGEL, I., E. SCHNUG, 1999: Proteinfractionierung zur Differenzierung von Winterweizen aus konventionellem und biologisch – dynamischem Anbau. 5. Wissenschaftstagung zum Ökologischen Landbau, Berlin, 530 – 533.
- JÄGER, L., D. TRAUTZ, 2001: Sommerweizen im Ökologischen Landbau: Ertrag und Qualität von Sommerweizensorten deutscher und sibirischer Herkunft in Vergleichsversuchen. Beiträge zur 6. Wiss. Tagung zum Ökologischen Landbau. Freising – Weihenstephan, 417 – 420.
- JAHN - DEESBACH, W., U. JÜRGENS, A. H. K. MARANDI, 1973: Über den standortbedingten Einfluß von Stickstoff- Spätgaben auf Rohproteingehalt und Endospermstruktur bei Winterweizen in Abhängigkeit vom Sitz der Körner in einzelnen Ährenabschnitten. Zeitschr. f. Acker - und Pflanzenbau 138, 9 - 20.
- KAHN, K., W. BUSHUK, 1978: Glutenin structure and functionality in breadmaking. Bakers Dig. 52, S 14.
- KÜHLEN, N., F.-M. WIRRIES, R. HAVERKAMP, H. BÜNING – PFAUE, 1998: Backqualität von Weizen aus Organischen Landbau; Untersuchungen für Maßgaben einer dafür optimalen Sorten – und Kulturwahl. Bericht über die 49. Tagung für Getreidechemie. Granum – Verlag, Detmold. Band 277, 17 – 21.
- KÜHLEN, N., 2001: Empfehlungen von Winterweizensorten im Organischen Landbau über die Kleberproteinfraktionen und deren Einfluß auf die Backqualität. Diss., Bonn.
- ORHT, R. A., W. BUSHUK, 1972: A comparative study of the proteins of diverse baking qualities. Cereal Chem. 49, 268 – 275.
- PAYNE, P. I., K.G. CORFIELD, L.M. HOLT, J.A. BLACKMANN, 1981: Correlation between the inheritance of certain high– molecular-weight subunits of glutenin and bread – making quality in progenies of six crosses of bread wheat. J Sci. Food Agric. 32, 51 – 60.
- PAYNE, P. I., K.G CORFIELD, J.A. BLACKMANN, 1979: Identification of a high – molecular – weight subunit of glutenin, whose presence correlates with break – making – quality in wheats of related pedigree. Theor. Appl. Genet. 55, 153.
- ROBERT, N., J.-B. DENIS, 1996: Stability of baking quality in bread wheat using several statistical parameters. Theor. Appl. Genet, 93. 172 – 178.
- SCHIPPER, A., W. JAHN – DEESBACH, 1986: Untersuchungen zum Klimaeinfluß auf die Weizenqualität. Getreide, Mehl und Brot, 40(4). 99 – 103.
- WIESER, H., W. SEILMEIER, H.-D BELITZ, 1991: Klassifizierung der Proteinkomponenten des Weizenklebers. Getreide Mehl und Brot, 45, 35 – 38.
- WIESER, H., W. SEILMEIER, R. KIEFFER, 1994: Relationship between the amount of gluten protein types and the rheological properties of different wheat cultivars. In: Gluten Proteins 1993, Arbeitsgemeinschaft Getreideforschung, Detmold, 141 – 150.
- WIRRIES, F.-M., 1998: Die Bedeutung verschiedener Weizenkleberfraktionen für die Backqualität, Untersuchungen an Weizen aus Organischem Landbau. Diss. Bonn.



Bestimmung der Aktivität stärkeabbauender Enzyme im Getreide

Seddig, S.; Schmidt, R.; Flamme, W.

Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Stressphysiologie und Rohstoffqualität, Rudolf-Schick-Platz 3, 18190 Groß Lüsewitz

Determination of starch degrading enzymes in cereal grains

Important quality characteristics in cereals are the activities of starch degrading enzymes determining the suitability for various purposes like milling, baking, malting and brewing. These are the key enzymes during grain ripening and germination. In assortments of different cereals the activities of α - and β -amylase and of limit-dextrinase in ripening, ripe and germinating grains were determined. New methods allowing the specific, separate determination of the enzymes were used. Whereas the Ceralpha method employs as substrate a non-reducing-endblocked p-nitrophenyl maltoheptaoside for the assay of α -amylase, the Betamyl method uses p-nitrophenyl maltopentaoside for the measurement of β -amylase. In addition the alternating use of cystein allows the differentiation between "total" and "soluble" β -amylase. The Limit-Dextrizyme method facilitates the determination of limit-dextrinase with an azurine-crosslinked-pullulan.

Dr. Sylvia Seddig, Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Stressphysiologie und Rohstoffqualität, Rudolf-Schick-Platz 3, 18190 Groß Lüsewitz

Einleitung

Wichtige Qualitätsmerkmale im Getreide sind die Aktivitäten der stärkeabbauenden Enzyme, die weitgehend die Eignung für unterschiedliche Verwendungszwecke, wie Mahlen, Backen, Mälzen und Brauen bestimmen (Arends et al., 1995; Stenholm et al., 1996). Sie sind die Schlüsselenzyme während der Kornreife und -keimung. In Arbeitssortimenten verschiedener Getreidearten wurden die Aktivitäten der α - und β -Amylasen und der Limit-Dextrinase in unreifen, reifen und keimenden Karyopsen bestimmt.

Material und Methoden

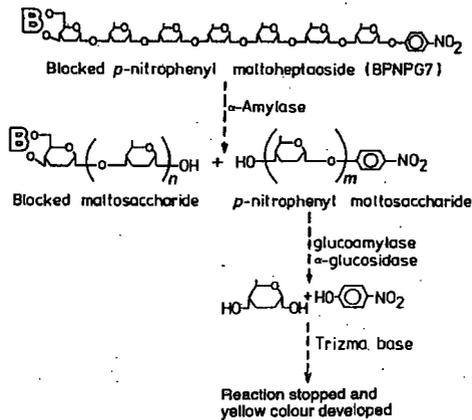
Als Arbeitssortimente bei den Untersuchungen dienten Sorten und Zuchtmaterial von Gerste (Pflanzenzucht Dr. h. c. Carsten, Bad Schwartau), Roggen, Triticale und Weizen.

Für die Bestimmung der Enzymaktivitäten in unreifen Körnern wurden Proben ausgewählter Sorten und Stämme aus dem Feldbestand verwendet. Keimlinge unterschiedlichen Alters wurden durch Keimung von reifen Körnern in Feuchteammern bei 20 °C im Inkubator

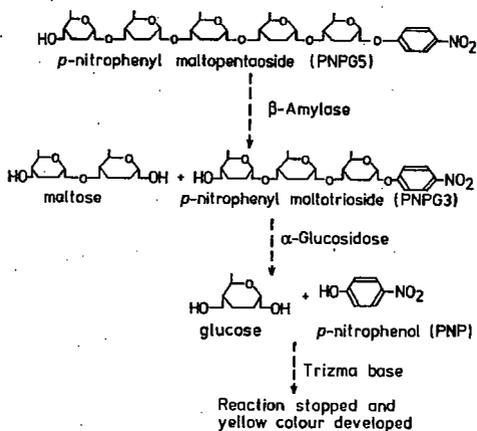
erhalten. Nach Trocknung des Probenmaterials bei 40 °C erfolgte die Verarbeitung zu Schrot, dem Untersuchungsmaterial für die Enzymbestimmungen.

Während die Ceralpha-Methode (McCleary and Sheehan, 1987) durch die Verwendung von endgruppenblockiertem p-Nitrophenylmaltoheptaosid als Substrat die α -Amylase erfasst, ist es mit der Betamyl-Methode (Mathewson and Seabourn, 1983; McCleary and Codd, 1989) durch die Verwendung von p-Nitrophenylmaltopentaosid als Substrat möglich, die β -Amylase zu bestimmen. Der alternative Zusatz von Cystein erlaubt darüber hinaus die Differenzierung zwischen der gesamten und der löslichen β -Amylase (Santos and Riis, 1996; Erdal et al., 1993). Die Bestimmung der Limit-Dextrinasekonzentration ist mit Hilfe der Limit-Dextrizym-Methode möglich, bei der Azurin-Crosslinked-Pullulan als Substrat Verwendung findet (McCleary, 1992).

(a)



(b)



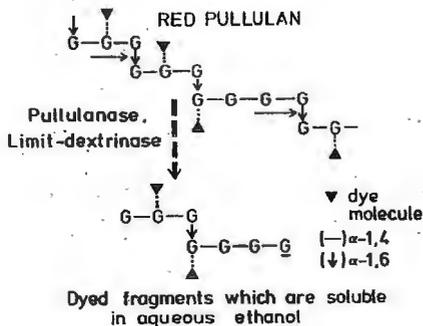


Abb. 1: Reaktionsschemata (McCleary, 1995)
zum Nachweis von
 α -Amylase (a)
 β -Amylase (b)
Limit-Dextrinase (c)

Änderung der Enzymaktivitäten während der Kornreifung

Während die α -Amylaseaktivität in den frühen Stadien der Kornfüllung relativ hoch ist und im Verlauf der Kornreifung abnimmt (Abb. 2), steigt die β -Amylaseaktivität kontinuierlich an und erreicht zur Ernte ihren höchsten Wert (Abb. 3). Die Aktivität der Limit-Dextrinase ist dagegen im untersuchten Zeitraum nahezu konstant (Abb. 4).

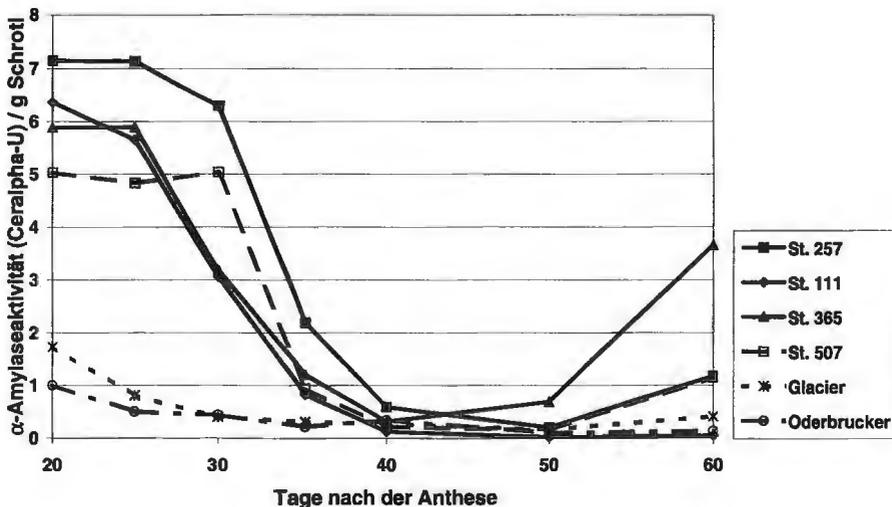


Abb. 2: Veränderung der α -Amylaseaktivität in Triticale und Gerste

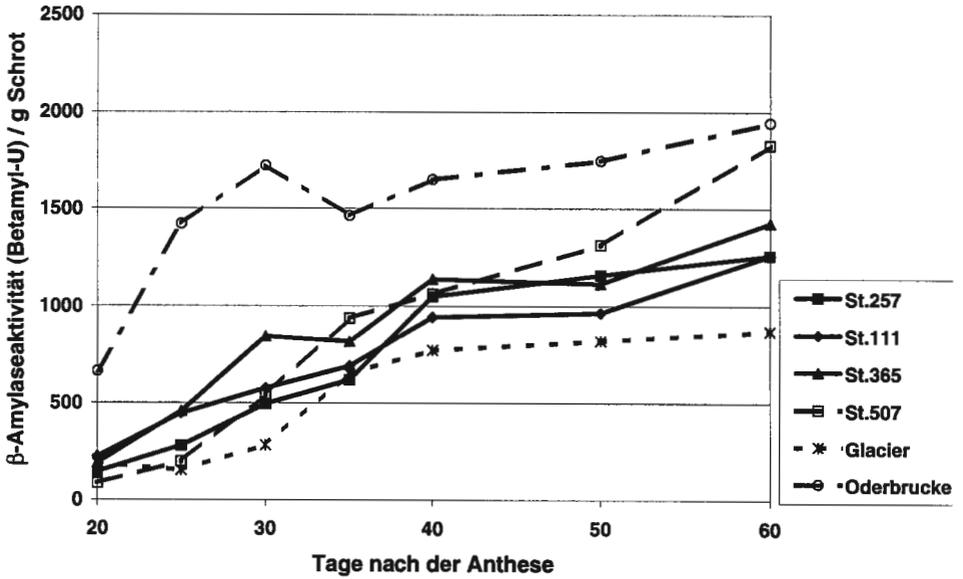


Abb. 3: Veränderung der β -Amylaseaktivität in Triticale und Gerste

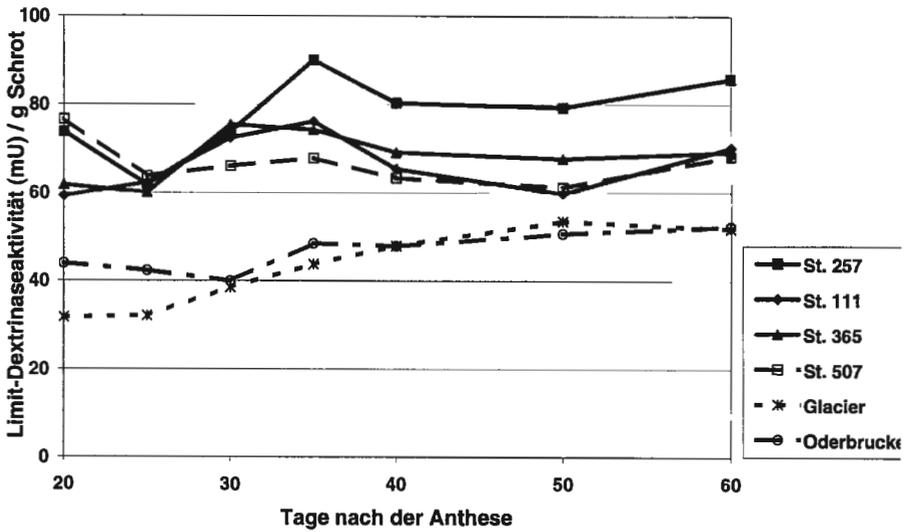


Abb. 4: Veränderung der Limit-Dextrinaseaktivität in Triticale und Gerste

Enzymaktivitäten in reifen Körnern und ihre Änderung während der Keimung

In gesunden, auswuchsfreien, reifen Körnern können zur Ernte nur β -Amylase und Limit-Dextrinase nachgewiesen werden.

Während die Höhe der Aktivität der β -Amylase in Abhängigkeit von den Umweltbedingungen variiert (Abb. 5a, 5b), bleibt das Verhältnis von löslicher und gebundener β -Amylase konstant (Abb. 6).

Zwischen den einzelnen Kulturarten variiert das Verhältnis der β -Amylase (löslich/gebunden) beträchtlich (Abb. 5a bzw. 5b).

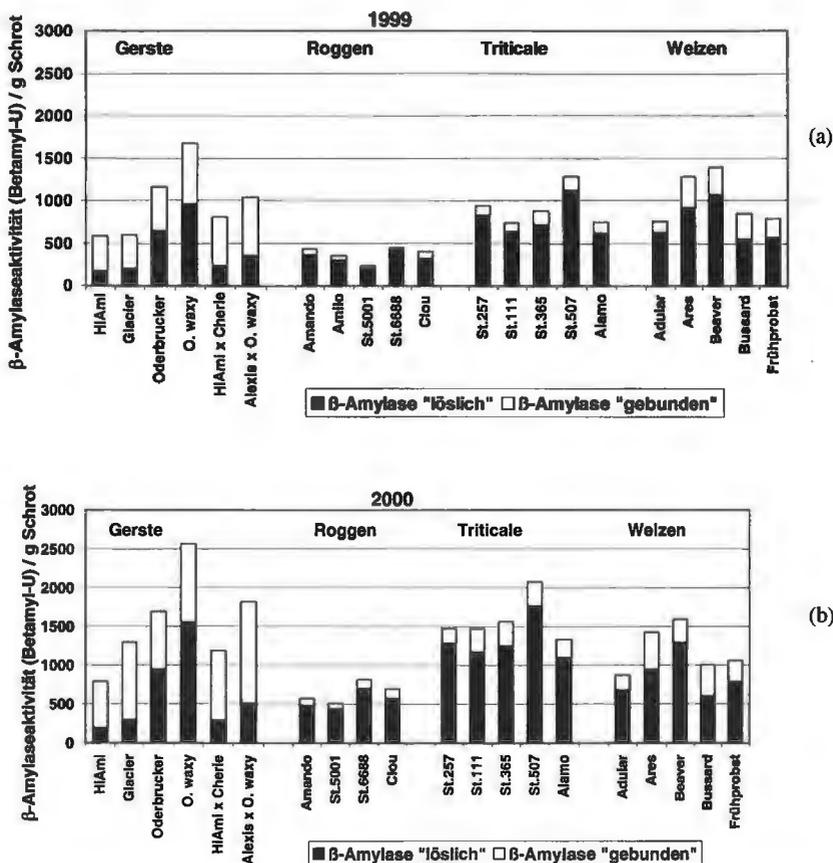


Abb. 5: Zusammensetzung der β -Amylase im Schrot gesunder, reifer Körner von Stämmen und Sorten verschiedener Kulturarten (a) 1999, (b) 2000

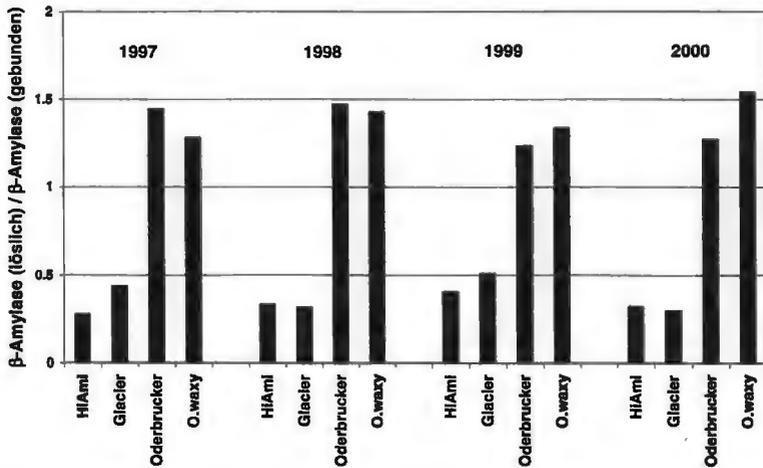
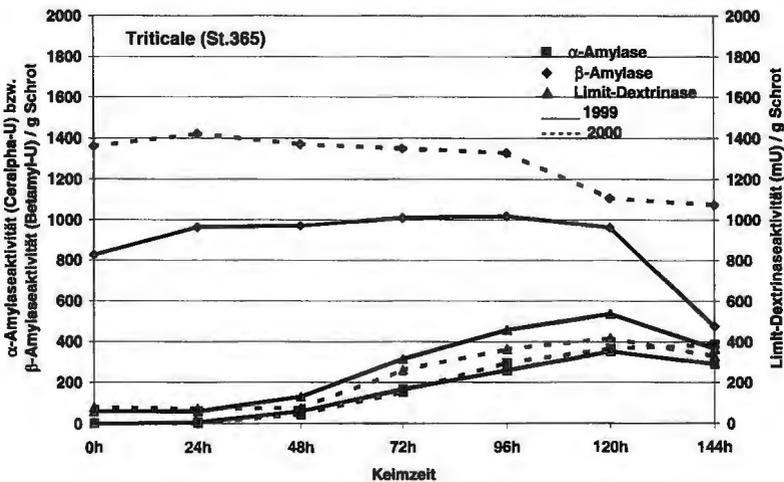


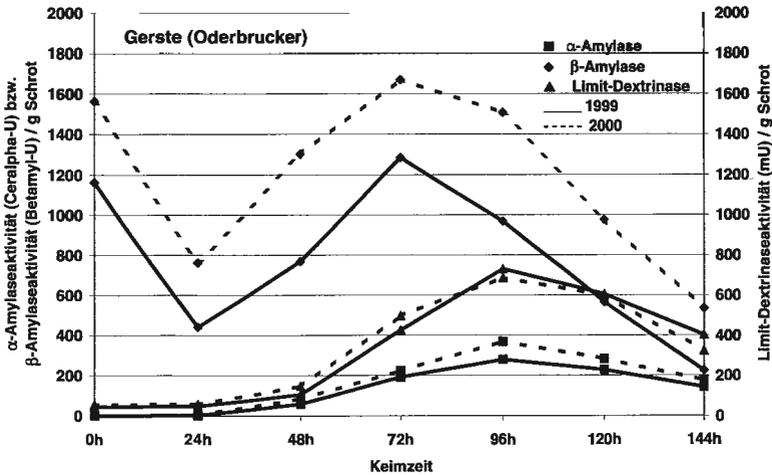
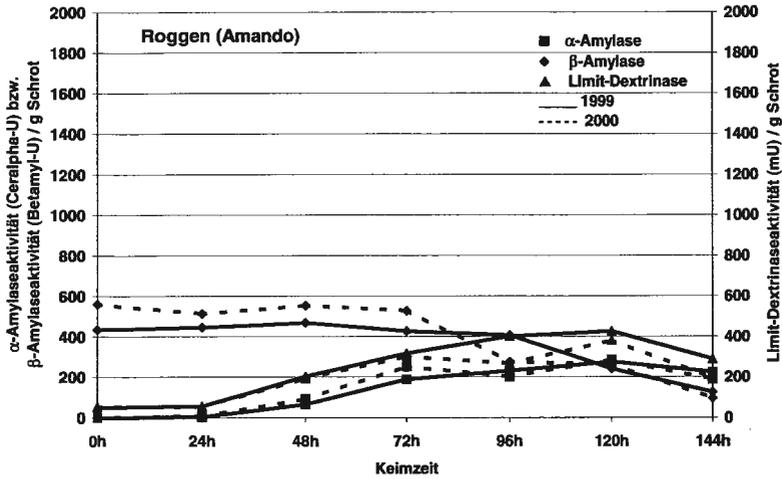
Abb. 6: Verhältnis der β -Amylase (löslich/gebunden) in Gerste

Während der Keimung bildet sich α -Amylase, deren Aktivität in den ersten Tagen drastisch steigt und in 4-5 Tage alten Keimlingen ihr Maximum erreicht. Die Limit-Dextrinaseaktivität zeigt einen der α -Amylaseaktivität ähnlichen Verlauf. Die β -Amylaseaktivität bleibt relativ konstant (mit Ausnahme der Gerste) und nimmt erst in 4-5 Tage alten Keimlingen ab (Abb.7).

(a)



(b)



(c)

Abb. 7: Veränderung der Aktivitäten stärkeabbauender Enzyme während der Keimung in Getreide (a) Triticale, (b) Roggen, (c) Gerste

Literatur

- Arends, A. M.; Fox, G. P.; Henry, R. J.; Marschke, R. J.; Symons, M. H.: Genetic and environmental variation in the diastatic power of Australian barley. *Journal of Cereal Science* 21 (1995) 63-70
- Erdal, K.; Jensen, M. O.; Kristensen, M.; Krogh, J. J.; Vaag, P.: Total β -amylase in barley used as screening criterion for combined amyolytic activity in malt. E. B. C. Proceedings of the 24th European Brewery Convention Congress, Oslo, 1993, 147-154
- Mathewson, P. R.; Seabourn, B. W.: A new procedure for specific determination of β -amylase in cereals. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 31 (1983), 1322-1326
- McCleary, B. V.: Measurement of the content of limit-dextrinase in cereal flours. *Carbohydrate Research* 227 (1992), 257-268
- McCleary, B. V.: Measurement of Polysaccharide - degrading Enzymes in Plants Using Chromogenic and Colorimetric Substrates. In: Skerritt, J. H. and Appels, R. (Eds.): *New Diagnostics in Crop Sciences*, CAB International, Wallingford, 1995, 277-301
- McCleary, B. V.; Codd, R.: Measurement of β -amylase in cereal flours and commercial enzyme preparations. *Journal of Cereal Science* 9 (1989), 17-33
- McCleary, B. V.; Sheehan, H.: Measurement of Cereal α -Amylase: A New Assay Procedure. *Journal of Cereal Science* 6 (1987), 237-251
- Santos, M. M.; Riis, P.: Optimized McCleary method for measurement of total β -amylase in barley. *Journal of the Institute of Brewing* 102 (1996), 271-275
- Stenholm, K.; Home, S.; Pietilä, K.; Macri, L. J.; MacGregor, A. W.: Starch Hydrolysis in Mashing. Proceedings of the 24th Convention of the Institute of Brewing (Asia Pacific Section), Singapore, Winetitles, South Australia, 1996, 142-145



Mineralstoffgehalte und Kleberzugfestigkeit von Winterweizen in Abhängigkeit von Sorte und biologisch-dynamischem Kieselpräparat

I. Hage¹, S. Haneklaus², E. Schnug² und H. Spieß³

¹Institut für Biologisch-Dynamische Forschung, Brandschneise 5, D-64295 Darmstadt

²Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft, Braunschweig

³Institut für Biologisch-Dynamische Forschung, Zweigstelle, Bad Vilbel

Mineral Content and Resistance of Gluten with regard to Variety and Application of the Biodynamic Silica Preparation

Abstract: With regard to mineral contents and resistance of gluten from 13 wheat cultivars the biodynamic silica preparation induced so called "normalising functions" confirming their known regulating impact to plants.

Einleitung

Das biologisch-dynamische Hornkieselpräparat ist neben dem Hornmist- sowie den Kompostpräparaten integraler Bestandteil der Biologisch-Dynamischen Wirtschaftsweise. Es soll die Wirkungen des Hornmistpräparates unterstützen, beide Spritzpräparate zusammen sollen unter anderem den Pflanzenbestand stärken und die Nahrungsqualität steigern (STEINER 1924). Alle biologisch-dynamischen Präparate sollen eigentlich vom Landwirt selber hergestellt werden. Dabei sind die praktizierten Verfahren z.B. hinsichtlich des Ausgangsmaterials (reiner Quarz oder Orthoklas), des Vermahlungsgrades des Materials vor der Präparierung im Horn bzw. verschiedener Dynamisierungsverfahren (manuell oder per Maschine) der durch einstündiges Rühren in Wasser aufzuschließenden Präparatesubstanzen sowie Alter und Zustand sowie Anwendungszeitpunkt dieser Zubereitungen durchaus unterschiedlich. Daher ist es wünschenswert, Verfahren zur Prüfung der Präparatewirksamkeit zu entwickeln. Da im biologisch-dynamischen wie auch im gesamten Ökologischen Landbau aufgrund noch unzureichend vorhandener Alternativen meistens mit Sorten gearbeitet werden muß, die für die Verhältnisse und Qualitätsanforderungen des konventionellen Landbaus zugeschnitten sind, wird auch immer wieder die Frage gestellt, ob diese Pflanzentypen überhaupt für die Wirkungen der biologisch-dynamischen Präparate die gewünschte Sensibilität aufweisen. In diesem Projekt wurde besonders diese Frage bearbeitet, indem die Wirkungen des Hornkieselpräparates auf die Mineralstoffgehalte und Kleberzugfestigkeit von Winterweizen (moderne und ältere Zuchtsorten sowie Zuchtstämme verschiedener biologisch-dynamischer Weizenzüchter) untersucht wurden.

Material und Methoden

Der Sortenversuch wurde 1997/1998 in der Instituts-Zweigstelle auf dem Dottenfelderhof/Bad Vilbel (700 mm Niederschlag, 9,4 °C) auf Auenlehm angelegt. Angebaut wurden die Qualitäts-Zuchtsorten BUSSARD (E), BATIS (A), PEGASSOS (A), TAMBOR (A) und RENAN (A), die älteren nicht mehr in der Sortenliste geführten "Hofsorten" DIPLOMAT, PROGRESS und JUBILAR, Zuchtstämme verschiedener biologisch-dynamischer Züchter (ZST HS, ZST EI, ZST PK und ZST BH) sowie eine Landsorte (AMMERTALER). Diese 13 Sorten wurden in einer randomisierten Spaltanlage, ohne und mit Kieselpräparat, in vierfacher Wiederholung geprüft. Vorrucht war zweijähriges Luzernegras. Zur Saat und im Frühjahr wurde der gesamte Versuch mit dem Kuhmistpräparat behandelt. Das Kieselpräparat wurde viermal zu folgenden Entwicklungsstadien gespritzt: Bestockung (1.4., BBCH 25), Schossen (7.5., BBCH 31), Blüte (8.6., BBCH 65) und Kornbildung (30.6., BBCH 76). Gedroschen wurde am 31. Juli.

Mineralstoffe (P, K, S, Mg, Ca) wurden mittels Röntgenfluoreszenzspektroskopie nach SCHNUG und HANEKLAUS (1999) ermittelt. Die Bestimmung der Kleberzugfestigkeit erfolgte nach KIEFFER et al. (1981) mit einem Texture Analyzer TA.XT2i (Fa. Winopal). Für die Darstellung der Ergebnisse wurden die absoluten Differenzen der verschiedenen Untersuchungswerte bei erfolgter Hornkieselanwendung im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle nach folgender Formel gebildet: **Differenz = (Meßwert mit Hornkiesel - Meßwert Kontrolle)** und gegen den Wert der Kontrolle aufgetragen.

Ergebnisse und Diskussion

Für viele der untersuchten Parameter ergaben sich sogenannte "Normalisierungsfunktionen". Dieser Begriff stammt aus der Medizin und bezeichnet die Fähigkeit eines Organismus, je nach Abweichung einer Funktion von der Soll- oder Normallage polare reaktive Veränderungen (d.h. Anregung oder Abschwächung, Steigerung oder Verminderung) zu induzieren. Nach HILDEBRANDT (1960) ist die Normalisierung letzten Endes Ausdruck einer dem Organismus innewohnenden Selbstordnungskraft. Dies wird z.B. an den Mg-Differenzen deutlich (Abb. 1): Bei von 0,097 bis 0,12 % steigenden Mg-Gehalten der Sorte RENAN der unbehandelten Kontrolle führte eine Hornkieselapplikation um bis zu 0,016 Prozent-Punkten sinkenden Mg-Gehalten. Sortenbedingt lagen die Mg-Gehalte des Zuchtstamms BH niedriger und wurden durch das Kieselpräparat durchweg gesteigert. Bei Mg-Gehalten, die denen von ZST BH vergleichbar waren, wurde durch das Hornkieselpräparat allerdings der Mg-Gehalt von BUSSARD durchweg gesenkt. Die präzise und ausgeprägte Reagibilität der Pflanzen auf das Hornkieselpräparat ist um so bemerkenswerter, als selbst sehr hohe Mg-Applikationen von bis zu 435 kg K/ha (als Kalimagnesia) den Mg-Gehalt des Weizenkorns nicht beeinflussten (HAGEL et al. 1999). Trotz hoher Bestimmtheitsmaße fielen die beschriebenen Beziehungen oft nicht signifikant aus (z.B. R^2 ZST PK = 82 %, R^2 PROGRESS A3 = 78 %) oder wiesen nur ein niedriges Sicherungsniveau auf (z.B. R^2 BATIS = 91 % *, R^2 ZST BH = 91 % *), was sowohl auf der zu geringen Anzahl Wiederholungen (n = 4) als auf teilweise zu geringer Variabilität innerhalb der Wiederholungen beruhte.

Mit Blick auf das Calcium bilden die modernen Zuchtsorten BUSSARD, BATIS, PEGASSOS und TAMBOR eine von den übrigen Sorten deutlich abgesetzte Gruppe, die mit steigenden Ca-Gehalten sinkende Ca-Differenzen aufwies (Abb. 2). Eine Hornkieselanwendung führte bei der zweiten Sortengruppe, die außer der modernen Sorte RENAN acht ältere Sorten oder zu prüfende Zuchtstämme der biologisch-dynamischen Züchter umfaßte, fast ausnahmslos zu höheren Ca-Gehalten.

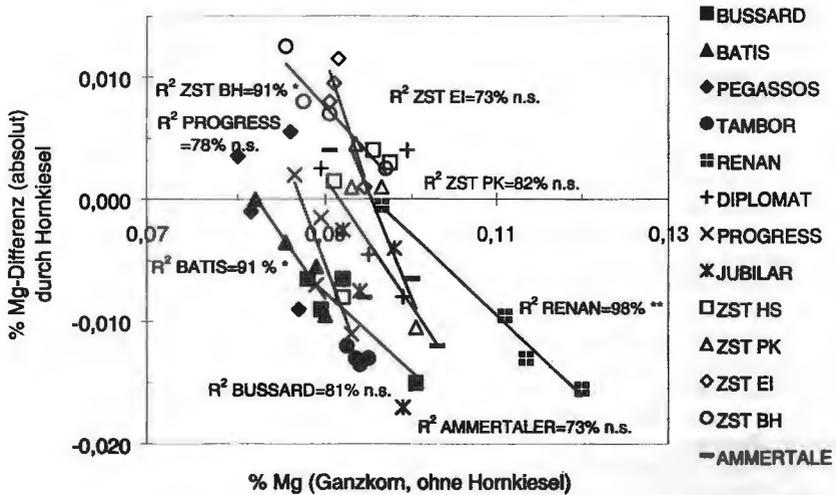


Abb. 1: Beziehungen zwischen den Magnesium-Gehalten von Winterweizen (verschiedene Sorten, Dottenfelderhof 1998) ohne Anwendung des biologisch-dynamischen Hornchieselpräparates und den durch Anwendung dieses Präparates induzierten Magnesium-Differenzen.

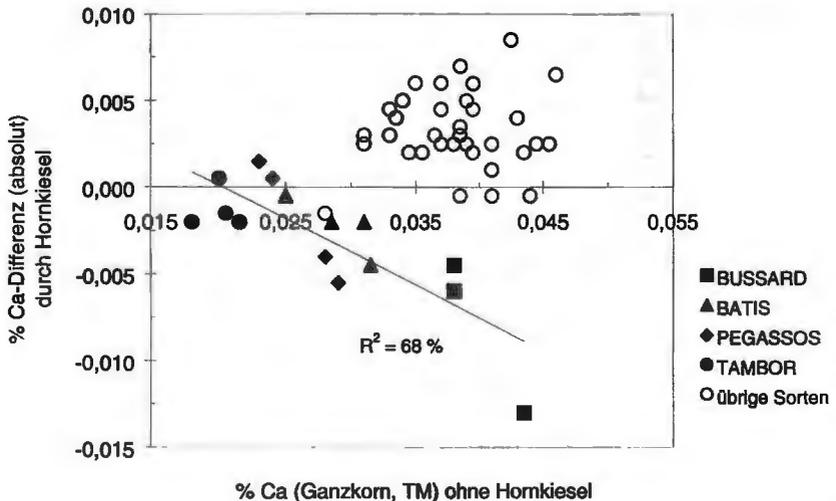


Abb. 2: Beziehungen zwischen den Calcium-Gehalten von Winterweizen (verschiedene Sorten, Dottenfelderhof 1998) ohne Anwendung des biologisch-dynamischen Hornchieselpräparates und den durch Anwendung dieses Präparates induzierten Calcium-Differenzen.

Da dies sowohl mit einem aktiveren Wurzelsystem zusammenhängen als auch eine bessere Strukturierung des pflanzlichen Gewebes bedeuten könnte (vgl. den Beitrag von HAGEL et al. zur Ca-Versorgung von Salat in diesem Band), sind höhere Ca-Gehalte eher positiv zu bewerten. Auch für die Mineralstoffe Phosphor und Kalium ergaben sich je nach Sorte teilweise ausgeprägte Beziehungen (ohne Abb.). Weniger deutlich fielen dagegen die Hornkieselwirkungen auf die N- und S-Gehalte des Korns aus (ohne Abb.). Dagegen zeigten diese Parameter bei Zusammenfassung zum N:S-Verhältnis einen prägnanten Normalisierungseffekt des Hornkieselpräparates (Abb. 3): Die Regression der die Gruppe 1 umfassenden modernen Sorten sowie der Zuchtstämme PK und BH schnitt die Null-Linie bei einem N:S-Verhältnis von rund 13. Höhere und in Richtung eines Schwefelmangels gehende Werte wurden durch das Hornkieselpräparat um bis zu 2,6 Einheiten reduziert (ZST PK), die engeren N:S-Verhältnisse der Sorte BUSSARD erfuhren durch dieses Präparat allerdings eine Steigerung in gleicher Höhe. Die älteren Sorten DIPLOMAT, JUBILAR und PROGRESS sowie die Zuchtstämme HS und EI der Gruppe 2 zeigten u.a. dahingehend ein abweichendes Normalisierungsverhalten, daß eine vorläufig abzuschätzende Normalisierungsgerade die Null-Linie bei niedrigeren N:S-Verhältnissen von ca. 11,5 – 12 schneiden würde. Ihre Integration in Gruppe 1 würde daher deren hohes Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 76\%$ sukzessive auf nur 34 % reduzieren.

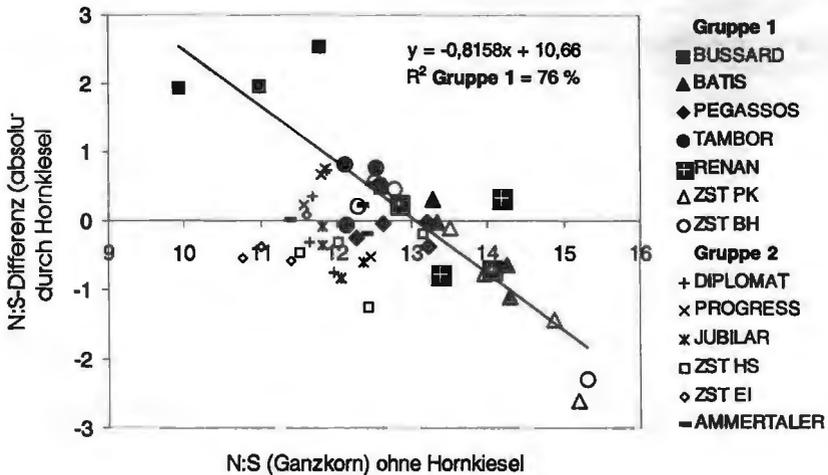


Abb. 3: Beziehungen zwischen den N:S-Verhältnissen von Winterweizen (verschiedene Sorten, Dottenfelderhof 1998) ohne Anwendung des biologisch-dynamischen Hornkieselpräparates und den durch Anwendung dieses Präparates induzierten Differenzen der N:S-Verhältnisse.

Die dargestellten Wirkungen des Hornkieselpräparates bestätigen den im Zusammenhang mit der Anwendung der biologisch-dynamischen Präparate schon früher beobachteten "Normalisierungseffekt" (SPIEB 1997, KÖNIG 1998, RAUPP und KÖNIG 1996, SPIEB und SCHMIDT 1999). Sie beruhen nicht auf möglicherweise im Zusammenhang mit variierenden Kornerträgen stehenden Verdünnungseffekten, da das Hornkieselpräparat bei sämtlichen Sorten hinsichtlich der Ertragsdifferenzen zu im Vergleich mit den übrigen hier dargestellten Parametern ausgesprochen undeutlichen, nicht signifikanten und grundsätzlich ebenfalls inversen „Beziehungen“, das heißt Tendenzen geführt hatte (Abb. 4). Diese hätten bei Existenz eines Verdün-

nungseffektes aber nicht zu den ebenfalls inversen Beziehungen der Abbildungen 1 – 3 führen dürfen. Daher entsteht die Frage, ob die Akkumulation der verschiedenen Mineralstoffe im Getreidekorn – abgesehen von den verschiedenen biologischen Funktionen - sowie deren Regulation durch das Hornkieselpräparat nicht eigene Leistungen darstellen und wie diese besonders mit Blick auf die Produktqualität und die Züchtungsziele zu bewerten sind.

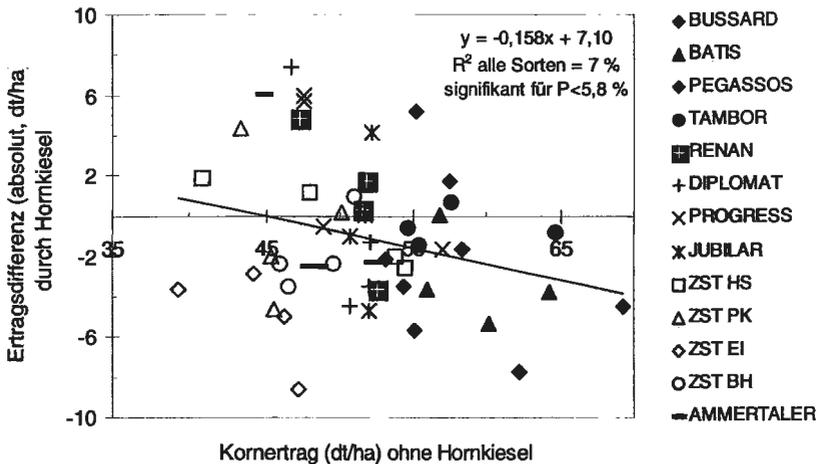


Abb. 4: Beziehungen zwischen den Kornträgen von Winterweizen (verschiedene Sorten, Dottenfelderhof 1998) ohne Anwendung des biologisch-dynamischen Hornkieselpräparates und den durch Anwendung dieses Präparates induzierten Ertrags-Differenzen.

Auch für den Parameter der Kleberzugfestigkeit ergaben sich mit Bestimmtheitsmaßen von bis zu 98 % teilweise ausgesprochen enge Beziehungen, die aber aus den oben geschilderten Gründen nur für vier Sorten signifikant ausfielen (Abb. 5). Damit ist auch die Proteinqualität des Weizens eine Eigenschaft, die bei Anwendung des Hornkieselpräparates eine sortenspezifische Gleichgewichtslage anstrebt.

Fazit

Die Ergebnisse belegen die Wirksamkeit des biologisch-dynamischen Hornkieselpräparates mit Blick auf Mineralstoffgehalte und Kleberzugfestigkeit sehr verschiedener Weizensorten. Damit ergibt sich auch die Möglichkeit, verschiedene Verfahren der Zu- und Aufbereitung sowohl der biologisch-dynamischen Hornkiesel- als auch der Hommistpräparate zu prüfen. Die Bedeutung der "Normalisierungseffekte" für die Nahrungsqualität bedarf der Bearbeitung. Besonders mit Blick auf die Ca-Gehalte ergaben sich deutliche Differenzierungen zwischen modernen und älteren Sorten bzw. biologisch-dynamischer Neuzüchtungen.

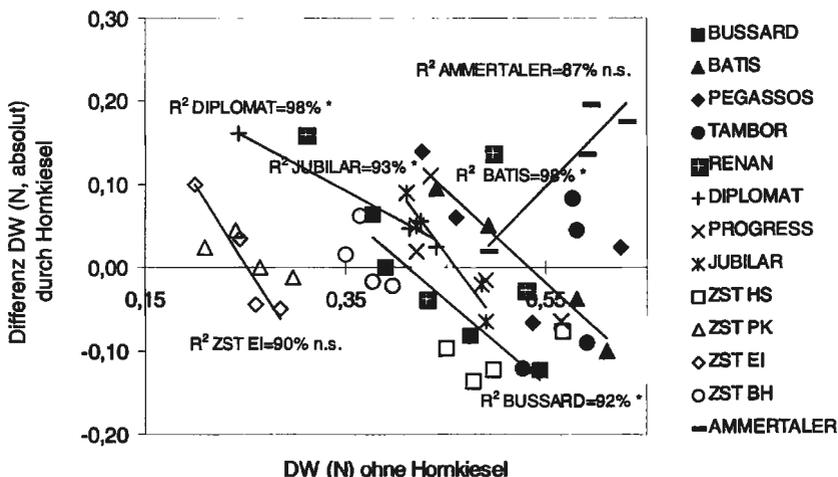


Abb 5: Beziehungen zwischen dem Dehnwiderstand (Kleberzugfestigkeit) von Winterweizen (verschiedene Sorten, Dottenfelderhof, 1998) ohne Anwendung des biologisch-dynamischen Hornkieselpräparates und den durch Anwendung dieses Präparates induzierten Dehnwiderstands-Differenzen. DW = Dehnwiderstand, N = Newton.

Literatur

- HAGEL, I., H. WIESER und E. SCHNUG (1999): Wirkungen hoher Schwefelgaben auf Mineralstoffgehalte, Proteinfraktionen und Kleberqualität von Weizen aus biologisch-dynamischem Anbau. Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung (Pflanzliche Nahrungsmittel) e.V., 34. Vortragstagung, 22./23. März 1999, Freising-Weihenstephan, 329-334.
- HILDEBRANDT, G. (1960): Die rhythmische Funktionsordnung von Puls und Atmung. Z. Angew. Bäder- u. Klimaheilk. 7, 533-615.
- KIEFFER, R., F. GARNREITER und H.-D. BELITZ (1981): Beurteilung von Teigeigenschaften durch Zugversuche im Mikromaßstab. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 172, 193-194.
- KÖNIG, U.J. (1998): Forschungsansätze innerhalb der biologisch-dynamischen Landwirtschaft. In: DIETZ, K.M. und B. MESSMER (Hrsg.): Grenzen erweitern - Wirklichkeiten erfahren. Perspektiven anthroposophischer Forschung. Verlag Freies Geistesleben, Stuttgart, S.213-234.
- RAUPP, J. and U.J. KÖNIG (1996): Biodynamic preparations cause opposite yield effects depending upon yield levels. Biol. Agric. Hortic. 13, 175-188.
- SCHNUG, E. and S. HANEKLAUS (1999): Diagnosis of the Nutritional Status and Quality Assessment of Oilseed Rape by X-Ray Spectroscopy. Proc. 10th Int. Rapeseed Congress, Sept. 26-29, 1999, Canberra, (CD-ROM).
- SPIES, H. (1997): Wirkung verschiedener Kieselpräparate auf das Wachstum und die Qualität von Buschbohnen (*Phaseolus vulgaris*). In: Biologisch-energetische Phänomene in der Landwirtschaft. Workshop, Weihenstephan, 24.1.1997. Forschungsring für biologisch-dynamische Wirtschaftsweise e.V. (Hg.), Darmstadt.
- SPIES, H. und P. SCHMIDT (1999): Winterweizensortenversuch mit vergleichender Anwendung des Hornkieselpräparates. Arbeitsbericht 1998, Institut für Biologisch-Dynamische Forschung, Darmstadt.
- STEINER, R. (1924): Geisteswissenschaftliche Grundlagen zum Gedeihen der Landwirtschaft. Rudolf Steiner Verlag, Dornach, 4. Vortrag.

Danksagung

Herrn R.-A. Winopal von der Fa. „Winopal Forschungsbedarf“ danken wir für die Leihgabe eines Texture Analyzers für die Durchführung der Kleberzugfestigkeitsmessungen.



Content, Composition and Characteristics of Pentosans (Arabinoxylans) in Rye Grain

H.-U. Jürgens, W. Flamme and G. Jansen

Federal Centre for Breeding Research on Cultivated Plants, Institute for Stress Physiology
and Quality of Raw Material,
Rudolf-Schick-Platz 3, 18190 Groß Lüsewitz, Germany

Pentosans are major non-starch polysaccharides (NSP) in rye. They consist of a linear β -(1 \rightarrow 4) linked xylane backbone to which α -L-arabinofuranose units are attached as side residues via α -(1 \rightarrow 3) and/or α -(1 \rightarrow 2) lineares. The high water binding capacity of pentosans reduces the availability of water for starch gelatinization. Furthermore, soluble pentosans, formings high viscous solutions have interference factors of industrial use of cereals. They can also negatively affect the rate of digestion and absorption of nutrients in the intestinal tract. But on the other hand non-starch-polysaccharides are important components for wholesome human food, in preventive anticancerous human medicine. In addition to the determination of the pentosan content the molecular weight, the composition and the viscosity of the isolated NSP are important properties for an evaluation of genetic resources and breeding of basic material.

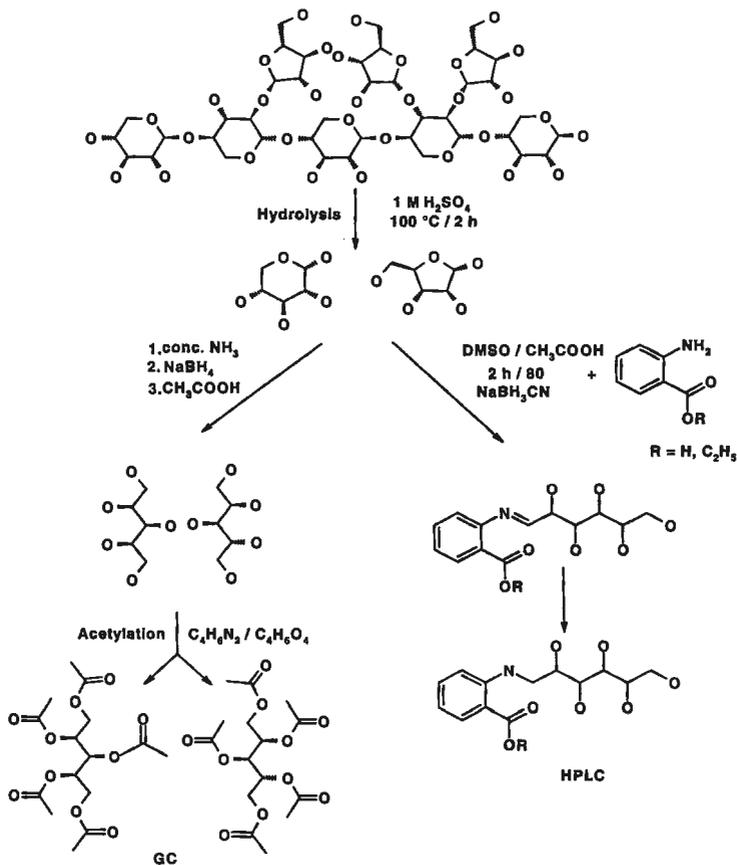
H.-U. Jürgens, Federal Centre for Breeding Research on Cultivated Plants, Institute for Stress Physiology and Quality of Raw Material, Rudolf-Schick-Platz 3, 18190 Groß Lüsewitz, Germany

Several methods are concurrently used for the determination of pentosans in cereal flour or cereal-based products. In the colorimetric methods a colored complex is formed with sugar derivatives obtained by hot concentrated acid treatment of the sample in the presence of orcinol or phloroglucinol. Interferences can occur from glucose, an endproduct of starch hydrolysis. Furthermore, these methods do not give information about the sugar composition of the pentosans. With gas chromatographic methods the preparation procedure is often complex and time-consuming. But the results are precise and specific for arabinose and xylose (Englyst et al., 1984). We developed a method wich can be used for routine-like analysis of the pentosan content in cereal flour or meal by high pressure liquid chromatography and with fluorescence detection (Scheme 1).

Material and methods

Material

Genetic resources of rye and triticale (samples of >100 g) were dried and ground in a Laboratory Mill 3100 (Perten Instruments) to pass a 0.8 mm screen.



Scheme 1

Extract viscosity

Cereal meal (2 g) was shaken for 1 hr at $20 \text{ }^\circ\text{C}$ with 20 ml water and then centrifuged ($12000 \times g$, 10 min, $5 \text{ }^\circ\text{C}$). The supernatant was used for determination of soluble pentosans (2 ml) and viscosity with an Ubbelohde micro-viscosimeter (tube capillary No. II) at $30 \text{ }^\circ\text{C}$.

Hydrolysis

The 2 ml supernatant of extract were lyophilized and after it hydrolyzed in 1 M sulfuric acid at $100 \text{ }^\circ\text{C}$ for 2 hr in a heating block. The reaction mixture was transferred to a microcentrifuge tube and an internal standard was added for HPLC and GC analysis. The sample was vortexed and centrifuged ($15000 \times g$, 20 min).

Cereal meal (200 mg) was hydrolyzed in 1 M sulfuric acid at $100 \text{ }^\circ\text{C}$ for 2 hr in a heating block for determination of total pentosans and prepared as described above.

HPLC Analysis

The hydrolyzed pentosans were labeled with anthranilic acid or anthranilic acid ethyl ester (2-aminobenzoic acid ethyl ester) as previously described by Townsend et al., 1996. The labeling mixture was diluted 20-fold and filtered through a 0.45 μm filter before injection. The apparatus used for HPLC was composed of a Jasco PU-980 intelligent pump with LG-980-02 ternary gradient unit, a Kontron 465-Autosampler and a Shimadzu RF-10AXL fluorescence detector. The separations were carried out at 25 °C on Phenomenex Aqua 3 μC -18 column (100 x 4.6 mm) at an eluent flow rate of 1 ml min⁻¹. Eluates were monitored using fluorescence detector with excitation and emission wavelengths of 340 nm and 420 nm, respectively (Fig. 1).

GC Analysis

The hydrolyzed pentosans were reduced with sodiumborohydride and acetylated as described by Harris et al., 1988. GC separations were performed on a gaschromatograph HP 5890 with FID, autoinjector HP 7673 and fused-silica capillary HP1 (25 m x 0.2 mm x 0.33 μm) (Fig. 2).

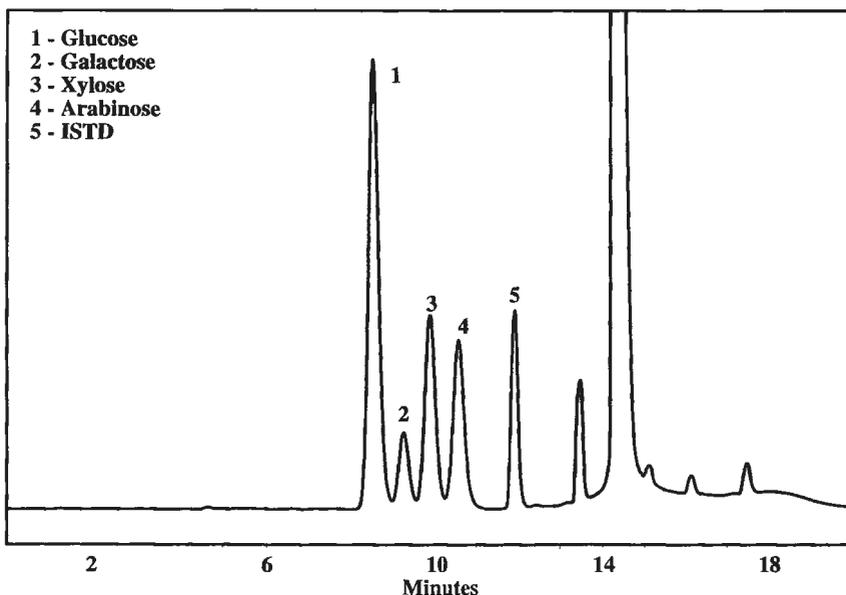


Fig. 1: Chromatogram of monosaccharides labeled with anthranilic acid ethyl ester by RP-HPLC

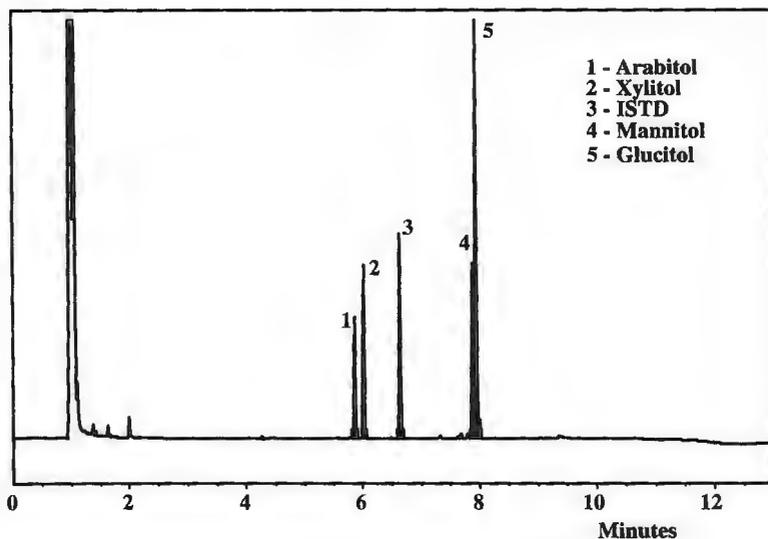


Fig. 2: Gaschromatogram of hydrolyzed pentosans as alditol acetates

Results

The values of soluble and total pentosans ranged from 1.45 % - 4.58 % (mean value 2.54 %) and 7.49 % - 13.75 % (mean value 9.84 %), respectively.

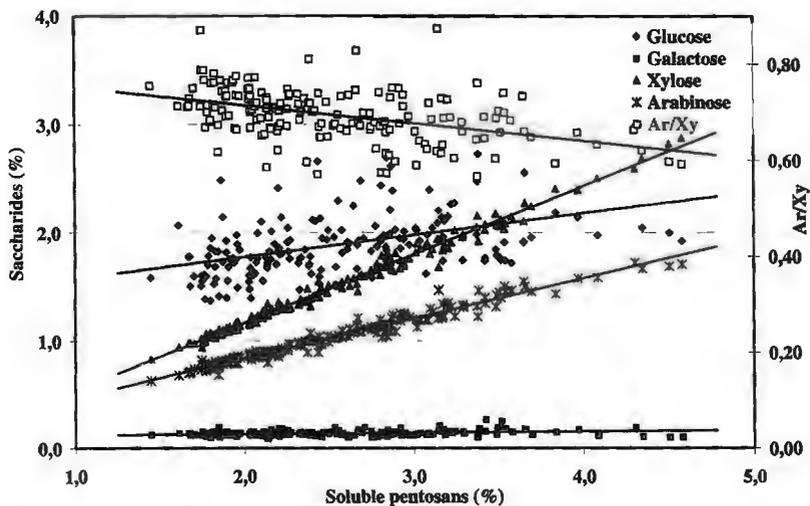


Fig. 3: Relation between individual saccharide values, the ratio of arabinose/xylose and content of soluble pentosans

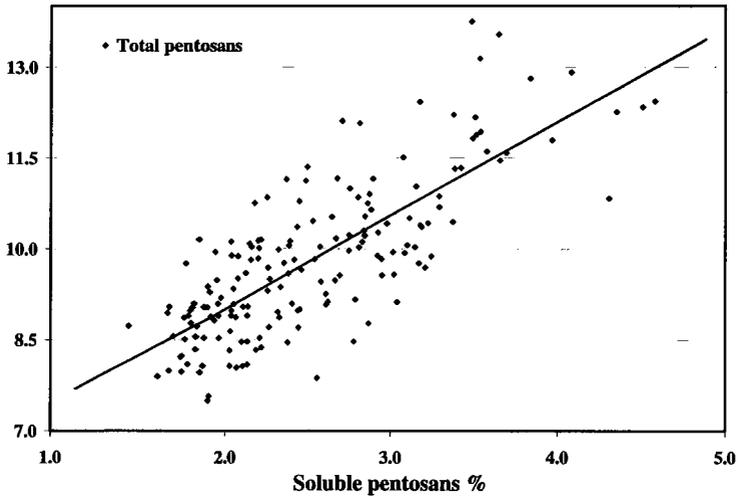


Fig. 4: Relation between content of soluble pentosans and total pentosans

The structures of cereal pentosans are composed predominantly of two pentoses, arabinose and xylose, although galactose is present as minor component and might originate from other polysaccharides. The main part of measured glucose is formed by hydrolysis of starch or soluble oligosaccharides.

A weak, negative, linear correlation was found between the arabinose/xylose ratio (Ar/Xy) and the content of soluble pentosans ($R^2 = 0.23$) (Fig. 3). The amount of total pentosans is increased in relation to the amount of soluble pentosans (Fig. 4)

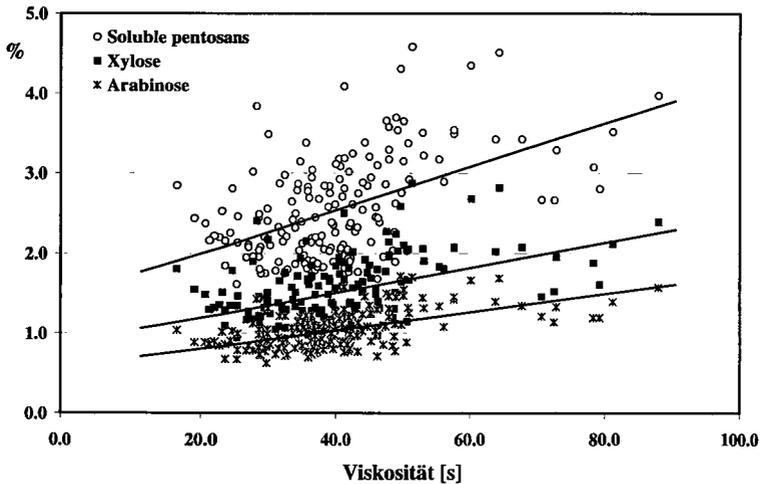


Fig. 5: Relation between content of soluble pentosans, individual pentose values and extract viscosity

A weak, positive, linear correlation was found between the extract viscosity and the content of soluble pentosans ($R^2 = 0.35$) (Fig. 5). Solubility of pentosans depends on the chemical structure, molecular weights and their association with the cell wall components. Other parameters, such as protein, pentosanases and xylanases, also influence the viscosity.

Summary

A rapid method of pentosan determination in rye, comprising three steps, is presented. (1) The hydrolysis of pentosans by hot dilute acid, (2) the derivatization with anthranilic acid ethyl ester and (3) HPLC analysis.

The method has been utilized for evaluation of genetic resources.

Literature

Englyst, H. N.; Cummings, J. H. *Analyst* 1984, 109, 937-942.

Harris, P. J.; Blakeney, A. B.; Henry, R. J.; Stone, B. A. *J. Assoc. off. Anal. Chem.* 1988, 71(2), 272-275.

Townsend, R. R.; Lipniunas, P. H.; Bigge, C.; Ventom, A.; Parekh, R. *Anal. Biochem.* 1996, 239, 200-207.



Stärkequalität - eine Herausforderung für die Kartoffelzüchter

Norbert U. Haase

Bundesanstalt für Getreide-, Kartoffel- und Fettforschung¹

Starch quality - a challenge for potato breeders

Abstract

A new breeding programme of German potato breeders will improve potato starch quality to meet future competitions with cereal starches. A lot of samples were analysed to get an impression of the current range of interior potato starch quality and to identify potential parental lines (2.510 samples from 9 breeding companies, grown from 1997 to 1999). Minimum to maximum ranges of starch content, phosphorus content of starch, and viscosity behaviour of starch paste were 12.8 - 30.2 % fresh weight (FW), 284 - 1311 ppm phosphorus in starch, and 330 - 781 Rapid Visco Units (RVU), respectively. Near infrared spectroscopy was used as a rapid test procedure. Starch content could be predicted with transmittance and reflectance techniques both, whereas phosphorus content of starch and peak viscosity of starch paste were predictable with the reflectance technique, only.

Dr. N.U. Haase, Schützenberg 12, D-32756 Detmold, Tel.: 05231-741453, Fax: 05231-741100, e-mail: potato.bagkf@t-online.de

Einleitung

Die Gewinnung von Stärke aus Kartoffeln ist weltweit etabliert. Bereits seit fast 200 Jahren gibt es entsprechende Berichte über diese Art der Kartoffelnutzung (TREADWAY, 1967), doch hat in Europa erst in den letzten 20 Jahren ein bedeutender Aufschwung eingesetzt. So sind allein in Deutschland die Produktionszahlen für Kartoffelstärke von 1985 bis 1989 um 37% und bis 1996 um 328% gestiegen (einschließlich neue Bundesländer) (ZMP, 1994; ZMP, 1999). Damit ist die Stärkekartoffel in den letzten Jahren ein fester Bestandteil des deutschen Kartoffelanbaus geworden. Betrug der Anteil 1985 17% an der Gesamtproduktion (nur alte Bundesländer), so wurden 1996 für ganz Deutschland 27% erreicht (ohne Berücksichtigung von Brennereikartoffeln; ZMP, 1999). Mit Einführung der Kontingentierung ab dem Wirtschaftsjahr 95/96 (nationale Quote: 696.000t Stärke) ist das Mengenwachstum unterbrochen worden (anonym, 1994; anonym, 1995). Im Rahmen der Agenda-2000-Verhandlungen sind darüber hinaus leichte Reduzierungen der EU-Quote vereinbart worden (anonym, 1999).

¹ Veröffentlichungs-Nr. 7410 der Bundesanstalt für Getreide-, Kartoffel- und Fettforschung.

Mit der Ausschaltung weiterer Wachstumspotentiale müssen neue Wege beschritten werden, um auch in Zukunft die Konkurrenzkraft der Kartoffelstärke erhalten zu können. Zwar wird heute in der Lebensmittelindustrie bei der Herstellung von Kartoffelerzeugnissen oft auf Kartoffelstärke zurückgegriffen (Deklarationsgründe), doch stellt dieses keine Garantie für zukünftige Absatzmärkte dar. Entsprechendes gilt für non-food Absatzmärkte (z.B. Papierindustrie).

Deshalb sollte in Zukunft mehr die besondere Qualität der Kartoffelstärke im Vergleich mit anderen Stärkearten herausgestellt werden (siehe dazu auch Tab. 1).

Tabelle 1: Qualitätsaspekte der Kartoffelstärke im Vergleich mit anderen Stärkearten (nach Alexander, 1995, verändert)

Kriterium	Stärkeart		
	Kartoffel	Mais	Weizen
Form Stärkekorn	oval	rund, polygonal	rund
Durchmesser (Gewichtsmittel) (μm)	40	15	25
Amylose (%)	21	28	26
Lipid (% TM)	0,05	0,7	0,8
Protein (% TM)	0,06	0,35	0,40
Mineralstoffe (% TM)	0,4	0,1	0,2
P-Gehalt (% Stärke)	0,04 – 0,12	0,01 – 0,02	0,06 – 0,07
Viskosität	sehr hoch	mittel	gering
Transparenz Kleister	sehr klar	opaque	trüb
Retrogradation (Rate)	gering	hoch	hoch
Quellvermögen (Faktor)	> 1000	24	21

Zunächst einmal lässt sich die Effizienz der Stärkegewinnung durch Anhebung des Stärkegehaltes in den Kartoffeln steigern. Leider wird dieses heute aber nicht entsprechend honoriert (degressive Bezahlung ab einem Stärkegehalt von 19,6 %; Höchstgrenze des Stärkegehaltes von 23,0%).

Des weiteren dürfte auch eine Verbesserung der inneren Stärkequalität Vorteile erbringen. So bestimmt der Phosphorgehalt der Stärke (in Phosphatform) über seine Brückenfunktion die Anlagerung von Fremdgruppen und beeinflusst damit direkt das physikalische Verhalten der Stärke (Viskosität des Stärkekleisters).

Die Korngrößenverteilung der Stärkekörner ist ebenfalls von Interesse. Sowohl kleine als auch große Stärkekörner weisen spezifische Vorteile auf, die im Einzelfall gegeneinander abgewägt werden müssen. Bei Oberflächenreaktionen sind viele kleine Stärkekörner erwünscht, die eine wesentlich größere spezifische Oberfläche als wenige große Körner für die Reaktion bereitstellen. Große Stärkekörner ihrerseits sind u.a. bei der Klebwirkung von Vorteil. Allerdings sind hier weniger die Züchter als vielmehr die Techniker gefragt, da über einfache Trenntechniken (Hydrozyklon- bzw. Siebtechnik) eine gezielte Korngrößenfraktion produziert werden kann.

Nicht verschwiegen werden sollen auch die Bemühungen der Molekularbiologen, die Biosynthese der Kartoffelstärke so zu beeinflussen, daß ausschließlich Amylopektin gebildet wird (PEERENBOOM, 1997). Für die klassische Pflanzenzüchtung besteht im vorhandenen Sortiment diesbezüglich aber so gut wie kein Ansatzpunkt einer Verbesserung (HAASE and PLATE, 1996).

Eine geldwerte Umsetzung dieser Qualitätsaspekte kann durchaus die erheblichen Wettbewerbsnachteile der Stärkegewinnung (Kampagnebetrieb; wenige Koppel- und Nebenprodukte) reduzieren. Wie sieht es aber heute aus? Unterscheiden sich die eingesetzten

Kartoffelsorten bzw. aktuelle Zuchtlinien in ihrer jeweiligen Stärkequalität bereits derart, daß eine sortenreine Verarbeitung oder zumindest eine Gruppierung von Sorten Vorteile für die Nutzung mit sich bringen würde? In den letzten Jahren sind von uns zu diesem Thema eine Vielzahl von Mustern untersucht worden. Darüber hinaus ist an einer Schnellmethode gearbeitet worden, um die Stärkequalität der Kartoffel bereits bei der Fabrikanelieferung abschätzen zu können. Die Ergebnisse sollen im folgenden zusammenfassend dargestellt werden.

Material und Methoden

In den Jahren 1997 bis 1999 wurden im Rahmen eines Forschungsvorhabens ²⁾ insgesamt 2507 Kartoffelproben analysiert. Dabei handelte es sich um 44 Sorten (109 Proben) und 2398 Zuchtlinien (teilweise Jahres- und Anbauwiederholungen) aus Feldversuchen verschiedener Versuchsansteller. Im Anbau trafen mehrere Einflussfaktoren aufeinander, die aufgrund wechselnder Verteilungen nicht gewichtet werden konnten. So war in der umfangreichen Versuchsanlage nicht jede Sorte bzw. jede Zuchtlinie in jedem Anbaujahr von allen untersuchten Standorten verfügbar. Bezüglich einer gezielten Untersuchung des Düngungs- und Ortseinflusses auf die Stärkequalität wird daher auf die Arbeit von HAASE and PLATE (1996) verwiesen.

In der aktuellen Studie wurde bei sämtlichen Mustern zunächst der Trockenmassegehalt nach dem Trockenschrankverfahren ermittelt (AACC, 1984). Mittels Unterwasserwägung und Verwendung einer an der BAGKF aufgestellten Regressionsgleichung wurde der Stärkegehalt geschätzt. Für die weiteren Untersuchungen wurde die Kartoffelstärke isoliert. Dazu wurde ein repräsentatives aliquot gewürfelt und mit einem Haushaltsmixer (CombiMax 750, Firma Braun, Kronberg, D) homogenisiert. Die Abtrennung der Stärke erfolgte in einer Nass-Siebeinrichtung der Firma Retsch (Haan, D; Typ WS 1) unter Verwendung von Sieben der Maschenweite 750, 500, 250 und 125 µm). Der Siebdurchschlag sedimentierte in 50l Gefäßen, der Überstand wurde dekantiert. Im Versuchsjahr 1997 schloss sich eine Feinreinigung mittels Flutenrinne an (LAMBERTY, 1972). Ab 1998 erfolgte die Abtrennung feiner Fasern mittels einfacher Sedimentation im Schwerefeld (Imhoff-Zylinder; Entfernung der obersten Feststoffschicht).

Der Phosphorgehalt der Stärke wurde nach trockener Veraschung im Muffelofen über einen Farbkomplex (Molybdat-Vanadat-Komplex) photometrisch bestimmt (HEYNS, 1959). Für die Viskositätsmessung wurde der Rapid Visco Analyzer (Newport Scientific, Warriewood, NSW, AUS) nach Standardvorschrift eingesetzt (HAASE et al., 1995). Die Messungen im Nah-Infrarot-Licht erfolgten mit einem Food and Feed Analyzer (FFA 1225, Foss Electric, Hamburg, D; Transmission) und dem NIRS 6500 (Foss Electric, Hamburg, D; Reflektion). Die Muster wurden dazu analog zur Stärkeisolierung zerkleinert und als Rohbrei detektiert. Zur Modellerstellung wurden die Software-Programme Unscrambler (Version 5.04) und WinISI II (Version 1.5) eingesetzt. Die Auswertung erfolgte anhand des Softwareprogramms Statistica (V. 5.1; StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA (1996)).

²⁾ Die Untersuchungen erfolgten im Rahmen eines Forschungsvorhabens, das von der GFP (Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung e.V., Bonn) und dem Bundeslandwirtschaftsministerium, vertreten durch die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe, Fkz.: 96-NR-226-F, finanziell gefördert wurde.

Ergebnisse

Überblick

Bedingt durch die nicht kompensierbaren Einflüsse einzelner Anbaufaktoren (Sorte, Jahr, Düngung und Anbauort) traten größere Schwankungen der Einzelwerte auf, wie Spannweite und Standardabweichung belegen (Tab. 2).

Tabelle 2 : Qualitätsergebnisse der untersuchten Kartoffeln und der isolierten Stärken im Überblick.

Kriterium	Anzahl Muster	Mittelwert	Standardabweichung	Min	Max
Trockenmasse [%]	2507	27,4	2,4	18	36
Stärke (UWG)					
[% Frischmasse]	2480	21,7	2,2	12,8	30,7
Phosphorgehalt d. Stärke					
[ppm P]	2012	753	155	284	1311
Viskosität					
(RVA max) [RVU]	1920	582	58	330	781

Sorten und Linien

Zur Gegenüberstellung zugelassener Kartoffelsorten mit aktuellen Zuchtlinien wurden die Datensätze getrennt verrechnet. Die Ergebnisse sind in Tab. 3 (Sorten) und 4 (Zuchtlinien) wiedergegeben.

Tabelle 3 : Qualitätsergebnisse der untersuchten Kartoffelsorten und der daraus isolierten Stärken.

Kriterium	Anzahl Muster	Mittelwert	Standardabweichung	Min	Max
Trockenmasse [%]	109	27,4	2,3	20,9	34
Stärke (UWG)					
[% Frischmasse]	108	21,6	2,0	15,5	26,4
Phosphorgehalt d. Stärke					
[ppm P]	84	723	148	366	1302
Viskosität					
(RVA max) [RVU]	79	581	55	407	686

Tabelle 4 : Qualitätsergebnisse der untersuchten Kartoffel-Zuchtlinien und der daraus isolierten Stärken.

Kriterium	Anzahl Muster	Mittelwert	Standardabweichung	Min	Max
Trockenmasse [%]	2398	27,4	2,5	18	36
Stärke (UWG)					
[% Frischmasse]	2369	21,6	2,2	12,8	30,7
Phosphorgehalt d. Stärke					
[ppm P]	1904	753	154	284	1311
Viskosität					
(RVA max) [RVU]	1816	581	57	330	781

Die zwischen den untersuchten Sorten gefundene Variabilität in der Merkmalsausprägung wurde von den entsprechenden Werten des Zuchtmaterials noch geringfügig übertroffen. Die jeweiligen Mittelwerte entsprachen sich jedoch bis auf den Phosphorgehalt i.d. Stärke.

Schnelltest zur Abschätzung der Stärkequalität

Zwecks rascher und einfacher Abschätzung verschiedener Qualitätsparameter der Kartoffel wurden Untersuchungen mit der Nah-Infrarot-Spektroskopie durchgeführt. Die multiple Regression der Analysendaten mit den spektralen Daten der Nah-Infrarot-Transmissions-Spektroskopie (NIT) erlaubte eine Modellerstellung für einzelne ausgesuchte Qualitätsmerkmale. In Abb. 1 und 2 sind die Regressionen für Trockenmasse- und Stärkegehalt dargestellt, wobei jeweils zerkleinerte Kartoffeln (Rohbrei) gemessen wurden.

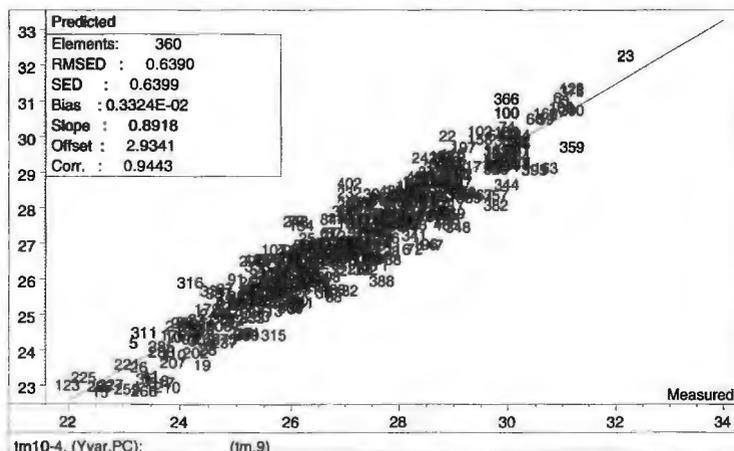


Abbildung 1: NIT-Abgleich des Merkmals "Trockenmassegehalt" im Rohbrei ausgewählter Kartoffelmuster

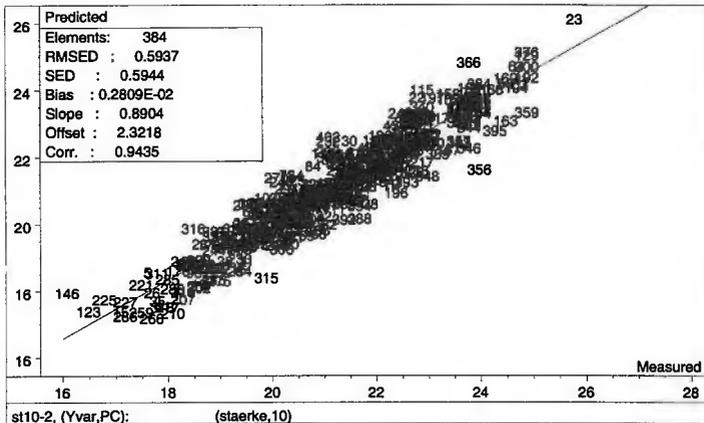


Abbildung 2: NIT-Abgleich des Merkmals "Stärkegehalt" im Rohbrei ausgewählter Kartoffelmuster

Beide Merkmale wiesen eine sehr gute Übereinstimmung zwischen Analysen- und Vorhersagewert auf. Die erstellten Modelle waren stabil. Eine Überprüfung der Ergebnisse mit unbekannten Mustern, die nicht zur Kalibrierung verwendet worden waren, ergab ebenfalls eine sehr gute Übereinstimmung der Werte. Die entsprechenden Kenndaten sind in Tab. 5 enthalten.

Tabelle 5: NIT-Modelle zur Stärkequalität von Kartoffeln einschließlich Validierungsmessungen (Messung im Rohbrei).

Modell	PC	n	RMSEP	SEC/SEV	BIAS	Slope	Offset	r
Trockenmasse								
TM10(4)	9	360	0,639	0,6399	0,33E-02	0,892	2,93	0,944
Validierung	9	400	0,938	0,93	0,125	0,852	4,14	0,896
Stärkegehalt								
ST10(2)	10	384	0,5937	0,5944	0,0028	0,89	2,32	0,944
Validierung	10	391	0,751	0,7497	0,062	0,841	3,429	0,918

Erläuterung der verwendeten Kenngrößen: PC (principal component; Anzahl Faktoren); n (Anzahl Muster); RMSEC (mittlere Abweichung zwischen Analysen- und Vorhersagewert, Standardfehler); SEC/SEV (Standardfehler bei Kalibrierung (SEC) und Validierung (SEV), korrigiert um die systemat. Abweichung); BIAS (systemat. Abweichung zwischen Referenz und Vorhersage); Slope (Steigung der Regressionsgeraden); Offset (Absolutwert der Regressionsgleichung); r (Korrelationswert); Validierung (Bestätigung des Modells).

Bei den Qualitätsmerkmalen "Phosphorgehalt i.d. Stärke" und „Peakviskosität des Stärkekleisters“ führten die Messungen im frischen Rohbrei nicht u aussagekräftigen Modellen. Deshalb wurden zusätzliche Untersuchungen mit der Reflektionstechnik durchgeführt. Im

Gegensatz zur Transmissionstechnik wird dabei ein wesentlich größerer Wellenlängenbereich detektiert (NIR: 850 – 1100 nm; NIR_{generell}: 400 – 2500 nm, NIR_{konkrete Nutzung}: 1108 –2498 nm).

Die Ergebnisse für den "Phosphatgehalt i.d. Stärke" sind in Abb. 3 dargestellt.

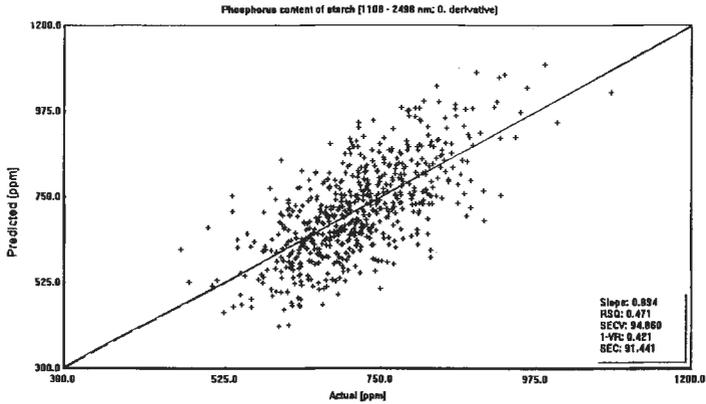


Abbildung 3: NIR-Abgleich des Merkmals "Phosphorgehalt i.d. Stärke" im Rohbrei. Gegenüberstellung von Labor- zu Vorhersagewert.

Da die Reflektionsmessung bei diesem Qualitätsmerkmal ein positives Signal ergab, wurde auch ein Bezug zum Viskositätsverhalten hergestellt (Spitzen- (Peak-) viskosität). Wie Abb. 4 zeigt, war es auch hier möglich, eine Vorhersage mit akzeptabler Genauigkeit zu erhalten.

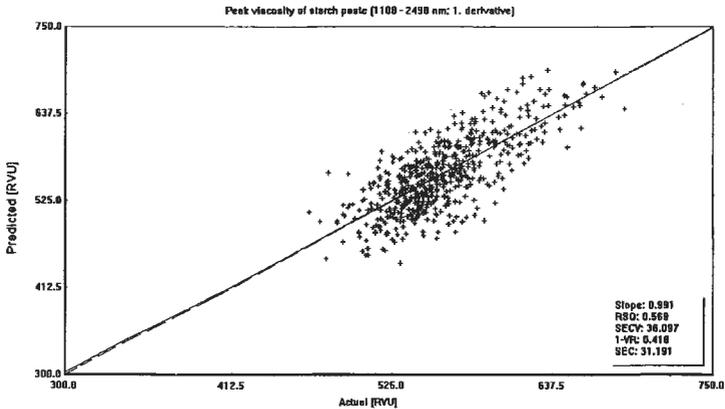


Abbildung 4: NIR-Abgleich des Merkmals "Peak-Viskosität des Stärkekleisters" im Rohbrei. Gegenüberstellung von Labor- zu Vorhersagewert.

Die entsprechenden Validierungsergebnisse mit fremden Mustern für die beiden Merkmale "Phosphorgehalt i.d. Stärke" und "Viskosität" sind in Tab. 6 den entsprechenden Kalibrierdaten gegenübergestellt.

Tabelle 6: NIR-Modelle zur Stärkequalität von Kartoffeln einschließlich Validierungsmessungen (Messung im Rohbrei).

Modell	n	SEC	SEV	r
Phosphorgehalt i.d. Stärke				
PH 10 (2)	607	91,4		0,686
Validierung	200		110	0,567
Viskosität (Spitzenviskosität)				
VI 10 (2)	579	31,2		0,754
Validierung	196		45,9	0,525

Erläuterung der verwendeten Kenngrößen: n (Anzahl Muster); SEC (Standardfehler bei der Kalibrierung); SEV (Standardfehler bei der Validierung; r (Korrelationswert)

Da die Vorhersagegüte bei der Überprüfung der beiden Modelle deutlich von der kalibrierungsinternen Korrelation abwich, dürfte die Stabilität der Modelle noch verbesserungswürdig sein.

Diskussion

Die Qualität der Kartoffelstärke kann in Abhängigkeit vom Rohstoff sehr unterschiedlich ausfallen (vgl. Tabelle 2 – 4). Neben den allgemeinen Einflüssen des jeweiligen Anbaujahres und des Bodens auf den Stärkegehalt und den Stärkeertrag wird auch über Auswirkungen einer gezielten Düngungsstrategie berichtet (PIENZ, 1998). Die inneren Qualitätsparameter hingegen sind davon weniger betroffen. Wenn in der vorliegenden Untersuchung dennoch erhebliche Schwankungsbreiten gefunden worden sind, so ist dieses vor allem auf genetisch determinierte Unterschiede zurückzuführen. Bereits früher durchgeführte Heritabilitätsberechnungen weisen denn auch für den Phosphorgehalt der Stärke einen sehr hohen Wert aus (HAASE und PLATE, 1996). Berücksichtigt man die Restunsicherheit in der Merkmalsausprägung durch Umwelteinflüsse (HAASE and PLATE, 1996) und Abreifegrad (BRUNT and ZINSMEESTER, 1997), so beinhaltet bereits das heutige Sortenspektrum ein erhebliches Qualitätspotential. Durch geschickte Kombinationskreuzung dürfte in Zukunft die Spannweite einzelner Qualitätskriterien sogar noch weiter ausgedehnt werden.

Die für eine erfolgreiche Züchtung essentielle Screening-Technik im Zuchtgarten ist jedoch gegenwärtig bei dem Merkmal "Stärkequalität" nur sehr eingeschränkt vorhanden. Der hier aufgezeigte Weg der Nah-Infrarotmessung kann aber eine Lösung des Problems darstellen. Während diese Technik in zahlreichen Bereichen der Lebensmittelwirtschaft bereits fest etabliert ist, zeigen sich bei der Kartoffel aber noch zahlreiche Probleme. Verschiedene Arbeiten signalisieren jedoch auch hier potentielle Einsatzgebiete, wie z.B. die Abschätzung der Verarbeitungsqualität (MEHRÜBEOGLU and COTE, 1997; SCANLON et al., 1999). Ein wesentlicher Vorteil dieser Technik bei der Erfassung der Stärkequalität tritt gegenüber der heute weit verbreiteten Unterwasser-Wägung (Bestimmung der spezifischen Dichte) aber erst dann auf, wenn neben den Merkmalen "Trockenmasse" und "Stärkegehalt" auch noch weitere Qualitätsmerkmale erfasst werden können. Durch Einsatz der Reflektionstechnik und des wesent-

lich weiteren Aktionsradius konnte diese Forderung zumindest teilweise erfüllt werden. Erste Ergebnisse zum Merkmal "Phosphorgehalt i.d. Stärke" weisen in diese Richtung. Ziel der weiteren Arbeiten wird es sein, diese beiden Modelle noch weiter zu verbessern. Zum einen muss die Frage geklärt werden, ob eine Modellbegrenzung auf einen Anbauort die Vorhersagegenauigkeit noch weiter erhöhen kann. Zum anderen soll versucht werden, die Stabilität des Modelles noch weiter zu erhöhen. Denn aufgrund der sehr aufwendigen Analytik dürfte eine Modellpflege in der Praxis sich als sehr schwierig erweisen.

Literatur

- AACC (American Association of Cereal Chemists): Method 44-15 A. Approved Methods of the AACC. The Association 1984, St. Paul, MN.
- ALEXANDER, R.J.: Potato Starch: New prospects for an old product. *Cereal Foods World* 40 (1995), 763-764.
- Anonymus: VO 1868/1994, *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften*, L 197 (30.7.94), 4.
- Anonymus: VO 97/1995, *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften*, L 16 (24.1.95), 3.
- Anonymus: VO 1252/1999, *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften*, L 160 (26.6.99), 15.
- BRUNT, K. and C. ZINSMEESTER: Composition of potato starch in relation to variety and maturity. In: *Starch* 96, H. van Doren and N. van Sand (Eds.), *Carbohydr. Res. Foundation, The Hague, NL, 1997*, 147-150.
- HAASE, N.U., Th. MINTUS and D. WEIPERT: Viscosity measurements of potato starch paste with the Rapid Visco Analyzer. *Starch/Stärke* 47 (1995), 123-126.
- HAASE, N.U. and J. PLATE: Properties of potato starch in relation to varieties and environmental factors. *Starch/Stärke* 48 (1996), 167-171.
- HEYNS, K.: Einheitliche Analysenmethoden für Stärke und Stärkehydrolysenprodukte. *Starch/Stärke* 11 (1959), 251-271.
- LAMBERTY, A.: Verbesserte Flutenrinnen-Versuchsanlage für die Stärke-Klebertrennung von Mais. *Starch/Stärke* 24 (1972), 31-32.
- MEHRÜBEOGLU, M. and G.L. COTÉ: Determination of total reducing sugars in potato samples using near-infrared spectroscopy. *Cereal Foods World* 42 (1997), 409-413.
- PEERENBOOM, E.: Die amylosefreie Kartoffel. *Kartoffelbau* 48 (1997), 420-423.
- PIENZ, G.: Kaliumdüngung. *Kartoffelbau* 49 (1998), 270-273.
- SCANLON, M.G., M.K. PRITCHARD, L.R. ADAM: Quality evaluation of processing potatoes by near infrared reflectance. *J Science Food Agric.* 79 (1999), 763-771.
- TREADWAY, R.J.: Manufacture of potato starch. In: *Starch: Chemistry and Technology*, Vol. 2, R.L. Whistler and E.F. Paschall (Eds.), Academic Press, NY, USA (1967).
- ZMP: ZMP-Bilanz Kartoffeln 1994, ZMP Bonn., 1994.
- ZMP: ZMP-Bilanz Kartoffeln 1999, ZMP Bonn., 1999.





Potato Tubers Quality During Storage: Starch, Protein and Mineral Content

Erika Pardede and Elke Pawelzik

Institut für Agrikulturchemie der Universität Göttingen

Abstract. *Potato tubers cv. Saturna were planted with different fertilizer rates and stored after harvest over 32 weeks. In general, there was no effect of addition of P, Ca and Mg supplement (80 kg P₂O₅/ha; 75 kg MgO/ha; 500 kg CaO/ha) on starch and protein of potato tubers before storage. However it was clear that the quality of tubers was changed during the storage. There was indication that Ca and Mg supplement together with P could increase P, Mg and K content of tubers, but up to the fertilizer rates used in this study no significant effect has been found on starch and protein. After 24 weeks of storage at 8°C and RH 92% starch content decreased remarkable, followed by increasing of protein content. Tubers grown with addition of Ca and Mg supplement together with phosphorus showed a slower decrease of starch. To see the effect of combinations rate of phosphorus, calcium and magnesium supplement and its effect on the quality of potato tubers a further study is required.*

Institut für Agrikulturchemie der Universität Göttingen, Carl-Sprengel-Weg 1, D-37075 Göttingen; E-mail: epardede@gwdg.de; epawelz@gwdg.de

Key words: potato, quality, starch, protein, calcium, magnesium, potassium, phosphorus

Introduction

Some studies showed that application of nutrient supplement could lead to an increasing of potato tubers quality, but some others failed to show the same finding (Marschner, 1999; Kleinhenz, et al., 1999). P, Ca and Mg fertilizer tend to have a positive influence on starch content (Pawelzik, 2000; Schuhmann, 2000). Phosphorus regulates starch synthesis in the amyloplasts of storage cells, and Mg might also play role on starch synthesis through its effect on the level of P and formation of Mg-K-Phytate (Marschner, 1999). Mg has a special role as an activator practically in all reaction involving phosphate transfer, therefore has a special importance with P metabolism (Adam, 1980). Significant improvement in tuber quality and storability can be achieved by increasing the calcium content of tubers (Kleinhenz, et al., 1999).

Material and methods

Potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Saturna tubers were planted in 2000 on an industrial farm with the following fertilizer rates:

Control : Basic rate fertilisation: 90 kg N/ha – 80 kg P₂O₅ /ha – 120 kg K₂O/ha

A : Basic rate + 80 kg P₂O₅ /ha

B : Basic rate + 75 kg MgO/ha + 500 kg CaO/ha

C : Basic rate + 80 kg P₂O₅ /ha + 75 kg MgO/ha + 500 kg CaO/ha

During 32 weeks of storage at 8°C and relative humidity (RH) 92% the tubers quality was evaluated by analysing the starch, protein and P, Mg, Ca and K content of peeled tubers.

Results and Discussion

Before storage, there were significant differences between the starch content of tubers (wet basis) treated with four different rates of fertilizer, but not when they were evaluated on dry basis.

It was expected that addition of phosphorus, magnesium and calcium could increase tubers starch and protein content, however, the finding indicated that addition of phosphorus, magnesium and calcium have no effect on starch and protein content of tubers.

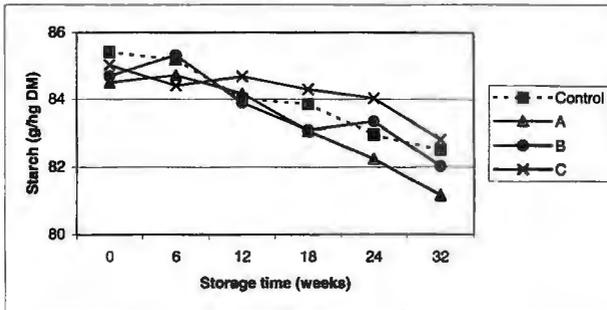


Fig. 1 Starch content of potato tubers

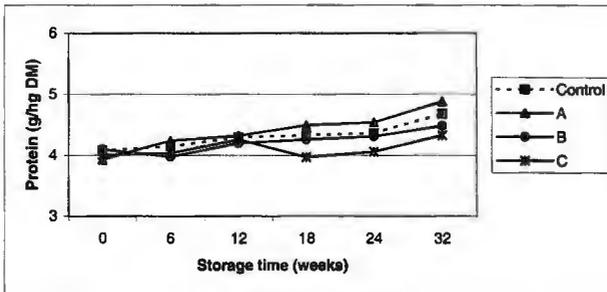


Fig. 2 Protein content of potato tubers

Depend on mineral content of fertilizer, the supplements effect phosphorus, magnesium, and potassium content of potato, but no effect on calcium.

Addition of phosphorus up to 80 kg /ha (A) has a significant effect on phosphorus content of tuber, and also when the same amount of phosphorus was added together with 75 kg MgO/ha + 500 kg CaO/ha (C). On the other hand, addition of calcium and magnesium (B) decreased the phosphorus content significantly. Magnesium and potassium content of tubers were increased when tubers received Mg and Ca with or without phosphorus (B and C). It is now interesting to speculate why no effect of Ca-Mg together with phosphorus on starch and protein content, since those minerals which play important role on starch and protein synthesis were increased through addition of calcium, magnesium and phosphorus.

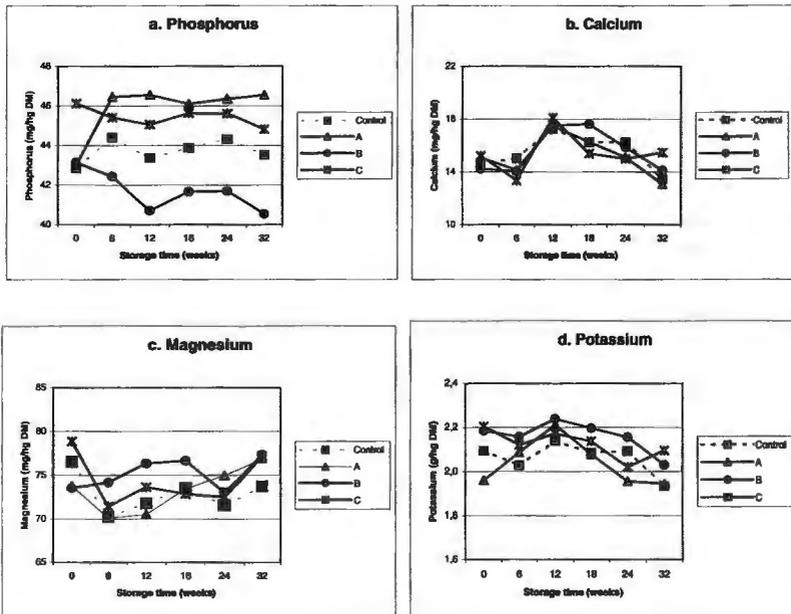


Fig. 3 Mineral content of potato tubers

During storage, tubers quality was changed significantly. After 24 weeks of storage starch decreased remarkable, followed by increasing of protein content (Fig. 1 and 2). Changes of starch, protein and mineral content indicated that the mobilisation and delocalisation of the nutrient were occurred, and in this stage tubers used up more starch than protein. The influence of storage on the mineral content was varied (Fig. 3)

Tubers which received phosphorus together with calcium and magnesium (C) showed a significant higher starch content during storage, which indicated a lower rate of starch

decomposition. Whether high content of phosphorus and/or magnesium in tubers could lead to a slower decomposition of starch is still need to be cleared.

Summary

Addition of up to 80 kg P₂O₅ /ha (A) had no effect on starch, calcium, potassium and magnesium content of tubers, however it was significant on phosphorus and protein content. Supplement of 75 kg MgO/ha + 500 kg CaO/ha (B) has no effect on starch, protein and mineral content of tubers, except magnesium and potassium content.

When phosphorus was added together with calcium and magnesium (C), tubers had higher phosphorus, magnesium and potassium content, but no significant increase of starch content. During storage, however, tubers which received phosphorus together with calcium and magnesium showed a slower decrease of starch. The results indicate relationship between Ca, Mg and phosphorus uptake. Further work is now required to study more about the effect of combinations of phosphorus, calcium and magnesium supplement and its effect on the quality of potato tubers.

Reference:

- Adam, F. 1980, Interaction of phosphorus with other element in soils and plants, in Khasawneh, F. E. et al., The role of phosphorus in Agriculture, American Society of Agronomy, Inc.
- Kleinhenz, M.D., J.P. Palta and C.C. Gunter 1999, Impact of source and timing of calcium and nitrogen application on 'Atlantic' potato tuber calcium concentrations and internal quality. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 124 (5):498-506.
- Marschner, H. 1999, Mineral nutrition in higher plants. 2 nd. ed. Academic Press, London.
- Pawelzik, E. 2000, Calcium in der Kartoffel: Funktionen und Einfluss auf die Qualität. Kartoffelbau 51 (7) : 306-309
- Schuhmann, P. 1999, Die Erzeugung von Kartoffeln zur industriellen Verarbeitung, Buchedition Agrimedia GmbH, Bergen/Dumme

Acknowledgements: Gratefully acknowledge the Ökumenisches Studienwerk and Bestfoods Deutschland GmbH & Co. OHG for financial support.



Bedeutung der Sorte und der Anbauweise für die Glykoalkaloide und Nitratakkumulation in Kartoffeln und in Kartoffelprodukten.

J. Prugar¹, J. Zrůst²

¹Forschungsinstitut für Pflanzenproduktion, Prag

²Forschungsinstitut für Kartoffeln, Havlíčkův Brod
Tschechische Republik

*The effect of variety and potato growing way on glycoalkaloids and nitrate content in
potatoes and potato products.*

Abstract:

In a field trial there were grown all home registered potato varieties listed in the National Book of Varieties of the Czech Republic (31 Czech, 3 Slovakian ones). α -chaconine and α -solanine content in tubers of those varieties was measured using HPLC. Results give a survey of content of total glycoalkaloids and their two major glycoalkaloids in potato tubers in groups of varieties differing in duration of vegetation period. SGA_s were determined in raw unpeeled tubers, in cooked unpeeled tubers and cooked peeled tubers, French fries and chips. Percentual decrease of SGA_s content was calculated against raw unpeeled tubers. The potatoes grown ecologically provided tubers with the significantly lower content of nitrates than tubers grown conventionally.

*Doz. Dr. habil. Jaroslav Prugar, Forschungsinstitut für Pflanzenproduktion, Drnovská 507,
161 06 Prag 6, Tschechische Republik*

Einleitung

Der Kartoffelanbau in ökologischen landwirtschaftlichen Systemen stellt an die Landwirte beträchtliche Anforderungen. Wenn sie auch ohne synthetische Pflanzenschutzmittel sowie industrielle Düngemittel gute Erträge mit befriedigender Qualität erzielen wollen, müssen sie dafür alle bewilligten Maßnahmen nutzen, um für die Kartoffelpflanzen günstige Bedingungen für eine gute Entwicklung während der ganzen Vegetation zu versichern. Das betrifft die richtige Wahl der Sorte und der Vorfrucht, die Optimierung der organischen Düngung usw.

Auch bei der besten Pflege der Bestände bleiben im Durchschnitt die Erträge der ökologisch angebauten Kartoffeln im Vergleich mit den konventionellen etwas zurück. Die Hauptursache wird vor allem den Problemen mit ungenügendem Schutz gegen Unkräuter, Krankheiten und Schädlinge zugeschrieben.

Die richtige Sortenwahl ist beim ökologischen Kartoffelanbau sehr wichtig. Bevorzugt werden resistente Sorten, die nicht besonders anspruchsvoll hinsichtlich der Nährstoffe im

Verlauf der Vegetation sind, dabei auch entsprechende sensorische Eigenschaften aufweisen und sich gut lagern lassen. Was die Ansprüche an die Nährstoffe betrifft, so zeigt sich, daß die Sorten mit mittleren bis niedrigeren Ansprüchen in der Regel bessere Erträge auf ärmeren Böden erzielen, was völlig den Bedingungen des ökologischen Systems entspricht.

Die Qualität ist natürlich die wichtigste Eigenschaft, die letzten Endes auch über die Verkäuflichkeit der Kartoffeln entscheidet. Es hätte keinen Sinn, in der ökologischen Landwirtschaft Sorten anzubauen, die zwar alle übrigen positiven Eigenschaften aufweisen, aber eine unbefriedigende Qualität und demzufolge schlechte Aussichten für den Absatz haben. Auch wird eine gute Lagerfähigkeit der Bio-Kartoffeln verlangt und erwartet. Den bisherigen praktischen Erfahrungen zufolge eignen sich für den ökologischen Anbau eher Früh- und Halbfrühkartoffelsorten als spätere Sorten.

Im Einklang mit dem Aufschwung der ökologischen Landwirtschaft in der Tschechischen Republik in den letzten Jahren wird der Qualität von Bio-Kartoffeln endlich die verdiente Aufmerksamkeit gewidmet. Seit 1994 wurden zu diesem Zweck Feldversuche durchgeführt, wo die gleichen Sorten „ökologisch“ und „konventionell“ nebeneinander unter sonst gleichen Bedingungen angebaut werden. Die geernteten Knollen wurden anhand verschiedener qualitativer Eigenschaften bewertet. Unsere Erkenntnisse veröffentlichten wir teilweise aus Anlaß der DGQ - Vortragstagungen in den vergangenen Jahren. In dieser Mitteilung präsentieren wir unsere mehrjährigen Ergebnisse bei der Bestimmung von steroiden Glykoalkaloiden (SGA_s) und Nitraten.

Ergebnisse und Diskussion

Die SGA_s sind in der Kartoffelpflanze sowie in der Knolle unregelmäßig verteilt. In beträchtlichem Maße kommen sie in den Zonen mit einer höheren Stoffwechsel-Aktivität vor, d. h. in den überirdischen Partien in Blüten und Beeren, in den Knollen in den Keimen, rund um die Augen und in der peripheren Schicht unter der Schale.

SGA_s sind thermostabil, frostbeständig, sie widerstehen dem Trocknen, Kochen, Dünsten, Backen und der Erhitzung in der Mikrowelle. Ihre Degradation erscheint erst bei Temperaturen von 230 – 280 °C. Daraus kann man schließen, daß es bei der kulinarischen oder industriellen Verarbeitung der Kartoffeln kaum zu einer erheblichen Beeinflussung des SGA_s-Gehaltes kommt. Die Veränderungen, die doch manchmal verzeichnet werden, können ihre Ursache z. B. in einer induzierten Synthese nach der mechanischen Be- oder Verarbeitung (Schälen, Schneiden, Reiben usw.) vor der anschließenden thermischen Verarbeitung haben. Höher kann der SGA_s-Gehalt auch in Produkten mit niedrigerem Wassergehalt sein. Während der Trocknung kommt es zu einer bis zu fünffachen Erhöhung der Konzentration. Beim Kochen geht ein Teil der Glykoalkaloide in das Kochbad über. Auch bei der Vorbereitung von Snacks wie Pommes frites, Chips usw. laugt sich beim Waschen etwas in das Spülwasser aus.

Über den Nitratgehalt in ökologisch angebauten Kartoffeln wurde seit Anfang 70. Jahren eine ganze Menge von Analysen auf wissenschaftlicher sowie praktischer Ebene durchgeführt. Nur ausnahmsweise wurden keine Unterschiede zwischen ökologischen und konventionellen Varianten gefunden. In einer überzeugenden Mehrheit von Fällen liegen die Nitratgehalte signifikant niedriger bei Bio-Kartoffeln. In unseren mehrjährigen Feldversuchen betrug die Differenz der Durchschnittswerte höher als 80 mg NO₃⁻ · kg⁻¹ F.S. (150,4 ökologisch und 233,1 konventionell). Andere Autoren kamen zu noch größeren Unterschieden.

Bei Untersuchungen mit verschieden breiten Sortenkollektionen zeigte sich, daß die Sorte dabei eine wichtige Rolle spielt. Maßgebend ist aber der Stickstoffgehalt im Boden in der für

die Pflanzen nutzbaren Form. Außer der Düngung können sich dabei auch die meteorologischen Bedingungen stark niederschlagen.

Tab. 1. Sorteneinflüsse auf den Nitrat- und SGA_s- Gehalt in ökologisch und konventionell angebauten Kartoffeln in mehrjährigen Feldversuchen (nach : Diviš, Vodička 1999).

Sorte	Anbauart	Krasa	Koruna	Krystala	Monalisa	Karin
Nitratgehalt	ökologisch	134	125	217	70	152
mg.kg ⁻¹	konventionell	271	272	295	165	159
SGA _s – Geh.	ökologisch	103	62	87	51	141
mg.kg ⁻¹	konventionell	50	119	63	43	128
Knollenertag	ökologisch	35,8	31,1	33,0	31,0	34,1
t.ha ⁻¹	konventionell	63,1	48,2	51,9	40,3	50,7

Tab. 2: Sorteneinflüsse auf den SGA_s – Gehalt (mg. kg⁻¹ F.S.) in rohen Kartoffelknollen und Kartoffelprodukten in mehrjährigen Feldversuchen

Gruppe der Sorten:	Sehr früh 5 Sorten	Früh 11 Sorten	Halbfrüh 8 Sorten	Halbspät bis spät 10 Sorten
Rohe Knollen mit Schale	90,2	75,5	84,0	123,3
Gekocht mit Schale	70,5	57,4	67,4	84,7
Gekocht ohne Schale	49,3	31,8	37,8	50,7
Pommes frites	61,8	38,7	51,9	53,4
Chips	23,8	16,5	23,6	24,5

Während der 5-jährigen Feldversuche wurden mehrere Kartoffelsorten ökologisch und konventionell angebaut und in den Knollen außer anderen Qualitätsfaktoren die steroiden Glykoalkaloide (SGA_s) und Nitrate bestimmt.

Aus mehrjährigen Ergebnissen lässt sich entnehmen, daß ökologische Varianten Kartoffelknollen mit signifikant niedrigerem Nitratgehalt bieten. So stimmte es bei 88% der vergleichbaren Ergebnisse. Nur in 10% Fällen zeigten sich besser (niedrigere Gehalte NO₃) die konventionell angebauten Kartoffeln und bei 2% waren die Unterschiede nur sehr gering. Was den SGA_s- Gehalt betrifft, wurden höhere Werte in 59% Fällen bei konventionell und in 37% bei ökologisch angebauten Kartoffeln bestimmt, während bei 4% die Unterschiede nur gering waren.

In anderen 3-jährigen Feldversuchen wurden 34, die z.Z. in der Tschechischen Republik registrierten Kartoffelsorten (davon 5 sehr frühe, 11 frühe, 8 halbfrühe und 10 halbspäte bis späte), angebaut. Die steroiden Glykoalkaloide (α – Chaconin und α - Solanin) wurden mit Hilfe der HPLC Methode in rohen und gekochten (ungeschälten und geschälten) Knollen, sowie in den Pommes frites und Chips bestimmt.

Durch Kochen ungeschälter Knollen verminderte sich der Gehalt an Glykoalkaloiden im Durchschnitt aller Sorten um 24,8% im Vergleich zu den rohen ungeschälten Kartoffeln. Zur Herabsetzung um 31,3% kam es in der Gruppe der Sorten mit der längsten Vegetationsdauer, die auch den größten Gehalt an SGA_n, in den rohen Knollen auswiesen.

Dem entsprechend, verminderte sich der Gehalt von SGA_n, der gekochten, geschälten Knollen durchschnittlich um 55,7%, wieder am meisten in der Gruppe der halbspäten und späten Sorten (um 58,9%).

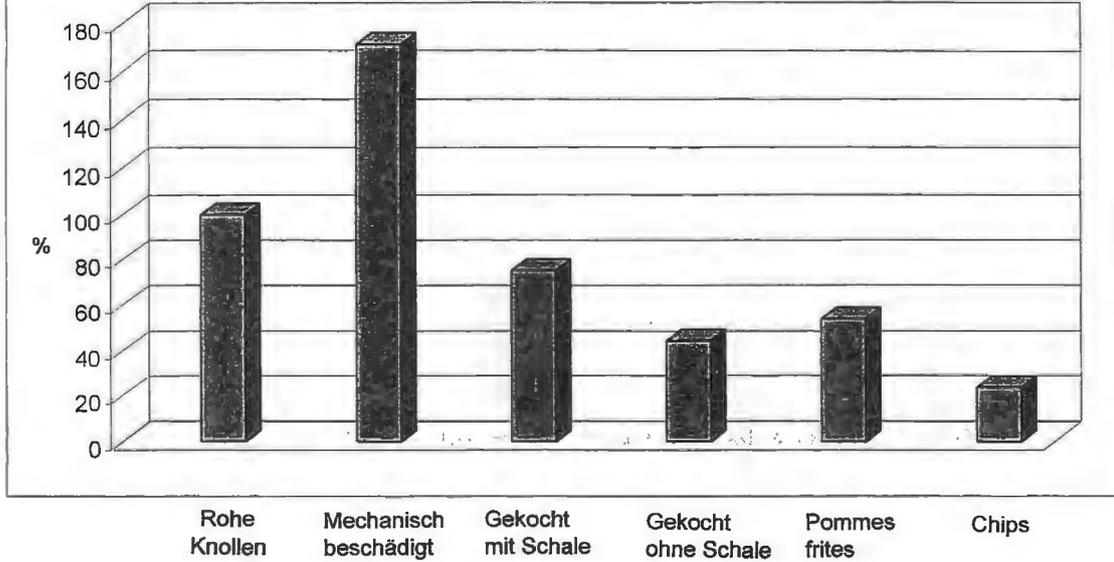
Auch in den Kartoffelprodukten verminderten sich während der Bearbeitung die Gehalte von Glykoalkaloiden im Vergleich mit den Werten der ungeschälten rohen Knollen, und zwar um 46,1% bei den Pommes frites und um 76,6% bei Chips.

Die Untersuchungen haben u.a. bestätigt, daß die Sorte für die Akkumulation von Glykoalkaloiden sowie von den Nitraten, eine wichtige Rolle spielt. Das sollte bei der Züchtung in Betracht genommen werden.

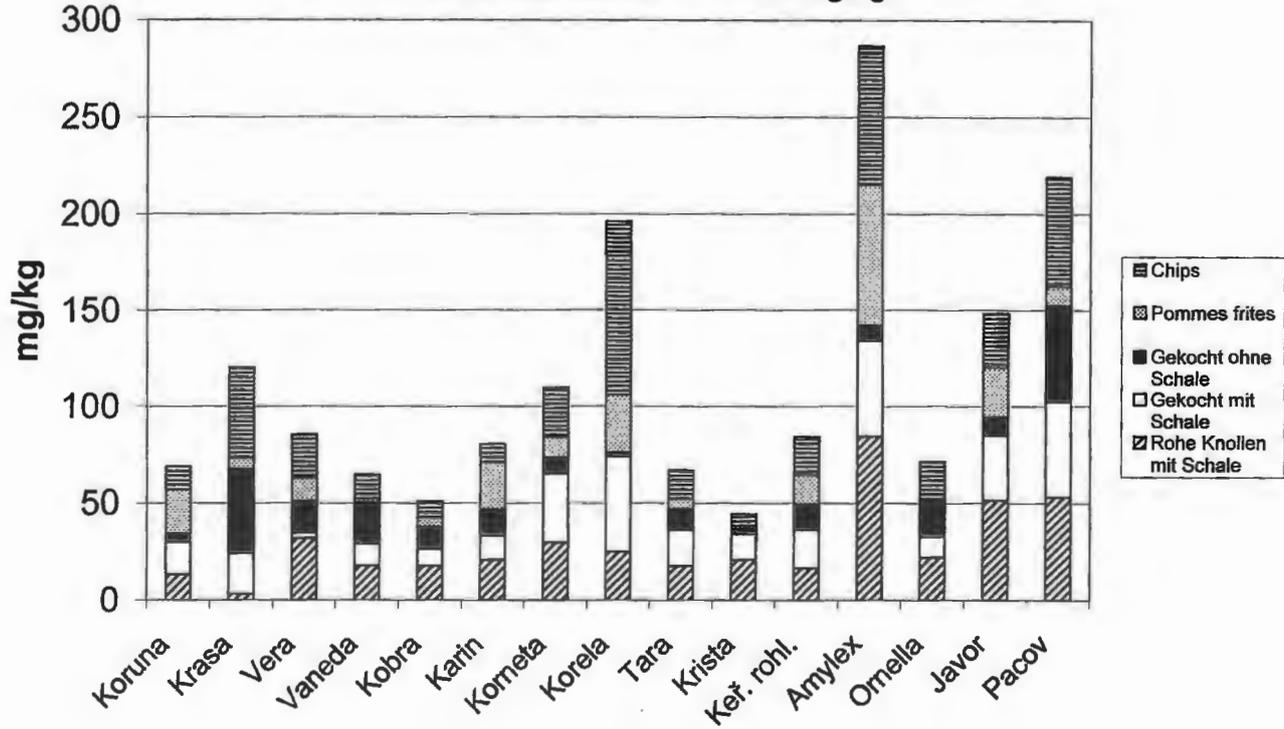
Literatur:

1. Diviš J., Vodička J.: Je rozdíl v kvalitě hlíz z konvenčního a ekologického pěstování brambor? *Bramborářství* 7,1999,1,S. 3-5
2. Prugar J.: Quality of plant products of traditional and ecological agriculture. (Review, *ÚZPI Praha*,4, 1994,48 S.
3. Prugar J.:Kvalitativní charakteristiky brambor z ekologického a konvenčního systému pěstování. *Bramborářství* 8, 2000,1,S. 8-10.
4. Prugar J.: Quality of plant products from conventional and ecological agriculture. (Review),*ÚZPI Praha*, 4, 1999, 80 S.
5. Prugar J., Štorková J., Petr J.: Vergleich der Qualität von ökologisch und konventionell angebauten Kartoffeln der Ernte 1995. DGQ (Pflanzliche Nahrungsmittel) 31. Vortragstagung, Kiel, 1996,S. 207-210.
6. Prugar J., Štorková J., Petr J.: Konventionell und ökologisch erzeugte Kartoffeln im Vergleich. DGQ (Pflanzliche Nahrungsmittel) 32. Vortragstagung, Wädenswil, 1997,S. 341-344.
7. Prugar J., Štorková J., Petr J., Skala,J.: Ernährungsphysiologischer Wert von ökologisch angebauten Kartoffeln. DGQ (Pflanzliche Nahrungsmittel) 30. Vortragstagung, Heilbron, 1995,S. 306-310.
8. Prugar J., Turnerová J., Zrůst J., Přichystalová V.: Ernährungsphysiologische Qualität von ökologisch und konventionell angebauten Kartoffeln – Ernte 1997. DGQ (Pflanzliche Nahrungsmittel) 34. Vortragstagung, Freising-Weihenstephan 1999,S. 341-343.
9. Prugar J., Turnerová J., Zrůst J., Přichystalová V.: Porovnání jakosti brambor z ekologického a konvenčního pěstování. *Bramborářství* 7,1999,č.1,S. 5-8.
10. Štorková-Turnerová J., Prugar J.: Ernährungsphysiologische Qualität von ökologisch und konventionell angebauten Kartoffelsorten in den Erntejahren 1994-1996. DGQ (Pflanzliche Nahrungsmittel) 33 Vortragstagung, Dresden 1998,S.209-215.
11. Zrůst J.: Obsah glykoalkaloidů v hlízách bramboru (*Solanum tuberosum* L.) ovlivněný pěstitelskými opatřeními a mechanickým poškozením. *Rostl.Výr.*43,1997,11,S.509-515.
12. Zrůst J., Horáčková V., Přichystalová V. Rejlková M.: Content of alpha-chaconine and alpha-solanine in groups of potato varieties listed in the National Book of Varieties of the Czech Republic. *Rostl. Výr.* 46,2000,11,S.481-486.

**Bild 1. Vergleich des SGA-Gehaltes in rohen und verarbeiteten Kartoffeln.
Dreijährige durchschnittliche Werte von 34 Sorten in %.**



SGA-Gehalt in Kartoffelprodukten aus verschiedenen Sorten. Dreijährige durchschnittliche Werte in mg/kg.





Qualitätsentwicklungen in der Rapszüchtung

Christian Möllers

Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Georg-August Universität Göttingen

Developments in quality breeding of oilseed rape

Oilseed rape (Brassica napus L.) is one of the most productive oil crops of the temperate regions. During the last ten years considerable progress has been achieved in breeding for different seed quality traits. Gene technology and mutation breeding has been successfully applied to modify the fatty acid composition of the seed oil; e.g. breeding lines and cultivars low in linolenic acid (< 3% C18:3) or high in oleic acid (>84% C18:1) in the seed oil have been developed. Within the German NAPUS 2000 project future activities are focussed on the expression of genes for the production of long chain polyunsaturated ω 3-fatty acids (LC-PUFAs EPA and DHA), on the increase of the tocopherol content (Vitamin E) and on the improvement of the meal quality (yellow seededness, low Sinapine) to allow use of the oilseed rape protein for food applications.

Christian Möllers, Von-Siebold-Str. 8, 37075 Göttingen, Germany. cmoele2@gwdg.de

Einleitung

Unter den weltweit wichtigsten Ölsaaten nimmt die Rapssaat mit einer Gesamtjahresproduktion von 35,7 Mio t (2000/2001) hinter der Sojabohne und der Ölpalme den dritten Platz ein (FAO 2001). Bei einer weltweiten Anbaufläche von 24 Mio Hektar findet flächenmässig der grösste Anbau in China (ca. 8 Mio ha), Kanada (ca. 4 Mio ha) und Europa (EU 15, ca. 3 Mio ha) statt. In Deutschland beläuft sich nach einer UFOP-Studie (2001) der Winterrapsanbau zur Ernte 2002 auf knapp 1,3 Millionen Hektar. Gegenüber der Erntefläche 2001 ergibt sich damit eine Erhöhung um 13%. Die Ursachen für die größte bisher ermittelte Winterrapsaussaatzfläche in Deutschland wird in einem erhöhten Rapsölbedarf auf Seiten der Ernährungsindustrie und des Ernährungshandwerks sowie den Verarbeitern im 'Non-Food'-Bereich – speziell der Biodieselindustrie – bei gleichzeitig verringertem Rapsaatsangebot auf dem Weltmarkt in der Saison 2000/2001 gesehen. Der Winterrapsanbau für den 'Food'-Bereich ist im gesamten Bundesgebiet um 16% auf rund 927.000 Hektar ausgeweitet worden. Für den 'Non-Food'-Bereich wurde die Anbaufläche um 6% auf rund 336.000 Hektar zur Aussaat 2001 ausgedehnt. Damit ist der Winterraps nach Winterweizen und Wintergerste die in Deutschland flächenmässig bedeutendste Fruchtart geworden.

In Deutschland angebaute Rapsorten enthalten zwischen 45 und 50% Öl und etwa 18-22% Protein. Der weitaus überwiegende Teil der verwendeten Rapsorten entspricht der Doppel-Null-Qualität ('00'), d.h. das Öl enthält weniger als 2% Erucasäure und die Samen weniger als

$<25\mu\text{mol/g}$ Glucosinolate. Das durch die Extraktion gewonnene Öl wird nicht nur als Speiseöl konsumiert, sondern wird auch bei der Herstellung verschiedenster Nahrungsmittel vielfältig eingesetzt. Ein erheblicher Anteil des Rapsöls dient der Herstellung von Margarine. Nach der Ölextraktion verbleibt als Koppelprodukt das Rapsextraktionsschrot (RES), welches etwa 40% Protein enthält. Dieses erfährt eine zunehmende Nachfrage durch die Futtermittelindustrie. Darüber hinaus wird auf etwa 2% der gesamten Rapsanbaufläche erucasäurehaltiger Raps angebaut, der als nachwachsender Rohstoff in der oleochemischen Industrie Verwendung findet.

Bei der Züchtung von neuen Rapsorten sind neben einem hohen Kornertag und weiteren agronomisch günstigen Eigenschaften wie Krankheitsresistenz und Standfestigkeit, der Ölgehalt von größerer Bedeutung. Ein über 40% liegender Ölgehalt wird bei der Abrechnung durch die Ölmühlen mit einem Preiszuschlag honoriert (Leingang 2001). Die Glucosinolate, die früher eine Verwertung des Rapsschrots in der Tierernährung verhinderten, wurden mit Einführung der '00'-Sorten weitgehend reduziert. Durch zusätzlichen züchterischen Aufwand könnten die Glucosinolatgehalte im Rapsschrot im Prinzip auf nahezu Null reduziert werden. Darüber hinaus gibt es im Rapssamen aber eine Reihe weiterer unterschiedlich zu beurteilender Inhaltsstoffe, die mit züchterischen Methoden bearbeitet werden können. Die Gentechnik bietet die Möglichkeit, neue Qualitätsmerkmale in den Raps einzuführen. Daher wird, je nach Entwicklung des internationalen Wettbewerbs und der politischen Rahmenrichtlinien, auch in Zukunft die Qualitätsentwicklung in der Rapszüchtung vorangetrieben. Zusätzlich können von dem steigenden Verbraucherbewusstsein um die gesundheitsfördernde Wirkung bestimmter Lebensmittelinhaltsstoffe wichtige Impulse für die Berücksichtigung neuer Merkmale in der Qualitätszüchtung ausgehen. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die gegenwärtig und in absehbarer Zeit zur Verfügung stehenden Qualitätseigenschaften beim Raps. Unter den transgenen Sorten haben bisher allerdings nur solche mit einem erhöhten Gehalt an Laurinsäure im Anbau in den USA eine begrenzte Bedeutung erhalten (Sovero 1996). In 1998-2000 wurden davon etwa 70.000 Hektar jährlich angebaut.

Tab. 1: Qualitätseigenschaften von Rapsorten für spezifische Verwendungszwecke (nach Carruthers 1995, verändert)

Zeitraumen	Nicht-transgene Sorten	Transgene Sorten
Heute bereits vorhanden	Erucasäurefrei Hoch-Erucasäure Niedrig α -Linolensäure	Hoch-Laurinsäure (38-44%) Hoch-Stearinsäure (20-23%) Hoch γ -Linolensäure (20-30%) Hoch-Myristinsäure (20-40%) Hoch-Karotin Hoch Linolen (58%)
In 5 bis 15 Jahren möglich	Hoch-Ölsäure (>80%) Hoch-Palmitinsäure (10-20%) Niedrig gesättigte Fettsr. (<6%) Hoch-Tocopherol Niedrig-Sinapin	Sehr hoch Ölsäure (>90%) Sehr hoch Erucasäure (>70%) 'Zero' gesättigte Fettsr. (<3,5%) Extrem Hoch-Tocopherol Extrem Niedrig Sinapin Petroselin-, Epoxyfettsäuren Arachidon, Eicosapentaen-, Docosahexaensäure

Züchtung auf Ölqualität

Aus den natürlicherweise vorkommenden erucasäure- und glucosinolatreichen Rapsformen sind durch spontane Mutation und züchterische Selektion die heute im Anbau weltweit dominierenden erucasäurefreien und glucosinolatarmen '00'-Rapssorten hervorgegangen, die auch unter dem in Kanada geprägten Qualitätsbegriff 'Canola' bekannt geworden sind. Das Öl dieser Rapsformen zeichnet sich durch einen hohen Gehalt an der einfach ungesättigten Ölsäure und an den mehrfach ungesättigten essentiellen Fettsäuren Linol- und Linolensäure aus (Tab. 2). Dabei weist das Rapsöl mit etwa 7% im Vergleich zu anderen Öltrüchten den geringsten Gehalt an gesättigten Fettsäuren auf, was es insgesamt zu einem ernährungsphysiologisch ausgezeichneten Speiseöl macht (Trautwein 1997). Gegenüber diesen Vorzügen des Rapsöls hat sich der vergleichsweise hohe Anteil mehrfach ungesättigter Fettsäuren als nachteilig für viele Back- und Fritier- und sonstige industrielle Anwendungen im 'Non-Food'-Bereich erwiesen, da Öle mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren nur eine geringe oxidative Stabilität aufweisen.

Rapsöl mit Variation im C18-Fettsäuremuster

Durch Mutationsauslösung und die Anwendung gentechnologischer Methoden ist es in den letzten Jahren gelungen, erhebliche Veränderungen in dem Fettsäuremuster des erucasäurearmen Rapsöls zu erzeugen. Zunächst gelang es basierend auf im Institut für Pflanzenbau und -züchtung der Universität Göttingen in den 70iger Jahren (siehe Rücker und Röbbelen 1996) erzeugten Mutanten, linolensäurearme Rapsformen (LL - low linolenic) zu entwickeln. Obwohl ausgehend von diesem Material LL-Rapssorten in Europa zugelassen wurden, hat ein kommerzieller Anbau bisher nicht stattgefunden. Auch in Canada spielen LL-Sorten im Anbau nur eine untergeordnete Bedeutung.

Tab. 2: Verschiedene Ölqualitäten bei Raps (Fettsäuren in %)

Ölqualität	Palmitinsäure	Ölsäure	Linolsäure	Linolensäure	Erucasäure
	C16:0	C18:1	C18:2	C18:3	C22:1
'00' bzw. Canola	4	60	20	10	<2
Hoch-Erucasäure (HEAR)	3	15	13	9	58*
Niedrig-Linolensäure (LL)	4	60	30	2	<2
Hoch-Ölsäure (HOAR)	3	84	5	4	<2
Hoch-Ölsäure/niedrig-Linolensäure (HOLL)	3	84	7	2	<2

* inklusive 8% Eicosensäure (C20:1)

Weiterhin ist es gelungen, durch gentechnische Eingriffe (siehe Stoutjesdijk et al. 1999) und durch Mutationsauslösung (Auld et al. 1992) sowie durch weitere züchterische Selektion, Rapsformen mit einem um mehr als 20% erhöhten Ölsäuregehalt zu erzeugen. Derzeit stehen Rapsformen mit einem nach Feldanbau ermittelten Ölsäuregehalt von mehr als 84% zur Verfügung (Velasco et al. 1998). Durch Kreuzung von 'High oleic' (HO)-Raps mit LL-Raps ist es darüber hinaus gelungen, im HO-Raps den Linolensäuregehalt weiter zu senken (Schierholt und Becker, unveröffentlicht). Ein wie in Tab. 2 dargestelltes HO-Rapsöl hat sowohl im 'Food'- als auch im 'Non-Food'-Bereich verschiedenste Anwendungsmöglichkeiten (Abb. 1, Narocon 2001). Trotz dieser vielfältigen Möglichkeiten werden derzeit etwa 80% der erzeugten HO-Pflanzenöle im Bereich Lebensmittel eingesetzt, meist als Salat- und Fritieröle,

z.T. als Spezialitäten. Neben dem konventionell gezüchteten und bereits verfügbaren HO-Sonnenblumenöl mit mehr als 80% und mehr als 90% Ölsäure (90plus®, Dr. Frische GmbH) steht damit auch nicht transgenes Ausgangsmaterial für die Züchtung von HO-Rapssorten zur Verfügung.

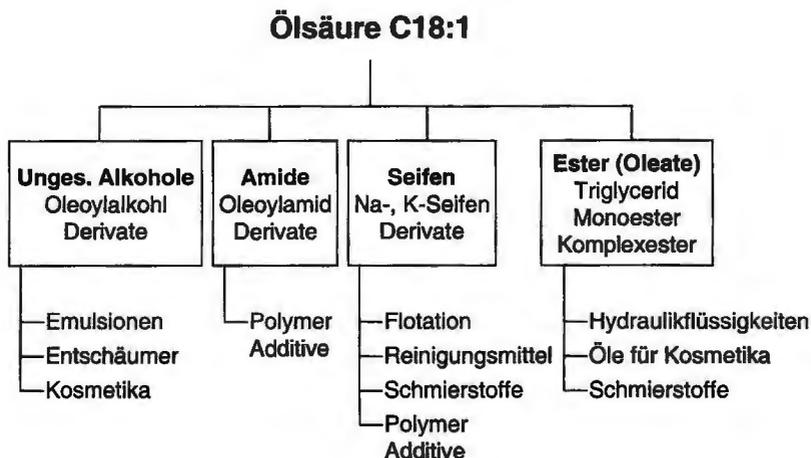


Abb. 1: Anwendungsmöglichkeiten von 'High oleic'-Pflanzenölen
(Quelle Westfechtel/Cognis, aus Narocon 2001)

Rapsöl mit einem hohen Gehalt an Erucasäure

Neben dem dominierenden Anbau von '00'-Raps wird in Europa und in den USA auf einer begrenzten Fläche auch erucasäurehaltiger Raps (HEAR - high erucic acid rapeseed) für die Verwendung als nachwachsender Rohstoff in der oleochemischen Industrie angebaut (Piazza and Foglia 2001). Die Anbaufläche von Erucasäure-Raps beträgt 2001/02 in Europa ca. 55.000 Hektar (persönl. Mittlg. Herr Reisewitz, Raiffeisen Hauptgenossenschaft Nord AG, Hannover), wovon auf Deutschland etwa 27.000 Hektar entfallen. Daneben findet in Europa nur in England (ca. 18.000 Hektar) und in Frankreich (ca. 10.000 Hektar) ein Anbau in nennenswertem Umfang statt. Der Anbau findet auf vertraglicher Basis mit industriellen Abnehmern (Cognis, Uniqema und Akzo), in der Regel in regional geschlossenen Gebieten statt. Die in Deutschland in den Handel gelangende Ware enthält zwischen 46 und 49% Erucasäure. Neben den in der Einleitung genannten allgemeinen Zuchtzielen gelten für den erucasäurehaltigen Raps als wichtiges Zuchtziel die Erhöhung des Erucasäuregehaltes. Weiteres Zuchtziel ist es, den Gehalt an Eicosensäure (C20:1) zu verringern, da diese im Gegensatz zu den anderen Fettsäuren bei der Aufreinigung durch Destillation nur schlecht von der Erucasäure zu trennen ist. Konventionell züchterische Bemühungen den Erucasäuregehalt im Raps zu steigern, führten bisher nicht zu verwertbaren Erfolgen. Beim Raps wird die Erucasäure und die Eicosensäure nur in die 1. und die 3. Position der Triglyceride des Samens verestert. Lange Zeit wurde angenommen, dass dies der Grund für die limitierte Synthese dieser sehr langkettigen, einfach ungesättigten Fettsäuren ist. Im Rahmen gentechnischer Ansätze wurde durch Transformation von Raps mit einem Acyltransferase (LPAAT)-Gen aus *Limnanthes douglasii* zwar die Bildung eines dreifach mit

Erucasäure veresterten Triglycerids ermöglicht, allerdings führte dies nicht zu der erhofften Erhöhung des Erucasäuregehaltes im Samenöl. Auch die Klonierung und Überexpression des für die Kettenverlängerung von der Ölsäure zur Erucasäure verantwortlichen KCS-Gens im Raps erbrachte keine signifikante Steigerung im Erucasäuregehalt (siehe Han et al. 2001). Weitere Bemühungen zur Aufklärung der die Erucasäuresynthese im Raps begrenzenden Faktoren sind daher notwendig.

Aus Erucasäure lassen sich durch einfache chemische Transformationen eine Reihe von interessanten Verbindungen herstellen (Piazza und Foglia 2001). Anwendungsgebiete für Erucasäure und die daraus hergestellte Behensäure (C22:0) liegen im Bereich Plastik-Additive, Detergenzien, Kosmetika, und Textilien. Weitere Verwendungsmöglichkeiten mit beträchtlichem Wachstumspotential liegen im Bereich der Schmier- und der Druckübertragungsöle. Die Anwendungen des HEAR-Öls im Bereich der Schmiermittel entsprechen z.T. denen der HO-Öle (siehe Abb. 1). Begrenzend für den Einsatz des HO- und des HEAR-Rapsöls als Schmiermittel ist sein Gehalt an den mehrfach ungesättigten Fettsäuren Linol- und Linolensäure (Stabilität), der Gehalt an den gesättigten Fettsäuren Palmitinsäure und Stearinsäure (Kälteeigenschaften) sowie ein zu hoher Gehalt an Erucasäure (Zähigkeit). In absehbarer Zukunft kann möglicherweise durch züchterische Kombination von HO-Raps mit HEAR-Raps eine Rapsform erzeugt werden (Combi-Raps, Warwel 1993), die mit über 90% einfach ungesättigten Fettsäuren im Öl eine verbesserte Ausgangsbasis für die Herstellung von Schmier- und Druckübertragungsölen darstellt (Sasongko und Möllers 2002). Darüber hinaus können durch Destillation die wertvollen Komponenten Ölsäure und Erucasäure voneinander getrennt und in vergleichsweise reiner Form erhalten werden.

Rapsöl mit einem geringen Gehalt an gesättigten Fettsäuren

Im Vergleich zu allen anderen pflanzlichen Ölen weist das Rapsöl den geringsten Gehalt an gesättigten Fettsäuren auf. Die gegenwärtige Popularität des kanadischen Canola-Öls auf dem amerikanischen Markt beruht vornehmlich auf seinem geringen Gehalt an gesättigten Fettsäuren. Gesättigte Fettsäuren erhöhen den Cholesterin- und insbesondere den LDL-Cholesteringehalt im Blut, was das Risiko der Erkrankung an 'Coronary Heart Diseases' (CHD) erhöht. In den USA regelt die FDA die Kennzeichnung der Lebensmittelprodukte (Rakow and Raney 2001). Produkte mit einem Gehalt von weniger als 7,1% an gesättigten Fettsäuren entsprechen der 'low saturated fat'-Definition und können entsprechend vermarktet werden. Für die Sortenzulassung in Canada ist der Gehalt an gesättigten Fettsäuren inzwischen ein Kriterium. Im Raps kommen als gesättigte Fettsäuren Myristinsäure (C14:0), Palmitinsäure (C16:0), Stearinsäure (C18:0), Arachinsäure (C20:0), Behensäure (C22:0) und Lignocerinensäure (C24:0) vor. Mit 4-5% machen Palmitinsäure gefolgt von Stearinsäure (1-2%) dabei den größten Anteil aus, der sich insgesamt im Raps um die 7% bewegt. Innerhalb der Art *Brassica napus* scheint es nur wenig Variation im Gehalt an gesättigten Fettsäuren zu geben. Eine Möglichkeit, den Gehalt an gesättigten Fettsäuren unter 7% zu halten, stellt die Einkreuzung von Rübsen (*Brassica rapa* L.) dar. Rübsen hat im Vergleich zu Raps geringere Gehalte an gesättigten Fettsäuren. Experimentelle Rapslinien, die auf Kreuzungen mit Rübsen zurückgehen, zeigten insbesondere reduzierte Palmitin- und Stearinsäuregehalte. Weiterhin scheint es möglich, den Gehalt an gesättigten Fettsäuren durch Selektion auf einen höheren Ölsäuregehalt zu reduzieren (Möllers und Schierholt 2002). Mittelfristiges Ziel des 'Canola Council of Canada' ist die Züchtung von Sorten mit <6% gesättigten Fettsäuren in Kombination mit geringen Gehalten an Linolensäure (<3%). Langfristig wird die Entwicklung von Sorten mit weniger als 3,5% gesättigte Fettsäuren angestrebt, da ein Öl solcher Sorten nach der derzeitigen Definition als 'zero saturated fat' deklariert werden kann.

Neue Entwicklungen – NAPUS 2000

Seit Ende 1999 fördert das BMBF im Rahmen der Leitprojektinitiative 'Gesunde Ernährung' das Forschungsvorhaben 'NAPUS 2000 – Gesunde Ernährung aus transgener Rapssaat'. Übergeordnetes Ziel dieses aus 17 Partnern bestehenden Verbundprojektes ist die Nutzung natürlich vorhandener Variabilität für Qualitätsmerkmale in Verbindung mit Gentechnik zur Erzeugung neuer, verbesserter Rapsorten (Leckband et al. 2002). Das Vorhaben zielt auf die Entwicklung neuer Rapsformen ab, die eine umfassende Nutzung der gesamten Rapssaat für die menschliche Ernährung erlauben. Insbesondere das bisher nur in der Tierernährung verwendete Rapsschrot soll qualitativ verbessert werden, damit das an sich hochwertige Rapsprotein für die menschliche Ernährung genutzt werden kann. Nachdem durch züchterische Bemühungen die Glucosinolate weitgehend aus dem Schrot entfernt wurden, verbleiben im Rapsschrot im Unterschied zu dem in Konkurrenz stehenden Sojabohnenschrot noch eine Reihe von unerwünschten Inhaltsstoffen (Abb. 3). Diese führen zu optischen (Verfärbung), sensorischen und technologischen Mängeln in den Verarbeitungsprodukten, so dass derzeit ein Einsatz des Rapsproteins in der Lebensmittelherstellung nicht möglich ist.

Unter den als unerwünscht geltenden Phenolsäuren nehmen die Ester der Sinapinsäure (Sinapoyl ester) eine besondere Stellung ein. Das Sinapin, der Cholinester der Sinapinsäure, dominiert dabei im Durchschnitt mit etwa 70%. Daneben können unterschiedliche Mengen an Sinapoylglucose sowie weitere bisher noch nicht genau identifizierte Sinapoyl ester nachgewiesen werden (Zum Felde et al. 2002). Diese Verbindungen verursachen einen bitteren, adstringierenden Geschmack und führen während der Verarbeitung zu einer unansehnlichen Braunfärbung der Produkte. Ziel ist es daher den Gehalt an diesen Verbindungen im Rapssamen zu reduzieren. Innerhalb von NAPUS 2000 werden zur Erreichung dieses Zieles Untersuchungen zur natürlichen Variabilität der Sinapoylverbindungen durchgeführt, um durch Selektion und Rekombination auf konventionellem Wege Rapsformen mit einem reduzierten Gehalt an diesen Verbindungen zu erstellen. Die Ergebnisse der bisherigen Arbeiten zeigen, dass es mit 0,4 – 1,8% eine erhebliche Variation für den Sinapoylgehalt im Raps gibt. Parallel zu diesen Arbeiten wird ein transgener RNA-Interferenzansatz verfolgt, um die Sinapoylverbindungen möglichst ganz aus dem Samen zu eliminieren. Dazu wurde am Institut für Pflanzenbiochemie in Halle das für die Synthese von Sinapoylglucose und Sinapin verantwortliche Gen der Sinapinsäure-Glucosyltransferase kloniert (Milkowski et al. 2000) und in Göttingen wurde mit der Herstellung transgener Rapspflanzen begonnen.

Im Unterschied zur Sojabohne weisen die derzeit verfügbaren Rapsorten eine schwarze Samenschale auf, die weitestgehend aus unerwünschten Inhaltsstoffen besteht. Neben Rohfaser und Lignin enthält sie komplex aufgebaute Phenole, die sogenannten Tannine. Geschälte Rapssaat ('dehulled') und inzwischen verfügbare gelbsamige Rapsformen weisen auf Grund der fehlenden bzw. dünneren Schale in der Summe einen vergleichsweise höheren Gehalt an den wertbestimmenden Komponenten Öl und Protein auf (Friedt et al. 2002). Im Rahmen von NAPUS 2000 werden aus geschälter Rapssaat und aus gelbsamigen Rapsformen Proteinisolate und -konzentrate gewonnen und im Hinblick auf ihre Qualität und Einsetzbarkeit in der Lebensmittelherstellung geprüft.

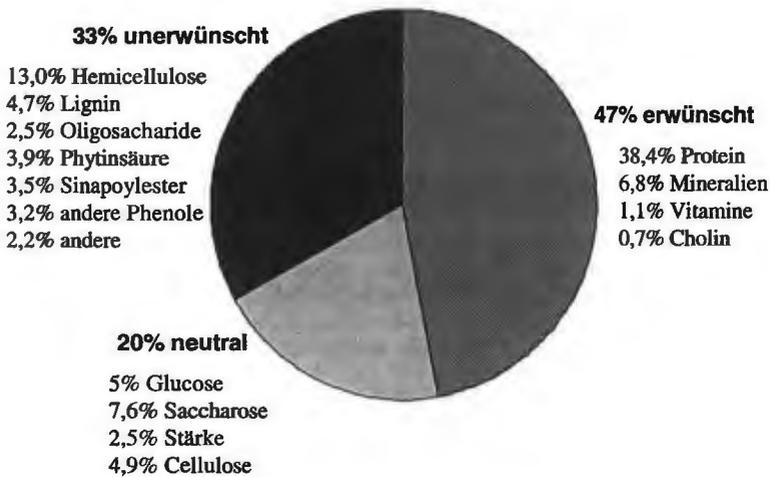


Abb. 1: Chemische Zusammensetzung des Rapsextraktionsschrots moderner Sorten (nach Thies 1994, verändert)

Der positive Einfluss der sehr langkettigen mehrfach ungesättigten ω 3-Fettsäuren Eicosapentaensäure (EPA, C20:5) und Docosahexaensäure (DHA, C22:6) auf die menschliche Gesundheit ist in verschiedenen Untersuchungen wiederholt festgestellt worden (Trautwein 2001). Der menschliche Körper ist zwar in der Lage sowohl EPA als auch DHA aus der im Rapsöl reichlich vorhandenen essentiellen (ω 3-) α -Linolensäure (C18:3) zu synthetisieren. Dieses geschieht allerdings recht ineffizient. In verschiedenen Untersuchungen wurde, nicht zuletzt auch aufgrund veränderter Ernährungsgewohnheiten, eine Unterversorgung der mitteleuropäischen Bevölkerung mit diesen Fettsäuren festgestellt. Natürlicherweise enthalten sind EPA und DHA im Fett von Meerestieren, auch verschiedene Algen und Pilze sind zur Synthese dieser ungewöhnlichen Fettsäuren befähigt. Im Zuge der im Trend liegenden Entwicklung von Lebensmitteln mit gesundheitsfördernden Eigenschaften ('Functional Food') erscheint die Anreicherung von Lebensmitteln mit sehr langkettigen mehrfach ungesättigten ω 3-Fettsäuren erstrebenswert. Eine, die natürlichen Ressourcen schonende Möglichkeit entsprechende Fettsäuren zu produzieren, bietet die Gentechnik. In NAPUS 2000 werden die für die Synthese solcher Fettsäuren notwendigen Gene aus Algen isoliert und im Raps zur Expression gebracht. Die Bildung weniger Prozent dieser Fettsäuren im Rapsöl können bereits dazu beitragen, durch den normalen Verzehr bspw. einer daraus hergestellten Margarine eine ausreichende Versorgung mit diesen Fettsäuren sicherzustellen.

Wie alle anderen mehrfach ungesättigten Fettsäuren weisen auch die EPA und die DHA eine geringe oxidative Stabilität auf. Die im Rapsöl natürlicherweise vorkommenden α - und γ -Tocopherole (Vitamin E) bieten hier bereits einen gewissen oxidativen Schutz. In NAPUS 2000 durchgeführte Arbeiten zeigen eine erhebliche natürliche Variation sowohl für den α -, γ - und Gesamt-Tocopherolgehalt als auch für das α -/ γ -Tocopherolverhältnis (Marwede et al. 2002, dieser Band). Durch Kreuzung und Selektion auf hohen Tocopherolgehalt scheint es daher auf züchterisch konventionellem Wege möglich, eine erhebliche Steigerung im α -/ γ - oder auch im Gesamt-Tocopherolgehalt zu erreichen. Darüber hinaus gehende Steigerungen

können von dem ebenfalls in NAPUS 2000 verfolgten transgenen Ansatz erwartet werden. Gegenwärtig besteht noch Forschungsbedarf, um zu klären, ob das alpha-Tocopherol, mit dem häufig Nahrungsmittel angereichert werden, allein für die gesundheitsfördernde Wirkung des Vit E verantwortlich ist. Verschiedene Studien zeigen, dass die natürlich vorkommende Mischung von Tocopherolen und möglicherweise dabei insbesondere die Tocotrienole (Palmöl) in ihrer Wirkung effektiver sein können (Theriault et al. 2001).

Als Nebenprodukt der Ölgewinnung findet Lecithin als Hilfsstoff vor allem in der Backindustrie und bei der Herstellung von Fertigprodukten bereits vielfältigen Einsatz (Schneider 2001). Lecithin stellt ein Gemisch verschiedener Stoffe dar. Neben Triglyceriden (Neutrallipide) enthält es vor allem unterschiedliche Polarlipide der pflanzlichen Zellmembranen. Die funktionellen Eigenschaften und damit die Qualität des Lecithins werden im wesentlichen durch die Fettsäurezusammensetzung und die funktionelle Kopfgruppe der Polarlipide, aber auch durch verschiedene andere Komponenten (Sinapin, Sterole, etc.) bestimmt. In NAPUS 2000 durchgeführte Untersuchungen zeigen auch hier eine erhebliche natürliche Variabilität in dem Gehalt und in der Zusammensetzung der Polarlipide bei unterschiedlichen Rapsgeotypen. Weiterführende Untersuchungen müssen nun zeigen, welchen Einfluss eine unterschiedliche Polarlipid-Zusammensetzung auf die funktionellen Eigenschaften des Lecithins hat.

Ausblick

Klassische Pflanzenzüchtung in Kombination mit Gentechnik bietet auch in Zukunft vielfältige Möglichkeiten für eine gezielte Veränderung von Qualitätseigenschaften beim Raps. Die heute bereits verfügbare Anzahl unterschiedlicher Qualitäten ist beeindruckend; nicht alle werden für den landwirtschaftlichen Anbau relevant sein. Aussichtsreich erscheinen generelle Qualitätsverbesserungen, wie bspw. die weitere Reduzierung unerwünschter Inhaltsstoffe im Rapsextraktionsschrot. Qualitätsentwicklungen für sehr spezifische Anwendungen werden dagegen schwerer Praxisrelevanz erreichen. Für die Züchtung, den landwirtschaftlichen Anbau und Handel, die Ölmühlen sowie teilweise für die verarbeitende Industrie stellt die parallele Bearbeitung und Lagerung unterschiedlicher Rapsqualitäten einen zusätzlichen Aufwand und eine logistische Herausforderung dar. Das Beispiel 'Eruca säure-Raps' zeigt dennoch, dass eine solche Herausforderung – auch für spezifische Anwendungen – im Einzelfall erfolgreich gemeistert werden kann.

Danksagung

Dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) danken wir für die Förderung im Rahmen des Verbundprojektes „NAPUS 2000“ (Förderkennzeichen 031225D).

Literatur

- Auld, D., M.K. Heikkinen, D.A. Erickson, L. Sernyk, E. Romero (1992): Rapeseed mutants with reduced levels of polyunsaturated fatty acid levels and increased levels of oleic acid. *Crop Sci.* 32, 657-662.
- Carruthers, S.P. (1995): Potential developments and market size limitations for new oilseed-rapeseed opportunities. *Proc. 9th Int. Rapeseed Congr., Cambridge, U.K., Vol. 4, 1327-1331.*

FAO 2001: www.fao.org

- Friedt, W., R. Baetzel, A.G. Badani, M. Koch, R. Schmidt, R. Horn, W. Lühs (2002): Züchtung auf optimierte Schrotqualität bei Raps (*Brassica napus*). Vortr. Pflanzzüchtg 54, 131-143.
- Han, J., W. Lühs, K. Sonntag, U. Zähringer, D.S. Borchardt, F.P. Wolter, E. Heinz, M. Frentzen, (2001): Functional characterization of β -ketoacyl-CoA synthase genes from *Brassica napus* L. Plant Mol. Biol. 46, 229-239.
- Leckband, G., M. Frauen, W. Friedt (2002): NAPUS 2000. Rapeseed (*Brassica napus*) breeding for improved human nutrition. Food Research International 35, 273-278.
- Leingang, T. (2001): Rapsabrechnung zur Ernte 2001. Raps 3, 134-137.
- Marwede, V., C. Möllers, H.C. Becker (2002): Untersuchungen zur genetischen Variabilität des Tocopherolgehaltes in Winterraps. XXXVII. Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung: Qualität und Pflanzzüchtung. 4.-5. März in Hannover. Im Druck.
- Milkowski, C., A. Baumert, D. Strack (2000): Cloning and heterologous expression of a rape cDNA encoding UDP-glucose:sinapate glucosyltransferase. Planta 211, 883-886.
- Möllers, C., A. Schierholt (2002): Genetic variation of palmitate and oil content in a winter oilseed rape doubled haploid population segregating for oleate content. Crop Sci. 42, 379-384.
- Narocon Innovationsberatung Dr. Harald Käb (2001): Marktanalyse: Industrielle Einsatzmöglichkeiten von High Oleic Pflanzenölen. Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V., Gülzow (Hrsg.).Gülzower Fachgespräche, Band 19.
- Piazza, G.J., T.A. Foglia (2001): Rapeseed oil for oleochemical uses. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 103, 405-454.
- Rakow, G., P. Raney (2001): Low saturated fat *Brassica napus*. GCIRC Technical Meeting, June 5, 2001, Poznan, Poland. GCIRC Bulletin, im Druck
- Rücker, B., G. Röbbelen (1996): Impact of low linolenic acid content on seed yield of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). Plant Breeding 115, 226-230.
- Sasongko, N.D., C. Möllers (2002): Increase of the erucic acid content in oilseed rape through the combination with genes for high oleic acid. Vortr. Pflanzzüchtg. 54, 453-456.
- Schneider, M. (2001): Phospholipids for functional food. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 103, 98-101.
- Sovero, M. (1996): Commercialization of laurate Canola. Vortr. Pflanzzüchtg. 33, 8-21.
- Stoutjesdijk, P.A, C. Hurlstone, S.P. Singh, A.G. Green (1999): Genetic Manipulation for altered oil quality in *Brassica*. Proc. 10th Intern. Rapeseed Congress, Canberra, ACT, Australia
- Theriault, A., W.-H. Leong, H. Wahlers (2001): The right vitamin E – Tocotrienols. Agro-Food-Industry Hi-Tech, Nov.-Dec 2001, 24-26.
- Thies, W. (1994): Die wertbestimmenden Komponenten des Rapsschrotes. Vortr. Pflanzzüchtg. 30, 89-97.
- Trautwein, E., (1997): Rapsöl – ein wertvolles Speiseöl. Agrarforschung 4, 381-384. (als Nachdruck auch in UFOP Schriftenreihe Heft 6)

- Trautwein, E.A., (2001): n-3 fatty acids – physiological and technical aspects for their use in food. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 103, 45-55.
- UFOP (2001): Ergebnisse der UFOP-Studie zum Winterrapsanbau zur Ernte 2002, PowerPoint Präsentation. www.ufop.de
- Velasco, L., A. Schierholt, H.C. Becker (1998): Performance of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) in routine analysis of C18 unsaturated fatty acids in intact rapeseed. *Fett/Lipid* 100, 44-48.
- Warwel, S. (1993): Transgene Ölsaaten – Züchtungsziele bei Raps aus chemisch-technischer Sicht. *Fat Sci. Technol.* 9, 329-333.
- Zum Felde, T., H.C. Becker, C. Möllers (2002): Genetische Variation und Vererbung von Sinapoylverbindungen im Raps (*Brassica napus* L.). *Votr. Pflanzenzüchtg.* 54, 449-452.

Untersuchungen zur genetischen Variabilität des Tocopherolgehaltes in Winterraps

Volker Marwede, Christian Möllers und Heiko C. Becker

Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Universität Göttingen

*Genetic variability of Tocopherol Contents in Oilseed Rape (Brassica napus L.)
 Tocopherols as natural antioxidants in vegetable oils are commonly found in different plant species. They exist in four forms (α -, β -, γ - and δ -Tocopherol) differing in both molecular structure and biological effectiveness. Total tocopherol contents in winter oilseed rape ranges from 214 – 1175 ppm in oil, whereas single tocopherols range from 86 – 866 ppm in oil (α -tocopherol) and 61 -784 ppm in oil (γ -tocopherol). To elucidate stability of agronomic performance and tocopherol contents in oilseed rape an experiment was carried out to examine both genotypic and environmental effects as well as genotype x environment interactions.*

V. Marwede, Von-Siebold-Str. 8, 37075 Göttingen, Germany; vmarwed1@gwdg.de

Einführung

Tocopherole und Tocotrienole werden als Tocochromanole bezeichnet, die wiederum in die Stoffgruppe der Carotinoide einzuordnen sind. Gemeinsam ist den Tocopherolen und Tocotrienolen der Chromanring (2-Methyl-6-hydroxy-chroman) mit einer 16 C-Atom langen Phytylseitenkette, die bei Tocopherolen gesättigt und bei Tocotrienolen ungesättigt ist. Man unterscheidet vier Tocopherole nach der Anzahl und Stellung der Methylgruppen am Chromanring (α , β , γ , δ - Tocopherol).

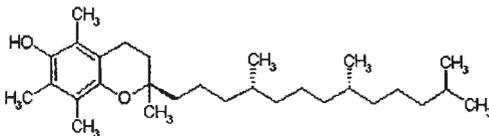


Abb. 1: Strukturformel von α -Tocopherol

Die wichtigste Funktion der Tocopherole liegt in ihrer Wirkung als Antioxidans (Radikalfänger) im pflanzlichen Stoffwechsel und im Lipidanteil von Nahrungsmitteln. Die Synthese findet in den Samen der höheren Pflanzen statt, wobei pflanzliche Öle die einzigen natürlichen Quellen für Tocopherole (TOC) in der menschlichen Ernährung sind.

Die biologische Wirksamkeit der Tocopherole ist abhängig von Anzahl und Verteilung der Methylgruppen am Chromanring und nimmt mit abnehmender CH₃-Gruppenzahl ab ($\alpha > \beta > \gamma > \delta$). Dabei liegt der Wirkungsschwerpunkt des α -TOC in der menschlichen Ernährung in seiner Funktion als Vitamin E. Zudem werden α -TOC gesundheitsfördernde Effekte bei der Krebsprävention und der Verhinderung von Herzkrankheiten zugesprochen. γ -TOC hat durch ein hohes antioxidatives Potential große Bedeutung im pflanzlichen Fettmetabolismus und als Oxidationsschutz für Öle pflanzlicher Herkunft (shelf live). In Tab. 1 sind die Tocopherolgehalte im Öl verschiedener Ölpflanzen dargestellt.

Tab. 1: Tocopherolgehalte in einer Auswahl von Ölpflanzen (nach KAMAL-ELDIN und ANDERSON, 1997)

Pflanze	Tocopherolgehalte (ppm im Öl)			
	α	β	γ	δ
Sonnenblume	671	23	4	0
Erdnuß	141	4	131	9
Sojabohne	116	17	578	263
Baumwollsamensamen	403	2	383	4
Mais	222	1	570	23
Olive	96	6	12	
Ölpalme	377	1	4	
Raps	180		340	
Lein			588	
Sesam	4		584	

Im Raps als Ölpflanze der gemäßigten Breiten sind beide TOC-Komponenten im Öl zu finden. Durch die spezifische Wirksamkeit der einzelnen Tocopherole sind sowohl der Gesamt-TOC-Gehalt als auch das Verhältnis der beiden TOC-Komponenten von Interesse. Mit der Etablierung einer leistungsfähigen HPLC-Methode (THIES, 1997) konnten Untersuchungen des TOC-Gehaltes an einem breiten Rapsortiment vorgenommen werden. In Tab. 2 ist dargestellt, in welchem Spektrum sich die Tocopherolgehalte bewegen.

Tab. 2: Variationsbreite der Tocopherolgehalte im Rapsöl (ppm im Samenöl von Einzelpflanzen, Ernte 2000)

	Tocopherolgehalt (ppm im Öl)		
	α	γ	Gesamt
Min	86	61	214
Max	866	784	1175

Zur Beantwortung der Frage wie Genotyp und Umwelt und deren Wechselwirkungen den Tocopherolgehalt und das α/γ -Verhältnis beeinflussen, wurden aus einer Kreuzung HO (high oleic acid) Mutante 19508 mit der LL (low linolenic acid) Linie 2293E 70 DH-Linien entwickelt. Diese DH-Population zeigt eine Aufspaltung für das Merkmal Ölsäure und Linolensäure. Die DH-Linien wurden 1998/1999 im Feld vermehrt. 49 Linien dieser DH-Population wurden 1999/2000 dreierartig in drei Wiederholungen in einem 7 x 7 Gitter in Göttingen (zwei Standorte) und Hohenlieth geprüft. Pro Linie und Wiederholung wurden drei Pflanzen geselbstet. Den Wuchshöhen – und Ertragsdaten (Ertrag und TKG) liegen die Parzellenwerte zugrunde. Ölgehalt, Protein – und Glucosinolatgehalt wurden mit NIRS am Selbstungssaatgut gemessen. Tocopherolgehalte wurden ebenfalls am Selbstungssaatgut mit HPLC analysiert.

Ergebnisse und Diskussion

Für die Merkmale Wuchshöhe, Ertrag, Ölgehalt und Glucosinolatgehalt sowie Tausendkorngewicht, α -, γ -, Gesamttocopherolgehalt und α/γ - Verhältnis zeigen sich signifikante ($p \leq 0,05$) bzw. hochsignifikante ($p \leq 0,01$) Umwelteffekte und Genotypeneffekte sowie hochsignifikante Umwelt x Genotyp – Interaktionen. Zudem zeigen die Merkmale eine deutlich unterschiedliche Erbllichkeit: während für die Merkmale Wuchshöhe, Ertrag, Ölgehalt sowie für Glucosinolat und TKG Heritabilitäten von über 0,8 ausgewiesen werden, liegen die Heritabilitäten der Tocopherolgehalte und des α/γ - Verhältnis wesentlich darunter, da die Genotyp x Umwelt-Interaktionen sehr groß sind. Die Heritabilitätswerte schwanken hier zwischen 0,32 und 0,44. In Tabelle 3 sind die Ergebnisse übersichtsweise dargestellt.

Tab 3: Variation, Varianzkomponenten und Heritabilitäten für agronomische Merkmale in 49 Linien der DH Population „HO x LL“ an drei Standorten im Jahr 2000

	Wuchs- höhe (cm)	Ertrag/ha (dt)	Öl (%)	GSL (μmol)	TKG (g)	Tocopherolgehalt ^{a)}			α/γ - Verhältnis
						α	γ	Gesamt	
Min	120,2	32,0	44,3	10,1	3,8	71,2	159,8	233,6	0,36
Max	150,8	48,8	49,4	26,2	5,0	86,6	216,7	306,0	0,53
Mittelwert	135,4	42,7	46,9	16,1	4,4	78,2	186,9	267,4	0,43
σ_G^2 ^{a)}	46,90	11,19	1,48	13,31	0,04	7,99	59,20	70,44	6,40 ^{b)}
σ_U^2 ^{b)}	604,15	63,99	0,07	5,96	0,05	13,40	129,24	241,53	-0,03 ^{b)}
σ_{GU}^2 ^{c)}	11,86	4,53	0,41	2,07	0,01	14,42	228,21	295,05	11,49 ^{b)}
σ_E^2 ^{d)}	9,37	3,30	0,18	1,79	0,01	15,92	131,31	147,20	13,71 ^{b)}
h^2 ^{e)}	0,87	0,81	0,88	0,91	0,86	0,44	0,33	0,32	0,43

^{a)} σ_G^2 = Genotypvarianz, ^{b)} σ_U^2 = Umweltvarianz ^{c)} σ_{GU}^2 = Genotyp x Umwelt - Varianz, ^{d)} σ_E^2 = Fehlervarianz

^{e)} Heritabilität

¹⁾ in ppm im lufttrockenen Samen

²⁾ für α/γ * 100

Hochsignifikante Korrelationen ergaben sich für die einzelnen Tocopherolkomponenten (Tab. 4). Der Gesamt- und der γ -Tocopherolgehalt zeigten eine extrem enge Korrelation von 0,96. Der α -Tocopherolgehalt zeigt ebenfalls einen positiven Zusammenhang mit dem

Gesamt-tocopherolgehalt (0,38) und dem α/γ -Verhältnis (0,54). Das α/γ -Tocopherolverhältnis zeigt hingegen eine stark negative Korrelation mit dem γ -Tocopherolgehalt (-0,77) und dem Gesamt-tocopherolgehalt (-0,56). Kein signifikanter Zusammenhang besteht zwischen α - und γ -Tocopherolgehalt (0,10). Auch einzelne agronomische Merkmale wie der Ölgehalt zeigen eine signifikante negative Korrelation mit dem α -Tocopherolgehalt (-0,31) bzw. eine hochsignifikante negative Korrelation mit dem α/γ -Tocopherolverhältnis (-0,38).

Tab. 4: Merkmalskorrelationen in 49 DH-Linien der Population „HO x LL“

	Wuhoe	Ertg/ha	Oel	GSL	TKG	α -Toc	γ -Toc	Ges-T
α -Toc	0,08	-0,18	-0,31*	-0,08	-0,04			
γ -Toc	0,24	0,05	0,21	-0,25	-0,30*	0,10		
Ges-T	0,24	-0,01	0,11	-0,25	-0,29*	0,38**	0,96**	
α/γ	-0,14	-0,18	-0,38**	0,18	0,25	0,54**	-0,77	-0,56**

** hoch signifikant ($p = 0,01$), * signifikant ($p = 0,05$)

Ausblick

Die erzielten Ergebnisse zeigen eine erhebliche Variation sowohl für den α - als auch für den γ -Tocopherolgehalt, die züchterisch genutzt werden kann. Die nicht vorhandene Korrelation zwischen α - und γ -Tocopherolgehalt und die hohe Korrelation des γ -Tocopherolgehalts mit dem Gesamt-tocopherolgehalt lassen eine Erhöhung des Gesamt-tocopherolgehaltes vornehmlich durch Selektion auf einen hohen γ -Tocopherolgehalt aussichtsreich erscheinen. Die vergleichsweise geringen Heritabilitäten erschweren allerdings die Selektion und erfordern einen erhöhten Prüfumfang.

Literatur

- Behringer, H. und Nothdurft, F., 1979: Plastid development and tocopherol accumulation in oil seeds. In: Appelqvist, L.Å. und C. Liljenberg, *Advances in Biochemistry and Physiology of Plant Lipids*, Elsevier/ North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, 133 – 137
- Elmadfa, I. und Wagner, K.H., 1997: Vitamin E und Haltbarkeit von Pflanzenölen, *Fett/Lipid* 99, No. 7, 234 - 238
- Goffman, F. D., und Becker, H. C., 2001: Diallel analysis for tocopherol contents in seeds of rapeseed, *Crop Science* 41, 1072 -1079
- Kamal-Eldin, A. und Appelqvist, L. Å., 1996: The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols, *Lipids* 31, 671 – 701
- Kamal-Eldin, A. und Anderson, R., 1997: A multivariate study of the correlation between tocopherol content and fatty acid composition in vegetable oils; *JAOCs* 74, 375 - 380
- Thies, W., 1997: Entwicklung von Ausgangsmaterial mit erhöhten alpha- oder gamma-Tocopherol-Gehalten im Samenöl für die Körnerzucht. I. Quantitative Bestimmung der Tocopherole durch HPLC; *Angew. Bot.* 71, 62-67

Danksagung

Wir danken Antje Schierholt für die Überlassung von Ergebnissen für die DH Population. Das Forschungsvorhaben wird vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) im Rahmen des Verbundprojektes „NAPUS 2000 – gesunde Nahrungsmittel aus transgener Rapssaat“ gefördert.



Glucosinolate in konventionellem Raps und Hybridraps unter dem Einfluss des *pat*-Gens und einer Glufosinatapplikation

R. Rothe¹⁾, H. Hartung²⁾, G. Marks²⁾, H. Bergmann¹⁾, F. Schöne²⁾

¹⁾Friedrich-Schiller-Universität, Institut für Ernährungswissenschaften, Jena

²⁾Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft, Jena

Glucosinolates in conventional rape and hybrid rape under the influence of pat-gene and a Glufosinatapplication

Rape plants of the open pollination cultivar Lirajet, the hybrid cultivar Panther, the transgenic hybrid cultivar Avalon (herbicide-resistance with pat-gene) and plants of their transgenic crossings were investigated at the flower stage. The dry matter content did not differ between the cultivars and their transgenic crossings. The transgenic crossings had a significantly higher protein content of 324 mg/g dry matter than their parental cultivars, 238 mg/g dry matter. The glucosinolate content of the transgenic crossings was by the factor two higher than in their parents' cultivars. In an accompanying investigation the glucosinolate content of roots was higher than that of stems and the glucosinolate content of stems was higher than that of leaves. Contrary the protein content decreased from leaves over the stems up to the roots. Testing the herbicide Glufosinat at the highest dose resulted in survive only Avalon-plants. Glufosinat tested in a non-toxic dose increased the dry matter content, lowered the protein content of dry matter and lowered the glucosinolate content.

Diplomtröphologe Remo Rothe, Dornburger Str. 24, 07743 Jena, Friedrich-Schiller-Universität, Institut für Ernährungswissenschaften, Lehrbereich Lebensmittelkunde

Einleitung

Nach der Züchtung der erucasäurefreien und glucosinolatarmen Rapsorten vollzieht sich gegenwärtig ein weiterer Qualitätssprung durch die Hybridzüchtung vor allem in Richtung Mehrertrag und Vitalität, aber auch durch den Einbau eines Gens, welches Resistenz gegen das Glufosinat (Phosphinothricin) vermittelt. Der Glucosinolatgehalt der oberirdischen Pflanzenteile unterschiedlicher Rapsorten, darunter eine Sorte transgen und der transgenen Auskreuzungen war zu untersuchen, für weitere Aussagen ebenfalls die Konzentrationen der Trockenmasse und des Proteins. In einer Begleituntersuchung sollte in Blatt, Stängel und Wurzel differenziert werden. Schließlich war Glufosinat in seinem Einfluss auf die genannten Rapsbestandteile zu testen, wobei hier eine Dosis, welche ebenfalls die nicht-transgenen Pflanzen überleben ließ, von besonderem Interesse war.

Material und Methoden

Im Auskreuzungsversuch wurden die Liniensorte *Lirajet*, der MSL-Hybrid *Panther*, der transgene MSL-Hybrid *Avalon* sowie die transgenen Auskreuzungen *Lirajet* x *Avalon* und *Panther* x *Avalon* getestet. Mindestens 9 Pflanzen je Sorte (Stadium der Blüte, Gewächshaus) wurden untersucht. Für die Begleituntersuchung von Blatt, Stängel und Wurzel standen 5 Pflanzen, eine je Sorte des Auskreuzungsversuches, zur Verfügung.

Im Glufosinatversuch erfolgte an der Liniensorte *Falcon*, dem MSL-Hybrid *Artus* und dem transgenen MSL-Hybrid *Avalon* die Prüfung einer verträglichen Herbiziddosis im Vergleich zu einer hohen Dosis (Positivkontrolle) und einer Nichtanwendung (Negativkontrolle) des Herbizids. Analysiert wurden mindestens 4 Pflanzen je Sorte und Behandlung (Pflanzen im 9.-11. Laubblattstadium aus dem Gewächshaus).

Die Glucosinolate wurden mittels HPLC nach der offiziellen Methode der EC (1990) analysiert. Die Bestimmung der Trockenmasse (TM) bei 130 °C und des Proteins (N, Kjeldahl, x 6,25) erfolgtem nach dem VDLUFA-Methodenbuch III (1994).

Ergebnisse

Auskreuzungsversuch:

Die Wuchshöhe variierte zum Zeitpunkt der Ernte beträchtlich. Die durchschnittlichen Höhen waren *Avalon* 0,95 m, *Panther* 0,83 m, *Lirajet* 0,56 m, *Panther-Avalon-F1* 0,71 m und *Lirajet-Avalon-F1* 0,56 m Messung jeweils von der Blüte bis zur Wurzelspitze. Zwischen den Herkünften des Auskreuzungsversuches (Tab. 1) unterschieden sich die Konzentrationen der TM nicht. Im Mittel wurden 134 mg TM pro g Frischmasse (FM) analysiert.

Tabelle 1: Trockenmasse, Protein und Glucosinolate der oberirdischen Pflanzenteile von *Lirajet*, *Panther*, *Avalon* und aus deren Auskreuzungen (9 Pflanzen¹⁾ je Sorte, Angaben in der Frischmasse)

	Trocken- masse	Protein	Alkenyl- glucosinolate	Indol- glucosinolate	Gesamt- glucosinolate
	mg/g	mg/g	μmol/g	μmol/g	μmol/g
<i>Lirajet</i>	145 ± 26	41 ^{bc} ± 15	0,7 ± 0,6	0,5 ^a ± 0,4	1,4 ^{ab} ± 1,0
<i>Panther</i>	133 ± 31	30 ^{ab} ± 9	0,5 ± 0,3	0,2 ^a ± 0,1	0,7 ^a ± 0,5
<i>Avalon</i>	122 ± 5	25 ^a ± 4	0,8 ± 0,4	0,2 ^a ± 0,1	1,0 ^a ± 0,5
<i>Lirajet-Avalon-F1</i>	139 ± 28	49 ^c ± 16	0,6 ± 0,4	1,5 ^b ± 0,7	2,2 ^b ± 0,8
<i>Panther-Avalon-F1</i>	133 ± 18	40 ^{bc} ± 6	0,7 ± 0,5	1,3 ^b ± 1,1	2,1 ^b ± 1,5

¹⁾ Blütenstadium
^{ab,c} unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant-unterschiedliche Mittelwerte nach dem Test von Student-Newman-Keuls (P<0,05)

Die beiden transgenen Auskreuzungen besaßen mit im Mittel 324 mg Protein pro g TM einen signifikant höheren Proteingehalt als die drei sortenreinen Pflanzen mit im Mittel 238 mg/g TM. Vermutlich ist der Anstieg des Proteins Folge des verringerten Wuchses und eines somit höheren Blattanteiles im Verhältnis zum Stängelanteil. Die transgenen Auskreuzungen zeigten im Vergleich zu ihren Eltern etwa den doppelten Glucosinolatgehalt. Der Anstieg scheint nicht nur Anreicherung aufgrund des verminderten Wuchses zu sein,

waren doch das Glucosinolatspektrum verändert und besonders die Konzentrationen der Indolglucosinolate (Glucobrassicin und 4-Methoxy-Glucobrassicin, Abb. 1) von einem Viertel auf zwei Drittel erhöht.

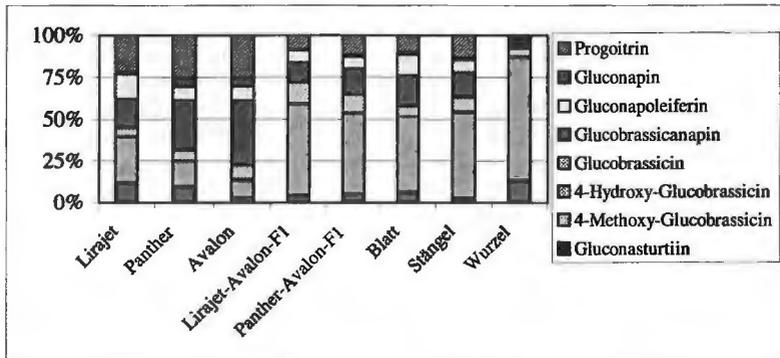


Abbildung 1: Verteilung der Glucosinolate in den Herkunftsfürten (nur oberirdische Pflanzenteile) des Auskreuzungsversuches und der Begleituntersuchung der Fraktionen Blatt, Stängel und zusätzlich Wurzel

Die Wurzel (Tab. 2) zeigte im Vergleich zu Blatt und Stängel den höheren Gehalt an TM und Glucosinolaten. Der Anstieg war aber für die Glucosinolate wesentlich stärker, so dass die Signifikanz für den höheren Wurzelglucosinolatgehalt ebenfalls bezogen auf die FM bestand. Das Blatt besaß eine niedrigere Glucosinolatkonzentration als der Stängel.

Tabelle 2: Trockenmasse, Protein und Glucosinolate in Blatt, Stängel und Wurzel (Teilung einer Pflanze je Herkunft des Auskreuzungsversuches)

		Blatt	Stängel	Wurzel
In der Frischmasse				
Trockenmasse	mg/g	125 ^a ± 8	121 ^a ± 8	577 ^b ± 50
Protein	mg/g	36 ^a ± 3	28 ^a ± 5	98 ^b ± 33
Alkenylglucosinolate	μmol/g	0,1 ^a ± 0,1	0,7 ^a ± 0,4	2,4 ^b ± 1,6
Indolglucosinolate	μmol/g	0,1 ^a ± 0,1	1,1 ^a ± 0,9	24,1 ^b ± 25,3
Glucosinolate insgesamt	μmol/g	0,2 ^a ± 0,1	1,8 ^a ± 0,7	30,8 ^b ± 31,2
In der Trockenmasse				
Protein	mg/g	291 ^c ± 16	234 ^b ± 29	170 ^a ± 54
Alkenylglucosinolate	μmol/g	0,6 ^a ± 0,4	5,7 ^b ± 3,6	4,0 ^b ± 2,6
Indolglucosinolate	μmol/g	0,8 ± 0,8	9,3 ± 7,4	41,4 ± 41,4
Glucosinolate insgesamt	μmol/g	1,5 ^a ± 0,7	15,4 ^{ab} ± 6,5	52,6 ^b ± 50,9

^{a,b,c} unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant-unterschiedliche Mittelwerte nach dem Test von Student-Newman-Keuls (P<0,05)

Ebenfalls differierte das Glucosinolatspektrum in den untersuchten Pflanzenteilen. Der hohe Wurzelglucosinolatgehalt war hauptsächlich auf das 4-Methoxy-Glucobrassicin

zurückzuführen (Abb. 1), das Glucosinolat also, welches in Blatt und Stängel einen deutlich geringeren Anteil am Gesamtglucosinolatgehalt bestritt.

Glufosinatversuch:

Die Glufosinatapplikation in der hohen Dosis ließ erwartungsgemäß nur den transgenen Raps (*Avalon*) überleben (Tab. 3). Die bei der niedrigen Glufosinatanwendung überlebenden Pflanzen sämtlicher Rapsorten waren (unabhängig vom Vorhandensein des *pat*-Gens) trockenmassereicher (ein Fünftel Konzentrationsanstieg). Die Glufosinatanwendung erniedrigte den Eiweißgehalt in der TM, nicht jedoch in der FM. Im Glucosinolatgehalt, besonders bezogen auf TM (nicht gezeigt), deutete sich unter der niedrigen Glufosinatdosis ein Abfall an, so dass für die Klärung eines Einflusses des Herbizids auf den Glucosinolatgehalt weitere Untersuchungen notwendig sind.

Tabelle 3: Trockenmasse, Protein und Glucosinolate nach unterschiedlicher Glufosinatanwendung¹⁾ bei den Rapsorten *Falcon*, *Artus* und *Avalon*

Glufosinatdosis g/l Wasser	<i>Falcon</i>	<i>Artus</i>	<i>Avalon</i>
Trockenmasse			
mg/g Frischmasse			
0 (ohne)	97 ^a ± 7	96 ^a ± 9	95 ^a ± 7
0,2	117 ^b ± 8	118 ^b ± 10	125 ^b ± 6
1,0	-	-	117 ^b ± 7
Protein			
mg/g Frischmasse			
0 (ohne)	23,6 ± 1,9	23,9 ± 1,8	22,9 ± 2,2
0,2	23,4 ± 1,7	22,4 ± 1,4	23,1 ± 1,5
1,0	-	-	22,4 ± 1,3
Glucosinolate insgesamt			
µmol/g Frischmasse			
0 (ohne)	0,08 ± 0,03	0,13 ± 0,05	0,08 ± 0,04
0,2	0,11 ± 0,05	0,08 ± 0,04	0,06 ± 0,02
1,0	-	-	0,06 ± 0,02

¹⁾ 9. bis 11. Laubblattstadium

^{a,b} unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant-unterschiedliche Mittelwerte nach dem Test von Student-Newman-Keuls (P<0,05)

Diskussion

Die ungenügende Entwicklung der aus dem Saatgut des ausgekreuzten Rapses gezogenen Pflanzen hat genetische Ursachen. Es ist bekannt, dass im Nachbau von Hochzuchtsorten die Leistung bzw. Qualität der Eltern nicht gehalten wird - eine Verschlechterung eintritt. Für den Glucosinolatgehalt des Rapses, der in der Züchtung gesenkt wurde, bedeutet dies eine Erhöhung.

Der Minderwuchs der Auskreuzungen zeigte sich in einem höheren Blatt-Stängel-Verhältnis im Vergleich zu den weiter entwickelten Pflanzen der Elternsorten. In der Begleituntersuchung erwiesen sich die Blätter proteinreicher als der Stängel und der höhere Proteingehalt der Auskreuzungen wäre Folge des höheren Blatt- bzw. des niedrigerem Stängelanteils.

Für den höheren Glucosinolatgehalt der Auskreuzungspflanzen kann es keine Begründung durch die höhere Blattmasse geben, waren die Blätter doch glucosinolatärmer als der Stängel. Die Genetik bzw. die Biochemie des erhöhten Glucosinolatgehaltes der Auskreuzungspflanzen kann derzeit nicht erklärt werden.

Glufosinatanwendung unterhalb einer akut toxischen Dosis reicherte gleichermaßen in nicht-transgenen und transgenen Pflanzen die TM an. Der tendenzielle Glucosinolatatabfall könnte bei den Pflanzen ohne *pat*-Gen aus verminderter Aminosäurebereitstellung für die Glucosinolatsynthese aufgrund der Glutaminsynthetasehemmung durch das Glufosinat resultieren. Bei den transgenen Pflanzen, also denen mit *pat*-Gen, wäre ein vermehrter Ressourcenabzug durch Bildung des Enzyms Acetyltransferase für den Glufosinatabbau denkbar (Dröge-Laser, 1994).

Literatur

- Dröge-Laser, W.; Siemeling, U.; Pühler, A.; Broer, I. (1994): The metabolites of the herbicide L-Phosphinothricin (Glufosinate); *Plant Physiology* 105; S. 159-166
- European Community (1990): Oilseeds – determination of glucosinolates – high performance liquid chromatography; Official Journal of European Commission L170, S. 27-34
- VDLUFA-Methodenbuch (Verband deutscher landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten); Band III (1994): Die chemische Untersuchung von Futtermitteln; VDLUFA-Verlag, Darmstadt: Grundwerk + Loseblattsammlung





Qualitätsmerkmale in der Hanfzüchtung

¹Uta Kriese, Erika Schumann, Andreas Peil, W. Eberhard Weber, ²Eckhard Grimm, Heinrich Rennebaum, ³Wolfgang Gans, ⁴Bertrand Matthäus und Ludger Brühl

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Landwirtschaftliche Fakultät

¹Institut für Pflanzenzüchtung und Pflanzenschutz, Ludwig-Wucherer-Str. 2

²Institut für Acker- und Pflanzenbau, Ludwig-Wucherer-Str. 2

³Institut für Bodenkunde und Pflanzenernährung, Adam-Kuckhoff-Str. 17 b, 06108 Halle/Saale

⁴Bundesanstalt für Getreide-, Kartoffel- und Fettforschung, Institut für Chemie und Physik der Fette, Piusallee 76, 48147 Münster

Hanf (*Cannabis sativa* L.) ist eine einjährige und ursprünglich zweihäusige Pflanze, die zur Familie der *Cannabinaceae* gehört. Sie zählt zu den ältesten Kulturpflanzen der Menschheit. Fast alle Pflanzenteile können wirtschaftlich verwertet werden (Hesch et al. 1996), wobei Hanf sowohl zur Faser- und Ölgewinnung als auch auf Grund der rauscherzeugenden Wirkung seines Inhaltstoffes Tetrahydrocannabinol (THC) zur Produktion von Arzneimitteln verwendet werden kann.

Der europäische Hanfanbau ging seit dem 18. Jahrhundert kontinuierlich zurück. Als Gründe für diese Entwicklung sind die Konkurrenz der Baumwollfasern sowie die Produktion von synthetischen Fasern, die Papierherstellung aus Holz und die rauscherzeugende Wirkung zu nennen. Nach 1960 gab es in Deutschland keine nennenswerte Hanfzüchtung mehr. Nach dem Gesetz zur Neuordnung des Betäubungsmittelrechtes von 1981 wurde der Hanfanbau auf Grund einer möglichen Nutzung von THC-reichen Sorten zur Produktion von Drogen strikt verboten. Die Aufhebung des Hanfanbauverbotes erfolgte 1996. Seitdem werden vielfältige Bemühungen unternommen, Hanf wieder in die Wirtschaftskreisläufe zu integrieren. Eine Voraussetzung dafür ist die Reaktivierung der Hanfzüchtung. Gegenwärtig existierende Hanfformen sind gekennzeichnet durch Merkmale, die, hervorgerufen durch den Anbau in den verschiedensten Klimaten und Tageslängen, Anpassungen an diese spezifische Bedingungen darstellen. Nach Przytyk (1999) wurde in Europa in der Vergangenheit hauptsächlich auf Fasergehalt und Faserqualität, die Reduktion des THC-Gehaltes und die Entwicklung von einhäusigen Sorten gezüchtet.

Hanfzüchtung muss einhergehen mit der Erfassung und Analyse der genetischen Variabilität heute verfügbarer Hanfgenotypen. Aufbauend auf den gewonnenen Ergebnissen können entsprechend der konkreten Zuchtziele Kreuzungen ausgewählter Genotypen durchgeführt werden. Die resultierenden Kreuzungsnachkommenschaften können anschließend zur Selektion von Linien mit spezifischen Qualitätsmerkmalen herangezogen werden, die wiederum zur Schaffung von neuen Hanfsorten genutzt werden sollen.

Im Rahmen eines von der DFG geförderten Projektes zur Genotypedifferenzierung und zur Schaffung von Kreuzungspopulationen beim Hanf wurden 34 verschiedene ein- und zweihäusige Hanfformen umfassend analysiert, und zwar 18 Hanfakzessionen aus den Genbanken (GB-Nr.) des IPK Gatersleben und der BAZ Braunschweig sowie 16 Hanfsorten von Züchtern und Hanfanbauern (Tab. 1). Im Jahr 2000 wurden diese Hanfgenotypen parzellenweise in zwei Wiederholungen im Freiland angebaut und hinsichtlich des Faser-, Öl- und THC-Gehaltes evaluiert. Zur Bestimmung des Fasergehaltes wurden die Hanfpflanzen 14 Tage nach Beginn der Blüte der männlichen Pflanzen geerntet. Nach der Trocknung wurden die Pflanzen entblättert. Vor der mechanischen Faserisolierung wurden sie für mindestens 24 h bei 23°C und einer relativen Luftfeuchte von 50 % gelagert. Die Faserisolierung erfolgte mit Hilfe eines Labor-Flachsbrechers der Firma Bahmer, wobei die Fasern mechanisch von dem Reststängelgewebe getrennt wurden. Der angegebene Fasergehalt entspricht dem Anteil der isolierten Faserfraktion an der Stängelmasse nach zehn Maschinendurchläufen. Die Ernte der Hanffrüchte fand jeweils zum Zeitpunkt der Samenreife statt. Der Ölgehalt, der mittels SFE (supercritical fluid extraction) erfasst wurde, wurde an 2 g gemahlener Hanffrüchten einer Mischprobe der entsprechenden Hanfform bestimmt (Brühl und Matthäus 1999). Der THC-Gehalt wurde gaschromatographisch nach der Methode von de Meijer u. a. (1992) ermittelt, wobei das THC aus 100 mg eines entsprechend aufbereiteten Blattpulvers mittels Hexan extrahiert wird.

Tabelle 1: Analysierte Hanfgenotypen 2000

HANF-GENOTYPEN	DIÖZISCH	MONÖZISCH
Genbankakzessionen	GB15, GB16, GB20, GB21, GB22, GB23, GB24, GB26, GB27, GB28, GB29, GB31, GB32, GB33, GB34, GB35, GB36	GB30
Hanfsorten	FxT, Helvetica, Kompolti, Lovrin110, Ramo	Beniko, Epsilon 68, Fasamo, Ferimon, Fibrimon, Futura, Glera, Gluchivski-33, Gluchivski-46, Juso14, Zolotonoshskaya-11

Das Versuchsmaterial wurde in der Saison 2001 erneut angebaut und wird zur Zeit analysiert.

FASERGEHALT

Der Faserertrag resultiert beim Hanf aus der Stängelmasse pro Flächeneinheit und dem Fasergehalt der Stängel, wobei der Fasergehalt und auch die Faserqualität stark vom Erntezeitpunkt bzw. dem Reifegrad der Pflanzen beeinflusst wird (Bocsa und Karus 1997). Über die Erhöhung des Fasergehaltes kann auch der Faserertrag verbessert werden. Moderne Faserhanfsorten weisen einen Fasergehalt zwischen 25-35 % auf, während dieser bei wilden Hanfformen und Drogentypen 12-15 % beträgt (de Meijer 1994).

Der Fasergehalt der untersuchten Hanfgenotypen lag zwischen 15,8 % und 40,9 % (Abb. 1), wobei ein mittlerer Fasergehalt von 26,1 % erreicht wurde. Für die Genbankabstammungen wurden Fasergehalte zwischen 15,8 % und 30,1 % festgestellt, während für die Hanfsorten Fasergehalte zwischen 19,7 % bei der diözischen alten deutschen Landsorte ‚Ramo‘ und 40,9 % bei der auf Fasergehalt gezüchteten diözischen ungarischen Faserhanfsorte ‚Kompolti‘ ermittelt wurden. Die Überlegenheit der zweihäusigen Hanfsorte ‚Kompolti‘ resultiert nach Bocsá und Karus (1997) daraus, dass dieser immer fremdbefruchtend ist, während bei einhäusigem Hanf auch Selbstbefruchtung und damit verbunden Inzuchtdepression vorkommen kann.

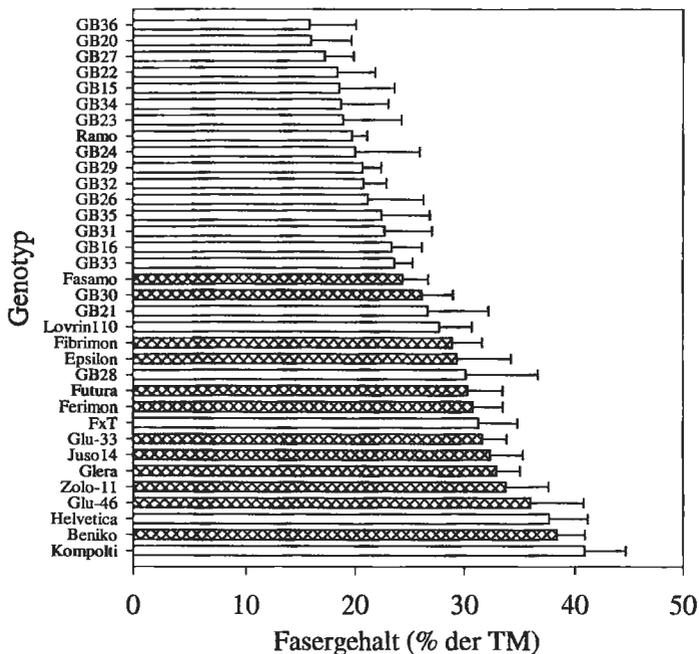


Abbildung 1: Fasergehalt der analysierten Hanfgenotypen 2000 (dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung, diözisch, monözisch)

ÖLGEHALT

Öle und Fette werden von vielen Samenpflanzen als energiereiche Reservestoffe in den Samen gebildet. Pflanzliche Fette sind sowohl ernährungsphysiologisch z.B. in Speiseöl und Margarine als auch industriell bei der Herstellung von Kosmetika, Reinigungsmitteln, Farben und anderen Produkten von Bedeutung.

Für die Hanfsamen konnte ein mittlerer Ölgehalt von 32,2 % ermittelt werden, wobei der Ölgehalt von 20,3 % bis 37,5 % variierte (Abb. 2). Bei den Genbankabstammungen schwankte der Ölgehalt von 20,3 % bis 36,5 %. Bei den Hanfsorten konnte für die deutsche einhäusige Sorte 'Fasamo' mit 30,0 % der niedrigste und für die polnische einhäusige Sorte 'Beniko' mit 37,5 % der höchste Ölgehalt bestimmt werden. Der Unterschied zwischen den Hanfsorten und den Genbankherkünften ist nicht so ausgeprägt wie beim Fasergehalt.

Fördergelder aus der EU für den Anbau von Hanf werden bisher nur gezahlt, wenn der Verkauf des Hanfstrohs an einen zugelassen Verarbeitungsbetrieb nachgewiesen werden kann, d.h. neben Samen auch Fasern genutzt werden. Eine ausschließliche Nutzung der Samen ist in den EU Regelungen nicht vorgesehen.

Eine Doppelnutzung – Fasern und Samen – kann mit Hanfsorten erfolgen, die sowohl einen hohen Faser- als auch einen hohen Ölgehalt aufweisen, wie z.B. ‚Beniko‘ und ‚Helvetica‘. Im

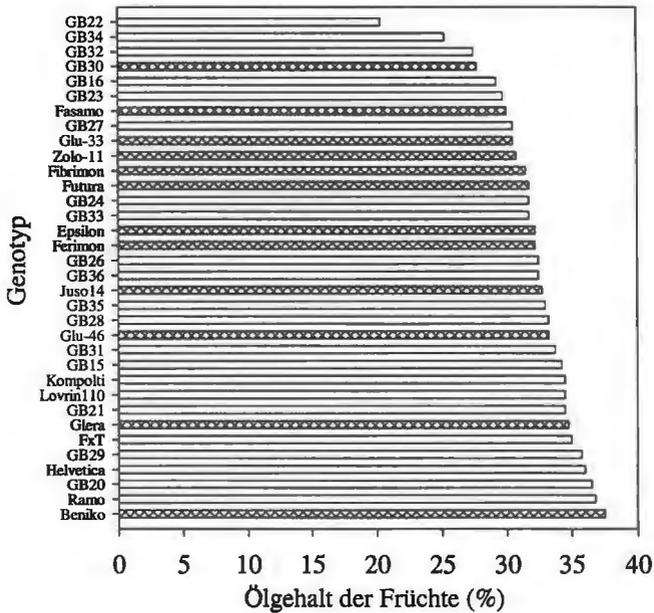


Abbildung 2: Ölgehalt von 34 untersuchten Hanfgenotypen (dargestellt ist der Mittelwert, diözisch, monözisch)

Gegensatz zur Fasergewinnung ist für die Samen- und Ölnutzung die Samenreife Voraussetzung für die Ernte und diese liegt zumeist für einen optimalen Ölertrag später als die Samenreife. Auf Ölgehalt gezüchtete Sorten stehen kaum zur Verfügung. Aus Kanada ist die Ölhansorte ‚FIN-314‘ bekannt (Przytyk 1999). In Deutschland werden gegenwärtig noch Faserhanfsorten zur Samengewinnung verwendet. Hohe Samenerträge lassen sich hier am ehesten durch frühblühende Sorten erzielen, die unter mitteleuropäischen Witterungsbedingungen sicher abreifen.

TETRAHYDROCANNABINOL-GEHALT

Die Bildung des THC_s erfolgt vorrangig in den Harzdrüsen der weiblichen Pflanzen. Sie ist genetisch determiniert, wird aber auch stark von Umweltbedingungen wie Temperatur, Licht, Photoperiode und Länge der Vegetationsperiode beeinflusst.

Für den Hanfanbau in Deutschland sind seit 2001 Hanfsorten zugelassen, deren THC-Gehalt in der Trockenmasse weniger als 0,2 % beträgt (Cappelletto et al. 2001). Der mittlere THC-Gehalt lag bei 0,67 %. Er variierte bei den Hanfsorten zwischen 0,0008 % bei ‚Ramo‘ und 1,0 % bei der zweihäusigen rumänischen Sorte ‚Lovrin 110‘. Bei den Genbankakzessionen wurde mit 0,04 % der niedrigste und mit 4,8 % der höchste THC-Gehalt gemessen (Abb. 3).

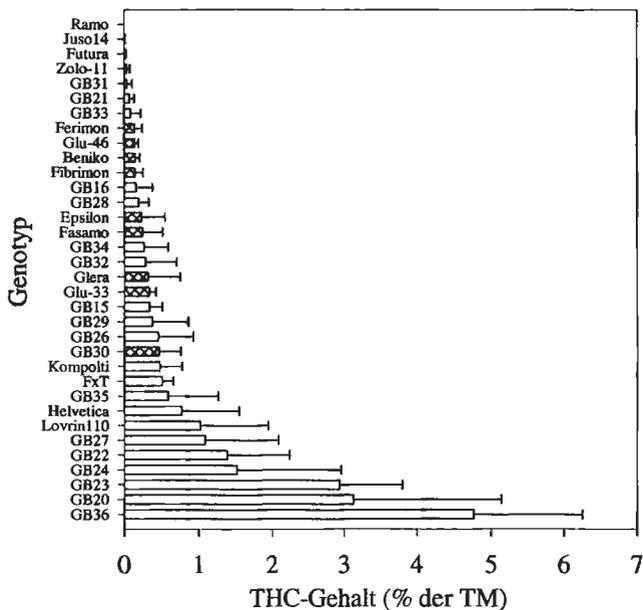


Abbildung 3: THC-Gehalt der 34 untersuchten Hanfgenotypen (dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung, diözisch, monözisch)

Es zeigte sich eine negative Korrelation zwischen Faser- und THC-Gehalt. Bei den züchterisch noch nicht bearbeiteten Genbankabstammungen konnten für die zwei

Akzessionen mit dem niedrigsten Fasergehalt (15, 8 und 15,9 %) die höchsten THC-Gehalte (4,8 und 3,1 %) festgestellt werden.

LITERATUR

- Bocsa, I. und M. Karus, 1997: Der Hanfanbau: Botanik, Sorten, Anbau und Ernte. 1. Auflage, C. F. Müller Verlag Heidelberg.
- Brühl, L. und B. Matthäus, 1999: Extraction of oilseeds by SFE – a comparison with other methods for the determination of oil content. *Fresenius J. Anal. Chem.* 364, 631-634.
- Cappelletto, P., M. Brizzi, F. Mongardini, B. Barberi, M. Sannibale, G. Nenci, M. Poli, G. Corsi, G. Grassi and P. Pasini, 2001: Italy-grown hemp: yield, composition and cannabinoid content. *Industrial Crops and Products* 13, 101-113.
- de Meijer, E. P. M., 1994 : Variation of *Cannabis* with reference to stem quality for paper pulp production. *Industrial Crops and Products* 3, 201-211.
- de Meijer, E. P. M., H J. van den Kamp und F. A. van Eeuwijk, 1992: Characterisation of *Cannabis* accessions with regard to cannabinoid content in relation to other plant characters. *Euphytica* 62, 187-200.
- Hesch, R., A. Meyer, F. Beckmann und K. Hesch, 1996: Hanf – Perspektiven für eine Ökologische Zukunft – eine realistische Betrachtung. Taoasis Lemgo.
- Przytyk, S., 1999: 'FIN-314' in Canada. *J. Intern. Hemp Association* 6, 22-24.



Innenbrand und Mineralstoffgehalte verschiedener Sorten Eis- und Kopfsalat aus biologisch-dynamischem Anbau

I. Hagel, S. Haneklaus² und E. Schnug²

¹Institut für Biologisch-Dynamische Forschung, Darmstadt, ²Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft, Braunschweig

Tipburn and Mineral Content of different Cultivars of Lettuce and Iceberg Salad from Biodynamic Agriculture

Abstract: *The mineral content of 12 of Iceberg salad and lettuce varieties from biodynamic farming varied considerably and showed strong inverse relationships to the biomass of the plants. Tipburn was related to the Ca-content, if the plant biomass was considered.*

I. Hagel, Inst. für Biologisch-Dynamische Forschung, Braunschweig 5, D-64295 Darmstadt

Einleitung

Im Salatkopf können die Blattränder Nekrosen (sog. Innenbrand) aufweisen. Dies steht in Zusammenhang mit einem unzureichenden Calcium (Ca) Transport in die Blätter, da Ca als essentieller Baustein biologischer Membranen benötigt wird und Pektinsäure der Mittellamelle der Zelle zu Ca-Pektinat absättigt (Mengel 1979). Innenbrand kann bis zu Totalausfällen, einhergehend mit hohen Einnahmeverlusten führen. Die Ursache für diesen Qualitätsmangel liegt jedoch nicht in einem zu geringen Ca-Gehalt des Bodens, sondern u.a. in der Immobilität von Ca in der Pflanze, einem übermäßigen N-Angebot (Brumm und Schenk 1994), einem zu schnellen Wachstum der Pflanze, ungünstigen Transpirationsbedingungen, empfindlichen Sorten sowie zu geringem Wurzelwerk. Offensichtlich werden bei der Züchtung neuer Sorten präventive Selektionsmaßnahmen zur Eindämmung des Innenbrandes nur unzureichend durchgeführt (Schlaghecken und Strohmeier 1997). Auch im Ökologischen Landbau tritt Innenbrand auf. Mit aus diesem Grund wurden von einer biologisch-dynamischen Züchtungsinitiative (Kultursaat e.V.) in der Gärtnerei Bingenheim 12 Eis- und Kopfsalatvarianten angebaut, die auf ihre Mineralstoffgehalte und ihre Anfälligkeit für Innenbrand geprüft wurden.

Material und Methoden

Angebaut wurden zu je 50 Köpfen als Zuchtsorten die sechs Eis- (E) bzw. Kopfsalate (K) BARCELONA (E), MILUNA (E), NADINE (K), ROXETTE (E), SALADIN (E), SORENZA (K) und SYLVESTA (K). Dazu kamen vier von der Züchtungsinitiative aus den Sorten GREAT LAKES (E), MARAVILLA DE VERANO (E) und LAIBACHER EIS (E) mehr- bis langjährig selektierte Zuchtstämme (im Folgenden ebenfalls als Sorten bezeichnet und in den Abbildungen mit "Bgh." gekennzeichnet). Das Saatgut für die Varianten LEIBACHER EIS „Kiesel“ sowie GREAT LAKES „Kiesel“ stammte von Mutterpflanzen, die zusätzlich im Vorjahr sowohl eine Behandlung des Bodens mit gemahlenem Quarzmehl (1 kg/m²) als auch

eine intensive Applikation (3-4 x) des reifefördernden biologisch-dynamischen Hornkieselpräparates erhalten hatten. Der Versuch erfolgte ohne Feldwiederholungen.

Am 30.6.2000 wurden je 6 Köpfe pro Variante geerntet und nach Lagerung im Erdkeller am nächsten Tag aufgearbeitet. Bestimmt wurden das mittlere Kopfgewicht, Trockenmassegehalt (TM), sowie der Mineralstoffgehalt (P, K, S, Mg, Ca und Si), welcher mittels Röntgenfluoreszenzanalyse nach Schnug und Haneklaus (1999) ermittelt wurde. Der N-Gehalt wurde nach Kjeldahl bestimmt. Der Grad der Verbräunung wurde über ein vierstufiges Bonitieringschema erfaßt (0 = keine Verbräunung, 1 - 3 = schwacher, mittlerer und starker Befall).

Ergebnisse und Diskussion

Das mittlere Kopfgewicht unterschied sich mit Werten zwischen 419 g (NADINE) und 887 g (GREAT LAKES „Kiesel“) stark (Abb. 1). Mit steigendem Kopfgewicht sanken die TM-Gehalte von 5,8 % (LAIBACHER EIS) auf 3,7 % (ROXETTE). Da Salat per se einen sehr niedrigen TM-Gehalt aufweist, beruht eine Steigerung des Kopfgewichts naturgemäß fast ausschließlich auf einer vermehrten Wassereinlagerung. Dennoch wären für eine biologisch-dynamische Züchtung hinsichtlich einer Harmonisierung der Wasserzunahme zugunsten höherer TM-Masse sicher qualitative Verbesserungen möglich und sinnvoll. Dies erscheint um so naheliegender, als ein höherer TM-Gehalt ein charakteristisches Merkmal von Gemüse aus Ökologischem Anbau im Vergleich zu konventionell erzeugten Produkten ist (Woes et al. 1995).

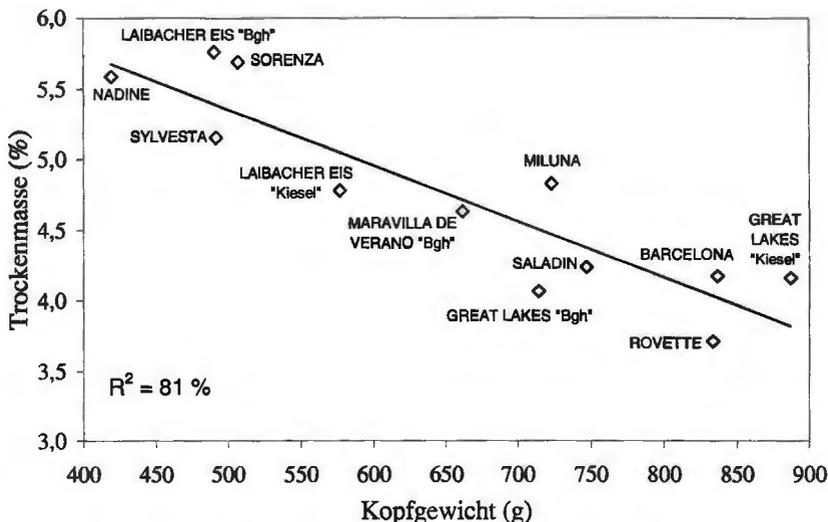


Abb. 1: Beziehung zwischen Kopfgewicht und TM-Gehalt verschiedener Salatsorten

Selektion und Kieselbehandlung hatten in den beiden verglichenen Fällen (GREAT LAKES und LAIBACHER EIS) zwar zu deutlich höheren Kopfgewichten, aber nur bei

GREAT LAKES nicht auch zu reduzierten TM-Gehalten geführt (Abb. 1). Da dieser Versuch ohne Wiederholungen durchgeführt wurde, stellt dieses Ergebnis aber nur eine Tendenz dar.

Die mittleren Mg- und S-Gehalte entsprachen mit Werten von 0,009 % Mg und 0,012 % S (FM) denen aus der Literatur (Berg 1978), während die Gehalte an Ca und P mit 0,027 % Ca und 0,010 % P niedriger ausfielen. Die K-Gehalte dagegen lagen mit einem mittleren Gehalt von 0,22 % (FM) höher als der Literaturwert, was auf den K-reichen Basaltverwitterungsböden des Standortes Bingenheim zurückzuführen sein dürfte. Mit auf etwa das Doppelte steigenden Kopfgewichten (Abb. 1) sanken die über die jeweiligen Regressionen berechneten mittleren Mineralstoffgehalte ab (Abb. 2 - 4), und zwar relativ um 35 % (P), 57 % (K), 50 % (S), 61 % (Mg) und 60 % (Ca), was als Verdünnungseffekt zu bewerten ist. Der mittlere Si-Gehalt wurde bei Verdoppelung des Kopfgewichtes überproportional von 350 ppm auf rund 50 ppm reduziert ($R^2 = 61$ %, Abb. 4). Auch der mittlere N-Gehalt der Sorten sank mit steigendem Kopfgewicht von 0,19 % um die Hälfte ab ($R^2 = 55$ %, ohne Abb.). Damit hält also nicht nur der TM-Gehalt, sondern auch die Mineralstoffaufnahme des untersuchten Sortimentes nicht mit dem Massenzuwachs Schritt.

Die Bestimmtheitsmaße der o.a. Beziehungen lagen mit Werten zwischen 55 % (N) und 84 % (K) zum überwiegenden Teil sehr hoch. Damit variiert das Mineralstoffaneignungsvermögen für P, K, Mg und S der untersuchten Sorten wenig und ist hauptsächlich vom erzielten Kopfgewicht bestimmt. Erfahrungen aus der biologisch-dynamischen Möhrenzüchtung (Hagel 1997, Hagel et al. 2000 a und b) versprechen allerdings auch beim Salat Fortschritte. Dazu müßten neben den visuellen Selektionskriterien aber auch entsprechende analytische Parameter berücksichtigt werden. Es ist naheliegend, daß nicht nur die Mineralstoffgehalte, sondern z.B. auch sekundäre Pflanzenstoffe mit der Steigerung des Kopfgewichtes sinken (Paschold et al. 2000). Daher ist die Entwicklung zu immer größeren Einheiten (Schlaghecken und Strohmeyer 1997) problematisch und sollte mit Blick auf die Produktqualität speziell vom Ökologischen Landbau kritisch hinterfragt werden.

Da die Beziehung zwischen Kopfgewicht und dem Ca-Gehalt mit einem Bestimmtheitsmaß von 55 % eine größere Variabilität aufwies (Abb. 5), erscheint im Vergleich zu den übrigen Mineralstoffen eine Selektion auf Ca-reiche Typen als noch weitaus lohnender.

Aus Abbildung 5 geht hervor, daß der Innenbrand auch im Zusammenhang mit der Kopfgröße des Salates gesehen werden muß, da alle Sorten ohne Verbraunung über dem Versuchsmittel (Regression) liegende Ca-Gehalte aufwiesen. Dies bestätigt bekannte Erfahrungen an Salat (Schlaghecken und Strohmeyer 1997) und Kohl (Poerink 1961, zitiert nach Ohls 1988).

Noch deutlicher wird dies, wenn die Ca-Differenzen vom Versuchsmittel (y_i Meßwert - y_i Regression) aus Abbildung 5 in Beziehung zum Grad des Innenbrandbefalls gesetzt werden (Abb. 6). Die Ca-Differenzen der fünf Salatsorten ohne Nekrosen wiesen mit einem mittleren Wert von 0,0070 % signifikant höhere überdurchschnittliche Ca-Gehalte auf als die übrigen Sorten mit Verbraunungen mit einer mittleren Differenz von -0,0043 %. Die Kieselbehandlung der Sorten GREAT LAKES und LAIBACHER EIS hatte keinen Einfluß auf den Verbraunungsgrad (Abb. 5). Zwischen den Gehalten der verschiedenen Mineralstoffe bestanden starke positive Beziehungen (z.B. K und Ca: $R^2 = 87$ %, S und Ca: $R^2 = 64$ %, S und Mg: $R^2 = 79$ %, Mg und P: $R^2 = 78$ %, N und Ca: $R^2 = 72$ % usw.), ohne daß zwischen diesen Elementen kausale physiologische Beziehungen bestehen. Dies besagt, daß Pflanzen mit einem stärkeren Wurzelsystem nicht nur den einen, sondern alle Mineralstoffe vermehrt aufnehmen.

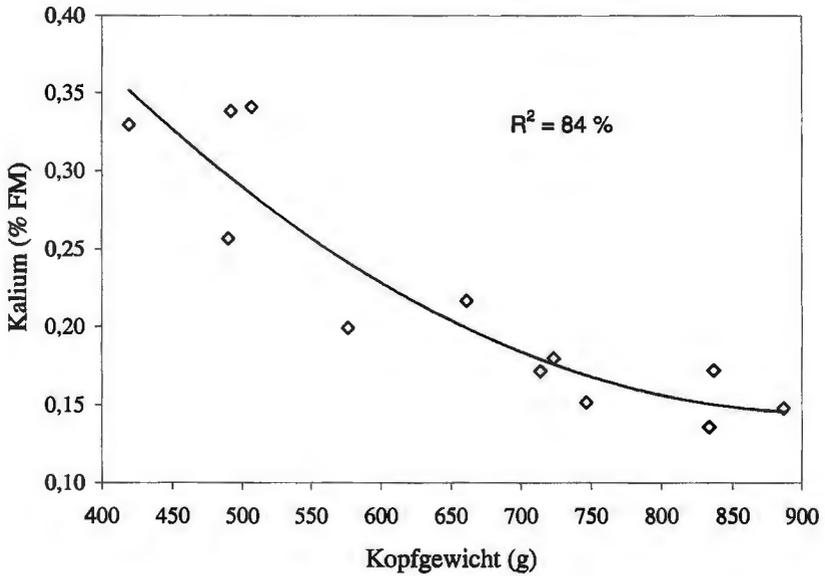


Abb. 2: Beziehungen zwischen Kopfgewicht und K-Gehalt verschiedener Salatsorten

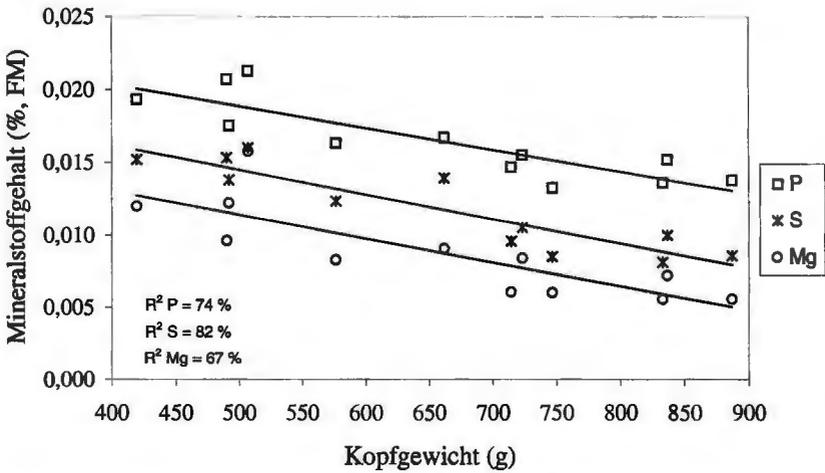


Abb. 3: Beziehungen zwischen Kopfgewicht und P-, S- und Mg-Gehalt verschiedener Salatsorten

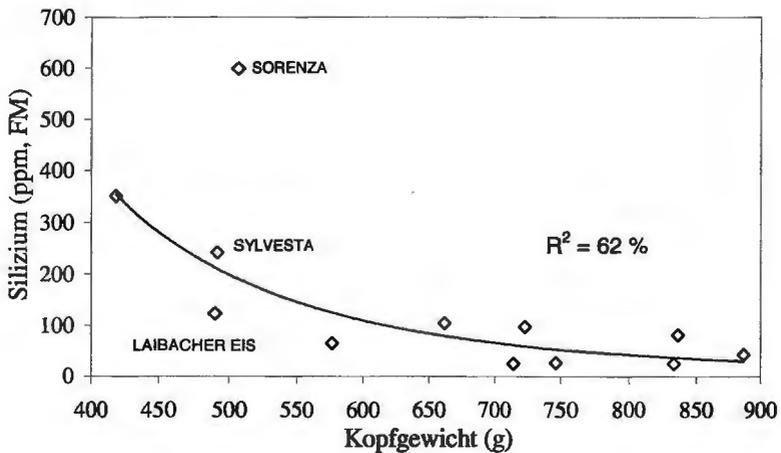


Abb. 4: Beziehungen zwischen Kopfgewicht und Si-Gehalt verschiedener Salatsorten

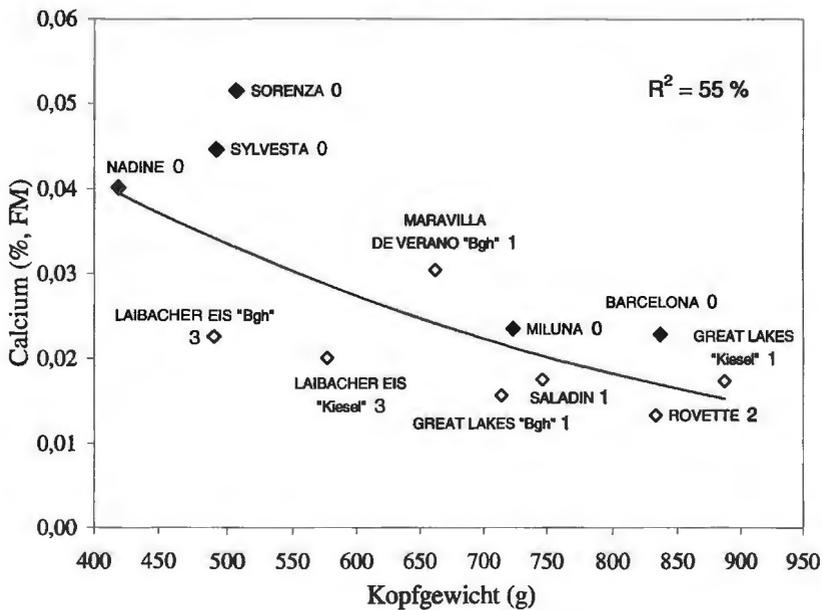


Abb. 5: Beziehungen zwischen Kopfgewicht und Ca-Gehalt verschiedener Salatsorten. Gefüllte Symbole = Sorten ohne Innenbrand. 0-3 = Grad des Innenbrandbefalls: 0 = kein Befall, 1 - 3 = schwacher, mittlerer und starker Befall.

Fazit

Die Mineralstoffgehalte von 12 Sorten Eis- und Kopfsalat aus biologisch-dynamischem Anbau wiesen starke inverse Beziehung zu den ebenfalls sehr unterschiedlichen Kopfgewichten auf, da vermutlich das Wachstum von Kopf und Wurzeln nicht im Gleichgewicht steht. Innenbrand stand in starker Beziehung zu den Ca-Gehalten, wenn die Kopfgewichte in die Betrachtung einbezogen wurden. Speziell die biologisch-dynamische Züchtung sollte sowohl mit Blick auf den Innenbrand als auch die Nahrungsqualität nicht nur das Wachstum des oberirdischen sondern auch des unterirdischen Teils der Salatpflanze fördern.

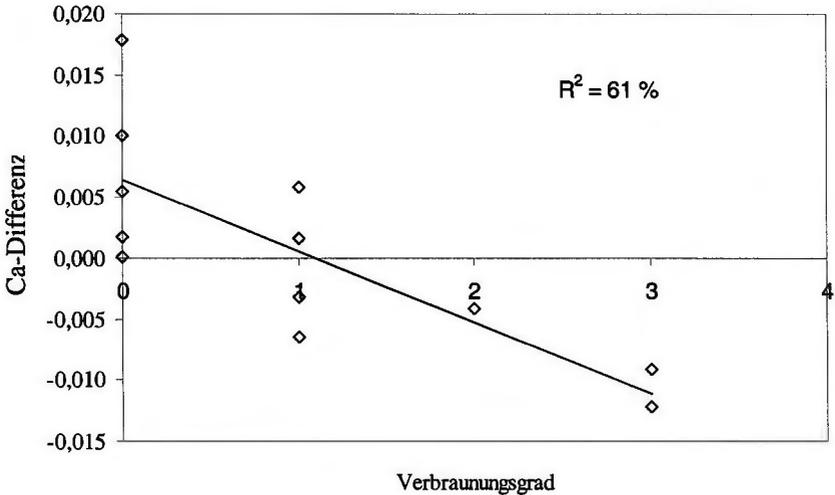


Abb. 6: Beziehung zwischen Verbraunungsgrad und Ca-Differenzen (d.h. Abweichungen der Ca-Gehalte vom Versuchsdurchschnitt, vgl. Abb. 5) verschiedener Salatsorten

Literatur

- Berg, G. (1978): Ernährung und Stoffwechsel. UTB 776, Ferdinand Schöningh, Paderborn.
- Brumm, I. und M. Schenk (1994): Ein hohes N-Angebot fördert Innenbrand bei Kopfsalat. Gemüse 30, Nr. 2, 97-98.
- Hagel, I. (1997): Möhren: Bauen wir die falschen Sorten an? Ökologie & Landbau 1/1997; 42-43.
- Hagel, I., D. Bauer, S. Haneklaus und E. Schnug (2000 a): Zur Qualität von Frühmöhren aus einem biologisch-dynamischen Züchtungsprojekt. Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung e.V., XXXV. Vortragstagung, 20./21. März 2000, Karlsruhe, 217-222.
- Hagel, I., D. Bauer, S. Haneklaus und E. Schnug (2000 b): Zur Qualität von Herbstmöhren aus einem biologisch-dynamischen Züchtungsprojekt. Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung e.V., XXXV. Vortragstagung, 20./21. März 2000, Karlsruhe, 223-228.
- Mengel, K. (1979): Ernährung und Stoffwechsel der Pflanze. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

- Ohls, J. (1988): Untersuchungen über Ursachen und Verhinderung der Innenblattnekrose im Kopfkohl, sowie Möglichkeiten der Anfälligkeitsprognose. Diss., Kiel.
- Paschold, P.-J., J. Kleber, S.T. Adam, A. Bogner und B. Tauscher (2000): Einfluß von Bewässerung und N-Düngung auf Ertrag und Sulforaphangehalt von Brokkoli (*Brassica oleracea*). Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung e.V., XXXV. Vortragstagung, 20./21. März 2000, Karlsruhe, 57-65.
- Poerink, H.J. (1961): Rand in white kool. Alkmaar, Meddeling Nr. 19.
- Schlaghecken, J. und K. Strohmeyer (1997): Blattnekrosen bei Kopfsalat. Rheinische Monatsschrift 8/1997, 588-591.
- Schnug, E. and Haneklaus, S. 1999. Diagnosis of the Nutritional Status and Quality Assessment of Oilseed Rape by X-Ray Spectroscopy. Proc. 10th Int. Rapeseed Congress, Sept. 26-29, 1999, Canberra, (CD-ROM).
- Woese, K., D. Lange, C. Boess, und K. W. Bögl (1995): Ökologisch und konventionell erzeugte Lebensmittel im Vergleich. Eine Literaturstudie, Teil 1 und 2. Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, Hefte 4 und 5/1995.



Indolglucosinolate - Stoffe mit antikanzerogener Wirkung. Übersicht über das Potenzial einiger z. Z. im Anbau befindlicher Sorten

W. Schütze*, F. Marthe**

Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, *Institut für Pflanzenanalytik,
Quedlinburg, **Institut für gartenbauliche Kulturen, Quedlinburg

Indolglucosinolates-substances with anticancerogenic effect. A survey of the potential of some presently cultivated varieties.

Abstract: *As a long-term effect, secondary plant metabolites in fruits and vegetables can reduce the risk of cancer. One of these substances is the group of glucosinolates (GSL) in the Brassicaceae plant family. Specially the indole-GSL and their crack products are known for their positive impact on human nourishment because of their anticancerogenic effect. Their share in the food reception is at present not more than 10%. The examination of the indole-GSL content of 32 varieties shows considerable, significant differences. The content of indole-GSL during the storage of 3 white cabbage cultivars was stable during 6 months. Through interspecific and intergeneric hybridizations as well as protoplast fusions, it is possible to raise the content of indole glucosinolates in Brassica species. Thus, through a careful selection of varieties it is also possible to increase the content of indole glucosinolates in food.*

(W. Schütze (w.schuetze@bafz.de), F. Marthe (f.marthe@bafz.de): D-06484 Quedlinburg, Neuer Weg 22)

In über 250 epidemiologischen Studien wurde bisher belegt, dass ein hoher Verzehr von Obst und Gemüse langfristig das Risiko des Entstehens von Krebs und Herz-Kreislaufkrankungen mindert. Als Schutzfaktoren gelten sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, von denen bisher ca.10.000 in Lebensmitteln nachgewiesen werden konnten. Unter den aus ernährungsphysiologischer Sicht interessanten Verbindungen befindet sich neben phenolischen Antioxidantien, Carotinoiden auch die Gruppe der in den Brassicaceen zahlreich vertretenen Glucosinolate (GSL), von denen speziell der Gruppe der Indolglucosinolate, bzw. den nach Myrosinaseeinwirkung entstehenden Spaltprodukten, auf Grund klinischer Untersuchungen an Tieren eine antikanzerogene Wirkung zugewiesen wurde.

Im Rahmen der durchgeführten Arbeiten wurde geprüft, ob sich Sorten durch besonders hohe Gehalte an Indol-GSL im genußreifen Stadium auszeichnen. In die Auswahl einbezogen wurden 30 Lagerkohlsorten sowie 41 Früh-, Mittel- und Spätkohlsorten (Weißkohl, Rotkohl, Kohlrabi, Brokkoli, Blumenkohl, Wirsing, Grünkohl, Rosenkohl, Zierkohl), die zur Zeit in Deutschland angebaut werden (Abb. 4, 5, 7). Die Erntemenge an Kohl in Deutschland liegt bei 709000 t/Jahr. Den Hauptanteil stellen dabei Weißkohl (514000 t), Blumenkohl (156500 t) und Rotkohl (149800 t). Das Anbauvolumen von Brokkoli (13200 t), mit seiner aus physiologischer Sicht optimalen GSL-Zusammensetzung, ist relativ gering und liegt damit noch unter Kohlrabi (63500 t), Wirsing (45500 t), Chinakohl (39500 t) und Grünkohl (18900

t). Es treten zum Teil erhebliche, signifikante Sortenunterschiede im Gehalt an Indol-GSL auf (Abb. 7).

Daraus ergeben sich Ansatzpunkte für die Züchtung von Sorten mit deutlich erhöhten Gehalten an aus ernährungsphysiologischer Sicht erwünschten Glucosinolaten (Abb. 1). Bestimmte Sorten können zum Anbau empfohlen werden, um den derzeitigen Anteil an Indol-GSL mit der Nahrungsaufnahme (Abb. 2) deutlich zu erhöhen (Abb. 4, 5, 7).

Während der Ontogenese kommt es teilweise zu starken quantitativen Veränderungen einzelner Glucosinolate, während das typische Verteilungsmuster weitestgehend erhalten bleibt (Abb. 3, 4).

Der prozentuale Anteil der ernährungsphysiologisch interessanten Glucosinolate (RAP, Indol-GSL) verringert sich in der Regel bei steigendem Gesamtgehalt, bedingt durch den starken Anstieg von Alkenyl-GSL (SIN, PRO). Jedoch liegen sortenspezifische Abweichungen vor.

Eine Frühselektion für die Belange der Züchtung auf hohe Gehalte an Glucoraphanin und an Indolglucosinolaten scheint auf Grund der vorliegenden Ergebnisse, die eine starke Veränderung der Gehalte während der Ontogenese zeigen, nicht möglich.

Das an einem geringen Materialumfang (drei Weißkohlsorten) getestete Lagerverhalten über einen Zeitraum von sechs Monaten (+1°C, 97-100% Luftfeuchtigkeit) zeigte einen stabilen Gesamt-GSL-Gehalt sowie ein stabiles GSL-Verteilungsmuster. Ein verstärkter Abbau von Indolglucosinolaten war nicht festzustellen (Abb. 6).

Auf die Möglichkeiten der Veränderung des Glucosinolatverteilungsmusters im Hinblick auf einen hohen Indolglucosinolatgehalt durch die Technik der Protoplastenfusion wird hingewiesen (Abb. 8).

Die Art- und Gattungsbastardierung erweitert die Möglichkeiten zur Erzeugung von neuem, wertvollem Ausgangsmaterial. Dies wird am Beispiel von zwei Chinakohl-Wirsing-Bastarden mit spezieller Eignung für den Frischverzehr demonstriert (Abb. 3).

Wesentliche Glucosinolate der Brassicaceen		
Name	Ernährungsphysiologische Bedeutung der Spaltprodukte	Einstufung + / 0 / -
Alkylglucosinolate		
Glucobrarin (BER)	antikarzinogen	+
Glucoraphanin (RAP)		+
Glucosylsarin (ALY)		0
Alkenylglucosinolate		
Sinigrin (SIN)	Leberschäden, mutagener Effekt, antithyroid, sehr bitter	-
Glucoraphin (GNA)	Leberschäden, antithyroid	-
Glucobrassicinapin (GBN)	Leberschäden, antithyroid	-
Progoitrin (PRO)	Leberschäden, goitriner Effekt, sehr bitter	-
epi-Progoitrin (EPI)	Leberschäden, goitriner Effekt, sehr bitter	-
Glucosylisothiocyanat (GIL)		0
Benzylglucosinolate		
Sinensin (SINA)	Wärzstoff, antibakterielle und fungizide Wirkung, scharf	+
Glucosylturpin (NAB)	Geringe antibakterielle und fungizide Wirkung	0
Indolglucosinolate		
4-Hydroxyglucobrassicin (4-OH)	antikarzinogen	+
Glucobrassicin (GBC)	antikarzinogen	+
4-Methoxyglucobrassicin (4-OCH ₃)	antikarzinogen	+
Neoglucobrassicin (NEO)	antikarzinogen	+

Abb. 1: Hauptglucosinolate in Brassica oleracea und die ernährungsphysiologische Bedeutung ihrer Spaltprodukte.

Glucosinolataufnahme in der Region Potsdam 1992/93 ¹⁾			
	Wintermonate ²⁾	Sommermonate ³⁾	Mittelwert ⁴⁾
	in mg / Person / Tag (std in %)		
Aromat. GSL	36,2 (79,0)	I. Alkyl-Land 30,2 (83,0)	33,2 (80,0)
II. Hydroxyalkenyl-GSL	3,5 (7,7)	1,7 (4,7)	2,6 (6,3)
III. Indol-GSL	6,1 (13,3)	4,5 (12,3)	5,3 (12,9)
Summe	45,8 (100)	36,4 (100)	41,1 (100)

¹⁾ berechnet aus dem Kohlgemüsevervoer
²⁾ Okt. - Nov., Dez., Jan.
³⁾ Mai, Juni, Aug., Sept.
⁴⁾ Vierfeldige Berechnung
 (nach Lange und Mitarbeiter 1994)

Abb. 2: Derzeitiger mittlerer Anteil der einzelnen Glucosinolatgruppen an der Nahrungsaufnahme (nach Lange, 1994)

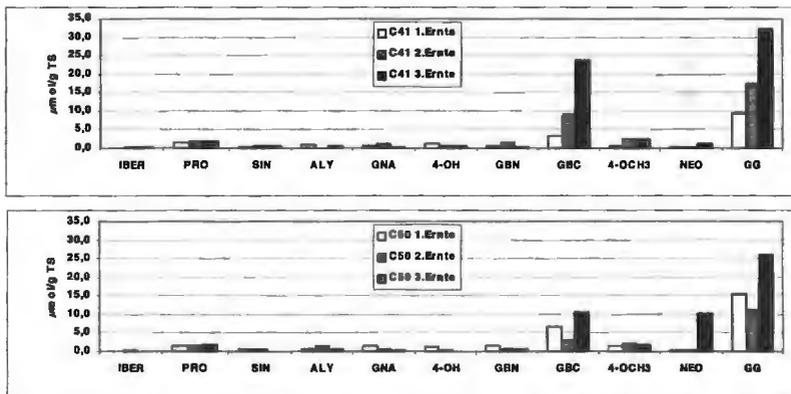


Abb. 3: Vergleich der GSL-Verteilungsmuster zweier Chinakohl-Wirsing-Bastarde (C41, C50; AACC, $2n=4x=38$) und deren Veränderung während der Ontogenese.

- Habituelle Zwischenform im Vergleich zu den elterlichen Genotypen
- Eigenschaften des Chinakohls: milder Geschmack, gute Verdaulichkeit, zarte Blattkonsistenz und Raschwüchsigkeit sind im Bastard verankert
- Höherer Vitamin C- und β -Carotingehalt als der eingekreuzte Chinakohl
- Ausgezeichnete Geschmacksqualität nach sensorischer Prüfung
- Als Rohkost- oder Diätgemüseform besonders geeignet
- Vergleichbar mit dem in Japan schon seit Jahren im Angebot befindlichen Hakuran-Kohl (Chinakohl-Weißkohl-Bastarde)

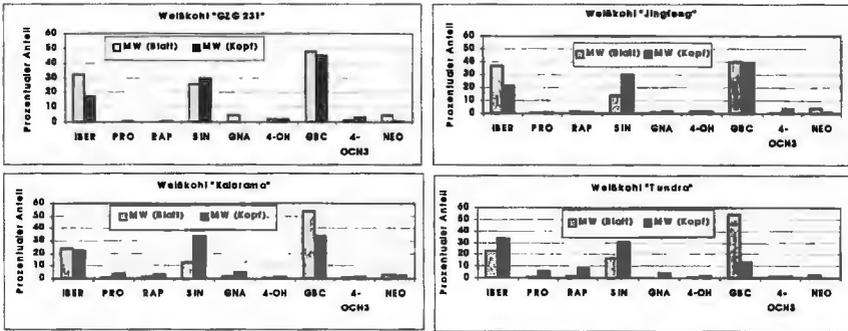


Abb. 4: Glucosinolatverteilungsmuster von 2 frühen (GZG 231, Jingfeng) und 2 späten (Kalorama, Tundra) Weißkohlsorten. Vergleich der prozentualen Anteile der einzelnen GSL am Gesamtgehalt im Jungpflanzenstadium und im erntereifen Stadium. Auffällig ist der starke Rückgang des Gehaltes an OBC bei den beiden späten Sorten, wo hingegen der Gehalt in den 2 frühen Sorten nahezu konstant bleibt.

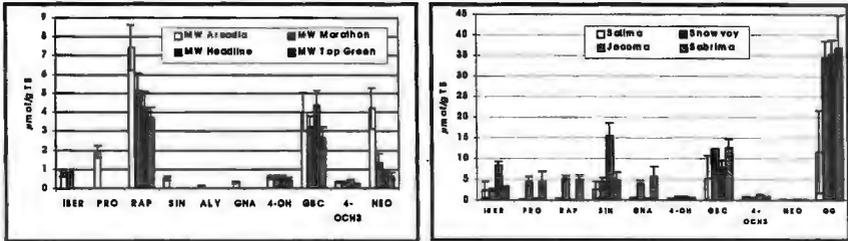


Abb. 5: Glucosinolatgehalt und Verteilungsmuster (Genußreife) von 4 Brokkoli- und 3 Rosenkohlsorten (Mittelwerte aus jeweils 10 Einzelpflanzen)

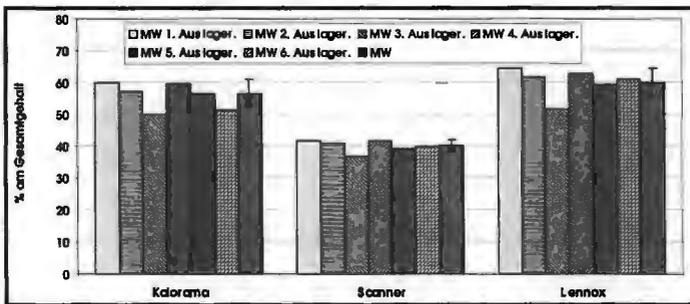


Abb. 6: Veränderung des prozentualen Anteils an den wertgebenden Inhaltsstoffen bei der Lagerung von 3 Sorten Weißkohl - Iberin, Raphanin, Summe der Indolglucosinolate - (Lagerperiode 6 Monate)

	Proben-Nr.	% Indol-GSL
A	25 Rexoma	53,94
A	Lion	51,99
A	Krypton	50,59
A	Ancoma	50,15
A	Rexoma GZG Demo früh	47,36
A	Kalorama (Abst. klein)	46,30
A	Roxy	46,19
A	Kalorama	45,55
A	Kalorama (Abst. mittel)	45,16
A	Rexoma (Abst. groß)	45,01
A	Rexoma (Abst. klein)	44,54
A	Rexoma (Abst. mittel)	43,46
A	Kalorama (Abst. groß)	41,90
A	Kalorama-GZG Demo früh	40,98
A	Zelox	36,58
A	Amon	34,57
A	82/ 8 / CLX 3075	34,52
A	TEX 243	33,85
A	9/ Inselator	33,26
A	Scandic	32,51
A	Veroma	32,33
A	4/Taki	30,40
A	Rodima	29,27
A	Rivers	28,01
A	12/LD 972306	27,31
A	Lennox	27,11
A	L Alfama	24,32
A	L Tigre	20,85
A	L Burton	20,43
A	L Autoro	20,36
A	L Erdeno	19,72
A	L Bartolo	17,03

Abb. 7: Vergleich von 32 Lagerkohlsorten im prozentualen Anteil der Indolglucosinolate am Gesamtgehalt. (Signifikanztest nach Tukey)

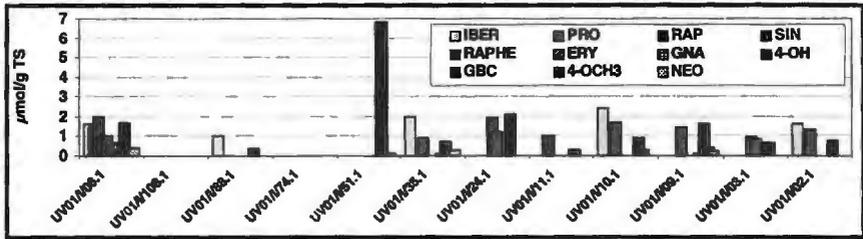


Abb. 8: UV-Protoplastenfusionate aus *Brassica oleracea* und *Raphanus sativus*: Auswahl von 12 Einzelpflanzen mit unterschiedlichen GSL-Verteilungsmustern. Es werden sowohl Pflanzen mit dem kompletten Verteilungsmuster beider Ausgangsformen (UV01/1/06.1) bis hin zu Pflanzen ohne Glucosinolate (UV01/1/108.1) gefunden. Hervorzuheben ist die Pflanze (UV01/1/51.1) mit über 95% Glucobrassicin.

Zusammenfassung:

- Die *Brassica oleracea*-Formen sind durch ein bestimmtes Glucosinolat-Grundverteilungsmuster charakterisiert. Dabei haben speziell die Indolglucosinolate bzw. ihre Spaltprodukte nach Myrosinasespaltung für die menschliche Ernährung auf Grund ihrer antikanzerogenen Wirkung eine positive Bedeutung. Vom Anbau und Verzehr haben Weißkohl, Blumenkohl und Rotkohl die größte Bedeutung für die Ernährung in Deutschland. Brokkoli mit seiner, aus ernährungsphysiologischer Sicht, optimalen Glucosinolatzusammensetzung (sortenabhängig), folgt in weitem Abstand.
- Es treten zum Teil erhebliche, signifikante Sortenunterschiede im Gehalt an Indol-GSL auf, die Ansatzpunkte für die Züchtung von Sorten mit deutlich erhöhten, aus physiologischer Sicht interessanten, GSL-Verteilungsmustern bieten.
- Weitere Möglichkeiten für die Veränderung des Glucosinolatverteilungsmusters im Hinblick auf einen hohen Indolglucosinolatgehalt bietet die Technik der Protoplastenfusion. Die Art- und Gattungsbastardierung erweitert die Möglichkeiten zur Erzeugung von neuem, wertvollen Ausgangsmaterial, hier dargestellt am Beispiel von zwei Chinakohl-Wirsing-Bastarden mit der Eignung speziell für den Frischverzehr.
- Der Anteil an Indolglucosinolaten mit der Nahrungsaufnahme liegt zur Zeit im Mittel nicht wesentlich über 10%. Allein durch die Veränderung der Sortenauswahl im derzeitigen Kohlangebot (unter Beachtung der Anbaueignung, Resistenz usw.), wäre eine deutliche Anhebung dieses Anteils möglich.
- Das an drei Weißkohlsorten getestete Lagerverhalten über einen Zeitraum von sechs Monaten zeigte einen stabilen Gesamt-GSL-Gehalt sowie ein stabiles GSL-Verteilungsmuster. Die zu Beginn der Einlagerung festgestellten Sortenunterschiede blieben erhalten. Ein verstärkter Abbau von Indolglucosinolaten war nicht festzustellen.

(Erläuterung der verwendeten Abkürzungen: IBER-Glucoiberin, PRO-Progoitrin, RAP-Glucoaphanin, RAPHE-Glucoaphanin, ERY-Glucoerysolin, SIN-Sinigrin, ALY-Glucoalyssin, GNA-Gluconapin, 4-OH - 4-Hydroxyglucobrassicin, GBC-Glucobrassicin, 4-OCH3 - 4-Methoxyglucobrassicin, NEO-Neoglucobrassicin, GG-Gesamtgehalt)

Literatur:

- Lange, R.; Lushtak, B.; Ozierenski, B.; Pfaff, G.; 1994: Glucosinolate in Kohlgemüse: Natürliche Schadstoffe oder protektive Faktoren? XXIX. Vortragstagung (GGQ)-Neue Aspekte der gesundheitlichen Wirkung pflanzlicher Nahrungsmittel (21./22. März 1993 in Quedlinburg); 49-73 (Tagungsb.)
- Michajlovskij, N. 1990: Thiocyanate als Indikator von Indol-GSL-Produkten in pflanzlichen Nahrungsmitteln und ihre Bedeutung für Carcinogenese. *Wiss. Z. Ernst-Moritz-Arndt- Univ. Greifswald, Med. Reihe* (39); 1990, Heft 1, 27-28
- Verhoeven, D. T. H., Verhagen, H., Goldblom, R. A. , van den Brandt, P. A. , van Poppel, G.: An review of mechanisms underlying anticarcinogenity by brassica vegetables. *Chemico-Biological Interactions* 103 (1997); 79-129



Qualitätserzielung und –erhaltung durch zielorientierte Ausnutzung des genetischen Potenzials bei Spinat

Anna Jadwiga Keutgen

Institut für Obstbau und Gemüsebau, Auf dem Hügel 6, D-53121 Bonn

Realisation and maintenance of spinach quality by using its genetic potential

Abstract: *The quality of spinach is determined by the genetic potential of the available cultivars. However, the realisation of their potentials is affected by several environmental components and their interactions. It was the aim of the present study to improve the quality and storability of spinach cv. 'San Felix' F1 by adequate pre-harvest treatments, thus realising its genetic potential. The available results indicate that, for example, applications of CaCl₂ (30 mM/l) or Previcur N (0.2%) two weeks before harvest are able to increase spinach yield, improve its quality and extend its storability under simulated sale conditions. Anna Jadwiga Keutgen, Institut für Obstbau und Gemüsebau, Auf dem Hügel 6, D-53121 Bonn*

Einleitung

Die Qualität von Blattgemüse ist durch das genetische Potenzial der zur Verfügung stehenden Sorten determiniert und wird in Abhängigkeit von zahlreichen Einflussfaktoren und ihren Wechselwirkungen realisiert. Zu den zuletzt genannten Faktoren zählen vor allem die Anbaumaßnahmen (z.B. Krankheits-, Insekten- und Unkrautkontrolle, Nährstoff- und Wasserversorgung), die nicht nur die Qualität sondern auch ihre Erhaltung in der Nachertephase beeinflussen. Ziel der Untersuchungen war es daher, durch adäquate Vorerntemaßnahmen, die Qualität und Lagerfähigkeit von Spinat zu steigern.

Material und Methoden

Für die Untersuchungen wurde Spinat (*Spinacia oleracea* L.) der Sorte 'San Felix' F1 eingesetzt. Das Pflanzenwachstum erfolgte unter Praxisbedingungen auf dem Versuchsgut Marhof bei Bonn. Der Spinat wurde an drei Terminen, den 5., 13. und 22. August 1997, ausgesät. Zwei Wochen vor der Ernte wurde ein Teil der Pflanzen entweder mit dem Stärkungsmittel CaCl₂ (30 mM/l) oder dem Fungizid Previcur N (0.2%) behandelt. Den Kontrollpflanzen wurde eine äquivalente Wassermenge (0.5 l/m²) zugeführt. Gelagert wurden die als Wurzelspinat geernteten Pflanzen unter simulierten Verkaufsbedingungen (Lichtphase: 8 h bei 20-25 °C, ca. 65% relative Luftfeuchte; Dunkelphase: 16 h bei 3-4 °C, ca. 98% relative Luftfeuchte). Vor, während und nach der Aufbewahrungsphase wurden die Frischmasseverluste, die Gehalte an Stärke, löslichen Kohlenhydraten und Chlorophyll, sowie die Chlorophyllfluoreszenzen erfasst.

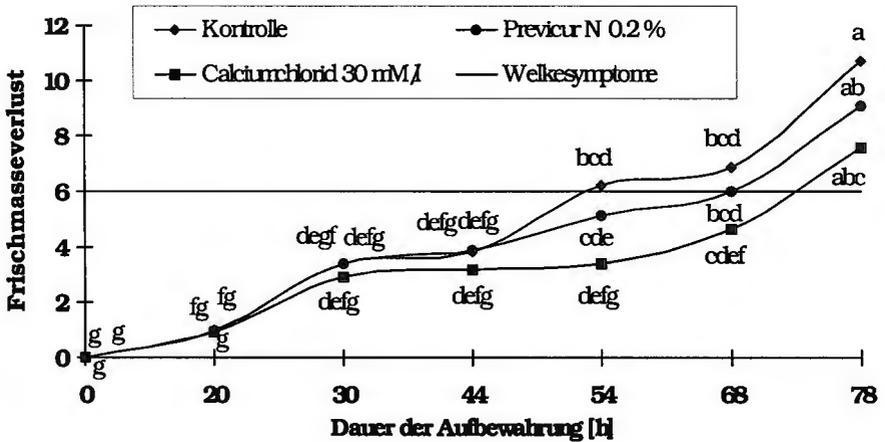


Abb. 1: Kumulativer Frischmasseverlust von Spinat während der Aufbewahrung unter simulierten Verkaufsbedingungen in Abhängigkeit der Vorerntebehandlung (Unterschiede auf dem 5% Niveau nach Duncan, n = 12).

Ergebnisse

Die Applikation von CaCl_2 reduzierte den relativen Wasserverlust während der Lagerung unter simulierten Verkaufsbedingungen und resultierte in einer tendenziell besseren Lagerfähigkeit (Abb. 1). Der Abbau von löslichen Kohlenhydraten und Stärke war verlangsamt (Tab. 1), der Chlorophyllgehalt war jedoch zum Erntezeitpunkt geringer (Abb. 2). Das Photosystem II wurde im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle während der Lagerung stabilisiert (Abb. 3).

Tabelle 1. Prozentualer Abbau von Gesamtchlorophyll, löslichen Kohlenhydraten und Stärke während der Aufbewahrung unter simulierten Verkaufsbedingungen in Abhängigkeit der Vorerntebehandlung.

Variante	Chlorophyll [% d. Einlager.]	Lösl. Kohlenhydrate [% d. Einlager.]	Stärke [% d. Einlager.]
Kontrolle	10.5 a	31.1 a	36.5 a
Previcur N 0.2%	7.6 b	24.8 b	33.9 b
CaCl_2 30 mM/l	10.6 a	21.3 b	27.3 c

Unterschiedliche Buchstaben zeigen einen signifikanten Unterschied auf dem 5% Niveau nach Duncan (n = 16).

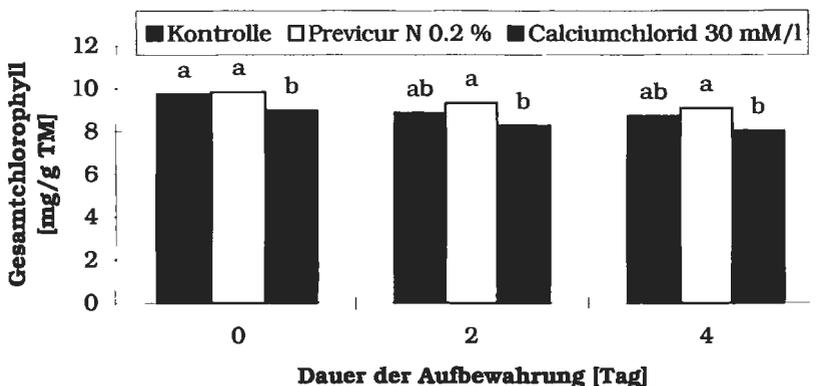


Abb. 2: Veränderung der Gesamtchlorophyllgehalte von Spinatblättern während der Aufbewahrung unter simulierten Verkaufsbedingungen in Abhängigkeit von Vorerntebehandlungen (Unterschiede auf dem 5% Niveau nach Duncan, n = 36).

Das Fungizid Previcur N hat den Vorteil, dass es gegen *Peronospora farinosa* fs. *spinaciae* (Falscher Mehltau) wirksam ist. Im Versuch trug es ebenso wie CaCl_2 zur Qualitätserhaltung bei und minderte den relativen Wasserverlust (Abb. 1). Der Chlorophyllabbau während der Lagerung war verlangsamt (Tab. 1), ohne dass der Chlorophyllgehalt in Folge der Behandlung zum Zeitpunkt der Ernte geringer war (Abb. 2). Der Abbau von löslichen Kohlenhydraten und Stärke war ebenfalls verlangsamt (Tab. 1). Das Photosystem II wurde durch Previcur N wie auch durch CaCl_2 während der Lagerung stabilisiert (Abb. 3).

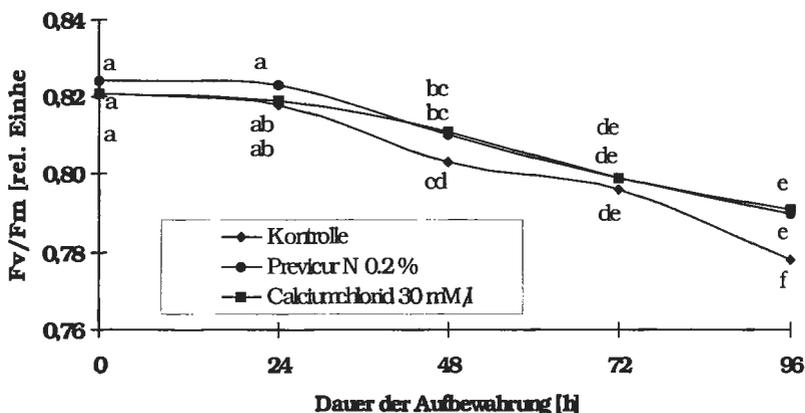


Abb. 3: Einfluss der Vorerntebehandlung auf die Veränderung der optimalen Quantenausbeute F_v/F_m während der Aufbewahrung unter simulierten Verkaufsbedingungen bei Spinat (Unterschiede auf dem 5% Niveau nach Duncan, n = 48).

Diskussion

In Tabelle 2 ist eine vereinfachte Kosten-Nutzen Rechnung dargestellt, wie sie sich aus den Versuchsergebnissen ergibt. Die Applikation von CaCl_2 oder Previcur N führte zu einem tendenziell höheren Ertrag und vor allem zu einer besseren Lagerfähigkeit von Wurzelspinat. Dies manifestierte sich in geringeren Qualitätsverlusten während der Lagerung unter simulierten Verkaufsbedingungen. Dabei zeigte CaCl_2 eine stärkere Wirkung als Previcur N. CaCl_2 erhöhte den Gewinn im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle um ca. 12% und Previcur N um ca. 5%. Der geringere Gewinn bei Previcur N mag durch den zusätzlichen Schutz vor Mehлтаubefall mehr als kompensiert werden. Die Versuchsergebnisse belegen, dass das genetische Potenzial von Spinat durch adäquate Vorerntmaßnahmen besser genutzt werden kann, um sowohl den Ertrag als auch die Qualität und die Haltbarkeit zu optimieren.

Tabelle 2. Vereinfachte Kalkulation der Kosten-Nutzen Rechnung für eine Applikation von CaCl_2 und Previcur N bei Spinat mit Bezug auf den Ertrag von einem ha Anbaufläche.

Behandlung	Ertrag [t/ha]	Ertrag [€/ha]	Lagerverluste [€/ha]	Applikations- kosten/ha [€]	Gewinn [€/ha]
Kontrolle	32.74	50 223.2	6 396.8	0.0	43 826.4
Previcur N 0.2	33.80	51 849.2	5 522.4	270.4	46 056.4
CaCl_2 30 mM/l	35.28	54 119.5	4 694.0	51.72	49 373.8

Annahmen: Durchschnittspreis für a) 1 t Wurzelspinat: 1 534.0 €
 b) 1 l Previcur N: 67.6 €
 c) 1 kg CaCl_2 : 7.7 €



Produktions- und ernährungsphysiologische Evaluierung neuer Artischockensorten

Liv Halter, Ruth Habegger, W.H. Schnitzler

Lehrstuhl für Gemüsebau, Wachstumsphysiologie und Qualitätsforschung
TU München, Freising-Weihenstephan

*Evaluation of new artichoke cultivars (*Cynara scolymus* L.) from the point of view of
production and nutritional quality*

Abstract: *During the growing season 2001 four new artichoke hybrids have been evaluated and compared to the standard variety Green Globe. Green Globe was the earliest variety whereas the hybrids were classified as medium-early up to late varieties. Two of the hybrids reached the yield of Green Globe whereas the other two produced less than 1000 g per plant. The new varieties broaden the range of artichoke types for annual production. Concerning the inner quality an influence of variety but also of time of harvest on the content of crude fibre as well as total sugar has been found. The sugar distribution was different for green and purple artichoke types. The experiment lead to the result that using the three varieties with high yield production of quality artichokes in annual systems is possible with a harvest period from mid-July to the beginning of October.*

*Lehrstuhl für Gemüsebau, Wachstumsphysiologie und Qualitätsforschung
TU München, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Dürnast II, 85350 Freising*

Einleitung

In den traditionellen Anbauregionen im Mittelmeerraum erfolgt der Anbau von Artischocken mehrjährig unter Verwendung von vegetativ vermehrtem Pflanzmaterial (BIANCO, 1990). Dieses Material hat unter anderem die Nachteile der geringen Vermehrungsrate, aufwendiger Pflanzverfahren, Gefahr von Krankheitsübertragungen sowie heterogener Bestände (PÉCAUT et al., 1981). Daher steigt das Interesse an der Verwendung von Saatgut. Dieses ermöglicht auch den einjährigen Anbau von Artischocken (PERKO, 1996). Mit der Verfügbarkeit von Saatgut und der Möglichkeit einjähriger Kulturen entfallen die beiden entscheidenden limitierende Faktoren des Gemüseartischockenanbaus in Deutschland. Ein Verfahren für den einjährigen Anbau von Artischocken zur Nutzung als Gemüse, angepasst an die Klimabedingungen von Mitteleuropa wurde von HALTER UND SCHNITZLER (2000) entwickelt. Kulturen, die mit Sämlingspflanzen angelegt wurden, bilden aufgrund der genetischen Heterogenität der Pflanzen jedoch häufig keine sortenechten Knospen (BAGGETT et al., 1982). Aufgrund starker Inzuchtdepressionen ist die Züchtung reiner Linien sehr schwierig (FOURY, 1979). Da die starken Heterosiseffekte von Hybriden erkannt wurden (PÉCAUT UND FOURY, 1992) laufen intensive Bemühungen, neue leistungsfähige Hybride bereitzustellen. Bisher vorhandenes Material stammt zumeist aus offener Bestäubung. Die Knospen der Sorte „Green

Globe“ erwiesen sich als ausreichend homogen, um die Anforderungen für den Frischmarkt zu erfüllen. Violette Typen erfüllen diese Anforderungen dagegen noch nicht, so dass die Typenpalette im Vergleich zu den Klonen sehr eingeschränkt ist. Neue grüne und violette Hybridsorten wurden im Jahr 2001 unter bayerischen Klimabedingungen evaluiert. Neben dem Vergleich der Ertragsparameter und der äußeren Qualität werden die inneren Qualitätsparameter Zucker- und Rohfasergehalt dargestellt, die einen wesentlichen Beitrag zur ernährungsphysiologischen Bedeutung dieses Gemüses leisten.

Material und Methoden:

Die Sorten Nun 6371, Nun 6370, Nun 6374 und Nun 6377 sowie die Standardsorte Green Globe (GG) wurden unter gleichen Bedingungen angebaut und hinsichtlich Ertrag und Qualität evaluiert. Die Aussaat erfolgte am 01.03.01 in 96er Vefiplatten. Im Alter von 4 Wochen wurden die Sämlinge in 10er-Töpfe pikiert und bis zur Auspflanzung am 25.04. im Gewächshaus auf Anstautischen mit Nährlösung Flory 9 (1 g/l) kultiviert. Gepflanzt wurde in schwarze PE-Mulchfolie in Pflanzabständen von 1,5 m zwischen den Reihen und 0,6 m in der Reihe. Pro Sorte wurden 50 bis 100 Jungpflanzen verwendet. Düngung und Bewässerung erfolgten über ein Tropfsystem, das als Fertigationssystem genutzt wurde. Die Gesamtdüngemenge von 300 kg N und 400 kg K₂O wurde auf 7 Applikationen, anfangs N-, später K₂O-betont, beginnend 2 Wochen nach der Pflanzung, verteilt. Als Ertragsparameter wurden Beginn und Dauer der Ernteperiode, Gesamtertrag sowie Knospenzahl pro Pflanze erfasst. Mittleres Knospengewicht, essbarer Anteil, Zucker- und Rohfasergehalt wurden als Kriterien zur Erfassung der Qualität ausgewertet. Die Bestimmung der Qualitätsparameter erfolgte getrennt für jeweils 5 bis 10 Primär- und Folgeknospen der verschiedenen Sorten am 29.08.. Für Knospen der Sorte Green Globe erfolgte die Bestimmung der Qualitätsparameter bereits am 07.08.. Um einen direkten Vergleich von Knospen des gleichen Erntetermins zu erhalten, wurde die Sorte Green Globe in einem zweiten Satz angebaut (GG S2), der am 01.04. ausgesät wurde und am 02.05. in Form von 77er Vefipflanzen direkt ins Feld ausgepflanzt wurde. Für Knospen dieses Satzes erfolgte die Qualitätsbestimmung ebenfalls am 29.08.. Der Rohfasergehalt wurde als Massenverlust nach saurer und alkalischer Extraktion bestimmt. Die Komponenten Inulin, Glucose, Saccharose und Fructose wurden mittels HPLC im wässrigen Extrakt bestimmt und mittels eines externen Standards quantifiziert. Zur Trennung wurde eine RPM-Monosaccharid (Pb²⁺) Säule der Fa. Phenomenex verwendet (HALTER, 2002).

Ergebnisse:

Die Ernte der Sorte Green Globe (S1) begann bereits am 17.07.01, 19,5 Wochen nach Aussaat. Die Sorten Nun 6370, 6374, 6371 und 6377 kamen zwischen dem 01.08. und dem 20.08. im Abstand von jeweils einer Woche in Ertrag. Die Hybride Nun 6370 wurde als früher Typ klassifiziert. Nun 6377 ist ein später Typ, die beiden übrigen fielen in die Gruppe der mittelfrühen Typen. Der Erntebeginn des zweiten Satzes von Green Globe fiel auf den 07.08.. Die Entwicklungsphase bis zur Ernte betrug damit lediglich 18,5 Wochen. Alle Sorten bildeten homogene Knospen, die den Frischmarktanforderungen entsprachen. Bei Nun 6370 handelte es sich um einen grünvioletten Typ, Nun 6371 war ein hellvioletter Typ. Nun 6374 war von ansprechender tiefvioletter Erscheinung. Nun 6377 entspricht dem grünen Camustyp. Die Ertragsperiode dauerte in Abhängigkeit der Sorte zwischen 5 und 8 Wochen. Dabei erbrachten die Sorten einen Gesamtertrag zwischen 767 g und 1465 g (Abb.1). Die beiden Hybriden Nun 6374 und 6377 erbrachten mit 1331 g bzw. 1204 g Gesamterträge auf dem Niveau von Green Globe, während die beiden Hybriden Nun 6370 und 6371 nur geringe

Erträge erzielt. Die späte Aussaat von Green Globe (S2) erbrachte lediglich 767 g und lag damit deutlich unter dem Ertrag aus Satz 1.

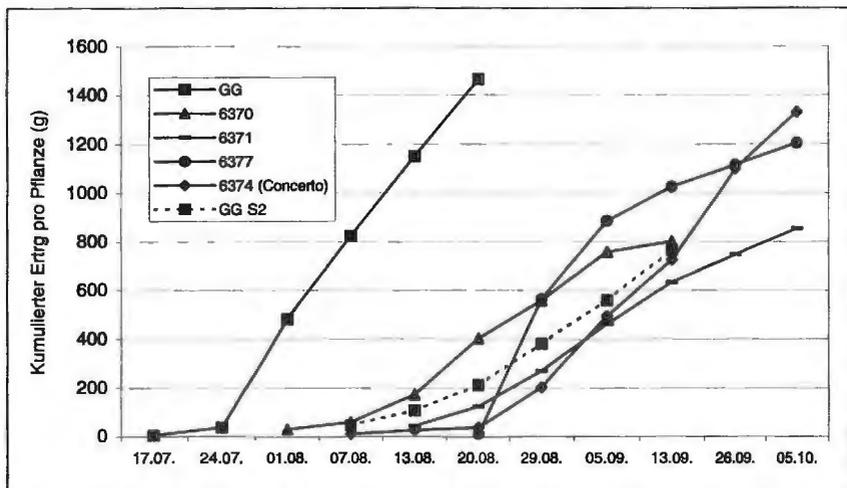


Abb. 1: Ertragsverteilung der verschiedenen Sorten

Die verschiedenen Sorten unterschieden sich hinsichtlich ihres Knospengewichts nicht signifikant. Primärknospen hatten ein Gewicht zwischen 306 g und 382 g, Folgeknospen besaßen mit 172 g bis 206 g ein signifikant geringeres Gewicht.

Im Bezug auf den essbaren Anteil unterschieden sich Folgeknospen der geprüften Sorten ebenfalls nicht signifikant. Primärknospen von GG (S1) hatten tendenziell einen geringeren essbaren Anteil als Knospen des späteren Erntetermins. Knospen der Sorte Nun 6374 hatten mit 21,7 % den geringsten essbaren Anteil, unterschieden sich jedoch nur von Nun 6377 signifikant, die auch mit 26,9 % den höchsten essbaren Anteil besaß (Tab.1).

Bezüglich des Parameters Fasergehalt unterschieden sich die Sorten weder für Primär- noch für Folgeknospen signifikant. Dieser lag zwischen 5,8 % und 8,7 %.

Aus ernährungsphysiologischer Sicht ist der Zuckergehalt und dessen Zusammensetzung ein wichtiger Qualitätsparameter. Der Saccharosegehalt lag für alle Sorten und Knospenordnungen zwischen 26,4 mg/g TS und 50,4 mg/g TS. Ein einheitlicher Einfluss von Sorte, Knospenordnung oder Erntetermin konnte nicht nachgewiesen werden. Bezüglich der Parameter Glucose und Fructose variierten die Werte auch innerhalb der einzelnen Sorten sehr stark, so dass Unterschiede statistisch nicht abgesichert werden konnten. Green Globe (S2) wies jedoch einen deutlich höheren Glucosegehalt auf als Knospen aus Satz 1. Auch Primärknospen von Nun 6377 beinhalteten einen sehr hohen Glucosegehalt (Tab.1). Von besonderem Interesse war der Inulingehalt. Mit Ausnahme der Knospen von GG (S2) lag dieser in Folgeknospen tendenziell höher als in Primärknospen. Knospen von GG (S1) wiesen einen deutlich höheren Inulingehalt auf, während sich die Hybride nicht deutlich unterschieden. Etwas geringer war der Gehalt von Nun 6370. Dieser Einfluss spiegelt sich auch im kumulierten Zuckergehalt wieder (Abb. 2).

Tab.1: Qualitätsparameter der verschiedenen Sorten

Erntetermin	Sorte	Essb. Anteil (% FM)	Inulin	Saccharose	Glucose	Fructose
Primärknospen						
07.08.	GG	21.1 ± 1.0	424.1 ± 166.2	45.6 ± 4.1	23.7 ± 16.6	15.8 ± 15.7
29.08.	6377	26.9 ± 0.8	294.1 ± 44.1	50.4 ± 7.9	86.7 ± 46.1	5.0 ± 3.1
	6371	23.3 ± 2.6	344.4 ± 29.4	40.6 ± 34.5	13.0 ± 9.9	0.6 ± 0.8
	6374	21.7 ± 1.8	370.6 ± 114.7	31.6 ± 7.2	25.9 ± 27.5	3.1 ± 5.4
	6370	23.8 ± 3.8	287.0 ± 70.2	30.5 ± 9.4	5.2 ± 1.5	6.3 ± 5.5
	GG S2	23.5 ± 1.0	316.0 ± 56.0	39.8 ± 10.4	73.0 ± 13.4	11.2 ± 8.6
Folgeknospen						
07.08.	GG	23.9 ± 1.1	486.3 ± 32.5	44.2 ± 2.4	55.6 ± 9.5	2.7 ± 1.1
29.08.	6374	23.6 ± 2.1	394.1 ± 165.7	45.0 ± 14.2	35.0 ± 25.7	4.2 ± 5.0
	6370	22.0 ± 4.2	363.3 ± 153.5	26.4 ± 9.3	25.3 ± 31.1	1.8 ± 2.2
	GG S2	26.2 ± 3.4	301.0 ± 34.9	39.8 ± 18.4	105.2 ± 53.3	6.1 ± 4.7

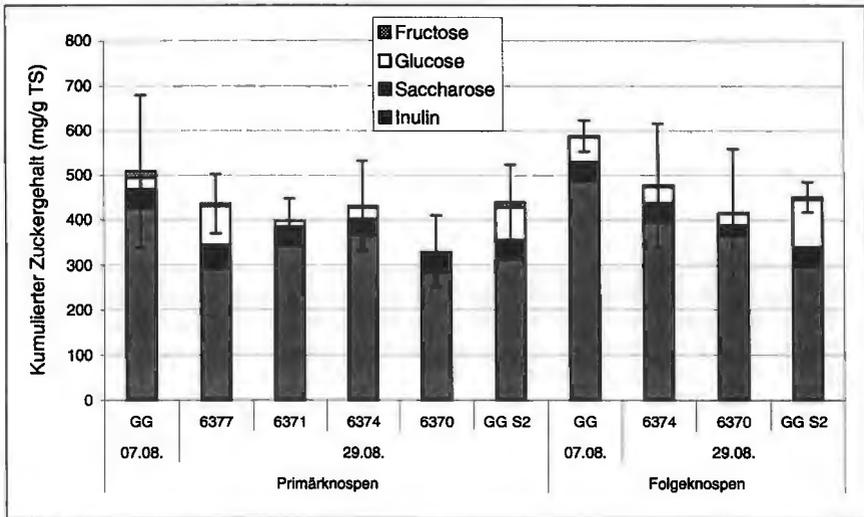


Abb.2: Kumulierter Zuckergehalt im essbaren Anteil von Primär- und Folgeknospen der verschiedenen Sorten (x = 5 bis 10)

Für die sensorischen Qualitäten ist die relative Zuckerzusammensetzung von besonderem Interesse. Diese ist in Abb. 3 dargestellt. Inulin stellte stets die Hauptkomponente dar. Auffällig war der höhere Gehalt von Inulin in GG (S1) im Vergleich zu GG (S2) sowohl bei Primär- als auch bei Folgeknospen. Knospen beider Ordnungen der Ernte vom 29.08. ließen sich in 2 Gruppen untergliedern. Die violetten Typen (Nun 6371, 6374, 6370) wiesen bei einem vergleichsweise geringen Glucoseanteil einen hohen Inulinanteil auf. Grüne Typen besaßen einen geringen Inulinanteil bei hohem Glucoseanteil. Der Saccharoseanteil der Sorten unterschied sich nicht wesentlich. Green Globe Knospen der früheren Ernte entsprachen in Bezug auf ihre Zuckerzusammensetzung den violetten Typen der späteren Ernte.

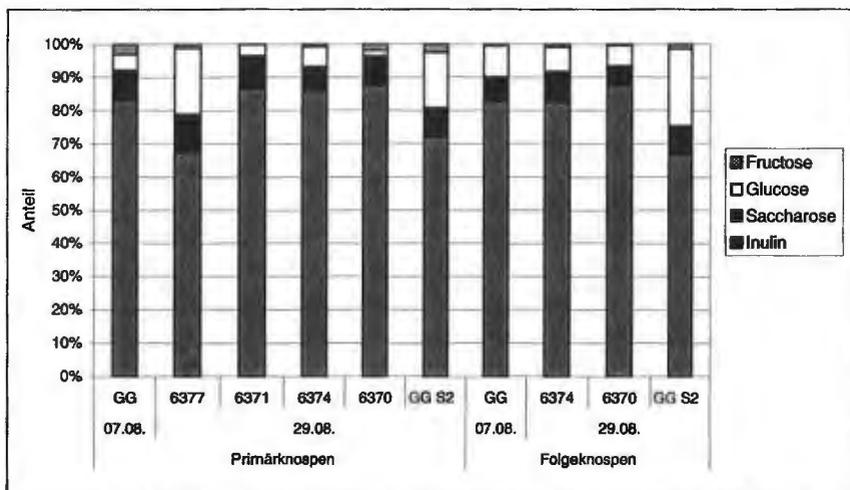


Abb.3: Relative Zuckerzusammensetzung im essbaren Anteil von Primär- und Folgeknochen der verschiedenen Sorten

Diskussion

Die Sorte Green Globe zeichnete sich durch frühen und hohen Ertrag aus. Bei Anbau außerhalb der optimalen Periode war der Ertrag dagegen nur gering. Der Erntebeginn der Hybridsorten fiel auf spätere Erntetermine, wobei sich deutliche Unterschiede hinsichtlich der Frühzeitigkeit ergaben. Die beiden Hybride Nun 6374 und 6377 erwiesen sich als leistungsstark. Durch eine Kombination dieser Sorten mit Green Globe konnte eine Ertragsphase vom 10.07. bis 05.10.2001 erzielt werden. Dieser Erntezeitraum schließt die Produktionslücke des Mittelmeerraums (MARZI, 1967) und ist somit für die Produzenten eine wirtschaftliche Chance. Die verschiedenen Sorten bieten bereits ein gewisses Spektrum an Typen hinsichtlich Ertragsphase, Farbe und Form. Um die Typenvielfalt der vegetativ vermehrten Klone, die von MARZI (1967) vorgestellt wurde, zu erreichen, sind jedoch noch erhebliche Anstrengungen erforderlich. Mit einem Ertrag von ca. 15 t/ha ist dieser höher als in Italien, wo pro Hektar 10 t geerntet werden (FAO-Statistik, 2001).

Ein Sorteneinfluss lag bezüglich der inneren Qualitätsparameter vor, wobei eine Unterteilung in grüne und violette Typen möglich ist. Dabei sind innerhalb eines Erntetermins die violetten Typen durch einen geringeren Fasergehalt sowie eine veränderte Zuckerzusammensetzung gekennzeichnet. Im Gegensatz zu den grünen Typen weisen sie einen höheren Inulinanteil bei geringem Glucoseanteil auf. Die Knospenordnung hatte lediglich einen Einfluss auf die Knospenfrischmasse, die mit höherer Knospenordnung pflanzenphysiologisch bedingt sinkt. Der Einfluss der Sorte auf die innere Qualität wurde auch von der Arbeitsgruppe von DI VENERE et al. (2000) beschrieben. Die Ergebnisse der eigenen Versuche deuten darauf hin, dass auch ein entscheidender Einfluss des Erntetermins vorliegt, der den der Sorte übersteigt. Dieser Einfluss wurde auch von BIANCO (1990) erwähnt. Die Züchtung neuer Sorten ermöglicht eine Ausweitung des Artischockenanbaus. Durch das gute Abschneiden der Sorte Nun 6374 steht diese in der Saison 2002 unter dem Namen „Concerto“ für den erwerbsmäßigen Anbau zur Verfügung. Trotz dieser Fortschritte ist die Palette besonders der violetten Typen noch eingeschränkt, da von den drei getesteten violetten Sorten lediglich eine einen wirtschaftlich interessanten Ertrag erzielte. Der Anbau von Artischocken bietet jedoch

auch mit dem bereits vorhandenen Spektrum eine wirtschaftlich interessante Perspektive für den deutschen Erwerbsanbau.

Zusammenfassung

Während der Anbausaison 2001 wurden 4 neue Hybride im Vergleich zu der Standardsorte Green Globe evaluiert. Green Globe war die früheste Sorte. Die Hybride wurden als mittelfrühe bis späte Typen klassifiziert. Nun 6374 (grüner Camustyp) und Nun 6374 (violetter Typ) erreichten das Ertragsniveau von Green Globe, die beiden anderen Sorten erbrachten weniger als 1000 g pro Pflanze. Durch die neuen Hybride wird das für den einjährigen Anbau verfügbare Typenspektrum erweitert. Ein Einfluss der Sorte sowie des Erntetermins auf den Rohfaser- sowie den kumulierten Zuckergehalt wurde gezeigt. Die Zuckerzusammensetzung der grünen Typen unterschied sich von der der violetten Typen. Die Ergebnisse des Versuchs demonstrieren die Möglichkeit durch Anbau der 3 Sorten mit hohem Ertrag qualitativ hochwertige Artischocken im einjährigen Anbau zu produzieren. Die Ernteperiode dauert von Mitte Juli bis Anfang Oktober. Die Sorte Nun 6374 steht in der Saison 2002 erstmals unter dem Namen „Concerto“ für den erwerbsmäßigen Anbau zur Verfügung.

Literatur:

- Baggett, J.R., Mack, H.J. und Kean, D., 1982: Annual culture of globe artichoke from seed. HortScience 17(5):766-768
- Bianco, V.V., 1990: Carciofo (*Cynara scolymus* L.) in: Bianco, V.V. und Pimpini, F. (eds.): Orticoltura. Pàtron Editore Bologna
- Di Venere, D., Linsalata, V., Calabrese, N., Perialice, M., Lattanzio, V. und Bianco, V.V., 2000: Morphological and biochemical changes during growth and development of artichoke buds. IV International Congress on artichoke, book of abstracts. p. 81
- FAO-Statistik 2001
- Foury, C., 1979: Quelques aspects pratiques de la sélection généalogiques de l'artichaut I – Présentation. Création de lignées. Ann. Amélior. Plantes 29:382-418
- Halter, L. und Schnitzler, W.H., 2000: Artischockenanbau – Erste Erfahrungen aus Bayern. Monatsschrift 88, pp. 188-190
- Halter, L., 2002: Systemabhängige Qualität von Artischocken (*Cynara scolymus* L.). Dissertation TUM, Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt, Lehrstuhl für Gemüsebau. In Vorbereitung
- Marzi, V., 1967: La coltura del carciofo in Italia: Distribuzione, varietà e tecniche colturali per regione. Atti del 1° Congresso internazionale di studi sul carciofo. Edizione Minerva Medica, Bari, pp. 343-369
- Pécaut, P., Foury, C., Rico, F. und Martin, F., 1981: Bilan d'un premier cycle de sélection de variétés d'artichaut à semer. Atti del 3° Congresso Internazionale di studi sul carciofo. Industria Grafica Laterza, Bari, pp. 615-627
- Pécaut, P. und Foury, C., 1992: L'artichaut. In: A. Gallais und H. Bannerot (eds.): Amélioration des espèces végétales cultivées. INRA, Paris. pp. 460-470
- Perko, J., 1996: Artichaut: premières expériences en culture annuelle. Der Gemüsebau/Le Maraicher 59(3), p. 15



Physiologische Grundlagen zur Züchtung auf Kältetoleranz bei Bohne (*Phaseolus vulgaris*)

Amina Saied, Norbert Keutgen & Georg Noga

Institut für Obstbau und Gemüsebau, Bonn

*Physiological basis for breeding to cold stress tolerance in common bean (*Phaseolus vulgaris*)*

Abstract: *The world demand of common bean (*Phaseolus vulgaris*) is growing, so that this plant is now cultivated extensively on almost all continents. Low temperature is one of the primary stress factors limiting growth of beans. Plants in the seedling stage are more sensitive to cold stress. This study was conducted to investigate, which physiological components, determined by the plant's genotype, are responsible for the cold stress sensitivity. It is the long-term aim of the research project, to increase the cold tolerance of common bean seedlings by improving their genetic constitution either by classical breeding methods or genetical engineering. The present study revealed two main goals for the selection or development of new clones. First, the improved clones should be less sensitive to the formation of ice crystals in stem and petioles. Second, the tolerance of the light reactions of photosynthesis to cold stress has to be improved.*

Amina Saied, Institut für Obstbau und Gemüsebau, Auf dem Hügel 6, D-53121 Bonn

Einleitung

Der Weltbedarf an *Phaseolus vulgaris* nimmt kontinuierlich zu, so dass diese Pflanze in der heutigen Zeit auf fast allen Kontinenten angebaut wird. Dabei stellen in höheren Breiten zu niedrige Temperaturen insbesondere für junge Pflanzen eine Bedrohung für das Wachstum dar. Sämlinge reagieren besonders empfindlich auf einen Kältestress. Die vorliegende Studie hat es sich zum Ziel gesetzt, die durch den Pflanzengenotyp determinierten physiologischen Komponenten aufzuzeigen, die bei der Empfindlichkeit auf Kältestress von Bedeutung sind. Das langfristige Ziel des Projektes besteht in einer Steigerung der Kältetoleranz von Bohne. Dabei können sowohl die klassischen Methoden der Pflanzenzüchtung als auch aktuelle molekularbiologische Methoden eingesetzt werden.

Material und Methoden

Für die Untersuchungen zur Kälteempfindlichkeit wurde Saatgut von *Phaseolus vulgaris* cv. 'Rocdor' eingesetzt. Die Sämlinge wurden in einer sterilisierten Mischung (50/50 v/v) aus Humus und Sand in einer Klimakammer angezogen, bis die Primärblätter vollständig entwickelt waren. Die Wachstumsbedingungen waren ein 12/12 h Tag-/Nachtzyklus bei 20/18 °C und eine relative Luftfeuchtigkeit von ca. 65%. Zur Untersuchung auf Auswirkungen von Kältestress wurden die Pflanzen während der letzten drei Stunden der Dunkelperiode einer Temperatur von -3.0 ± 0.5 °C ausgesetzt. Anschließend wurden die Sämlinge wieder in die Klimakammer überführt. 24 Stunden nach dem Kältestress wurden die

Sämlinge wieder in die Klimakammer überführt. 24 Stunden nach dem Kaltstress wurden die Pflanzen im Hinblick auf sichtbare Kälteschäden bonitiert. Von den augenscheinlich unbeschädigten Blättern wurden A/C_i -Kurven (A = Nettophotosyntheserate, C_i = blattinterne CO_2 -Konzentration) mit dem CIRAS-1 (PP-Systems, England) bei Lichtsättigung (PPFD = $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) gemessen und mit Kurven von entsprechenden Blättern ungestresster Pflanzen verglichen. Aus den A/C_i -Kurven wurden die Carboxylierungseffizienz g'_m und die maximale Photosyntheserate A_{max} berechnet. Parallel zu den A/C_i -Kurven wurden der Gaswechsel bei 360 ppm CO_2 und die Dunkelatmung R erfasst. Es sollte die Hypothese geprüft werden, dass der Gaswechsel von augenscheinlich unbeschädigten Bohnensamlingen durch den Kaltstress beeinträchtigt wird. Ziel war es, zwischen einer Beeinträchtigung der Lichtreaktion der Photosynthese (Reduktion von A_{max}), der Dunkelreaktionen der Photosynthese (Abnahme von g'_m) und der Respiration (Zunahme von R) zu unterscheiden.

Ergebnisse und Diskussion

Als Reaktion auf den Kaltstress konnten bei *Phaseolus vulgaris* cv. 'Rocdor' vier Typen unterschieden werden: Pflanzen mit kollabiertem Stängels (Typ 1a) oder Blattstiel (Typ 1b), Pflanzen mit gekräuselten Blättern (Typ 2) und Pflanzen ohne sichtbaren Schaden (Typ 3). Unter den gewählten Versuchsbedingungen war der Typ 3 mit ca. 68% am häufigsten, gefolgt von Typ 1 (28%) und Typ 2 (4%). Eine statistische Auswertung der Daten ergab keine signifikante Beziehung zwischen morphologischen Eigenschaften wie dem Oberflächen/Volumenverhältnis z.B. des Stängels und dem Auftreten von Kaltstresssymptomen. Eine Vorhersage für das Kollabieren von Stängeln und Blattstielen, dem häufigsten Schadensbild bei der Bohne, war nicht möglich.

In weiteren Versuchen wurden die Auswirkungen von Kaltstress auf den Photosyntheseapparat der Primärblätter von Bohne untersucht. Dabei stand der Typ 3 im Vordergrund der Studien, da dieser, im Unterschied zum Typ 2, keine sichtbaren Beschädigungen des Photosyntheseapparates zeigte. Bei den $-3 \text{ }^\circ\text{C}$ ausgesetzten Pflanzen war die Nettophotosyntheserate signifikant geringer, die stomatäre Leitfähigkeit tendenziell reduziert (Tabelle 1).

Tabelle 1. Nettoassimilationsrate (A), blattinterne CO_2 -Konzentration (C_i), Transpirationsrate (E) und stomatäre Leitfähigkeit (g_s) bei 360 ppm CO_2 von Kontrollblättern und kaltgestressten Typ3-Blättern.

Behandlung	A ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	C_i (ppm)	E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	g_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
Kontrolle vorher	8.8 ± 0.5 a (n=12)	181.8 ± 24.6 a (n=12)	1.6 ± 0.3 a (n=12)	95.1 ± 21.2 a (n=12)
Kontrolle nachher	9.2 ± 1.5 a (n=12)	190.8 ± 25.1 a (n=20)	1.6 ± 0.5 a (n=12)	106.3 ± 36.9 a (n=12)
gestresst vorher	8.8 ± 0.7 a (n=20)	182.3 ± 20.6 a (n=20)	1.5 ± 0.3 a (n=20)	94.2 ± 21.7 a (n=20)
gestresst nachher	7.8 ± 1.0 b (n=20)	190.2 ± 18.7 a (n=20)	1.4 ± 0.2 a (n=20)	85.7 ± 12.8 a (n=20)

Die Daten entsprechen Mittelwerten \pm SD, n ist die Anzahl der Messwiederholungen. Unterschiedliche Buchstaben in einer Spalte zeigen einen signifikanten Unterschied nach Tamhane auf dem 5% Niveau an.

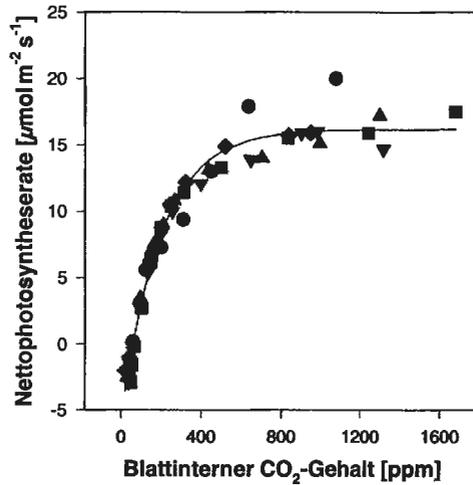


Abb. 1: A/C_i -Kurve von *Phaseolus vulgaris*-Kontrollblättern. Unterschiedliche Symbole stehen für Blätter verschiedener Sämlinge.

Die gemessenen A/C_i -Kurven (Abb. 1-2) weisen auf eine Reduktion von A_{max} hin, während g'_m durch den Kältestress kaum beeinträchtigt wurde. Allerdings deutet die größere Streuung der Photosynthese-Messwerte bei hohen blattinternen CO_2 -Konzentrationen von Typ3-Blätter eine variable Beeinträchtigung der Lichtreaktionen der Photosynthese an.

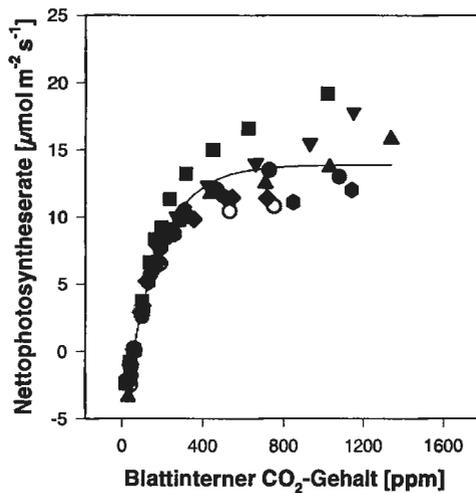


Abb. 2: A/C_i -Kurve von kältegestressten Typ3-Blättern von *Phaseolus vulgaris*. Unterschiedliche Symbole stehen für Blätter verschiedener Sämlinge.

Ein Vergleich der Dunkelatmung gestresster und ungestresster Bohnenblätter zeigte, dass die Atmung von Typ3-Blättern mit $1.6 \pm 0.4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ um 60% höher lag als die ungestresster Kontrollblätter ($1.0 \pm 0.3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Da die Photosynthese bei atmosphärischen CO_2 -Konzentrationen der Luft nahe am linearen Teil der A/C_i -Kurve abläuft (vgl. Abb. 3), kann die beobachtete reduzierte Nettophotosyntheserate kältegestresster Blätter ohne sichtbaren Schaden im wesentlichen auf die erhöhte Respiration zurückgeführt werden. Diese könnte auf den Verbrauch von zusätzlicher Stoffwechselenergie, vermutlich zur Reparatur von Schäden, die durch den Kältestress entstanden sind, hinweisen.

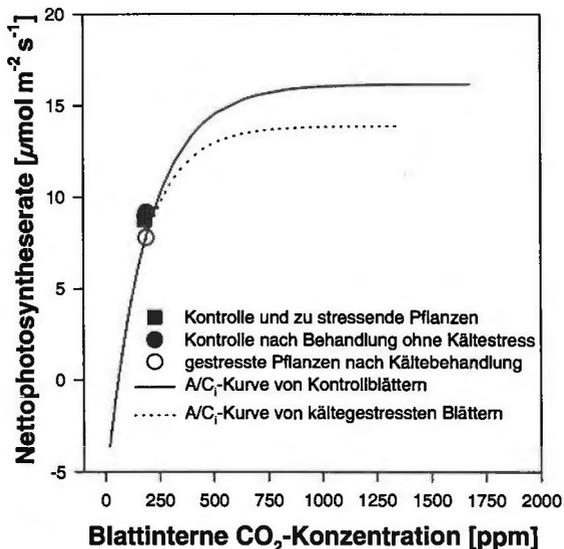


Abb. 3: Vergleich der Mittelwerte für die Nettophotosyntheserate bezogen auf die blattinterne CO_2 -Konzentration, die bei einer atmosphärischen CO_2 -Konzentration von 360 ppm bei Kontrollblättern und kältegestressten Typ3-Blättern vor und nach dem Stress gemessen wurden (Tabelle 1), und dem Verlauf der A/C_i -Kurven von gesunden und kältegestressten Blättern (vgl. Abb. 1-2).

Schlussfolgerung

Bei der Züchtung von weniger kälteempfindlichen *Phaseolus vulgaris* - Genotypen ist zu berücksichtigen, dass verschiedene physiologische Komponenten von Kältestress betroffen sind. Ein Ziel muss es daher sein, auf Gene zu selektieren, die mittelbar oder unmittelbar auf die Eiskristallbildung im Stängel oder im Blattstiel wirken. Eine zweite wesentliche genetische Komponente ist die Empfindlichkeit der Lichtreaktion der Photosynthese gegenüber Kältestress. Neben diesen beiden Aspekten sind vermutlich weitere physiologische Komponenten bei der Kältetoleranz von Bohne von Bedeutung, die im Rahmen dieser Arbeit nicht herausgestellt wurden. Die erhöhte Respirationsrate von Bohnenblätter nach dem Kältestress kann als Indiz für eine erhöhte Stoffwechselaktivität zur Reparatur von Schäden interpretiert werden. Auch die Effektivität dieser Reparaturmechanismen kann für die Kältetoleranz von Bohne von Bedeutung sein.



Schärfe und Austrieb von Zwiebeln (*Allium cepa*) während der Lagerung

Resemann, J. +; Bufler, G. *; Carle, R. +; Liebig, H.-P. *

+ Institut für Lebensmitteltechnologie, FG Lebensmittel pflanzlicher Herkunft

* Institut für Obst-, Gemüse und Weinbau, Universität Hohenheim

*Pungency and sprouting of onion (*Allium cepa*) bulbs during storage*

Abstract: *Pungency of onions increases during storage. It was hypothesized that this increase of pungency may be correlated with development of sprout growth. To test this hypothesis sprouting of onion bulbs was inhibited with maleic hydrazide (MH30) and compared to non-treated onion bulbs during a 10-month storage-period at 18 °C. Pungency was estimated by enzymatically formed pyruvate. Bulbs were denoted sprouting, when the leaf blade of a defined size class of sprout leaves showed elongation over the leaf blade of dormant bulbs. Non-treated bulbs showed 100 % sprouting after 10 weeks of storage, whereas MH30-treated bulbs did not sprout for the entire storage period. In contrast, pungency of both non-treated and MH30-treated bulbs increased significantly during storage. Therefore, it seems that the increase of pungency of onion bulbs during storage is not dependent on sprout growth but may be related to some underlying physiological changes during storage.*

J. Resemann, Institut für Lebensmitteltechnologie 150, FG Lebensmittel pflanzlicher Herkunft, Universität Hohenheim, 70593 Stuttgart, Germany

Einleitung

Die Schärfe stellt ein wichtiges Qualitätsmerkmal von Zwiebeln im Hinblick auf Frischmarkt und Verarbeitung dar. Im Verlauf einer Langzeitlagerung wurde, einhergehend mit zunehmendem Austrieb, ein Anstieg der Schärfe beobachtet [1].

Ziel der vorliegenden Untersuchung war, zu überprüfen, ob dieser Anstieg der Schärfe unmittelbar mit dem Austreiben der Bulben zusammenhängt. Dazu wurden Zwiebeln mit MH30 (Maleinsäurehydrazid), einem hochwirksamen Austriebshemmstoff, behandelt und während einer Langzeitlagerung bei 18° C mit unbehandelten Zwiebeln (Kontrolle) verglichen.

Material und Methoden

Zwiebeln (Cv. Copra und Cv. Centurion) und Säschalotten (Cv. Matador) wurden bei 20 % Schlottenknick mit MH30 behandelt. MH30-behandelte und unbehandelte Zwiebeln wurden bei 80% Schlottenknick geerntet, 3 Wochen zur Trocknung ausgelegt und bei 18 °C und 60% relativer Luftfeuchtigkeit gelagert. In zeitlichen Abständen wurden Zwiebeln auf Schärfe (gemessen als Pyruvat [2]) und Austrieb [3] analysiert. Eine Zwiebel wurde als austreibend

eingestuft, wenn bei Austriebsblättern mit einer definierten Unterblattlänge die Oberblattlänge größer war als bei dormanten Zwiebeln zum Zeitpunkt der Ernte. Der Austrieb wurde wöchentlich bei 40 Zwiebeln untersucht; die Pyruvatergebnisse beruhen auf 4 Wiederholungen von jeweils 10 Zwiebeln je Probenahme.

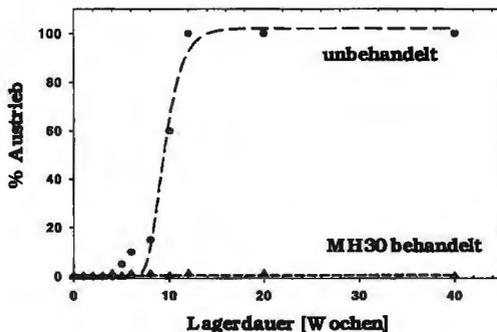


Abb. 1: Entwicklung des Austriebs bei Zwiebeln (Cv. Copra) während einer 40-wöchigen Lagerung.

Ergebnisse

Bei den unbehandelten Zwiebeln aller drei Sorten war 10 Wochen nach der Ernte 100 % beginnender Austrieb erreicht (Abb. 1, Cv. Copra).

MH30-behandelte Zwiebeln aller drei Sorten zeigten keinen Austrieb über die gesamte Lagerdauer von 40 Wochen.

Im Gegensatz zum Austrieb nahm die Schärfe während der Lagerung sowohl bei der unbehandelten Kontrolle als auch bei MH30-behandelten Zwiebeln zu. Bei Cv. Copra war die gemessene Schärfe der MH30-behandelten Zwiebeln nach 40 Wochen Lagerung im Vergleich zu den unbehandelten Zwiebeln signifikant ($P = 0,003$) höher. Dagegen waren die Unterschiede zwischen unbehandelten und MH30-behandelten Zwiebeln bei Cv. Centurion und Cv. Matador nicht signifikant. Der Trockensubstanzgehalt nahm bei Zwiebeln aller Sorten und Varianten über die gesamte Lagerdauer leicht ab (ohne Abb.).

Schlussfolgerung

Die Schärfe von Zwiebeln nimmt während einer Langzeitlagerung sowohl bei austreibenden als auch bei nicht austreibenden (MH30-behandelten) Zwiebeln zu. Die Schärfezunahme scheint deshalb nicht an das Austriebswachstum *per se* gekoppelt zu sein, sondern an unbekannte physiologische Veränderungen, die während der Lagerung von Zwiebeln auftreten.

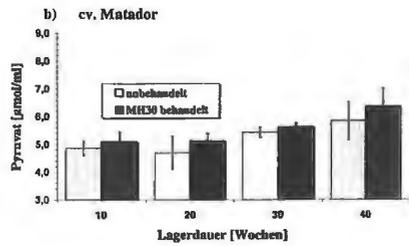
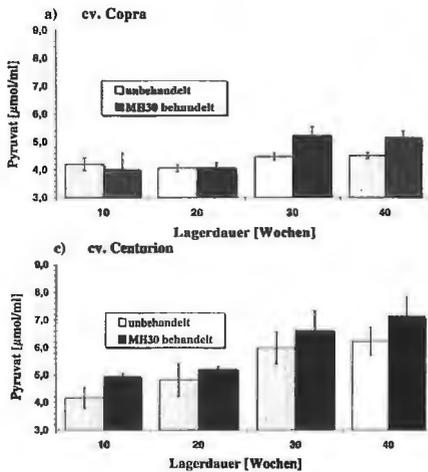


Abb. 4 a,b,c: Schärfeentwicklung während einer 40-wöchigen Lagerung bei 18°C bei Zwiebeln der Sorte a) Copra, b) Matador, c) Centurion

Literatur

- [1] Freeman, G. G.; Whenham, R. J.
Flavour Changes in Dry Bulb Onions during Overwinter Storage at Ambient Temperature
Journal of the Science of Food and Agriculture 25, 517-520 (1974)
- [2] Yoo, K. S.; Pike, L. M.; Hamilton, B. K.
A Simplified Pyruvic Acid Analysis Suitable for Onion Breeding Programs
HortScience 30 (6), 1306 (1995)
- [3] Bufler, G.
A simple method to determine onion bulb dormancy
Acta Horticulturae 553, 129-130 (2001)



Samenfeste Sorten oder Hybriden - Untersuchungen an Speisemöhren aus einem Anbauvergleich an zwei Standorten des Ökologischen Landbaus

M. Fleck, F. Sikora, C. Rohmund, M. Gränzldörffer, P. von Fragstein & J. Heß

Universität Kassel - FG Ökologische Land- und Pflanzenbausysteme

Open-pollinated cultivars vs. F₁-hybrids - investigations on carrots cultivated at two different sites under an Organic Farming regime

Abstract: A field trial with carrots was carried out in 1998 at two sites in Hesse (North: loamy soil in Neu-Eichenberg; East: sandy soil in Queeck) to compare 6 open pollinated (OP) cultivars and 6 F₁-hybrids under an Organic Farming regime. Yields, minerals and sugars were measured and so-called Picture Forming Methods (PFMs) were applied. The investigated hybrids showed higher marketable yields (plus 29 and 25%) and for the most part more homogeneous taproots than the OP cultivars. Chemical assessment resulted in higher mineral contents and lower ratios of mono- disaccharides of OP-samples compared to F₁-hybrids. PFMs clearly separated the samples into the two groups of breeding methods. The open pollinated cultivars were characterized by higher degrees of form intensity and ripeness and a stable vitality.

E-mail: mfleck@wiz.uni-kassel.de; Nordbahnhofstraße 1a, D-37213 Witzenhausen

Einleitung

Mit einem geschätzten Umfang von jährlich 24.000t Öko-Möhren beträgt der Anteil von Öko-Ware an der gesamten deutschen Möhrenerzeugung etwa 8% (WENDT 1999). Die besondere ökonomische Attraktivität dieser Kultur für den Ökologischen Landbau lässt sich begründen durch den hohen Bedarf seitens der verarbeitenden Industrie (Tiefkühlware, Nasskonserven, Saft, Babykost) wie auch vor allem durch die rege Nachfrage von Frischware.

Landwirte und Gärtner stehen vor einem ständig sich ausweitenden Angebot an Sorten. Dabei ist der Anteil von Hybriden am Gesamtbestand (vieler wirtschaftlich bedeutender Gemüsesorten) in den letzten 15 Jahren ständig gestiegen; die Zahl der zugelassenen Möhrensorten hat von 204 (1985) auf 366 (1999) stark zugenommen, wobei sich der Anteil von Hybriden von 43% auf 73% etwa verdoppelt hat (Tabelle1). Die ökologischen Anbauverbände stehen dieser Entwicklung skeptisch gegenüber und empfehlen daher in ihren Richtlinien, im Hinblick auf die Produktqualität möglichst kein Hybridsaatgut zu verwenden (FORSCHUNGSRING 2001). Im Hinblick auf diese Vorbehalte einiger Anbauverbände einerseits und die vergleichsweise positiven Auffassungen der Praktiker gegenüber modernen Züchtungen andererseits wurden 1998 in einem Feldversuch mit Möhren je 6 ausgesuchte samenfeste Sorten und 6 Hybriden (vgl. Tabelle 2) unter ökologischem Anbauregime an zwei Standorten verglichen. Besondere Aufmerksamkeit fand dabei der Vergleich zweier Sorten aus biologisch-dynamischer Selekti-

onsarbeit (*Rodelika, Robila*) mit ihnen nahe verwandten konventionell gezüchteten Sorten (*Robena, resp. Lange Rote Stumpfe*).

Tabelle 1: Entwicklung ausgewählter Gemüsesorten im gemeinsamen Sortenkatalog der EU von 1985 bis 1999 (Quelle: AMTSBLATT DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN div. Jahrg.).

Pflanzenart	1985		1994		1999	
	Anzahl Sorten	davon Hybriden	Anzahl Sorten	davon Hybriden	Anzahl Sorten	davon Hybriden
Blumenkohl	261	10%	460	33%	494	57%
Möhren	204	43%	406	68%	366	73%
Spinat	172	37%	214	63%	221	76%
Tomate	727	58%	1426	76%	1685	81%

Material & Methoden

Der Versuch wurde als lateinisches Rechteck mit 2*6 Varianten in 4 Wiederholungen an zwei klimatisch ähnlichen Standorten in Hessen (D) angelegt:

► Nordhessen (Neu-Eichenberg)

mittlerer bis schwerer Boden (Lu)

langj. Mittel: 600 mm Niederschlag | 7,6°C

Anbaujahr 1998: 822mm | 8,2°C

► Osthessen (Queck)

leichter Boden (S12)

langj. Mittel: 630 mm Niederschlag | 7,8°C

Anbaujahr 1998: 802mm | 8,8°C

Bei Anbau in Flachbeeten mit Reihenabständen von 30cm wurden Bestandesdichten von ca. 120 Pflanzen/m² angestrebt; die Bruttozellen maßen 32,4m². Neben den Rübenerträgen erfolgte die Ermittlung des Variationskoeffizienten (*cv* %) auf Basis des Gewichts von 30 einzelnen Möhren. Diese gewaschenen Rüben wurden an Kopf und Spitze gestutzt, der Länge nach halbiert und mit einer Großküchenmaschine (PEFRA-TRS) zu mittelgroßen Raspeln zerkleinert. Zur Bestimmung der Mineralstoffgehalte wurde das Untersuchungsmaterial bei 80°C getrocknet, in einer Achat-Kugelmühle staubfein gemahlen, bei 550°C vermuffelt und in 10N HCl aufgenommen. Die Messung erfolgte spektralphotometrisch (P) bzw. per Atomabsorptionsspektrometer (K, Ca, Mg). Mittels Ultra-Turrax wurden die Raspel zu einem Homogenisat verarbeitet, aus dem D-Glucose, D-Fructose und Saccharose mit enzymatischen Testkombinationen der Fa. Boehringer gemessen wurden.

Die Rüben des Standortes Nordhessen wurden mittels Bildschaffender Methoden nach BALZER-GRAF & BALZER (1991) untersucht; hierbei handelt es sich um papierchromatographische und kristallographische Verfahren, bei denen die Veränderungen von typischen Grundmustern durch die Zugabe organischer Substanzen (hier Möhrenpresssaft) beschrieben und ausgewertet werden. Unter Berücksichtigung von Konzentrations- und Stressreihen werden die lebensmittelspezifischen Bilder in Bezug auf die zugrunde liegende „Vitalqualität“ interpretiert und beurteilt. In diesem Beitrag werden beispielhaft lediglich die Ergebnisse der Kupferchloridkristallisation nach PFEIFFER dargestellt.

Ergebnisse & Diskussion

Der Ernteausfall durch Mäusefraß, Möhrenfliege (*Psila rosae*) und Beinigkeit war erheblich, so dass gegenüber den Bruttoerträgen von 600 bzw. 700 dt/ha die mittleren Erträge an marktfähiger Ware teilweise auf die Hälfte reduziert waren (FLECK et al. 2001). Hinsichtlich des Ertrags waren die meisten Hybriden den samenfesten Sorten auf beiden Standorten überlegen; besonders ausgeprägt waren diese Unterschiede auf dem leichten Standort (Tabelle 2). Die

beiden Sorten aus biologisch-dynamischer Züchtungsarbeit (*Rodelika*, *Robila*) rangierten im unteren Bereich des untersuchten Spektrums, allerdings unterschieden sie sich nicht signifikant von ihren eng verwandten konventionellen Sorten *Robena* und *Lange Rote Stumpfe*.

Tabelle 2: Handelswarenerträge und Einheitlichkeit des Erntegutes (Variationskoeffizient) nach 22 Wochen Vegetationsdauer.

Sorte		Standort Nordhessen		Standort Osthessen	
		Handelsware [dt/ha]	cv %	Handelsware [dt/ha]	cv %
F ₁ -Hybriden	Anglia F ₁	476 abc	40,6	378 a	30,4 c
	Starca F ₁	311 cd	41,8	318 abcd	31,6 bc
	Magno F ₁	458 abc	39,4	350 ab	36,7 abc
	Nandor F ₁	581 a	38,2	304 abcd	33,0 abc
	Kardame F ₁	364 bcd	47,9	327 abc	39,8 ab
	Bolero F ₁	558 a	40,4	304 abcd	34,2 abc
Samenfeste	Berlikumer 2 Bertha	424 abc	58,0	365 a	40,5 ab
	Jupiter	277 d	42,7	203 cd	42,2 a
	Lange Rote Stumpfe	319 cd	37,5	235 bcd	39,5 abc
	Robila	344 bcd	38,9	196 d	37,7 abc
	Robena	430 ab	37,2	359 ab	36,4 abc
	Rodelika	338 bcd	42,8	234 bcd	38,7 abc
Mittelwert F ₁ -Hybriden		458 *	41,8	330 *	34,3
Mittelwert Samenfeste		355	42,8 ns	265	39,2 **
Versuchsmittel		407	42,3	298	36,8

Ungleiche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Sorten (LSD $\alpha=0,05$)
Signifikante Gruppen-Unterschiede sind durch * | ** ($\alpha=0,05$ | 0,01) dargestellt; ns: nicht signifikant

Wichtiges Zuchtziel bei Gemüse ist die Homogenität einer Sorte in Bezug auf Form, Farbe und Größe (DOWKER 1978). Während bei den Möhren vom nordhessischen Standort keine Unterschiede im Variationskoeffizienten festzustellen waren, zeichneten sich bei den Proben des Standortes Osthessen die Samenfesten gegenüber den Hybriden als stärker variabel aus; *Anglia F₁* und *Starca F₁* fielen durch besonders hohe Einheitlichkeit auf. Sofern Übergrößen und andere Ausschussware z.B. innerhalb des Betriebes als Viehfutter Verwertung finden können, dürfen diese Merkmale der äußeren Qualität jedoch nicht überbewertet werden.

Die Analyse der Mineralstoffe ergab durchgehend höhere Werte bei den samenfesten Sorten. Der Rohaschewert als Summenparameter für den Gehalt anorganischer Bestandteile stand bei den Rüben beider Standorte und Züchtungsarten in engem Zusammenhang mit den Phosphor- und noch mehr mit den Kaliumgehalten; Kalium und Phosphor waren untereinander hochsignifikant positiv korreliert, während bei den zweiwertigen Elementen Calcium und Magnesium keine derartigen Beziehungen festzustellen waren. Die unterschiedlichen Mineralstoffgehalte sind nur zum Teil auf ertragsbedingte Verdünnung zurückzuführen, denn zwischen Ertrag und Rohasche bestand keine nennenswerte Korrelation. Diesem Sachverhalt

dürfte vielmehr ein sortenspezifisch unterschiedlich hohes Aneignungsvermögen zugrunde liegen.

Tabelle 3: Mineralstoffgehalte der Möhren in Abhängigkeit von Sortengruppe und Standort.

	Rohasche		Kalium		Calcium		Phosphor		Magnesium	
	[% FM]		[ppm FM]		[ppm FM]		[ppm FM]		[ppm FM]	
Standort										
Nordhessen:										
F ₁ -Hybriden	0,54		1648		357		232		117	
Samenfeste	0,62	***	1837	**	377	***	239	ns	133	***
Standort										
Osthessen:										
F ₁ -Hybriden	0,76		3363		367		332		111	
Samenfeste	0,84	***	3679	***	390	***	356	**	123	***

Zu dem späten Erntetermin (Ende Oktober) wiesen die Rüben durchschnittlich 6% Gesamtzucker auf. In den Hybridmöhren beider Standorte wurden vermehrt die reduzierenden Zucker D-Glucose und D-Fructose gefunden (Tabelle 4). Der Quotient aus Mono- und Disacchariden war in allen Proben erwartungsgemäß niedrig, wobei die Werte der samenfesten Sorten sowohl in Nord- als auch in Osthessen unter denen der Hybriden lagen. Ob damit die Samenfesten als besser ausgereift eingestuft werden können, bleibt unklar, da definierte Stadien der biologischen Entwicklung nicht durchgehend mit einer bestimmten Menge an Zuckern oder einem besonderen Quotienten von Mono- zu Disacchariden verbunden sein müssen (ROSENFELD 1999). Andererseits benutzen FRITZ & HABBEN (1975) den Terminus Reife u.a. für den optimalen Erntetermin, an dem maximale Saccharosegehalte in Kombination mit möglichst geringen Gehalten an Monosacchariden vorkommen. Vor diesem Hintergrund stellt die Entwicklung valider Messverfahren für die Ausreifung von Gemüse eine wichtige Aufgabe dar.

Am osthessischen Standort war der Parameter Mono- zu Disaccharide eng mit dem Kaliumgehalt der Rüben korreliert ($r_{\text{Hybriden}} = -0,696$ ** | $r_{\text{Samenfeste}} = -0,704$ **); daran lässt sich die zentrale Rolle des Kaliums für den Kohlenhydratstoffwechsel der Möhre ablesen, insbesondere für die Einlagerung von Zuckerreserven in Form von Saccharose.

Tabelle 4: Zuckergehalte der Möhren in Abhängigkeit von Sortengruppe und Standort.

	D-Glucose		D-Fructose		Saccharose		Ges.-Zucker		Mono- zu Disaccharide	
	[% FM]		[% FM]		[% FM]		[% FM]			
Standort										
Nordhessen:										
F ₁ -Hybriden	1,26	**	1,20	***	3,95		6,48		0,62	**
Samenfeste	1,11		1,05		4,39	*	6,48	ns	0,51	
Standort										
Osthessen:										
F ₁ -Hybriden	0,83	**	0,81	***	4,39	ns	6,03	*	0,38	*
Samenfeste	0,76		0,71		4,32		5,79		0,35	

Bei Untersuchungen mit bildschaffenden Methoden wurden die Hybriden mehrheitlich als „wenig differenziert“ und „vegetativ“ mit „Alterungstendenzen“ charakterisiert, während den

samenfesten Sorten überwiegend eine stärkere „Strukturbildungskraft“ attestiert wurde. Um eine vergleichbare „Durchstrahlung der Bilder“ wie die Samenfesten zu erzeugen, mussten die Pflanzensäfte der Hybriden stärker konzentriert werden als diejenigen der samenfesten Sorten. Insbesondere unter definierten Stressbedingungen wiesen die samenfesten Sorten weniger „Abbauerscheinungen“ auf. Die Sorte *Rodelika* erhielt in der Zusammenschau (der drei Einzelmethoden) die mit Abstand beste Beurteilung. Interessante Zusammenhänge der von den Bildern abgeleiteten Befunde mit den Daten klassischer Qualitätsparameter fanden HAGEL et al. (2000) an Sommer- und Herbstmöhren. Dort zeigten einzelne Inhaltsstoffe hohe Korrelationen zu den aus den Bildern ablesbaren Eigenschaften wie „reif“, „möhrentypisch“, „differenziert“, „fruchtartig“ oder „vital“. Bei den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung konnten jedoch keine Beziehungen zwischen den Aussagen bildschaffender Methoden und der Analytik (Zucker wie Mineralstoffe) festgestellt werden.



Radiärer Charakter	Geschwungene Äste
Mäßig intensiv verzweigte, fast starre Nadelzüge	Feine Textur; eng aneinander liegende Nadelzüge
Lockere Mittelzone mit groben Nadelzügen	Dichtes Gefüge mit feinen Nadeln
Geringe Auffächerung, Verfilzungen	zum Rand stark auffächernd
Geringe Belebungsintensität, überwiegend vegetative oder absterbende Prozesse	Sehr hohe Belebungs- und Formintensität, sehr vital und wurzeltypisch
mangelnde Reife, wenig belastbar	gut ausgereift, stressstabil
hohe Substanzmengen für die Bildgestaltung nötig	gestaltgebende Kräfte wirken schon bei geringen Mengen

Abbildung 1: Kupferchloridkristallisationsbilder nach PFEIFFER von den Sorten *Nandor F₁* und *Rodelika*; nachfolgend Auszüge aus der Beschreibung (invers) sowie Interpretation.

Fazit

Die Qualität von Öko-Möhren ist sehr variabel und durch die Sortenwahl stark beeinflussbar. Bei alleiniger Berücksichtigung der äußeren Qualität - in Form der (agro-)technischen Parameter marktfähiger Ertrag und einheitliche Größensortierung - kann der Einsatz von Hybriden auch im ökologischen Möhrenanbau helfen, den wirtschaftlichen Erfolg zu steigern. Unter Berücksichtigung der Mineralstoffgehalte stellen die Hybriden jedoch eine Aufweichung des Qualitätsprofils von Öko-Möhren dar, denn Erzeugnisse aus Ökologischem Landbau weisen

gegenüber solchen konventioneller Herkunft gemeinhin höhere Gehalte an Makro- und Mikroelementen auf (WOESE et al. 1995; WORTHINGTON 2001).

Auch die mangelhafte Bewertung anhand der Bildschaffenden Methoden lässt den Schluss zu, dass der Ausschluss von Hybriden im ökologischen Anbau im Sinne eines vorbeugenden Schutzes der besonderen Produktqualität von Öko-Lebensmitteln zu verstehen ist. Gleichzeitig wird deutlich, dass mit den hier untersuchten Sorten aus biologisch-dynamischer Selektions-Züchtung ein Potenzial zum Ausbau dieser spezifischen Qualität zur Verfügung steht: bei ähnlichen Erträgen wie ihre konventionellen Vergleichssorten schnitten *Rodelika* und *Robila* insbesondere in den mittels Bildschaffender Methoden beschriebenen Qualitätsmerkmalen besser ab. Damit die ablehnende Haltung einiger Vertreter des Ökologischen Landbau gegenüber dem Anbau von Hybriden allgemein verständlich und nachvollziehbar werden kann, müsste vorrangig die (Gesundheits-)Relevanz der Ergebnisse der Bildschaffenden Methoden näher erforscht werden.

Referenzen

- AMTSBLATT DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN, div. Jahrgänge: Gemeinsamer Sortenkatalog für Gemüsearten, Brüssel.
- BALZER-GRAF, U. und F.M. BALZER (1991): Steigbild und Kupferchloridkristallisation – Spiegel der Vitalqualität von Lebensmitteln. In: MEIER-PLOEGER, A. und H. VOGTMANN (Hrsg.): Lebensmittelqualität – Ganzheitliche Methoden und Konzepte, Verlag C.F. Müller Karlsruhe, S. 163-210.
- DOWKER, B.D. (1978): A new approach to breeding for uniformity in competitive row crops. *Buletyn Warzywniczy* 22, p. 161-170.
- FLECK, M., F. SIKORA, M. GRÄNZDÖRFFER, CHR. ROHMUND, E. KÖLSCH, P. VON FRAGSTEIN & J. HEB (2001): Samenfeste Sorten oder Hybriden - Anbauvergleich von Möhren unter den Verhältnissen des Ökologischen Landbaus. In: REENTS, H.J. [Hrsg.]: Beiträge zur 6. Wissenschaftstagung zum Ökologischen Landbau, S. 253-256.
- FORSCHUNGSRING FÜR BIOLOGISCH-DYNAMISCHE WIRTSCHAFTSWEISE (2001): Erzeugungsrichtlinien für die Anerkennung der Demeter-Qualität. Eigenverlag Darmstadt, S. 19.
- FRITZ, D. & J. HABBEN (1975): Determination of ripeness of carrots. (*Daucus carota*, L.). *Acta Horticulturae* 52, p. 231-238.
- HAGEL, I., D. BAUER, S. HANEKLAUS and E. SCHNUG (2000): Quality assessment of summer and autumn carrots from a biodynamic breeding project and correlations of physico-chemical parameters and features determined by picture forming methods. In: ALFÖLDI, TH., W. LOCKERETZ and U. NIGGLI (eds.), Proceedings 13th International IFOAM Scientific Conference, IOS press, Zürich, p. 284-287.
- ROSENFELD, H.-J. (1998): Maturity and Development of Carrot Root (*Daucus carota*, L.). *Gartenbauwissenschaft* 63 (2), p. 87-94.
- WENDT, H., M.C. DI LEO, M. JÜRGENSEN & C. WILLHÖFT (1999): Der Markt für ökologische Produkte in Deutschland und ausgewählten europäischen Ländern. Schriftenreihe des Bundesministers für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, Reihe A: Angewandte Wissenschaft, Heft 481, S. 12
- WOESE, K., D. LANGE, C. BOESS & K.W. BOEGL (1995): Ökologisch und konventionell erzeugte Lebensmittel im Vergleich – eine Literaturstudie (I und II). Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV), Berlin.
- WORTHINGTON, V. (2001): Nutritional Quality of Organic Versus Conventional Fruits, Vegetables, and Grains. *J. Of Alternative And Complementary Medicine* 7 (2), p. 161-173.



Isocumarinegehalt und Geschmack von Möhren

E. Höhn, S. Gysin, B. Guggenbühl, U. Künsch, S. Mattle, H. Schärer, F. Hesford
und K. Schneider

Eidg. Forschungsanstalt, CH-8820 Wädenswil

Content of isocoumarin and taste of carrots (Daucus carota L.)

Abstract. *The impact of isocoumarin on bitterness and sweetness of carrots was studied in sensory tests by a laboratory panel. In addition the acceptance of carrots in function of isocoumarin content was determined in a consumer test. Isocoumarin formation was initiated by exposing carrots to air containing ethylene. The treated and non treated carrots were used in the sensory tests. Following the consumer test, intensity of bitterness was judged by an expert and in addition soluble solids and content of isocoumarin were determined on the remaining part of each carrot. The results of the sensory tests with the laboratory panel confirmed that isocoumarin exerted bitter taste and in addition suppressed sweetness of carrots. The consumer test demonstrated that an isocoumarin content higher than 30 - 40 mg/kg reduced the acceptance. Carrots with a high isocoumarin content were considered bitter and unpleasant. However, a minority of consumers seemed to like bitter carrots. Accordingly, they assigned high hedonic scores. In any case high quality carrots are characterised by a low content of isocoumarin not exceeding 40 mg/kg.*

Corresponding author: Dr. Ernst Höhn, Eidg. Forschungsanstalt für Obst- Wein- und Gartenbau, Postfach 185, CH-8820 Wädenswil, E-mail: Ernst.Hoehn@faw.admin.ch

1. Einleitung

Möhren gehören zum beliebtesten Gemüse, sollten einen süsslichen Geschmack aufweisen und knackig sein. Eine Umfrage im Jahr 1999 ergab, dass Bitterkeit und ungenügende Geschmacksqualität zu den Hauptursachen von Qualitätsmängeln bei Möhren gehören. In der Literatur gibt es Hinweise, dass Isocoumarin im Möhrengewebe gebildet wird und Bitterkeit verursacht (Sondheimer, 1957; Abe und Yoshimura, 1993; Yoshino et al., 1993; Lafuente, 1996; Talcott und Howard, 1999a; Seljasen et al., 2000). Allerdings liegen keine Verbraucherstudien vor, die den Zusammenhang zwischen Isocumarinegehalt, Bitterkeit und Akzeptanz aufzeigen. Im Hinblick auf die Entwicklung eines Qualitätssicherungskonzepts bei Möhren, ist die Kenntnis eines tolerierbaren Isocumarinegehaltes, welcher die Essqualität nicht beeinträchtigt, notwendig (Höhn et al., 2001a; Höhn et al., 2001b).

2. Material und Methoden

2.1 Anbau der Möhren

Möhren, darunter die fünf bevorzugten Sorten im schweizerischen Gemüsebau (Bolero, Nandor, Nandrin, Nevis und Puma) wurden von Gemüsebaubetrieben nach den Richtlinien des Schweizerischen Gemüsebaus an 2 Standorten und an der Forschungsanstalt Wädenswil angebaut (SGU, 1999).

2.2 Lagerung der Möhren

Die Möhren wurden in Kisten von 30x60x30 cm, die mit einer perforierten Polyethylenfolie von 0.03 mm Dicke, mit 10 Löchern/m² und einem Lochdurchmesser von 5 mm ausgekleidet waren, eingefüllt. Nach dem Verknoten der Folien wurden die Kisten innerhalb von 12 Stunden in den Kühlraum gebracht und während 6 Monaten bei $0.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ und 92% relativer Luftfeuchtigkeit gelagert.

2.3 Induzierung der Bildung von Isocumarin

Für den sensorischen Test mit Laborpanel wurden Teilmengen jeder Sorte (15 kg) zusammen mit Äpfeln gelagert. Die Lagerluft enthielt 40 ± 10 ppm Ethylen. Auf diese Weise konnten Möhren mit Isocumaringehalten im Bereich von 8 bis 230 mg/kg generiert werden. Für den Verbrauchertest wurden frisch geerntete Möhren während 3 Wochen mit ethylenhaltiger Luft (1000 ppm Ethylen) begast.

2.4 Sensorische Analysen

2.4.1 Laborpanel

In sensorischen Tests mit einem „semigeschulten“ Laborpanel wurde der Einfluss von Isocumarin auf die Bitterkeit und Süßigkeit (Linienskala von 100 mm; mit einem unteren und oberen Ankerpunkt um je 3 mm eingerückt) ermittelt. Zur Erleichterung der Beurteilung der Bitterkeit wurde den Prüfern eine 0.03% Coffeinlösung als unterer und eine 0.15% Coffeinlösung als oberer Ankerpunkt vorgesetzt. Der untere Ankerpunkt für die Süßigkeit bestand aus einer 1% Saccharoselösung, für den oberen Ankerpunkt wurde eine 8% Lösung verwendet. Die beteiligten Prüferinnen und Prüfer absolvierten einen Sensorikkurs und verfügten über die notwendigen theoretischen und praktischen Kenntnisse. 2 bis 3 Möhren jeder Sorte und jeder Behandlung wurden mit der Küchenmaschine geraffelt. Der obere und untere Teil der Möhre wurde vor dem Raffeln weggeschnitten. Von jeder Probe wurden 10 g für die Isocumarinbestimmung und je 2 Teilproben für die Sensorik verwendet. An jeder Probe resultierten somit 2 sensorische Beurteilungen durch zwei verschiedene Prüfer. Die Prüfer wurden gebeten die Intensität auf der Linienskala mit einem Strich zu markieren. Zur Auswertung wurde die Distanz von links in mm gemessen.

2.4.2 Verbrauchertest

Jedem Probanden wurde nur eine Möhre vorgelegt. Diese Möhre wurde nach dem Zufallsprinzip aus einer der folgenden Gruppen gezogen und mit einer dreistelligen Zahl codiert: a) frisch geerntete, b) frisch geerntete mit Ethylen behandelte und c) ein Jahr gelagerte. Unmittelbar vor der Verkostung wurden Scheiben aus der Mitte geschnitten und den Probanden zur Beurteilung der Beliebtheit vorgelegt. Beliebtheit (Skala: 1 = extrem schlecht bis 9 = extrem gut). Nach der Beurteilung der Beliebtheit wurden die Verbraucher gebeten eine Beurteilung der Festigkeit/Knackigkeit, Textur/Faserigkeit, Geschmacksintensität/Bitterkeit und Süßigkeit vorzunehmen. Dazu wurde der „Just-about right-Test“ herangezogen; die Beurteilungsstufen umfassten: zuwenig, etwas zu wenig, gerade richtig, etwas zu viel und viel zu viel. Zusätzlich wurden allgemeine Fragen zum Konsumverhalten von Möhren gestellt.

2.4.3 Klassifizierung durch Experten

Neben der Bestimmung von löslicher TS und Isocumarin an den Möhren aus dem Verbrauchertest, wurde jede Möhre durch eine Expertin verkostet und nach Bitterkeit (nicht bitter, leicht bitter, bitter, sehr bitter) und Süßigkeit (fade, leicht süß, süß und sehr süß) klassifiziert.

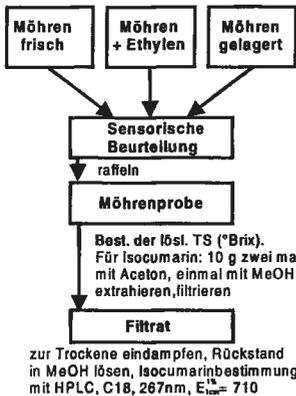


Abb. 1: Bestimmung der löslichen TS und von Isocoumarin

2.6 Statistische Auswertung

Die Daten wurden varianzanalytisch ausgewertet und die Signifikanz der Differenzen zwischen den Gütekategorien mittels Duncan Test ermittelt.

3. Ergebnisse und Diskussion

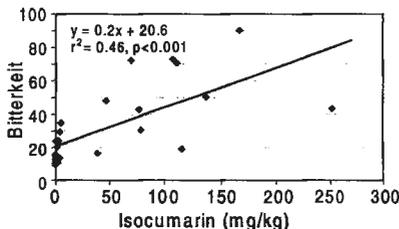


Abb. 2: Prüfergruppe: Bitterkeit und Isocoumaringehalt

Isocoumarin pro kg verursachten einen deutlichen Anstieg der Bitterkeit um 10 Einheiten. Daraus lässt sich ableiten, dass mit einem Schwellenwert von unter 50 mg/kg gerechnet werden kann.

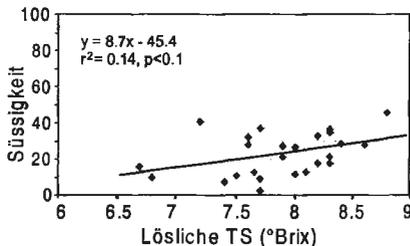


Abb. 3: Prüfergruppe: Süßigkeit und lösliche TS (°Brix)

2.5 Bestimmung der löslichen Trockensubstanz (Zucker) und von Isocoumarin

Die Möhren wurden nach Schema in Abb. 1 aufgearbeitet. Im Saft der geraffelten Möhren wurde mittels eines Handrefraktometers die lösliche Trockensubstanz (°Brix) bestimmt. Aus den geraffelten Möhren wurde das Isocoumarin mit Aceton und Methanol extrahiert. Ein Aliquot des membranfiltrierten Extrakts wurden auf die C18-Säule eines Standard-HPLC-Systems gegeben. Das Fließmittel bestand aus einer Mischung von 60 % Methanol/40 % Wasser, Fließgeschwindigkeit 0.5 ml/Min. Der Berechnung wurde ein $E_{1cm}^{1\%} = 710$ für Isocoumarin zu Grunde gelegt (Talcott und Howard, 1999b).

Die sensorischen Analysen mit der geschulten Prüfergruppe bestätigten, dass Isocoumarin bitter wirkte (Abb. 2). Die Bitterkeit nahm mit steigendem Isocoumaringehalt zu. Das Bestimmtheitsmass von 0.46 weist darauf hin, dass vermutlich weitere Komponenten zur Bitterkeit von Möhren beitragen (Yoshino et al., 1993; Talcott und Howard, 1999b; Seljasen et al., 2000). Aus Abb. 2 ist auch ersichtlich, dass Möhren mit nicht nachweisbarem Isocoumaringehalt leicht bitter wirkten (20 Einheiten). 50 mg Isocoumarin pro kg verursachten einen deutlichen Anstieg der Bitterkeit um 10 Einheiten. Daraus lässt sich ableiten, dass mit einem Schwellenwert von unter 50 mg/kg gerechnet werden kann.

In der Literatur finden sich Hinweise, dass zwischen Süßigkeit und Saccharosegehalt von Möhren eine enge Korrelation besteht (Seljasen et al., 2000). Die lösliche TS (°Brix) ist ein Mass für den Zuckergehalt. Aus Abb. 3 geht jedoch hervor, dass die Beeinflussung des Süßigkeitsempfindens durch die lösliche TS gering war ($r^2 = 0.14$). Das heisst, die Süßigkeit wurde massgebend durch andere Komponenten beeinflusst.

flusst. Anzumerken ist, dass der obere Ankerpunkt (97 mm) der Süßigkeit der 8% Saccharose-Referenzlösung entsprach. Die sensorisch ermittelte Süßigkeit ergab lediglich Süßigkeitswerte im Bereich von 0 bis 40 Einheiten, obwohl die Lösliche TS der Möhren zwischen 6.5 und 9 °Brix variierten. Darauf basierend hätte mindestens eine doppelt so hohe Süßigkeit erwartet werden können. Daraus lässt sich ableiten, dass Komponenten vorliegen, welche die Süßigkeit vermindern.

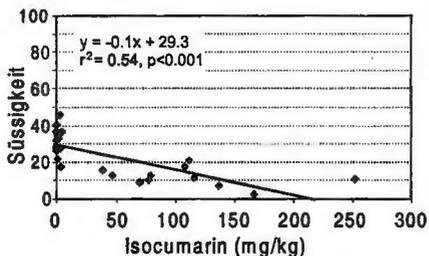


Abb. 4: Prüfergruppe: Süßigkeit und Isocumarinergehalt

Die negative Abhängigkeit der Süßigkeit vom Isocumarinergehalt deutet auf deren Unterdrückung durch Isocumarin hin.

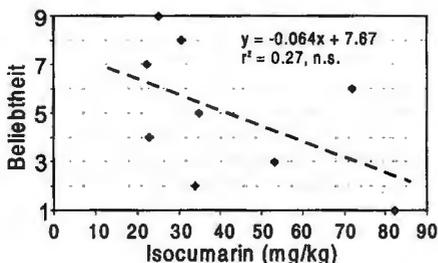


Abb. 5: Verbrauchertest: Beliebtheit und Isocumarinergehalt

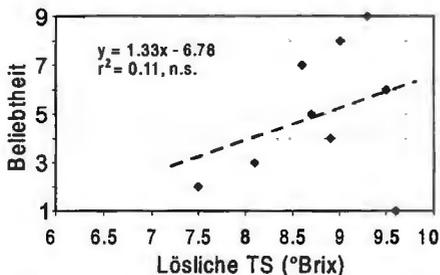


Abb. 6: Verbrauchertest: Beliebtheit und lösliche TS (°Brix)

Wie aus Abb. 4 hervorgeht, ergab sich ein negativer Zusammenhang zwischen Isocumarin und Süßigkeit. Bemerkenswert ist, dass dieser negative Zusammenhang zwischen Isocumarin und Süßigkeit stärker ausgeprägt war als die positive Abhängigkeit der Süßigkeit von der löslichen TS (Abb. 3).

Die Berechnung der multiplen linearen Regression für die Süßigkeit, in Abhängigkeit der löslichen TS und des Isocumarinergehalts ergab: Süßigkeit = 4.7 Lösliche TS (°Brix) – 0.1 Isocumarin (mg/kg) – 8.1; $r^2 = 0.58$, $p < 0.001$.

Zur Bestimmung eines tolerierbaren Isocumarinergehaltes, welcher die Essqualität nicht beeinträchtigt, wurden Verbrauchertests durchgeführt. Aus den Ergebnissen ist ein Trend ersichtlich, dass die Beliebtheit mit zunehmendem Isocumarinergehalt abnahm (Abb. 5). Unsere Vorgabe lautete: Karotten müssen auf der Beliebtheitsskala einen Wert von 4 oder höher erreichen, damit sie als akzeptabel eingestuft werden. Aufgrund der linearen Regression liess sich ein tolerierbarer Isocumarinergehalt von 55 mg/kg ableiten.

Die Verbrauchertests ergaben, dass die lösliche TS die Beliebtheit bzw. Akzeptanz positiv, aber nur in geringem Mass ($r^2 = 0.11$) beeinflusste (Abb. 6). Aus den Befragungen der Verbrauchern zu den Erwartungen ging hervor, dass knackige, saftige Möhren mit süßlichem Geschmack erwartet werden. Wie in Abb. 3 dargestellt, besteht nur ein geringer Zusammenhang zwischen Süßigkeit und löslicher TS. Dies erklärt auch die geringe Abhängigkeit zwischen *Beliebtheit* und löslicher TS (Abb 6).

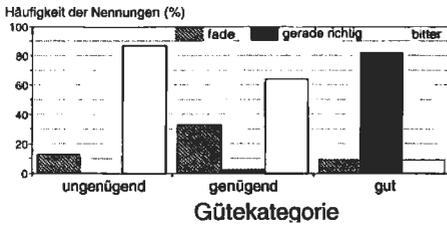


Abb. 7: Verbrauchertest: Sensorische Beurteilung der drei Gütekatgorien

(4-6), gut (7-9). Die als ungenügend eingestuften Möhren wurden als zu bitter bzw. viel zu bitter beurteilt (Abb. 7). In der Gütekatgorie „genügend“ wurde ein grosser Anteil als zu bitter oder dann als fade beurteilt. Daraus kann der Schluss gezogen werden, dass Bitterkeit nicht erwünscht ist.

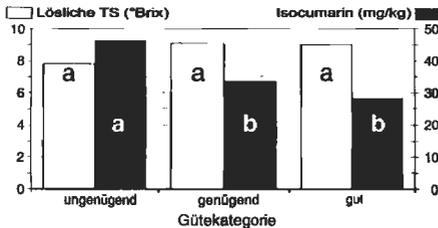


Abb. 8: Verbrauchertest: Lösliche TS und Isocumarinegehalt der drei Gütekatgorien. Säulen mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (1% Irrtumswahrscheinlichkeit, Duncan Test).

Nach der Beurteilung der Beliebtheit wurden die Verbraucher gebeten, eine Beurteilung der Geschmacksintensität/Bitterkeit vorzunehmen. Dazu wurde der „Just-about right-Test“ herangezogen; die Beurteilungsstufen umfassen: zu wenig, etwas zu wenig, gerade richtig, etwas zu viel und viel zu viel. Zur Auswertung dieser Angaben wurden die Möhren aufgrund der Beliebtheitsbeurteilung in drei Gütekatgorien eingeteilt: ungenügend (1-3), genügend

In Abb. 8 sind nochmals die Gütekatgorien dargestellt und die dazugehörigen löslichen TS- sowie Isocumarinegehalte aufgeführt.

Es ist ersichtlich, dass für Möhren der Gütekatgorien „genügend“ und „gut“ die Isocumarinegehalte im Mittel unter 35 mg/kg lagen, währenddem für die Kategorie „ungenügend“ durchschnittlich über 45 mg Isocumarin pro kg vorlagen. Daraus lässt sich ein tolerierbarer Isocumarinegehalt von ca. 40 mg/kg ableiten. Bei den löslichen TS-Gehalten der drei Gütekatgorien wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt.

Jede Möhre wurde durch eine Expertin verkostet und nach Bitterkeit (nicht bitter, leicht bitter, bitter, sehr bitter) klassifiziert. In Abb. 9 sind zu jeder Kategorie der Isocumarinegehalt und der

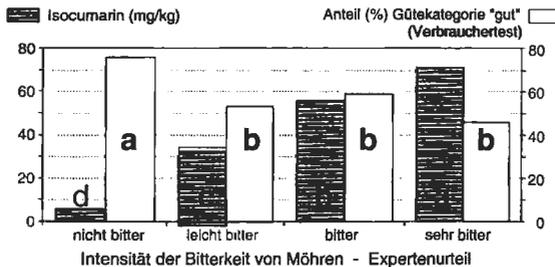


Abb. 9: Beurteilung der Bitterkeit durch Experten und Isocumarinegehalt sowie Anteil Nennungen Gütekatgorie „gut“ im Verbrauchertest. Säulen mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (1% Irrtumswahrscheinlichkeit, Duncan Test).

Anteil „Güteklasse gut“ dargestellt. Es ist ersichtlich, dass zunehmende Bitterkeit mit steigenden Isocumariningehalten zusammenfiel. Der Anteil Güteklasse „gut“ betrug in der Kategorie „nicht bitter“ über 70%, währenddem für die drei Kategorien „bitter“ der Anteil etwa 50% betrug. Wir stellten fest, dass eine Minderheit der Verbraucher auch bittere Möhren mit hohem Isocumariningehalt mit Höchstnoten bewertete. Dies war vermutlich ein Grund, weshalb fast 50 % der bitteren Möhren der Güteklasse „gut“ zugeordnet wurden. Möglicherweise gibt es Verbraucher, die bittere Möhren schätzen. Es ist aber auch bekannt, dass die Empfindlichkeit für Bitterkeit zwischen Individuen stark schwankt. Die Darstellung in Abb. 9 beinhaltet ein weiteres Verfahren zur Bestimmung des tolerierbaren Isocumariningehalts. Daraus ist ersichtlich, dass die Expertin ab 30 mg Isocumarin pro kg Bitterkeit feststellte und die Verbraucher den Anteil Güteklasse „gut“ signifikant niedriger einstufte.

Aus den verschiedenen diskutierten Verfahren zur Ermittlung des tolerierbaren Isocumariningehalts, bis zu dem die Verbraucherakzeptanz von Möhren nicht beeinträchtigt wird, zeichnet sich ein Bereich von 30 bis 55 mg/kg ab. Talcott und Howard (1999a) fanden bei Zusatz von Isocumarin zu gekochtem Möhrenpüree im Bereich von 48 bis 71 mg/kg einen merkbaren Unterschied zur Kontrolle. Dies bestätigt, dass sich Qualitätsmöhren durch einen möglichst niedrigen Gehalt an Isocumarin auszeichnen müssen.

4. Literatur

- Abe, K. and Yoshimura, K. (1993) Studies on physiological and chemical changes in partially processed carrot. II. Effect of ethylene on the quality and occurrence of bitterness in partially processed carrot. J. Japan. Soc. Food Sci. Technol. 40, 506-512.
- Höhn, E., Gasser, F., Heller, W., Hesford, F., Künsch, U., Rüegg, J., Schärer, H. and Schneider, K. (2001a) Karotten von der Saat bis zum Teller - Faktoren welche die Bitterkeit beeinflussen. Der Gemüsebau, 13-15.
- Höhn, E., Heller, W., Hesford, F., Künsch, U., Schärer, H. and Schneider, K. (2001b) Karotten von der Saat bis zum Teller - Entwicklung eines Qualitätssicherungssystems an der FAW. Der Gemüsebau, 13-15.
- Lafuente, M.T., Lopez-Galvez, G., Cantwell, M. and Yang, S.F. (1996) Factors influencing ethylene-induced isocoumarin formation and increased respiration in carrots. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 121, 537-542.
- Seljasen, R., Hoftun, H. and Bengtsson, G.B. (2000) Sensory quality of ethylene-exposed carrots (*Daucus carota* L., cv "Yukon") related to the contents of 6-methoxymellein, terpenes and sugars. J. Sci. Food Agric. 81, 54-61.
- SGU (1999) Handbuch Gemüse. Schweizerische Gemüse-Union, CH-3232 Ins.
- Sondheimer, E. (1957) Bitter flavor in carrots. III. The isolation of a compound with spectral characteristics similar to hydrocarbon extracts of bitter carrots. Food Research 22, 296-299 (1957).
- Talcott, S.T. and Howard, L.R. (1999a) Chemical and sensory quality of processed carrot puree as influenced by stress-induced phenolic compounds. J. Agric. Food Chem. 47, 1362-1366.
- Talcott, S.T. and Howard, L.R. (1999b) Determination and distribution of 6-methoxymellein in fresh and processed carrot puree by a rapid spectrophotometric assay. J. Agric. Food Chem. 47, 3237-3242.
- Yoshino, N., Kawaguchi, T., Tokunaga, K., Ishitani, T. and Hirata, T. (1993) 6-Methoxymellein levels in fresh carrots in relation to the sensory quality. J. Japan. Soc. Food Sci. Technol. 40, 17-21.



α - und β -Carotingehalt von Möhren: Sorten-, Standort-, Jahres- und Lagerungseinfluss

U. Künsch, E. Höhn, H. Schärer, F. Hesford und K. Schneider

Eidg. Forschungsanstalt, Wädenswil, Schweiz

*Content of α - and β -Carotin of carrots (*Daucus carota* L.): Influence of cultivar, growing site, year and storage*

Abstract. *The Carrot (*Daucus carota* L.) is a predominant vegetable in the diet of many European countries and equally so world wide. Recently, nutritional research has focused on secondary plant constituents and its impact on human health. Thus, evaluation of vegetable quality must include, in addition to nutritional and sensory aspects, also the content of secondary plant constituents. In the course of the development of a quality assurance concept for carrots, the influence of pre- and postharvest factors on the content of α - and β -carotene was investigated. Carotenoids were extracted from the root tissue and determined by HPLC. Carotenoid content was highly dependent on varieties. Low contents of α - and β -carotene (less than 1 mg/100 g) were found in the white variety "Küttiger" and the yellow variety "Pfälzer". α - and β -carotene concentrations of 28 varieties of "Nantaise-types" ranged from 2.8 to 4.9 mg/100 g fw (average 3.6 mg/100 g) and from 6.5 to 9.4 mg/100 g fw (average 7.6 mg/100 g), respectively. An influence of growing site was observed for α - and β -carotene content. Storage of carrots for 6 months didn't affect the concentration of α - and β -carotene. The "Deutsche Gesellschaft für Ernährung" recommends a daily intake of 2 to 4 mg of β -carotene. Epidemiological studies have shown no adverse effects resulting from a daily intake of up to 10 mg of β -carotene. Thus the daily requirement of β -carotene can be adequately fulfilled by one serving (150 g) of "Nantaise-type" carrots.*

Corresponding author: Ulrich Künsch, Eidg. Forschungsanstalt für Obst- Wein- und Gartenbau, Postfach 185, CH-8820 Wädenswil E-mail: Ulrich.Kuensch@faw.admin.ch

1. Einleitung

Möhren gehören in vielen Ländern zu den wichtigsten Gemüsen und sind ergiebige Quellen an Provitamin A und weiterer Sekundärer Pflanzenstoffe (SPS). β -Carotin ist mit über 50 % das vorherrschende Carotinoid in Möhren. Der Gehalt an α -Carotin beträgt 20 bis 40 %, der an zeta-Carotin 2 bis 7 % und der an γ -Carotin und β -Zeaxanthin 1 bis 2 %. Andere Carotinoide wie Lutein, Neurosporen, Lycopene, Phytoene und Phytofluene sind nur in Spuren nachweisbar (Baloch et al., 1977; Ogunlesi und Lee, 1979; Lee, 1986; Simon und Wolff, 1987; Herrmann, 1995). Bei 19 Sorten finnischer Möhren waren die Unterschiede im Carotinoidgehalt primär genetisch bedingt (Heinonen, 1990). Die Carotinoide sind ziemlich stabil während der Lagerung von Möhren. Im Laufe der ersten 3 Monate nahm der Gehalt leicht zu und nahm gegen Ende der Lagerung wieder ab (Lee, 1986). Im Zuge der Entdeckung der Bedeutung der SPS für die menschliche Gesundheit muss die Qualitätsbeurteilung von Gemüse um diesen Begriff erweitert werden. Der Einfluss von Vorernte- und Nacherntefaktoren auf den Gehalt

an Carotinoiden gewinnt deshalb zunehmend an Bedeutung. Für die Entwicklung eines Qualitätssicherungskonzepts sind die Kenntnisse über die Auswirkung dieser Faktoren unumgänglich.

2. Material und Methoden

2.1 Anbau der Möhren

27 Nantaise-Typen, darunter die fünf bevorzugten Sorten im schweizerischen Gemüsebau (Bolero, Nandor, Nandrin, Nevis und Puma) wurden von Gemüsebaubetrieben nach den Richtlinien des Schweizerischen Gemüsebaus an 2 Standorten angebaut (SGU, 1999).

2.2 Lagerung der Möhren

30 kg frisch geerntete Möhren jeder Sorte wurden in Kisten von 30x60x30 cm, die mit einer perforierten Polyethylenfolie von 0.03 mm Dicke, mit 10 Löchern/m² und einem Lochdurchmesser von 5 mm ausgekleidet waren, eingefüllt. Nach dem Verknoten der Folien wurden die Kisten innerhalb von 12 Stunden in den Kühlraum gebracht und während 6 Monaten bei 0.0 ± 0.5°C und 92% relativer Luftfeuchtigkeit gelagert.



Abb. 1: Extraktion und Bestimmung von α - und β -Carotin

3. Ergebnisse und Diskussion

Carotingehalte sind sortenabhängig. Tiefe Gehalte, unter 1 mg/100 g, wurden in den weissen „Küttiger“ und den gelben „Pfälzer“ gefunden. In den hauptsächlich angebauten Nantaise-Typen variieren die α -Carotin-Gehalte in den zwei Jahren zwischen 2.8 und 4.9 mg/100g (Mittelwert: 3.6 mg/100 g) und die β -Carotin-Gehalte zwischen 6.5 und 9.4 mg/100 g (Mittelwert: 7.6 mg/100 g) (Abb. 2).

2.3 Extraktion und Bestimmung von α - und β -Carotin

1 kg gewaschene Möhren wurden nach Schema in Abb. 1 aufgearbeitet. 50 μ l membranfiltrierter Extrakt wurden auf die C18-Säule eines Standard-HPLC-Systems gegeben. Das Fließmittel bestand aus einer Mischung von Methanol/Aceton (88:12, v/v), Fließgeschwindigkeit 1.5 ml/Min. Der Berechnung wurde ein $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 2600$ für α - und β -Carotin zu Grunde gelegt (Heinonen, 1990).

2.4 Statistische Auswertung

Die Daten wurden varianzanalytisch ausgewertet und die Signifikanz der Differenzen zwischen den Sorten mittels Duncan Test ($p = 0.05$), der Unterschiede zwischen den Standorten mit dem unabhängigen t-Test ermittelt.

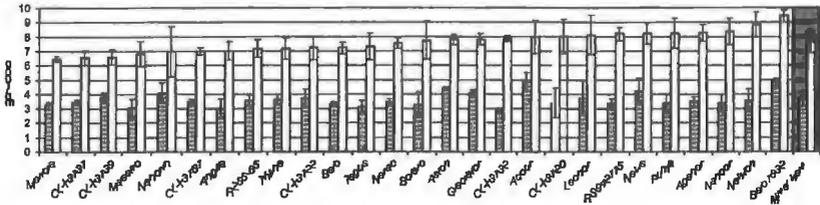


Abb. 2: α - und β -Carotingehalt von 27 Möhrensorten

Der α - und β -Carotingehalt wurde in den beiden Jahren durch den Standort beeinflusst (Abb. 3). Die Möhren von Ins enthielten mehr α -Carotin ($p < 0.001$) und mehr β -Carotin ($p < 0.01$).

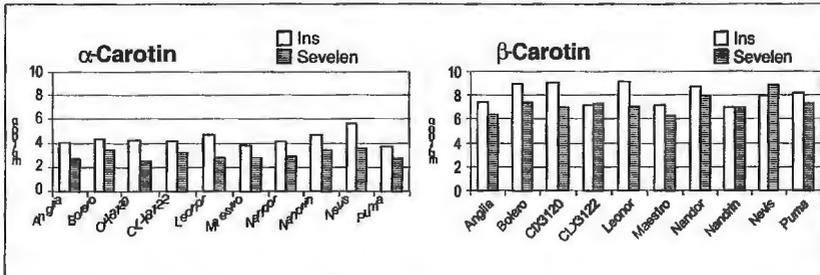


Abb. 3. α - und β -Carotingehalt von 10 Möhrensorten an zwei verschiedenen Standorten im Erntejahr 1999

Im Erntejahr 2000 war der α -Carotingehalt um 17.5% tiefer als 1999, währenddem beim β -Carotingehalt in beiden Jahren gleiche Werte zu verzeichnen waren. (Abb.4).

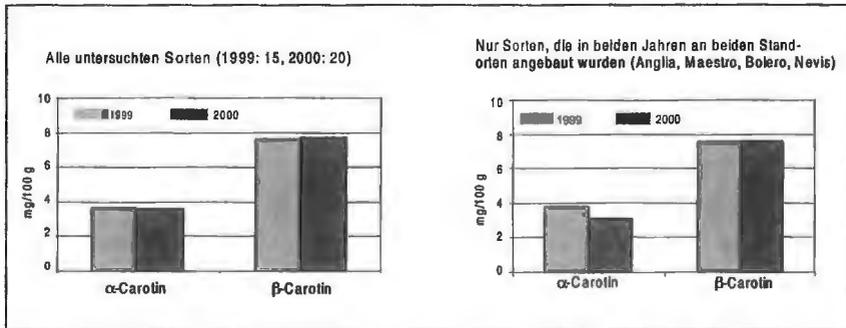


Abb. 4. Jahreseinfluss auf den Gehalt an α - und β -Carotin

Der α - und β -Carotin-Gehalt blieb in beiden Jahren während der 6-monatigen Lagerung unverändert (Abb. 5).

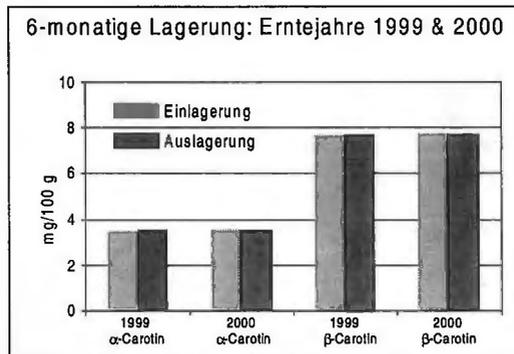


Abb. 5. Lagerungseinfluss auf den Carotingehalt

Aufgrund der bisherigen Untersuchungen kann gefolgert werden, dass der Carotingehalt ausschliesslich durch die Sorte bestimmt wird. Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE) empfiehlt eine tägliche Aufnahme von 2 bis 4 mg β -Carotin (DGE, 2000). Eine tägliche Aufnahme bis zu 10 mg hat sich in epidemiologischen Studien als unbedenklich erwiesen. Bei starken Rauchern muss die Unbedenklichkeit höherer β -Carotindosen (20 bis 30 mg) jedoch in Frage gestellt werden (Heinonen und Albanes, 1994; Omenn et al., 1996). Durch eine Portion Möhren (150 g) kann somit der tägliche Bedarf an β -Carotin von den meisten „Nantaisetypen“ adäquat gedeckt werden.

4. Literatur

- Baloch, A.K., Buckle, K.A. and Edwards, R.A. (1977) Effect of processing variables on the quality of dehydrated carrot. 1. Leaching losses and carotenoid content. *J. Food Technol.* 12, 285-293.
- DGE (2000) Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Frankfurt am Main, Deutschland, pp. 240.
- Heinonen, M.I. (1990) Carotenoids and provitamin A activity of carrot (*Daucus carota* L.) cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 38, 609-612.
- Heinonen, O. and Albanes, D. (1994) The alpha-tocopherol, beta carotene cancer prevention study group: The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N. Engl. J. Med.* 330, 1029-1035.
- Herrmann, K. (1995) Inhaltsstoffe der Möhren. *Industrielle Obst- und Gemüseverwertung* 80, 266-274.
- Lee, C.Y. (1986) Changes in carotenoid content of carrots during growth and post-harvest storage. *Food Chem.* 20, 285-293.
- Ogunlesi, A.T. and Lee, C.Y. (1979) Effect of thermal processing on the stereoisomerisation of major carotenoids and vitamin A value of carrots. *Food Chem.* 4, 311-318.
- Omenn, G.S., Goodman, G.E., Thornquist, M.D., Balmes, J., Cullen, M.R., Glass, A., Keogh, J.P., Meyskens, F.L., Valanis, B., Williams, J.H., Barnhart, S. and Hammar, S. (1996) Effects of a combination of beta carotene and Vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *N. Engl. J. Med.* 334, 1150-1155.
- SGU (1999) *Handbuch Gemüse*. Schweizerische Gemüse-Union, CH-3232 Ins.
- Simon, P.W. and Wolff, X.Y. (1987) Carotenes in typical and dark orange carrots. *J. Agric. Food Chem.* 35, 1017-1022.



Genetische Veränderung von Proteingehalt und Trypsininhibitoraktivität bei Sojabohnen früher Reifegruppen

Johann Vollmann, Helmut Wagentristl¹ und Pavel Michele²

Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Universität für Bodenkultur Wien, Österreich

¹Versuchswirtschaft Groß-Enzersdorf, Gross Enzersdorf, Österreich

²Mikrop Čebín a.s., Brno, Tschechische Republik

Genetic improvement of protein content and trypsin inhibitor activity of early maturity soybean

Abstract: *Protein content and trypsin inhibitor activity are two important features of soybean seed quality for both food and feed utilisation. Seed protein content of soybeans grown in Central Europe is frequently below the average of 40 %, which is mainly due to environmental conditions such as low temperature during seed filling or insufficient biological nitrogen fixation. In selection programs, genotypes with a seed protein content of up to 45 % have been identified. However, the negative correlation between seed yield and protein content is a main barrier to rapid breeding progress. Genotypes with reduced trypsin inhibitor activity have been selected in bi-parental crosses segregating for the presence vs. absence of the Kunitz trypsin inhibitor. Apart from genetic effects, a reduced trypsin inhibitor activity was also found after nitrogen fertilisation during the early seed filling period.*

Johann Vollmann, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Universität für Bodenkultur Wien, Gregor Mendel Str. 33, A-1180 Wien / Austria (email: hans.vollmann@iname.com)

Einleitung

Die Sojabohne (*Glycine max* [L.] Merr.) weist Proteingehalte von durchschnittlich 40 % bezogen auf Samentrockenmasse auf (Nielsen, 1996), womit sie zu den Kulturarten mit der höchsten Proteinkonzentration in den Samen gehört und für einen Einsatz in der Lebensmitteltechnologie, zur Herstellung von Futtermitteln sowie für technische Zwecke prädestiniert ist; in diesen Bereichen stellt ein hoher Proteingehalt oft das wertbestimmende Qualitätsmerkmal dar. Die Proteingehalte von Sojabohnensorten früher Reifegruppen (Reifegruppen 0 bis 000), die unter mitteleuropäischen Anbaubedingungen noch ausreifen können, liegen allerdings zumeist deutlich unter 40 % (Vollmann et al., 2000), womit sie insbesondere gegenüber Sojabohnen südamerikanischer Provenienz in qualitativer Hinsicht klar unterlegen sind.

Reife Sojabohnen enthalten eine Reihe von verdauungshemmenden Inhaltsstoffen, so z.B. Proteaseinhibitoren, Lectine, Tannine und andere Komponenten, die beim Verzehr bzw. der Verfütterung nachteilige Effekte nach sich ziehen und zumeist eine Hitzebehandlung der rohen Bohnen erforderlich machen (Clarke und Wiseman, 2000), um diese Inhaltsstoffe zu deaktivieren. Besonders für europäische Verhältnisse, wo die Sojabohne nicht primär als

Öpflanze genutzt, sondern hauptsächlich als Proteinquelle in der Tierernährung eingesetzt wird, wäre die Reduktion der Gehalte dieser verdauungshemmenden Inhaltsstoffe von einem erheblichen landwirtschaftlichen Interesse.

Aus diesen Eckpunkten ergibt sich ein weites Feld von Problemstellungen für die Qualitätszüchtung, um einerseits den Proteingehalt der Sojabohne auf möglichst hohem Niveau zu stabilisieren und andererseits den Anteil verdauungshemmender Sameninhaltsstoffe zu verringern. Im vorliegenden Beitrag werden daher Ergebnisse züchterischer Aktivitäten an Sojabohnen früher Reifegruppen vorgestellt, welche die genetische und umweltbedingte Variation dieser Qualitätsmerkmale unter österreichischen Anbaubedingungen aufzeigen sollen.

Material und Methoden

Die experimentellen Ergebnisse entstammen jeweils mehrjährigen Anbauversuchen mit Sojabohnen-Zuchtmaterial der Reifegruppen 0 bis 000 auf den ostösterreichischen Standorten Groß-Enzersdorf und Raasdorf bei Wien. Als Versuchsanlagen wurden stets generalisierte Gitteranlagen mit zwei Wiederholungen verwendet.

Die Proteingehalte der geernteten Proben wurden jeweils mit Hilfe der Nahinfrarotreflexionsspektroskopie (NIRS) an vermahlenden, luftgetrockneten Samen bestimmt, sind in g kg^{-1} angegeben und auf Trockenmasse bezogen (Vollmann et al., 2000). Die Trypsininhibitoraktivität wurde an fettfreiem Sojamehl nach der Methode von Kakade et al. (1974) bestimmt und in $\text{mg bovinem Trypsin}$, das pro Gramm Sojamehl inhibiert wird, ausgedrückt.

Zur züchterischen Reduktion der Trypsininhibitoraktivität wurden Kreuzungen mit einer Null-Variante des Kunitz-Trypsininhibitors durchgeführt, bei welcher kein Kunitz-Protein gebildet wird (Orf und Hymowitz, 1979). Als Quellen für dieses Kunitz-Null-Allel wurden die Sorte 'Kunitz' (Bernard et al., 1991) und die Linie 'M91-212006' (J. Orf, University of Minnesota, St. Paul, MN, USA) verwendet. F_2 -Pflanzen aus Kreuzungen mit den Donoren für das Kunitz-Null-Allel wurden mittels Proteinelektrophorese (SDS-PAGE) auf das Fehlen der Kunitz-TI-Bande untersucht (Vollmann et al., 2002).

Ergebnisse und Diskussion

In Kreuzungspopulationen besteht zumeist eine negative Korrelation zwischen Kornertrag und Proteingehalt, welche jedoch im vorliegenden Zuchtmaterial nicht sehr eng ist, so daß eine Selektion auf höheren Proteingehalt möglich erscheint (Abb. 1). Nachkommenschaften von Kreuzungen zwischen einem adaptierten Elter und einem Donor für hohen Proteingehalt weisen zwar deutlich höhere Proteingehalte auf als Kreuzungen zwischen zwei adaptierten Eltern, wegen des zumeist niedrigen Ertragsniveaus des Protein-Donors allerdings auch deutlich geringere Erträge (Abb. 1). Die Heritabilität für das Merkmal Proteingehalt liegt in allen untersuchten Kreuzungen zwischen 50 und 85 % und ist für den Proteingehalt immer höher als für den Samenertrag.

Die häufig beschriebene negative Korrelation zwischen Proteingehalt und Kornertrag (vgl. Burton, 1987) konnte bislang nur mit Hilfe von zeitaufwendigen Rückkreuzungsprogrammen mit einem adaptierten Elter bei gleichzeitiger Selektion auf hohen Proteingehalt überwunden werden, wodurch Genotypen mit verbessertem Proteingehalt, jedoch auf dem Ertragsniveau des adaptierten bzw. rekurrenten Elters erhalten wurden (Wilcox und Cavins, 1995). Einer ähnlichen Strategie folgend konnten auch Cober und Voldeng (2000) Populationen mit verbessertem Proteingehalt entwickeln, in welchen keine negative Korrelation zwischen

Proteingehalt und Ertrag besteht. Es wird angenommen, daß in diesen Populationen neue Allele für hohen Proteingehalt eingeführt bzw. selektiert werden konnten, die keine pleiotropen negativen Effekte auf den Kornertrag aufweisen.

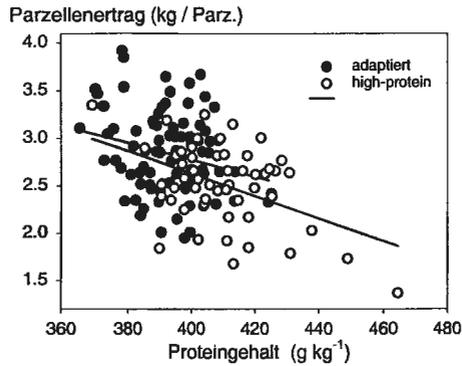


Abbildung 1: Zusammenhang zwischen Proteingehalt und Ertrag in Sojabohnenkreuzungen zwischen adaptierten Genotypen ("adaptiert") bzw. zwischen einem adaptierten Elter und einem Donor für hohen Proteingehalt ("high protein")

Neben genetischen Effekten üben auch verschiedene Umweltfaktoren einen deutlichen Einfluß auf den Proteingehalt aus. Wie aus Abb. 2 ersichtlich, wirkt sich eine Inokulation des Sojabohnensaatgutes mit *Bradyrhizobium japonicum* (Kirchner) Jordan durch Förderung der symbiotischen N₂-Fixierung ähnlich positiv auf den Proteingehalt aus wie eine zusätzliche Stickstoffdüngung vor dem Beginn der Phase der Kornfüllung, wobei unterschiedliche Genotypen durchaus ähnlich reagieren und keine signifikante Interaktion zwischen Genotyp und N-Regime-Variante feststellbar ist. Auch Jahreseinflüsse können den Proteingehalt einzelner Sojabohnensorten deutlich modifizieren (Abb. 3), was vor allem durch unterschiedliche klimatische Verhältnisse während der Kornfüllungsphase erklärbar ist. So führen etwa kühle Bedingungen und größere Niederschlagsmengen während dieser Phase zu einem verringerten Protein-, jedoch zu einem höheren Ölgehalt der Samen, während umgekehrt höhere Temperaturen den Proteingehalt begünstigen (Vollmann et al., 2000). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, daß niedrige Temperaturen in der Wurzelzone der Sojabohne zu verringerter Knöllchenbildung und später zu reduzierter symbiotischer Stickstofffixierung führen (Zhang et al., 1995), was ebenfalls Auswirkungen auf den Proteingehalt haben dürfte.

Aus spaltenden Populationen selektierte Genotypen, die das Null-Allel am Locus des Kunitz-Trypsininhibitorproteins tragen, weisen im Vergleich zum konventionellen Elter eine um 30 bis 50 % verminderte Trypsininhibitoraktivität auf (Abb. 4). Die Trypsininhibitoraktivität wird auch durch eine späte Stickstoffdüngung verringert (Abb. 4, N60), was durch eine Verdünnung der Trypsininhibitor-Proteine infolge des mittels dieser Düngung erreichten höheren Gesamtproteingehaltes zu erklären ist. Obwohl Trypsininhibitoren der Sojabohne besonders reich an schwefelhaltigen Aminosäuren sind und etwa die Hälfte des gesamten Cysteins im Speicherprotein der Sojabohne beinhalten (Nielsen, 1996), führte eine Schwefeldüngung (Ammoniumsulfat) im vorliegenden Fall zu keiner Erhöhung der Trypsininhibitoraktivität (Abb. 4, N30S35). Die innerhalb der Gruppe der Kunitz-TI-freien Genotypen ("--" in Abb. 4) weiter vorhandene genetische Variabilität in der

Trypsininhibitoraktivität ist vermutlich auf ebenfalls vorhandene Variabilität innerhalb der Gruppe der Bowman-Birk-Inhibitoren zurückzuführen (Tan-Wilson et al., 1987). Dies eröffnet die Möglichkeit zu weiteren Rekombinations- und Selektionsschritten. Ähnliche Befunde hinsichtlich einer Selektion im Bereich der Bowman-Birk-Inhibitoren werden auch aufgrund genetischer Analysen von Marchetti et al. (2000) berichtet

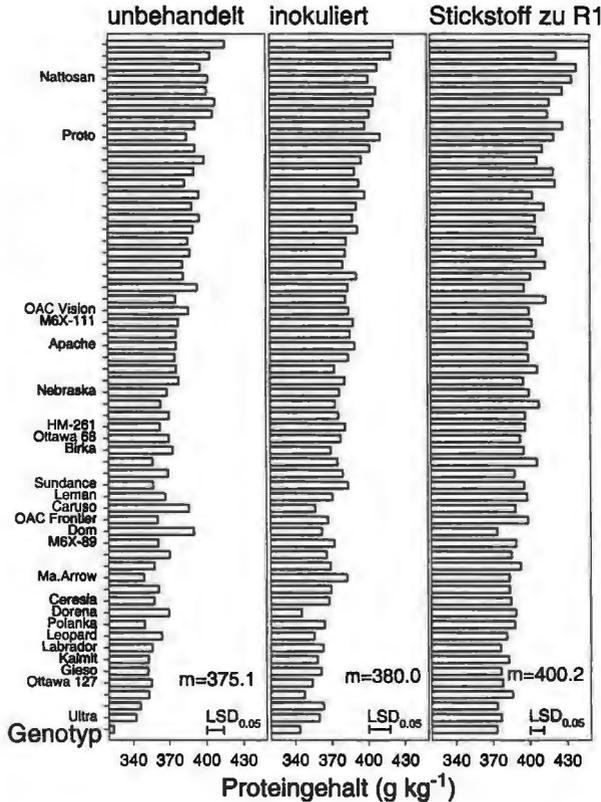


Abbildung 2: Rangreihung eines Sets von 60 Sojabohnen-Genotypen nach dem Proteingehalt bei unterschiedlichem N-Regime (unbehandelt; inokuliert mit *Bradyrhizobium japonicum*; Stickstoff zu R1; 60 kg ha⁻¹ N zum Blühbeginn)

Die bisher durchgeführten Untersuchungen zeigen, daß Sojabohnen früher Reifegruppen sowohl im Proteingehalt als auch hinsichtlich ihrer Trypsininhibitoraktivität genetische Variabilität in einem Umfang aufweisen, die zur züchterischen Verbesserung der Samenqualität nutzbar ist. Der Proteingehalt unterliegt großen umweltbedingten Schwankungen, die nur teilweise pflanzenbaulich beeinflußbar sind. Die im vorliegenden Fall

erreichte minimale Höhe der Trypsininhibitoraktivität kann das Erfordernis einer Hitzebehandlung roher Sojabohnen vor deren Einsatz in der Fütterung bei Nichtwiederkäuern und in der Lebensmitteltechnologie nicht gänzlich beseitigen. Die Ergebnisse zeigen jedoch, daß züchterische und auch pflanzenbauliche Maßnahmen zu einer erheblichen Reduktion dieses verdauungshemmenden Inhaltsstoffes führen können, wobei vor allem im Bereich des Pflanzenbaus noch erheblicher Forschungsbedarf besteht.

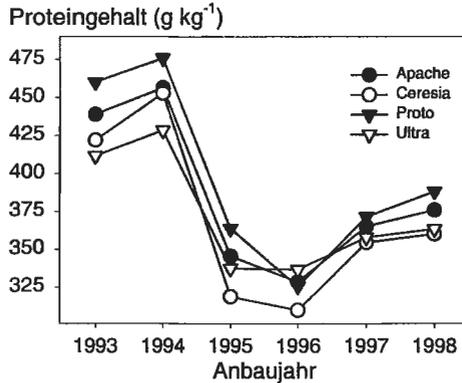


Abbildung 3: Variation des Proteingehaltes verschiedener Sojabohnensorten auf dem Standort Raasdorf in sechs aufeinander folgenden Anbaujahren

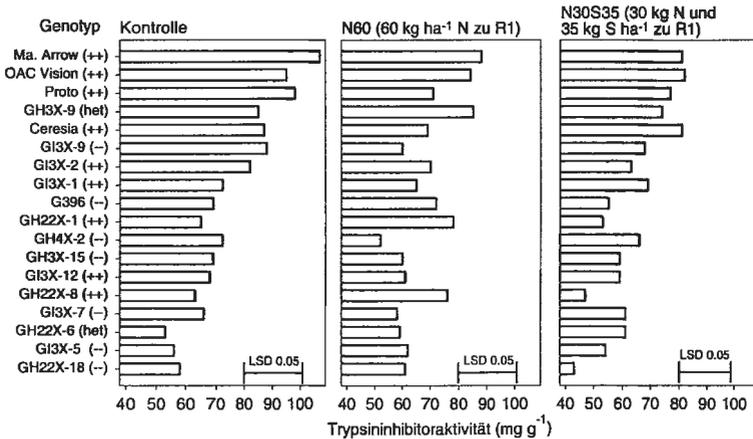


Abbildung 4: Trypsininhibitoraktivität von 18 Sojabohnen-Genotypen ("++": Kunitz-Trypsininhibitor ist vorhanden, "--": Null-Allel auf dem Kunitz-Locus) bei unterschiedlichem Düngungsregime (Kontrolle; N60: 60 kg ha⁻¹ N zu Blühbeginn; N30S35: 30 kg ha⁻¹ N und 35 kg ha⁻¹ S zu Blühbeginn)

Danksagung

Diese Arbeit wurde mit finanzieller Unterstützung durch die Oesterreichische Nationalbank (OENB Jubiläumsfonds Forschungsprojekt Nr. 7502) durchgeführt.

Literatur

- Bernard, R. L., T. Hymowitz & C. R. Cremeens, 1991, Registration of 'Kunitz' soybean, *Crop Sci.* 31:232-233.
- Burton, J. E., 1987, Quantitative genetics: results relevant to soybean breeding, In: J. R. Wilcox (ed.), *Soybeans: improvement, production and uses*, Crop Science Society of America, Madison, WI, pp. 211-247.
- Clarke, E. J. & J. Wiseman, 2000, Developments in plant breeding for improved nutritional quality of soya beans, II. Anti-nutritional factors, *J. Agric. Sci., Camb.* 134:125-136.
- Cober, E. R. & H. D. Voldeng, 2000, Developing high-protein, high-yield soybean populations and lines, *Crop Sci.* 40:39-42.
- Kakade, M. L., J. J. Rackis, J. E. McGhee & G. Puski, 1974, Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure, *Cereal Chemistry* 51:376-382.
- Marchetti, S., C. Chiaba, E. Vrech, G. Zaina & A. Pitotti, 2000, Genetic regulation of trypsin inhibitory activity in soybean flour, *J. Sci. Food & Agric.* 80:171-177.
- Nielsen, N. C., 1996, Soybean seed composition, In: Verma, D.P.S. & R.C. Shoemaker (eds.): *Soybean, genetics, molecular biology and biotechnology*, CAB International, Wallingford, UK, pp. 127-163.
- Orf, J. H. & T. Hymowitz, 1979, Genetics of the Kunitz trypsin inhibitor: An antinutritional factor in soybeans, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56:722-726.
- Tan-Wilson, A. L., J. C. Chen, M. C. Duggan, C. Chapman, R. S. Obach & K. A. Wilson, 1987, Soybean Bowman-Birk trypsin isoinhibitors: Classification and report of a glycine-rich trypsin inhibitor class, *J. Agric. Food Chem.* 35:974-981.
- Vollmann, J., C.N. Fritz, H. Wagenristl and P. Ruckebauer, 2000, Environmental and genetic variation of soybean seed protein content under Central European growing conditions, *J. Sci. Food Agric.* 80:1300-1306.
- Vollmann, J., H. Schausberger, H. Bistrich & T. Lelley, 2002, The presence or absence of the soybean Kunitz trypsin inhibitor as a QTL for seed protein content, *Plant Breeding (im Druck)*.
- Wilcox, J. R. & J. F. Cavins, 1995, Backcrossing high seed protein to a soybean cultivar, *Crop Sci.* 35:1036-1041.
- Zhang, F., D. H. Lynch & D. L. Smith, 1995, Impact of low root temperatures in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) on nodulation and nitrogen fixation, *Environm. Exp. Bot.* 55:279-285.



Fruchtqualität- das entscheidende Kriterium in der Apfelzüchtung

Markus Kellerhals¹, Ernst Höhn¹, Barbara Guggenbühl¹ und Robert Liebhard²

¹Eidg. Forschungsanstalt, Postfach 185, CH-8820 Wädenswil, Schweiz

²Eidg. Technische Hochschule, ETH-Zentrum, CH-8092 Zürich, Schweiz

Fruit quality – the crucial criterium in apple breeding

Abstract

Fruit quality is a crucial criterium determining success of new apple cultivars. Thus fruit quality, high and regular yields and disease resistance are the main objectives of the breeding programme at Wädenswil. Breeding generates the base of improved fruit quality. In general flavour and taste are judged using sensory methods. Instrumental methods to determine soluble solids as indicator of sugar content or titration to assess acidity are other means to judge fruit quality. In addition, the Magness Taylor type fruit tester is employed to determine firmness. Modern molecular methods are now available to the breeder to test for traits such as disease resistance. Fruit quality evaluation based on such methods is still at the beginning. The development of linkage maps for apples is progressing. Quality traits are usually polygenic determined and therefore the quantitative trait loci analysis or mapping are methods of choice. Genetic modification of apple cultivars has been practiced in different areas of the world. However, acceptance of this technology by consumers is rather limited. A combination of classical breeding with selection procedures based on molecular markers seems at this time most appropriate. The new disease resistant cultivars bred in this way show that their fruit quality and more specifically their eating quality has reached the same level as the common traditional commercial cultivars.

Einleitung

Äpfel gehören weltweit zu den beliebtesten und am meisten konsumierten Früchten. Warum ist der Apfel rund, rot oder gelb, weich- oder festfleischig, süsslich oder säuerlich: die Vielfalt der Formen, Farben und Geschmacksnuancen dieser beliebten Frucht ist enorm gross. Diese naturgegebenen Eigenschaften sind durch den Menschen durch Auslese und bewusste Züchtung verändert worden. Neben der Verbesserung der Fruchtqualität spielt heute die Verstärkung der Resistenz gegen Krankheiten und Schädlinge in der Züchtung eine grosse Rolle. Für den gesundheitlichen Wert von Äpfeln ist ihr Gehalt an zahlreichen Mineralien, Spurenelemente, Vitaminen und sekundären Pflanzeninhaltsstoffen wichtig (Buchter, 1998). Äpfel, Apfelsäfte und Apfelweine liefern ein relativ breites Spektrum an phenolischen Verbindungen mit antioxidativer Wirkung (Mayr and Treutter, 1996, Müller und Treutter, 2000, Eberhardt et al. 2000).

Die Fruchtqualität und insbesondere die Essqualität ist entscheidend für den Erfolg einer neuen Apfelsorte am Markt. Die Ansprüche der Verbraucherinnen und Verbraucher an die

Apfelqualität ist Veränderungen unterworfen. Sie spiegeln auch die veränderten Lebens- und Konsumgewohnheiten wieder. In Mitteleuropa werden viele Äpfel frisch oder als Apfelsaft konsumiert, Kochen und Dörren haben an Bedeutung eingebüsst. Die züchterische Sorteninnovation ist deshalb sinnvoll und notwendig. In den letzten Jahrzehnten wurde international in der Apfelzüchtung der Krankheitsresistenz hoher Stellenwert beigemessen (Alston, 1989, Kellerhals et al., 1998). Sie sollte dazu verhelfen, den Einsatz von Pflanzenschutzmitteln zu verringern und dem Bedürfnis nach möglichst rückstandsfreien und umweltschonend produzierten Früchten gerecht zu werden. Bisher hat es jedoch noch keine dieser Sorten geschafft, zu einer Weltsorte vergleichbar mit Golden Delicious, Gala oder Braeburn aufzusteigen. Obwohl die Fruchtqualität laufend gesteigert werden konnte, sind weitere Anstrengungen nötig. Dabei sind die Entwicklungen in der molekularen Analyse von Eigenschaften von grossem Interesse (King et al., 1991, Lespinasse, 2000)

Im Apfelzüchtungsprogramm an der Eidg. Forschungsanstalt Wädenswil gelten folgende Hauptzuchtziele:

- Fruchtqualität
- Ertragshöhe und –regelmässigkeit
- Resistenz gegen Krankheiten

Züchtungsablauf

Die Züchtung muss sich immer an langfristigen Zielen orientieren. Die klassische Apfelzüchtung ist gekennzeichnet durch die Kombination von zwei Elternsorten durch Kreuzung. Die Auswahl der Elternsorten erfolgt nach den gewünschten Eigenschaften der Früchte und des Baumes, nach Verwendungszweck der Früchte, z.B. als Tafelapfel oder für die Verarbeitung zu Apfelsaft und weiteren Verwendungsarten. Neben der Kombinationszüchtung entstehen neue Sorten auch durch künstlich ausgelöste oder spontane Mutation. Die Züchtungs- und Selektionsmethoden haben heute einen hohen Entwicklungsstand erreicht, sodass die lange Generationszeit markant verkürzt werden konnte. Aussaaten und Anzuchten der Sämlinge können im Gewächshaus erfolgen. Die Frühselektion auf Krankheitsresistenz gegen Schorf, Mehltau und Feuerbrand sowie auf Wuchsmerkmale werden im Gewächshaus und in der Baumschule durchgeführt. Gut bewährt haben sich Veredlungsunterlagen wie M27 oder M9, die schwachen Wuchs induzieren. Die 1. Selektionsstufe einer Kreuzungsserie kann rund 6 Jahre nach der Aussaat abgeschlossen werden. Hier spielt die Fruchtqualität eine entscheidende Rolle. Etwa 1 % der Sämlinge werden aus den Nachkommenschaften selektiert. In die 2. Selektionsstufe stehen 3 Bäume pro Zuchtnummer. Bei positiver Beurteilung gelangen sie in die 3. Selektionsstufe mit 4 x 4 Bäumen (Blockdesign) je Sämling. Lagerungsversuche, sensorische Tests und Analysen der Fruchtqualität stehen im Vordergrund. Parallel dazu wird der Virusstatus geprüft. Vielversprechende Züchtungen mit besten Marktchancen werden zum Sortenschutz angemeldet. Von der Kreuzung bis zur Sortenschutzanmeldung dauert es in der Regel 12 bis 20 Jahre.

Vererbung der Fruchtqualität

Die Fruchtqualität stellt die Summe einer Vielzahl von Eigenschaften dar. Die Fruchtgrösse ist polygen vererbt (Janick and Moore, 1996). Immer wieder ist eine Verschiebung zu kleineren Früchten in Kreuzungsnachkommenschaften zu beobachten. Die Reifezeit, ebenfalls polygen bestimmt, weist eine hohe Heritabilität auf. Die Vererbung der Fruchtfarbe ist recht komplex und gibt immer wieder zu Hypothesen Anlass. Die Anthocyanbildung ist

normalerweise dominant gegenüber fehlender Rotfärbung. Streifung wird wahrscheinlich durch ein einziges dominantes Gen gesteuert. Die Fleischbeschaffenheit ist eine komplexe Eigenschaft, die mit der Ethylenproduktion korreliert sein kann. Der Apfelgeschmack ist immer noch ein wichtiges Selektionskriterium, das meist sensorisch erfasst wird. Es wird bestimmt durch ein komplexes Gemisch von Säuren, Zuckern, Gerbstoffen und Aromastoffen. Hunderte von flüchtigen Stoffen konnten nachgewiesen werden, aber deren konkreter Beitrag zur Geschmacksqualität ist schwierig nachzuweisen.

In der praktischen Sortenzüchtung werden neben der sensorischen Bewertung einfache Hilfsmittel wie Refraktometer, Säuretitrator und Penetrometer eingesetzt, um den Zucker- und Säuregehalt sowie die Fleischfestigkeit zu ermitteln.

Molekulare Grundlagen der Fruchtqualität

Heute stehen den Züchtern moderne Techniken zur Verfügung, um die genetischen Eigenschaften von Kreuzungsnachkommen zu analysieren. Während bei Resistenzfaktoren des Apfels gegen Krankheiten wie Schorf und Mehltau schon grosse Fortschritte erzielt wurden, ist die Fruchtqualität noch wenig bearbeitet. Das Erstellen von Genkarten (linkage maps) macht auch beim Apfel Fortschritte (Seglias, 1997, Maliepaard et al., 1998). Wie oben dargelegt, sind die meisten Qualitätseigenschaften durch mehrere Gene bestimmt. Hierfür kommt die QTL Analyse (quantitative trait loci) oder das QTL mapping in Frage, das allerdings deutlich aufwändiger ist als die Charakterisierung von monogenen Eigenschaften (King et al., 2000, 2001). Erfolge bei der gentechnischen Veränderung des Apfels sind ebenfalls zu verzeichnen (Norelli et al., 2000), doch ist die Akzeptanz bei den Verbrauchern gering. Eine Verknüpfung von klassischer Züchtung mit molekularer Selektion erscheint zur Zeit erfolgversprechender.

Konsumqualität

Fruchtqualität wird zunehmend zur Markt- bzw. Konsumqualität und hängt auch davon ab, wieviel die Verbraucher bereit sind, für ein bestimmtes Produkt zu bezahlen. Konsumentenbefragungen haben gezeigt, dass heute der Fleischfestigkeit und der Saftigkeit eine hohe Beachtung geschenkt werden (Figur 1). Der moderne Apfel soll knackig, saftig und aromatisch sein. Der Essqualität wird hohe Bedeutung zugemessen und deshalb stehen beim Apfel folgende Qualitätsaspekte im Zentrum:

- ansprechendes, regelmässiges Aussehen, gute Präsentation
- hohe Fleischfestigkeit und angenehme Fleischbeschaffenheit
- harmonischer Geschmack
- gutes Shelf-life

In der Züchtung werden die Grundlagen für den Anbau und Verkauf qualitativ hochwertiger Früchte gelegt. Aufbauend darauf können Anbauer, Lager- und Verkaufsbetriebe ihren Beitrag leisten, dass eine gute Fruchtqualität beim Verbraucher ankommt.

Sensorische Bewertung der Fruchtqualität

Die menschlichen Sinnesorgane wurden schon seit Urzeiten dazu eingesetzt um die Qualität von Lebensmitteln einzuschätzen. Oft wurde die sensorische Prüfung von einzelnen geschulten Personen, wie Züchtern oder speziellen Verkostern angewendet. Heute steht die Arbeit mit Prüfergruppen von geschulten Personen oder Verbrauchern im Vordergrund, welche nach standardisierten Methoden arbeiten (Hampson 1999). Dadurch werden die

Aussagen besser abgestützt. Statistische Methoden zur Dateninterpretation sind heute vorhanden. Grundsätzlich ist zu unterscheiden zwischen:

- analytischer sensorischer Bewertung
- hedonischer Bewertung durch Verbraucher

Bei analytischer sensorischer Bewertung sind geschulte Prüfpersonen im Einsatz, die in der Lage sind, ein Produkt verbal qualitativ und quantitativ zu beschreiben bzw. Produkte stichhaltig zu unterscheiden.

Bei Verbrauchertest sollte das Panel so gut wie möglich einen Querschnitt der Bevölkerung repräsentieren. Demographische Faktoren wie Geschlecht, Alter, Bildung, etc. spielen mit.

Verbrauchertests mit neuen schorffresistenten Apfelsorten

Im Rahmen des DARE-Projekts (Lespinasse et al., 2000) wurden in den Jahren 2000 und 2001 Verbrauchertests mit vier krankheitsresistenten Apfelsorten und 2 Standardsorten durchgeführt (Tabelle 1).

Tabelle 1: Beschreibung der geprüften Sorten 2000 und 2001

Jahr	Sorte	Herkunft	Frucht
2000	Ariwa (schorf- und mehlttauresistent)	CH, Golden Delicious x A 849-5	Gelb, mit orangerot gestreifter Deckfarbe
2000	Topaz (schorffresistent)	CZ, Rubin x Vanda	Gelb mit orangeroter, gestreifter Deckfarbe
2000	Gala	NZ, Golden Del. x Kidds Orange	Gelb mit rot gestreifter Deckfarbe
2001	Goldrush (schorffresistent)	USA, Coop 17 x Golden Del.	Gelb, wenig roter Blush
2001	Otava (schorffresistent)	CZ, Sampion x Jolana	Gelb mit etwas rotem Blush
2001	Golden Delicious	USA	gelb

Die Tests wurden 2000 in Wädenswil (deutschsprachige Schweiz, n = 180) und Sion (französischsprachige Schweiz, n = 100) durchgeführt; 2001 in Thalwil (deutschsprachige Schweiz, n= 85) und Bulle (französischsprachige Schweiz, n = 77).

Um die Variation in der Fruchtqualität zu vergrössern wurden verschiedene Lagerverfahren (CA-Lager, Kühllager) und Nachreifungsverfahren einbezogen. So wurden 2001 gewisse Muster nach der Entnahme aus dem Lager 7 bzw. 14 Tage der Zimmertemperatur ausgesetzt. Jeder Verbraucher bewertete alle drei Sorten in zufälliger Reihenfolge und als individuelle Muster. Bewertet wurde das Aussehen und die Beliebtheit mit einer 9-Punkte (Skala: 1= extrem schlecht bis 9= extrem gut). Um die Gründe für die Akzeptanz der Äpfel genauer zu ermitteln wurde für die Attribute Festigkeit, Saftigkeit, Säuerlichkeit, Süsse und Geschmacksintensität der „Gerade-richtig-Test“ eingesetzt. Dabei wurden die folgenden Beurteilungsstufen herangezogen: zuwenig/zu schwach, etwas zu wenig/etwas zu schwach, gerade richtig, etwas zu viel/etwas zu stark, viel zu viel/viel zu stark. Jeder Testperson wurden jeweils drei Sorten zur Beurteilung vorgelegt, wobei ein Apfel pro Sorte beurteilt werden musste. Die Prüfer wurden gebeten einen Biss zu nehmen und dann ihre Bewertung vorzunehmen. Am Rest des Apfels erfolgten die instrumentellen Analysen zur Bestimmung der Fleischfestigkeit, des Zuckergehalt (°Brix) und der titrierbaren Säure (Tabelle 2)

Tab.2. Analysenwerte der Äpfel Verbrauchertests 2000 (n=280) und 2001 (n=162) im Zeitpunkt der Verkostung

	Sorte					
	Ariwa	Topaz	Royal Gala	Otava	Goldrush	Golden Delicious
	2000	2000	2000	2001	2001	2001
Festigkeit (kg/cm ²)	7.0	5.8	5.9	5.1	6.7	4.5
Zucker (°Brix)	12.4	13.7	12.3	14.2	14.2	12.9
Säure (g Apfelsäure/l)	3.7	6.8	3.5	4.4	4.6	2.6

In der ersten Serie mit Ariwa, Topaz und Royal Gala wurden alle drei Sorten gesamthaft als gleichwertig beurteilt. Daraus lässt sich ableiten, dass die Fruchtqualität der krankheitsresistenten Sorte Topaz ebenbürtig mit derjenigen der etablierten Sorte Gala war. Fig. 2 zeigt, dass die schorfresistenten Sorten Goldrush und Otava beim Gesamteindruck besser bewertet wurden als die Vergleichssorte Golden Delicious. Beim Aussehen wurde Otava leicht tiefer eingestuft als die beiden anderen Sorten. Goldrush weist den geringsten Anteil von Früchten auf, die schlecht oder sehr schlecht eingestuft wurden und folglich den höchsten Anteil von Früchten die gut bis sehr gut ansprachen. Aus den Figuren 3 und 4 wird deutlich, dass die zu geringe Fleischfestigkeit und die mangelnde Säure bei Golden Delicious ausschlaggebend waren, während der Zuckergehalt kaum differenzierte. Goldrush weist einen hohen Anteil von Früchten mit optimaler Fruchtqualität auf.

Die Verbrauchertests zeigten, dass dem Kriterium Fruchtqualität in der Apfelzüchtung entscheidende Bedeutung zukommen muss. Die instrumentell erfassbaren analytischen Parameter (Fruchtfleischfestigkeit, Zuckergehalt und Säuregehalt) geben erste Hinweise auf die Fruchtqualität. Sie sind aber nicht genügend aussagekräftig für die Gesamtbeurteilung der Essqualität einer Apfelprobe, wie sie durch Verbraucher eingeschätzt wird. Erfreulich ist, dass die neueren krankheitsresistenten Apfelsorten ein Qualitätsniveau erreicht haben, das vergleichbar ist mit konventionellen Sorten.

Dank

Die Autoren danken für die finanzielle Unterstützung durch das Schweizerische Bundesamt für Bildung und Wissenschaft (EU-Projekt DARE).

Literatur

- Alston F. 1989. Breeding pome fruits with stable resistance to diseases: selection techniques and breeding strategies. In: Gessler, Butt and Koller (eds.), Integrated control of pome fruit diseases. IOBC-Bulletin XII/6:90-99.
- Buchter H und Schöber U. 1998. Der Apfel. Ein bewährtes Hausmittel neu entdeckt. Trias Verlag, 128 S.
- Eberhardt, M.V., Lee, C.Y., Liu, R.H. 2000. Antioxidant activity of fresh apples. Nature 405: 903-904.

- Hampson C.R., Quamme H.A. and J.W. Hall, 2000. Using sensory evaluation panels to screen apple breeding selections. *Acta Hort.* 538, 201-205.
- Janick J. and Moore N., 1996. *Fruit Breeding Vol. 1, Tree and Tropical fruits* John Wiley & Sons, 616 p.
- Kellerhals M., Viviani A., Goerre M. and C. Gessler 1998. New challenges for apple breeding. *Acta Hort.* 484: 131-134.
- Kellerhals M., Gianfranceschi L., Seglias N. and Gessler C., 2000. Marker-assisted selection in apple breeding. *Acta Hort.* 251: 255-266.
- King G.J., Alston F.H., Batlle L, Gessler C., Janse J., Lindhout P., Manganaris A.G., Sansavini S., Schmidt H. and Tobutt K. 1991. The "European Apple Genome Mapping Project" - developing a strategy for mapping genes coding for agronomic characters in tree species. *Euphytica* 56:89-94.
- King G.J., Lynn J.R., Dover C.J., Evans K.M., Seymour G.B. 2001. Resolution of quantitative trait loci for mechanical measures accounting for genetic variation in fruit texture of apple (*Malus pumila* Mill.). *Theor. Appl. Genet.* 102 (8): 1227-1235
- King G.J., Maliepaard C., Lynn J.R., Alston F.H., Durel C.E., Evans K.M., Griffon B., Laurens F., Manganaris A.G., Schrevels T., Tartarini S., Verhaegh J. 2000. Quantitative genetic analysis and comparison of physical and sensory descriptors relating to fruit flesh firmness in apple (*Malus pumila* Mill.). *Theor. Appl. Genet.* 100 (7): 1074-1084
- Lespinasse Y., Durel C.E, Parisi L., Laurens F, M. Chevalier, Pinet C. 2000. An European project: D.A.R.E - Durable Apple Resistance in Europe (FAIR 5 CT97-3898). Durable resistance of apple to scab and powdery mildew: one step more towards an environmental friendly orchard. *IOBC/WPRS Bulletin Vol. 23(12): 257-260.*
- Maliepaard C, Alston F.H., Van Arkel G., Brown L.M., Chevreau E., Dunemann F., Evans K.M., Gardiner S., Guilford P., Heusden A.W. van, Janse J., Laurens F., Lynn J.R., Manganaris AG, Den Nijs APM, Periam N, Rikkerink E, Roche P, Ryder C, Sansavini S., Schmidt H., Tartarini S., Verhaegh J.J., Vrielink-Van Ginkel M., King G.J. (1998). Aligning male and female linkage maps of apple (*Malus pumila* Mill.) using multi-allelic markers. *Theor Appl Genet* 97:60-73
- Mayr U. und Treutter D., 1996. Vorkommen und Gehalte von Flavanolen in Apfelfrüchten und -säften. In: Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung, XXXI. Vortragstagung, Kiel, 113-118
- Müller C. und Treutter D., 2000. Phenolische Verbindungen in Apfelsaft, Apfelwein und Apfelessig. In: Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung, XXXV. Vortragstagung, Karlsruhe, 121-125.
- Norelli J.L., Borejsza-Wysocha E., Reynoird J.P. and Aldwinckle H.S., 2000. Transgenic 'Royal Gala' apple expressing attacin E gene has increased field resistance to *Erwinia amylovora* (fire blight). *Acta Hort.* 538, 631-633.
- Seglias N. 1997. Genetische Kartierung quantitativer Merkmale beim Apfel. ETHZ Diss.ETH Nr. 12204.

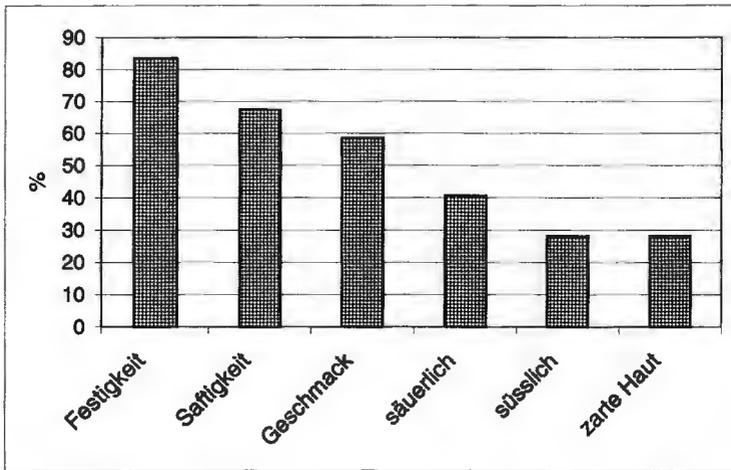


Abbildung 1: Bedeutung von Qualitätskriterien bei den Verbrauchern (2000, n = 280)

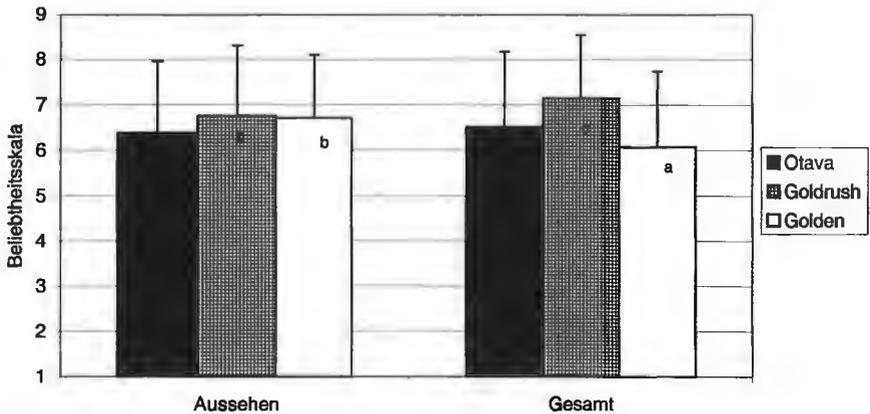


Abbildung 2: Bewertung der Apfelsorten Otava, Goldrush und Golden Delicious durch Verbraucher bezüglich Aussehen und Gesamturteil (2001, n = 162, Skala: 1= extrem schlecht bis 9= extrem gut)

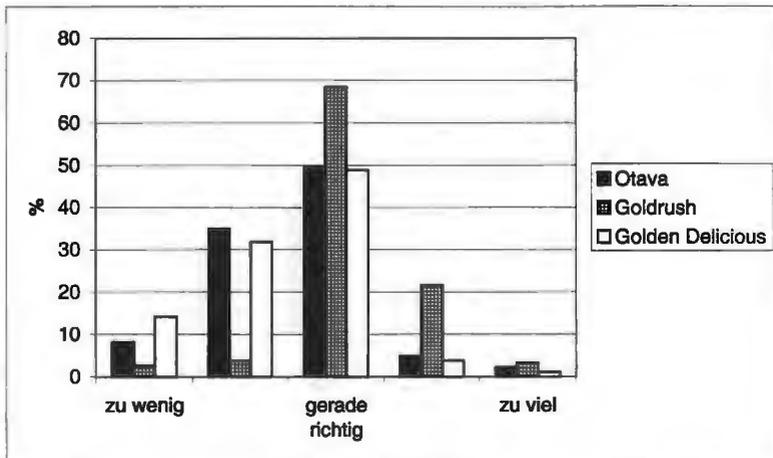


Abbildung 3: Bewertung der Apfelsorten Otava, Goldrush und Golden Delicious durch Verbraucher bezüglich Fleischfestigkeit nach dem „Gerade-richtig-Test“ (2001, n = 162)

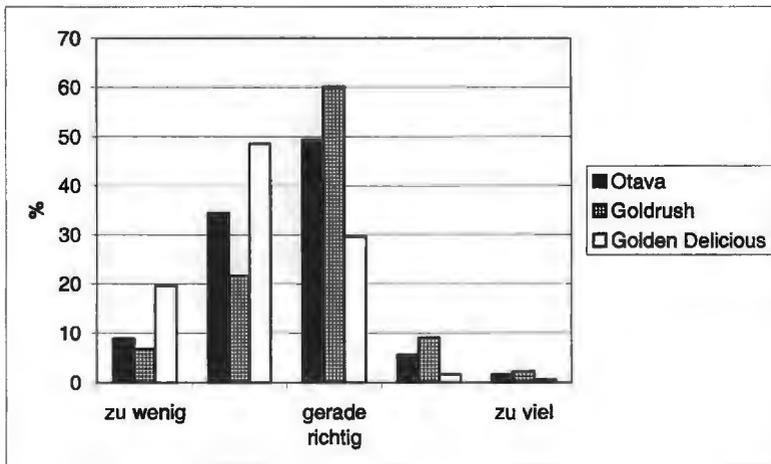


Abbildung 4: Bewertung der Apfelsorten Otava, Goldrush und Golden Delicious durch Verbraucher bezüglich Säuregehalt nach dem „Gerade-richtig-Test“ (2001, n = 162)



Möglichkeiten der Qualitätssteigerung durch Klonenselektion bei Reben am Beispiel des *Blauen Spätburgunders*

Ernst H. Rühl, Hubert Konrad, Bettina Lindner

Fachgebiet Rebenzüchtung und Rebenveredlung Forschungsanstalt Geisenheim,
von Lade Str. 1, 65366 Geisenheim/Rhein

*Options to increase grape quality by clonal selection for instance Pinot noir
Grapevine varieties are relatively old. The variety Pinot noir has first been mentioned in
Germany in the 9th century. During their history a certain genetic variation has evolved
within these varieties. This variation is the source for clonal selection and the
development of new clones. The genetic range within Pinot noir is large in regards to
yield (657 to 1623 gm⁻¹), must acidity (9,4 to 13,6 gL⁻¹) and botrytis infection (2 to 26 %
infected berries), but low in regards to sugar level (20,7 to 22,0 °Brix). A negative
correlation was found between yield and sugar level, but acidity. In regards to botrytis
infection clones with loose clusters due to smaller berries or extended pedicels.*

Einleitung

Von Auslesezüchtung bei Reben berichten bereits verschiedene römische Quellen (Schöffling und Stellmach, 1993). Auch die Problematik der Degeneration des Pflanzguts und die Bedrohung durch Viruserkrankungen dürfte zu dieser Zeit bereits bekannt gewesen sein. Eine systematische Klonenselektion begann jedoch erst 1876 mit Gustav Froelich, der über viele Jahre die Erträge einzelner Silvaner-Stöcke registrierte und nur den besten weiter vermehrte. Seine Idee der Einzelpflanzenauslese wurde von Bauer (1913), Ludowici (1924), Seeliger (1927) und Baur (1933) weiterentwickelt, weitere Auswahlkriterien wie Seitentriebbildung, Krankheitsanfälligkeit und Langlebigkeit mit einbezogen. So entstand der heute noch übliche 3-stufigen Klonaufbau mit Leistungsprüfung (Becker, 1978; Schöffling, 1984).

Im Gegensatz zu vielen anderen Kulturpflanzen sind Rebsorten vergleichsweise alt. Die Sorte Blauer Spätburgunder wurde in Deutschland bereits im 9. Jahrhundert nachgewiesen; vermutlich ist sie noch wesentlich älter. Mit 9255 ha ist Spätburgunder die wichtigste deutsche Rotweinsorte (Thoma, 2001). Sie gilt als die Qualitätsrotweinsorte des gemäßigten Klimabereichs. Problematisch sind bei der Sorte sehr dichte kompakte Trauben, was bei feuchter Herbstwitterung leicht zu Traubenfäule durch *Botrytis cinerea* führt. Neben charakteristischen Aromaveränderungen kommt es in der Folge zu starkem Farbverlust und entsprechender Qualitätseinbuße.

Während ihrer langen Geschichte hat sich durch Mutationen innerhalb der meisten traditionellen Sorten eine mehr oder weniger große genetische Variation entwickelt. Betrafen diese Mutationen deutlich sichtbare Merkmale, so entstanden neue Sorten, wie

z.B. der Ruländer, der Weißburgunder oder der Blaue Frühburgunder aus dem Blauen Spätburgunder. Häufig bewegen sich die genetischen Veränderungen jedoch im Rahmen der Sorte und werden für züchterische Zwecke herangezogen. Bereits Ludowici (1924) forderte die Traubenqualität als Auswahlkriterium, doch dies beschränkte sich häufig auf die Feststellung des Mostgewichtes der Trauben.

Seit einigen Jahren steigt – insbesondere bei Qualitätssorten - der Bedarf nach qualitativ hochwertigem Wein im In- und Ausland stetig und damit einhergehend auch die Nachfrage nach Reben mit entsprechendem Leistungspotential. Qualitätsparameter sind bei roten Trauben neben einem hohen Zuckergehalt eine dunkle Farbe, phenolische Bestandteile, sortentypische Aromen und eine niedrige Säure. Ziel der Arbeiten war es – zur Abschätzung der züchterischen Möglichkeiten - die genetische Streubreite der Sorte Blauer Spätburgunder zu untersuchen und festzustellen, inwieweit durch Klonenselektion die Traubenqualität gesteigert werden kann.

Material und Methoden

Material von Stöcken des Blauer Spätburgunder mit unterschiedlichem Erscheinungsbild wurde an verschiedenen Stellen gesammelt, mittels ELISA auf Virusbefall untersucht und insgesamt 43 verschiedene Herkunftten (Klone) 1988 in einem homogenen, tiefgründigen, humosen Löß-Lehm Boden in Geisenheim mit je 12 Stock ausgepflanzt (Stockabstand: 1,8 x 1,2 m, Anschnitt: 5-6 Augen/m²). Über 6 Jahre (1993 bis 1998) wurden Ertrag, Mostgewicht, titrierbare Säure und Botrytisbefall ermittelt. Daneben wurden verschiedene pflanzenbauliche Charakteristika, wie Triebwachstum, Seitentriebbildung und Traubenform bonitiert. Die dargestellten Ergebnisse sind Mittelwerte der Versuchsjahre 1993 bis 1998.

Die Weine der Klone wurden im Fachgebiet einzeln angebaut (offene Maischegärung über 6 Tage in 50-Literbehältern, 4-maliges Herunterstoßen des Tresterkuchens pro Tag, Gärtemperatur im Gebinde 25 bis 30°C) und sensorisch beurteilt. Von Weinen des Jahrgangs 1997 wurden außerdem durch ein Prüferpanel (20 Personen) die verschiedenen Leit aromen der verschiedenen Klonentypen untersucht.

Ergebnisse und Diskussion

Der mittlere Ertrag der Klone variierte zwischen 657 und 1623 gm⁻², der Zuckergehalt zwischen 20,7 und 22,0 °Brix (Abbildung 1). Hieraus wird ersichtlich, dass die Beeinflussung des Ertrags durch Klonenselektion wesentlich eher möglich ist als die Steigerung des Zuckergehalts. Daneben lassen sich bei der Sorte Blauer Spätburgunder aber auch die titrierbare Säure und insbesondere die Botrytis anfälligkeit züchterisch beeinflussen. Die titrierbare Säure der Klone variierte zwischen 9,4 und 13,6 gL⁻¹. Während bei einigen Klone durchschnittlich 26 % der Beeren von *Botrytis* befallen wurden, waren bei anderen nur 2 % infiziert.

Zwischen dem Ertrag und Zuckergehalt der Beeren konnte eine negative Korrelation festgestellt werden: Klone mit höherem Ertrag, produzierten Früchte mit geringerer Zuckerkonzentration (Abbildung 2). Dies bedeutet, dass Klone mit höherer Ertragsleistung eine geringer Zuckerkonzentration in der Beere aufweisen. Eine Steigerung des Zuckergehaltes der Beeren muss zumindest tendenziell durch einen geringeren Ertrag ‚erkauf‘ werden. Wegen der Hektar-Höchst-Ertrags-Regelung im europäischen Weinbau und des ohnehin hohen Ertragsniveaus in Deutschland, ist diese Problematik jedoch von untergeordneter Bedeutung.

Keine Beziehung konnte zwischen dem Ertrag und der titrierbaren Säure im Most festgestellt werden. Wegen der Unabhängigkeit dieser Merkmale können Klone mit

geringer Mostsäure sowohl bei ertragreichen wie auch ertragsschwachen Klone gefunden werden. Klone mit höherem Ertrag weisen tendenziell eine höhere Botrytisanfälligkeit auf, was vermutlich durch größere Beeren und damit einhergehend kompakteren Trauben verursacht wird.

Bei der Betrachtung von titrierbarer Säure im Most und Botrytisbefall der Trauben lassen sich vier deutlich von einander getrennte Gruppen unterscheiden. Diesen Gruppen lassen sich zudem recht deutliche morphologische Eigenheiten zuordnen:

1. Klone mit kompakter Traube, hoher Säure und hohem Botrytisbefall,
2. Klone mit aufrechtem Triebwachstum, kompakter Traube mittlerer Säure und mittlerem Botrytisbefall,
3. Klone mit lockerer Traube, niedriger Säure und sehr geringem Botrytisbefall,
4. Klone mit kleineren Beeren und dadurch lockerer Traube, hoher Säure und geringem Botrytisbefall.

Die Weine von Typ 4 wiesen zudem eine ausgesprochen tiefe Farbe auf, was durch den im Verhältnis höheren Schalenanteil verursacht sein dürfte. Auch bei der beschreibenden sensorischen Untersuchung fielen Weine diese Variante durch deutliche stärkere Fruchtaromen auf (Abbildung 3).

Abschließend kann festgestellt werden, dass bei der Sorte Spätburgunder durch Klonenselektion Typen mit sehr verschiedenen Qualitäts- und Ertragsleistung entwickelt werden können. Dies bestätigt Beobachtungen von Porten (2001). Somit kann auch durch klonzüchterische Maßnahmen ein Beitrag zur Steigerung der Weinqualität geleistet werden.

Es muss hier aber auch erwähnt werden, dass dies nicht bei allen traditionellen Sorten so einfach ist. Die genetische Variation ist bei anderen Sorten geringer als beim Blauen Spätburgunder, was neben einer geringeren natürlichen Mutagenität auch durch den Verlust an entsprechendem Genmaterial in den zurückliegenden Jahrzehnten bedingt sein dürfte. Die Sichtung unterschiedlicher Typen und Konservierung der genetischen Variation innerhalb unserer traditioneller Sorten wird daher für die zukünftige Klonenselektion von entscheidender Bedeutung sein.

Zusammenfassung

Von Auslesezüchtung bei Reben berichten bereits römische Autoren. Systematische Klonenselektion begann aber erst Ende des 19. Jahrhunderts. Als Zuchtziele standen bereits in der Antike die Bekämpfung von Viruskrankheiten - auch wenn deren Erreger unbekannt waren - und die Stabilität von Ertrag und Qualität im Vordergrund. Seit einigen Jahren steigt der Bedarf nach qualitativ hochwertigem Wein im In- und Ausland ständig und damit einhergehend auch die Nachfrage nach Reben mit entsprechendem Leistungspotential. Qualitätsparameter sind bei roten Trauben neben einem hohen Zuckergehalt eine dunkle Farbe, phenolische Bestandteile und eine niedrige Säure.

Im Gegensatz zu vielen anderen Kulturpflanzen sind Rebsorten vergleichsweise alt. Die Sorte Blauer Spätburgunder wurde in Deutschland bereits im 9. Jahrhundert nachgewiesen; vermutlich ist sie noch wesentlich älter. Während ihrer langen Geschichte hat sich durch Mutationen innerhalb der meisten Sorten eine mehr oder weniger große genetische Variation entwickelt, die für züchterische Zwecke verwendet werden kann.

Ziel der Arbeiten war es – zur Abschätzung der züchterischen Möglichkeiten - die genetische Streubreite der Sorte Blauer Spätburgunder zu untersuchen. Hierzu wurde 1988 Pflanzmaterial von 43 Herkunft (Klone) in einem homogenen Boden in Geisenheim ausgepflanzt und über 6 Jahre (1993 bis 1998) die verschiedenen

Leistungsparameter ermittelt. Der mittlere Ertrag der Klone variierte zwischen 657 und 1623 gm⁻², der Zuckergehalt zwischen 20,7 und 22,0 °Brix und die titrierbare Säure zwischen 9,4 und 13,6 gL⁻¹. Während bei einigen Klonen durchschnittlich 26 % der Beeren von Botrytis befallen wurden, waren bei anderen nur 2 % infiziert. Zwischen dem Ertrag und Zuckergehalt der Beeren konnte eine negative Korrelation festgestellt werden: Klone mit höherem Ertrag produzierten Früchte mit geringerer Zuckerkonzentration. Anhand der Leistungsmerkmale konnten die untersuchten Klone in 4 Gruppen eingeteilt werden:

- Klone mit kompakter Traube, hoher Säure und hohem Botrytisbefall,
- Klone mit aufrechtem Triebwachstum, kompakter Traube mittlerer Säure und mittlerem Botrytisbefall,
- Klone mit lockerer Traube, niedriger Säure und sehr geringem Botrytisbefall,
- Klone mit kleineren Beeren und dadurch lockerer Traube, hoher Säure und geringem Botrytisbefall.

Dies bedeutet, bei der Sorte Spätburgunder durch Klonenselektion sehr unterschiedliche Klone mit sehr verschiedenen Qualitäts- und Ertragsleistung für die Bedürfnisse des Marktes entwickelt werden können.

Literatur

- Bauer, A., 1913: Über Rebzuchtwahl. Landwirtschaftliche Blätter 121, 103-105.
- Baur, E.;1933: Der heutige Stand der Rebzüchtung in Deutschland. Der Züchter 5, 73-77.
- Becker, H., 1978: Clonal Selection of Grapevines in Germany. Eastern Grape Grower and Winery News 4 (No. 2 and 3): 24-26 and 50-64.
- Ludowici, A., 1924: Die Schule der Rebzucht. Eugen Ulmer-Verlag, Stuttgart 1924.
- Porten, M., 2001: Der "richtige" Spätburgunder-Klon. Das Deutsche Weinmagazin 18 vom 1. September, p. 38-42.
- Schöffling, H., and G. Stellmach, 1993: Klon - Züchtung bei Weinreben in Deutschland (1st ed.). 818pp. Waldkircher Verlag, Waldkirch i. Br.
- Schöffling, H.,1984: Die Klonenselektion bei Ertragsrebsorten. AID 153: 1-24 .
- Seeliger, R., 1927: Neuere Erfahrungen auf dem Gebiet der Rebzüchtung. Wein und Rebe 9, 20-32.
- Thoma, K., 2001: Keltertraubensorten in Deutschland. In: W. Madel, G. Schruft (Herausgeber): Deutsches Weinbaujahrbuch 2002, S.372.



Sortenschutz bei Obst - rechtlicher Rahmen für Züchtungsfortschritt und Qualitätsverbesserung

Erik Schulte

Bundessortenamt, Prüfstelle Wurzen

Plant breeders' rights for fruit cultivars – a legal frame for breeding progress and quality improvement

***Abstract:** The remarkable increase in fruit production in Germany is based on the successes in plant breeding. The recently released fruit cultivars present the improvement of quality regarding yield, resistance towards pests and diseases and field management. Plant breeding as well as the introduction of new cultivars into horticultural and agricultural production require a reliable legal and administrative framework. The Federal Office of Plant Varieties promotes plant breeding progress by granting of plant breeders' rights (ownership of intellectual property of a variety) and by adding cultivars to a national list (identification of most valuable cultivars for growers and consumers).*

Bundessortenamt, Prüfstelle Wurzen, Torgauer Str. 100, 04808 Wurzen

Die Entwicklungen in der obstbaulichen Produktion im Verlauf der zurückliegenden 50 Jahre sind durch bedeutende Leistungssteigerungen gekennzeichnet. Diese wären ohne die Erfolge der Pflanzenzüchtung nicht denkbar gewesen:

Die Aufwendungen für die Obstproduktion sind zunehmend kostenintensiver geworden. Neben den gestiegenen Lohnkosten sind in erster Linie Intensitätssteigerungen im Maschinen-Pflanzenschutz- und Düngemittleinsatz hierfür verantwortlich. Da die Erlöse im allgemeinen nicht durch die Produzenten beeinflusst werden können, sind diese lediglich in der Lage, über Mengensteigerungen ausreichende Erlöszuwächse zu erzielen. Die modernen, leistungsfähigeren Sorten ermöglichen derartig deutliche Ertragssteigerungen.

Verbesserte Resistenzeigenschaften helfen, den kostspieligen Einsatz von Pflanzenschutzmitteln und somit unerwünschten Fremdstoffeintrag in Boden, Wasser und Luft zu verringern. Auf diese Weise kann nicht nur der Produktionsaufwand verringert sondern auch dem gestiegenen Umweltbewußtsein gleichermaßen bei Produzenten und Konsumenten Rechnung getragen werden. Dieser Aspekt hat in besonderer Weise mit der Verschärfung der Pflanzenschutzauflagen bei der Obstproduktion an Bedeutung gewonnen.

War bis zur Mitte des vorigen Jahrhunderts die Produktion verschiedener Obstarten auf bestimmte klimatisch bevorzugte Regionen begrenzt, so hat die gestiegene ökologische Anbau

breite neuerer Sorten und ihre besondere Eignung für Produktionsverfahren mit hohen Intensitätsgraden, die vielfach die Abhängigkeit von äußeren Anbaubedingungen reduzieren, dazu geführt, dass diese Sorten eine erweiterte Anbaueignung aufweisen, die eine Produktion auch in weniger begünstigten Regionen ermöglicht.

Mit zunehmender Industrialisierung hat sich der Produktionsort für Nahrungsmittel immer weiter vom Ort des Konsums entfernt. Marktnähe ist nur noch für diejenigen Produktionsbetriebe von Bedeutung, die einen Direktabsatz betreiben. Sowohl für den Verarbeitungssektor als auch im rasch wachsenden Maße bei der Tafelobstproduktion stellt Marktnähe ein untergeordnetes Kriterium dar. Hinzu kommt, dass der Lebensmitteleinzelhandel kontinuierliche Belieferung in konstanter Qualität und Menge verlangt, die einzelne, infrastrukturell bevorzugte Betriebe allein nicht mehr gewährleisten können. Durch Zusammenschluss in Erzeugergemeinschaften werden die Produktionsbetriebe zu Partnern der überregional operierenden Handelseinrichtungen. Dies setzt innereuropäischen Transport des Obstes und dementsprechend verbesserte Transport- und Lagerungseignung des Erntegutes voraus. Die neueren Sorten vor allem auch des Weichobstes können diesen gestiegenen Anforderungen gerecht werden.

Die eingangs genannten Produktionszuwächse sind nicht allein auf das Potential der Edelsorten zurückzuführen, sondern auch auf die Möglichkeiten, die sich bei der Auswahl geeigneter Unterlagen ergeben. Die neueren, stark wuchsreduzierende Unterlagen verbessern die Höhe und die Frühzeitigkeit des Ertrages der Edelsorten. Durch Induktion schwachen Wuchses tragen sie dazu bei, das Kronenvolumen und damit den Pflege- und schließlich den Ernteaufwand für die Bäume erheblich zu verringern. Außerdem verbessern sie auf diese Weise die Lichtausnutzung im Plantagenanbau, was der inneren und äußeren Qualität der Früchte zugute kommt.

Derartige Züchtungserfolge setzen einen verlässlichen rechtlichen und administrativen Rahmen voraus: Dies ist das Aufgabengebiet des Bundessortenamtes, einer selbständigen Bundesoberbehörde im Geschäftsbereich des Bundesministeriums für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft. In seinen zwei obstbaulichen Prüfstellen in Marquardt bei Potsdam und Wurzen bei Leipzig überprüft das Bundessortenamt die Voraussetzungen zur Erteilung eines Sortenschutzes, eines züchterischen Ausschließlichkeitsrechtes, vergleichbar dem Patent auf technischem Gebiet.

Die Prüfungen zur Erteilung eines Sortenschutzes bei Obstarten erstrecken sich über einen Zeitraum von zwei (Erdbeeren) bis maximal fünf Jahren (Birne, Quitte, Pflaume, Süßkirsche und diverse Wildobstarten). In dieser Zeit wird festgestellt, ob die Voraussetzungen für die Schutzerteilung erfüllt sind: Die Sorte muß neu, von allen bekannten Sorten unterscheidbar, homogen, beständig und mit einer eintragbaren Sortenbestimmung gekennzeichnet sein. Zur Prüfung der Sorte gegenüber ähnlichen Referenzsorten im Freiland werden weltweit gültige Richtlinien herangezogen, die vom Internationalen Verband zum Schutz von Pflanzenzüchtungen (UPOV) in Genf herausgegeben werden. Die Ergebnisse der Merkmalerfassungen fließen ein in eine detaillierte Sortenbeschreibung, die Bestandteil des Abschlußberichts ist. Wenn nach Abschluß zweier Vegetationsperioden feststeht, daß die neue Sorte die Kriterien erfüllt, wird der Sortenschutz per Beschluß erteilt. Für einen Zeitraum von 25 Jahren (bei Baumobst 30 Jahre) ist dann sicherstellt, daß niemand anderes als der Inhaber dieses Schutzrechtes Vermehrungsmaterial der geschützten Sorte herstellen, in den Handel bringen oder im- oder exportieren darf. Dieses Recht ist an Dritte übertragbar und stellt auf diese Weise die Grundlage für Lizenzvereinbarungen dar; über derartige Lizenzentnahmen können wiederum die Aufwendungen für die Züchtungsarbeit getragen werden.

Derzeit sind 461 Sorten von 22 Obstarten in Deutschland geschützt (siehe Tab. 1), wobei am häufigsten Apfel, Pfirsich, Erdbeere, Süßkirsche und Himbeere vertreten sind. Von diesen besitzt ein großer Teil einen gemeinschaftlichen Sortenschutz, der, im Gegensatz zum nationalen Sortenschutz, welcher nur in der Bundesrepublik Deutschland Wirksamkeit besitzt, gleichzeitig in allen Mitgliedstaaten der EU gültig ist.

Tab. 1: Erteilte Sortenschutzrechte verschiedener Obstarten in Deutschland (Stand Mai 2002).

Obstart	nationaler Schutz		EU-Schutz	
	geschützt	im Verfahren	geschützt	im Verfahren
Apfel	71	19	57	83
Pfirsich	1		69	96
Erdbeere	39	3	75	39
Himbeere	10	2	16	16
Prunus-Unterlage	11	4	8	21
Süßkirsche	8	1	10	25
Pflaume	7	9	6	16
Birne	5	2	9	14
Johannisbeere	9		4	6
Sauerkirsche	6	4	3	
Stachelbeere	8		4	
Kiwi	1			9
Birnenunterlage	4	1	1	2
Blaue Honigbeere			3	4
Apfelunterlage	3		3	
Brombeere	3			3
Jostabeere	3			1
Sanddorn	1	3		
Quitte	1	1		1
Heidelbeere	2			
Schlehe		2		
Holunder				1



Schwefeldioxid-Gehalt von ausgewähltem Trockenobst

H. Taschan

Staatliches Untersuchungsamt Hessen, Marburger Str. 54, 35396 Giessen

Abstract: Sulfur Dioxide Content of Selected Dried Fruit

Due to its antioxidative, preservative and antimicrobial effect sulfur dioxide (SO₂) has a wide functional range as an additive in food technology. The positive properties of SO₂ are, however, opposed by negative ones. The questions arising in this context are:

- *Which kinds of dry fruit may be sulfured and which are the maximum SO₂ quantities they may show ?*
- *Which are the conditions under which the SO₂ content has to be indicated?*
- *Which SO₂ contents does market-sold dried fruit have?*

162 different kinds of dried fruit were analyzed for their SO₂ content within the scope of this investigation and the results are as follows:

- *50 % of the analyzed samples had an SO₂ content of less than 100 mg/kg.*
- *The SO₂ contents of 57 samples (35%) were between 100 and 1.000 mg/kg. 22 samples (14%) had an SO₂ content of between 1.000 and 2.000 mg/kg.*
- *2 samples (1%) only had an SO₂ content of more than 2.000 mg/kg.*
- *Apart from a few exceptions, the values obtained were below the laid down limiting values.*

Einleitung

Schwefeldioxid (SO₂) bzw. die schweflige Säure besitzt in der Lebensmitteltechnologie aufgrund ihrer antioxidativen, konservierenden und antimikrobiellen Wirkung als **Zusatzstoff** ein breites Funktionsspektrum. Schwefeldioxid dient

- der Erhaltung oxidationsempfindlicher Inhaltsstoffe,
- der Verhinderung der Bräunung,
- der Hemmung unerwünschter Mikroorganismen und der Unterdrückung unerwünschter Aromen durch Bildung von Sulfonylverbindungen.

Den positiven Eigenschaften des Schwefeldioxids stehen jedoch auch negative gegenüber wie:

- Zerstörung von Thiamin und Thiaminpyrophosphat,
- Inaktivierung der Folsäure,
- Reaktion mit der DNS,
- Hemmung der Glykolyse und
- Auslösung allergischer Reaktionen.

Der ADI-Wert für schweflige Säure zur Zeit 0,7 mg/kg KG. Dies entspricht einer täglichen Belastung mit etwa 50 mg schwefliger Säure eines 70 kg schweren Erwachsenen.

Fragestellung

- Welche Trockenfrüchte dürfen geschwefelt werden und welche Höchstmengen an SO₂ dürfen sie aufweisen?
- Welche Auswirkungen hat die neue ZZuV hinsichtlich des SO₂-Gehaltes von Trockenobst?
- Unter welchen Bedingungen ist der Gehalt an SO₂ kenntlich zu machen?
- Welche Schwefeldioxid-Gehalte haben Trockenfrüchte aus dem Handel?

Lebensmittelrechtliche Regelung

- Die Regelung über die SO₂-Gehalte für Weine befindet sich in den weinrechtlichen Verordnungen.
- Nach der alten Zusatzstoffzulassungs-Verordnung (ZZuV) war nur bei 25 Lebensmitteln bzw. Lebensmittelgruppen eine Schwefelung erlaubt.
- Nach der neuen ZZuV dürfen 60 Lebensmittel bzw. Lebensmittelgruppen mit schwefeliger Säure behandelt werden.
- In **Tabelle 1** sind die Höchstmengen an SO₂ bezüglich der Trockenfrüchte nach der alten und der neuen ZZuV zusammengestellt.
- Nach der alten Verordnung mussten Lebensmittel mit einem SO₂-Gehalt von mehr als 50 mg/kg durch die Angabe „geschwefelt“ kenntlich gemacht werden.
- Nach der neuen Verordnung müssen schon SO₂-Gehalte von mehr als 10 mg/kg kenntlich gemacht werden.

Tab. 1: Höchstmengen an SO₂ für Trockenfrüchte nach der alten und der neuen ZZuV

Zusatzstoffzulassungs-Verordnung 1981	
<u>Trockenfrüchte</u>	<u>SO₂-Gehalt</u>
<ul style="list-style-type: none">• Aprikosen, Birnen, Pfirsiche• Ananas, Äpfel, Quitten• Weinbeeren, ausgenommen Korinthen• Bananen, Carambola, Mangos, Melonen, Papaya, Zitronen	<ul style="list-style-type: none">• 2000 mg/kg• 2500 mg/kg• 1000 mg/kg• 500 mg/kg
Zusatzstoffzulassungs-Verordnung 1998	
<u>Trockenfrüchte</u>	<u>SO₂-Gehalt</u>
<ul style="list-style-type: none">• Aprikosen, Pfirsiche, Trauben, Pflaumen oder Feigen• Bananen• Äpfel oder Birnen• Andere (einschl. Nüsse mit Schale)	<ul style="list-style-type: none">• 2000 mg/kg• 1000 mg/kg• 600 mg/kg• 500 mg/kg

Material und Methode

- Im Rahmen dieser Arbeit wurden 162 verschiedene Trockenfrüchte auf ihren SO₂-Gehalt untersucht. Die Ermittlung des SO₂-Gehaltes erfolgte nach der Destillation und Oxidation der schwefeligen Säure titrimetrisch nach MONIER-WILLIAMS und REITH-WILLEMS.

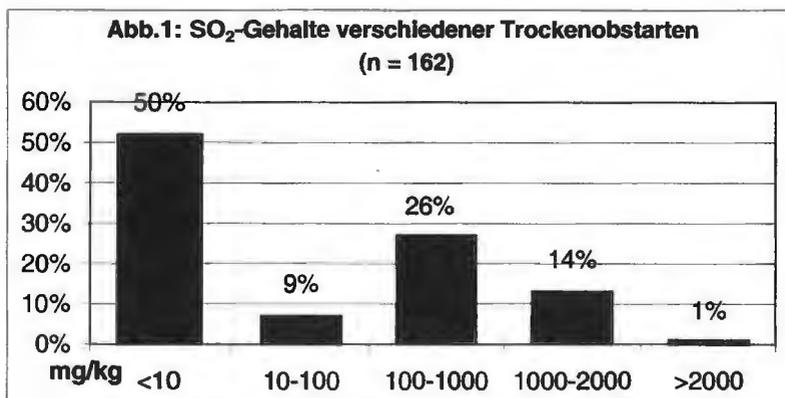
Ergebnisse

- Auf dem Markt befinden sich sowohl geschwefelte als auch nicht geschwefelte Trockenobstprodukte. Die SO₂-Gehalte der Trockenobstproben sind aus **Tabelle 2** zu entnehmen
- 50 % der Proben wiesen einen SO₂-Gehalt unter 10 mg/kg auf.
- 9 % der Proben hatten einen SO₂-Gehalt zwischen 10 und 100 mg/kg.

- Die SO₂-Gehalte der übrigen Proben lagen zwischen 100 und 2700 mg/kg.
- Ca. 40% der untersuchten Proben einen SO₂-Gehalt von über 100 mg /kg aufwiesen.
- In **Abbildungen 1** sind die relative Häufigkeit der SO₂-Gehalte dargestellt.
- Die SO₂-Gehalte der getrockneten Aprikosen sind hier exemplarisch abgebildet (**Abb. 2**).

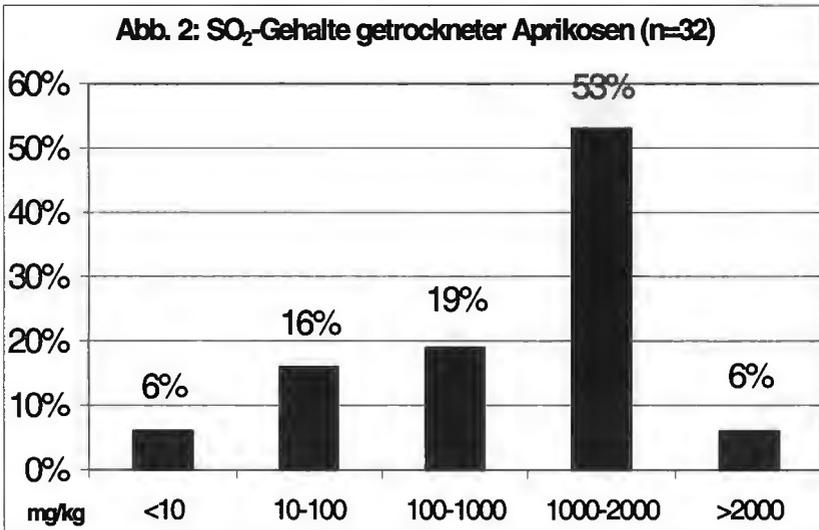
Tab. 3: SO₂-Gehalte von Trockenobst

Trockenobst	n	SO ₂ -Gehalt mg/kg			Grenzwert mg/kg
		Min	Max	Mittelwert	
Apfel	12	<10	1004	341	600
Aprikosen	31	<10	2726	1073	2000
Banane	7	<10	<10	5	1000
Birne	12	155	1282	630	600
Feigen	27	<10	1230	91	2000
Pfirsiche	8	<10	1326	365	2000
Pflaumen	38	<10	820	99	2000
Trauben	19	<10	212	21	2000
Andere	8	<10	<10	3	500



Zusammenfassung

- 50% der untersuchten Proben wiesen einen SO₂-Gehalt von weniger als 100 mg/kg auf.
- Die SO₂-Gehalte von 57 Proben (35%) schwankten zwischen 100 und 1000 mg/kg.
- 22 Proben (14%) hatten einen SO₂-Gehalt zwischen 1000 und 2000 mg/kg.
- Nur bei 2 Proben (1%) wurden ein SO₂-Gehalt von über 2000 mg/kg ermittelt.
- Mit einigen Ausnahmen lagen die ermittelten Werte unterhalb der vorgeschriebenen Grenzwerte





Fluoreszenz-Anregungs-Spektroskopie zur Bestimmung der Qualität von Äpfeln aus ökologischem Anbau

Jürgen Strube und Peter Stolz

KWALIS Qualitätsforschung Fulda GmbH, Fuldaer Str. 21, D- 36160 Dipperz
Tel.: +49-6657-6492 Fax: +49-6657-6592 E-Mail: kwalis@t-online.de

Fluorescence-Excitation-Spectroscopy for Determination of Quality of Apples from Organic Farming

Abstract: With apples from a controlled study it was recognised that ripeness of apples can be measured as pronounced inner differentiation between fruit and seed by fluorescence-excitation-spectroscopy. The application of biodynamic preparations was clearly measurable and yielded the same effect as if the apples had been exposed to more light. It might be of interest to investigate the influence of cultivation or breeding on the measurable quality of ecologically produced apples.

Zusammenfassung: An kontrolliert angebauten Äpfeln wurde deutlich, daß die mit der Zeit zunehmende Reife von Äpfeln sich als stärkere innere Differenzierung zwischen Fruchtfleisch und Kernen ausdrückt (Messung mittels Fluoreszenz-Anregungs-Spektroskopie). Dies kann als zunehmende Organisationsleistung interpretiert werden. Höhere Lichtexposition der Äpfel bewirkte Änderungen im gleichen Sinne wie ein späterer Pflücktermin (größere Reife). Zu meßbaren Wirkungen im Sinne größerer Reife führte ebenfalls die Anwendung biologisch-dynamischer Präparate. Es könnte daher interessant sein, auch den Einfluß weiterer Kulturbedingungen, sowie von Sorten oder züchterischen Maßnahmen auf die Qualität ökologischer Äpfel unter dem Gesichtspunkt der Organisationsleistung zu untersuchen

Hintergrund

Für die Beurteilung der Qualität pflanzlicher Erzeugnisse aus unterschiedlichen Anbausystemen bedarf es eines praktischen und zugleich biologisch einsichtigen Verfahrens. Möglicherweise eignet sich dafür ein Konzept, das von der inneren Differenzierung der Pflanze (Organisationsleistung) ausgeht. Ein solches Konzept wurde bereits früher mehr oder weniger deutlich angeregt (Balzer-Graf und Balzer 1988; Balzer-Graf 1997; Bloksma, Northolt und Huber 2001a; Strube und Stolz 2001a). Es beruht darauf, daß sich eine Frucht im Laufe ihrer Entwicklung immer stärker differenziert. Daß der Zustand größter Reife der größten Differenzierung entspricht, kann zunächst nur vermutet werden. Zwar nimmt die morphologische Differenzierung mit der Reife offensichtlich zu, jedoch ist bei beginnender Alterung eine Minderung der Differenzierung morphologisch nicht sofort erkennbar; sie ist jedoch meßbar.

Bei Messungen mit der Fluoreszenz-Anregungs-Spektroskopie (Strube und Stolz 1999) wurden aus kontrollierter Erzeugung bislang hauptsächlich Samen untersucht (Strube und Stolz 2000; Strube und Stolz 2001b). Die Untersuchung von Äpfeln ermöglichte erstmals, durch Messung an Fruchtfleisch und Samen der gleichen Probe zu prüfen, ob ein Zusammenhang zwischen dem bereits bekannten Unterschied im Spektrum von vegetativen Pflanzenteilen und Samen (Strube und Stolz 1999) und der mit zunehmender Reife zu erwartenden stärkeren inneren Differenzierung besteht.

Material und Methoden

Untersucht wurden 2 kodierte Serien Äpfel der Sorte Elstar aus der Versuchsreihe 2000 des Louis Bolk Instituts LBI (NL) (Bloksma, Northolt und Huber 2001a; Bloksma, Northolt und Huber 2001b). Sämtliche Proben waren ökologisch angebaut. Bei der Serie A wurden die 5 Proben (je 12 Äpfel) zu unterschiedlichen Zeitpunkten geerntet (Reifeserie). Bei der Serie C war der Erntezeitpunkt konstant (18. Sept.), jedoch unterschieden sich die Proben durch unterschiedliche Lichtexposition (Sonne, Halbschatten, Schatten), stammten jedoch vom gleichen Baum (Lichtexpositionsserie). Bei dieser Serie war eine Variante unter Verwendung biologisch-dynamischer Präparate angebaut, die zweite Variante ohne. Weitere Einzelheiten enthalten die folgende Tabelle und insbesondere der Projekt-Bericht (Bloksma, Northolt und Huber 2001a; Bloksma, Northolt und Huber 2001b).

Die Proben wurden vor der Messung im Kühlschrank bei 5 ± 1 °C gelagert. Sie wurden 12 Stunden vor der Messung dem Kühlschrank entnommen und bei 15 ± 2 °C zwischengelagert. Die Messung erfolgte bei 15 ± 2 °C.

Serie	Anzahl der Varianten	Düngung	Licht-Exposition	Anwendung biodyn. Präparate	Ertrag in Früchten je Baum	Pflück-Zeitpunkte	Frucht-Größe in mm
A Reife-Serie	5	Niedrig	Sonne	Ja	130	01. Sept 12. Sept. 21. Sept. 29. Sept. 09. Okt.	75-85
C Belichtungs-Serie	2x3	Mittel	Sonne Halbschatten Schatten	Ja Nein	120	18. Sept.	75-85

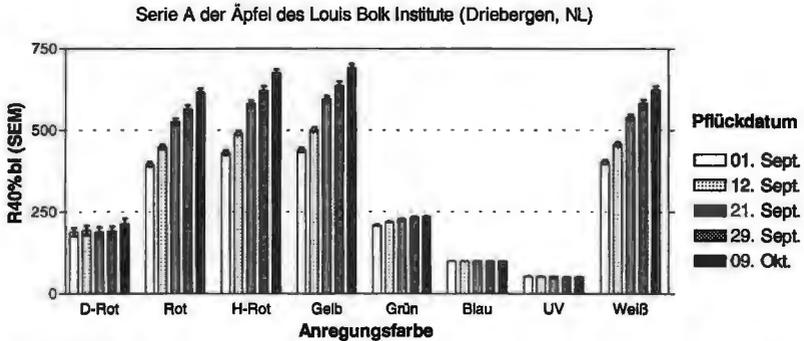
Die zur Untersuchung verwendete Fluoreszenz-Anregungs-Spektroskopie wurde an verschiedenen Stellen bereits beschrieben (Strube und Stolz 1999; Strube und Stolz 2000; Strube und Stolz 2001b). Anregungs-Spektren werden gemessen, indem eine Probe nacheinander mit Licht verschiedener Wellenlänge (Farbe) beleuchtet und jeweils die zeitlich verzögert auftretende Gesamtemission (Fluoreszenz) gemessen wird (im Zeitbereich 30 – 50 Sekunden nach der Anregung). Die Probe reagiert mit unterschiedlicher Intensität des Nachleuchtens auf die verschiedenen Spektral-Bereiche der Anregung (Fluoreszenz-Anregungs-Spektroskopie).

Jeder Apfel wurde in ganzem Zustand von 4 verschiedenen Seiten gemessen (90° Drehung). Da jede Probe 12 Äpfel umfaßte, wurden 48 Einzelmessungen je Probe bei jeweils 8 Farben (Dunkelrot, Rot, Hellrot, Gelb, Grün, Blau, UV und Weiß) durchgeführt. Um von der Apfelgröße unabhängig zu werden, werden die Spektren auf die Emission nach blauer Anregung bezogen.

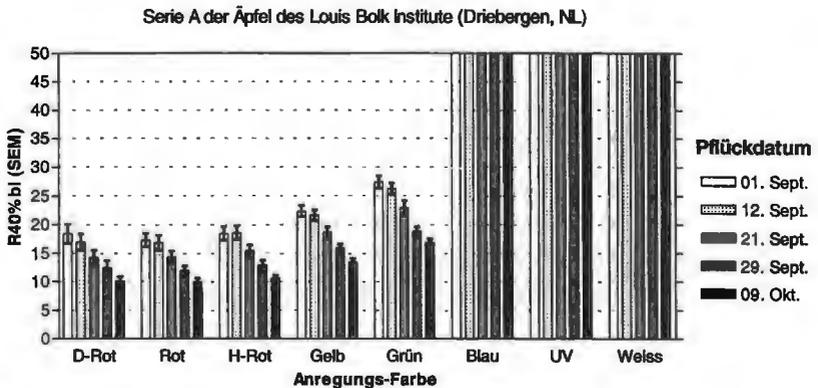
Zusätzlich wurden die Kerne der Äpfel der Reifeferserie A gemessen. Bei der Serie C waren zu wenig Kerne verfügbar.

Ergebnisse

Die Spektren der 5 Proben der Reifeferserie A zeigen die folgenden Abbildungen für die Frucht (obere Abb.) und die Kerne (untere Abb.).



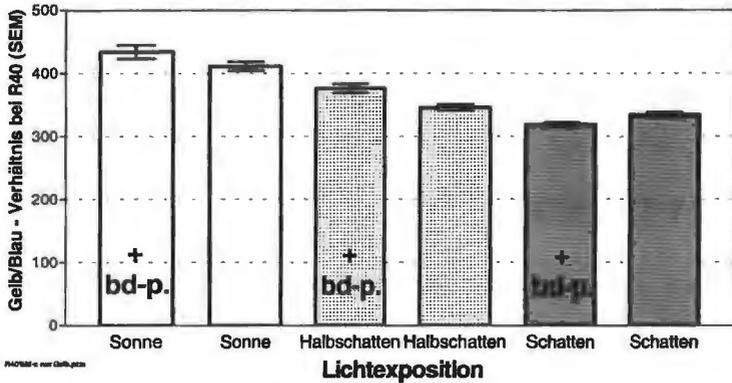
Floreszenz-Anregungs-Spektrum ganzer Äpfel (Oberfläche) bei zunehmender Reife



Floreszenz-Anregungs-Spektrum von Apfelkernen bei zunehmender Reife

Beim Fruchtkörper nimmt die Anregbarkeit durch Rot, Gelb und Grün mit steigender Reife zu, bei den Kernen nimmt sie mit steigender Reife ab. Die Unterschiede zwischen den Pflückterminen sind (an den ganzen Äpfeln gemessen) sämtlich signifikant mit $p < 0,01$.

Die Intensität ändert sich mit dem Pflückdatum bei den Anregungsfarben Rot, Gelb und Grün im gleichen Sinne. An die Stelle ganzer Spektren kann deshalb auch allein die Darstellung des Gelb/Blau - Verhältnisses treten. Zur besseren Übersicht wurde diese Darstellungsform für die Äpfel der Versuchsreihe mit unterschiedlicher Lichtexposition und biologisch-dynamischer Präparate-Anwendung (Serie C) gewählt. Zunehmende Lichtexposition führte zu höherem Gelb/Blau-Verhältnis.



Fluoreszenz ganzer Äpfel (Oberfläche) bei unterschiedlicher Lichtexposition und den zusätzlichen Varianten mit Anwendung biologisch-dynamischer Präparate (+ bd-p.) und ohne biol.-dyn. Präparate (ohne Kennzeichnung).

Diskussion

Die Fluoreszenz-Anregungs-Spektroskopie ergibt ein breitbandiges (Rot-Gelb betontes) Anregungs-Spektrum des Fruchtkörpers und ein schmalbandiges (blau betontes) Anregungs-Spektrum der Samen (Kerne). Damit verlaufen die Spektren von Fruchtfleisch und Samen gegenläufig. Der größte gemessene Unterschied tritt bei den reifsten Äpfeln auf. D.h. es liegt die Schlußfolgerung nahe, daß die meßtechnische Differenzierung der inneren Differenzierung zwischen Frucht und Same bei der Pflanze entspricht. Anzumerken ist, daß die Unterschiede zwischen den Proben ermittelt werden konnten, obwohl morphologisch oder farblich zwischen den Proben nicht differenziert werden konnte.

Aus dem monoton gegenläufigen Spektren bei zunehmender Reife ergibt sich, daß bereits bei Vergleich von Fruchtfleisch-Spektren miteinander (ohne Samenspektren hinzu zu ziehen), der Entwicklungszustand erkennbar sein mußte. Entsprechendes gilt umgekehrt für den Vergleich von Samen-Spektren miteinander. Dies bestätigt die früheren Beobachtungen an anderen Samenarten (Strube und Stolz 2000; Strube und Stolz 2001b).

Durch Vergleich der Ergebnisse der Lichtexpositions-Serie C mit der Reifeserie A ist zu erkennen, daß höhere Lichtexposition wie ein späterer Pflücktermin wirkte. Im selben Sinne wirkte auch die Anwendung biologisch-dynamischer Präparate in Sonne und Halbschatten. Man könnte dies so interpretieren, daß in Halbschatten und Sonne die Anwendung biologisch-dynamischer Präparate zu gesteigerter Organisationsleistung geführt hat.

Zusammenfassung

Die Reife von Äpfeln ist in Fluoreszenz-Anregungs-Spektren deutlich abzulesen als zunehmende Differenzierung zwischen Fruchtfleisch und Kernen. Bei Fruchtfleisch deutet ein höheres Gelb/Blau-Verhältnis auf höhere Reife, bei Samen umgekehrt ein niedriges Gelb/Blau-Verhältnis.

Dank

J. Bloksma, M. Huber und M. Northolt (Louis Bolk Institut) sei für die Beteiligung am Projekt gedankt, der Fa. tegut für die finanzielle Unterstützung, Frau G. Mende für die sorgfältige und gewissenhafte Durchführung der Messungen und Frau A. Brack für ihren sachkundigen Rat beim Abfassen des Manuskriptes.

Literatur

- Balzer-Graf, U. (1997). Vitalqualität - Qualitätserfassung mit bildschaffenden Methoden. Das Goetheanum 76 (25/26 14. Sept. 1997) S. 315-318.
- Balzer-Graf, U. R. und F. M. Balzer (1988). Steigbild und Kupferchloridkristallisationen - Spiegel der Vitalaktivität von Lebensmitteln. in "Lebensmittelqualität - ganzheitliche Methoden und Konzepte". A. Meier-Ploeger und H. Vogtmann. Karlsruhe, Verlag C. F. Müller S. 163 - 210. ISBN 3-7880-9752-3
- Bloksma, J., M. Northolt und M. Huber (2001a). Parameters for Apple Quality. Part 1 Report. Louis Bolk Instituut. Driebergen. 2001. Food, Quality and Health Publication no. FQH 01. ISBN 90 74021 22 0
- Bloksma, J., M. Northolt und M. Huber (2001b). Parameters for Apple Quality. Part 2 Annexes. Louis Bolk Instituut. Driebergen. 2001. Food, Quality and Health Publication no. FQH 01.
- Strube, J. und P. Stolz (1999). Zerstörungsfreie Lebensmitteluntersuchung an Ganzproben mittels Biophotonen-Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie. Tagung Zerstörungsfreie Qualitätsanalyse. 34. Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung DGQ 1999, Freising-Weihenstephan, Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung S. 249-254. ISBN 3-9805230-3-9
- Strube, J. und P. Stolz (2000). Fluorescence Excitation Spectroscopy for the Evaluation of Seeds. IFOAM 2000 - The World Grows Organic, 13th International IFOAM Scientific Conference, Basel, vdf Hochschulverlag AG an der ETH Zürich S. 306-309. ISBN 3 7281 2754 X
- Strube, J. und P. Stolz (2001a). Bohne ist nicht gleich Bohne. Ökologie & Landbau 29 (Heft 120) S. 37-39.
- Strube, J. und P. Stolz (2001b). Untersuchungen zur Qualität von Calendula-Samen mittels zeitaufgelöster Fluoreszenz-Anregungs-Spektroskopie. Tagung Gewürz- und Heilpflanzen. 36. Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung (Pflanzliche Nahrungsmittel) DGQ e.V. 2001, Jena S. 93-98. ISBN 3-9805230-5-5



Zur Wirksamkeit biodynamischer Präparate: Gehalte an Gesamtprotein und freien Aminosäuren bei Äpfeln in Abhängigkeit von den Kulturbedingungen

Peter Stolz, Jürgen Strube

Kwalis Qualitätsforschung Fulda GmbH, Fuldaer Str. 21, D-36169 Dipperz

The Effectiveness of Biodynamic Preparations- Total Protein and Free Aminoacids of Apples Under Different Cultivation Conditions

Apples from a controlled study with different light exposition and different cultivation conditions (with and without biodynamic preparations) were analysed for total protein and free amino acid content. The cultivars with biodynamic preparations showed less total protein and less free aminoacids. The variations with biodynamic preparations show the same tendency as the variations with higher light exposition.

Aus einem kontrollierten Anbauversuch standen kodierte Apfelproben aus ökologischem Anbau verschieden intensiver Lichtexposition in zwei Varianten zur Verfügung. Die Varianten unterschieden sich hinsichtlich der Anwendung biodynamischer Präparate. Es bestand die Frage, ob sich mit chemischen Methoden der Aminosäurenanalytik bzw. Proteinanalytik Unterschiede zwischen den Proben feststellen lassen. Überraschenderweise ergaben sich deutliche Unterschiede im Gesamtproteingehalt und im Gehalt freier Aminosäuren im Hinblick auf die Lichtexposition wie auch die Präparateanwendung. Die Anwendung der biodynamischen Präparate ergab in der Tendenz eine ähnliche Wirkrichtung wie die stärkere Belichtung.

Hintergrund

Im Zuge der Auswertung eines im Jahre 2000 vom Louis-Bolk-Institut vorgenommenen Apfelanbauversuches bestand die Frage, ob sich mittels Aminosäuren/Proteinanalytik Unterschiede der verschiedenen Anbauvarianten nachweisen lassen. Bei der KWALIS GmbH waren bereits erfolgreich Untersuchungen zur Differenzierung verschiedener Kulturformen z.B. von weißen Bohnen (Stolz/Strube 2000) mittels Aminosäuren/Proteinanalytik erfolgt.

Nach Schmitt et al. (1953) ist bei der Bestimmung der Stickstoffverbindungen der Eiweißgruppe zwischen zwei Betrachtungsweisen zu unterscheiden, und zwar zwischen der pflanzenphysiologischen und der ernährungsphysiologischen Betrachtungsweise.

Bei Äpfeln handelt es sich um Früchte, die einen relativ geringen Proteingehalt (0,2 - 0,45g je 100g FG; Souci et al. 1994; 0,06 - 0,5 g je 100g FG; Stoll 1997) bei gleichzeitig hohem Zuckergehalt (3,1 - 21,1g je 100g FG; Stoll 1997) aufweisen. Eine ernährungsphysiologische Beurteilung der Proteinqualität anhand einer Bestimmung der proteinogenen Aminosäuren nach Hydrolyse scheint daher nicht sinnvoll. Es wurde deshalb im folgenden nach dem pflanzenphysiologischen Gesichtspunkt beurteilt.

In der Vergangenheit wurde von Schuphan (Schuphan 1976) eine Beurteilung von Feldfrüchten aufgrund der Menge der freien Aminosäuren (bzw. aller Nichtproteinstickstoffverbindungen) im Verhältnis zum Gesamtstickstoff vorgenommen. Diese Beurteilung beruht auf folgender Überlegung: Die Pflanze nimmt je nach physiologischer Konstitution den Stickstoff als Nitrat oder Ammonium auf, um daraus Aminosäuren und hochmolekulares Eiweiß zu bilden. Dieser Prozess erfolgt in der Pflanze nur dann nahezu vollständig, wenn alle Wachstumsfaktoren optimal sind. Insbesondere gelten als ausschlaggebende Wachstumsfaktoren die Wasserversorgung der Pflanze aus dem Boden, die Lichtintensität und bedingt auch die Höhe der Temperatur. Hohe Lichtintensität bei im Übrigen günstigen Wachstumsbedingungen, insbesondere der Wasserversorgung fördert die Photosynthese und damit die Eiweißbildung (Schuphan 1976).

Es stellte sich somit die Frage, ob dieser von Schuphan beschriebene pflanzenphysiologische Status, der durch stärkere Belichtung bei sonst günstigen Wachstumsbedingungen mehr in Richtung Photosynthese bzw. Eiweißbildung fortgeschritten sein sollte, sich im vorliegenden Beispiel analytisch nachweisen läßt. Eine fortgeschrittene Eiweißbildung sollte bei höherer Lichtintensität als geringerer prozentualer Anteil freier Aminosäuren am Gesamtprotein beobachtbar sein.

Material und Methoden

Die chemische Bestimmung der Aminosäuregehalte erfolgte nach VDLUFA (Buch III, Methode 4.11.1 bzw. Buch VI, Methode C 30.3) mittels Aminosäureanalysator (ASA) ionenchromatographisch mit photometrischer Detektion nach Derivatisierung mittels Ninhydrin, die Rohproteinbestimmung nach Kjeldahl (VDLUFA Buch III, Methode 4.1.).

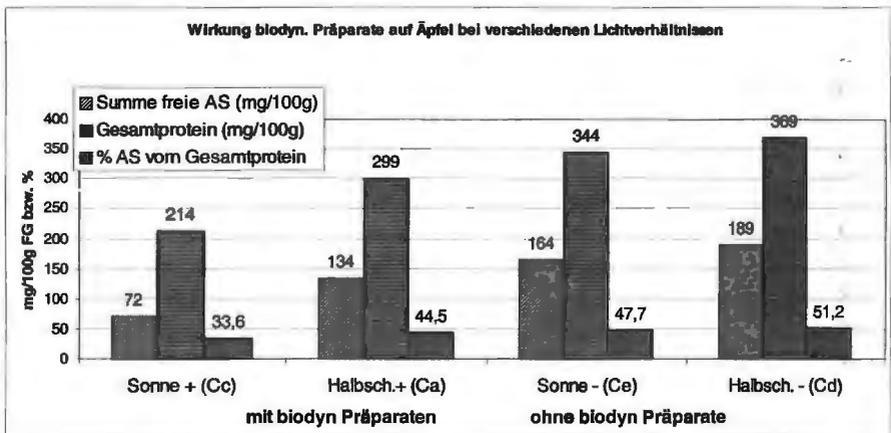
Es standen 6 kodierte Proben zu je 10 Äpfeln zur Verfügung. Davon wurden 5 Äpfel als Mischprobe untersucht, nachdem das Kerngehäuse entfernt und das verbleibende Fruchtfleisch mit Schale zerkleinert und homogenisiert worden war. Je Mischprobe erfolgte eine doppelte separate Laboranalyse auf freie Aminosäuren, je Laboranalyse erfolgte eine doppelte chromatographische Auswertung. Jeder angegebene Aminosäuregehalt entspricht somit dem Mittelwert aus vier Analysenläufen. Die Kjeldahlbestimmung erfolgte dreifach je Probe, der

angegebene Wert entspricht dem Mittelwert der drei Bestimmungen. Je Laboranalyse wurden jeweils ca. 35 g zur Bestimmung der freien Aminosäuren und jeweils ca. 12 g zur Proteinbestimmung nach Kjeldahl eingesetzt.

Die Apfelplantage liegt im Süd-Westen der Niederlande mit sonnig mildem See-Klima. Der Kalk-Humus-Lehmboden wurde in den letzten siebzig Jahren biodynamisch bewirtschaftet. Die Bäume waren mittelstark gedüngt worden. Die Ernte erfolgte am 18.9.2000. Es handelte sich um 2 mal 3 Proben; 3 Lichtexpositionsstufen (Sonne, Halbschatten, Schatten) mit 2 Anbauvarianten (mit bzw. ohne Anwendung biodynamischer Präparate). Weitere Angaben zu den Anbaubedingungen in Bloksma et al. 2001.

Ergebnisse

Im folgenden sind einige Teilergebnisse der Untersuchung graphisch dargestellt:



Die Abbildung zeigt die Summengehalte der freien Aminosäuren (diagonal gestreift), den Gesamtproteingehalt nach Kjeldahl (horizontal gestreift) und den daraus errechneten Anteil freier Aminosäuren am Gesamtprotein (vertikal gestreift) der Proben mit biodynamischer Präparateanwendung der Lichtexpositionsstufe „Sonne“ (Probe Cc) bzw. „Halbschatten“ (Probe Ca) sowie ohne Anwendung biodynamischer Präparate aus Sonne (Probe Ce) und Halbschatten (Probe Cd) in mg/100g Frischgewicht. Deutlich zeigen sich Unterschiede der beiden Lichtvarianten sowie der Präparateanwendung, sowohl im Gesamtproteingehalt als auch im Gehalt freier Aminosäuren.

Die nach Kjeldahl bestimmten Gesamtproteingehalte der in der Abbildung dargestellten Proben lagen im Bereich von 214 - 369 mg/100g FG. Dies entspricht dem von Souci et al. ange-

gebenen Normbereich von 200 - 450 mg/100g. Die im vollen Licht gewachsenen Proben mit Präparateanwendung weisen mit 214 ($\pm 3,8$) mg Gesamtprotein/100g FG den geringsten Gehalt auf, die im Halbschatten gewachsenen Proben ohne Präparateanwendung weisen mit 369 ($\pm 0,6$) mg/100g FG den höchsten Gesamtproteingehalt auf. Die im Halbschatten mit Präparateanwendung gewachsenen Äpfel weisen mit 299 ($\pm 3,6$) mg/100g geringere Werte auf, als die im vollen Licht ohne Präparateanwendung gewachsenen mit 346 ($\pm 2,0$) mg/100g. Die Werte in Klammer geben jeweils den Standardfehler des Mittelwertes (SEM) an.

Die mittels Aminosäurenanalysator bestimmten Gehalte freier Aminosäuren der hier verglichenen Proben lagen im Bereich von 72 - 189 mg/100g FG. Die im vollen Licht gewachsenen Proben mit Präparateanwendung weisen mit 72 ($\pm 0,8$) mg freien Aminosäuren/100g FG den geringsten Gehalt auf, die im Halbschatten gewachsenen Proben ohne Präparateanwendung weisen mit 189 ($\pm 1,2$) mg/100g FG den höchsten Summengehalt freier Aminosäuren auf. Die im Halbschatten mit Präparateanwendung gewachsenen Äpfel weisen mit 133 ($\pm 0,7$) mg/100g wiederum geringere Werte auf, als die im vollen Licht ohne Präparateanwendung gewachsenen mit 161 ($\pm 2,8$) mg/100g. Aufgrund der Analysendaten ergibt sich eine signifikante Trennung der 95 % Konfidenzintervalle aller 4 beschriebenen Varianten.

Der aus diesen Untersuchungsergebnissen berechnete Anteil freier Aminosäuren am Gesamtprotein zeigt ebenfalls eine deutliche Tendenz. Die in der Sonne gewachsenen Proben mit Präparateanwendung weisen mit 33,6 % den geringsten Anteil freier Aminosäuren am Gesamtprotein auf, die im Halbschatten gewachsenen Proben ohne Präparateanwendung zeigen mit 51,2 % den höchsten Anteil freier Aminosäuren (AS) am Gesamtprotein.

Die Probe aus der Sonne mit Präparaten enthält 214 mg Gesamtprotein/100g FG (72 mg freie AS/100g FG) gegenüber 344 mg Gesamtprotein/100g FG (161 mg freie AS/100g FG) ohne Präparateanwendung. Damit enthält die behandelte Probe lediglich 62% der Proteinmenge (44% der Menge freier AS) der nichtbehandelten Probe.

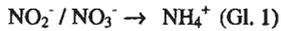
Etwas kleiner ist der Unterschied der in geringerer Lichtintensität gewachsenen Proben: Die Probe aus dem Halbschatten mit Präparaten enthält 299 mg Gesamtprotein/100g FG (134 mg freie AS/100g FG) gegenüber 369 mg Gesamtprotein/100g FG (189 mg freie AS/100g FG) ohne Präparateanwendung. Damit enthält die behandelte Probe 81% der Proteinmenge (71% der Menge freier AS) der nichtbehandelten Probe.

Der Anteil der freien Aminosäuren am Gesamtprotein zeigt ähnliche Tendenz.

Diskussion

Nach den Erkenntnissen der Pflanzenphysiologie (Mengel 1991) wird der Stickstoff von der Pflanze in Form von Nitrat (NO_3^-) oder Ammonium (NH_4^+) aufgenommen, über Zwischenstufen zunächst zu Aminosäuren und dann zum fertigen Protein umgesetzt.

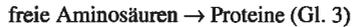
Wird der Stickstoff in der mineralisierten Form von Nitrat bzw. Nitrit aufgenommen, so muß er von der Pflanze erst auf die Stufe des Ammoniums reduziert werden:



Dazu verfügt die Pflanze über Enzyme wie z.B. die Nitrit/Nitratreduktase. Für die Umsetzung von NH_4^+ zu freien Aminosäuren (zunächst Glutamin/Glutamat) sind die Enzyme Glutamatdehydrogenase, Glutaminsynthetase und Glutamatsynthetase von Bedeutung.



Die weitere Umsetzung in der Pflanze erfolgt bei der Proteinsynthese über verschiedene Enzymsysteme:



Als charakteristische Eigenschaft der Pflanze wird zugrundegelegt, aus Luft (CO_2), Wasser und Bodenmineralien, mit Hilfe der Energie des Lichtes zu wachsen und so die eigene Biomasse aufzubauen. Dieser Prozess kann rein quantitativ gewichtsmäßig als Flächenertrag ausgewertet werden. Ein Maß, welches mehr den physiologischen Zustand und damit die Qualität des Produktes kennzeichnet, ist der Grad, wie weit der physiologische Pflanzenprozess im Stickstoffstoffwechsel der Pflanze fortgeschritten ist, d.h. inwieweit die in der Pflanze vorhandenen freien Aminosäuren gemäß Gleichung 3 in Proteine umgewandelt sind.

Zusammenfassung

Im vorliegenden Versuch wurde anhand des physiologischen Aminosäurenstatus von Äpfeln der Sorte Elstar an kodierten Proben deutlich, dass verschiedene Kulturmaßnahmen Einfluß auf die Entwicklung des allgemeinen biochemischen Pflanzenprozesses ausüben und sich quantitativ stofflich an den Produkten nachweisen lassen. Die Ergebnisse stehen mit bereits in der Literatur enthaltenen Aussagen zur Pflanzenphysiologie im Einklang.

Bei Äpfeln, die keine typischen Proteinsammler sind, kennzeichnen freie Aminosäuren den Grad nicht abgeschlossener Umsetzung. Hohe Anteile freier Aminosäuren weisen darauf hin, dass die physiologische Entwicklung nicht vollständig abgeschlossen wurde. Der niedrige Gesamtproteingehalt ist ebenfalls Ausdruck arttypischer Reife. Biodynamische Präparate wirken in diesem Sinne reifsteigernd.

Dank

J. Bloksma, M. Huber und M. Northolt (Louis Bolk Institut, Driebergen, NL) sei für die Beteiligung am Projekt sowie für die Überlassung der Ergebnisse gedankt, der Fa. tegut... für die finanzielle Unterstützung und B. Gies für die sorgfältige und gewissenhafte Durchführung der analytischen Messungen.

Literatur

- Bloksma, J., Northolt, M., Huber, M.: Parameters for Apple Quality, Louis Bolk Institute, Driebergen, 2001 (ISBN 90-74021-22-0)**
- Mengel, K.: Ernährung und Stoffwechsel der Pflanze; Gustav Fischer Verlag, Jena 1991**
- Schmitt, L., und Ott, M.: Methoden zur chemischen und biologischen Qualitätsbestimmung von gärtnerischen und landwirtschaftlichen Erzeugnissen. VDLUFA Methodenbuch IV, Zweite Auflage, Neumann Verlag Radebeul und Berlin 1953**
- Schuphan, W. 1976: Mensch und Nahrungspflanze, Der biologische Wert der Nahrungspflanze in Abhängigkeit von Pestizideinsatz, Bodenqualität und Düngung Dr. W. Junk b.v. Verlag, Den Haag 1976**
- Souci, S. W., Fachmann, W., Kraut, H.: Die Zusammensetzung der Lebensmittel, Nährwert-Tabellen. 5. Auflage medpharm, Stuttgart 1994**
- Stolz, P. und J. Strube (2000). Better Dietary Protein-Quality of Beans Cultivated Biodynamically than by Hydro-Culture. IFOAM 2000-The World grows organic, 13th International IFOAM Scientific Conference Basel, vdf Hochschulverlag AG an der ETH Zürich p 302.**
- Stoll, K. 1997: Der Apfel, Inhaltsstoffe-Fruchtaufbau-Qualitätserkennung, Negri AG, Zürich 1997**
- Verband deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten, Methodenbuch Band III; 4 Ergänzungslieferung 1997. VDLUFA Verlag, Darmstadt 1997**



Agronomische und pharmakologische Qualitätsmerkmale bei der Züchtung von Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.)

Johannes Nebelmeir^{1,2}, Elke Mann^{1,2}, Gert Forkmann¹ und Erich F. Elstner²

TUM-Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Department für Pflanzenwissenschaften
¹Lehrstuhl für Zierpflanzenbau, ²Lehrstuhl für Phytopathologie, D-85350 Freising

Agronomic and pharmacological quality traits in the breeding of St. John's wort (Hypericum perforatum L.)

In modern phytotherapy, extracts of St. John's wort (Hypericum perforatum L.) are widely used in the treatment of mild depressions, while the mode of action is still under discussion. The major obstacle for determined breeding in Hypericum is its highly apomictic reproductive mode. Besides selecting for desirable agronomic traits, our breeding program is focused on selection of new cultivars producing both a wide range and high amounts of pharmacologically relevant compounds such as flavonoids, naphthodianthrones and phloroglucin-derivatives. Analysis of 64 accessions showed considerable variation compared to the standard cultivar 'Taubertal' and indicated high potential for selecting superior genotypes. Some accessions displayed apparent deviation from the predominant profile of compounds – most remarkable the complete lacking of rutin, but also appearance of new compound peaks was observed.

corresponding author: Johannes Nebelmeir, Lehrstuhl für Zierpflanzenbau, TUM Weihenstephan, Am Hochanger 4, 85350 Freising, Germany. Tel.: ++49-8161-714998; Fax: ++49-8161-714994; nebelmeir@lzw.agrar.tu-muenchen.de.

Einführung

Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.) gehört zur Familie der Hypericaceae (Hartheugewächse, ca. 380 Spezies) und wird bereits seit der Antike als Heilpflanze verwendet. Offizinal ist das blühende Kraut HYPERICI HERBA.

In der modernen Phytotherapie spielen Präparate aus Johanniskraut als pflanzliche Antidepressiva eine zentrale Rolle bei der Behandlung von psychovegetativen Störungen und depressiven Verstimmungszuständen. Um den Bedarf an Rohdroge von höchster Qualität decken zu können, wurden Kulturverfahren für den kontrollierten Anbau von Johanniskraut entwickelt und zahlreiche Züchtungsprogramme initiiert.

Im vorliegenden Projekt wurden 36 Wildherkünfte, 26 Einzelpflanzenselektionen, ein interner Standard und die Sorte 'Taubertal' (Rieger & Hoffmann GmbH, Blaufelden-Raboldshausen) als externer Standard morphologisch und pharmakologisch charakterisiert.

Züchtung

Hypericum perforatum L. ($2n = 4x = 32$) ist vermutlich eine interspezifische Hybride aus *H. maculatum* Crantz und *H. attenuatum* L. [1]. Daraus resultiert zum einen fakultative Apomixis mit einem Anteil von 93 – 97 % [2]. Zum anderen geht damit eine hohe Pollensterilität von 30 – 50 % einher.

Diese Besonderheit der Fortpflanzungsbiologie hat zur Folge, dass nahezu alle Nachkommen erbgleich mit der Mutterpflanze sind. Dadurch ist die gezielte Kombinationszüchtung sehr stark eingeschränkt. Allerdings ermöglicht Apomixis gleichzeitig die konstante Erhaltung hochgradig heterozygoter Genotypen über mehrere Generationen hinweg. Dennoch bleiben die hohen Anforderungen an die Erhaltungszüchtung bestehen.

Mögliche Ausgangspunkte für die Selektion sind aufgrund der apomiktischen Fortpflanzungsweise vor allem in der Sammlung von Wildherkünften sowie in der Selektion aus heterogenem Handelssaatgut zu sehen. Aber auch die Identifikation von „echt sexuell“ entstandenen Nachkommen innerhalb einer Kreuzungspopulation hat einen berechtigten Stellenwert.

Agronomische Qualitätsmerkmale

Bei den agronomischen Merkmalen sind natürlich zuerst hohe und stabile Erträge zu nennen. Allerdings ist beim Feldanbau zu bedenken, dass sehr hohe Düngegaben zwar den Ertrag erheblich steigern können, aber die Gehalte an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen ebenso deutlich zurückgehen.

Die größte Gefährdung des Ertrages geht von der Johanniskrautwelke aus. Sie wird durch den pilzlichen Erreger *Colletotrichum cf. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. [Teleomorph *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spauld & H. Schenk] verursacht [3].

Unter natürlichem Infektionsdruck konnten bei den 64 getesteten Herkünften drastische Unterschiede bezüglich der Anfälligkeit gegen *Colletotrichum cf. gloeosporioides* beobachtet werden, die von keinen Ausfällen bis hin zum Totalausfall reichen (Tab. 1). Die Sorte ‚Taubertal‘ zeigte sehr geringe Anfälligkeit.

Anfälligkeit	Ausfälle	Anzahl Herkünfte
sehr gering	bis 10%	8
gering	11 – 20%	18
mittel	21 – 30%	12
hoch	31 – 60%	22
sehr hoch	61 – 90%	3
extrem hoch	über 90 %	1

Tab. 1: Anfälligkeit gegen *Colletotrichum cf. gloeosporioides* (n = 56).

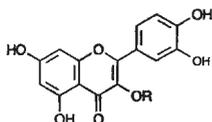
Für den agronomischen Wert einer Herkunft ist neben dem Ertrag eine besonders hohe technologische Eignung von großer Bedeutung. Sie wird bestimmt durch den Umstand, dass

die höchsten Konzentrationen der gewünschten Inhaltsstoffe vor allem in den Blüten zu finden sind. Um eine möglichst blütenreiche Rohdroge, die die geforderten Inhaltsstoffgehalte liefern kann, zu erzeugen, wird nur der sogenannte Blühhorizont eines Feldbestandes geerntet. Deshalb sind Merkmale wie niedrige Wuchshöhe, zahlreiche Triebe, hohe Standfestigkeit, ein gedrängter Blühhorizont und eine hohe Blühfreudigkeit positive Selektionskriterien.

Pharmakologische Qualitätsmerkmale

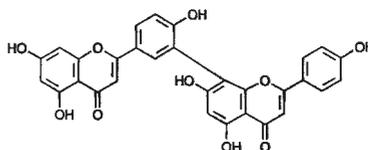
Aufgrund der wenigen gesicherten Kenntnisse über das antidepressive Wirkprinzip von Johanniskrautextrakten gestaltet sich die gezielte Züchtung auf eine hohe pharmakologische Wirksamkeit als sehr schwierig. Das Naphthodianthron Hypericin wurde lange Zeit als das „aktive Prinzip“ in Hypericum-Extrakten angesehen und deshalb für die Standardisierung pharmazeutischer Zubereitungen herangezogen. Zahlreiche Studien konnten jedoch belegen, dass auch die Flavonoide und Phloroglucin-Derivate zur antidepressiven Wirkung beitragen:

Quercetin-Glykoside



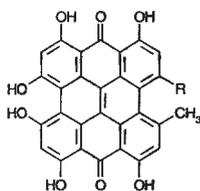
R = H	Quercetin
R = Galaktose	Hyperosid
R = Rhamnose	Quercitrin
R = Glucose	Isoquercitrin
R = Glucose - Rhamnose	Rutin

Biflavone



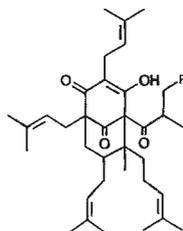
13',118-Biapigenin (Amentoflavon)

Naphthodianthrone



R = CH ₃	Hypericin
R = CH ₂ OH	Pseudohypericin

Phloroglucin-Derivate



R = H	Hyperforin
R = CH ₃	Adhyperforin

Abb. 1: Pharmakologisch relevante Inhaltsstoffe von Johanniskraut.

Das vorliegende Projekt widmet sich deshalb besonders der Selektion von Johanniskraut-Typen mit hohen Gehalten aller pharmakologisch relevanter Inhaltsstoffe. Zusätzlich wird die Leistungsfähigkeit der Einzelpflanzenextrakte in biochemischen Testsystemen als wichtiges Selektionskriterium herangezogen [4].

Um die Identitätskriterien des Arzneibuches zu erfüllen, ist das Vorhandensein von Rutin unabdingbar. Während die Droge mindestens 0,04 % Hypericin enthalten muß, um den Vorschriften des DAC 6, 3. Erg. zu genügen, werden seitens der pharmazeutischen Industrie meist Gehalte von über 0,25 % Hypericin im Blühhorizont gefordert.

Kritische Faktoren bei der Inhaltsstoffanalytik

Ernte der Proben auf dem Feld

Das optimale Erntestadium ist dann erreicht, wenn sich das Johanniskraut in der Vollblüte befindet. Sie ist definiert als das Stadium, in dem sich die ersten terminalen Blüten bereits zu einer grünen Kapsel entwickelt haben [5]. Diese Empfehlung lässt sich nur schwer in die Praxis umsetzen, da die einzelnen Herkünfte zum Teil sehr unterschiedliche Blühverläufe zeigen. Des Weiteren lässt die Ernte des „oberen blütenreichen Teils der Pflanze“ große Spielräume für systematische Fehler. Deshalb sind alternative Maßnahmen zur Standardisierung der Proben, zum Beispiel durch Ernte von Einzelblüten, anzustreben.

Probenaufbereitung und Extraktion

Bei der Vorbereitung der Proben für die Extraktion stellt die definierte Probenahme aus dem Erntegut einen weiteren kritischen Punkt dar. Die Reproduzierbarkeit der Extraktion selbst wird durch konstante Temperatur und Extraktionsdauer erreicht.

Standardprotokoll Extraktion

- Zerkleinerung der gesamten geernteten Droge in einer Schrotmühle (Siebgröße 1,0 mm)
- 500 mg Droge in 50 ml Methanol 80 % einwiegen
- Auf dem Schüttler (ca. 100 U/min) bei 26 °C für 24 h extrahieren
- Trubteilchen bei 10.000 rpm für 10 min abzentrifugieren
- HPLC-Analyse nach modifiziertem Standardprotokoll [6]

Variabilität pharmakologisch relevanter Inhaltsstoffe

Die Inhaltsstoffanalyse zeigt zuerst einmal eine hohe Variabilität der pharmakologisch relevanten Komponenten innerhalb der untersuchten Herkünfte (Tab. 2). Im Vergleich zur Standardsorte ‚Taubertal‘, zeigt sich ein bedeutender Spielraum für die Selektion von Herkünften mit wesentlich höheren Gehalten.

<i>Inhaltsstoff</i>	<i>Minimum (%)</i>	<i>Mittelwert (%)</i>	<i>Maximum (%)</i>	<i>‘Taubertal’ (%)</i>
Rutin	0	100	280,6	134,5
Hyperosid + Isoquercitrin	62,2	100	205,9	108,8
Quercitrin	30,1	100	214,1	73,7
Quercetin	49,1	100	192,5	92,9
Biapigenin	57,8	100	307,0	76,8
Pseudohypericin	33,0	100	240,7	60,3
Hypericin	32,6	100	560,6	106,4
Hyperforin	47,5	100	172,9	51,6
Adhyperforin	44,9	100	214,6	56,4

Tab. 2: Relative Variabilität ausgewählter Inhaltsstoffe bezogen auf den Mittelwert aller 64 Herkünfte (= 100%).

Inhaltsstoffprofile

Innerhalb der untersuchten Herkünfte wurden Inhaltsstoffprofile gefunden, die deutlich vom vorherrschenden Profil A (Abb. 2) abweichen. So fällt besonders Profil B (Abb. 3) auf, bei dem im Bereich von 10 bis 20 min zwei neue Peaks auftreten, Rutin aber völlig fehlt. Diese Herkünfte liefern keine arzneibuchkonforme Droge. Profil C und D (Abb. 4 und 5) weisen im Bereich der Flavonoid-Glykoside einen bzw. zwei weitere Peaks auf, deren Identität noch nicht geklärt ist.

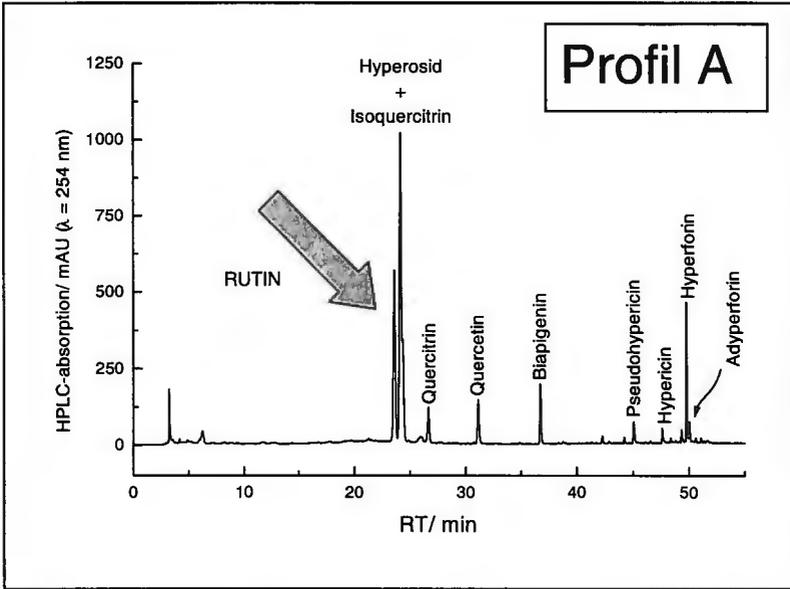


Abb. 2: Vorherrschendes Inhaltsprofil A.

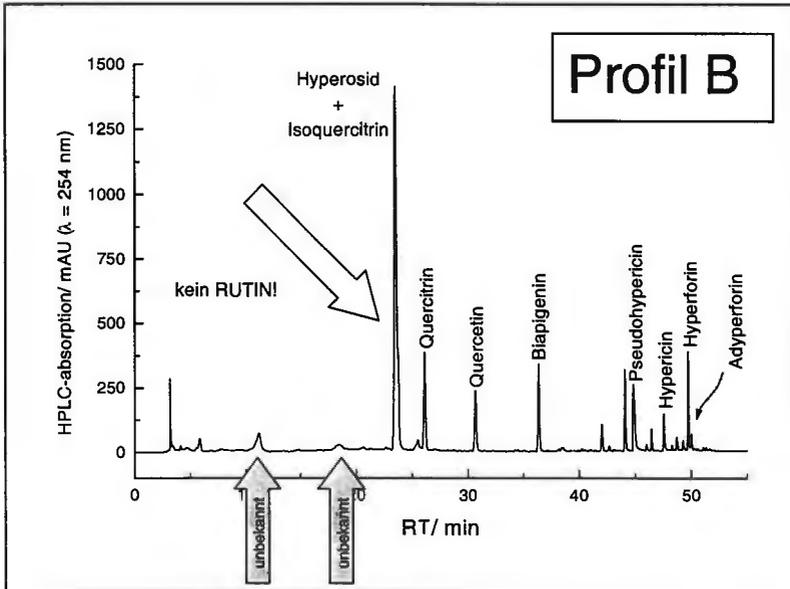


Abb. 3: Profil B ohne Rutin, jedoch mit zwei neuen unbekannt Peaks.

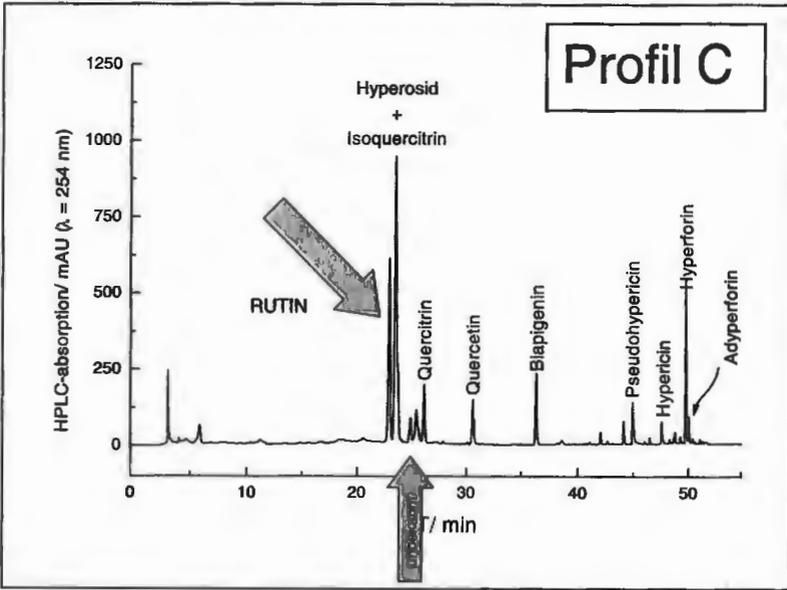
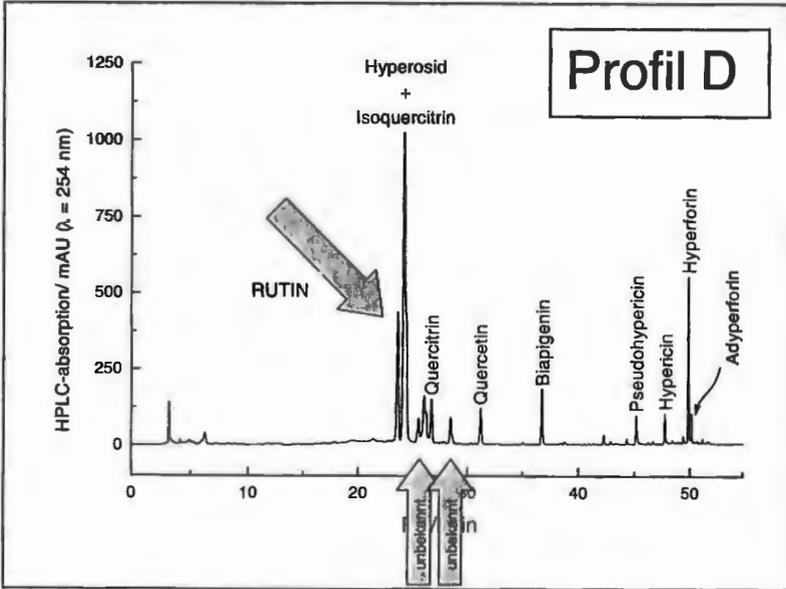


Abb. 4: Profil C mit Rutin und einem unbekanntem Peak.

Abb. 5: Profil D mit Rutin und zwei unbekanntem Peaks.



Zusammenfassung

Im vorliegenden Projekt wurden 36 Wildherkünfte, 26 Einzelpflanzenselektionen, ein interner Standard und die Sorte ‚Taubertal‘ als externer Standard morphologisch und pharmakologisch charakterisiert. Es konnte eine breite Variation der agronomischen Qualitätsmerkmale beobachtet werden. Besonders gravierend sind die Unterschiede in der Feldresistenz gegen die Johanniskrautwelke (*Colletotrichum cf. gloeosporioides*). Bei der Inhaltsstoffanalyse wurden Herkünfte gefunden, die nennenswerte Mengen an bisher nicht eindeutig identifizierten Komponenten enthalten. Bei einzelnen Herkünften fehlt Rutin vollkommen. Gleichzeitig wurden Herkünfte selektiert, die sowohl das gewünschte Inhaltsstoffprofil als auch die erforderlichen hohen Gehalte über das gesamte Spektrum der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe aufweisen.

Literatur:

- [1] CAMPBELL MH UND ES DELFOSSE (1984): The biology of Australian weeds. 13. *Hypericum perforatum* L. Journal of the Australian Institute for Agricultural Sciences 1984; 50: 63-73.
- [2] NOACK KL (1939): Über *Hypericum*-Kreuzungen: VI. Fortpflanzungsverhältnisse und Bastarde von *Hypericum perforatum* L. Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre 1939; 76: 569-601.
- [3] SCHADWINKEL U, D BLANKENBURG, R SCHMATZ, O MALARSKI UND W DERCKS (2000): Bekämpfung von *Colletotrichum gloeosporioides* in Johanniskraut: Ergebnisse aus dem Jahr 1999. 37. Gartenbauwissenschaftliche Tagung, BDGL-Tagungsband 18/2000: 95.
- [4] MANN E, J NEBELMEIR, G FORKMANN UND EF ELSTNER (2001): Bewertung der pharmakologischen Aktivität von *Hypericum perforatum* L. anhand von biochemischen Testsystemen. 36. Vortragstagung der DGQ Gewürz- und Heilpflanzen, Jena, 2001: 89-92.
- [5] BRAUNEWELL H (1991): Ökologische, ontogenetische und morphogenetische Einflüsse auf Ertrag und Inhaltsstoffgehalt von *Hypericum ssp.* (Johanniskraut). Dissertation, Fachber. Agrarwissenschaften Justus-Liebig-Universität Gießen.
- [6] HÖLZL J UND E OSTROWSKI (1987): Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.) HPLC-Analyse der wichtigen Inhaltsstoffe und deren Variabilität in einer Population. Deutsche Apotheker Zeitung 1987; 3: 1227-1230.



Enzymatischer Abbau endogener Pflanzeninhaltsstoffe in *Echinacea purpurea* (L.) Moench und *Cynara scolymus* L.

Birgit Nüßlein, Ursula Sußner und Wolfgang Kreis

Lehrstuhl für Pharmazeutische Biologie, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

Enzymatic degradation of endogenous secondary plant metabolites in Echinacea purpurea (L.) Moench and Cynara scolymus L.

Abstract: *Cichoric acid is highly susceptible to enzymatic degradation during the preparation of Echinacea purpurea products. Inhibitor studies conducted with protein extracts prepared from dried overground parts of E. purpurea revealed that polyphenol oxidases but not peroxidases are responsible for the oxidative degradation of exogenous and endogenous caffeic acid derivatives. Extracts could be stabilized by the addition of 50 mM ascorbic acid and 40 % ethanol. Samples of fresh and dried artichoke leaves differed considerably with regard to their ability to hydrolyse cynaroside during fermentation, and exogenous cynaroside when added to cell-free protein extracts. A β -glucosidase hydrolysing cynaroside was purified from fresh and dried leaves. The role of endogenous plant enzymes in the degradation of plant secondary metabolites during processing is discussed.*

*corresponding author: Birgit Nüßlein, Lehrstuhl für Pharmazeutische Biologie im Biologikum der Universität Erlangen-Nürnberg, Staudtstrasse 5, D-91058 Erlangen
e-mail: bnuessle@biologie.uni-erlangen.de*

1. Einfluss endogener Pflanzenenzyme auf die Inhaltsstoffe von Phytopharmaka

Ausgangsmaterial für die meisten in der modernen Phytotherapie verwendeten Arzneimittel sind getrocknete Pflanzen bzw. Pflanzenteile. Die daraus hergestellten Zubereitungen stellen komplexe Vielstoffgemische dar, wobei in den wenigsten Fällen die wirksamkeitsbestimmenden Inhaltsstoffe bekannt sind. Für die Wirksamkeit von Phytotherapeutika wurden bisher vor allem Produkte des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels verantwortlich gemacht. Der Einfluss pflanzeneigener Enzyme auf die Zusammensetzung des Inhaltsstoffspektrums von Drogen ist bisher noch wenig untersucht worden.

In einigen technologischen Prozessen kann eine Enzymtätigkeit durchaus erwünscht sein (Fermentation von Tee und Pfeffer, Darstellung von sekundären Herzglykosiden aus *Digitalis*-Blättern, Weichmachen von Fleisch durch *Papaya*-Enzyme, Freisetzung von Aromen aus Aroma-Vorstufen, etc.). Bei der Herstellung von Phytotherapeutika kann die Aktivität solcher Enzyme sich entweder negativ (z. B. Apigeninfreisetzung in Kamillenblüten, Abbau der Iridoidglykoside im Spitzwegerichkraut) oder positiv (z. B. Dimerisierung der Sennes-Anthrone zu Dianthronen) auf die Zusammensetzung und Qualität auswirken. Während die Effekte als solche häufig beobachtet werden, sind die biochemischen Reaktionen, die solche Umwandlungen katalysieren, nur ungenügend charakterisiert.

Hinsichtlich der Qualität von Phytopharmaka und der Standardisierung von Produktionsverfahren sollte der Einfluss endogener Pflanzenenzyme während der einzelnen Produktionsschritte (Ernte, Trocknung und Verarbeitung) berücksichtigt werden.

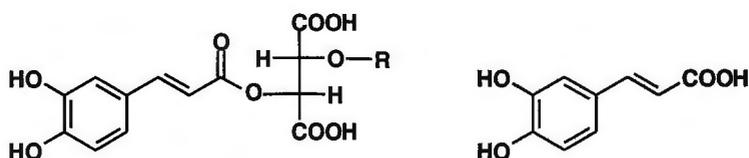
2. Enzymatischer Abbau der Cichoriensäure in *Echinacea purpurea*

2.1 Einleitung

Zubereitungen aus *Echinacea purpurea* (L.) Moench gehören zu den meistverkauften Phytopharmaka in Deutschland. Aus den frischen, zur Blütezeit geernteten oberirdischen Teilen von *E. purpurea* wird ein Presssaft hergestellt, der innerlich zur unterstützenden Behandlung rezidivierender Infekte im Bereich der Atemwege und der ableitenden Harnwege, sowie äußerlich bei schlecht heilenden, oberflächlichen Wunden angewendet wird. Weiterhin werden Mono- und Kombinationspräparate von *E. purpurea* auch zur Steigerung körpereigener Abwehrmechanismen sowie als Adjuvans in der Krebstherapie zur Verminderung immunsuppressiver Wirkung von Chemotherapeutika angewendet.

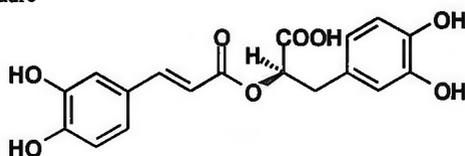
Der wirksamkeitsbestimmende Inhaltsstoff von *Echinacea-purpurea*-Zubereitungen ist bisher nicht bekannt. Um die Qualität solcher Produkte zu gewährleisten, ist es notwendig, diese zu standardisieren. Dabei orientiert man sich z. B. an einem für die Droge spezifischen Inhaltsstoff, der sogenannten Leitsubstanz. Für *Echinacea-purpurea*-Presssäfte wurde eine Methode zur Standardisierung auf Cichoriensäure bzw. auf Alkylamide vorgeschlagen (Bauer 1997, 1999).

Cichoriensäure (2,3-*O*-Dicaffeoylweinsäureester) ist neben Caftarsäure (2-*O*-Monocaffeoylweinsäureester) und weiterer Kaffeesäurederivate eine der Hauptverbindungen innerhalb der Gruppe der niedermolekularen polaren Inhaltsstoffe der oberirdischen Teile von *E. purpurea* (Becker und Hsieh 1985, Soicke et al. 1988). Bei der Analyse verschiedener handelsüblicher *Echinacea-purpurea*-Präparate wurden stark schwankende Konzentrationen an Cichoriensäure gefunden (Bauer 1997, 1999). Die Instabilität der Cichoriensäure bei der Herstellung von Zubereitungen aus *Echinacea-purpurea*-Frischpflanzen war bereits seit längerem bekannt (Remiger 1988). Da nach Abfiltrieren des Pflanzenmaterials der Gehalt konstant blieb, wurde ein Abbau durch matrixgebundene Enzyme postuliert.



R=Caffeoyl: Cichoriensäure
R=H: Caftarsäure

Kaffeesäure



Rosmarinsäure

2.2 Charakterisierung des Abbaus der Cichoriensäure in *Echinaceae purpureae herba*

Bei der dünnschichtchromatographischen Auswertung einer Inkubation von gepulverter *Echinaceae-purpureae-herba*-Droge mit Puffer wurde ein Abbau der endogenen Cichoriensäure sowie der Monocaffeoylweinsäure festgestellt. Nach zweistündiger Inkubation war keine Cichoriensäure mehr zu detektieren. Die Monocaffeoylweinsäure nahm etwas langsamer ab. Freie Kaffeesäure, das Reaktionsprodukt einer möglichen Esterase-Aktivität, trat nicht auf. In hitze-denaturierten Kontrollen blieben beide Kaffeesäurederivate während des gleichen Inkubationszeitraums stabil. Bei einer Zugabe von Reduktionsmitteln wie Ascorbinsäure oder Thioleagenzien, sowie einer Stickstoffbegasung während der Inkubation fand kein Abbau der Kaffeesäurederivate statt. Die Kaffeesäureester aus *E. purpurea* scheinen daher extrem oxidationsanfällige Verbindungen zu sein, die während Herstellung von Frischpflanzen-Presssäften mehr oder weniger vollständig abgebaut werden.

Proteinextrakte, die mittels Gelpermeations-Chromatographie von niedermolekularen Substanzen befreit wurden, bauen exogen zugegebene Kaffeesäureverbindungen wie Cichoriensäure oder Rosmarinsäure, einem strukturell ähnlichem Ester aus Kaffeesäure und 3,4-Dihydroxyphenylmilchsäure, temperaturabhängig ab. Der Abbau konnte durch Zusatz von Ascorbinsäure bzw. Ethanol konzentrationsabhängig beeinflusst werden.

Die Ergebnisse belegen, dass der Abbau der Kaffeesäurederivate in Extrakten aus *Echinaceae purpureae herba* enzymatischer Natur ist. Die Hemmung des Abbaus durch Antioxidantien bzw. durch Stickstoffbegasung legten einen oxidativen Prozess nahe. Dies könnte durch Peroxidasen (PO) oder - wegen der *o*-diphenolischen Struktur der Verbindungen - durch Polyphenoloxidasen (PPO) erfolgen.

Um den Abbau genauer zu charakterisieren, wurde dem Enzymtest Katalase zugesetzt. Katalase zersetzt eventuell vorhandenes oder freigesetztes Wasserstoffperoxid zu Wasser und Sauerstoff, so dass es einer putativen PO nicht mehr als Substrat zur Verfügung steht. Wäre also eine PO für den oxidativen Abbau der Kaffeesäurederivate verantwortlich, sollte bei Katalasezusatz der Abbau von Rosmarinsäure gehemmt werden, was jedoch nicht der Fall war.

Andererseits ließ sich der Abbau von Rosmarinsäure bei mikromolaren Konzentrationen an Tropolon, einem starken PPO-Inhibitor, im Inkubationsansatz hemmen. Der Abbau der Cichoriensäure und anderer Kaffeesäurederivate in *Echinaceae purpureae herba* scheint also im wesentlichen von einer Polyphenoloxidase katalysiert zu werden.

PPOs sind ubiquitär im Pflanzenreich vorkommende, kupferhaltige Enzyme (Sherman et al. 1991), die unter Verbrauch von molekularem Sauerstoff Polyphenole oxidieren, die ihrerseits mit anderen Polyphenolen, mit Aminosäuren in Proteinen oder anderen nukleophilen Verbindungen zu komplexen Polymeren weiterreagieren können (Mayer und Harel 1978). Die Produkte dieser Reaktion sind daher schwer fassbar. PPOs sind üblicherweise membrangebundene Enzyme, die allerdings im Zuge der Seneszenz ihr Löslichkeitsverhalten verändern können. Der Trocknungsvorgang des Pflanzenmaterials kann in diesem Zusammenhang als ein Alterungsprozess verstanden werden, was die Löslichkeit des Kaffeesäurederivat-abbauenden Enzyms aus getrockneten, oberirdischen Material von *E. purpurea* erklären würde.

Die PPO aus *Echinaceae purpureae herba* konnte inzwischen gereinigt und bezüglich enzymkinetischer und molekularer Eigenschaften charakterisiert werden (Kreis et al. 2000).

2.3 Langzeitstabilität von Cichoriensäure in wässrigen Extrakten aus *Echinaceae purpureae herba*

Um den Abbau von Cichoriensäure in *Echinaceae-purpurea*-Zubereitungen zu verhindern, wurde der Einfluss zweier Parameter getestet: Zum einen der Zusatz von verschiedenen

Ascorbinsäuremengen während der wässrigen Extraktion von *Echinaceae purpureae herba*, zum anderen die Stabilisierung eines mit 50 mM Ascorbinsäurezusatz hergestellten Extraktes bei verschiedenen Ethanolkonzentrationen (Abb1).

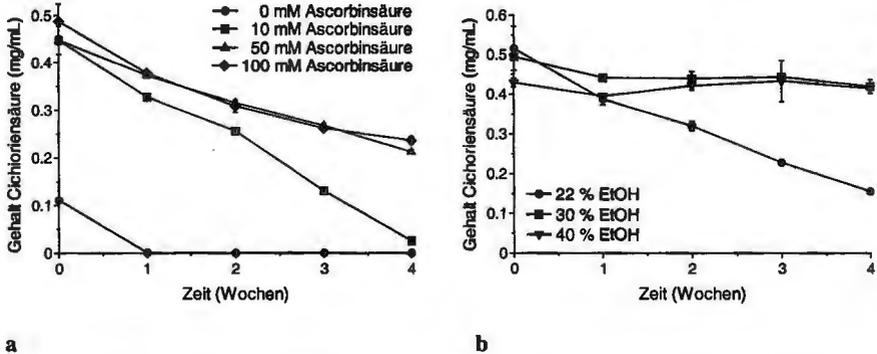


Abb. 1: Verlauf des Gehaltes an Cichoriensäure über einen Zeitraum von vier Wochen in verschiedenen bei Raumtemperatur hergestellten wässrigen Extrakten aus *Echinaceae purpureae herba*.

a: Einfluss von Ascorbinsäurezusatz während der Extraktion. Der Ethanolgehalt betrug 22 %.
b: Stabilisierung mit verschiedenen Ethanolkonzentrationen. Die Ascorbinsäurekonzentration betrug 50 mM.

Ascorbinsäure besitzt antioxidative Eigenschaften und ist außerdem physiologisch unbedenklich (Voigt 1993). Tatsächlich kann bereits während der Herstellung der Gehalt an Cichoriensäure in den Modellpressäften mit Ascorbinsäurezusatz, die wie die meisten handelsüblichen Präparate mit 22 % Ethanol stabilisiert worden sind, erhöht werden (Abb. 1a). Ohne Ascorbinsäure betrug der Cichoriensäuregehalt im mit Ethanol stabilisiertem Extrakt ca. 100 bis 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Die Zugabe von Ascorbinsäure erhöhte den Gehalt auf 400 bis 550 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Nach einer Woche sank der Cichoriensäuregehalt im Extrakt ohne Ascorbinsäure auf weniger als 1 % des Ausgangswertes ab und blieb dann über die nächsten drei Wochen konstant. Zusatz von Ascorbat verringerte den Abbau der Cichoriensäure deutlich, z. B. waren bei Zusatz von 100 mM Ascorbinsäure nach vier Wochen im bei 4° C hergestelltem Extrakt noch etwa 50 % der ursprünglichen Cichoriensäurekonzentration zu messen. Eine deutlichere Abnahme der Cichoriensäure trat in den mit 10 mM Ascorbinsäure hergestellten Lösungen auf. Aufgrund des niedrigeren Redoxpotentials wird Ascorbinsäure leichter oxidiert als Cichoriensäure bzw. bereits entstandene Chinone werden durch Ascorbinsäure wieder reduziert. Ist die Ascorbinsäure vollständig oxidiert, wird bei noch vorhandener PPO-Aktivität schließlich auch Cichoriensäure abgebaut. Für eine längerfristige Stabilität reicht selbst eine relativ hohe Konzentration von 100 mM Ascorbinsäure nicht aus.

Eine detailliertere Analyse der Proben ergab, dass in den Ansätzen mit 100 mM Ascorbinsäure der Gesamtgehalt an Kaffeesäurederivaten während 4 Wochen weitgehend konstant blieb, da der Gehalt an Monocaffeoylweinsäure im gleichen Maße zunahm, wie jener der Cichoriensäure abnahm. Außerdem trat in den mit Ascorbinsäure stabilisierten Zubereitungen freie Kaffeesäure auf, was in den Extrakten ohne Zusatz zu keinem Zeitpunkt beobachtet wurde. Dies kann am besten dadurch erklärt werden, dass unter diesen Bedingungen der oxidative Abbau nicht mehr erfolgt, aber immer noch Esterasen aktiv sind, die für die Abspaltung der Kaffeesäurereste aus der Cichoriensäure verantwortlich sind. Die

geschätzte Aktivität dieser Esterase liegt im μkat -Bereich pro Gramm Droge und somit um den Faktor 100 niedriger als die PPO-Aktivität. Daher war sie zunächst nicht aufgefallen. Der Abbau der Kaffeesäureverbindungen konnte also durch Zusatz von Ascorbinsäure deutlich verringert, aber nicht vollständig gehemmt werden. In der nächsten Versuchsreihe wurde deshalb die Ethanolkonzentration von 22 % auf 30 % bzw. 40 % erhöht, wobei der Zusatz von 50 mM Ascorbinsäure während der Herstellung des Modellpresssaftes beibehalten wurde (Abb. 1b). Die Kombination von Ascorbinsäurezusatz während der Extraktion und Stabilisierung durch eine höhere Ethanolkonzentration sorgte für einen konstanten Gehalt von Cichoriensäure von ungefähr 420 $\mu\text{g}/\text{mL}$ über mehrere Wochen. Bei einem Ethanolgehalt von 22 % hatte hingegen der ursprüngliche Gehalt von Cichoriensäure nach vier Wochen um 70 % abgenommen. Selbst bei einer Ethanolkonzentration von 30 % wurde eine Hydrolyse von Cichoriensäure zu Monocaffeoylweinsäure und Kaffeesäure beobachtet. Im Ansatz mit 40 % Ethanol blieben dagegen der Cichoriensäure- und Monocaffeoylweinsäure-Gehalt während vier Wochen praktisch unverändert. In hitzedenaturierten Kontrollen lag der Kaffeesäuregehalt bei durchschnittlich 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ und verändert sich während vier Wochen kaum.

3. Reinigung und Charakterisierung einer Cynarosid-7-O- β -D-Glucosidase aus *Cynarae folium*

3.1 Einleitung

In der Phytotherapie werden Zubereitungen aus Artischockenblättern bei dyspeptischen Beschwerden eingesetzt. Die Aufbereitungsmonographie „*Cynarae folium*“ der Kommission E charakterisiert die Wirkung der Artischockenblätter als choloretisch. Die meisten Artischockenpräparate basieren auf Trockenextrakten, die durch Auszug der Droge *Cynarae folium* mit Wasser hergestellt werden, aber auch Frischpflanzensäfte sind im Handel.

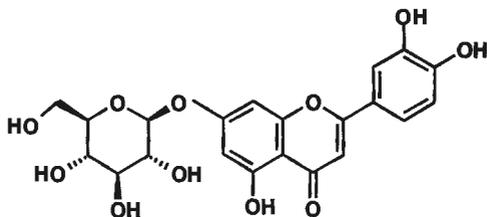
Als Inhaltsstoffe sind die Monocaffeoylchinasäuren Chlorogensäure, Neochlorogensäure und Cryptochlorogensäure, sowie die 1,5-Di-Caffeoylchinasäure, die während der Aufarbeitung umgewandelt wird in Cynarin (1,3-Dicaffeoylchinasäure) beschrieben worden. Weitere wichtige Inhaltsstoffe sind die Flavonoidglycoside Cynarosid (Luteolin-7-O-glucosid), Scolymosid (Luteolin-7-O-rutinosid) und Cynarotriosid (Luteolin-7-O-rutinosyl-4'-O-glucosid), sowie Sesquiterpenbitterstoffe, wie z. B. Cynaropikrin (Hänsel et al. 1999).

Artischockenblätterextrakt senkt den Cholesterinspiegel *in vivo*, was hinsichtlich der Prävention von Arteriosklerose und Herzkranzgefäßerkrankungen von Bedeutung sein könnte (Englisch et al. 2000). Dieser lipidsenkende Effekt von Artischockenblattextrakt ist auf eine Hemmung der Cholesterinbiosynthese zurückzuführen, wobei Luteolin wirksamer ist als Cynarosid (Gebhardt 1998). Andererseits enthalten frische Artischockenblätter nur geringe Mengen an Luteolin, aber relativ große Mengen an Cynarosid (Adzet und Puigmacia 1985). Während der Aufarbeitung können auch hier endogene Enzyme die stoffliche Zusammensetzung beeinflussen. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf die Hydrolyse von Cynarosid durch eine Cynarosid-7-O- β -D-Glucosidase gelegt. Die teilweise Aufreinigung dieses Enzyms wurde bereits beschrieben (Nüßlein und Kreis 2000).

3.2 Abbau endogener Flavonoide und Kaffeesäuren in *Cynarae folium*

Inkubiert man pulverisierte *Cynarae-folium*-Droge mit Puffer und analysiert zu verschiedenen Zeitpunkten die Zusammensetzung der Flavonoide und Pflanzensäuren dünnschicht-chromatographisch, so kann schon nach 30 min eine Abnahme von Luteolin-7-O-glucosid bei gleichzeitiger Zunahme von Luteolin im Vergleich zur Kontrolle festgestellt werden. Ein

weiteres, gelbfluoreszierendes Flavonoid wird innerhalb von 8 Stunden auch abgebaut, Chlorogensäure und eine weitere Pflanzensäure verschwinden ebenfalls fast vollständig. Die Konzentration der genannten Inhaltsstoffe bleibt in hitzedenaturierten Kontrollen stabil.



Cynarosid (Luteolin-7-O- β -D-Glucosid)

3.3 β -Glucosidase-Aktivität in Protein-Rohextrakten aus Artischockendroge

Von mehreren Händlern wurden verschiedene Drogenmuster bezogen und auf β -Glucosidase-Aktivität untersucht. Bei Droge V handelte es sich um Artischockenkraut (*Cynarae herba*), alle übrigen Chargen waren Blattdrogen (*Cynarae folium*). Durch Extraktion der gemahlene Droge mit Puffer wurde ein Enzymrohextrakt hergestellt und dieser durch Gelfiltration von niedermolekularen Pflanzeninhaltsstoffen, also auch den endogenen Flavonoiden, befreit. Dann wurde jeweils die Enzymaktivität bezüglich der Hydrolyse von (*p*-Nitrophenyl)- β -D-glucopyranosid (*p*NPG) bestimmt. Sowohl die extrahierbare Proteinmengen als auch die unspezifische β -Glucosidase-Aktivität schwanken stark (Tab. 1). So ist in Charge VII, einer Droge, die nach der Ernte mehrere Tage bei erhöhter Temperatur getrocknet wurde, nur noch eine β -Glucosidase-Aktivität von 0,22 nkat/mg Protein extrahierbar, wohingegen in Charge Ia eine Enzymaktivität von 11,75 nkat/mg Protein zu finden ist.

Zur Reinigung des Enzyms aus *Cynarae folium* erschien Muster III am besten geeignet, da hier die Gesamtaktivität am höchsten war.

3.4 Reinigung der Cynarosid-7-O- β -D-Glucosidase aus *Cynarae folium*

Ausgangsmaterial waren 400 g gepulverte Droge (Tab. 2). Zunächst wurde der aus der Extraktion der Droge mit Puffer gewonnene Rohextrakt einer fraktionierten Ammoniumsulfatfällung unterzogen, um eine Aufkonzentrierung von Proteingehalt und β -Glucosidase-Aktivität sowie eine Abtrennung unerwünschter Proteine zu erreichen. Die höchste Glucosidase-Aktivität fand sich im Präzipitat der 40-80 % gesättigten $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Fraktion. Die *p*NPG-hydrolysierende Aktivität konnte hierbei 2,7fach bei einer Ausbeute von 42,9 % angereichert werden. In den bezüglich der Hydrolyse von *p*NPG aktivsten Fraktionen wird auch Luteolin-7-O-glucosid gespalten, wie dünnschichtchromatographisch festgestellt werden konnte. Fraktionen, die *p*NPG nicht hydrolysierten, zeigten auch keine Spaltung von Luteolin-7-O-glucosid.

Das Pellet der 40-80 %igen $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Sättigung wurde einer hydrophoben Interaktionschromatographie an Phenylsepharose 6FF unterzogen. Die Hauptaktivität der unspezifischen β -D-Glucosidase-Aktivität fand sich zwischen ab einer $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Konzentration von 0,6 M. Bei diesem und sämtlichen folgenden Reinigungsschritten laufen wiederum sowohl die unspezifische β -Glucosidase-Aktivität, sowie die Fähigkeit, Luteolin-7-O-glucosid zu hydrolysieren parallel.

Die aktivsten Fraktionen wurden gepoolt, dialysiert und anschließend einer Anionen-

austausch-Chromatographie an Source 30Q unterworfen. Hier eluierte die β -Glucosidase-Aktivität mit Anstieg der NaCl-Konzentration zwischen 0,1 M und 0,3 M.

Die abschließende Gelfiltration an Superdex 200 p. g. lieferte ein 110fach angereichertes, nahezu homogenes Enzym in ca. 1% Ausbeute. Das Molekulargewicht des nativen Proteins konnte zu ca. 300 kDa bestimmt werden. Die Aufreinigung wurde mittels denaturierender SDS-Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese (PAGE) überprüft. Dabei wurden in den aktivsten Fraktionen zwei Hauptbanden bei 134 kDa und 120 kDa gefunden.

β -Glucosidasen werden oft beschrieben als Multimere im nativen Zustand, die unter SDS-Einfluss zu Monomeren von ca. 60 kDa zerfallen (Maier et al. 1993). Danach könnte die β -Glucosidase aus der Droge *Cynarae folium* als stabiles Dimer interpretiert werden.

Tab. 1: Vergleich verschiedener Drogenherkünfte und -chargen von *Cynarae folium*. Die β -Glucosidase-Aktivität wurde mittels *p*NPG bestimmt.

Händler	Muster	Extrahierbares Protein (mg g ⁻¹ Droge)	β -Glucosidase-Aktivität (nkat mg ⁻¹)	β -Glucosidase-Aktivität (nkat g ⁻¹ Droge)
I	I a	0,59	11,75	6,93
	I b	0,48	2,02	0,96
II	II	2,37	0,18	0,43
III	III	1,97	7,26	14,30
IV	IV	2,31	0,42	0,97
V	V	2,88	0,96	2,76
	VI a	14,91	0,04	0,60
	VI b	6,44	0,10	0,64
	VI c	6,33	0,29	1,84
	VI d	5,60	0,08	0,45
	VI e	5,52	0,08	5,60
	VI f	16,85	0,16	2,70
	VI g	10,04	0,10	1,00
	VI h	7,31	0,18	7,59
	VI i	10,33	0,13	1,34
	VI k	3,52	0,07	0,25
VII	VII	4,35	0,22	0,96
VIII	VIII	13,59	0,31	4,21

Tab. 2: Reinigung der Cynarosid-7-O- β -D-Glucosidase aus *Cynarae folium*. Die β -Glucosidase-Aktivität wurde mittels *p*NPG bestimmt.

Reinigungsschritt	Protein [mg]	Spez. Akt. [nkat/mg Prot.]	Gesamtaktivität [nkat]	Ausbeute [%]	Reinigungs- faktor
Rohextrakt	353,48	6,38	2255,20	100	1
40-80% (NH ₄) ₂ SO ₄	57,36	16,88	968,24	42,9	2,7
Phenylsepharose 6FF	12,87	40,85	525,74	23,3	6,4
Source 30Q	2,57	137,39	353,09	15,7	21,5
Superdex 200 pg F66	0,03	702,32	21,07	0,9	110,1

3.5 Vergleich der Enzymaktivität in frischen und getrockneten Blättern von *C. scolymus*

In Proteinextrakten aus frischen Artischockenblättern konnte nur schwache β -Glucosidase-Aktivität detektiert werden (Tab. 3). In Blättern von *C. scolymus* aus dem Botanischen Garten in Erlangen fand sich eine β -Glucosidase-Aktivität von 7 pkat/mg Protein. In Blättern zweier verschiedener Sorten von *C. scolymus* betrug die β -Glucosidase-Aktivität 6 pkat/mg Protein ('Green globe') bzw. 40 pkat/mg Protein ('Gobbo di Nizza'). Nach der Trocknung bei Raumtemperatur stieg die β -Glucosidase-Aktivität 6fach ('Gobbo di Nizza') bzw. 183fach (*C. scolymus* aus dem Botanischen Garten Erlangen) an.

Wurden Blätter der Sorte 'Gobbo di Nizza' bei verschiedenen Temperaturen getrocknet, so veränderte sich die β -Glucosidase-Aktivität ebenfalls: Nach der Trocknung bei 35° C konnte eine 143fach höhere β -Glucosidase-Aktivität im Vergleich zur Frischpflanze detektiert werden. Blattmaterial, das für 48 h bei 45° C getrocknet wurde, zeigte eine β -Glucosidase-Aktivität von 314 pkat mg⁻¹ Protein. Dieser Anstieg der β -Glucosidase-Aktivität in Abhängigkeit von der Trocknungstemperatur könnte durch eine Aktivierung während der Ernte und Trocknung bzw. durch eine Veränderung des Löslichkeitsverhaltens des Enzyms erklärt werden.

Inzwischen konnte die Cynarosid-7-O- β -D-Glucosidase auch aus frischen Blättern der Sorte *C. scolymus* var. 'Gobbo di Nizza' gereinigt werden. Das Molekulargewicht konnte mittels Gelfiltration zu 360 kDa bestimmt werden. Nach SDS-PAGE wurde eine homogene Bande bei 58 kDa gefunden, was dem Molekulargewicht aus der Literatur bekannter β -Glucosidasen-Monomere entspricht.

Tab. 3: Vergleich der β -Glucosidase-Aktivität in frischen und getrockneten Blättern von *C. scolymus*. Die β -Glucosidase-Aktivität wurde mittels pNPG bestimmt.

Trocknungs-temperatur Herkunft/Sorte	Extrahierbares Protein (mg g ⁻¹ frisches bzw. getrocknetes Blattmaterial)				β -Glucosidase-Aktivität (pkat mg ⁻¹ Prot.)			
	frisch	23° C	35° C	45° C	frisch	23° C	35° C	45° C
Gobbo di Nizza	9,0	17,1	2,7	6,3	40	229	5785	314
Green globe	6,5	n.b.	8,0	n.b.	6	n.b.	60	n.b.
Botanischer Garten Erlangen	22,2	2,8	n.b.	n.b.	7	1235	n.b.	n.b.

4. Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Cichoriensäure wird in *Echinacea-purpurea*-Zubereitungen durch eine endogene, lösliche Polyphenoloxidase abgebaut. Der Abbau lässt sich durch Ascorbinsäurezusatz während der Extraktion und einer, im Vergleich zur üblichen, erhöhten Alkoholkonzentration hemmen. Übermäßige Sauerstoffzufuhr sollte in allen Phasen der Herstellung vermieden werden. Eine Alternative zu den hier erwähnten Stabilisierungsmöglichkeiten wäre eine Heißdampfbehandlung frisch geernteter Pflanzen, was zur Inaktivierung von Enzymen führt. Die Arbeiten von Wills und Stuart 2000, Livesey et al. 1999, sowie Stuart und Wills 2000 bestätigen unsere Ergebnisse, dass Cichoriensäure einem enzymatischen Abbau in *E. purpurea* unterliegt, dass diese Enzyme in feuchter Atmosphäre, in wässrigen Lösungen und bei bestimmten Temperaturen aktiviert, unter Alkoholzusatz inhibiert werden können.

Cynarosid wird in Artischockenblättern durch eine endogene β -Glucosidase hydrolysiert. Die Aktivität ist abhängig von der Herkunft der Droge und der Trocknungstemperatur. Dieses Verhalten könnte relevant sein für die Verarbeitung von Artischockenblättern und die Qualität der daraus hergestellten Produkte: In Artischockenblättern mit hoher β -Glucosidase-Aktivität wird Cynarosid eher zu Luteolin abgebaut als in Blättern mit niedriger β -Glucosidase-Aktivität. Trotz gleicher Produktionsbedingungen könnten so Produkte mit unterschiedlichem Flavonoidmuster entstehen. Das für die Hydrolyse von Cynarosid verantwortliche Enzym wurde aus getrockneten und frischen Blättern von *C. scolymus* gereinigt.

5. Literatur

- Adzet, T. Puigmacia, M. *J. Chromatogr.* **1985**, 348, 447-453.
Aufbereitungsmonographie „Cynaræ folium“ der Kommission E am BGA, Banz. Nr. 122 vom 01.09.1990.
Bauer, R. *Z. Phytother.* **1997**, 18, 270-276.
Bauer, R. *J. Herbs, Spices Med. Plants* **1999**, 6(3), 51-62.
Becker, H., Hsieh, W. Ch. *Z. Naturforsch.* **1985**, 40c, 585-587.
Hänsel, R., Sticher, O., Steinegger, E. *Pharmakognosie – Phytopharmazie*, Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, New York, 1999.
Englisch, W., Beckers, Ch., Unkauf, M., Ruepp, M., Zinserling, V. *Arzneim. Forsch./Drug Res.* **2000**, 50(I), 260-265.
Gebhardt, R. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1998**, 286, 1122-1128.
Kreis, W., Sußner, U., Nüßlein, B. *J. Appl. Bot.* **2000**, 74, 106-112.
Livesey, J., Awang, D. V. C., Arnason, J. T., Letchamo, W., Barrett, M., Pennyroyal, G. *Phytomedicine* **1999**, 6, 347-349.
Maier, R., Carle, R., Kreis, W., Reinhard, E. *Planta Med.* **1993**, 59, 436-441.
Mayer, A. M., Harel, E. *Phytochemistry* **1978**, 18, 193-215.
Nüßlein, B., Kreis, W. *J. Appl. Bot.* **2000**, 74, 113-118.
Nüßlein, B., Kurzmann, M., Bauer, R., Kreis, W. *J. Nat. Prod.* **2000**, 63, 1615-1618.
Nüßlein, B., Kreis, W. *Acta Hort.*, im Druck.
Remiger, P. Zur Chemie und Immunologie neuer Alkylamide und anderer Inhaltsstoffe aus *Echinacea purpurea*, *Echinacea angustifolia* und *Echinacea pallida*. Dissertation, Universität München, 1988.
Sherman, T. D., Vaughn, K. C., Duke, S. O. *Phytochemistry* **1991**, 30, 2499-2506.
Soicke, H., Al-Hassan, G., Görlner, K. *Planta Med.* **1988**, 54, 175-176.
Stuart, D. L., Wills, R. B. H. *Aust. J. Exp. Agric.* **2000**, 40, 873-877.
Voigt, R. *Pharmazeutische Technologie für Studium und Beruf*, Ullstein Mosby GmbH & Co. KG: Berlin, 1993.
Wills, R. B. H., Stuart, D. L. *J. Sci. Food Agric.* **2000**, 80, 1402-1406.

Danksagung: Der Firma Martin Bauer, Vestenbergsgreuth, danken wir für die Bereitstellung von *Echinaceae purpureae herba*, der Firma Kräutermix, Abtswind für die Bereitstellung von *Cynaræ folium*.

Anmerkung

Die beschriebenen Ergebnisse wurden in wesentlichen Teilen bereits an anderer Stelle veröffentlicht (Nüßlein et al. 2000, Nüßlein und Kreis, im Druck).



Anwendbarkeit der Diamant-ATR-IR-Technik bei der Qualitätsbewertung von Medizinal- und Gewürzdrogen

Hartwig Schulz und Rolf Quilitzsch

Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen,
Institut für Pflanzenanalytik, Quedlinburg

Applicability of the diamond ATR-IR technique for quality evaluation of medicinal and spice drugs.

Abstract: Valuable components occurring in various medicinal and spice plants were studied by a new developed, sophisticated ATR-FT-IR technique. The field-portable FT-IR instrument used in this study provides reliable results in a very short time and offers a simple and low-cost solution especially for on-site measurements. Based on the received spectroscopic data a discrimination of different chemotypes or quantifications of individual essential oil components can be easily performed. Furthermore, the described spectroscopic technique has the potential to replace existing analytical procedures such as GC or chemical-physical measurements usually applied for quality control purposes.

Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenanalytik, Neuer Weg 22-23, D-06484 Quedlinburg, E-Mail: H.Schulz@bafz.de

Einleitung

Während es in den letzten Jahren gelang, die Nah-Infrarot-Spektroskopie zur Bestimmung wertgebender Inhaltsstoffe in unterschiedlichen Pflanzenbestandteilen verschiedener Medizinal- und Gewürzpflanzen (Blätter, Wurzeln, Früchte, Blüten) erfolgreich einzusetzen [1,2], konnten entsprechend verwertbare Mittel-Infrarot (MIR)-Spektren von pflanzlichen Drogen bisher nicht erhalten werden. Dies ist insbesondere darauf zurückzuführen, dass bei den herkömmlichen ATR-Messzusätzen kein ausreichender Kontakt zwischen der pflanzlichen Probe und dem ATR-Kristall hergestellt werden konnte. Lediglich für einige ausgewählte Lebensmittelprodukte wie z.B. Pflanzenöl, Marmelade und Wein wurden bisher effiziente IR-Routinemethoden zur Quantifizierung wertgebender Inhaltsstoffe beschrieben [3-5]. Erst seit kurzem ist es mit Hilfe der neu entwickelten Diamant-ATR-Technik (Abbildung 1) nun auch möglich, sehr gut aufgelöste und interpretierbare MIR-Spektren von pflanzlichen Proben ohne Durchführung aufwendiger Vorbereitungsschritte zu registrieren [6]. Durch eine spezielle Anpressvorrichtung können hierbei optimale und reproduzierbare ATR-Bedingungen bei variabel einstellbaren Drucken erzielt werden. Durch den für ATR-Messungen erforderlichen optimalen Kontakt des zu untersuchenden Pflanzenmaterials mit dem Zink-Selenid-Kristall werden intensive, fein strukturierte und gut reproduzierbare Spektren im Wellenzahlenbereich 650 - 4000 cm^{-1} erhalten.

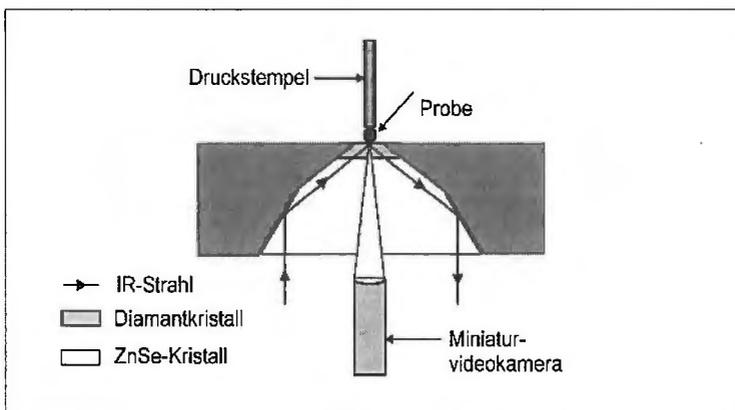


Abb.1: Schematischer Aufbau des ATR-Kristallverbundes aus Diamant/Zinkselenid

Methodik

Feste Pflanzenbestandteile werden schonend homogenisiert und mit definiertem Druck auf den Zn/Se-Kristall gepreßt. Die Reflexionsspektren werden im Bereich von $650 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ mit einer spektralen Auflösung von 2 cm^{-1} registriert. Flüssige Proben (z.B. Lösungsmittel-extrakte oder CO_2 -Extrakte von Pflanzen, ätherische Öle) werden direkt auf den Diamantkristall aufgetragen. Da der Durchmesser des ATR-Kristalls lediglich $1,8 \text{ mm}^2$ beträgt, reicht für die Messung eine Probenmenge von ca. $2 - 5 \mu\text{l}$ aus. Die inhaltsstofflichen Referenzdaten werden üblicherweise mit Hilfe standardisierter Chromatographie-Methoden (GC und HPLC) erstellt; prinzipiell ist es aber auch möglich, die erhaltenen IR-Daten mit Summenparametern wie z.B. dem Gehalt an ätherischem Öl sowie anderen Arzneibuch-Kennzahlen wie z.B. der Esterzahl, dem Aldehydgehalt oder dem optischen Drehwert zu korrelieren. Die Kalibrationsentwicklung der jeweiligen IR-Bestimmungsmethode erfolgt mit Hilfe kommerzieller Statistikprogramme (GRAMS/PLSplus/IQ bzw. OPUS/QUANT2). Für die quantitative Auswertung wird der PLS-Algorithmus mit der jeweils optimalen Anzahl an PLS-Faktoren genutzt. Die Leistungsfähigkeit der entwickelten Methoden wird anhand des Bestimmtheitsmaßes (R^2) sowie des Standardfehlers der Kreuzvalidation (SECV) beurteilt.

Ergebnisse und Diskussion

Anhand ausgewählter Modellsysteme wurde versucht, die Praxistauglichkeit der neu entwickelten ATR-IR-Methoden zu bewerten. In diesem Zusammenhang wurden an den ausgereiften, getrockneten Fruchtkapseln von Schlafmohn (*Papaver somniferum* L.) bei insgesamt 153 Einzelpflanzen-Proben mit stark variierenden Alkaloidgehalten IR-Messungen im Bereich von 700 bis 2000 cm^{-1} durchgeführt. Die dabei erhaltenen spektralen Daten weisen eine gute Korrelation zu den mittels HPLC ermittelten Morphingehalten ($0,001 - 0,731 \%$) in der Droge auf ($R^2 = 0,84$; $\text{SECV} = 0,07 \%$). Da die beschriebene Methode bei Vorliegen einer geeigneten Kalibrationsfunktion innerhalb weniger Sekunden zuverlässige Analysenergebnisse liefert, bestehen sowohl in der Züchtung als auch in der Qualitätskontrolle interessante Anwendungsbereiche. Es ist im Rahmen weiterführender Arbeiten vorgesehen, entsprechende Kalibrationen auch für frische Pflanzenmaterialien

(Kapseln im Milchreifestadium) sowie für Morphinpräparate zu entwickeln. In diesem Zusammenhang soll auch versucht werden, die Verteilung der einzelnen Mohn-Alkaloide (Morphin, Codein, Thebain) in den angeführten Matrices simultan zu erfassen.

Da das eingesetzte, mobile IR-Spektrometer mit einer 12V-Autobatterie betrieben werden kann, eröffnen sich im Rahmen der Chemotyp-Differenzierung von Pflanzenpopulationen interessante Perspektiven für eine effiziente Einzelpflanzenanalytik in den jeweiligen Habitaten. Mit Hilfe der beschriebenen Analysetechnik können vor Ort Früchte verschiedener Umbelliferenarten wie z.B. Kümmel, Fenchel, Dill, Sellerie oder Cumin im Hinblick auf die jeweilige Zusammensetzung des ätherischen Öls untersucht werden. Die Umbelliferenfrüchte werden für die IR-Messung mit Hilfe der ATR-Anpressvorrichtung zerquetscht und das austretende ätherische Öl spektroskopisch vermessen; dieser Vorgang kann über das im Gerät integrierte Videomikroskop visuell gut verfolgt werden. Da bei dieser Probenzuführungstechnik auch spektrale Informationen der Pflanzenmatrix (z.B. Cellulosebestandteile des Fruchtkörpers) mit erfasst werden, können teilweise Schlüsselbanden der Ätherisch-Öl-Inhaltsstoffe überlagert werden, so dass hierdurch teilweise die Interpretation der erhaltenen Ergebnisse erheblich erschwert wird. Alternativ bietet es sich daher an, die pflanzliche Probe in Gegenwart einer geringen Menge Tetrachlorkohlenstoff in einem Mörser zu verreiben und nachfolgend einige μL des resultierenden Mikro-Extraktes auf den ATR-Kristall aufzutragen. Das Lösungsmittel ist bereits nach kurzer Zeit abgedampft; auch eventuell noch vorhandene CCl_4 -Reste stören die Charakterisierung der ätherischen Öle nicht, da nur im Bereich von $740\text{-}780\text{ cm}^{-1}$ Schwingungsbanden dieses Moleküls zu beobachten sind. Eine weitere Möglichkeit zur Abtrennung von Matrixbestandteilen besteht darin, mit Hilfe einer mobilen Mikro-Wasserdampf-Destillationseinheit eine geringe Menge des ätherischen Öls vor Ort für die IR-Bestimmung zu gewinnen.

Innerhalb der Art *Foeniculum vulgare* L. sind gegenwärtig fünf unterschiedliche Fenchel-Chemotypen beschrieben worden. Die Abgrenzung der einzelnen Formen erfolgt dabei anhand der unterschiedlichen Gehalte an Anethol, Estragol, Piperitenonoxid, Limonen und γ -Asaron im ätherischen Öl der Fenchel Früchte [7]. Da die angeführten Ätherisch-Öl-Inhaltsstoffe jeweils charakteristische Schlüsselbanden im IR-Spektrum aufweisen, ist eine qualitative Typisierung unbekannter Fenchel Früchte innerhalb weniger Sekunden ohne weiteres durchführbar (Abbildung 2). Im Bereich um 1740 cm^{-1} ist bei den IR-Spektren aller Chemotypen die intensive C=O-Valenzschwingung des Fenchons zu erkennen. Die Chemotypen A, B und C weisen zusätzlich die charakteristischen Aromatenbanden bei 1245 , 1509 und um 1610 cm^{-1} auf. Für eine Differenzierung des Anethol-Typs (A) und des Estragol-Typs (C) können die Markerbanden bei 786 , 963 und 1282 cm^{-1} (Anethol) sowie bei 1034 cm^{-1} (Estragol) sehr gut herangezogen werden. In entsprechender Weise sind in dem Spektrum B (49 % Estragol und 18 % Anethol im isolierten ätherischen Öl) die Absorptionsbanden beider Komponenten zu finden. Die intensive Bande des Piperitenonoxids (Spektrum D) fällt mit der Fenchonbande zusammen; alle anderen Absorptionen werden durch unspezifische C-H-Valenz- und Deformationsschwingungen (insbesondere von dem im Öl zu etwa 45 % enthaltenen Limonen) verursacht. Das Spektrum des γ -Asaron-Typs weist neben der Fenchonbande (1743 cm^{-1}) die typischen Aromatenschwingungen (1204 , 1511 und 1608 cm^{-1}) sowie die durch C-O-Valenzschwingungen der Methoxy-Substituenten verursachte breite Bande bei 1039 cm^{-1} auf.

Thymian (*Thymus vulgaris* L.) wird heute hauptsächlich zur Gewinnung des ätherischen Öls im Mittelmeerraum angebaut. Der heimische Anbau (vor allem Thüringen und Sachsen-Anhalt) orientiert sich dagegen in erster Linie auf die Verwendung als Medizinaldroge (Herstellung von Thymianfluidextrakten entsprechend DAB) sowie als Bestandteil von Gewürzmischungen. Seit kurzem werden Thymianöle und -extrakte aufgrund ihrer antibiotischen und antioxidativen Eigenschaften auch vermehrt in Tierfutter-Mischungen eingesetzt.

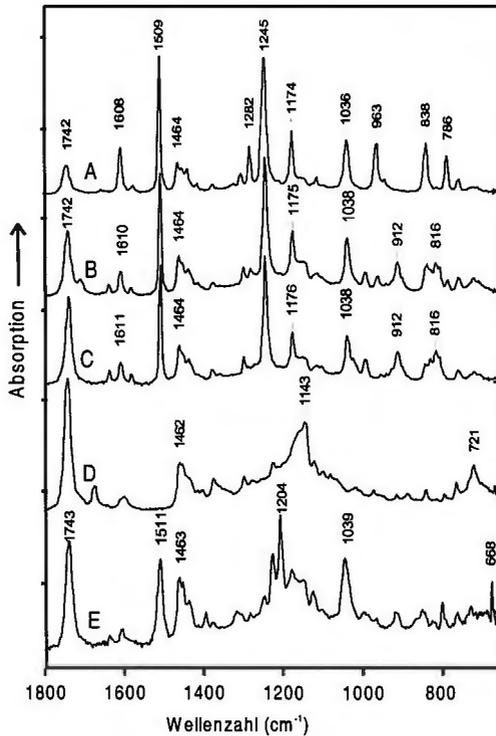


Abb.2: ATR-IR-Spektren von Fenchelfrucht-Mikroextrakten unterschiedlicher Chemotypen (A = Anethol-Typ, B = Anethol/Estragol-Typ, C = Estragol-Typ, D = Piperitenonoxid-Typ, E = γ -Asaron-Typ)

Die in Abbildung 3 wiedergegebenen IR-Spektren der beiden Thymian-Chemotypen zeigen im Fingerprint-Bereich zwischen 900-1350 cm^{-1} deutlich die spektralen Unterschiede der beiden isomeren phenolischen Komponenten Carvacrol und Thymol; auch ohne Anwendung chemometrischer Auswerteverfahren läßt sich daher bereits eine qualitative Differenzierung der beiden Chemotypen sicher durchführen. Als Markerbanden können für Carvacrol die Absorptionsbanden bei 994, 1116 sowie 1175 cm^{-1} und für Thymol die Absorptionsbanden bei 944, 1090 sowie 1286 cm^{-1} herangezogen werden.

Fazit

Die vorgestellten ATR-IR-Methoden eröffnen völlig neue Möglichkeiten, schnelle Inhaltsstoff-Screenings von Wildpflanzen vor Ort (z.B. im Rahmen einer botanischen Sammelreise) durchführen zu können. Eine aufwendige Probenvorbereitung ist in der Regel nicht erforderlich, so dass die Messungen innerhalb weniger Minuten vorgenommen werden können. Im Gegensatz zur Nah-Infrarot-Spektroskopie sind prinzipiell keine umfangreichen Kalibrationsentwicklungen auf Basis zeitintensiver Referenzanalysen notwendig, sofern

lediglich eine Differenzierung unterschiedlicher Chemotypen angestrebt wird. Allerdings kann im Rahmen von Routinemessungen die Auswertung der Spektren wesentlich vereinfacht werden, wenn auf Basis einer Hauptkomponentenanalyse (PCA) eine chemometrische Interpretation der spektralen Daten "automatisch" erfolgt. Da ätherische Öle oder Pflanzenextrakte hinsichtlich der Proben-Homogenität unproblematisch sind, lassen sich mit Hilfe geeigneter GC-Referenzdaten leistungsfähige Kalibrationsdatensätze entwickeln, die zuverlässige Bestimmungen der einzelnen Ölinhaltsstoffe zulassen. Anhand der chemometrischen Kenndaten R^2 und RMSECV wird für einzelne Kamillenöl-Inhaltsstoffe demonstriert, dass die angeführten Terpenoide mit sehr hoher Vorhersage-Qualität schnell und zerstörungsfrei auch bei Einsatz sehr geringer Probenmengen simultan bestimmt werden können (Tabelle 1). Für Thymian- und Basilikumöle konnten bei Anwendung des PLS-Algorithmus Kalibrationsgleichungen mit vergleichbarer Leistungsfähigkeit entwickelt werden, die bzgl. der Präzision den zugrunde liegenden GC-Referenzdaten kaum nachstehen.

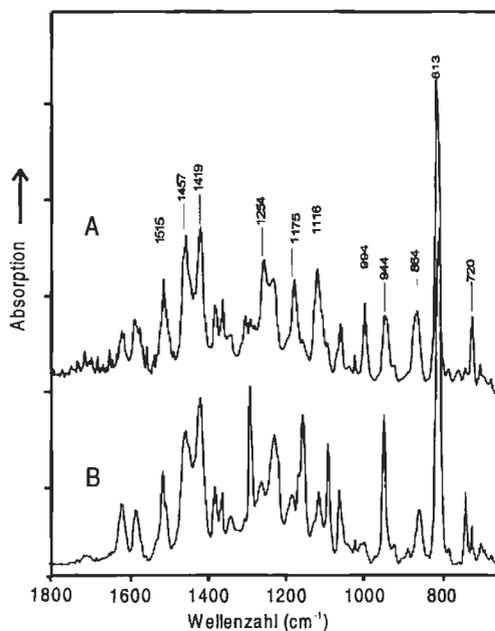


Abb.3: ATR-IR-Spektren der ätherischen Öle unterschiedlicher Thymian-Chemotypen (A = Carvacrol-Typ, B = Thymol-Typ).

Tabelle 1: IR-Korrelationsdaten einiger Kamillenöl-Hauptkomponenten (N= 53)

Ölkomponente	Bereich (%)	R ²	RMSECV (%)
α-Bisabolol	0 – 55,51	0,98	2,0
Bisabololoxid B	0 – 14,1	0,91	1,1
Chamazulen	0 – 16,84	0,96	0,9
cis-Spiroether	0 – 14,47	0,99	0,5
α-Farnesen	0 – 10,23	0,95	0,8
β-Farnesen	0 – 54,15	0,98	2,3

Danksagung

Die Autoren danken Herrn Dr. Manfred Feustel (Resultec Analytic Equipment in Garbsen, Germany) für die Bereitstellung eines TravellIR Spektrometers. Für die sorgfältige Durchführung der analytischen Arbeiten danken wir darüber hinaus den Mitarbeiterinnen Bärbel Zeiger, Dinka Colditz und Cornelia Helmund.

Literatur

1. H. Schulz, B. Steuer, H. Krüger, W. Schütze: Möglichkeiten und Grenzen NIR-spektroskopischer Qualitätsbestimmung pflanzlicher Drogen. *Z. Arzn. Gew. Pfl.* 2001, 3, 138 - 142.
2. H. Schulz: Application of NIRS in analysis of coffee, tea, tobacco, medicinal & aromatic plants and related products. In: *Near Infrared Spectroscopy in Agriculture* (Eds.: C. Roberts, J. Workman, J. Reeves). *A Tri-Societies Monograph* (im Druck).
3. F.R. van de Voort: Fourier transform infrared spectroscopy applied to food analysis. *Food Research International* 1992, 25, 397-403.
4. M.D. Guillen, N. Cabo: Characterization of edible oils and lard by Fourier transform infrared spectroscopy. Relationships between composition and frequency of concrete bands in the fingerprint region. *JAOCs* 1997, 74, 1281-1285.
5. R.H. Wilson, P.T. Slack, G.P. Appleton, L. Sun, P.S. Belton: Determination of the fruit content of jam using Fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry* 1993, 47, 303-308.
6. H. Schulz, B. Schrader, R. Quilitzsch, B. Steuer: Quantitative Analysis of various Citrus Oils by ATR/FT-IR and NIR-FT-Raman Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* 2002, 56, 117 -124.
7. H. Krüger, K. Hammer: Chemotypes of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *J. Essent. Oil Res.* 1999, 11, 79-82.



Bioverfügbarkeit und Pharmakokinetik von Quercetinglykosiden im Menschen

E. Ulrike Graefe¹, J. Wittig¹, S. Müller², A.-K. Riethling², B. Drewelow²,
H. Pforte³, G. Jacobasch³, H. Derendorf⁴, M. Veit¹

¹Zentralinstitut Arzneimittelforschung GmbH, Sinzig, Germany

²Institut f. Exp. u. Klin. Pharmakologie u. Toxikologie der Universität Rostock, Germany

³Deutsches Institut f. Ernährungsforschung, Bergholz-Rehbrücke, Germany

⁴College of Pharmacy, University of Florida, Gainesville, USA

Bioavailability and Pharmacokinetics of Quercetin Glycosides in Humans

In order to determine the influence of the sugar moiety or matrix on the absorption of quercetin, two isolated quercetin glycosides and two plant extracts were administered to 12 healthy volunteers in a four-way cross-over study. Each subject received an onion supplement or quercetin-4'-O-glucoside both equivalent to 100 mg quercetin, as well as quercetin-3-O-rutinoside and buckwheat tea both equivalent to 200 mg quercetin. Samples were analyzed by HPLC with a 12-channel coulometric array detector. In human plasma only quercetin glucuronides, but no free quercetin, could be detected. In conclusion, the disposition of quercetin in humans is primarily depending on the sugar moiety. To a minor extent, the plant matrix influences both rate and extent of absorption in the case of buckwheat tea administration compared to the isolated compound.

Dr. Eva Ulrike Graefe, Laaspherstr. 44, 57072 Siegen, Germany

EINLEITUNG

Flavonoide sind pflanzliche Polyphenole, die ubiquitär in höheren Pflanzen verbreitet und somit ein Bestandteil unserer täglichen Nahrung sind. Das Flavonoidgrundgerüst, ein 2-Phenylbenzo- γ -pyron, wird durch verschiedene Substitutionsmuster modifiziert (Abb. 1).

Mehr als 4000 Flavonoidglykoside sind bislang beschrieben worden, die sich von einer geringen Zahl verschiedener Aglykone ableiten und durch vielfältige Kombinationsmöglichkeiten der Zuckerkomponente entstehen. Glykoside des Flavonols Quercetin (5, 7, 3', 4'-Hydroxyflavonol) sind die häufigsten Nahrungsflavonoide mit hohem Gehalten in Zwiebeln, Äpfeln und Tee. Die tägliche Flavonoidaufnahme wurde in verschiedenen Ländern auf etwa 3 mg bis 70 mg (berechnet als Aglykon) geschätzt, und kann diese Werte in Regionen mit hohem Tee- und Gemüseverzehr weit übersteigen.

In den letzten Jahren stieg das wissenschaftliche Interesse an Flavonoiden und insbesondere an Quercetin stark an, da diese Substanzen aufgrund ihrer potentiell gesundheitsfördernden Wirkung die Aufmerksamkeit der Medizin erregten. In verschiedenen, wenn auch nicht allen epidemiologischen Studien zeigte sich eine negative Korrelation zwischen Flavonoidaufnahme und der Inzidenz koronarer Herzerkrankungen. Antikarzinogene und antiproliferative Effekte wurden vermutet, konnten allerdings nicht immer bestätigt werden.

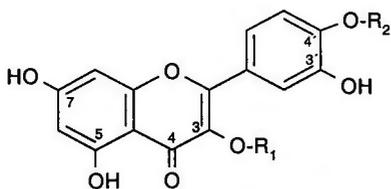


Abb. 1 Struktur von Quercetin, Quercetin-4'-O-glucosid und Quercetin-3-O-(6-O-rhamnosyl)-glucosid (= Rutin).

Substanz	R1	R2
Quercetin	H	H
Quercetin-4'-O-glucosid	H	Glucose
Quercetin-3-O-rutinose	Rutinose = -(6-O-rhamnosyl)-glucosid	H

In der Phytomedizin werden darüber hinaus in einigen Ländern quercetinhaltige Teezubereitungen und Pflanzenextrakte (z.B. Buchweizenkraut) therapeutisch zur Behandlung von chronischer Venensuffizienz eingesetzt. Flavonoidglykoside werden auch als wirksamkeitsbestimmende Inhaltsstoffe in verschiedenen Phytotherapeutika angesehen, welche in westeuropäischen Ländern häufig zur Behandlung von Harnwegsinfektionen eingesetzt werden. In der Phytotherapie gewinnen die Flavonoide zunehmend an Bedeutung und werden bereits auch in anderen Arzneidrogen wie Johanniskraut (*Hypericum perforatum*) als potentielle Wirkstoffe intensiv untersucht.

Basierend auf den Ergebnissen der epidemiologischen Untersuchungen und klinischen Studien mit flavonoidhaltigen Phytopharmaka setzten intensive Bemühungen ein, die zugrunde liegenden Wirkmechanismen zu klären. Dabei wurde vor allem das Flavonol Quercetin in unterschiedlichen *In-vitro*-Testsystemen untersucht. Neben anderen *In-vitro*-Wirkungen zeigte Quercetin dabei starke antioxidative und Radikalfänger-Eigenschaften, was als Grund für die mögliche Verhinderung von Atherosklerose angesehen wurde. Verschiedene weitere Wirkungsmechanismen für die potentiellen Effekte der Flavonoide auf die Etiologie vaskulärer Erkrankungen wurden diskutiert.

Um die vorbeugenden und möglicherweise kurativen Eigenschaften von Quercetin und seinen Glykosiden zu erklären, werden häufig *In-vitro*-Wirkungen auf Wirksamkeiten *in vivo* extrapoliert. So werden Quercetin-tabletten und -kapseln in den USA und im Internet aufgrund ihrer antioxidativen *In-vitro*-Wirkung bereits als Antioxidans angeboten und sind dort als Nahrungsergänzungsmittel („dietary supplements“) erhältlich. Antimutagene und antiproliferative Eigenschaften gegen verschiedene Krebszelllinien wurden beschrieben, was Quercetin zu einem vielversprechenden Kandidaten für eine Phase-I-Studie in Krebspatienten machte. Eine solche Extrapolation von *In-vitro*-Daten ist aber erst dann zulässig, wenn sichergestellt werden kann, dass die *in vitro* getesteten Substanzen auch *in vivo* unverändert an das Zielorgan oder das getestete Enzymsystem gelangen. Die Bioverfügbarkeit der Testsubstanzen stellt daher den zentralen „missing link“ zwischen *In-vitro*-Experimenten und ihrer *In-vivo*-Bedeutung dar.

Trotz des steigenden Interesses an der Thematik sind nur wenige Daten zur Bioverfügbarkeit, Pharmakokinetik und Metabolismus von Quercetin im Menschen verfügbar. Dies ist teilweise dadurch begründet, dass Humanstudien nicht leicht durchzuführen sind, da die Probanden sich einer strengen flavonoidfreien Diät zu unterziehen haben, um Interferenzen mit Nahrungsflavonoiden zu vermeiden. Aus den wenigen durchgeführten Arbeiten ist bekannt, dass die Bioverfügbarkeit des Aglykons Quercetin sehr gering ist. Freies Quercetin konnte im

Plasma nach Einnahme hoher Quercetinkonzentrationen nicht detektiert werden. Quercetin circulierte im Plasma nur in konjugierter Form, und die antioxidative Kapazität dieser Metabolite ist deutlich geringer als die des Aglykons. Darüber hinaus waren nach Einnahme des Aglykons selbst die Gesamtquercetinkonzentrationen im Plasma nach Spaltung der Konjugate sehr gering. Die Gesamtquercetinkonzentrationen stiegen jedoch erheblich, wenn statt des Aglykons quercetinglykoside verabreicht wurden. Bislang ist es jedoch nicht klar, ob die Art des Zuckers (z.B. eine Glucose oder Rutinose), die Bindungsstelle an der 3, 5, 7, 4'-Position oder die Pflanzenmatrix dafür verantwortlich ist. Weiterhin ist wenig über die Resorptionsorte und die damit verbundenen Resorptionsmechanismen bekannt. Um den Einfluss der Zuckerkomponente oder der Pflanzenmatrix auf die Resorption von Quercetin zu untersuchen, wurden zwei isolierte Quercetinglykoside (Quercetin-4'-O-glucosid und Quercetin-3-O-rutinosid) sowie die entsprechenden Pflanzenextrakte, die große Mengen dieser Quercetinglykoside enthalten (Zwiebeln, und Buchweizenkraut), an 12 Probanden in einer vierarmigen Crossover-Studie verabreicht.

METHODEN

Probanden

Die Studie wurde am Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie, Abteilung Klinische Pharmakologie der Universität Rostock durchgeführt. Zwölf gesunde freiwillige Probanden wurden nach klinischer Untersuchung in die Studie eingeschlossen. Routinemäßige Blut- und Urin-Laborparameter wurden erhoben. Das durchschnittliche Alter lag bei 24.3 ± 1.4 Jahren (MW \pm SD) und der mittlere Body Mass Index war 21.7 ± 2.4 kg \cdot m⁻². Alle Probanden unterschrieben die Probandeninformation entsprechend den Vorgaben der Helsinki Provision und GCP Richtlinie. Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Universität Rostock genehmigt.

Studiendesign und Prüfpräparate

Jeder Proband erhielt, entsprechend dem randomisierten vierarmigen Cross-over Design, die folgenden Prüfpräparate: eine Zwiebelzubereitung bestehend aus 160 g gedünsteter und zerkleinerter Zwiebeln, die 331 μ Mol Quercetinglucoside, hauptsächlich Quercetin-3,4'-O-diglucosid und Quercetin-4'-O-glucosid (entsprechend 100 mg Quercetin) enthielten; 331 μ Mol Quercetin-4'-O-glucosid isoliert aus Zwiebelschalen (entsprechend 100 mg Quercetin); Buchweizenkrautpulver (SmithKline Beecham, Herrenberg, Deutschland, CH 980800010) entsprechend 662 μ Mol Quercetrinrutinosid (entsprechend 200 mg Quercetin); 662 μ Mol Quercetin-3-O-rutinosid (gemahlene Rutinon® forte Tabletten, biomo Natur-Medizin, Siegburg, Germany, CH 990809,) (entsprechend 200 mg Quercetin). Ausser der Zwiebelzubereitung bestanden alle Formulierungen aus einer Suspension in 0.5 % Hydroxypropylmethylcellulose Gel (Methocel®K4M Premium EP, Dow Germany Inc., Schwalbach, Deutschland), in der 15 % Ethanol (w/w) enthalten waren. Die Herstellung und Verabreichung der Formulierungen wurde entsprechend der Europäischen Pharmacopöe und GCP Richtlinien durchgeführt. Die Probanden wurden während des Klinikaufenthaltes mit einer flavonoidfreier Diät versorgt, welche durch Verzicht auf Früchte und Gemüse von Tag 1 bis 11 der Studie erreicht wurde. Nach einer dreitägigen Run-In-Phase erhielten die Probanden je eines der vier Prüfpräparate an den Tagen 4, 6, 8 und 10. Während der ersten zwei Stunden nach Einnahme der Prüfpräparate durften die Probanden nur Wasser trinken.

Probensammlung der Blut- und Urinproben

Venöses Blut (9 mL pro Probe) wurde in EDTA-Röhrchen einmal kurz vor der Einnahme der Prüfpräparate und 15, 30, 45, 60 min, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24 und 48 h nach Einnahme

abgenommen. Das Blut wurde für 10 min bei 4700 x g und 4°C zentrifugiert. Der Überstand wurde in 0.5 mL aliquotiert und die Phenole wurden mit 20 µL Essigsäure 0.58 M stabilisiert. Das Plasma wurde bei -80°C bis zur Analyse gelagert. Urin wurde in Plastikgefäßen an Tag 4 bis 11 in Intervallen von 0-3, 3-6, 6-9, 9-12, 12-24, 24-36 und 36-48 h gesammelt. Ein Aliquot von 50 mL von jeder Probe wurde mit 1 g Ascorbinsäure versetzt und bei -80°C bis zur Analyse gelagert.

Analytische Methoden

Zur Analytik von Quercetin sowie seiner Metabolite wurde eine HPLC-Methode mit einem neuartigen analytischen Detektionsverfahren entwickelt. Die coulometrische Array-Detektion ermöglichte erstmals eine ausreichend sensitive und selektive Detektion der systemisch verfügbaren Quercetinmetabolite in Plasma und Urin. Die Methode ist ausführlich bei Graefe et al (2001) beschrieben [1].

Datenanalyse

Die pharmakokinetischen Parameter wurden mittels nichtkompartimenteller Analyse mit Microsoft Excel basierend auf den Gleichungen von Gibaldi and Perrier (1982) ermittelt [2]. Die maximalen Plasmakonzentrationen C_{max} und die Zeit bis C_{max} (t_{max}) wurden den Daten direkt entnommen. Die AUC_{0-24h} wurde linear-trapezoidal berechnet. Die apparente terminale Halbwertszeit wurde durch lineare Regression der terminalen Phase der semilogarithmischen Konzentrations-Zeit-Profile erhalten.

Statistische Analysis

Die Daten sind als arithmetische Mittel mit Standardabweichung angegeben. Statistisch signifikante Unterschiede nach Einnahme der vier Prüfpräparate wurden mittels zweifaktorieller Varianzanalyse und Tukey's Anschlussstest mit einem Signifikanzniveau von $P < 0.05$ mittels Sigma Stat[®] for Windows Version 2.0 (Jandel Scientific Software, SPSS Inc., Chicago, Illinois) ermittelt.

ERGEBNISSE

Die systemische Verfügbarkeit von Quercetin lag bei 0 %. Freies Quercetin konnte weder im Plasma noch im Urin oberhalb einer Bestimmungsgrenze von $2 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ bzw. $23 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ nachgewiesen werden. Die systemische Verfügbarkeit der applizierten Quercetinglykoside war ebenfalls 0 %. Mittels HPLC-MS/MS konnte gezeigt werden, dass es sich bei den detektierten Quercetinkonjugaten im Plasma nicht um die genuinen Glykoside handelte.

Bei den bioverfügbaren Quercetinmetaboliten handelte es sich um Quercetinkonjugate. Der Metabolismus zu den verschiedenen Quercetinkonjugaten schien - unabhängig von der Art des applizierten Quercetinglykosids - identisch zu sein. Mittels HPLC-MS/MS wurden 4 bis 5 verschiedene Quercetin-Monoglucuronide identifiziert. Darunter befand sich ein Quercetinglucuronid als Hauptmetabolit mit parallelem kinetischem Verlauf zum Gesamtquercetingehalt. Die Quantifizierung des Quercetins fand nach enzymatischer Hydrolyse und Bestimmung des Gesamtquercetingehaltes statt. Aufgrund der parallelen Plasmakonzentrations-Zeit-Profile des Hauptmetaboliten und des Gesamtquercetingehaltes nach Hydrolyse konnte die pharmakokinetische Auswertung der Konjugate anhand des Gesamtquercetingehalt durchgeführt werden.

Als einziger Phase-I-Metabolit mit intaktem Flavonoidgerüst konnte nach Hydrolyse Isorhamnetin (3'-O-Methylquercetin) nachgewiesen werden, dessen Plasmakonzentrations-

Zeit-Verläufe sowohl in der Absorptions- als auch der Eliminationsphase parallel zu denen des Quercetins verliefen, wobei die Isorhamnetinkonzentrationen etwa 10fach geringer waren.

In der Bioverfügbarkeit und Pharmakokinetik der Quercetinmetabolite ergaben sich deutliche Unterschiede nach Applikation der Reinsubstanzen bzw. der pflanzlichen Zubereitungen. Nach Applikation des Aglykons Quercetin war die Resorption von Quercetin äußerst gering. Die systemische Verfügbarkeit der Quercetinglucuronide lag, gemessen an den maximalen Plasmaspiegeln und der renalen Elimination, etwa um das 10fache niedriger im Vergleich zur Applikation von Buchweizenkraut und etwa um das 100fache niedriger im Vergleich zur Applikation von Zwiebeln. Die Resorption von Quercetin nach Applikation von 200 mg und 1000 mg des Aglykons zeigte darüber hinaus keine Dosislinearität.

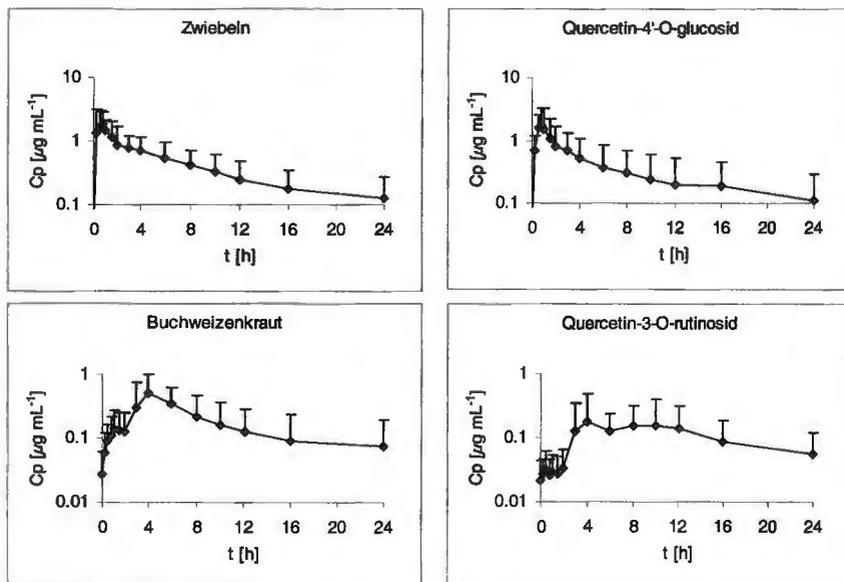


Abb. 2 Gesamtquercetinkonzentrationen im Plasma (MW±SD) von 12 Probanden nach Einnahme von 100 mg (331 µMol) Quercetin in Form von Zwiebeln oder Quercetin-4'-O-glucosid oder 200 mg (662 µMol) Quercetin in Form von Buchweizenkraut oder Quercetin-3-O-rutinosid (Rutin) in einem Cross-over Design.

Nach Applikation von Quercetin-4'-O-glucosid in Form von Spiraeosid (S) und Zwiebeln (Z) erfolgte die Resorption sehr schnell. So war Quercetin bereits nach 15 min im hydrolysierten Plasma nachweisbar. Nach Einnahme von Zwiebeln waren maximale Plasmaspiegel [c_{max}] von $2,3 \pm 1,5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ nach $0,7 \pm 0,2 \text{ h}$ [t_{max}](MW±SD) erreicht, nach Spiraeosidapplikation entsprach c_{max} $2,1 \pm 1,6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ zum Zeitpunkt t_{max} $0,7 \pm 0,3 \text{ h}$. In keinem der untersuchten pharmakokinetischen Parameter ergab sich zwischen den beiden Applikationen ein statistisch signifikanter Unterschied.

Die Quercetinkonzentrationen im Plasma zeigten nach Aufnahme von Zwiebeln und Spiraeosid einen deutlich biphasischen Verlauf, die terminale Eliminationsphase erfolgte erst in dem Zeitraum von 9 h bzw. 12 h bis 24 h (Abb. 2). Dies unterstreicht die Bedeutung von

ausreichend langen Blutentnahmezeiträumen kombiniert mit einer hochempfindlichen Analytik und erklärt die in der Literatur angegebenen, teilweise sehr kurzen Halbwertszeiten für Quercetin im Plasma.

Nach Applikation des Quercetin-3-O-rutinosids in Form von **Buchweizenkraut (B)** und **Rutin (R)** lagen die Werte für c_{max} trotz doppelter Quercetindosis signifikant niedriger im Vergleich zum Quercetin-4'-O-glucosid (B: $0,6 \pm 0,7 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, R: $0,3 \pm 0,3 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Gleiches gilt für die AUC_{0-24h} (MW für Z: $9,7 \text{ h}\cdot\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, S: $8,4 \text{ h}\cdot\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, B: $3,8 \text{ h}\cdot\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, R: $2,5 \text{ h}\cdot\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). T_{max} wurde im Falle von Buchweizenkraut erst nach $4,3 \pm 1,8 \text{ h}$ erreicht, bei Rutin nach $7,0 \pm 2,9 \text{ h}$. Im Vergleich von Buchweizenkraut zur Reinsubstanz Rutin zeigte sich nach Applikation von Rutin eine ausgeprägtere Resorptionsverzögerungszeit (lag time), verbunden mit einem späteren Erreichen maximaler Plasmaspiegel (Abb. 2). Die erreichten maximalen Quercetin-plasmaspiegel nach Applikation von Rutin lagen durchschnittlich um die Hälfte niedriger als nach Applikation von Buchweizenkraut. Der Unterschied war allerdings aufgrund hoher interindividueller Variabilität nicht statistisch signifikant (Tab. 1).

Tab. 1 Pharmakokinetische Parameter der Gesamtquercetinkonzentrationen in Humanplasma nach einmaliger oraler Einnahme von vier quercetinhaltigen Prüfpräparaten in einer Cross-Over Studie.

Parameter	Zwiebel	Quercetin-4'-O-glucosid	Buchweizenkraut	Quercetin-3-O-rutinosid
Dosis [mg]	100	100	200	200
C_{max} [$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$]	2.31 ± 1.46 (1.01 – 5.67)	2.12 ± 1.63 (0.70 – 6.60)	$0.64 \pm 0.67^*$ (0.06 – 2.24)	$0.32 \pm 0.34^*$ (0.02 – 1.04)
t_{max} [h]	0.68 ± 0.22 (0.30 – 1.00)	0.70 ± 0.31 (0.48 – 1.48)	$4.32 \pm 1.83^*$ (1.52 – 8.00)	$6.98 \pm 2.94^{**}$ (3.00 – 12.10)
$t_{1/2}$ [h]	10.9 ± 4.1 (5.0 – 20.3)	11.9 ± 4.0 (7.4 – 19.4)	10.3 ± 3.5 (4.0 – 16.5)	11.8 ± 3.1 (8.4 – 18.5)
AUC_{0-24h} [$\text{h}\cdot\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$]	9.7 ± 6.9 (2.7 – 26.9)	8.4 ± 9.1 (2.6 – 34.9)	$3.8 \pm 3.9^*$ (0.4 – 11.0)	$2.5 \pm 2.2^*$ (0.2 – 7.3)
MRT_{obs} [h]	11.8 ± 5.1 (4.2 – 20.7)	11.9 ± 5.4 (6.3 – 24.6)	14.0 ± 5.4 (6.9 – 25.5)	$19.5 \pm 5.4^{**}$ (11.3 – 27.3)
MAT [h]	0.15 ± 0.07 (0.05 – 0.30)	0.16 ± 0.10 (0.08 – 0.40)	$1.41 \pm 0.72^*$ (0.4 – 2.9)	$1.83 \pm 1.87^*$ (0.2 – 5.6)
Cl_{tot}/f [$\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$]	13.3 ± 8.9 (2.6 – 34.6)	17.4 ± 9.8 (2.0 – 35.9)	$131 \pm 134^*$ (11 – 430)	$159 \pm 184^*$ (20 – 553)
Vd_{ss}/f [L]	128 ± 66 (48 – 241)	181 ± 119 (38 – 499)	1653 ± 1887 (190 – 5000)	$2905 \pm 3745^*$ (238 – 13258)
Vd_{area}/f [L]	189 ± 121 (54 – 432)	273 ± 144 (43 – 570)	1951 ± 2065 (214 – 5641)	$2790 \pm 3692^*$ (305 – 12168)

Daten als $MW \pm SD$, der Range (min – max) ist in Klammern angegeben; $n = 12$.

* signifikanter Unterschied ($p < 0.05$) zwischen zwei Glykosidgruppen, ** signifikanter Unterschied innerhalb einer Gruppe (Buchweizenkraut versus Rutin). C_{max} , maximale Plasmakonzentration; t_{max} , Zeit bis C_{max} ; $t_{1/2}$, Eliminationshalbwertszeit; AUC_{0-24h} , Fläche unter der Konzentrations-Zeit Kurve von 0 bis 24 h; MRT_{obs} , mean residence time nach extravaskulärer Administration; MAT, mean absorption time; Cl_{tot}/f , Gesamtkörperclearance unter Berücksichtigung der Bioverfügbarkeit; Vd_{ss}/f , Verteilungsvolumen im Steady State unter Berücksichtigung der Bioverfügbarkeit; Vd_{area}/f , Verteilungsvolumen während der Eliminationsphase unter Berücksichtigung der Bioverfügbarkeit

Die terminale Halbwertszeit betrug nach Aufnahme aller 4 Prüfpräparate in der Hauptstudie etwa 11 h. Unterschiede ergaben sich demnach nur in Geschwindigkeit und Ausmaß der Resorption. Ebenso war die renale Elimination der verschiedenen Quercetinkonjugate sehr ähnlich. Die renale Clearance betrug nach Applikation aller 4 Prüfpräparate etwa $0,7 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$. Da

es sich unabhängig vom Prüfpräparat um die Elimination der gleichen Quercetinkonjugate handelte, ergaben sich hierbei erwartungsgemäß keine Unterschiede zwischen den einzelnen Prüfpräparaten. Im Urin waren ebenfalls verschiedene Konjugate von Quercetin und Isorhamnetin nachweisbar. Bezogen auf die aufgenommene Quercetindosis (100 bzw. 200 mg) betrug die renal eliminierte Quercetinmenge in der Hauptstudie nach Aufnahme von Zwiebeln $4,4 \pm 1,6$ % der Dosis, von Spiraeosid $3,3 \pm 1,3$ %, von Buchweizenkraut $0,8 \pm 0,6$ % und von Rutin $0,7 \pm 0,6$ %.

Bezogen auf die Prüfpräparate war die interindividuelle Variabilität trotz einheitlicher Ernährung und stationärer Aufnahme der Probanden in der Hauptstudie sehr hoch. Betrachtete man jedoch jeden Probanden einzeln, so zeigte sich zumeist die gleiche Abfolge der pharmakokinetischen Parameter der 4 Prüfpräparate. Ein Proband mit sehr hohen c_{max} -Werten nach Aufnahme von Zwiebeln hatte demnach in der Reihenfolge Zwiebel \geq Spiraeosid \gg Buchweizenkraut $>$ Rutin auch vergleichsweise hohe Plasmakonzentrationen nach Aufnahme von Rutin. Dieses Verhältnis der Prüfpräparate zueinander zeigte sich auch bei Probanden mit insgesamt sehr viel niedrigeren Plasmakonzentrationen nach Gabe aller 4 Prüfpräparate. Aus diesen unterschiedlichen Größenordnungen resultierte die hohe interindividuelle Variabilität. Die hieraus gewonnenen Erkenntnisse zeigen, dass ein Cross-over-Design bei der Untersuchung pflanzlicher Phenole im Menschen unerlässlich ist.

DISKUSSION

Quercetin kann in Humanplasma nur in konjugierter Form nachgewiesen werden. Unsere LC/MS-MS-Experimente ergaben keinen Hinweis auf das Vorliegen von Quercetinsulfaten, was frühere Beobachtungen von Watson und Oliveira bestätigt [3]. Die Glucuronidierung scheint der dominante Metabolismusweg im Menschen zu sein, wogegen Sulfatierung bei Ratten beobachtet wurde. Daher können die In-Vitro-Wirkungen des freien Quercetins nicht direkt auf Wirksamkeiten in vivo übertragen werden, und die beobachteten protektiven Effekte einer hohen Quercetinaufnahme sind eher auf bioaktive Metabolite zurückzuführen. Quercetinkonjugate zeigen in vitro auch antioxidative Eigenschaften, diese sind jedoch nur etwa halb so stark ausgeprägt wie die des freien Quercetins.

Bisher war nur wenig über die Struktur der Quercetinmetabolite bekannt, da in den meisten Studien nur der Gesamtquercetiningehalt nach Hydrolyse der Konjugate bestimmt wurde. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass unabhängig von dem verabreichten Quercetinglykosid jeweils ein Hauptmetabolit – ein Quercetin-Monoglucuronid – und drei bis vier weitere Glucuronide gebildet werden. Das bedeutet, dass die Substanzen, die nach Applikation verschiedener Quercetinglykoside im Plasma zirkulieren, identisch sind. Dies wird durch die Tatsache unterstützt, dass sowohl die Eliminationshalbwertszeit als auch die renale Clearance nach Applikation der vier Prüfpräparate fast identisch ist. Die Verfügbarkeit dieser Metabolite ist jedoch abhängig von der Zuckerkomponente. Die relative Bioverfügbarkeit dieser Metabolite (berechnet auf der Grundlage der Gesamtquercetinkonzentrationen) nach Einnahme von Rutin beträgt nur etwa 15 %-20 % von der von Quercetin-4'-glucosid basierend auf AUC und renalen Eliminationsdaten.

Weitgehend ungeklärt ist der Resorptionsmechanismus von Quercetin bzw. seinen Glykosiden. Der im Rahmen dieser Arbeit postulierte Erklärungsansatz geht davon aus, dass die Spaltung der Quercetinglykoside an der luminalen Seite erfolgt, wobei die beteiligten Enzyme eine höhere Affinität zu Glucosiden als zu Rutinosen zu haben scheinen. Das freiwerdende Quercetin diffundiert offenbar passiv in den Enterocyten. Die Resorption des Rutins sowie des applizierten Aglykons wird möglicherweise durch den Mucus behindert, der den Transport des im Vergleich zu den Glykosiden lipophileren Quercetins durch die Mucusschicht zum Darmepithel und den von Rutin aufgrund seiner Molekülgröße erschwert. Das applizierte Aglykon ist zudem bei den im Dünndarm vorherrschenden pH- und

Temperaturbedingungen chemisch instabil. In unteren Darmabschnitten wird die Rutinose unter Mitwirkung der Mikroflora gespalten. Durch die lokal erhöhten Konzentrationen und die günstigeren pH-Bedingungen im Dickdarm könnte das entstehende Quercetin teilweise resorbiert werden. Die Resorption aus Buchweizenkraut wird möglicherweise durch lösungsvermittelnde Co-Faktoren in der Pflanzenmatrix erhöht, die einerseits die Löslichkeit des Rutins verbessern und andererseits die Viskosität des Mucusschleims herabsetzen könnten.

Ebenso ungeklärt ist die pharmakodynamische Wirkung der nachgewiesenen Quercetin-metabolite. Aufgrund der hohen Plasmaproteinbindung scheinen die Quercetinglucuronide ihre Wirkungen, die sie in Enzymassays zeigten, in vivo nicht ausüben zu können. Auch die intestinal entstehenden Quercetinmetabolite zeigten in vitro eine antioxidative Wirkung, über ihr Wirkungspotential im Plasma ist aber noch sehr wenig bekannt. Die beobachtete klinische Wirksamkeit lässt sich daher auf der Basis des aktuellen Kenntnisstands nicht auf bestimmte Substanzgruppen zurückführen. Möglicherweise muss aber die pharmakodynamische Wirkung nicht allein von den im Plasma zirkulierenden Quercetinmetaboliten ausgehen. Zur Zeit wird untersucht, ob die zirkulierenden Glucuronide am Wirkort (z.B. dem Endothel) wieder zum Aglykon gespalten werden. Eine β -Glucuronidaseaktivität wurde bereits in verschiedenen Geweben nachgewiesen. Der Nachweis eines turnovers vom Glucuronid zum Aglykon am Wirkort würde einen bedeutenden „missing link“ zwischen Wirkungsforschung in vitro und in vivo herstellen. Zukünftige Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit und Pharmakokinetik pflanzlicher Phenole sollten daher Versuche zur Klärung der Resorptionsmechanismen und der Wirkungsmechanismen miteinbeziehen.

Danksagung

Wir danken den Firmen Kneipp-Werke, Würzburg; Bionorica Arzneimittel GmbH, Neumarkt; Dr. Willmar Schwabe GmbH & Co., Karlsruhe; SmithKline Beecham GmbH & Co. KG, Herrenberg; Lichtwer Pharma AG, Berlin; H. Finzelberg's Nachf. GmbH & Co. KG, Andernach; Schaper & Brümmer GmbH & Co. KG, Salzgitter; Boehringer Ingelheim GmbH, Ingelheim; Dr. Poehlmann GmbH & Co., Herdecke, für die finanzielle Unterstützung der Studie.

Referenzen

1. Graefe EU, Wittig J, Mueller S, Riethling AK, Uehleke B, Drewelow B, Pforte H, Jacobasch G, Derendorf H, Veit M: Pharmacokinetics and bioavailability of quercetin glycosides in humans. *J Clin Pharmacol* 2001;41(5):492-9.
2. Gibaldi M, Perrier D: *Pharmacokinetics*. New York, Basel, Hongkong, 1982.
3. Watson DG, Oliveira EJ: Solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry determination of kaempferol and quercetin in human urine after consumption of Ginkgo biloba tablets. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1999;723(1-2):203-10.



Aktuelle agrar- und verbraucherpolitische Maßnahmen und Einflüsse auf die Getreideverarbeitung^{*)}

Dr.-Ing. Klaus Münzing

Federal Research Center for Cereal, Potato and Lipid Research (BAGKF), Institute for Cereal, Potato and Starch Technology, Detmold, Germany

***Abstract:** Current Agricultural and Consumer Policy and Exertions on the Cereal Processing In the E.U. member states the rules for the cereal market and the priorities of the common agriculture policy (CAP) have been changed with the self-sufficiency of grain production and the increasing globalization. The CAP is paying more attention to food quality and safety, and also to the environmental improvement and conservation. The obligation to fulfil the rules for avoiding the risk potential is not a severe adjustment due to the expert knowledge of the dominating cereal companies which have established the „good manufacturing practice“ as a usual riskmanagement system already. The international criterion „sound and usual in trade“ as an essential preventive protection against health hazards or lacks of hygiene and all the other requirements for acceptance of grains intended for food are described. The recommendations for that subject are given in a brief overview.*

1. Einleitung

Die Prioritäten der EG Agrarpolitik haben sich mit zunehmender Globalisierung der Märkte und den steigenden Getreideüberschüssen zu Beginn der 80er Jahre dramatisch gewandelt. Der gleichfalls stattfindende Ausbau der Verbraucherpolitik der Europäischen Union (EU) und der Bundesregierung, in deren Mittelpunkt höhere Anforderungen an die Sicherheit und Gesundheit unserer Lebensmittel gestellt werden, äußert sich in spürbaren Veränderungen für die Getreidewirtschaft. Die nicht regelmentierbaren standort-, klima- und witterungsbedingten Einflüsse auf die landwirtschaftliche Produktion (Urproduktion), die in jedem Jahr zu anderen Qualitätsergebnissen führen (1,2), bestimmen nicht mehr allein den Einkauf der Mühlen. Die neuen nationalen Verbraucherschutzregeln und EU-Direktiven, die nunmehr auch die Urproduktion des Getreides einbeziehen, lenken das Augenmerk auch auf hygienische Fragen der Getreideerzeugung. Da die Möglichkeiten der Kontrolle und Lenkung für die Gewinnung hochwertiger und bekömmlicher Lebensmittel von amtlicher Seite und von den Vermarktungs- und Verarbeitungsunternehmen zwischen der Ernte und Erfassung effektiv sind, konzentriert sich an dieser Schnittstelle das Spannungsfeld.

Je mehr Risikovermeidung seitens der Getreidevermarkter und Mühlen betrieben wird, um so weniger werden riskante Verfahren bei der Erzeugung, Aufbereitung und beim Transport von Getreide übersehen. Teilweise werden von Verbänden über die Bestimmungen des nationalen

^{*)} Veröffentlichungsnummer 7413 der Bundesanstalt für Getreide-, Kartoffel- und Fettforschung in Detmold und Münster

und europäischen Lebensmittel- und Hygienerechts hinausgehende schärfere Sicherheitsanforderungen formuliert. So ist in den freiwilligen Leitlinien für optimale Erzeugung, Lagerung, Transport und Verarbeitung von Getreide (3,4) beispielsweise der Umgang mit naturbedingten botanischen und mineralischen Verunreinigungen der Frucht und der Umwelt in Anlieferungspartien strenger limitiert als sonst üblich.

Unter dem Druck der Marktanforderungen hat sich das Einkaufsverhalten der Mühlen derartig verändert, dass Verbraucherschutzanforderungen auch in den vorgelagerten Bereichen der Wertschöpfungskette beachtet werden. Neben der Einhaltung von handelsüblichen Qualitätsstandards werden heute bei der Gewinnung, Aufbereitung und Verarbeitung von Getreide zunehmend Handlungsweisen verlangt, die die Aspekte der Hygiene, Umweltverträglichkeit und Nachhaltigkeit, also die Prozessqualität, berühren (5). Mit dieser Entwicklung bewegt sich das billige austauschbare (manipulierbare) Schüttgut Getreide zu einem landwirtschaftlichen Systemprodukt mit höchsten Sicherheits- und Qualitätsstandards.

2. Rechtliche Rahmenbedingungen bei Getreide

Die Bedeutung des Getreides für die Ernährung und die Ernährungswirtschaft veranlaßte die meisten Länder noch vor 25 Jahren weltweit die Produktion, den Handel, die Verarbeitung und den Export von Getreide staatlich zu lenken. Auch die in den 60er Jahren entwickelte Getreidemarkordnung der EG ist hierfür exemplarisch. Die gemeinsamen Marktorganisationsvorschriften für Getreide enthalten rechtsverbindliche Begriffe und Standardmethoden für die Qualität, die bis heute im innergemeinschaftlichen Warenaustausch, im Drittlandsexport, für die staatliche Intervention und andere staatliche carry over Getreidelagerungen (z.B. nationale Bundesreserve) einheitlich Gültigkeit haben. Auch die branchenweit international übliche Bezeichnung „gesund und handelsüblich“ für eine hohe biologische, hygienische und sensorische (für Brotgetreide auch verarbeitungstechnologische) Integrität des Getreides, hat ihren Ursprung in der Marktordnung (5,6,7). Die gesetzlichen Definitionen und Vorschriften für die Getreidequalität stützen sich weitgehend auf Initiativen und Standardisierungen der ICC (Internationale Gesellschaft für Getreidewissenschaft und -technologie) mit Sitz in Wien, in der heute 48 Länder aus allen fünf Kontinenten vertreten sind. Auch der internationale Getreidehandel verwendet diese ICC-Definitionen und -methoden für die Handelskontrakte (8).

Mit dem Abschluss der GATT / WTO-Abkommen (GATT = General Agreement on Tariffs and Trade, WTO = World Trade Organisation) wurden die Reformen der EU-Agrarpolitik eingeleitet, an dessen Ende, durch den Abbau der Preisstützungen eine Liberalisierung der Märkte, eine wettbewerbsfähige qualitätsorientierte Getreideproduktion und Getreidewirtschaft stehen soll. Die Wirkung der EU-Agrarreform von 1992 und die Beschlüsse der Agenda 2000 auf die Verminderung der staatlichen Getreideintervention und die Exporterstattungen lässt sich heute insbesondere bei Weizen deutlich erkennen.

Seit der Vollendung des europäischen Binnenmarktes am 1. Januar 1993 ist – soweit Lebensmittel betroffen sind – der Verbraucherschutz in der Bundesrepublik Deutschland und in der Europäischen Union durch weitgehend einheitliche, allerdings anfangs im Detail noch unterschiedliche, Vorschriften geregelt. Den Rechtsrahmen in Deutschland bildet bis heute das Lebensmittelrecht und das Produkthaftungsgesetz. Die Codex Alimentarius Kommission (CAC) als gemeinsame Tochter der FAO (Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen) und der WHO (Weltgesundheitsorganisation) wurde 1962 mit dem Ziel gegründet, ein internationales, weltweit geltendes Lebensmittelrecht aufzubauen. Die

Europäische Kommission stellte 1997 in ihrem Grünbuch fest, dass die aus der Globalisierung der Märkte im Rahmen des GATT sich ergebenden Verpflichtungen, auch den Bereich der Lebensmittelhygiene (Codex Alimentarius) betreffen. Die gemeinsame Verbraucherpolitik der Kommission zielt auf einen hohen Standard in der Sicherheit der gesamten Lebensmittel- und Futtermittelherstellung und auf ein hohes Gesundheitsschutzniveau für die Verbraucher ab. Der Erzeugung, Erfassung, Vermarktung und Verarbeitung soll eindeutig die Hauptverantwortung für sichere Lebensmittel übertragen werden (9).

Das Nebeneinander unterschiedlicher Details, fehlerhafte Übersetzungen und Auslegungen des europäischen Lebensmittelrechts sowie die damit verbundene Sprachverwirrung haben die EU-Kommission veranlaßt, die in dem Weißbuch zur Lebensmittelsicherheit formulierten Verbesserungsvorschläge durch die Europäische Lebensmittel-Basisverordnung umzusetzen. Die neue Verordnung der EU vom 1. Feb. 2002 zur Einrichtung einer Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Schaffung eines neuen Rahmens für das Lebensmittelrecht der EU (Lebensmittel-Basisverordnung) gilt in jedem Mitgliedstaat, ersetzt die ehemalige Hygienerichtlinie, definiert erstmals im europäischen Recht den Begriff „Lebensmittel“ und schließt die Urproduktion und die strikte Umsetzung des Risikomanagements ein (9). Die Lebensmittel-Basisverordnung der EU enthält darüber hinaus Vorschriften über die Rückverfolgbarkeit sämtlicher Lebensmittel, Futtermittel und Futtermittel-Zutaten sowie über Verfahren über die Weiterentwicklung des Lebensmittelrechts und das Vorgehen in Notfällen. Mit dieser Verordnung wird ferner ein Schnellwarnsystem für Futtermittel geschaffen und zwar durch Einbeziehung von Informationen über kontaminierte Futtermittel in das bereits bestehende Schnellwarnsystem für Lebensmittel (9).

Die seit 1997 gültigen deutschen lebensmittel- und hygienerechtlichen Bestimmungen (10) stehen mit der EU-Lebensmittel-Basisverordnung in Einklang. In der Formulierung des § 4 Abs. 1 der deutschen Lebensmittelhygiene-VO (LMHV) ist die rechtliche Grundlage zur Anwendung eines Risikomanagements im Sinne des Codex Alimentarius enthalten. Mit der Neuordnung im Bereich der Lebensmittelsicherheit wurde auf nationaler Ebene im Dezember 2001 mit einem Organisationserlass das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) und das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) geschaffen (11,12). Die Behörden haben im Januar 2002 die Arbeit aufgenommen und sind derzeit vorrangig an dem Aufbau der jeweiligen Organisationsstrukturen beschäftigt. Grundprinzip ihrer Arbeit ist die Trennung von Risikobewertung/-Kommunikation auf der einen und Risikomanagement auf der anderen Seite. Damit wird der neuen europäischen Struktur gefolgt, um mehr Transparenz und Effizienz beim gesundheitlichen Verbraucherschutz zu erreichen.

Für Getreide aus dem ökologischen Landbau ist die EU-Öko-Verordnung bindend (13,14). In der Codex-Alimentarius-Kommission, einem gemeinsamen Programm von FAO (Food and Agriculture Organisation, Welternährungsorganisation) und WHO (World Health Organisation, Weltgesundheitsorganisation), das internationale Standards für Lebensmittel festlegt, ist der ökologische Landbau als ein ganzheitliches Bewirtschaftungssystem, das die Gesundheit von Agrarökosystemen, einschließlich Biodiversität, biologischer Kreisläufe und bodenbiologischer Aktivitäten fördert und verbessert, definiert (14). Danach basiert der Öko-Landbau nicht auf der Minimierung externer Einflussfaktoren, sondern folgt mit der Festlegung von Leitlinien zur Erzeugung, Verarbeitung, Kennzeichnung und Vermarktung von Bio-Lebensmitteln einem erweiterten system- und prozessorientierten Ansatz. Die Bestimmungen des nationalen und europäischen Lebensmittel- und Hygienerechts und der Produkthaftung (9,10,15,16) gelten uneingeschränkt auch für den ökologischen Landbau. Lebensmittelqualität ist keine am Produkt selbst begrenzte Eigenschaft mehr. Die im konventionellem und im Öko-Anbau zunehmend geforderte Prozeßqualität spricht

übergeordnete ressourcenschonende, umwelterhaltende Handlungsgrundsätze in der gesamten Wertschöpfungskette, einschließlich Rohstoffherzeugung an. Auch wenn diese sich nicht immer an der Produktqualität darstellen lassen (z.B. „Getreide, nicht von klärschlammgedüngten Flächen“), sind sie direkt vermittelbar und für Verbraucher kaufentscheidend. Da Handlungsweisen bei Getreide nicht direkt nachweisbar sind, bedarf es zur Absicherung und Vertrauensbildung einer konsequenten Rückverfolgbarkeit (9).



Abbildung 1: vorbeugender Verbraucherschutz in der Wertschöpfungskette Getreide

3. Eigenverantwortlichkeit enthaltende Rechtsvorschriften

Allgemein sprechen das Lebensmittelgesetz und das Gesetz über die Haftung für fehlerhafte Produkte (ProdHaftG) die Betriebe der Getreideerzeugung, -lagerung und -verarbeitung direkt an, woraus sich ihre Eigenverantwortlichkeit bezüglich Einhaltung aller einschlägigen Vorschriften ergibt (15,16). Selbstverpflichtende branchenweite oder gar branchenübergreifende Verbraucherschutz- oder Hygieneleitlinien fördern die Koordination innerhalb einer Wertschöpfungskette (3,4), können aber die Verantwortlichkeit der Einzelbetriebe weder aufheben noch auf vorgelagerte oder nachgeordnete Stufen der Be- und Verarbeitung verschieben.

3.1 Einhaltung der lebensmittelrechtlichen Vorschriften

Der § 8 des Lebensmittelbedarfsgegenständegesetzes (LMBG) schützt den Verbraucher vor Gesundheitsrisiken (15). Der vorbeugende Verbraucherschutz in der Wertschöpfungskette vom landwirtschaftlichen Rohstoff zum Lebensmittel kommt in den allgemeinen Hygiene- und Verfahrensvorschriften zum Ausdruck (10). Das Produkthaftungsgesetz (ProdHaftG) nimmt die Betriebe der Erzeugung, Erfassung und Verarbeitung von landwirtschaftlichen Produkten in die Pflicht, eigenverantwortlich gesundheitliche Gefährdungspotentiale für den Menschen durch angemessene Präventiv-Maßnahmen zu minimieren (16). Die Frage, inwieweit die Vorschriften des deutschen Lebensmittelrechts als Verbraucherschutzrecht Getreidepartien berühren, ist eindeutig in § 1 des Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz (LMBG) beantwortet. Danach wird ein Stoff (z.B. der landwirtschaftliche Rohstoff Getreide) zum Lebensmittel, wenn die Zweckbestimmung „Lebensmittel“ gegeben

ist, gleichgültig ob sich dieser Stoff (z.B. die Getreidepartie) im Betrieb des Landwirts, der Erfassungsstufe, der Spedition oder des Verarbeiters befindet. Eine gleichlautende Definition ist in der Europäischen Lebensmittel-Basisverordnung formuliert. Das Schutzrecht für den Verbraucher vor Gesundheitsschäden und Täuschungen kann also bereits ab dem Mährdrusch greifen, also bei Erntegetreide, welches noch nicht aufbereitet oder be- und verarbeitet worden ist. Die Lebensmittel-Basisverordnung und die Lebensmittelhygieneverordnung (LMHV) und das Produkthaftungsgesetz verlangen betriebseigene Maßnahmen und Kontrollen, um dieses Risikopotential einzuzugrenzen (9,10,16).

Die hygienische Sicherheit von Lebensmitteln aus Getreide hängt neben der Realisierung der Basishygiene von der korrekten Durchführung der betriebseigenen Maßnahmen und Kontrollen ab. Zielführend für die Umsetzung sind nachvollziehbare Konzepte, in denen geklärt ist, wer im Betrieb die Eigenkontrolle realisieren soll, wie die kritischen Punkte zu ermitteln sind, was zur Überwachung und Kontrolle kritischer Punkte festzulegen ist und wie das Eigenkontrollsystem auf reibungsloses Funktionieren zu überprüfen ist. Die Entscheidungsgrundlage hierzu ergibt sich allein aus der betrieblichen Organisation der Prozessabläufe. Es sind also interne Hintergrundinformationen in Form von Plänen notwendig, die die Betriebseigenheiten und Betriebsabläufe charakterisieren und die der Betrieb im Rahmen seiner Qualitätslenkung und -sicherung praktiziert (10,16).

3.2 gesundheitliche Eignung der Mitarbeiter

Mit dem 01.01. 2001 ist das Infektionsschutzgesetz (IfSG) in Kraft getreten, dass das Bundesseuchengesetz ablöst (17). Darin sind in § 42 Abs. 1 Tätigkeitsverbote für Personen festgelegt, die bestimmte Krankheiten oder Zustände erleiden. Der Betriebsverantwortliche hat, wenn Übertragungen von Krankheitskeimen auf Lebensmittel zu befürchten sind, solche Mitarbeiter von Arbeiten mit Berührung des Lebensmittels oder Bedarfsgegenstände fern zu halten. Diesen Anforderungen kann der Betrieb nur dann entsprechen, wenn er eigenverantwortlich regelmäßig (einmal jährlich) die Mitarbeiter gemäß § 43 Abs. 4 IfSG in gesundheitlichen Angelegenheiten belehrt und sie dabei verpflichtet, dem Arbeitgeber relevante Erkrankungen (z.B. Hauterkrankungen) mitzuteilen (17).

Das Neukonzept der Regelungen des IfSG setzt auf Aufklärung, Kommunikation und Kooperation zwischen Arbeitgeber und Arbeitnehmer. Die Verpflichtung und das Eigeninteresse der Betriebsverantwortlichen, bei den mit Tätigkeitsverbot belegten Erkrankungen oder Zuständen die erforderlichen Maßnahmen unverzüglich einzuleiten, hilft nachteilige Beeinflussungen und die gesundheitliche Bedenklichkeit der Lebensmittel auszuschließen. Die jährliche Belehrung über Verhalten bei gesundheitlichen Problemen ist für die betriebliche Koordination und Absicherung in der Bereitstellung von gesundheitlich unbedenklichen von Rohstoffen oder Lebensmitteln ein wichtiges Instrument (17).

3.3 Kenntnisse der Mitarbeiter über Fragen der Lebensmittelhygiene

Die Lebensmittelhygiene-Verordnung (LMHV) verpflichtet in § 4 Abs. 2 die Betriebsverantwortlichen ihre Mitarbeiter entsprechend ihrer Tätigkeit und unter Berücksichtigung ihrer Ausbildung in Fragen der Lebensmittelhygiene zu schulen (10). Dies sollte durch regelmäßige Behandlung allgemeiner und arbeitsplatzbezogener Lebensmittelhygienethemen geschehen. Die Entsprechende Dokumentation darüber erleichtert den Nachweis, dass der Betrieb dieser Verpflichtung nachgekommen ist. Die Schulung in Fragen der Lebensmittelhygiene nach § 4 Abs. 2 der LMHV ist nicht mit der zuvor beschriebenen Belehrung in gesundheitlichen

Fragen nach § 43 Abs. 4 des IfSG gleichzusetzen. Daher sollte die LMHV-Schulung und die IfSG-Belehrung voneinander getrennt, an zwei separaten Terminen stattfinden.

3.4 ordnungsgemäße Erarbeitung von Prüfergebnissen

Grundsätzlich ist in der Getreidewirtschaft das Hygienierisikopotential niedriger als z.B. in milch- und fleischverarbeitenden Betrieben. Dennoch sollten Erzeuger, Erfasser und Verarbeiter von Getreide die betriebseigene Kontrollen ebenso nach anerkannten Methoden durchführen oder durchführen lassen. Als anerkannte Methoden gelten solche, die durch eine verbindliche Arbeitsvorschrift gekennzeichnet sind und ordnungsgemäß, d.h. vorschriftenkonform durchgeführt werden können. Auch einfache und schnelle Prüfmethode können einbezogen werden, wie die ICC-Besatzbeurteilung (18) oder die sensorische Prüfung von Getreide (19). Betriebe mit eigenem Labor müssen für die betriebliche Absicherung und für zuverlässige Untersuchungsergebnisse Voraussetzungen schaffen. Im Bereich der Getreideanlieferung sind z.B. ICC-Standardmethoden und Standardmethoden für Getreide Mehl und Brot der Arbeitsgemeinschaft Getreideforschung e.V. (8,20,21) zu empfehlen.

4. Produktorientierter Handlungsrahmen

Für die Einhaltung der hygienischen Qualität gelten im Getreidesektor nicht nur die lebensmittel- und hygienerechtlichen Bestimmungen (9,10,15), die unabhängig von der Arteigenheit des Getreides und des Betriebes einzuhalten sind, sondern auch die Bestimmungen der EU-Getreidemarktordnung (22). Beide Regelwerke, die für den vorbeugenden Verbraucherschutz relevant sind, sind nebeneinander gültig. Der landwirtschaftliche Rohstoff Getreide wird innerhalb der Marktordnungsregeln der EU, aber auch gemäß privatrechtlicher Kontrakte erst dann ge- oder behandelt oder verarbeitet, wenn die Voraussetzung „gesund und handelsüblich“ erfüllt ist. Mit dieser Bezeichnung ist unter Berücksichtigung der Arteigenheit des Getreides eine einwandfreie biologische und hygienische Beschaffenheit zu verstehen (22).

Erzeuger-, Lager- und Verarbeitungsbetriebe von Getreide stehen heute vor der Frage, ob die bislang praktizierten Maßnahmen der Risikovermeidung und Qualitätssicherung dem hohen Gesundheitsschutzniveau für die Verbraucher genügen. Der übliche „konstruktive Dialog“ zwischen Überwachungsbehörden und Betriebsverantwortlichen (Risikokommunikation) wird in den vorgelagerten Landwirtschafts-, Erfassungs-, Lager- und Transportunternehmen noch nicht praktiziert. Umgekehrt sind die für die Hygieneüberwachung zuständigen Behörden in der Frage, wie in der Getreidewirtschaft der Verbraucherschutz nicht nur grundsätzlich, sondern vor allem in den Einzelheiten (z.B. Verwertung oder Entsorgung von Reinigungsabgängen) eigenverantwortlich wahrzunehmen ist, sehr zurückhaltend.

Zur Einschätzung von Hygienierisiken bei Getreide ist zu berücksichtigen, dass Anlieferungen (Partien) getreidetypisch aus einem Kollektiv von gesunden und hygienisch einwandfreien Einzelkörnern (dem einwandfreien Grundgetreide) bestehen und den stofflich hiervon zu differenzierenden natürlichen Verunreinigungen (einschließlich verdorbene Körner) (Abb. 2). Insofern ist eine ordnungsgemäße hygienische Aufreinigung des landwirtschaftlichen Rohstoffs Getreide notwendig (5,20,21,23). Je nach Anforderung sind hygienisch problematische Besatzfraktionen nach der Reinigung nicht mehr enthalten (z.B. bei Mahl- und Speisegetreide). Bei der Festlegung der richtigen betrieblichen Maßnahmen für die Schwachstellenanalyse, für Überwachung und Kontrolle der kritischen Punkte und für das reibungslose Funktionieren des Eigenkontrollsystems müssen die Betriebsverantwortlichen

und so auch die Überwachungsstellen, die diese Maßnahmen überprüfen, stets von der Arteigenheit der Getreideanlieferung ausgehen. Beispielsweise haben Toxinbestimmungen an Bestandteilen der Anlieferung, die dem Schwarzbesatz zuzuordnen sind, keine Relevanz aus Sicht des Verbraucherschutzes.



Abb. 2: Äußere Beschaffenheit von Getreideanlieferungen und Verwertung

In Anlehnung den internationalen Begriff "Good Manufacturing Practice" (GMP), der gemäß Empfehlungen des Codex Alimentarius für die Herstellung hygienisch sicherer Produkte zulässig ist – zu deutsch "Gute Herstellungs-Praxis" (GHP), ist im Getreidesektor der Begriff „gute fachliche Praxis“ gebräuchlich. Darunter werden folgende Merkmale der Praxis zusammengefasst: in der Wissenschaft als gesichert geltend, aufgrund praktischer Erfahrung als geeignet, angemessen und notwendig anerkannt und wirtschaftlich tragbar, von der Fachpersonen empfohlen und den sachkundigen Anwendern bekannt. Für die entscheidenden Qualitätssicherungsmaßnahmen von Getreide nach der Ernte ist die Anwendung einer „guten fachlichen Praxis“ unumgänglich.

Betriebe der Getreidewirtschaft müssen orientierend an der vorgegebenen Prozeßqualität und der „guten fachlichen Praxis“ betriebsinterne Verfahrensanweisungen, die wesentlich vom Lebensmittelhygiene-Sachverstand geprägt sind, aus sich selbst heraus festlegen und anwenden. Es liegt somit in der Kernkompetenz der Lager-, Transport- und Verarbeitungsunternehmen für Getreide eigenverantwortlich und mit Sachverstand die Gesundheitsrisiken durch Anwendung des vorgeschriebenen HACCP-Systems einzudämmen (3). Durch gezielten und ständigen Einsatz von betriebeigenen und lebensmittelhygienisch geschulten Personen, können die Vorschriften bei der Festlegung, Änderung oder Überprüfung des Eigenkontrollsystems am besten erfüllt werden.

4.1 Annahme und Aufbereitung von Erntgetreide

Die quantitative und qualitative Erhaltung der Getreideernte ist ebenso wichtig, wie ihre Erzeugung. Da erntefrische Getreideanlieferungen durch Eigenatmung ein qualitätsschädigendes Mikroklima in der Körneraufschüttung hervorrufen (2,4), sind unverzüglich ab dem Mähdrusch qualitätssichernde Maßnahmen erforderlich (5,6,7,20,21). Die Arteigenheit des Getreides und die von Jahr zu Jahr variierenden Standort-, Aufwuchs-, Abreife- und Erntebedingungen die Qualitätssicherung von Mähdruschpartien bestimmen die Art, die Intensität und den Zeitpunkt der Getreideaufbereitung. In wie weit bei Einhaltung einer gesetzeskonformen Vorgehensweise der Handlungsspielraum für diese Maßnahmen

noch variieren darf, liegt im eigenverantwortlichem Ermessen der erntegetreide-aufnehmenden Betriebe. Geht es darum, zügig nach der Ernte die wechselnde Beschaffenheit der Qualität mit der verfügbaren Getreideaufbereitungstechnik zu sichern und dabei die Anforderungen sowohl des Marktes als auch der produkthaftungsrechtlichen, lebensmittel- und hygienerechtlichen Bestimmungen zu erfüllen, sind hierfür in erster Linie betriebsangepasste Strategien anzuwenden.

Grundsätzlich ist eine Vorreinigung der Ernteanlieferung erforderlich, da die naturbedingten Beimengungen an botanischen Verunreinigungen (Besatz) die qualitätsfördernden Maßnahmen (Trocknen, Belüften, Kühlen, Lagern und Umwälzen) erschweren. Um nicht die Qualitäts- und Gesunderhaltung des frisch geernteten Getreides zu gefährden, hat die Qualitätssicherung unverzüglich mit der Ernte zu geschehen (5,21). Sofortmaßnahmen senken die Risiken für Qualitäts- und Hygieneschädigungen (Geruchsbeeinträchtigungen und Mykotoxinbildung) und fördern allgemein den Gesundheitszustand des Getreides.

Problematisch für die Qualitätssicherung sind Annahmeeinrichtungen deren Kapazität nicht in einer vernünftigen Relation zu den heutigen Leistungen der Mährescher stehen. Vorübergehend unter freiem Himmel gelagertes Getreide im Zuge der Ernte muß ebenso zu den absoluten Ausnahmen gehören, wie Reinigungs- und Trocknungsanlagen, die nicht dem hohen Druck der Ernte gewachsen sind. Treten dann zusätzlich logistische Schwachstellen auf, so erhöhen sich unweigerlich die Qualitäts- und Hygienesrisiken (z.B. Verderb durch Schimmelpilze, Mykotoxinbildung, Verlust der Keimfähigkeit) (24).

Die physisch sichere Bewältigung der Ernte, selbst bei qualitativ unterschiedlichem und schlagartigem Aufkommen der gesamten Getreidemenge innerhalb weniger Erntetage stellt bis heute eine große technische Herausforderung dar. Sie kann angenommen werden, wenn für einen sicheren Transport, eine reibungslose Getreideannahme und eine unverzügliche Aufbereitung gesorgt ist. Der vorbeugenden Verbraucherschutz, der in § 8 des LMBG (Verkehrsverbot zum Schutz der Gesundheitsgefährdung) seine rechtliche Grundlage hat (15), verlangt zur Sicherung der Getreideernte ein eigenverantwortliches und konsequentes Durchgreifen unter Anwendung einer „guten fachlichen Praxis“.

4.2 Anlieferungspartien für Getreideverarbeiter

Anlieferungspartien aus der Ernte befinden sich üblicherweise nicht auf einem für die Lebensmittelsicherheit ausreichendem Niveau. Selbst bei praktiziertem pflanzenbaulichen Qualitäts- und Risikomanagement kommt es vor, dass je nach Umweltbedingungen (Klima, Witterung, Standort) hygienisch einwandfreie Getreidepartien neben solchen geerntet werden, die die Marktvoraussetzung „gesund und handelsüblich“ sowie die lebens- und futtermittelrechtlichen Hygieneanforderungen verfehlen. Hieraus leitet sich die Verpflichtung ab, Getreide vor der Verarbeitung auf Hygienesrisiken zu prüfen (10). Es muß vermieden werden, dass Anlieferungen Kontaminationsquellen für das bereits im Betrieb befindliche gereinigte Getreide darstellen, insbesondere wenn kritische Erntesituationen vorliegen, da dann nur unzureichend gereinigt werden kann (5).

Grundsätzlich muß Lagergetreide für Futter, Lebensmittel oder Brauzwecke von gesunder Beschaffenheit sein, d.h. einen einwandfreien Gesundheitszustand aufweisen. Für die Kauf- und Preisentscheidung und zur Qualitätslenkung prüfen Verarbeiter den einwandfreien Qualitätszustand der Getreideanlieferung im Sinne von „gesund und handelsüblich“ (5,6,7,8). Diese Eigenschaft ist erfüllt, wenn Getreide eine einwandfreie äußere Beschaffenheit (Geruch, sowie Oberflächenfarbe und -struktur), ein geringes Besatzaufkommen, nur wenig

Risikomaterial (Schwarzbesatz) und eine hohe Keimfähigkeit besitzt. Diese, den Gesundheitszustand des Getreides charakterisierende Kriterien, lassen sich mit der fachlichen Kompetenz der Getreidebetriebe mittels Standardmethoden problemlos erfassen und überwachen. Wird der Qualitätsstatus „gesund und handelsüblich“ aus den oben genannten Gründen nicht erreicht, so wird entweder die Annahme verweigert oder es werden vor der vorgesehenen Verwendung besondere Qualitätslenkungsmaßnahmen eingeleitet und Zusatzuntersuchungen z.B. auf Rückstände oder Mykotoxine durchgeführt.

Seit 1997 ist der Handlungsspielraum für den Umgang mit Anlieferungen für die Zweckbestimmung Lebensmittel durch die Lebensmittelhygieneverordnung (LMHV) gesetzlich geregelt (10). Danach darf Getreide nur angenommen werden, wenn unter Einbeziehung des HACCP-Systems durch Qualitätslenkungsmaßnahmen (z.B. Reinigung) gesichert ist, dass daraus hygienisch einwandfreie Lebensmittel gewonnen werden können (§ 3, Kapitel 5, LMHV). Die Lebensmittelverarbeiter sind somit gesetzlich verpflichtet, Anlieferungspartien auf ihren Gesundheitszustand und auf das Aufkommen an Risikomaterial zu prüfen und aufgenommene Partien mittels geeignetem Reinigungsverfahren für die weitere Verarbeitung auf Unbedenklichkeit aufzureinigen (Abb. 2).

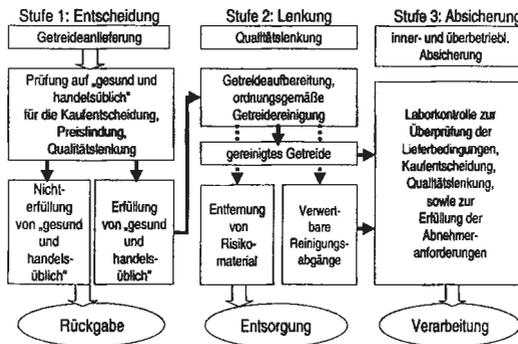


Abbildung 3: Konzept zur Einhaltung rechtlicher Pflichten bei der Getreideannahme

Vorschläge zur Risikovermeidung bei der Getreideannahme dürfen sich nicht allein auf mykotoxinhaltige Verunreinigungen beschränken, sondern müssen sich an dem Gesamtspektrum aller Hygienierisiken orientieren. Der in Getreidepartien vorhandene Schwarzbesatz, wie pilzgeschädigte, verdorbene Körner, Mutterkorn, Staub- und andere Verunreinigungen, wie Steine, Sand, Erdklumpen, Glassplitter, Tierexkremate, tote Insekten, liefert wichtige Hinweise auf mögliche hygienische Beeinträchtigungen des Grundgetreides. Bereits die routinemäßige Prüfung der Partien im Rahmen der „guten fachlichen Praxis“ auf „gesund und handelsüblich“ eröffnet Entscheidungskriterien für die Annahme oder den Ausschluß von Getreideanlieferungen (Abbildung 3, Stufe 1).

Darüber hinaus minimiert eine ordnungsgemäße Getreidereinigung das Risiko der Qualitäts- oder Gesundheitsgefährdung. Annahmestäube, wie sie bei der Ersterfassung nach der Ernte anfallen, gelten nach internationalem Standard als Verunreinigungen (Schwarzbesatz), die nach „guter fachlicher Praxis“ ebenso wie die pilzgeschädigten Körner und pilzbefallenen Leichtbestandteile als nichtverwertbares Risikomaterial aussortiert und anderen

Verwertungswegen zugeführt oder entsorgt werden müssen (Abb. 2 und Abb. 3, Stufe 2). Die Hygieneanforderungen verlangen anhand von zusätzlichen Stichprobenuntersuchungen (z.B. Toxinbestimmung) eine inner- und überbetriebliche Absicherung über die getroffenen Entscheidungs- und Qualitätslenkungsprozesse (Abb. 3, Stufe 3).

Langzeitbeobachtungen und jährliche Ernteuntersuchungen der BAGKF bei inländischen Getreide zeigen, dass im Allgemeinen bei aussortiertem und von Verunreinigungen befreitem Grundgetreide keine Grenzwertüberschreitung an Schadstoffen, Pflanzenschutz- und Vorratsschutzmitteln (wie Insektiziden, Fungiziden, Herbiziden) sowie an Schwermetallen erwartet werden kann. Hingegen geht ein permanenter Risikofaktor vom mykologischen Einfluss (von Feld- und Lagerpilzen) aus, der die Beschaffenheit der Getreidepflanze und Körner irreversibel schädigt und das Besatz- und Mykotoxinaufkommen in der Getreideanlieferung erhöhen kann. Wird ein einwandfreier Gesundheitszustand des aufgereinigten Grundgetreides im Sinne des Kriteriums „gesund und handelstüblich“ nicht erreicht, so ist bei hygienerelevanten Beanstandungen aus lebensmittelrechtlicher oder bei verarbeitungsrelevanten Schäden aus technologischer Sicht eine Verarbeitung der Partie problematisch oder ausgeschlossen (Abb. 3).

Im Bereich der Annahme ist die Art und der Anteil an verdorbenen Einzelkörnern zu bestimmen, wobei es für die Mühle unerheblich ist, ob diese wirklich pathogene Mikroorganismen oder Mykotoxine enthalten. Nach „guter fachlicher Praxis“ wird in der Müllerei verdorbenes Material grundsätzlich nicht zu Lebensmitteln verarbeitet (Abb. 2 und 3). Ausschlaggebend für den Kauf der Ware ist die einwandfreie sensorische Beschaffenheit des Grundgetreides (eine getreidetypische gesunde Beschaffenheit der Einzelkörner), die Erfüllung der kontraktlich festgelegten Besatzwerte und dass eine dem Besatzaufkommen entsprechende ordnungsgemäße Reinigung des Getreides vorgenommen werden kann. Die technischen und finanziellen Aufwendungen für die Getreidereinigung und die Entsorgung der Reinigungsabgänge sowie für den Untersuchungsaufwand sind für die Mühlen problematisch, weshalb aus ökologischen und ökonomischen Gründen in der Landwirtschaft alle Anstrengungen zur Reduzierung von kritischen Bestandteilen, von verdorbenen und unbrauchbaren Körnern und von unerwünschten Stoffen unternommen werden sollten.

5. Schlussfolgerungen

Die Sicherstellung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit und einwandfreien hygienischen Beschaffenheit von Lebensmitteln aus Getreide ist eine technisch-organisatorische Aufgabe. Sie verlangt präventive Vorgehensweisen unter zu Hilfenahme eines Qualitätsmanagement-Systems, bei dem unter Berücksichtigung der Prozessbedingungen und der Arteigenheit des Getreides die Verantwortung, die Aufgaben und Anweisungen klar vorgegeben sind, ebenso Datenerfassung, Prozessüberwachung, Personal- und Ressourceneinsatz. Marktorientierte Betriebe mit Fachkompetenz haben bei der Einhaltung eines wirksamen Verbraucherschutzes keine wesentlichen Probleme. Die qualitätsorientierten und ordnungsgemäßen Handlungsweisen in der Wertschöpfungskette Getreide helfen Kosten, Fehler, Verzögerungen, Korrekturen und Verluste zu reduzieren (Abb. 1).

Die hohe fachliche Kernkompetenz der Getreidewirtschaft erlaubt es, zur inner- und überbetrieblichen Absicherung der Verbraucherschutzanforderungen das in der Getreidewirtschaft übliche Kriterium „gesund und handelstüblich“ heranzuziehen. Die Einhaltung dieses Qualitätsmerkmals in der Wertschöpfungskette Getreide erfüllt vom Grundsatz her einen wesentlichen Teil der heutigen Anforderungen, sowie die Pflicht zur Risikovermeidung im Zusammenhang mit dem Hygienerecht (HACCP-System) und der

Produkthaftungsgesetz (ProdHaftG). Die Prüfung auf „gesund und handelsüblich“ während der Getreideannahme hilft aufwendigere Zusatzuntersuchungen z.B. auf Mykotoxine ersetzen, da die erste Entscheidung für eine Annahmeverweigerung sich schon aus der Art der äußeren Beschaffenheit der Partie und dem Anteil an Schwarzbesatz ergibt (Abb.3).

Literatur:

1. Lindhauer, M.G.: Die Qualität der deutschen Weizenernte 2001, Teil 1: Quantitatives und qualitatives Ergebnis in Bund und Ländern.- Mühle + Mischuttertechnik 138 (2001) 21, S. 683-689
2. Münzing, K. und M.G. Lindhauer: Die Qualität der deutschen Weizenernte 2001, Teil 2: Mahl- und Backqualität von Weizensorten und -partien in der Bundesrepublik Deutschland.- Mühle + Mischuttertechnik 138 (2001) 21, S. 690 – 695
3. Verband Deutscher Mühlen (VDM): Leitlinien für gute Herstellungspraxis von Mühlenprodukten als Futtermittel.- 2. Entwurf, 16.03.01
4. Deutscher Raiffeisenverband e.V., Deutscher Bauernverband e.V., Verband Deutscher Mühlen e.V., Bundesverband der Agrargewerblichen Wirtschaft e.V. (Hrsg.): Hygienische Grundsätze für den Umgang mit Getreide- Leitlinien für optimale Erzeugung, Lagerung, Transport und Verarbeitung von Getreide, Stand: Juli 1999
5. Münzing, K.: Gesund und Handelsüblich – unabdingbare Kriterien für den Verbraucherschutz bei Getreide.- Bernburger Agrarberichte 2001, Heft IV/2001, S. 26 - 35
6. Münzing, K.: Sensorische Prüfung von Getreide als wichtigste Maßnahme der Qualitätssicherung.- Mühlen- und Mischfutter-Jahrbuch 2000 111 (2000) Schäfer, Detmold, S.167-176
7. Münzing, K.: Das Kriterium „Gesund und handelsüblich“ im vorbeugenden Verbraucherschutz bei Getreide.- Getreide, Mehl, Brot 55 (2001)3, S. 131 –137
8. Glattes, H. und W. Seibel: EU grain market and intervention system based on ICC standard methods.- Cereal Foods World 42 (1997) 11, S. 913, 914, 920
9. Europäische Lebensmittel-Basisverordnung, Verordnung (EG) Nr. 178 / 2002 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit.- Amtsbl. d. Europäischen Gemeinschaften Nr. L 31 vom 1. Feb. 2002
10. Verordnung über Lebensmittelhygiene (LMHV), vom 5. August 1997, BGBl. I S. 2008
11. Frankhänel, Sabine und Kirsten Grashoff: Neuordnung im Bereich der Lebensmittelsicherheit.- Ernährungs-Umschau 49 (2002) 2, S. 51-54
11. BMVEL: Zwei neue Einrichtungen für gesundheitlichen Verbraucherschutz.- Pressemitteilung, Berlin, 21.12.2001
13. (Verordnung (EWG) Nr. 2092/91 des Rates vom 24. Juni 1991 über den ökologischen Landbau und die entsprechende Kennzeichnung der landwirtschaftlichen Erzeugnisse und Lebensmittel (ABl. EG. Nr. L 198 vom 22.07.1991, S. 1, zuletzt geändert durch Verordnung (EG) Nr. 436/2001 vom 2. März 2001 (ABl. EG Nr. L 63 vom 03.03.2001, S. 16).
14. Gwénaelle Le Guillon und Albéric Scharpé: Der ökolog.Landbau – Ein Leitfaden zur EU-Gesetzgebung, Europäische Kommission Generaldirektion Landwirtschaft, Luxemburg 2001.

15. Gesetz über den Verkehr mit Lebensmitteln, Tabakerzeugnissen, kosmetischen Mitteln und sonstigen Bedarfsgegenständen (Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz . LMBG) vom 9. September 1997, (BGBl. I S. 2296), zuletzt geändert durch Art. 13 der 6. Zuständigkeitsanpassungs VO vom 21. 9. 1997 (BGBl Teil I vom 17.Sept. 1997)
16. Gesetz über die Haftung für fehlerhafte Produkte (Produkthaftungsgesetz – ProdHaftG), vom 15. Dezember 1989 (BGBl. I S. 2198), zuletzt geändert durch Markenrechtsreformgesetz vom 25. 10.1994 (BGBl. I S. 3082, 3117)
17. Infektionsschutzgesetz (IfSG): Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen vom 20. Juli 2000 (BGBL), I, S. 1045
18. Internationale Gesellschaft für Getreidechemie (ICC) (Hrsg): ICC-Standard Nr. 102/1: Bestimmung des Besatzes bei Weizen.- 1972, sowie 103/1 Bestimmung des Besatzes bei Roggen.- 1972.
19. Arbeitsgemeinschaft Getreideforschung e.V. (Hrsg.): Sensorische Prüfung für die Bewertung von "gesund und handelsüblich", in: Standard-Methoden für Getreide, Mehl und Brot, 7.erw. Auflage, Schäfer, Detmold (1994)
20. Münzing; K.: Annahme-Voraussetzungen für Getreide als Lebensmittel.- Mühle + Mischfuttertechnik 138 (2001) 17, S. 541-543
21. Münzing, K. :Anforderungen an die Aufbereitungstechnik zur Qualitätssicherung von Marktgetreide.- KTBL-Arbeitspapier 166: Konservierung und Lagerung von Getreide.- Hrsg.: Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft e.V. (KTLB), Darmstadt (1992) S.19-37
22. Verordnung EWG Nr. 824/ 2000 der Kommission vom 19. April 2000 über das Verfahren u. die Bedingungen für die Übernahme von Getreide durch Interventionsstellen sowie Analysemethoden für die Bestimmung der Qualität (ABl. der Europäischen Gemeinschaften Nr. L 100 vom 20.4.2000, S. 31
23. Münzing, K. :Vermeidung von Qualitätsrisiken bei fusariengeschädigten Getreidepartien.- Lebensmittelbrief 10 (1999) 5+6, S.128-131
24. Bolling, H., K. Münzing u. P. Gerstenkorn: Über den Gesundheitszustand von Weizen bei unterschiedlicher Lagerung.- Getreide Mehl und Brot 39 (1985) 12, S. 361-368



Universal-Mikrobackversuch für Mehle mit Roggen- oder Weizeneigenschaften

R. Kieffer, P. Schieberle

Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Garching

Micro baking test for flours with rye or wheat characteristics

Abstract: *An easy to perform baking test suitable for 5 to 10 g of rye or wheat flour has been developed to determine changes in protein quality resulting from genetic engineering or from breeding. Lactic acid is used to depress amylase activity sometimes hindering the assessment of bread crumb. Dough kneading behaviour and water uptake are determined using the Microfarinograph, proofing and baking are performed with normal laboratory equipment. Bread volume and crumb characteristics of the 5g tests are closely correlated to those with 10g of flour. The reproducibility of results is high.*

Baking tests with genetically modified rye whose proteins have been replaced by high molecular weight proteins from wheat have been performed. Wheat properties were found only partially or not at all.

Rolf Kieffer, Peter Schieberle, Kurt – Hess Institut für Mehl und Eiweissforschung
Lichtenbergstrasse 4 D85748 Garching; Email: rolf.kieffer@lrz.tum.de

Einleitung

Die Beurteilung züchterischer oder gentechnischer Maßnahmen bei Brotgetreide sollte in einem möglichst frühen Stadium erfolgen, aufgrund der zur Verfügung stehenden geringen Probenmengen können jedoch keine Standardmethoden [1] eingesetzt werden. Daher werden für solche Untersuchungen mikrorheologische Methoden verwendet [2]. Mit diesen lassen sich die zu erwartenden Verarbeitungs- und Produkteigenschaften voraussagen, falls es sich um reinen Weizen oder Roggen handelt. Aber bereits beim Einbeziehen von Weizen/Roggen-Hybriden, z.B. 1B/1R-Translokationslinien kommt es zu Fehlinterpretationen [3]. Backversuche, obwohl weniger gut reproduzierbar und langwieriger, sind in solchen Fällen vorzuziehen. Weizenbackversuche mit kleinen Mehlmengen sind seit langer Zeit üblich; Kastenbackversuche mit 25 g Mehl wurden bereits 1938 eingesetzt [4]. Weitere Entwicklungen ermöglichten die Reduzierung der Mehlmenge auf 10 g [2, 5-7] und sogar auf 2 g [8]. Ein entsprechender Mikrobackversuch für Roggen benötigt 10 g, wobei Rezeptur und Verarbeitung von denen der Weizenbackversuche erheblich abweichen [9]. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, einen Mikrobackversuch zu entwickeln, der für Weizen- und Roggenmehl unter einheitlichen Bedingungen durchgeführt und speziell für die Beurteilung von transgenem Roggen, der Kleberproteine des Weizens enthält, herangezogen werden kann. Dabei sollte vor allem die Wirkung dieser Proteine zum Ausdruck kommen.

Material und Methoden

Mehle: Transgene Roggenmehle mit der HMW-Untereinheit 10 (R10) und 5+10 (R5+10) (jeweils 2, zur Verfügung gestellt vom Institut für Pflanzen-genetik und Kulturpflanzen-forschung Gatersleben) ein entsprechendes nicht-transgenes Roggenmehl (RV), sowie Weizen- (WM) und Roggenhandelsmehl (RM).

Teigbereitung und Backen: 5-10 g Mehl mit 7 % Backhefe, 1 % Kokosfett und Zugusslösung (4 g α -D-Glucose + 2 g NaCl + 0,25 mL Milchsäure + 63,5 mL des. Wasser) in einem 10 g-Sigma-Knetter des Farinographen bei 22°C bis zum Farinogramm-Maximum kneten. Gare der Teigkugeln bei 30°C, 90 % Luftfeuchte und 20 x manuellem Rundwirken nach der 1. Gare (1. Gare 10 min, 2. Gare 45 min). Vor dem Einschieben in den Backofen die Teiglinge mit Wasser eingesprüht und dann verbacken (10 g-Versuch: 10 min bei 240°C, 5 g-Versuch: 7 min). Gebäckvolumen durch Wasserverdrängung der in Paraffin getauchten Gebäcke messen.

Ergebnisse und Diskussion

Teigbereitung und 10g-Mikrobackversuch

Die Standardmethoden sehen für Roggenteige sehr kurze Knetzeiten, z.B. 1 min, bei 78 % Wasserzuguss und für Weizenteige längere Knetzeiten (3-14 min) bei maximal 65 % Wasserzuguss vor. Um diese stark abweichenden Parameter angleichen zu können, wurden mit den Handelsmehlen WM und RM Knet- und Backversuche mit unterschiedlicher Zugussmenge durchgeführt. Obwohl für Roggenmehl nicht üblich, wurde für alle Proben ein registrierender Knetter verwendet. Aus Gründen der Mehleinsparung wurde der Wasserzuguss im Gegensatz zu den Standardmethoden direkt mit der vollständigen Backrezeptur ermittelt. Bei allen weiteren Versuchen wurde die Zugussmenge über einen einheitlichen maximalen Knetwiderstand bestimmt, bei dem auch die optimale Knetzeit abgelesen wird [2].

Aufgrund der geringen Mehlmengen konnte die Fallzahl nicht wie sonst üblich mit Malzmehl eingestellt werden. Deshalb sollte die Enzymaktivität durch Zugabe von Milchsäure möglichst unterdrückt werden, ohne die Hefegärung zu stark zu bremsen. Zusätzlich wurde die Zuckermenge auf 4 % erhöht, um genügend Hefenahrung unabhängig von den Mehlinhaltsstoffen zur Verfügung zu haben. Die Menge Milchsäure entspricht der Hälfte der Menge, die im ICC-Standardbackversuch für Roggenmehl zugegeben wird. Auf das Gebäckvolumen des Roggenbrottes hatte die Menge an Milchsäure im Bereich 0 - 0,5 mL wenig Einfluss (Tab.1), bei Weizen verringerte sich das Volumen aber bereits bei kleinen Mengen sehr stark. Um dies etwas auszugleichen und eine normale Gebäckform zu erzielen, wurde die zweite Gärzeit von 35 auf 45 min ausgedehnt und die Teigfestigkeit etwas erhöht (Tab. 2).

Mehl	Milchsäure (mL)	pH-Wert	Knetwiderstand (FE)	Gebäckvolumen (mL/g Teig)
RM	0	5,3	320	1,39
RM	0,25	4,5	310	1,36
RM	0,50	4,4	300	1,35
WM	0	5,4	450	2,70
WM	0,25	4,5	400	2,34
WM	0,50	4,3	380	1,94

Tabelle 1: Einfluss der Milchsäuremenge auf das Gebäckvolumen

Verkleinerung des Backversuchs

Der Mikrofarinograph für 10 g Mehl ist der kleinste Knetter, der eine Bestimmung der Zugussmenge zulässt. Es wurde untersucht, wie weit sich diese Mehlmenge reduzieren lässt. Die Farinogramme zeigten, dass sich bei zu wenig Mehl der Teig auf die zwei Kneterschaufeln verteilt und nicht geknetet wurde. Zwischen Knetwiderstand und Füllmenge bestand bei WM eine lineare Beziehung bis hinab zu 4 g (Abb. 1). Bei RM kam es bei 4 g Füllmenge zu einem starken Abfall des Knetwiderstandes. Daraus folgte, dass die 5 g-Füllung des Kneters für Roggen und Weizen als gemeinsame untere Grenze angesehen werden kann.

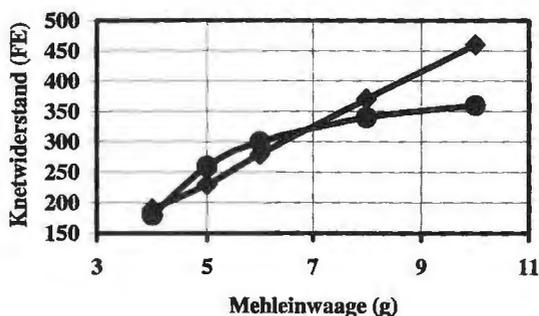


Abbildung 1: Knetwiderstand als Funktion der Knetfüllung
(-◆- Weizenmehl WM; -●- Roggenmehl RM)

Knet- und Backversuche wurden mit 5 g und 10 g Mehl durchgeführt, wobei WM, RM und Mischungen (1:1) eingesetzt wurden. Zugussmenge, max. Knetwiderstand, Knetdauer und Gebäckvolumen sind in Tab. 2 zusammengefasst.

	WM	WM	RM	RM	WM/RM 1:1	WM/RM 1:1
Mehlmenge (g)	5	10	5	10	5	10
Zuguss (mL)	3,1	6,2	3,6	7,2	3,4	6,7
Knetwiderstand (FE)	220	400	220	410	210	410
Knetzeit (min)	6	6	2	2	4	6
Gebäckvolumen/g Teig	2,21	2,34	1,58	1,35	1,81	1,96

Tabelle 2: Vergleich der 5 g- und 10 g-Backversuche

Durch Kneten bei niedrigen Temperaturen lässt sich bei WM die Kleberentwicklung verfolgen und das Knetoptimum an der Farinogrammkurve erkennen [2]. Bei RM fiel die Kurve nach kurzer Hydratisierungszeit rasch ab. Die Unterschiede im Gebäckvolumen der 5 g- und 10 g-Versuche (bez. auf 1 g Teig) waren relativ gering; bei WM und der Mischung lagen die Werte für die 10 g-Versuche etwas höher (+6 bzw. +8 %), bei RM dagegen niedriger (-15 %). Krumenporung und Gebäckform waren auch bei den 5 g-Brotten gut zu erkennen und mit den 10 g-Versuchen vergleichbar. Die Reproduzierbarkeit der

Backergebnisse wurde anhand von jeweils fünf Versuchen mit WM und RM bestimmt. Der Variationskoeffizient betrug für die 5 g-Versuche $\pm 1,8\%$ und war damit gegenüber den 10 g-Versuchen ($\pm 1,3\%$) nur geringfügig erhöht. Mit 5 g Mehleinwaage wirkten sich Abweichungen von ± 20 FE bei der Wasserzugabe nur wenig auf das Backvolumen aus. Deshalb wurden 220 - 260 FE einheitlich als Teigkonsistenz für RM und WM gewählt.

Untersuchungen an transgenem Roggen

Die Ergebnisse der Knet- und Backversuche mit den transgenen Roggen R10 (HMW-Untereinheit 10 von Weizen) und R5+10 (HMW-Untereinheiten 5+10 von Weizen), der nicht-transgenen Kontrolle (RV) sowie den Handelsmehlen sind in Tab. 3 gegenübergestellt.

Mehl	Protein (%) 1)	Zuguss (mL)	Knetzeit (min)	Gebäckvolumen (mL/g Teig)	SDS-Sed. (mL) 2)
WM	11,1	3,6	8	2,47	3,6
RM	6,5	4,2	3	1,54	0,9
RV	9,2	4,8	3	1,71	1,5
RV ₂	8,1	4,6	3	1,67	1,4
R10	9,8	4,5	12	1,84	3,1
R10 ₂	9,8	4,3	10	1,74	3,2
R5+10	10,2	4,4	3	1,47	2,3
R5+10 ₂	9,4	4,3	3	1,47	2,2

Tabelle 3: Vergleich des Gebäckvolumens und des SDS-Sedimentationsvolumens verschiedener Mehlsproben

1) nach Dumas (Nx5,7); 2) Mikrosedimentationstest mit 0,32 g Mehl [10] in Anlehnung an ICC-Standard Nr.151 [1]

Diese Versuche wurden mit 6 g Mehl durchgeführt. Der Zuguss (Wasser + Zutaten) erfolgte bis zum Farinogramm-Maximum zwischen 280 und 300 FE (vergl. Abb. 1). Alle Teige fühlten sich sensorisch roggentypisch an, die der transgenen Linien (R10, R5+10) waren jedoch trockener und besser zu verarbeiten. Bei allen Roggenproben fiel das Farinogramm nach 2 bis 3 min stark ab. Nur R10 zeigte im Farinogramm eine Teigentwicklung wie bei Weizen mit einem Knetoptimum nach 10 - 12 min. Die Bandbreite der Knetkurve war jedoch deutlich schmaler als bei Weizen, ein Zeichen dafür, dass die Teigelastizität gering war. Das Gebäckvolumen war deutlich erhöht, die Krume lockerer und weizenähnlicher. Der im Mikroverfahren bestimmte SDS-Sedimentationswert von R10 lag ebenfalls weit über dem der übrigen Roggenproben, erreichte jedoch nicht den Wert von WM. Die transgenen Roggen R10 und R5+10 wiesen im Vergleich zur Kontrolle (RV) signifikant höhere SDS-Sedimentationswerte auf (Tab. 3). Dies lässt darauf schließen, dass durch die HMW-Untereinheiten des Weizens wesentlich größere Mengen an Glutelinaggregaten gebildet werden. Die Ergebnisse zeigen insgesamt, dass durch das Einbringen von HMW-Untereinheiten, die für die Weizenqualität von großer Bedeutung sind [11], in Roggen noch keine weizenähnlichen Verarbeitungseigenschaften erzeugt werden. Interessant ist, dass die HMW-Untereinheit 10 alleine mehr Wirkung zeigt als die Kombination 5+10, die bei Weizen als Indikator für gute Backqualität bekannt ist. Es ist jedoch bekannt, dass Mengen und

Mengenverhältnisse der Speicherproteine die Verarbeitungsqualität entscheidend [12].

Schlussfolgerungen

Die Untersuchungen haben gezeigt, dass Weizen- und Roggenmehl durch Mikrobackversuch charakterisiert und beurteilt werden können. 5 g N gemeinsames unteres Mengenlimit anzusehen. Zugussmenge und Knetoptim Mikrofarinographen bestimmt, wobei der Zuguss bereits alle, für das Backe Zutaten, enthält. Durch diese Vereinfachung und die leichter zu handhab Materialmengen können pro Arbeitstag bis zu 15 Backversuche durchgeführt Ergebnisse sind gut reproduzierbar und differenzieren sehr gut zwischen reinen Roggenmehlen sowie deren Mischungen. Transgene Roggenmehle, die HMW des Weizens enthalten, zeigen mit diesem Backtest bemerkenswerte Unterschi

Literatur

1. Standard methods of the ICC (International Association for Cereal Technology, ed) Verlag Moritz Schäfer, Detmold
2. Kieffer R, Wieser H, Henderson MH, Graveland A (1998) *J Cereal Sci* 2
3. Wieser H, Kieffer R, Lelley T (2000) *J Sci Food Agric* 80:1640-1647
4. Harris RH, Sanderson T (1938) *Cereal Chem* 15:251-256
5. Shogren M, Shellenberger JH (1954) *Cereal Chem* 31:475-482
6. Kieffer R, Gamreiter F, Hofmann HW, Kim J-J, Belitz H-D (1981) *G* 35:110-112
7. - Kieffer R, Belitz H-D, Zweier M, Ipfelkofer R, Fischbeck G (1993) *Z Forsch* 197:134-136
8. Gras PE, Bekes F (1996) *Gluten '96. Proceedings of the 6th Int Workshop* (Wrigley CW, ed) pp 506-510
9. Kieffer R, Kim J-J, Maurer E, Grosch W (1984) *Getreide Mehl Brot* 38
10. Biczó G (2001) Diplomarbeit, TU München
11. Payne PI, Nightingale MA, Krattiger AF, Holt LM (1987) *J Sci Food* 1
12. Wieser H, Kieffer R (2001) *J Cereal Sci* 34:19-27



Bedeutung von Ascorbinsäure bei der Brotherstellung

Peter Köhler

Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie und
Kurt-Hess-Institut für Mehl- und Eiweißforschung, Garching

Significance of ascorbic acid in breadmaking

Abstract: *The correlation between the concentration of low molecular weight thiols and the amount of ascorbic acid used for dough mixing was studied. Addition of ascorbic acid led to a decrease in the concentration of free reduced glutathione in the dough, which was minimal at a concentration of 125 mg ascorbic acid/kg of flour. Next, the concentration of free thiols in glutenin was determined. It was in the range of 0,22-0,33 $\mu\text{mol/g}$ of flour (5,6–8,2 $\mu\text{mol/g}$ of protein). Finally, binding of oxidised glutathione to glutenin was investigated, by adding ^{35}S labelled reduced glutathione as a tracer. It has been shown that those cysteine residues of glutenin that are able to form intermolecular disulphide bonds also reacted with oxidised glutathione. Obviously, a portion of these cysteine residues are free in dough. It can be assumed that the postulated mechanism of action of ascorbic acid as a flour improver is true. Priv. Doz. Dr. Peter Köhler, Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Lichtenbergstraße 4, 85748 Garching.*

1. Einleitung

In Deutschland ist nur Ascorbinsäure (Asc) zur Mehlerverbesserung zugelassen und wird in großem Umfang dafür eingesetzt. Ascorbinsäurehaltige Teige sind trockener, haben erhöhte Dehnwiderstände, Knettoleranzen und Gärstabilitäten im Vergleich zu Kontrollteigen ohne Zusatz. Der Zusatz von Ascorbinsäure liegt im Bereich von 2-10 g/100 kg Mehl und ist einerseits abhängig von der Weizensorte, dem Ausmahlungsgrad und der Lagerzeit des Mehles. Andererseits spielen die Technologie der Teigführung und die Art des Gebäckes eine Rolle. Der Mechanismus, auf dem die Wirkung der Ascorbinsäure beruht, ist, abgesehen vom letzten Schritt, inzwischen aufgeklärt worden. Zugesezte Ascorbinsäure überführt nach schneller Oxidation zur Dehydroascorbinsäure (DH-Asc) das endogen im Mehl vorliegende reduzierte Glutathion (GSH) in die oxidierte Form (GSSG). Dadurch wird ein SH/SS-Austausch von GSH mit den intermolekularen SS-Bindungen der Kleberproteine verhindert. Eine Depolymerisation dieser Proteine, die zur Teigerweichung führen würde, findet somit nicht statt. Es ist gezeigt worden, dass oxidiertes Glutathion, das aus der Reaktion mit Dehydroascorbinsäure hervorgeht, mit den noch freien SH-Gruppen der Kleberproteine reagiert. Bei Zusatz von

Ascorbinsäure wird somit außerordentlich schnell endogenes Glutathion über oxidiertes Glutathion als Intermediat an Kleberproteine gebunden, wobei eine Depolymerisation unterbleibt, da SS-Bindungen von Kleberproteinen bei diesem Vorgang nicht betroffen sind.

Ziel des Projektes war die abschließende Aufklärung des Wirkungsmechanismus der Ascorbinsäure.

2. Material und Methoden

Für die Untersuchungen wurden Mehle aus 10 verschiedenen Weizensorten verwendet. Sie wurden charakterisiert durch die Bestimmung des Wassergehaltes, des Aschegehaltes und des Proteingehaltes. Die analytischen Daten der Mehle enthält Tabelle 1. Die Konzentration an GSH und CSH in Mehl wurde nach Sarwin et al. (1) und Hahn und Grosch (2) durch Isotopenverdünnungsanalyse bestimmt. Die Bestimmung proteingebundener SH-Gruppen in Mehl, Teig und Glutenin sowie die Ermittlung der Bindungsstellen des Glutenins für GSSG sind in (3) ausführlich beschrieben.

3. Ergebnisse und Diskussion

Für die Untersuchungen wurden 10 verschiedene Weizensorten deutscher, französischer und kanadischer Herkunft verwendet. In dem Sortiment waren alle Backqualitätsklassen vertreten (Tabelle 1).

Tabelle 1: Analytische Parameter der verwendeten Mehle

	APO	AST	CON	CWR	FLA	GLO	KAN	MON	REK	SOI
Erntejahr	1986	1998	1998	1991	1996	1996	1995	1991	1991	1998
Qualitätsgruppe	K	A	C	-	B	E	A	E	E	-
Wassergehalt [%]	10,8.	14,0	14,0	13,2	14,7	13,4	n.b.	13,4	13,9	14,0
Type	550.	550	550	800	550	405	n.b.	550	550	550
Proteingehalt [%]	12,0	11,6	8,2	13,0	8,3	11,1	n.b.	10,4	12,7	10,7

APO: Apollo; AST: Astron; CON: Contra; CWR: CWRS; FLA: Flair; GLO: Glockner; KAN: Kanzler; MON: Monopol; REK: Rektor; SOI: Soissons; n.b.: nicht bestimmt.

3.1 Abhängigkeit des Gehaltes an CSH und GSH im Teig von der Konzentration an Ascorbinsäure

Zur Klärung der Frage, welche Abhängigkeit die Konzentration niedermolekularer Thiole von der zugesetzten Menge an Asc zeigt, wurde Mehl der Provenienz CWRS mit verschiedenen Konzentrationen an Asc (0, 20, 50, 75, 100, 125, 150 mg Asc/kg Mehl) angeteigt und die Gehalte an reduziertem sowie proteingebundenem Glutathion und Cystein bestimmt. Allein durch das Anteigen nahm der Gehalt an GSH bereits drastisch ab, obwohl keine Asc zugesetzt wurde. Dieser Trend setzte sich beim Zusatz von Asc fort, und die GSH-Gehalte durchliefen

ein Minimum bei 125 mg Asc/kg Mehl, um bei höheren Asc-Konzentrationen wieder leicht anzusteigen. Eine Abnahme auf 0 nmol/g war jedoch nicht zu verzeichnen. Die optimale Anwendungskonzentration der Asc liegt also bei ca. 125 mg/kg Mehl und nicht wie bisher angenommen zwischen 50 und 100 mg/kg Mehl. Die Ergebnisse sind in Abbildung 1 dargestellt.

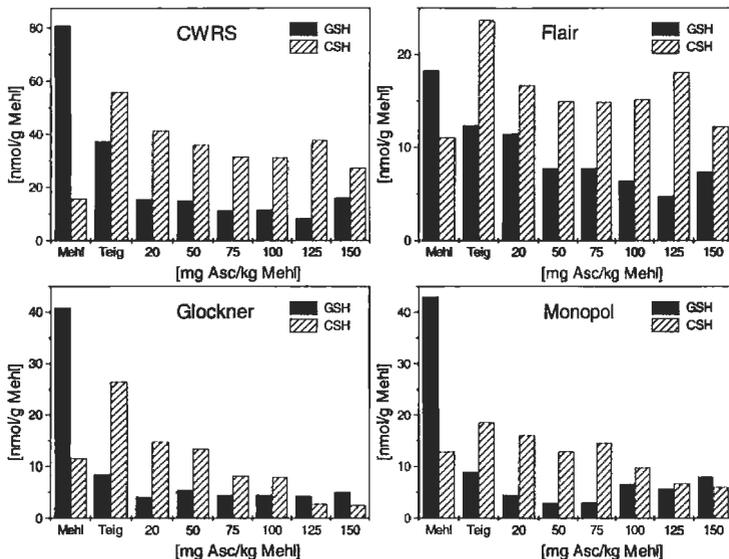


Abbildung 1: Abhängigkeit der Konzentration von GSH und CSH von der zugesetzten Menge an Ascorbinsäure in vier verschiedenen Mehlen bzw. daraus hergestellten Teigen

3.2 Konzentration proteingebundener SH-Gruppen in den Gluteninen

Nachdem die optimale Menge an Asc zur Herstellung der Teige bekannt war, wurde die Konzentration freier Thiole in den Gluteninen ermittelt, da diese mit oxidiertem Glutathion reagieren können, ohne dass eine Depolymerisation des Glutenins eintritt. Dazu wurde Mehl mit Ellman's Reagenz (DTNB) umgesetzt, das Reagenz sorgfältig entfernt und aus dem Rückstand durch eine modifizierte Osborne-Fraktionierung (4) die Glutenine isoliert. Das als gemischtes Disulfid gebundene Ellman's Reagenz ging durch das im Extraktionsmittel enthaltene Reduktionsmittel als reduziertes Ellman's Reagenz (NTB) in Lösung und wurde durch HPLC quantitativ bestimmt. Seine Konzentration war ein Maß für die Konzentration an freien SH-Gruppen im Glutenin. Das Prinzip der Bestimmung ist in Abbildung 2 schematisch dargestellt. Die erhaltenen Konzentrationen freier SH-Gruppen in der Gluteninfraktion lagen im Bereich von 0,22 - 0,33 $\mu\text{mol/g}$ derivatisiertes Mehl bzw. 5,6 - 8,2 $\mu\text{mol/g}$ Protein

(Tabelle 3) und waren damit deutlich niedriger als im Mehl. Der Zusatz von Asc beim Anteiligen führte zu einer Erhöhung der SH-Konzentration.

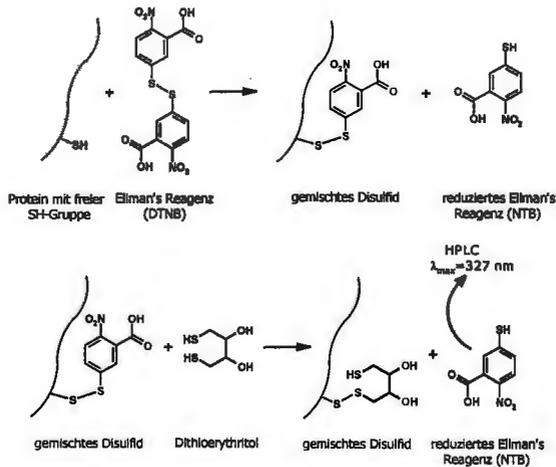


Abbildung 2: Prinzip der Bestimmung freier SH-Gruppen in Glutenin aus Mehl und Teig

Tabelle 3: Konzentration proteingebundener SH-Gruppen in den Gluteninen verschiedener Weizensorten

	APO	AST	CON	CWR	FLA	GLO	KAN	MON	REK	SOI
$\mu\text{mol/g Mehl}$	0,26	0,24	0,22	0,33	0,23	0,31	0,33	0,28	0,26	0,28
$\mu\text{mol/g Protein}$	7,3	6,0	8,2	6,3	6,0	6,2	6,5	5,6	5,7	7,5

APO: Apollo; AST: Astron; CON: Contra; CWR: CWRS; FLA: Flair; GLO: Glockner; KAN: Kanzler; MON: Monopol; REK: Rektor; SOI: Soissons.

3.3 Konzentration von SH-Gruppen in den Gluteninen in Abhängigkeit von der Konzentration an Ascorbinsäure

Es wurden Teige mit verschiedenen Mengen an Asc hergestellt, gefriergetrocknet und mit Ellman's Reagenz derivatisiert. Anschließend wurden die Glutenine isoliert und wie beschrieben die Gehalte an SH-Gruppen bestimmt. Zusätzlich wurden Teige mit verschiedenen Asc-Konzentrationen viermal einem gefrier-tau Zyklus unterworfen und dann die SH-Konzentra-

tionen der Glutenine ermittelt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Die SH-Konzentration in den Gluteninen stieg bis zu der Zusatzmenge von 100 mg Asc/kg Mehl um ca. 35 % an und fiel bei 200 mg Asc/kg Mehl wieder etwas ab. Diese Tatsache ist überraschend und kann mit den bisherigen Erkenntnissen über die Wirkung von Asc nicht in Einklang gebracht werden.

Tabelle 4: Weizensorte CWRS: Konzentration proteingebundener SH-Gruppen der Glutenine in Abhängigkeit von der Asc-Konzentration

Asc-Zusatz mg/kg Mehl	Teig		Teig nach gefrier-tau Zyklus	
	[μ mol SH/g Mehl]	[μ mol/g Protein]	[μ mol SH/g Mehl]	[μ mol/g Protein]
0	0,27	5,2	0,22	4,2
20	0,31	5,9	0,20	3,8
50	0,31	5,9	0,26	5,0
100	0,37	7,1	0,24	4,6
200	0,34	6,5	0,26	5,0

3.4 Untersuchungen zur Bindung von GSSG an die Proteine des Glutenins

Den letzten Teil der Untersuchungen bildeten Studien über die Bindung von oxidiertem Glutathion an die Proteine des Glutenins. Zum Nachweis dieser Reaktion wurde beim Anteigen des Mehles Asc in einer Konzentration von 125 mg/kg Mehl zugesetzt, außerdem wurde eine kleine Menge ^{35}S -markiertes, reduziertes Glutathion als Tracer zugesetzt, um die Reaktionsprodukte von oxidiertem Glutathion und freien SH-Gruppen der Proteine anhand ihrer Radioaktivität zu erkennen (Abbildung 3). Aus dem Ansatz wurde Glutenin isoliert, das mit Thermolysin partiell hydrolysiert und durch Gelchromatographie vortrennt wurde. Radioaktiv markierte Peptide wurden durch RP-HPLC isoliert, sequenziert und bekannten Sequenzen von Kleberproteinkomponenten zugeordnet. Es wurden 5 mit GSH verbundene Peptide aus dem Glutenin in ihren Aminosäuresequenzen aufgeklärt. Die Kettenlängen betragen 4-21 Aminosäurereste. Der Vergleich mit bekannten Aminosäureresten von Kleberproteinkomponenten ergab, dass alle isolierten Peptide aus LMW-Untereinheiten von Glutenin stammten. Als Bindungsstellen wurden ausschließlich die Cysteinreste C^{b} und C^{x} gefunden. Diese Cysteinreste der LMW-Untereinheiten des Glutenins wurden von verschiedenen Autoren als Bestandteil intermolekularer Disulfidbindungen nachgewiesen und gelten als besonders reaktiv (Abbildung 4), was auch die Reaktion GSH beweist, die von Wieser et. al (5) und Köhler et al. (6) nachgewiesen wurde. Diese Cysteinreste liegen im Mehl in der Thioform vor (7) und werden beim Anteigen durch Thiol-/Disulfidaustausch und Oxidation in die Disulfidform überführt, was einer Erhöhung des Molekulargewichtes des Glutenin-Polymers entspricht. Dass nicht alle freien Cysteinreste des Mehles in die Disulfidform überführt werden, zeigt die vorliegende Untersuchung. Unter den beim Anteigen vorliegenden Bedingungen ist eine Reaktion von GSSG nur mit freien SH-Gruppen möglich. Da im vorliegenden Fall durch die Zugabe von Asc beim Anteigen die Konzentration von GSSG maximal und die

Konzentration von GSH minimal war, hat mit hoher Wahrscheinlichkeit die freie SH-Gruppe der LMW-Untereinheit mit GSSG reagiert (Abbildung 4). Der von Grosch und Wieser (8) postulierte Mechanismus über die Wirkung von Ascorbinsäure kann damit als sehr wahrscheinlich angenommen werden.

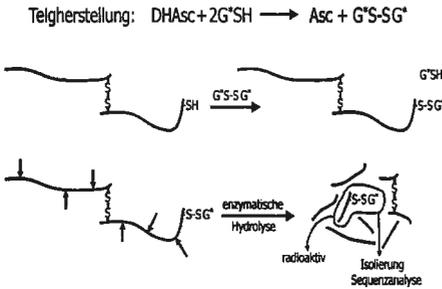


Abbildung 3: Prinzip der Lokalisierung von freien SH-Gruppen des Glutenins, die mit GSSG reagieren. G*SH, G*S-S G*: [³⁵S] markiertes, reduziertes bzw. oxidiertes Glutathion.

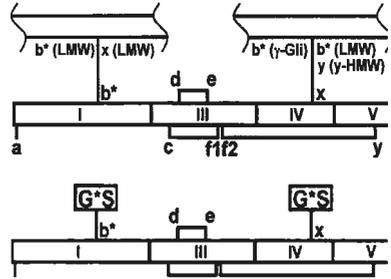


Abbildung 4: Reaktionsstellen der niedermolekularen Untereinheiten des Glutenins für andere Kleberprotein-Komponenten (oben) und für GSSG (unten). LMW: niedermolekulare Untereinheiten des Glutenins; HMW: hochmolekulare Untereinheiten des Glutenins; γ-Gli: γ-Gliadin; G*S: Nachgewiesene Bindungsstellen des Glutathions mit niedermolekularen Untereinheiten des Glutenins; a, b*, c, d, e, f1, f2, x, y: Cysteinreste nach Köhler et al (9).

4. Zusammenfassung

Mehl der Provenienz CWRS wurde mit verschiedenen Konzentrationen an Asc angefeuchtet und die Gehalte an reduziertem sowie proteingebundenem Glutathion und Cystein bestimmt. Allein durch das Anfeuchten nahm der Gehalt an GSH bereits drastisch ab, obwohl keine Asc zugesetzt wurde. Dieser Trend setzte sich beim Zusatz von Asc fort, und die GSH-Gehalte durchliefen ein Minimum bei 125 mg Asc/kg Mehl, um bei höheren Asc-Konzentrationen wieder leicht anzusteigen. Eine Abnahme auf 0 nmol/g war jedoch nicht zu verzeichnen. Die optimale Anwendungskonzentration der Asc liegt also bei ca. 125 mg/kg Mehl und nicht wie bisher angenommen zwischen 50 und 100 mg/kg Mehl. Dann wurde die Konzentration freier

Thiole in den Gluteninen ermittelt, da diese mit oxidiertem Glutathion reagieren können, ohne dass eine Depolymerisation des Glutenins eintritt. Die Konzentrationen freier SH-Gruppen in der Gluteninfraktion lagen im Bereich von 0,22 - 0,33 $\mu\text{mol/g}$ derivatisiertes Mehl bzw. 5,6 – 8,2 $\mu\text{mol/g}$ Protein und waren damit deutlich niedriger als im Mehl. Der Zusatz von Asc beim Anteigen führte zu einer Erhöhung der SH-Konzentration. Den letzten Teil der Untersuchungen bildeten Studien über die Bindung von oxidiertem Glutathion an die Proteine des Glutenins. Zum Nachweis dieser Reaktion wurde beim Anteigen des Mehles Asc in einer Konzentration von 125 mg/kg Mehl zugesetzt, außerdem wurde eine kleine Menge ^{35}S -markiertes, reduziertes Glutathion als Tracer zugesetzt, um die Reaktionsprodukte von oxidiertem Glutathion und freien SH-Gruppen der Proteine anhand ihrer Radioaktivität zu erkennen. Aus dem Ansatz wurde Glutenin isoliert, das mit Thermolysin partiell hydrolysiert und durch Gelchromatographie vorgetrennt wurde. Radioaktiv markierte Peptide wurden durch RP-HPLC isoliert, sequenziert und bekannten Sequenzen von Kleberproteinanteilen zugeordnet. Es zeigte sich, dass die Cysteinreste der Kleberproteine, die in der Lage sind, intermolekulare Disulfidbindungen mit anderen Proteinen auszubilden auch mit oxidiertem Glutathion reagieren können. Damit konnte gezeigt werden, dass zumindest ein Teil dieser Cysteinreste im Teig in freier Form vorliegt. Der postulierte Mechanismus für die Wirkung der Asc konnte damit bestätigt werden.

5. Literatur

1. Sarwin, R, C. Walther, G. Laskawy, B. Butz, und W. Grosch: Determination of free reduced and total glutathione in wheat flours by an isotope dilution assay. - Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung 195 (1992) S. 27-32
2. Hahn, B. und W. Grosch: Distribution of glutathione in Osborne fractions as affected by additions of ascorbic acid, reduced and oxidised glutathione. - Journal of Cereal Science 27 (1998) S. 117-125
3. Köhler, P.: Ascorbinsäure als Regulator der Redoxreaktionen bei der Teigbereitung. - Getreide Mehl Brot 55 (2001) S. 211-216
4. Wieser, H., S. Antes und W. Seilmeier: Quantitative Determination of Gluten Protein Types in Wheat Flour by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography. - Cereal Chemistry 75 (1998) S. 644-650
5. Wieser, H., S. Hüttner und P. Köhler: Bindungsstellen von endogenem Glutathion in Kleberproteinen. - Getreide Mehl und Brot 51 (1997) S. 263-264
6. Köhler, P., S. Hüttner und H. Wieser: Binding Sites of Glutathione in Gluten Proteins. In: Wrigley, C.W., CSIRO Plant Industry and Quality Wheat CRC (Hrsg.): Gluten '96 Proceedings of the 6th International Gluten Workshop, National Library of Australia, Canberra (1996) S. 137-140
7. Antes, S. und H. Wieser: Quantitative Determination and Localisation of Thiol Groups in Wheat Flour. In: Shewry, P.R. und A.S. Tatham (Hrsg.): Wheat Gluten, The Royal Society of Chemistry, Cambridge (2000) S. 211-214
8. Grosch, W. und H. Wieser: Redox Reactions in Wheat Doughs as Affected by Ascorbic Acid. - Journal of Cereal Science 29 (1999) S. 1-16

9. Köhler, P., H.-D. Belitz und H. Wieser: Disulphide bonds in wheat gluten: further cystine peptides from high molecular weight (HMW) and low molecular weight (LMW) subunits of glutenin and from γ -gliadins. – Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung 196 (1993) S. 239-247

6. Danksagung

Dieses Vorhaben wurde aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie (FEI) gefördert. Projekt-Nr.: AiF-FV 11590 N.



Einfluss der Sorte und der Technologie auf den Carotinoidgehalt von Karottensäften

E. Schöppelein¹, H. Dietrich¹, M. Ludwig¹, P. Paschold², P. Dietrich³

Forschungsanstalt Geisenheim, ¹FG Weinanalytik und Getränkeforschung, ²FG Gemüßebau, ³Fachhochschule Wiesbaden, FB Weinbau und Getränketechnologie

Effect of variety and technology on the carotene content of carrot juices

Abstract: *Supplementation of fruit juices and other beverages with synthetic β -carotene is regarded critical because of the pro-carcinogenic effect on smokers. For this reason the consumption of carrot juices as natural carotene source might increase. The carotene content of carrot juices is influenced by variety but also by processing. In juices of 22 carrot varieties, produced in laboratory scale, the contents of soluble solids, nitrate and carotenes were analyzed. Six varieties were chosen to produce carrot juices in half technical scale by two different processing ways. The introduction of an in-line homogenizer with a rotor-stator working principle as a second mill increased the transfer of carotenes into the juices. A scale-up to technical conditions with 800 kg carrots was performed.*

E. Schöppelein, Von-Lade-Str. 1, D-65366 Geisenheim, e-mail: Schoepplein@fa-gm.de

Einleitung

Epidemiologische Studien ergaben inverse Korrelationen zwischen dem Verzehr von carotinoidreichem Gemüse und dem Auftreten bestimmter Krebsformen sowie Herz-, Kreislauferkrankungen (Ziegler, R.G. 1989, Stähelin et al. 1991, Gerster, H. 1993). Dagegen wird die Verabreichung hoher Dosen sekundärer Pflanzenstoffe (SPS) in isolierter Form aufgrund der Ergebnisse einer finnischen Studie zur β -Carotin-Supplementierung bei Rauchern und dem damit verbundenen Anstieg des Lungenkrebsrisikos insgesamt kritisch betrachtet. Als Konsequenz empfiehlt das Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV) eine mengenmäßige Begrenzung. Weder durch die Lebensmittelfärbung, noch durch andere Verwendung in Lebensmitteln sollen mehr als jeweils 1 mg β -Carotin in isolierter Form pro Tag aufgenommen werden (BgVV 2000). Auf dieser Basis kann die Nachfrage nach Karottensaft als natürlicher β -Carotin-Quelle steigen. Ziel der durchgeführten Untersuchungen war die Transferrate sekundärer Pflanzenstoffe (β -Carotin) in die Saftphase zu erhöhen. Für die Verarbeitung von Karotten zu Saft werden große, äußerlich glatte, aromatische Karotten mit gutem Ertrag, geringer Neigung zum Bittergeschmack, hohen Gehalten an Carotinoiden und löslicher Trockensubstanz, wenig Nitrat und guten Saftausbeuten gesucht. Zu diesem Zweck wurden zunächst Sorten auf den Gehalt an sekundären Pflanzenstoffe geprüft.

In einem zweiten Schritt wurde die Verarbeitung modifiziert, um durch einen verstärkten Zellaufschluss die Ausbeute an SPS zu steigern. In den Versuchen wurde ein in-line Homogenisator (SUPRATON®) zur Feinstvermahlung der Karottenmaische eingesetzt. Die SUPRATON® besteht aus einem mehrstufigen Rotor-Stator-System aus konzentrischen Werkzeugringen, die radial geschlitzt oder gebohrt sind. Während des Betriebs greifen die Werkzeugringe von Rotor und Stator koaxial ineinander und laufen mit hoher Relativgeschwindigkeit (bis 50 m/s) berührungslos aneinander vorbei. Das Produkt erfährt beim Durchgang Scherung an Kanten und im Ringspalt und hochfrequente Geschwindigkeits- und Druckwechsel. Typische Anwendung in der chemischen Industrie und Pharmazie sind Dispergieren, Homogenisieren, Aufschließen und Lösen.

Material Methoden

Probengewinnung

22 Karottensorten wurden im Fachgebiet Gemüsebau der FA Geisenheim unter gleichen Bedingungen im Freiland angebaut. Zur Erfassung der Sorteneigenschaften erfolgte zunächst eine Entsaftung im Labormaßstab auf einem haushaltsüblichen Zentrifugalensafter (Fa. Braun).

Für die Versuche zur Feinstvermahlung der Karottenmaische mittels SUPRATON® wurden 6 Karottensorten im halbtechnischen Maßstab mit jeweils 150 kg Karotten pro Charge verarbeitet. Die Versuche wurden zunächst so aufgebaut, dass eine Standardvariante gegen eine SUPRATON®-Variante (SUPRATON® Typ S 200.4.3.5 der Fa. BWS) untersucht wurde. Das Standardverfahren bestand aus Waschen, Heißwasser-Blanchieren, einstufige Vermahlung über eine Hammermühle (Bellmer BAC) oder Schleuderfräse (Typ KM 201 Fa. Kleemann), Maischeerhitzung über Röhrenwärmetauscher (spiralflow), Entsaftung über Dekanter (Flottweg Z23) und Einlagern der Säfte bei 121°C (Sigmatherm Schmidt Bretten). Bei den Zellaufschluss-Varianten wurde zwischen Maischeerhitzung und Dekanter die der in-line Homogenisator zur Feinstvermahlung eingesetzt. Der Verfahrensablauf ist in Abbildung 1 schematisch dargestellt.

Anhand einer Sorte wurde dieses Verfahren im Produktionsmaßstab mit 800 kg Karotten pro Charge ebenfalls gegen das Standardverfahren geprüft. Als Ergänzung zur reinen Saftgewinnung wurde die SUPRATON® zur Nachextraktion der Trester aus der Variante ohne Feinstvermahlung eingesetzt. Dazu wurde der Trester im Verhältnis 1:1 mit Wasser versetzt und zunächst mit einem Pektinase-Cellulase Gemisch (200 ppm Rohament CI und 200 ppm Rohapect AP1 der Firma AB Enzymes, Darmstadt) über 2 h enzymiert. Nach der Enzymierung wurden drei Verfahrensweisen untersucht:

- Entsaftung über Dekanter und Einlagerung.
- SUPRATON®-Behandlung, Entsaftung über Dekanter und Einlagerung.
- SUPRATON®-Behandlung, dabei kontinuierliche Zugabe von 1 % Keimöl, Entsaftung über Dekanter und Einlagerung.

Die primär gewonnenen Säfte wurden als A-Säfte und die Tresterextrakte als B-Säfte bezeichnet. Die Bestimmung der Saftausbeute erfolgte gravimetrisch durch Wiegen der Karotten und des erhaltenen Saftes, die Angabe ist prozentual. Zur Charakterisierung der Säfte wurden nachfolgende Analysen durchgeführt.

Analytik

Der Gehalt an löslicher Trockensubstanz wurde refraktometrisch bestimmt und in °Brix angegeben. Die Farbe der Säfte wurde mittels CIELAB-System (L*, a*, b*) beschrieben. Die Analytik erfolgte unter Verwendung von Normlicht D 65 und einem Minolta CR-300-System. Der Nitratgehalt der Säfte wurde nach Reduktion zum Nitrit kolorimetrisch als Diazoverbindung (IFU-48 1976) bestimmt.

Die Bestimmung des Gesamtcarotinoidgehalts erfolgte nach Extraktion mit Aceton/Hexan (50:50, v/v) und Abtrennung der acetonhaltigen Phase photometrisch in Hexan bei 450 nm. Die Quantifizierung wurde unter Verwendung des spezifischen Extinktionskoeffizienten als β -Carotin vorgenommen (IFU-59 1991).

HPLC des Carotinoidegemisches: Nach Extraktion mit Aceton/Hexan (s. Bestimmung des Gesamtcarotinoidgehalts) wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und die Carotinoide in Fließmittel aufgenommen. Die Carotinoide und ihre Isomeren werden über HPLC/DAD (Merck-Hitachi) an einer YMC C30 RP-Phase mit einer Partikelgröße von $5\mu\text{m}$ ($4,6 \times 250\text{mm}$) (YMC, Wilmington, USA) nach der Methode von Marx et al. (2000) getrennt. Fließmittel A besteht aus Methanol:tert-Butylmethylether (MTBE):Wasser (81:15:4, v:v) und Fließmittel B aus MTBE:Methanol:Wasser (90:6:4). Die Trennung erfolgt mit einem linearen Gradienten von 100 % A zu 56 % B innerhalb von 50 min bei einem Fluss von 1 ml/min. Die Quantifizierung erfolgt über eine externe Kalibrierung als β -Carotin.

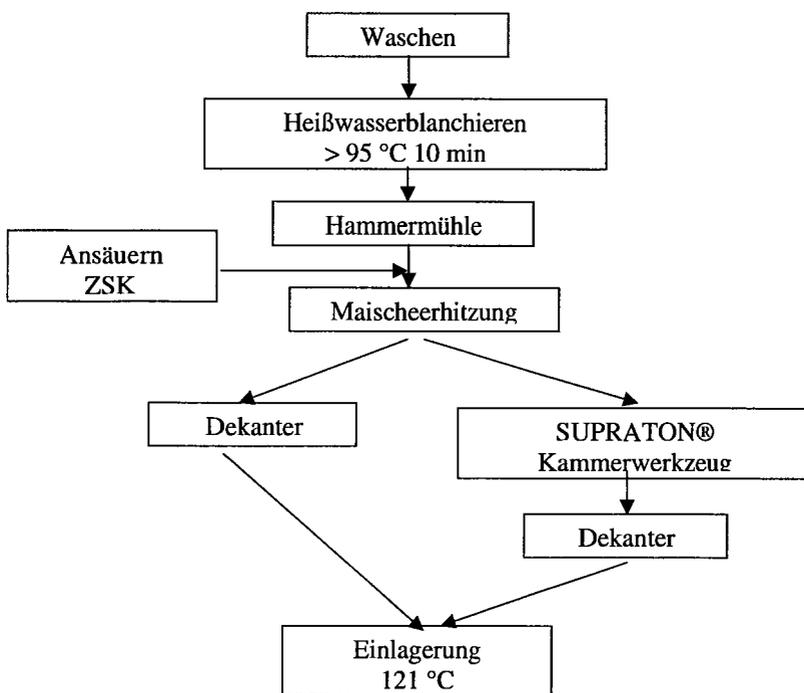


Abb. 1: Verfahrensschema zur Herstellung von Karottensaft mit und ohne SUPRATON®-Einsatz

Ergebnisse

Einfluss der Sorte auf innere Parameter von Karottensäften

In Tabelle 1 sind die Mittelwerte sowie Minimum und Maximum der untersuchten Laborsäfte von 22 Karottensorten zusammengefasst. Die °Brix-Werte lagen zwischen 7,90 und 13,70 und betragen im Mittel 9,96°Bx. Der mittlere Gesamtcarotinoidgehalt betrug 142,1 mg/L mit einem Minimalwert von 67,4 und einem Maximalwert von 237,0 mg/L. Die Unterschiede im Carotinoidgehalt wurden in den farbmetrischen Daten wiedergespiegelt. Deutliche Differenzen wurden besonders in den Rot- (a* min 16,8 bis max 23,9) und Gelbanteilen (b* min 25,9 bis max 36,2) gefunden. Der Nitratgehalt war mit 31,4 mg/L im Durchschnitt relativ niedrig.

Tabelle 1: Einfluss der Sorte auf innere Parameter von Karottensäften

n=22	°Brix	Carotinoide mg/L	L*	a*	b*	Nitrat mg/L
Mittelwert	9,96	142,1	44,5	20,7	31,7	31,4
min	7,90	67,4	40,6	16,8	25,9	2,0
max	13,70	237,0	47,1	23,9	36,2	106,0

Die lösliche Trockenmasse und der Gesamtcarotinoidgehalt sind für alle untersuchten Sorten in Abbildung 2 dargestellt. Da es sich um Ergebnisse aus einjährigen Untersuchungen handelt, wird auf eine Nennung der Sortennamen zum jetzigen Zeitpunkt verzichtet. Von besonderem Interesse für weitere Untersuchungen sind Sorten mit Carotinoidwerten über 150 mg/L und einem Gehalt an löslicher Trockenmasse von über 9°Bx.

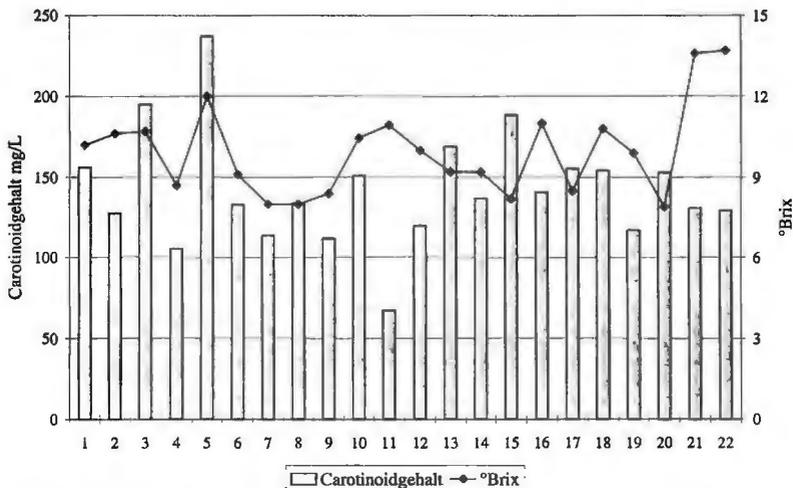


Abb. 2: Einfluss der Sorte auf den Gehalt an Carotinoiden und löslicher Trockenmasse

**Einfluss der Verarbeitung auf innere Parameter von Karottensäften
Versuche im halbtechnischen Maßstab**

Für die Versuche im 150 kg Maßstab wurden die Sorten JW 5355 F1, Jupiter, Bejo 1909 F1, Kazan F1, Rotin und Karotan eingesetzt. Die Vorzerkleinerung erfolgte bei Jupiter, JW5355 F1, Bejo 1909 F1 und Kazan F1 mittels Hammermühle, die Sorten Karotan und Rotin wurden über eine Schleuderfräse vorzerkleinert.

Die Mittelwerte der untersuchten Parameter sind in Abbildung 3 graphisch dargestellt. Die zweistufige Vermahlung mit Einsatz des in-line Homogenisators ergab eine Erhöhung der Saftausbeute von durchschnittlich 45,3 % auf 76,5 %. Der weitere Vergleich des Standard- und des SUPRATON® Verfahrens ergab im Mittel nur geringe Unterschiede beim Extrakt- und Nitratgehalt. Die mittels Standardverfahren hergestellten Säfte zeigten einen mittleren Extrakt von 8,7 °Bx sowie einen Nitratgehalt von durchschnittlich 69,8 mg/L. Bei den SUPRATON®-Varianten wurde entsprechend 8,6°Bx und 61,5 mg/L Nitrat als Mittelwert bestimmt. Deutliche Unterschiede zwischen den Varianten traten sich im Carotinoidgehalt auf. Dieser betrug in den Standardvarianten im Mittel 80,2 mg/L und in den SUPRATON® Varianten 103,5 mg/L.

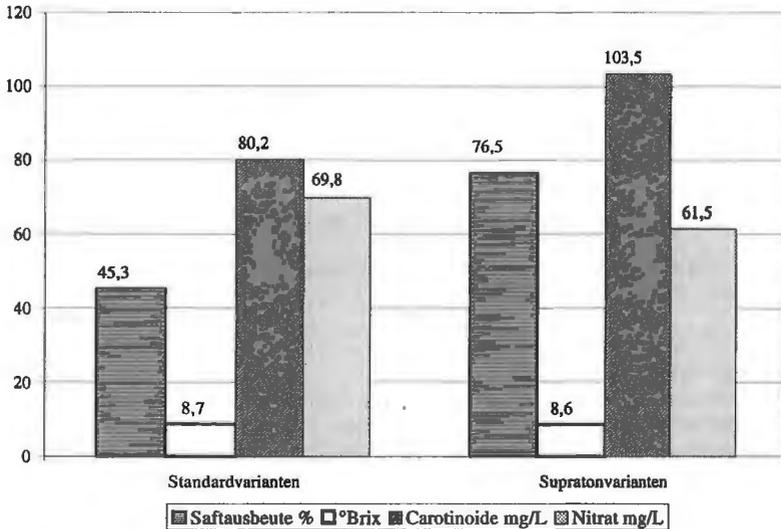


Abb. 3: Einfluss der SUPRATON® Behandlung auf die Saftausbeute und auf die Zusammensetzung von Karottensäften. Mittelwerte aus der Verarbeitung von 6 Karottensorten mit 150 kg je Variante

Über HPLC an einer C30-Phase wurden die Carotinoide der verschiedenen Varianten bestimmt und als β -Carotin quantifiziert. Eine prozentuale Verteilung der Carotinoide in Abhängigkeit von Sorte und technologischer Variation ist in Abbildung 4 dargestellt. Deutliche Unterschiede zwischen den Standard- und den SUPRATON®-Säften waren nicht feststellbar. Bezüglich des Verhältnisses α - zu β -Carotin ist ein Sorteneinfluss zu beobachten. Der β -Carotinanteil schwankte zwischen 49 % in der Sorte Jupiter und 58 % in der Sorte Rotin. Der α -Carotinanteil lag zwischen 37 % bei der Sorte Rotin und 44 % in den Sorten Bejo 1909 F1 und Jupiter. Die höchsten Luteingehalte wurden mit 3,9 % bzw. 5,8 % in den

Sorten JW 5355 F1 und Jupiter ermittelt, während in den Säften der Sorte Bejo 1909 F1 kein Lutein nachgewiesen werden konnte. Unter den cis-Isomeren des β -Carotins wurden insbesondere die 9- und die 13-cis-Verbindungen in den Säften der Sorten Karotan, Kazan und Rotin und zwar sowohl in den Standard- als auch in den SUPRATON®-Varianten detektiert.

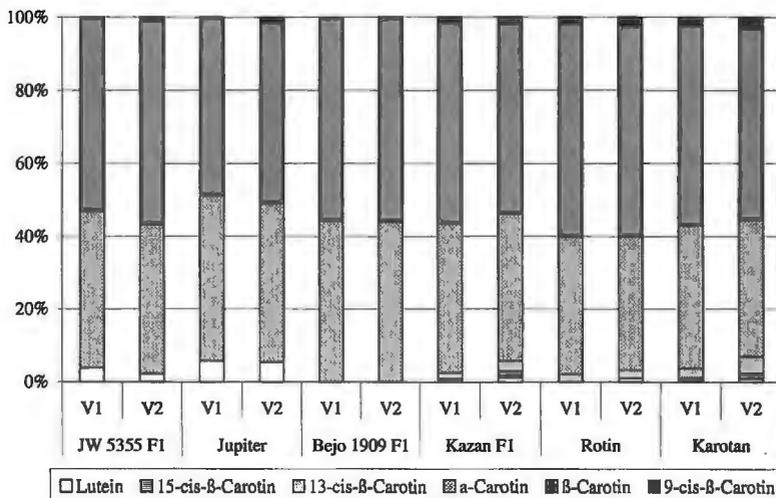


Abb.4: Einfluss von Sorte und SUPRATON®-Behandlung auf das Carotinoidprofil (V1 ohne, V2 mit SUPRATON®)

Versuche im technischen Maßstab

Der verfahrenstechnische Versuchsaufbau für die Verarbeitung von 800 kg Karotten je Variante wurde aus den Versuchen im halbertechnischen Maßstab mit 150 kg übernommen. Die Maische wurde mittels Hammermühle hergestellt. Die durch die Feinstvermahlung veränderte Struktur der Maische bzw. des zurückbleibenden Tresters ist bereits optisch deutlich zu erkennen. In Abbildung 5 sind Scanneraufnahmen von jeweils 200 mg Trester auf 20 ml Wasser in einer Petrischale von 10 cm Durchmesser zu sehen. Die Partikel des SUPRATON®-Tresters sind deutlich kleiner bei einer gleichmäßigeren Größenverteilung als die nach einstufiger Vermahlung mittels Hammermühle.

Die durch den Zellaufschluss mittels SUPRATON® erzielte Steigerung von Saft- und Carotinoideausbeute wurde bei der Herstellung der Tresterextrakte (B-Säfte) bestätigt. Durch feinste Verteilung einer Fettphase sollten in der dritten Variante der Tresterextraktion die Lösungsbedingungen für Carinoide weiter verbessert werden. Der Versuch der Einarbeitung und Verteilung von flüssigen Medien (Keimöl) war verfahrenstechnisch mit keinerlei Problemen verbunden.



Abb. 5: Scanneraufnahmen von Karottentrester ohne (links) und mit (rechts) SUPRATON® Behandlung

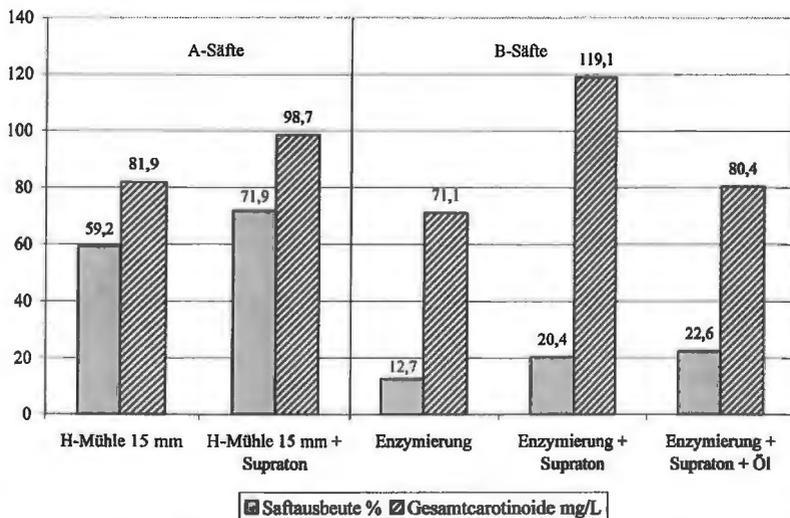


Abb. 6: Einfluss der SUPRATON®-Behandlung auf die Saftausbeute und den Carotinoidgehalt. Die Werte wurden auf eine Saftstärke von 8 °Bx korrigiert.

Zur besseren Vergleichbarkeit wurden die Ausbeuten für die A- und B-Säfte (Tresterextrakte) auf eine Stärke von 8°Bx berechnet. Der Zellaufschluss der Karottenmaische durch die SUPRATON® ergab für die A-Säfte eine Steigerung der Ausbeute von 59,2 % auf 71,9 % und für die B-Säfte von 12,7 % auf 20,4 % bzw. 22,6 % bei der Ölvariante (siehe Abbildung 6). Der Gehalt an Carotinoiden wurde durch die SUPRATON®-Behandlung von 81,9 mg/L

auf 98,7 mg/L gesteigert, was ohne Einbeziehung der gesteigerten Saftausbeute eine Erhöhung um 20 % bedeutet.

Die erhaltenen Tresterextrakte unterschieden sich bereits visuell erkennbar in der Farbe. Der nur mittels Enzymierung gewonnene Tresterextrakt erschien relativ hell von orange-roter Farbe. Der nach SUPRATON®-Behandlung erhalten Extrakt war deutlich intensiver in der Farbe und ebenfalls orange-rot. Die Öl-SUPRATON®-Variante zeigte auch eine intensive Färbung, die aber stärker orange-gelb ausgeprägt war. Diese Feststellung spiegelte sich in den entsprechenden L*,a*,b*-Werten wieder. Der nur enzymierte B-Saft wies in den drei Farbkomponenten mit L* =38,63, a*=11,44 und b*=19,28 die geringsten Werte auf. Bei den SUPRATON®-Varianten stiegen besonders die Rot- und Gelbanteile (a* und b*). Im direkten Vergleich der SUPRATON®-Extrakte wies die Variante ohne Öl (L* = 42,14, a* = 19,17 und b* = 26,24) höhere Rot-Anteile auf, während die Variante mit Öl (L*=45,88, a*=16,09 und b*=36,18) einen stärkeren Anstieg der Gelb-Anteile zeigte.

Die Feinstvermahlung bewirkte einen deutlichen Anstieg der Carotinoidgehalte in den Tresterextrakten. In der Standardvariante ohne SUPRATON® betrug der Gesamtcarotinoidgehalt 71,1 mg/L, in der SUPRATON®-Variante ohne Öl 119,1 mg/L und mit Öleintrag 80,4 mg/L. Die erhoffte Steigerung der Carotinoidausbeute durch den Eintrag einer Fettphase konnte in diesem Versuch nicht erzielt werden, was vermutlich auf die geringe Reaktionszeit zurückzuführen ist.

Das mittels HPLC erstellte Carotinoidprofil der zwei A- und der drei B-Säfte zeigte nur geringe Unterschiede. Der β -Carotinanteil an der Summe der Carotinoide schwankte zwischen 66,7 % und 68,9 %, der α -Carotinanteil lag zwischen 28,7 % und 29,7 %. Während in dem nur enzymierten Tresterextrakt kein Lutein detektiert werden konnte, betrug der Anteil in den übrigen Varianten bis 1,9 %. Der Anteil an cis-Isomeren lag in dem A-Saft ohne SUPRATON®-Behandlung bei 1,6 %, wobei das 13-cis- β -Carotin das Hauptisomer war. In dem A-Saft mit SUPRATON®-Behandlung konnten 2,9 % cis-Isomere ermittelt werden mit überwiegend 15-cis- β -Carotin (2,0%). In den Tresterextrakten wurde nur die 13-cis-Verbindung detektiert mit einem Anteil bis 2,2 %. In der Extraktionsvariante mit Öl-Eintrag konnten keine cis-Isomeren nachgewiesen werden.

Schlussfolgerungen

Die analytische Zusammensetzung von Karotten ist durch die Sorte geprägt. Der Carotinoidgehalt von Karotten liegt mit 50-300 mg/kg Frischmasse an der Spitze aller Gemüsearten, als Mittelwert werden 150-200 mg/kg angegeben (Krug 1991). Spezifikationen für Karottensäfte sehen Carotinoidgehalte von 70-100 mg/L bei einem Extrakt von 8-9°Bx und einem Nitratgehalt von möglichst unter 200 mg/L vor. (Handschuh 1994). In Handelssäften liegt der Extrakt im Mittel zwischen 10-11°Brix, wobei häufig eine Süßung mit Honig erfolgt (Patz et al. 2001). Durch Kombination von Sorten mit hohen Carotinoidgehalten und entsprechenden Brix-Werten sowie einer optimierten Verfahrenstechnik lässt sich die Konzentration an sekundären Pflanzenstoffen in Karottensäften deutlich steigern, wie die Ergebnisse der vorgestellten Untersuchungen gezeigt haben. Dabei wurde erstmalig ein in-line Homogenisator erfolgreich eingesetzt.

Die Carotinoidfraktion der Karottensäfte erwies sich als relativ stabil. Durch die während der Safftherstellung einwirkende Wärme wurden nur geringe Mengen an cis-Isomeren des β -Carotins gebildet, wobei das 13-cis- β -Carotin überwog. Dies deckt sich mit Untersuchungen von Chen et al. (1995). Die gute Stabilität des β -Carotins in Karottensäften im Vergleich zu meist synthetischem β -Carotin in ACE-Getränken wurde auch von Marx et al. (2000) gefunden.

In weiteren Untersuchungen werden sensorische Eigenschaften sowie der Übergang anderer sekundärer Pflanzenstoffe (Polyphenole) in die Saftphase verfolgt. Aus technologischer Sicht ist eine Gegenüberstellung mit anderen Einrichtungen zur Feinstvermahlung (Zahnkollidmühle) geplant.

Danksagung

Für die finanzielle Unterstützung der Arbeiten bedanken wir uns bei:

- der Fachhochschule Wiesbaden für die Mittel zur Beschaffung der SUPRATON®
- den Züchtern für die Bereitstellung von Saatgut
- der Firma Aureli (Italien) für die Lieferung von 2t Karotten

Literatur

- BgVV (2000): Stellungnahme des Bundesinstituts für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin zur Einschätzung von β -Carotin durch den Wissenschaftlichen Lebensmittelausschuss (SCF) der Europäischen Union. [Hhttp://mail.bgvv.de/fbs/fb1/lebensmittel/beta_carotin.pdf](http://mail.bgvv.de/fbs/fb1/lebensmittel/beta_carotin.pdf)
- Chen, B.H., Peng, H.Y., Chen, H.E. (1995): Changes of Carotenoids, Color, and Vitamin A Contents during Processing of Carrot Juice. *J. Agric. Food Chem.* **43**, 1912-1918
- Gerster, H. (1993): Anticarcinogenic effect of common carotenoids. *Intern. Vitamin and Nutrit. Res.* **63**, 93-121
- Handschuh, B. (1994): Karottenverarbeitung zu Saft und Püree. *Flüss. Obst* **61**, 323-325
- IFU-48 (1976): Bestimmung von Nitrat und Nitrit. *Internationale Fruchtsaftunion, Analysen. Schweizer Obstverband, Zug, CH*
- IFU-59 (1991): Bestimmung der Gesamtcarotinoide sowie einzelner Carotinoide-Fractionen. *Internationale Fruchtsaft Union, Analysen. Schweizer Obstverband, Zug, CH*
- Krug, H. (1991): *Gemüseproduktion*, Verlag Paul Parey, S. 328
- Marx, M., Schieber, A., Carle, R. (2000): Quantitative determination of carotene stereoisomers in carrot juices and vitamin supplemented (ATBC) drinks. *Food Chemistry* **70**, 403-408
- Patz, C.D., Dietrich, H., Schöpplein, E., Will, F., Rheinberger, A., Giehl, A., Kürbel, P. 2001: DLG-Qualitätsprüfung für Fruchtgetränke 2001. *Flüss. Obst* **68**, 700-707
- Stähelin, H.B., Gey, K.F., Eichholzer, M.. (1991): Plasma antioxidant vitamins and subsequent cancer mortality in the 12-year follow-up of the prospective Basel study. *American J. of Epidemiology* **133**, 766-775
- Ziegler, R.G. (1989): A review of epidemiologic evidence that carotenoids reduce the risk of cancer. *J. Nutrition* **119**, 116-122



Geschmacksverbesserung als Ziel in der Pflanzenzüchtung

E. Hoberg und D. Ulrich

Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenanalytik

Taste improvement as an aim in plant breeding

Abstract: *Vegetable and fruit should become a favourite food component of the population for it is essential to healthy nutrition. This aim will only be reached if the consumer can be sure that the plant products have a high quality level, especially a high sensory quality. Therefore the chain from quality research in the stage of breeding up to quality monitoring has to be equipped with effective verifying analytical methods. The expense for development depends on the actual knowledge as well as on the quality determining compounds, the concrete matrix and the natural conditions for expression of the quality characters. Two examples (cucumber and asparagus) are used to explain the dissimilitude of the quality problems and in connection with these the different ways and efforts to establish the quality control.*

Corresponding author: Dr. E. Hoberg, BAZ, Institut für Pflanzenanalytik, Neuer Weg 22/23, Deutschland - 06484 Quedlinburg, Email: e.hoberg@bafz.de

1. Einführung

In Abhängigkeit von den gesellschaftlichen Bedürfnissen und Lebensformen wandeln sich die Anforderungen an die Pflanzenzüchtung, die Schwerpunkte verlagern sich. Nach mengenmäßiger Sättigung traten in der Vergangenheit zunehmend die Verbesserung des Verarbeitungswertes, der Transportfähigkeit sowie des Aussehens, später dann der Resistenz gegen biotische und abiotische Schaderreger in den Vordergrund. Ein neues Niveau wird zur Zeit bei der Verbesserung des Gesundheits- und des Genusswertes angestrebt. Während diese Qualitätsmerkmale der pflanzlichen Rohstoffe lange Zeit eine eher geringere Beachtung erfuhren, weiß man inzwischen, dass pflanzliche Inhaltsstoffe mit hohem Genuss- und Gesundheitswert zum Wohlbefinden und damit zur Gesundheit beitragen (POSSEMEYER, 2001).

Aufgrund dieser Erkenntnisse und der gestiegenen Verbraucherforderungen wird nunmehr in immer stärkerem Maße der Notwendigkeit zur Verbesserung nach der inneren Qualität Nachdruck verliehen.

Die Parameter Ertrag, Konsistenz, Textur, Farbe wurden während der letzten fünf Jahrzehnte bei zahlreichen Obst- und Gemüsearten durch Züchtung verbessert. Bei Kulturen mit einem breit gefächerten Sortenspektrum, wie Apfel und Kartoffel, die immer intensiv mit Geschmacksprüfungen begleitet wurden, ist auch die sensorische Qualität in der Regel zufriedenstellend. Ähnlich ist es beim Wein, der vorrangig für den Genuss erzeugt wird. Das

Auftauchen des Erdbeertons nach Einkreuzen resistenter amerikanischer Stämme, ist in Deutschland unerwünscht. Mit Hilfe der Aromaanalytik konnten die Ursachen dafür ermittelt und eliminiert werden (RAPP, 1992). Es gibt aber auch Beispiele dafür, dass während dieser Zeit die sensorische Qualität gesunken ist. Bei einigen Kulturen wie Erdbeeren (ULRICH, D. u. a. 2001), Tomate (KRUMBEIN, A. u. a. 1998), Melone (FALLIK, E. u. a. 2001), Radies (KRUMBEIN, A. u. a. 2001), aber auch Tulpen (SCHMAUS u. a. 1998) konnte dafür bereits der analytische Beweis angetreten werden.

Der Hauptgrund für diese Entwicklung, die als genetische Erosion (genetic drift) bezeichnet wird, war und ist das Fehlen von „sensorischen Standards“, aber auch der Mangel an praktikablen Analysemethoden für Aroma und Geschmack, die im Züchtungsprozess genauso wie das Messen und Wiegen eingesetzt werden können.

Tabelle 1: Zusammenhang zwischen Qualitätsursachen und analytischem Vorgehen für züchterische Zwecke

Qualitätsursache	Analytik	Züchtung	Beispiel
1 qualitatives Merkmal	Relativ einfach	ja/nein Auslese	Cucurbitacin (Bitterstoff in Gurke)
Mehrere positive Merkmale	Komplex, Reduktion auf Schlüsselkomponenten	Auslese auf optimale Merkmalskombination	Zucker, Säuren, Aroma in Obst, Gemüse, Wein; Bitterstoffe im Spargel
1 bzw. mehrere negative Merkmale	Komplex, Reduktion auf Off-flavour-Komponenten	Auslese auf Off-Flavour-Freiheit	Off-Flavour in Obst, Gemüse, Kartoffeln Wein; Bitterstoffe im Spargel
N Merkmale, negativ korreliert	Komplex, Reduktion auf Schlüsselkomponenten	Suche nach positiven Korrelationsbrechern	Geschmack und Haltbarkeit in Erdbeeren; Geruch und Blütenhaltbarkeit in Tulpen

Der zu betreibende Aufwand für die dringend erforderliche Entwicklung von Analysemethoden wird durch die bereits vorliegenden Erkenntnisse, aber auch durch die Qualitätsursachen und deren Zusammenhänge bestimmt. Hinzu kommt die Verschiedenartigkeit der Matrix, in welche die qualitätsbestimmenden Inhaltsstoffe eingebettet sind. Prinzipiell sind die in der Tabelle 1 angeführten Fälle zu berücksichtigen. Besonders komplizierte Verhältnisse herrschen immer dann, wenn ein quantitatives Merkmal zu erfassen ist. Als Beispiele werden Bitterstoffe in Gurken und die Bitterkeit im Spargel behandelt.

2. Bitterstoffe in Gurken

Die folgenden Faktoren spielen im Zusammenhang mit dem Geschmack der Gurke eine Rolle

- Bitterstoffe sind generell unerwünscht,
- Gurken werden in der Regel roh verzehrt,

- eine Inhaltsstoffgruppe, die Cucurbitacine, bedingen den bitteren Geschmack.

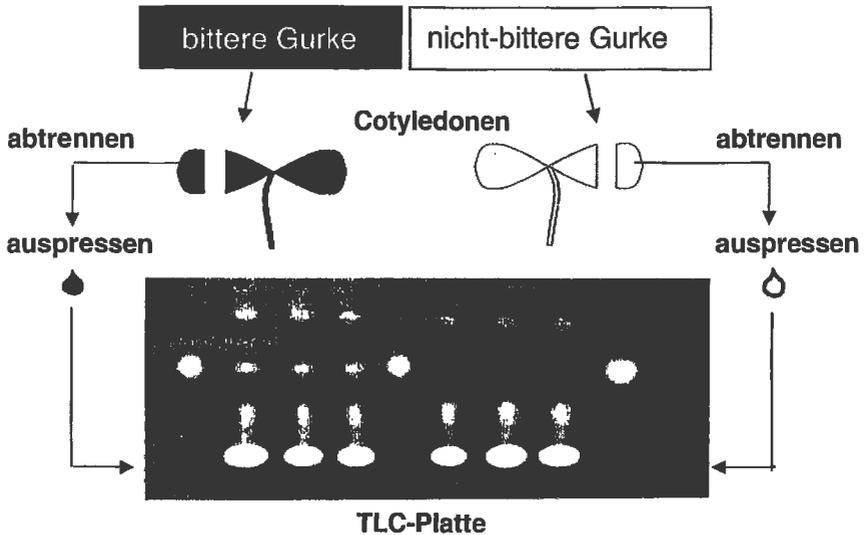


Abb. 1 Schnellmethode zur Bestimmung von Cucurbitacin C in halben Gurkenkeimblättern mittels Dünnschichtchromatografie (TLC) nach EUNERT et al. 1978. Mit Antimon-III-chlorid in Chloroform als Reagenz wird das Chromatogramm 5 min bei 100 °C entwickelt. Das Cucurbitacin ergibt einen bei 360 nm blauviolett fluoreszierenden Flecken.

Als Vorarbeiten konnte auf die bereits 1957 von ENSLIN u. a. (1957) durchgeführten Vorarbeiten zurückgegriffen werden, die aus *Cucurbitaceae* die den tetracyclischen Terpenen zuzuordnenden Bitterstoffe, die Cucurbitacine, isoliert und charakterisiert hatten. Das Cucurbitacin C ist in voll ausgebildeten Keimblättern sowie in den Gurken selbst die Hauptkomponente und der Gradmesser für Bitterkeit. Es wird durch ein rezessives Gen vererbt. Aus sensorischen Untersuchungen war bekannt, dass bittere Gurken bereits bittere Keimblätter haben. Aufbauend auf diesen Erkenntnissen gelang es EUNERT u. a. (1978) dann, einen dünnschichtchromatografischen Frühtest zu entwickeln, der darauf beruht, dass bereits im Keimblattstadium die Analyse durchgeführt wird (Abb. 1). Aus einem halben Keimblatt wird Saft ausgepresst, der auf einer Dünnschichtplatte chromatografiert wird. Eine Arbeitskraft kann 500 Proben pro Tag analysieren.

Die Vorteile dieser Methode liegen darin, dass die Selektion bereits im Keimblattstadium vorgenommen werden kann, die Gurken nicht mehr ausreifen und verkostet werden müssen. Die Methode ist kostengünstig, es kann eine große Anzahl pro Arbeitskraft und Arbeitstag analysiert werden. Die Richtigkeit der Analysenergebnisse ist gegeben. Damit existiert für die Bitterstoffbestimmung in Gurken eine Methode, die alle Kriterien erfüllt, die für züchterische Belange gestellt werden müssen (HOBERG u. a. 1997).

3. Bitterkeit im Spargel

Ganz anders war die Ausgangssituation beim Spargel. Für die Züchtung (GOTTWALD 1999; KALTER 2002) wurden die Ziele ihrer Bedeutung entsprechend in Übersichten zusammengestellt. Da der Spargel als Luxusgemüse einen hohen Genusswert erfüllen muss, folgen gleich nach dem Ertrag Qualitätseigenschaften, zunächst allerdings die äußeren Merkmale wie die Stangenqualität und die Färbung. Der „gute Geschmack“ wird nicht näher definiert oder als „angenehm mild“ bezeichnet.

So stand zu Beginn der Forschungsarbeiten bezüglich des Spargelgeschmacks eine Analyse der zu lösenden Probleme.

1. Es existierte kein Flavourprofil für einen geschmacklich sehr gut zu bewertenden Spargel. Es musste eine Definition erarbeitet werden, die auch analytisch umsetzbar war. Daher erfolgte die Ermittlung der für den Geschmack wesentlichen Parameter, die inzwischen publiziert wurden (HOBERG u. a. 1998; HOBERG u. a. 2001).
2. Ein generelles Problem bei Kulturen, die gekocht verzehrt werden, besteht darin, dass Flavourkomponenten durch die Zwischenstufe „Kochen“ entweder erst entstehen oder auch verschwinden. Durch das Kochen entstehen vor allem Aromakomponenten, die beim Verzehr mit den Geschmackskomponenten, insbesondere mit ‚süß‘ und ‚bitter‘ wechselwirken, wie an Modellversuchen gezeigt werden konnte (HOBERG u. a. 2001) Deshalb musste eine Methode für die Zubereitung der Proben zur Sensorik standardisiert und genutzt werden (ULRICH, D. u. a. 2001)
3. Weiterhin liegen geringe Kenntnisse über die geschmacks- bzw. aromarelevanten Inhaltsstoffe vor. Es wurde die Rangfolge Textur (Faserigkeit), Geschmack (Süße, Bitterkeit) und Aroma für die Bewertung der sensorischen Qualität erstellt (ULRICH u. a. 2001; 2002).
4. Es wurden instrumentell-analytische Methoden für die Aromaanalyse entwickelt. Dimethylsulfid ist die Aromaschlüsselkomponente. 36 Aromakomponenten wurden quantifiziert und als essentiell für das Spargelaroma erkannt. Der hohe Beitrag von stickstoffhaltigen Verbindungen, die zu den Pyrazinen gehören, zum Gesamtaroma konnte nachgewiesen werden.
5. Als Bitterstoffe im Spargel sind bislang Saponine (mit aufwendiger Analytik), beschrieben (HOSTETTMANN 1995), Flavonoide und Polyphenole kommen ebenfalls infrage. Zwar weiss man, dass der Spargel Saponine, die Asparagoside, enthält, die sich durch diverse Zuckerkomponenten unterscheiden und dadurch auch unterschiedliche Geschmackseigenschaften besitzen. Nach BOS (2000) ist das Glucosid zum Beispiel giftig. Asparosaponin II ist ein Bitterstoff, der im Bleichspargel gefunden wurde.
6. Bisher existieren noch keine analytischen Methoden, die routinemäßig zur Ermittlung dieser Inhaltsstoffe eingesetzt werden könnten, um nachfolgende Fragen umfassend zu klären
 - Sind die Spargelsorten in sich homogen, welche Stichprobengröße für die Untersuchungen ist erforderlich?
 - Welche Variabilität der sensorischen Qualität besteht in Abhängigkeit von der Sortenwahl, den Anbaubedingungen (z. B. Düngung, Folien), dem Klima, dem Erntezeitpunkt, dem Alter der Spargelanlage?
 - Wie wirken sich bestimmte Nacherntebehandlungen (z. B. Schockkühlung, Lagerzeit- und bedingungen, Verpackung) auf die sensorische Qualität aus?

Nach der Festlegung der Parameter für die sensorische Qualitätsbewertung wurde in den Jahren 1996 – 1998 ein gemeinsamer Versuch mit dem Bundessortenamt Hannover und der Forschungsanstalt Geisenheim durchgeführt, der aus den Prüffaktoren

Sorten (Thielim, Vulkan, Calet, Gijnlim, Huchels Auslese, Record, Horlim, Huchels Alpha), Prüforte (Ingelhof, Neuhof), Jahre (1996, 1997, 1998) und Ernten (2 im Abstand von 4 Wochen) bestand.

Die wichtigsten Ergebnisse sind in der Abb. 2 dargestellt. Die sensorisch ermittelten Parameter ‚Beliebtheit‘ und ‚Süße‘ korrelieren im Spargel wie auch bei einigen anderen Obst- und Gemüsearten. Es wurde der logarithmische Zusammenhang $y = 61,094 \ln(x) - 173,33$ mit $R^2 = 0,9006$ ermittelt. Das ist bemerkenswert, weil die Süße gar kein dominierendes Qualitätsmerkmal in dieser Kultur ist. Zwischen ‚Bitterkeit‘ und ‚Beliebtheit‘ besteht eine signifikante polynomiale Funktion 3. Ordnung mit $y = 1E - 4x^3 - 0,0175 x^2 + 0,6035x + 82,515$ ($R^2 = 0,747$). Das Interessante an diesem Ergebnis ist, dass die beliebtesten Sorten nur in einem bestimmten Bereich zu finden sind. Die nunmehr experimentell belegte Tatsache bedeutet, dass die Bitterkeit einerseits nicht fehlen, aber auch nicht zu hoch sein darf. Es liegt hier ein quantitatives Merkmal vor. Eine eindeutige Angabe für die optimale Bitterstoffmenge wird durch die Tatsache erschwert, dass durch die hohe Süße in den beliebtesten Sorten dieses Versuches, möglicherweise eine höhere Menge an Bitterstoffen im Spargel akzeptiert werden kann. Daher ergibt sich ein weiterer Forschungsbedarf, der zu einer eindeutigen Ermittlung des stofflichen wie auch des genetischen Hintergrundes für die ‚Bitterausprägung‘ führt.

Mit Hilfe der Varianzanalyse konnten in diesem Versuch auch signifikante Einflussfaktoren für die Bitterkeit, Süße und Beliebtheit ermittelt werden (HOBERG u. a. 1997). Ein Folgeversuch mit 3 Sorten (Huchels Alpha, Vulkan, Thielim), 3 Orten (Alt-Mölln, Moeringen, Quedlinburg) und 4 Ernten (Saisonbeginn, zweimal Saisonmitte, Saisonende) mit zwei

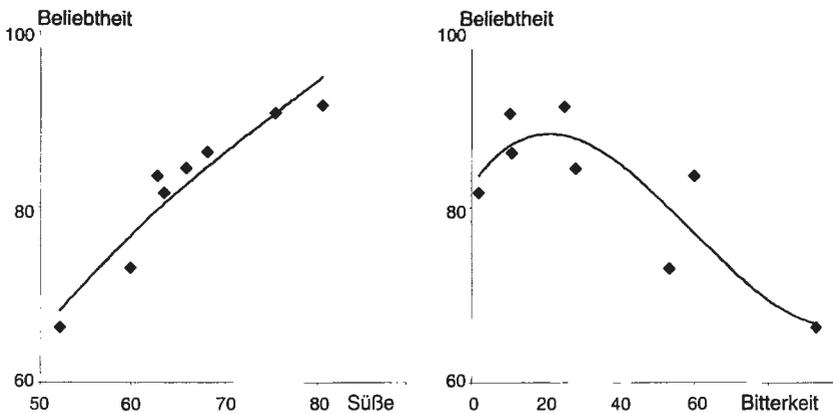


Abb. 2: Zusammenhang zwischen Süße, Bitterkeit und Beliebtheit bei Spargel, ermittelt an 8 Sorten aus normierten Mittelwerten (3 Jahre, 2 Orte, 2 Ernten, 2 Wiederholungen) human-sensorischer Bewertungen.

Tabelle 2: Charakterisierung der Versuchsorte anhand der natürlichen Boden- und langjährigen Witterungsbedingungen

Ort	Lage über NN (m)	Bodenart	AZ	Temperatur (°C)	Niederschlag (mm)
Alt-Mölln	29	lehmgiger Sand	24	8,1	600
Moeringen	36	anlehmiger Sand	45	9,2	520
Quedlinburg	140	Lehm	90 - 95	8,9	497

Wiederholungen wurde angeschlossen, um mit geschmacklich relativ ähnlichen Sorten die Einflüsse Anbauort, Erntezeitpunkt und Jahreseinfluss genauer abschätzen zu können. Die örtlichen Bedingungen sind in der Tabelle 2 angegeben. Die Böden und damit die Ackerzahlen AZ unterscheiden sich deutlich. Alt-Mölln hat im langjährigen Mittel die niedrigste Jahresdurchschnittstemperatur und die höchsten Niederschlagsmengen. Durch den Regenschatten des Harzes erhält Quedlinburg die geringsten Niederschlagsmengen.

Bislang wurde das Jahr 2001 varianzanalytisch (STATISTICA^(R), StatSoft, Inc, 2300 East 14th Street, Tulsa, OK 74104) ausgewertet. Der Sorteneinfluss konnte für alle dargestellten Parameter

bestätigt werden (Tabelle 3). Ebenfalls signifikant sind die Ortseinflüsse, die im früheren Versuch nur für die Süße nachgewiesen werden konnten. In diesem Jahr und an diesen Orten hatte der Erntezeitpunkt keine signifikante Auswirkung auf die Bitterkeit, Süße und Beliebtheit. Aber die Wechselwirkungseinflüsse (Sorte x Ort) und (Sorte x Ernte) sind signifikant. Die Quantifizierung und das Wissen um die Wirkung der Einflussfaktoren sind um so wichtiger für

korrekte Aussagen, wenn wie hier gezeigt, signifikante Wechselwirkungen bestehen. Daher verbieten sich voreilige Schlussfolgerungen auf der Grundlage einjähriger Ergebnisse.

Tabelle 3: Signifikanz ($p < 0,05$) der Einflussfaktoren im Jahr 2001 für die human-sensorischen Parameter Bitterkeit, Süße und Beliebtheit beim Spargel

Einflussfaktoren	Freiheitsgrad	Abhängige Variable		
		Bitterkeit	Süße	Beliebtheit
Sorte	2	signifikant	signifikant	signifikant
Ort	2	signifikant	signifikant	signifikant
Ernte	3	nicht signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant
Sorte x Ort	4	signifikant	nicht signifikant	signifikant
Sorte x Ernte	6	nicht signifikant	nicht signifikant	signifikant
Sorte x Ort x Ernte	12	nicht signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant

4. Schlussfolgerung

Aroma und Geschmack pflanzlicher Rohstoffe sind komplexe Merkmale, deren züchterische Veränderung ebenfalls als komplexer Vorgang zu sehen ist. In Abhängigkeit von der konkreten Kultur sind daher die Konzepte bei neuen Kulturen oder Fragestellungen langfristig anzusetzen. Die Kriterien für die Analysemethoden muss der Züchter in Abhängigkeit von der erforderlichen Einordnung der chemischen Untersuchungen in sein Selektionsschema festlegen. Die Genauigkeit wird durch die Selektionsgrenzen, die erwarteten Fehler 1. und 2. Art bestimmt. Die Erarbeitung und Erprobung der Analysemethoden hat durch den Analytiker zu erfolgen, wobei repräsentative Probenahme, die Inhaltsstoffmuster, -matrix und -variabilität zu berücksichtigen sind. Die Kooperation zwischen Analytikern und Züchtern ist gerade bei solchen Merkmalen wie der sensorischen Qualität dringend geboten bis hin zur Schaffung von Routinelabors, welche die Umsetzung der ausgearbeiteten Methoden in die Praxisanwendung realisieren.

Literatur

ENSLIN, P. R.; REHM, S.; RIVETT, D. E. A.: Bitter principle of the cucurbitaceae. VI. The isolation and characterization of six new crystalline bitter principles. J. Sci. Food Agric. 8 (1957) 673 – 678

EUNERT, S.; HÖFER, R.; SCHMIDT, R.; KAMPE, F.; FABIG, F.: Die Züchtung bitterstofffreier Gurken durch die Entwicklung einer Frühdiagnose_Methode auf Cucurbitacin C in den Keimblättern. Arch. Züchtungsforsch., 8 (1978) 319 - 323

FALLIK, E.; SHARON, A.-T.; HOREV, B.; COPEL, A.; RODOV, V.; AHARONI, Y.; ULRICH, D.; SCHULZ, H.: Characterisation of "Galia" melon aroma by GC and mass spectrometric sensor measurements after prolonged storage. Postharvest Biology and Technology 22 (2001) 85-91

GOTTWALD, J.; PETZOLD, E.: Spargelzüchtung in der Altmark. Spargel- und Erdbeerprofi 4 (1999) 18 - 22

HOBERG, E.; PANK, F.; ULRICH, D.: Qualitätsforschung und –analytik als Beitrag zur Züchtungsforschung und Züchtung an landwirtschaftlichen und gärtnerischen Kulturen. Aufgaben der Qualitätsforschung und –analytik in der Pflanzenzüchtung. Beiträge zur Züchtungsforschung - Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen 3 (1997) 1, 1 - 10

HOBERG, E.; ULRICH, D.; STANDHARDT, C.; KECKE, S.: Evaluation of asparagus flavour quality for breeding purposes (*Asparagus officinalis* L.). Proc. of the IX. Int. Asparagus Symp. 15. – 17. July 1997, 205 – 211, California asparagus seed and transplants, Inc. Davis, California USA

HOBERG, E.; ULRICH, D.; STANDHARDT, C.: Sensorische Qualitätsbestimmung bei Spargel (*Asparagus officinalis* L.). Proc. XXXIII Vortragsstagung der DGQ (Pflanzliche Nahrungsmittel) e.V., 23. – 24. März 1998, Dresden

HOBERG, E.; ULRICH, D.; HELD, C.: Sensory characterisation of asparagus breeding material by non-dominant odour sensations Proceedings of the 6th Wartburg Aroma Symposium, ed. M. Rothe, Eigenverlag Bergholz-Rehbrücke (2001) S. 137– 143

HOSTETTSMANN, K.; Marston, A.: Saponins (Chemistry and pharmacology of natural products). Cambridge University Press, 1995

KALTER, H.: Aktivitäten in der Spargelzüchtung. Vortrag 28. 2. 2002, Euro Asper, Köln/Mohnheim

KRUMBEIN, A.; AUERSWALD, H.: Characterization of aroma volatiles in tomatoes by sensory analysis. Nahrung / Food 42 (1998) 6, 395 – 399

KRUMBEIN, A.; WIDELL, S.; AUERSWALD, H.: Consumer acceptance of vegetables, descriptive sensory attributes and flavour compounds. Flavour improvement in fruit and vegetables through plant breeding. Proceedings of the 6th Wartburg Aroma Symposium, ed. M. Rothe, Eigenverlag Bergholz-Rehbrücke (2001) S. 285 – 296

POSSEMEYER, I.: Alles nur Geschmackssache. GEO (Wissen-Ernährung und Gesundheit) 28 (2001), 72 – 78.

RAPP, A.: Aromastoffe des Weins. Chemie in unserer Zeit 26 (1992) 6, 273 – 284

SCHMAUS, G.; MEIER, M.; GRAS, M.: Tulpen – Eine Symphonie von Form, Farbe und Duft. DRAGOCO-REPORT 4 (1998) S. 165 - 174

ULRICH, D.; HOBERG, E.: Flavour improvement in fruit and vegetables through plant breeding. Proceedings of the 6th Wartburg Aroma Symposium, ed. M. Rothe, Eigenverlag Bergholz-Rehbrücke (2001) S. 137 – 143

ULRICH, D.; HOBERG, E.; BITTNER, T.; ENGEWALD, W.; MEILCHEN, K.: Contribution of volatile compounds to the flavor of cooked asparagus. Eur. Food Res. Technol. 213, 2001, S. 200 - 204

ULRICH, D.; HOBERG, E.: Instrumentelle und sensorische Analyse der Aromastoffe von gekochtem Spargel (*Asparagus officinalis* L.) Proc. XXXVII. Vortragstagung der DGQ (Pflanzliche Nahrungsmittel) e.V., 4. – 5. März 2002, Hannover



Möglichkeiten und Nutzen von spektrometrischen Methoden in der qualitätsorientierten Züchtung bei Obst und Gemüse

Rolf Quilitzsch

Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenanalytik,
Neuer Weg 22/23, D-06484 Quedlinburg

Chance and advantage of spectrometric methods in quality breeding of fruit and vegetables

Abstract: If breeders in the selection of plants will focus on quality parameters they need support by a fast analytical or measuring technique. Near infrared (NIR) spectrometry in combination with multivariate regression, e.g. partial least squares (PLS), provides a fast and non-destructive method to predict chemical and physical properties in complex compositions like agricultural and food products. Today the mid infrared (MIR) spectrometry in combination with multivariate statistics also has the potential, to predict chemical properties of plant material faster than time consuming chromatographical analyses. This is made possible by the application of FT-IR spectrometer in combination with a diamond-ATR equipment. A report is given on numerous NIR-spectrometric measurements on carrots, tomatoes, apples and strawberries as well as MIR-spectrometric measurements on carrots and various cabbage species. Reference values of HPLC analyses and materials testing were used to generate individual chemometric models. These models are used to predict quality parameters of vegetables and fruit on the basis of the NIR and MIR spectra.

Einleitung

Züchtung auf Qualität ist immer nur ein Teilaspekt der Selektion von Kulturpflanzen mit dem Ziel der allgemeinen Gebrauchswertsteigerung. Dabei konzentriert sich der Züchter auf wenige oder meist nur einen Qualitätsparameter, bei dem eine genetisch vorhandene und züchterisch zugängliche Variation vorliegt. Der Züchter muß dabei Auswahlentscheidungen nach Parametern und Inhaltsstoffen treffen. Für objektive Entscheidungen ist die Unterstützung durch chemische Analysen oder physikalische Methoden unbedingt erforderlich. Dabei ist die Mess- und Analysentechnik für züchterische Zwecke nur akzeptabel, wenn ein hoher Probendurchsatz gewährleistet ist, die Anwendung möglichst ohne Probenvorbereitung sehr einfach ist und die Genauigkeit soweit ausreicht, dass Pflanzenkollektive bezüglich des Qualitätsparameters unterscheidbar sind. Hier haben spektrometrische Methoden einen Vorteil gegenüber den zeitaufwendigen chromatographischen Trennverfahren. Sie kommen mit minimaler Probenvorbereitung aus und können zum größten Teil auch zerstörungsfrei angewendet werden. Reflexionsmessungen an pflanzlichem Material sind heute im gesamten Spektralbereich von $0,4 \mu\text{m}$ (25000 cm^{-1}) bis $15,0 \mu\text{m}$ (666 cm^{-1}) gut zu handhaben, wobei dieser Bereich sich in VIS (sichtbare Strahlung von $0,4$ bis $0,8 \mu\text{m}$), NIR (Strahlung im nahen Infrarot von $0,8$ bis $2,5 \mu\text{m}$) und MIR (Strahlung im mittleren Infrarot von $2,5$ bis $25,0 \mu\text{m}$ entsprechend 4000 bis 400 cm^{-1}) gliedert. Die Bereichsangabe erfolgt im MIR ausschließlich

in Wellenzahlen. Die Abbildung 1 zeigt als Beispiel Messungen an einer frischen Möhre. Die Anwendung von Messungen im VIS-Bereich zielen sehr häufig auf eine farbmetrische

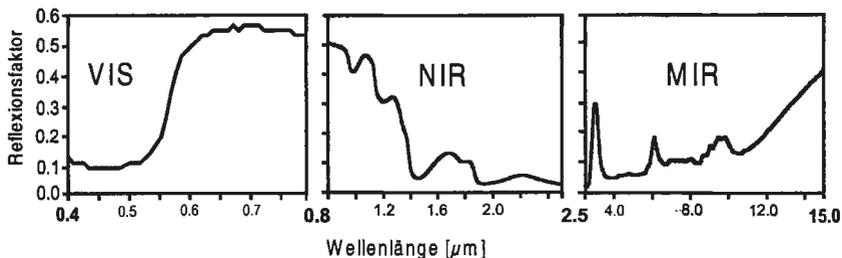


Abbildung 1: Reflexionsspektren von frischem Möhrengewebe in drei Wellenlängenbereichen

Beurteilung von Früchten oder Pflanzenteilen (Quilitzsch 1998, Shaw 1991). Eine besonders starke Zunahme verzeichneten in den vergangenen 10 Jahren die Anwendungen im NIR-Bereich. Dies hat seine Ursachen in der Entwicklung leistungsfähiger NIR-Spektrometer und chemometrischer Auswerteverfahren. Während in der Futtermittel- und Lebensmittelindustrie etablierte Meßverfahren existieren, liegen Beispiele für züchtungsrelevante NIR-spektrometrische Inhaltsstoffbestimmungen nur vereinzelt bei Getreide (Carver 1994), Stärkepflanzen (Berardo u.a. 2000) und Medizinalpflanzen (Schulz u.a. 2001, Schulz 2002, Pank u.a. 2001) vor. Weiterhin findet man Anwendungen der quantitativen NIR-Spektrometrie viel häufiger bei Obst (z.B. Moons u.a. 2000, Peiris u.a. 1998) als bei Gemüse (Tongming u.a. 2000), wobei keine Anwendung züchtungsorientiert ist.

Schnelle Probenpräparation und Messung im mittleren Infrarot (MIR) waren mittels ATR-Vorrichtungen (ATR: abgeschwächte Totalreflexion) lange Zeit nur mit flüssigen Proben möglich (Böcker 1997, Schulz u.a. 2001). Weil die Spektren im MIR bedeutend mehr Informationsgehalt als NIR-Spektren haben und für chemometrische Auswertungen ein höheres Bestimmtheitsmaß erwarten lassen, war es erstrebenswert, den MIR-Bereich auch für pflanzliche Proben (frisch, getrocknet und pulverisiert) zu erschließen. Dieses wurde durch Kombination von Diamant-ATR-Technik mit FT-IR-Spektrometern möglich. Mit einer Diamant-ATR-Vorrichtung können feste Proben mit hohem Druck auf den Diamantkristall gepresst werden, so dass die IR-Strahlung in der Grenzschicht des Kristalls mit der Probe wechselwirken kann.

Im folgenden wird über zahlreiche spektrometrische Messungen und deren chemometrischen Auswertungen an Erntegut von Obst und Gemüsekulturen im NIR- und MIR-Bereich berichtet. Dabei werden in der angegebenen Reihenfolge jeweils methodische Einzelheiten und Resultate für einen Spektralbereich besprochen. Betrachtet werden reflexions-spektrometrische Methoden bei den Kulturen Möhre, Tomate, Kohl, Apfel und Erdbeere. Es wird versucht, jede kulturartspezifische Anwendung bezüglich der Aussagekraft für Züchtungsarbeiten zu diskutieren. Die Möglichkeiten der Spektrometrie im VIS-Bereich zur farbmetrischen Charakterisierung des Erntegutes von Pflanzenpopulationen war schon an anderer Stelle diskutiert worden (Quilitzsch 1999).

Methodenentwicklung in der NIR-Spektrometrie von Obst und Gemüse

Es ist für das Verständnis der Methode hilfreich, ihre Charakteristika unabhängig von speziellen Anwendungsfällen an den Anfang zu stellen.

Die NIR-Spektrometrie

- stellt eine schnelle, indirekte (chemometrische) Methode dar, mit der Inhaltsstoffkonzentrationen bzw. äußere Parameter von Proben unbekannter Zusammensetzung und Eigenschaften über deren spektrale Daten bestimmt (vorhergesagt) werden können.
- realisiert die Vorhersagen mit vorher entwickelten Kalibrationen, die zu chemometrischen Modellen führen, mit denen die Korrelation zwischen den spektralen Daten und den Konzentrationen bzw. Parametern beschrieben wird.
- charakterisiert die jeweilige Vorhersage mit entsprechenden Leistungsparametern, d.h. durch Angabe von Bestimmtheitsmaßen und Vorhersagefehlern.
- wird als Messverfahren jeweils an bestimmte Proben angepasst und eine Übertragung auf anders geartete Proben bleibt in der Regel ausgeschlossen.

Einem guten chemometrischen Kalibriermodell geht immer eine doch recht aufwendige Methodenentwicklung voraus. Voraussetzungen für eine Methodenentwicklung sind: 1. ein geeignetes Spektrometer, 2. ein geeigneter Probensatz, 3. eine Referenzanalytik bzw. ein Referenzmessverfahren und 4. ein geeigneter Auswertalgorithmus.

Für die Registrierung von Nah-Infrarotspektren stehen heute, den jeweiligen Anforderungen entsprechend, zahlreiche Spektrometersysteme zur Verfügung, die teilweise auf unterschiedlichen Prinzipien aufbauen. Bei der hier beschriebenen Methodenentwicklung im NIR wurde ein Fourier-Transform-Spektrometer vom Typ EQUINOX 55 (Fa. Bruker, Karlsruhe, Deutschland) verwendet. Das universelle Spektrometer wurde für diesen Zweck mit seinen optischen Komponenten auf den NIR-Bereich eingestellt und benutzt dabei zur Probenbeleuchtung und Messung eine Lichtleitersonde, was für Messungen an Früchten die einzig mögliche Technik ist. Als Probensatz werden viele gleichartige Objekte (Kulturart) mit möglichst großer Variation des zu kalibrierenden Parameters bzw. Inhaltsstoffes benötigt. Um dies zu realisieren, muß man möglichst viele verschiedene Sorten einer Kulturart verwenden und durch Einbeziehung unterschiedlicher Reifestadien oder Lagerzeiten die Variation des interessierenden Inhaltsstoffes (Parameters) noch vergrößern. Die Referenzanalytik für die in Betracht genommenen Pflanzeninhaltsstoffe ist vorwiegend eine chromatographische Methode, in unserem Fall HPLC und HPTLC. Für einen äußeren Pflanzenparameter wie die Festigkeit wird das Referenzverfahren mit einer Materialprüfmaschine realisiert. Bevor das Auswertverfahren zum Einsatz kommt, ist der Ablauf z.B. für Äpfel folgender. An jeder einzelnen Frucht wird an mehreren Stellen (meist 3 bis 5) ein NIR-Reflexionspektrum gemessen. Für die Auswertung wird davon das Mittelwertspektrum verwendet. Die Frucht wird danach an einer Materialprüfmaschine mittels Druckprobe und Penetrometerprobe gemessen. Diese Werte, im Prinzip auch Mittelwerte von 2-3 Messpunkten an der Frucht, werden als Referenzwerte später dem Mittelwertspektrum der Frucht zugeordnet. Danach wird die Frucht zerkleinert und einer Probenvorbereitung für die Zuckeranalyse mittels HPLC zugeführt. Die hierbei gewonnenen Analysenwerte (Einzelzuckerkonzentrationen und deren Summe) werden später ebenfalls dem Mittelwertspektrum der Frucht zugeordnet. Erst ab etwa 60 Mittelwertspektren und dazugehörigen Referenzwerten ist die Durchführung einer chemometrischen Kalibrierung sinnvoll. NIR-Spektrometer sind heute schon vom Hersteller her mit einer bedienerfreundlichen Quantifizierungssoftware ausgestattet, z.B. ist OPUS/Quant 2 in der Spektrometersoftware des EQUINOX55 enthalten. Diese arbeitet mit einem Partial Least Squares Algorithmus (PLS), einer Methode der multivariaten linearen Regression (Henrion 1995). Bei multivariaten Kalibrationen fällt eine große Menge von Daten (zahlreiche Spektren mit hunderten von Datenpunkten) an. Um diese Daten zu verarbeiten, werden sie in Form von Matrizen abgelegt, wobei jede Reihe der Matrix einem

Spektrum entspricht. Die Konzentrations-/Parametermatrix beinhaltet die entsprechenden Konzentrations-/Parameterwerte. Die in den Spektren enthaltene Information wird mit Hilfe der PLS-Regression mit der Information der Konzentrations-/Parameterwerte verglichen. Dabei wird vorausgesetzt, daß die systematischen Veränderungen im Spektrum eine Folge von Konzentrations-/Parameteränderungen der Komponenten sind. Die Matrizen werden nach Informationsgehalt (Varianz) in Eigenvektoren zerlegt, die dann als Faktoren bezeichnet werden. Es müssen nicht alle der Faktoren verwendet werden, um die relevanten spektralen Informationen zu beschreiben. Einige dieser Faktoren beschreiben einfach das spektrale Rauschen der Messung. Nur die relevanten Faktoren werden dann anstelle der originalen spektralen Daten verwendet, was zu einer beträchtlichen Reduzierung der Datenmenge führt. Mit Hilfe des PLS-Algorithmus wird die beste Korrelation zwischen der Spektraldatenmatrix und der Konzentrations-/Parametermatrix gesucht. Diese ist dann das chemometrische Modell für die Vorhersage von Konzentrationen bzw. Parametern aus spektralen Daten. Das Modell muß aber noch getestet werden, um die Verlässlichkeit der Vorhersage zu bestimmen (Validierung). Es gibt zwei verschiedene Arten der Validierung: interne Validierung (Kreuzvalidierung) und externe Validierung (Test-Set-Validierung). Aus praktischen Gründen wird die Kreuzvalidierung häufiger angewandt. Bei der Kreuzvalidierung wird lediglich ein Probenatz für Kalibration und Validierung verwendet. Von der Gesamtheit der Proben wird eine Probe vor Beginn der Kalibration aus dem Satz entfernt. Diese Probe wird für die Validierung verwendet. Mit den restlichen Proben, dem Kalibrationsdatensatz, wird ein chemometrisches Modell erstellt. Anschließend wird die vorher entfernte Probe gegen dieses Modell getestet. Dieser Vorgang wird jedesmal mit einer anderen Probe wiederholt, bis alle Proben einmal zur Validierung verwendet worden sind. Die Software OPUS/Quant2 generiert diesen iterativen Vorgang automatisch, angefangen mit der ersten Probe, bis alle Proben einmal zur Validierung herangezogen worden sind. Mit jeder Validierung ist eine Ausreisserermittlung verbunden. Durch diese können für das Modell ungeeignete Proben erkannt und danach entfernt werden. Nach der Ausreisserentfernung wird die Modellrechnung mit dem kleineren Datensatz wiederholt. Die Güte der Vorhersage von Konzentrationen bzw. Parametern aus spektralen Daten mit dem entwickelten Modell wird durch folgende Größen charakterisiert: Bestimmtheitsmaß R^2 , mittlerer Vorhersagefehler der Kreuzvalidierung RMSECV (root mean square error of cross validation). Das Minimum des RMSECV gibt die optimale Zahl von Faktoren (Rang) des entwickelten Modells an. In den folgenden Abschnitten werden die Anwendungsmöglichkeiten von Vorhersagemodellen für Zucker, Säure, Festigkeit und Carotinoide diskutiert

NIR-spektrometrische Vorhersage von Zucker und Säure in Erdbeeren und Äpfeln

Bei der Züchtung an Obstkulturen spielt der Zuckergehalt sowie sein Verhältnis zum Säuregehalt für die Geschmacksausbildung eine übergeordnete Rolle. Die Selektion bezüglich dieser Kenngröße wurde bisher größtenteils durch sensorische Prüfungen unterstützt. HPLC-Analysen können wegen des erheblichen Zeit- und Arbeitsaufwandes nicht durchgängig züchtungsbegleitend eingesetzt werden. Die schnelle und zerstörungsfreie NIR-spektrometrische Vorhersage von Zucker und Säure hat das Potential, auch ständig züchtungsbegleitend eingesetzt werden zu können. Im folgenden soll dies mit Validierungsergebnissen an Erdbeeren und Äpfeln unterlegt werden. Der Probenatz bestand bei Erdbeeren aus Früchten von 12 Sorten mit verschiedenen Reifegraden. Der Reifegrad wurde nach der Fruchtausfärbung beurteilt. Eine Probe bestand aus 5 Beeren einer Sorte mit annähernd gleichem Reifegrad. Alle an den 5 Beeren gemessenen NIR-Spektren wurden zu einem Mittelwertspektrum zusammengefaßt. Die Mischprobe aus den Beeren wurde mittels HPLC mit RI-Detektion bezüglich Zucker analysiert. Die freie Gesamtsäure der Probe wurde titrimetrisch bestimmt. Die Validierungsrechnungen zeigten für die Ernte 1999 unzureichende Ergebnisse wegen Inhomogenitäten des Probenatzes bezüglich der Zuckergehalte. Deshalb

Tabelle 1: Kreuzvalidierungsergebnisse der NIR-spektrometrischen Bestimmung von Zucker und Säure bei Obstkulturen.

	Erdbeere(1999/2000) 157/110 Spektren			Apfel(2000) 122/100 Spektren		
	Bereich	R ²	RMSECV	Bereich	R ²	RMSECV
Saccharose	0,2-1,0%	0,73	0,09%	0,6-2,6%	0,84	0,14%
Glucose	0,8-1,6%	0,63	0,10%	0,4-1,6%	0,80	0,09%
Fructose	0,8-1,8%	0,79	0,09%	2,1-4,9%	0,81	0,24%
Ges.-Zucker	2,2-3,6%	0,77	0,12%	4,2-7,1%	0,82	0,23%
Ges.-Säure	1,0-2,1%	0,66	0,11%	0,2-1,4%	0,93	0,07%
Zucker/Säure	0,9-3,5	0,85	0,19	4,5-25,8	0,84	1,02

wurde ein Probensatz aus zwei Erntejahren gebildet, mit dem befriedigende Validierungsergebnisse erzielt wurden, wie in Tabelle 1 zu sehen ist. Dabei mußte aber die Ausreisserentfernung so intensiv durchgeführt werden, dass der endgültige Kalibrationsdatensatz nur noch aus 110 Proben bestand. Wenn man den Konzentrationsbereich von Zucker und Säure betrachtet, so ist klar, dass es sich um Minor Komponenten handelt. So ist es doch erstaunlich, dass einige Bestimmtheitsmaße für die NIR-spektrometrische Bestimmung fast den Wert 0,8 erreichen. Die Versuchsdurchführung bei Äpfeln war analog der bei Erdbeeren, nur dass hier die Variationsbreite der Konzentrationen durch unterschiedliche Lagerzeiten vergrößert wurde. Der Probensatz enthielt 8 Sorten. Eine Probe bestand aus 4 Äpfeln einer Sorte mit gleicher Lagerzeit. Die Validierungsergebnisse für Äpfel sind merklich besser als bei Erdbeeren und können für praktische Anwendungen als brauchbar eingestuft werden.

NIR-spektrometrische Vorhersage der Fruchtfestigkeit von Tomaten und Äpfeln

Beim Experimentieren mit den NIR-spektrometrischen Methoden stellte sich heraus, dass nicht nur Inhaltsstoffe sondern auch äußere Parameter von Früchten mit der Variation von NIR-Spektren korrelieren. Das bietet zum Beispiel die Möglichkeit, die Druck- und Schalenfestigkeit von Früchten zerstörungsfrei über spektrale Reflexionsmessungen vorherzusagen. Für die Erstellung von Kalibrierbeziehungen für Tomaten und Äpfel wurden pro Frucht 5 Reflexionsmessungen mit der Fasersonde durchgeführt. Das Mittelwertspektrum wurde den entsprechenden Referenzwerten zugeordnet. Die Referenzwerte wurden mit einer Materialprüfmaschine TIRAtest 27025 mit entsprechend empfindlichem Kraftsensor gemessen. An jeder Frucht wurden drei Druckproben und drei Penetrometerproben durchgeführt. Die jeweiligen Mittelwerte stellen die Referenzwerte für die Druckfestigkeit und die Schalenfestigkeit der Frucht dar. Nach den Festigkeitsmessungen erfolgte abschließend noch eine gravimetrische Trockenmassebestimmung für jede Frucht. Der Probensatz für Tomaten bestand aus 6 Sorten mit unterschiedlichen Reifegraden und mehreren Ernteterminen. Der Probensatz für Äpfel bestand aus 8 Sorten (siehe Zuckerbestimmung) mit verschiedenen Lagerzeiten. Die Berechnung einer Kalibration mit anschließender Kreuzvalidierung wird immer für jede Kenngröße separat durchgeführt und liefert einen Validierungsplot (Referenzwerte versus spektrometrisch vorhergesagte Werte). Abbildung 2 zeigt als Beispiel eines der Resultate bei Äpfeln (N-Anzahl der Proben). Die Zusammenfassung aller Ergebnisse aus zwei Versuchsjahren ist in Tabelle 2 dargestellt. Nach den erreichten Bestimmtheitsmaßen sind für alle äußeren Fruchtparameter gute Vorhersagen möglich mit Ausnahme des Trockenmassengehaltes von Tomaten.

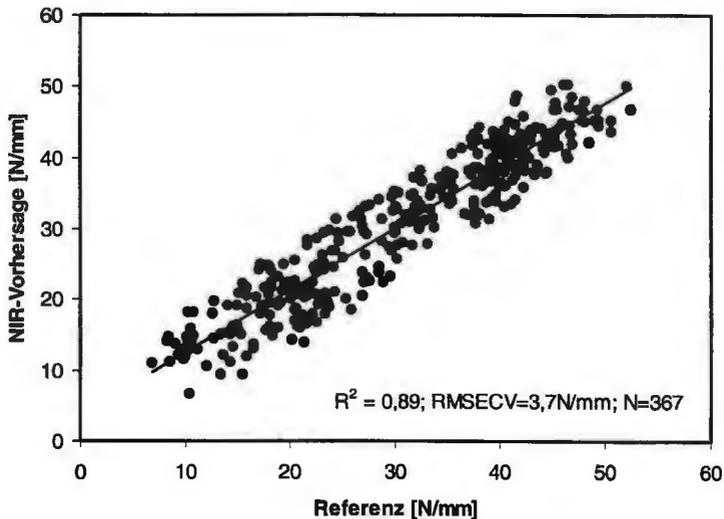


Abbildung 2: Kreuzvalidierungsplot für die Druckfestigkeit von Äpfeln (Ernte 2000)

Tabelle 2: Kreuzvalidierungsergebnisse der NIR-spektrometrischen Bestimmung von Festigkeiten und Trockenmassegehalt

Versuch	N	Druckfestigkeit: F/dl(D)			Schalenfestigkeit: F/dl(P)			Trockenmassegehalt		
		Bereich N/mm	R ²	RMSECV N/mm	Bereich N/mm	R ²	RMSECV N/mm	Bereich %	R ²	RMSECV %
Tomate	1999	2,2-16,3	0,84	1,18	0,4-6,0	0,81	0,46	4,4-7,0	0,60	0,36
	2000	2,5-23,5	0,85	2,00	1,0-10,0	0,80	1,05	3,7-6,8	0,57	0,45
Apfel	1999	5,2-53,7	0,87	3,85	3,2-19,0	0,92	1,10	11,9-22,1	0,94	0,45
	2000	6,8-52,5	0,89	3,7	5,0-24,7	0,86	1,67	10,8-23,3	0,95	0,51

Die Tabelle 2 demonstriert zusammen mit der Tabelle 1 einen bedeutenden Vorteil der NIR-Spektrometrie, nämlich die Möglichkeit der simultanen Bestimmung mehrerer Parameter oder auch Inhaltsstoffkonzentrationen mit einem Mittelwertspektrum pro Frucht. Im Beispiel der Äpfel hat man den günstigen Fall, daß mit einem Mittelwertspektrum pro Frucht insgesamt 9 Kenngrößen (Inhaltsstoffe und Festigkeiten) vorhergesagt werden können. Die Voraussetzungen sind natürlich die schon erarbeiteten Kalibriermodelle für alle Kenngrößen.

Dieser bedeutende Vorteil der quantitativen NIR-Spektrometrie sollte bei Züchtungsarbeiten von Nutzen sein, auch wenn der Anfangsaufwand relativ groß erscheint.

NIR-spektrometrische Vorhersage von Carotinoiden in Möhren

Da die gleichmäßige Ausfärbung des Wurzelkörpers von Möhren eindeutig auf eine homogene Verteilung wenigsten der Hauptcarotinoide α - und β -Carotin hinweist, sollten diese sich auch in der chemometrisch nachweisbaren Variation von NIR-Reflexionsspektren niederschlagen. Das konnte innerhalb von dreijährigen Versuchen durch stabile Validierungsergebnisse bestätigt werden (Tabelle 3). Es wurden generell Mittelwertspektren jeder

Tabelle 3: Kreuzvalidierungsergebnisse der NIR-spektrometrischen Bestimmung von α -, β - und Gesamtcarotin in Möhren

Versuch	N	α -Carotin			β -Carotin			Gesamt-Carotin		
		Bereich mg/100ml	R ²	RMSECV mg/100ml	Bereich mg/100ml	R ²	RMSECV mg/100ml	Bereich mg/100ml	R ²	RMSECV mg/100ml
1997	288	1,2-22,8	0,76	1,88	4,4-29,2	0,86	1,61	5,9-52,0	0,83	3,08
1998	627	2,5-25,3	0,80	1,69	2,3-45,4	0,72	3,48	9,3-72,7	0,76	5,46
1999	304	1,1-12,3	0,78	0,95	3,8-24,7	0,73	2,11	5,9-36,9	0,78	2,71

einzelnen Möhre (3 Meßpunkte längs verteilt) den HPLC-Analysenwerten an der gleichen Möhre zugeordnet. Am Versuch 1998 waren Exemplare von 28 Sorten beteiligt. Wenn man berücksichtigt, dass es sich bei den Carotinoiden um Minorcomponenten handelt, so können die erreichten Bestimmtheitsmaße als befriedigend bezeichnet werden. Bei der Züchtung von Industriemöhren auf hohen Carotinoidgehalt kann die NIR-spektrometrische Bestimmung als eine begleitende Kontrollmethode von Bedeutung sein.

Methodische Ansätze der MIR-spektrometrischen Bestimmung von Pflanzeninhaltsstoffen von Gemüse

Seit etwa einem Jahr kann im IPA der BAZ gering aufgearbeitetes Pflanzenmaterial im mittleren Infrarot (MIR) gemessen werden. Die Messungen wurden an einem Gerät des Typs „Travel-IR“ der Resultec Analytic Equipment (Garbsen, Deutschland) durchgeführt. Es handelt sich dabei um ein Fourier-Transform-IR-Spektrometer mit fest montierter Diamant-ATR-Vorrichtung und einem Mikro-Video-System zur Probenbeobachtung (Coates u.a. 2000, Feustel 2001). Bei der Diamant-ATR-Vorrichtung sind ein Diamant- und Zinkselenidkristall so zusammengefügt, dass an der freien Oberfläche des Diamantkristalls die Totalreflexions-

bedingung für Infrarotstrahlung erfüllt ist. Dort werden die Proben (flüssig oder fest) aufgebracht. Im Fall von festen oder pulverförmigen Proben werden diese zur Verbesserung des Kontaktes mit dem Kristall durch eine Anpressvorrichtung mit definiertem Druck angedrückt. Der Anpressdruck kann in acht Stufen eingestellt werden, was durch eine Leuchtdiodeanzeige angezeigt wird. Die Fläche des Diamantkristalls beträgt ca. 1,8 mm², so dass Probenmengen von 2 bis 5 µl für die Registrierung eines Spektrums ausreichen. Die ATR-Spektren wurden im Wellenzahlenbereich 650 – 4000 cm⁻¹ mit einer spektralen Auflösung von 2 cm⁻¹ registriert. Die Auswertung der Spektren erfolgte ebenfalls mit dem Programm Opus/Quant 2.0, wie es schon weiter oben für die Arbeiten im NIR-Bereich

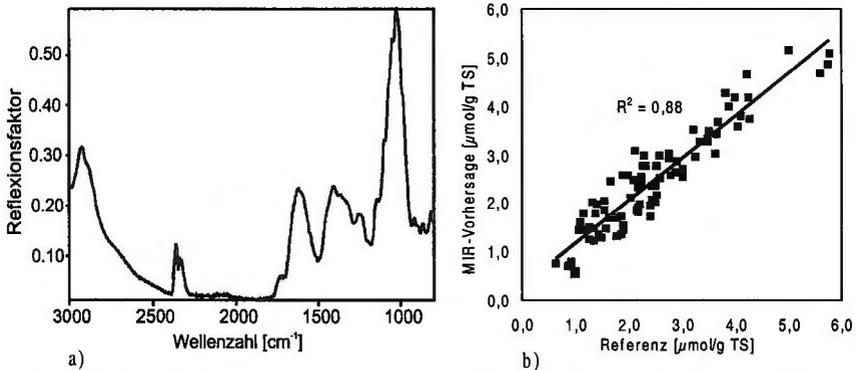


Abbildung 3: ATR-Spektrum von Kohlpulver (a) und Kreuzvalidierungsplot für den Inhaltsstoff Iberin (b)

beschrieben worden ist. Die an gefriergetrocknetem, pulverisiertem Material von Kopfkohl gemessenen Spektren wurden gemeinsam mit den Glucosinolatgehalten (HPLC-Bestimmung) der gleichen Proben für eine chemometrische Modellbildung verwendet. Die Abbildung 3 zeigt ein Beispielspektrum (a) und den Validierungsplot für die Vorhersage von Iberin (b).

Tabelle 4: Kreuzvalidierungsergebnisse der ATR-IR-spektrometrischen Bestimmung von Glucosinolatgehalten in Kohlpulver

Inhaltsstoff	Bereich	R ²	RMSECV
Glucobrassicin	0,8-5,3 µmol/g TS	0,69	0,5 µmol/g TS
Iberin	0,6-5,8 µmol/g TS	0,88	0,4 µmol/g TS
4-Methoxyglucobrassicin	0,4-1,2 µmol/g TS	0,73	0,1 µmol/g TS
Sinigrin	1,5-7,3 µmol/g TS	0,80	0,6 µmol/g TS

Der Probensatz bestand aus 107 Proben, wobei 18 Kohlsorten mit Wiederholungen vertreten waren. Es konnten mit den MIR-Spektren und den vorliegenden HPLC-Analysenwerten für 4 Glucosinolate Kalibriermodelle berechnet werden. Die Ergebnisse der Kreuzvalidierungen sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Die erreichten Werte können als befriedigend bezeichnet werden und lassen weitere erfolgreiche Anwendungen an pulverförmigem Pflanzenmaterial erwarten. Des weiteren wurden mit dem „Travel-IR“ Messungen an frischem Möhrengewebe und Möhrensaft durchgeführt. Der Probensatz bestand aus 240 frischen Möhren (4 Sorten, 2 Ernten im Abstand von 4 Wochen). Von jeder Möhre wurde ein 2 mm starker Streifen

abgeschnitten und sofort auf den Diamant-ATR-Kristall gelegt, angepresst und spektrometrisch vermessen. Jede gemessene Möhre wurde sofort zu Saft verarbeitet, danach wurde der Saft mit der Diamant-ATR und parallel dazu mit einer konventionellen horizontalen ATR (HATR) am EQUINOX 55 gemessen. Der Saft wurde danach zunächst tiefgefroren und zu einem späteren Zeitpunkt mittels HPTLC analysiert. Mit den analysierten Zuckerwerten und den drei verschiedenen Spektrensätzen konnten drei verschiedene Vorhersagemodelle berechnet werden. Die Tabelle 5 zeigt die drei MIR-spektrometrischen Methoden im Vergleich mit der NIR-spektrometrischen Methode (an der ganzen Möhre).

Tabelle 5: Vergleich der Kreuzvalidierungsergebnisse für verschiedene spektrometrische Vorhersagemethoden für Gesamtzucker und Fructose bei Möhren

	Gesamtzucker			Fructose		
	Bereich	R ²	RMSECV	Bereich	R ²	RMSECV
HATR (Saft)	0,7-16,2%	0,92	0,92%	0,0-7,7%	0,94	0,41%
Diamant-ATR (Saft)	0,7-16,2%	0,91	0,95%	0,0-7,7%	0,94	0,40%
Diamant-ATR (Möhre)	0,7-15,3%	0,61	2,00%	0,0-7,0%	0,65	1,00%
NIR (Möhre)	1,5-11,8%	0,83	1,00%	0,0-4,6%	0,81	0,54%

Wegen der Übersichtlichkeit sind nur für den Gesamtzuckergehalt und einen Einzelzuckergehalt die Validierungsergebnisse gegenübergestellt. Die beiden Methoden mit Saft haben gleichermaßen die besten Ergebnisse. Die Diamant-ATR-Methode hat dabei noch den Vorteil der sehr geringen benötigten Probenmenge. Es zeigt sich ganz deutlich, dass die Zuckerbestimmung an Möhrensaft mittels ATR-IR-Spektrometrie eine brauchbare Schnellmethode werden kann.

Zusammenfassung

Die Nützlichkeit und Handhabung spektrometrischer Methoden mit ihren chemometrischen Auswertalgorithmen zur schnellen Bestimmung von Inhaltsstoffen und Parametern konnte für zwei Spektralbereiche an verschiedenen Früchten von Obst- und Gemüsekulturen gezeigt werden. Die vorliegenden Erfahrungen bei der Erarbeitung von Kalibrierungen bezüglich der bearbeiteten Kulturarten sind von Nutzen bei einer Anwendung auf weitere Kulturarten oder können Ausgangspunkt von praxisnahen Anwendungen bei Züchtungsarbeiten sein. Auch sind die Möglichkeiten einer Kombination von Methoden mit unterschiedlichen Spektralbereichen an einer Kulturart sehr vielversprechend. So kann aus den bisherigen Ergebnissen bei Möhre die Kombination von Farbmetrik (Homogenitätsbestimmung), NIR-Spektrometrie (Carotinoïdbestimmung) und MIR-Spektrometrie (Zuckerbestimmung) als Schnellmethoden-satz empfohlen werden. Die Möglichkeiten für eine praxisnahe Nutzung sind auch dadurch gegeben, dass es für die besprochenen Spektralbereiche mobile Geräte auf dem Markt gibt.

Danksagung

Der Autor dankt Dr. T. Nothnagel (BAZ), St. Schwarz (BAZ) und Dr. E. Roth (LALG Ditfurt) für die Bereitstellung des Versuchsmaterials, Dr. E. Hoberg (BAZ) und Dr. W. Schütze (BAZ) für die Betreuung der HPLC-Analysen, Frau C. Helmund für die sorgfältige Ausführung aller spektrometrischen Messungen und Dr. M. Feustel (Resultec Analytic Equipment, Garbsen) für die Nutzungsmöglichkeit des „Travel-IR“.

Literatur

- Berardo N, Previtali F, Bertolini M* (2000) Near infrared reflectance spectroscopy for selecting high amylo maize lines in breeding programmes. Proc. of 9th Int. Conf. NIR-99, Verona, Italien. NIR Publications; Charlton, Chichester: 651-654
- Böcker J* (1997) Spektroskopie: Instrumentelle Analytik mit Atom- und Molekülspektrometrie. Würzburg: Vogel Buchverlag: 162-175
- Carver B F* (1994) Genetic implications of kernel NIR hardness on milling and flour quality in bread wheat. J. Sci. Food Agric. 65: 125-132
- Coates J, Sanders A* (2000) A universal sample handling system for FT-IR spectroscopy. Spectroscopy Europe 12(5): 12-22
- Feustel M* (2001) FTIR-Routineanalytik mit Durchblick. LaborPraxis 25: 16-18
- Henrion R, Henrion G* (1995) Multivariate Datenanalyse: Methodik und Anwendung in der Chemie und verwandten Gebieten. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag: 103-157
- Moons E, Dardenne P* (2000) Determination of internal apple quality by non-destructive visible and near infrared spectroscopy. Proc. of 9th Int. Conf. NIR-99, Verona, Italien. NIR Publications; Charlton, Chichester: 785-789
- Pank F, Blüthner W D, Krüger H, Junghanns W, Overkamp J* (2001) Züchtungserfolg verhilft einjährigem Kümmel (*Carum carvi* L. var. *Annuum hort*) zum Durchbruch. Z.Arzn.Gew.Pfl. 6: 109-114
- Peiris K H S, Dull G G, Leffler R G, Kays S J* (1998) Near infrared spectrometric method for nondestructive determination of soluble solids content of peaches. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 123 (5): 898-905
- Quilitzsch R* (1998) Die Bestimmung von züchtungsrelevanten Qualitätsparametern an gartenbaulichen Kulturarten mittels Farbmeterik und Reflexionsspektroskopie. VDI/MEG Kolloquium Agrartechnik, Heft 30, Qualität von Agrarprodukten: 182-192
- Quilitzsch R* (1999) Farbmeterik bei Obst und Gemüse-Interpretationsmöglichkeiten und Grenzen. In: Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung, XXXIV. Vortragstagung, Freising-Weihenstephan, 187-192
- Schulz H, Schrader B, Quilitzsch R, Steuer B* (2001) Quantitative analysis of various citrus oils by ATR/FT-IR and NIR-FT Raman spectroscopy. Applied Spectroscopy 56(1): 117-124
- Schulz H, Steuer B, Krüger H, Schütze W* (2001) Möglichkeiten und Grenzen NIR-spektroskopischer Qualitätsbestimmung pflanzlicher Drogen. Z.Arzn.Gew.Pfl. 6: 138-142
- Schulz H* (2002) Potential of NIRS for supporting breeding and cultivation of medicinal and spice plants. Proc. of 10th Int. Conf. NIR-2001, Kyongju, Korea (im Druck)
- Shaw D V* (1991) Genetic variation for objective and subjective measures of fresh fruit color in strawberries. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 116(5): 894-898
- Tongming J, Ling L, Hang C, Xiangyang Z, Duoqia W* (2000) Application of near infrared spectroscopy for quality evaluation of vegetables in China. Proc. of 9th Int. Conf. NIR-99, Verona, Italien. NIR Publications; Charlton, Chichester: 907-910



Weizenzüchtung auf hohe technologische Qualität durch induzierten Schwefelmangel?

I. Hagel

Institut für Biologisch-Dynamische Forschung, Darmstadt

Wheat Breeding for high Baking Quality via induced Sulfur Deficiency

Abstract Several phenomena reveal the excellent technological quality of modern E- and A-wheat cultivars as adaptations to sulfur deficient plant types by breeding.

I. Hagel, Institut für Biologisch-Dynamische Forschung, Brandschneise 5, D-64295 Darmstadt

Einleitung

Die meisten Betriebe des Ökologischen Landbaus haben mit der Zeit die älteren Weizensorten (z.B. Jubilar, Diplomat, Progreß etc.) durch sogenannte moderne E- und A-Sorten ersetzt. Einer der Gründe dafür ist deren exzellente technologische (Back-) Qualität. Sie erzielen im Standardbackversuch, der grundsätzlich mit Auszugsmehl durchgeführt wird, standfeste Gebäcke mit hohen Volumina. Diese Veränderung erfolgte über eine Verfestigung des Proteins (des Klebers). Da die Vermittlung allen Lebens an das Eiweiß gebunden ist, wurde auch mit Blick auf die Frage der Nahrungsqualität von Weizen (speziell des Ökologischen Landbaus) diese Entwicklung zu immer festerem Eiweiß kritisch hinterfragt (HAGEL 2000 a).

Ergebnisse und Diskussion

Der Rohproteingehalt des Weizens gibt die Summe der vier Eiweißgruppen Albumine, Globuline, Gliadine und Glutenine an. Die Stoffwechselfvorgänge des keimenden Kornes werden über die (deshalb auch als Enzymeiweiße bezeichneten) wasser- und salzlöslichen Albumine und Globuline mobilisiert. Gliadin und Glutenin sind dagegen nur durch wässrige Alkohole sowie verschiedene Chemikalien in Lösung zu bringen. Sie besitzen für die werdende neue Pflanze außer der Speicherung von Aminosäuren keine weiteren Funktionen – daher ihr Name: Reserveproteine. Allerdings bedingen sie die backtechnologischen Eigenschaften einer Weizensorte: Gliadin macht Kleber und Teig weich und dehnbar. Glutenin dagegen strafft das Kleberprotein und damit auch den Teig. Während Albumine und Globuline hohe Gehalte sowohl an den schwefelhaltigen Aminosäuren Cystein und Methionin sowie der essentiellen Aminosäure Lysin aufweisen und damit deutliche Bezüge zu stoffwechselaktiven und aufbauenden Lebensvorgängen aufweisen, sind Gliadin und Glutenin hinsichtlich dieser Aspekte erheblich reduziert. Und besonders das Glutenin weist statt Lebensprozesse tragender Funktionen ausprägte Charakteristika der starren, toten Mechanik auf: Zum einen bildet dessen

hochmolekulare Komponente (HMW-Glutenin) durch eine spezielle Abfolge hauptsächlich der Aminosäuren Glutamin und Prolin spiralige und dadurch elastisch wirkende Makromoleküle (sogenannte β -spirals), die als ein Hauptgrund für die elastischen Eigenschaften des Klebers angesehen werden (TATHAM et al. 1985). Zum anderen bewirken die wenigen aber effektiven Disulfidbrücken eine Polymerisierung zu sehr langen Makromolekülen. Wie das Stahlgerüst im Stahlbeton der Baumasse Stabilität nicht nur auf Druck sondern auch auf Zug verleiht, so stabilisieren diese feinen Proteinfäden den Teig. Auf diese Weise verhindern sie ein zu starkes Entweichen der Gärgase aus dem zu fertigenden Gebäck und bewirken eine Steigerung des Backvolumens. Der Zusammenhang zwischen dem Gehalt an Glutenin und der Backqualität wurde erstmalig vor 30 Jahren entdeckt (ORTH und BUSHUK 1972) und seitdem biochemisch konsequent weiterentwickelt und züchterisch umgesetzt.

Das Wachstum des Weizens wird durch den Schwefel (S) insofern ähnlich vitalisiert wie durch den Stickstoff, indem auf S-Mangelstandorten die mit Schwefel gedüngten Parzellen grün statt gelb aussehen und die Erträge um bis zu 30 % höher ausfallen. Bemerkenswerterweise beschränkt sich die entvitalisierende Wirkung eines S-Mangels aber nicht nur auf pflanzenbauliche Aspekte des Weizens, sondern beeinflusst über eine verringerte Dehnbarkeit und einen erhöhten Dehnwiderstand des Teiges auch dessen technologische Eigenschaften (WRIGLEY et al. 1984, Abb. 1).

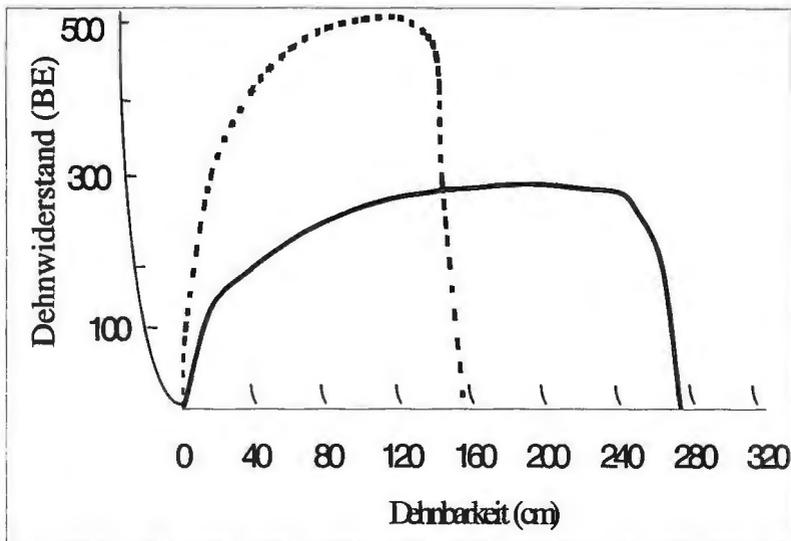


Abb. 1: Extensogrammkurven für Mehle (Sorte OLYMPIC) mit unterschiedlichen Schwefelgehalten. Kontrolle (—): 0,146 % S, 1,82 % N, N:S-Verhältnis: 12,5. Mehl mit niedrigem S-Gehalt (- - - -): 0,089 % S, 1,72 % N, N:S-Verhältnis: 19,3 (WRIGLEY et al. 1984)

In mehreren Untersuchungen wurden bei S-Mangel höhere Anteile des backtechnologisch besonders wirksamen HMW-Glutensins gefunden (WRIGLEY et al. 1984, CASTLE und RANDALL

1987, MACRITCHIE und GUPTA 1993, SEILMEIER et al. 2001). Auch dies ist für die sachgemäße Beurteilung der modernen Weizensorten mit ihren hohen Gluteningehalten bedeutungsvoll. Denn gerade diese Weizentypen mit Eigenschaften, wie sie unter S-Mangel auftreten (feste Proteinstruktur (Abb. 1) und hohe HMW-Gluteningehalte) wurden und werden von der Wissenschaft entwickelt, vom Bäcker gefordert und von der Züchtung selektiert. Verständlicherweise führte diese Entwicklung gerade in dem Moment zu erheblichen backtechnologischen Problemen, als es tatsächlich infolge der Verringerung der atmosphärischen S-Einträge (saurer Regen) seit Anfang der 80er Jahre infolge einer flächendeckenden Installation von Rauchgasentschwefelungsanlagen etc. (Abb. 2) zu S-Mangel nicht nur beim schwefelbedürftigen Raps (SCHNUG und HANEKLAUS 1994) sondern auch beim Weizen kam.

Schwefelversorgung von Raps in Norddeutschland

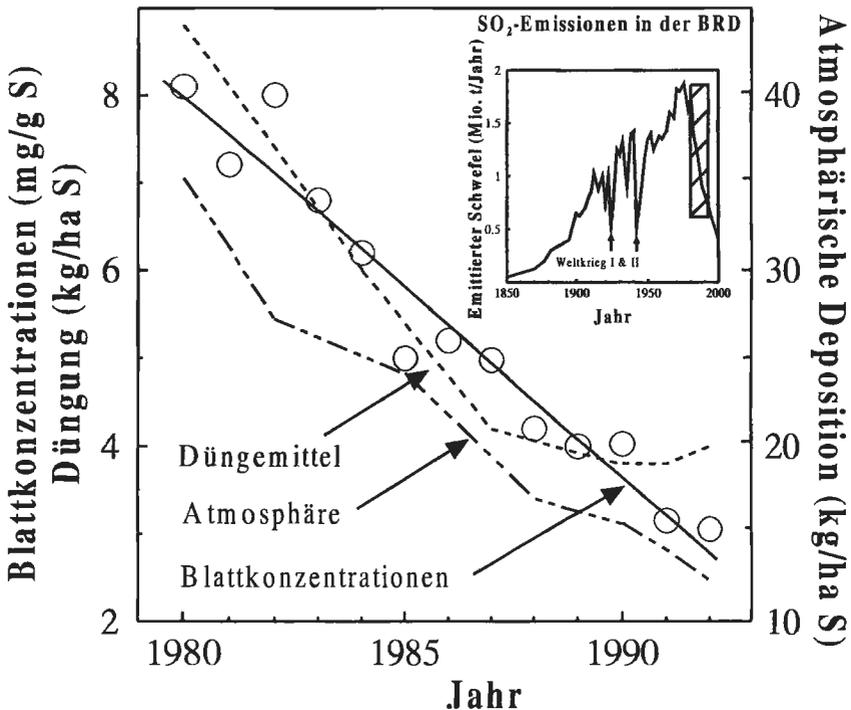


Abb. 2: Entwicklung der Einträge an atmosphärischem SO₂-S, Anwendung S-enhaltender Dünger und S-Gehalten in Blättern von Raps (*Brassica napus*) in Norddeutschland (SCHNUG und HANEKLAUS 1994)

Diese Minderung der technologischen Qualität ist spätestens ab N:S-Verhältnissen über 17:1 bzw. S-Gehalten unter 0,12 % zu erwarten und beruht nicht – wie vor 50 Jahren – auf zu weichen, sondern auf zu *festen* Teigen! Offenbar hatten die mit Blick auf ein höheres Backvolumen angestrebten züchterischen Veränderungen der Weizenproteine in Richtung einer Verfe-

stigung schon Anfang der 80er Jahre ein Optimum erreicht. Die ökologisch-historische bedingte Absenkung der S-Einträge in die landwirtschaftlichen Nutzflächen bewirkte nun eine zusätzliche Entvitalisierung und damit Verfestigung des Weizenproteins. Teige aus Mehlen von unzureichend mit Schwefel versorgten Pflanzen setzen den Gärgasen plötzlich zu viel Widerstand entgegen, was eine Reduzierung des Backvolumens zur Folge hat. Eine S-Düngung führt dann durch eine *Erweichung* der Teige nicht zu niedrigeren sondern zu höheren Backvolumina (Abb. 3). Die prinzipiell die Kleberstruktur erweichende Wirkung einer S-Düngung wurde auch bei ausreichender natürlicher Versorgung des Standortes mit diesem Element bestätigt, wenn die S-Gabe (mit mindestens 200 kg/ha) nur hoch genug ausfiel (HAGEL et al. 1999).

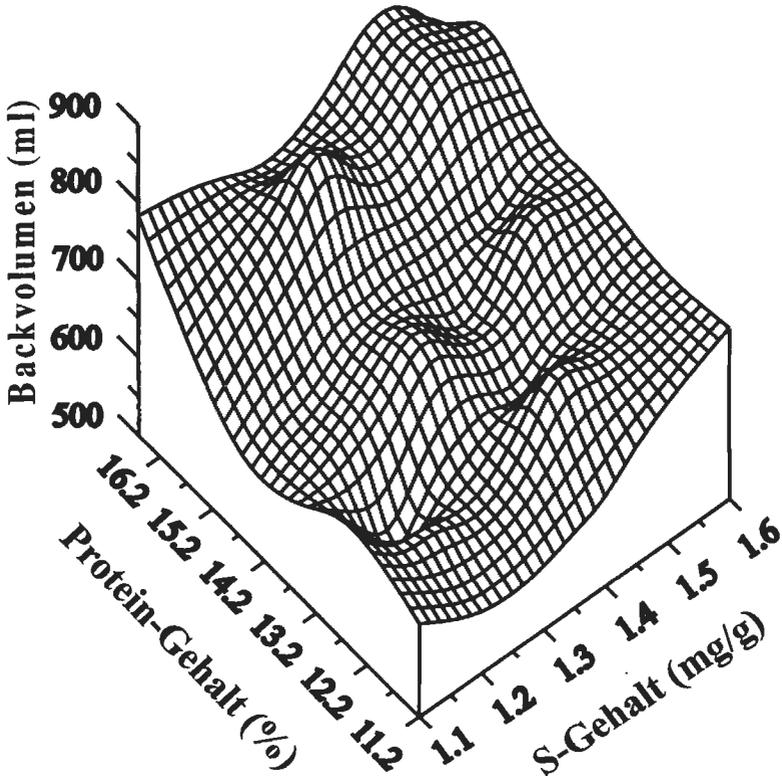


Abb. 3: Beziehungen zwischen Protein- und Schwefelgehalten sowie dem Backvolumen 23 verschiedener deutscher Weizensorten (Ernte 1989) (HANEKLAUS et al. 1992)

S-Düngungsversuche auf Betrieben des Ökologischen Landbaus schwefelmangelgefährdeter Standorte demonstrierten ebenfalls die besondere Bedeutung einer Schwefeldüngung für die Backqualität (HAGEL 2000 b, Abb. 4). Die nicht mit Schwefel gedüngten Varianten (Kontrolle und Magnesiumchloriddüngung) wiesen mit steigenden N-Gehalten nach einem Optimum wieder sinkende Backvolumina auf. Allerdings konnten proteinschwache Weizenchar-

gen mit Gehalten unter 1,70 % N (TM) (entsprechend 8,3 % Rohprotein (86 % TM)) durch die zusätzliche Verfestigung der Eiweißstruktur eine Verbesserung des schlechten Backvolumens erfahren. Selbstverständlich stellt es aber kein Ideal dar, deshalb einen Mangel (an Protein) durch einen weiteren (an Schwefel) ausgleichen zu wollen.

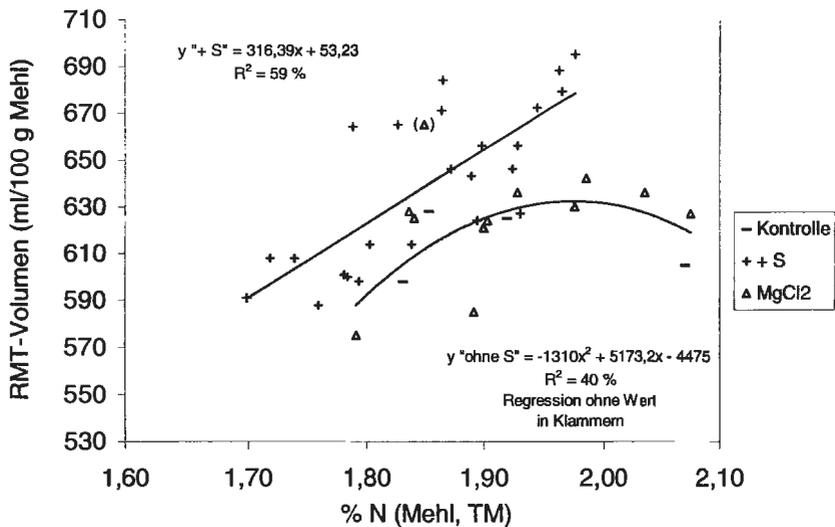


Abb. 4: Beziehung zwischen N-Gehalten des Mehls und Backvolumina im Rapid-Mix-Test von Winterweizen (Sorte RENAN) eines Schwefeldüngungsversuchs auf einem Betrieb des Ökologischen Landbaus. Ernte 1998; Versuchsstandort Tröndel; ++ S = Schwefeldüngung: 20, 40 und 60 kg S/ha als elementarer S und MgSO₄-S, MgCl₂ = Magnesiumchloriddüngung als Ausgleichsdüngung zur Bestimmung des Mg-bedingten Ertragsanteils der MgSO₄-Düngung (HAGEL 2000 b)

Alle diese Gesichtspunkte, die hier nur kurz geschildert werden konnten, rechtfertigen die Formulierung, daß der Konsument mit den modernen und backtechnologisch hochwertigen E- und A-Weizensorten Brot aus Schwefelmangelweizen verzehrt, womit nicht notwendig ein stofflicher S-Mangel gemeint ist. Es wird hier von S-Mangelweizen gesprochen, weil die Eigenschaften dieser Sorten durch die Züchtung zur Verbesserung der Backqualität sehr nahe an die von Pflanzentypen mit einem tatsächlichen S-Mangel angenähert wurden. Die hier geschilderten Phänomene beschreiben auch keinen N-Mangel, da gerade eine N-Düngung diese Probleme verschärft.

Die aus dem Lebensprozeß herausgefallenen Klebereiweisse des Weizens sind an sich schon ernährungsphysiologisch von geringem Wert. Man muß die Frage stellen, mit welchen Konsequenzen für die Nahrungsqualität die in den letzten Jahrzehnten mit Blick auf die Backtechnologie erfolgten weiteren Verfestigungen des Klebereiweisses verbunden sind. Bezeichnenderweise ergab auch ein Vergleich verschiedener Dinkelsorten mit bildschaffenden Me-

methoden für die Sorten mit festeren Klebern und zäheren Teigen „Anzeichen einer verminderten Vitalität und zum Teil auch sklerotisierende Tendenzen“ (KUNZ 1998).

Fazit

Aus den geschilderten Phänomenen kann die gute Backqualität der modernen E- und A-Sorten als Resultat einer züchterisch induzierten Angleichung an S-defizitäre Weizentypen angesehen werden.

Literatur

- CASTLE, S.L. and P.J. RANDALL (1987): Effects of sulfur deficiency on the synthesis and accumulation of proteins in the developing wheat seed. *Aust. J. Plant Physiol.* 14, 503-516.
- HAGEL, I. (1999 a): Zur Proteinqualität von Weizen. - Der Zusammenhang zwischen Eiweißfunktion, Düngung und Ernährung. *Lebendige Erde*, 4/1999, 38-40.
- HAGEL, I. H. WIESER und E. SCHNUG (1999 b): Wirkungen hoher Schwefelgaben auf Mineralstoffgehalte, Proteinfractionen und Kleberqualität von Weizen aus biologisch-dynamischem Anbau. *Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung (Pflanzliche Nahrungsmittel) e.V.*, 34. Vortragstagung, 22./23. März 1999, Freising-Weihenstephan, 329-334.
- HAGEL, I. (2000 a): Biobrot aus Schwefelmangel-Weizen - Ein Beitrag zur Qualitätsbeurteilung der festen Proteinstruktur moderner Weizensorten. Band 14 der Schriftenreihe des Instituts für Biologisch-Dynamische Forschung, Brandschneise 5, 64295 Darmstadt.
- HAGEL, I. (2000 b): Auswirkungen einer Schwefeldüngung auf Ertrag und Qualität von Weizen schwefelmangelgefährdeter Standorte des Ökologischen Landbaus. *Landbauforschung Völkenrode, Sonderheft 220*, ISBN 3-933140-42-0.
- HANEKLAUS, S., E. EVANS and E. SCHNUG (1992): Baking quality and sulphur content of wheat. I. Influence of grain sulphur and protein concentrations on loaf volume. *Sulphur in Agric.* 16, 31-34.
- KUNZ, P. (1998): Züchtung standortangepasster Weizen- und Dinkelsorten für den biologisch-dynamischen und ökologischen Anbau. *Jahresbericht 1997. Getreidezüchtung Peter Kunz, Hof Breiden 5, CH - 8634 Hombrechtikon.*
- MACRITCHIE, F. and R.B. GUPTA (1993): Functionality-composition relationships of wheat flour as a result of variation in sulfur availability. *Aust. J. Agric. Res.* 44, 1767-1774.
- ORTH, R.A. and W. BUSHUK (1972): A comparative study of proteins of wheats of diverse baking qualities. *Cereal Chem.* 49, 268-275.
- SCHNUG, E. and S. HANEKLAUS (1994): Sulphur deficiency in brassica napus. *Biochemistry - Symptomatology - Morphogenesis. Wissenschaftliche Mitteilungen der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft Braunschweig - Völkenrode, Sonderheft 144.*
- SEILMEIER, W. H. WIESER, R. GUTSER und S. von TUCHER (2001): Einfluß der Schwefeldüngung auf die quantitative Zusammensetzung der Kleberproteine in Weizenmehl. *Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Garching, Bericht 2001*, 183-190.
- TATHAM, A.S., B.J. MIFLIN AND P.R. SHEWRY (1985): The beta-turn conformation in wheat gluten proteins: Relationship to gluten elasticity. *Cereal Chem.* 62, 405-412.
- WRIGLEY, C.W., D.L. DU CROS, J.G. FULLINGTON and D.D. KASARDA (1984): Changes in polypeptide composition and grain quality due to sulfur deficiency in wheat. *J. Cereal Sci.* 2, 15-24.



Wheat quality: Mycotoxins, moulds and X-ray absorption near edge structure spectroscopy of gluten proteins

Barbara Birzele and Alexander Prange

Abteilung Landwirtschaftliche und Lebensmittel-Mikrobiologie, Institut für Pflanzenkrankheiten, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn,

***Abstract** The influence of suboptimal storage conditions on DON and OTA contents was investigated in storage trials with wheat of different years. The tri5-PCR (specific for potentially trichothecene-producing *Fusarium* spp.) and the gaoA-PCR (specific detection of *F. graminearum*) were used to detect *Fusarium* spp. and *F. graminearum* and as a measure of their relative DNA mass. Additionally, quantitative gaoA-PCR was performed. All wheat samples showed DON increase during storage while *Fusarium* biomass decreased. In situ analysis of wheat gluten and glutenin subunits by XANES spectroscopy at the sulfur K-edge was conducted. XANES measurements confirmed the existence of disulfide bonds in oxidized glutenin subunits. In reoxidized (bromate) glutenin subunits and in those, which were stored under ambient air and temperature conditions, also higher oxidation states were detected.*

Correspondence: Dr. B. Birzele, Dr. A. Prange Dept. of Agricultural and Food Microbiology, Institute for Plant Diseases, Meckenheimer Allee 168, 53115 Bonn, Germany, Tel. +49 228 737729, Fax +49 228 739592, b.birzele@uni-bonn.de, a.prange@gmx.de

***Keywords:** *Fusarium*, deoxynivalenol, storage, wheat gluten, XANES spectroscopy*

***Abbreviations:** a.u. (arbitrary unit), DON (deoxynivalenol), HMW (high molecular weight), LMW (low molecular weight), OTA (ochratoxin A), XANES (X-ray absorption near edge structure)*

I. Introduction

Wheat quality can be seriously diminished by the infection of moulds leading to contamination with mycotoxins and lowered baking quality. A contamination of grains and flour with mycotoxins has to be considered as a health risk and against the background of consumer care (Krämer, 1997). From a technological point of view the interaction between fungi and protein matrix within the grain might reduce the technological properties (Bockmann, 1984; Meyer *et al.*, 1986). It was the purpose of the studies presented, firstly, to investigate the influence of suboptimal storage conditions on mycotoxin levels in wheat of different years and the correlation between mycotoxin contents and fungal biomass. Secondly, to characterize the speciation of sulfur in wheat gluten and glutenin subunits (reduced and reoxidized) by X-ray absorption near edge structure (XANES) spectroscopy for the first time *in situ* in order to enlarge knowledge about the molecular composition of the gluten network which mainly determines the baking quality of wheat.

II. Wheat quality: Mycotoxins and moulds

Deoxynivalenol and *Fusarium* spp.

Fungi of the genus *Fusarium* are naturally occurring on grain and grass feed. They belong to the field fungi, which invade and damage seeds on the field. They produce a variety of mycotoxins that are toxic to both animals and people (Palti, 1978; Rotter *et al.*, 1996). Deoxynivalenol (DON) is a B-trichothecene and detected most frequently and in highest concentrations. It is regarded as one of the most important mycotoxins, predominantly being produced on the field (Wolff, 1995; Clear & Patrick, 2000). *F. graminearum* and *F. culmorum* are powerful DON-producing fungi and of great importance as phytopathogens worldwide (Snijders, 1990; Parry *et al.*, 1995; Clear & Patrick, 2000). Whereas *F. graminearum* is the most important species in the warmer regions of central Europe, *F. culmorum* is dominant in the colder, oceanically influenced climatic regions of northwest Europe. Infection can occur during all growth stages. Flowering wheat, however, is very prone to *Fusarium* infection. Heavy *Fusarium* infections and high DON contamination are usually related to heavy rainfall during and following the flowering period (Weinert & Wolf, 1995). The time of infection largely determines the localization of moulds on the grain and therefore a possible reduction of moulds and mycotoxins during cleaning and milling.

Suboptimal storage of wheat

During storage, field fungi of the genera *Fusarium*, *Alternaria* and *Cladosporium* are increasingly displaced by the typical storage fungi of the genera *Aspergillus* and *Penicillium*, which invade and damage seeds almost exclusively during storage (Krämer, 1997). Ochratoxin A (OTA), the mycotoxin being produced by *Aspergillus* and *Penicillium*, does therefore not normally occur before harvest and is consequently considered to be a storage problem (Scudamore *et al.*, 1999). OTA is regarded to be the toxicologically most important mycotoxin occurring during storage of wheat (Wolff & Richter, 1993). It is carcinogenic and nephrotoxic and has an extremely long half-life in mammals with a duration of 35 days (DFG, 1990). *P. verrucosum* as well as *A. ochraceus* are OTA producing fungi and colonize, to a certain extent on the field already, wilted plant material and may there produce mycotoxins. OTA production will be enhanced during storage of grains, if the conditions are appropriate (Wolff & Richter, 1993).

In years with abnormally prolonged rainy periods during vegetative growth and the harvest period grain may have to be harvested with higher moisture contents than are desirable. In Germany, at the time of harvest, moisture contents of 20% and more are only encountered in rainy years, whereas in other countries, e.g. Norway, moisture contents of 20-35% are described to be normal (Langseth *et al.* 1993). Moisture contents below 14% are generally accepted as grain moistures (at a temperature of 20°C and an equilibrant moisture between air and grains of 65%) for unlimited, microbiological safe storage (Strehler 1993, Krämer 1997, Spicher *et al.* 1997). When drying grain, the passage of decreasing moisture might still offer favourable conditions for mould growth and mycotoxin production if there is a shortage of drying facilities or if only ambient air is used for drying. Then it might take weeks to dry the grain, and meanwhile the fungi may continue to grow and produce mycotoxins (Bruce & Ryniecki 1991). Furthermore, moisture contents of 18% are described to be common in the upper third of the pile in ventilation grain driers owing to lack of homogeneity in the material, insects or water of condensation as a result of respiration activity of the grains (Skriegan, 1989; 1995). In order to imitate suboptimal storage conditions, different storage trials with the same temperature (15 or 20°C) and grain moisture contents (17 or 20%) were conducted. A detailed description of performance of the storage trials can be deduced from Birzele *et al.* (2000a).

Storage trials

Several storage trials with wheat of different years were conducted. During storage at temperatures of 15 and 20°C and moisture contents of 17 and 20% DON content always increased, but varying in velocity and extent and irrespective of cultivar. Maximum DON increase at a temperature of 20°C was 15-fold within two weeks, at a temperature of 15°C maximum DON increase was 3-fold within six weeks. No correlation between DON increase and initial DON contamination of wheat could be found. The effect of high moisture on the rate of DON increase was also confirmed by studies of Langseth *et al.* (1993) with high moistures of 32% showing a more than 100-fold DON increase within one week. The different course of mycotoxin increase under suboptimal storage conditions, however, is most likely to be related to the microbiological profile and the presence and virulence of mycotoxin producing species. Muthomi *et al.* (2000) showed that aggressive *Fusarium* isolates (aggressiveness measured by 1000-grain weight reduction) were strong DON producers while the less aggressive ones predominantly produced nivalenol *in vitro* and *in vivo*. Studies of Miedaner & Reinbrecht (2001) showed hardly any differences in resistance against head blight and in mycotoxin accumulation between different wheat and rye genotypes when they were infected with DON or NIV producing *F. culmorum* species.

For further description one representative storage trial with wheat of the harvest 1998 was selected. Over a period of six weeks DON moderately increased by factors 2.5 and 3.5 within weeks two and four of storage and by factors 14.3 and 17.1 within weeks five and six of storage. Thus highest DON increase was observed within the last two weeks reaching a final DON concentration of 2,986 µg/kg (median 3,013 µg/kg) (Figure 1). In own studies and studies of coworkers a similar DON increase was measured under the same conditions (Backes, 1999).

Parallel with DON quantification the *tri5*-PCR assay of Niessen & Vogel (1998) was used to amplify a highly conserved region of the *tri5* gene showing a 658 bp PCR product. The *tri5* gene encodes for trichodiene synthase, an enzyme catalyzing the cyclization of farnesyl pyrophosphate to yield trichodiene, the initial specific product in the biosynthetic pathway of trichothecenes. Thus, the relative biomass of potentially trichothecene producing fungi was detected and set into relation to the DON content. Corresponding to the result that DON was measured in each sample, the *tri5* gene was also detected in every sample (Figure 2). Interestingly, the intensity of the produced signals, as a relative measure of fungal biomass, decreased over the storage period of six weeks by two thirds in the 17% wheat and by one third in the 20% wheat, while DON concentrations always increased. As *F. graminearum* is the most powerful DON producer, the *gaoA*-PCR was used as a specific proof for this species (Niessen & Vogel, 1997; modification: Birzele *et al.*, 2000b). The intensities of the *gaoA*-PCR signals (896 bp) were like those of the *tri5*-PCR with the 20%- and the 17%-wheat (data not shown).

In order to quantify *F. graminearum* DNA and to check the results of the PCR, the *gaoA*-PCR was also performed in the Light Cycler™. The observation of DNA decrease during storage trials was confirmed by the semi-quantitative determination of *F. graminearum* DNA with SYBR Green I (Roche, Germany) in the Light Cycler™. These results are in contrast to Niessen & Vogel (1997, 1998), who found a positive correlation between the intensity of the PCR signals and DON concentration. As trichothecenes probably act to impair protein biosynthesis in plants, trichothecenes could suppress or delay the plant defense response against a fungal attack (Harris *et al.* 1999). Studies of the infection process of *Fusarium* spp. with immunogold labelled DON and 3-acetyl-DON make it probable that toxins play an important role in the infection process (Kang & Buchenauer, 1999). Investigations on the time relationship between *tri5* expression and fungal biomass showed that trichothecenes such as DON are important for the infection process especially in the early stages of infection (Doohan *et al.*, 1999). By means of reporter gene fusions (β -glucuronidase activity, used to

measure active fungal biomass) an inverse relationship between β -glucuronidase activity and *tri5* expression was observed.

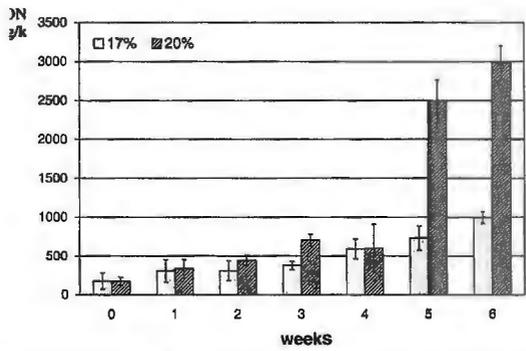


Fig. 1 Influence of storage on deoxynivalenol content over a period of six weeks in grain with a moisture content of 17% and 20% and a temperature of 20°C; deoxynivalenol concentration expressed as mean (n=4) plus/minus standard deviation.

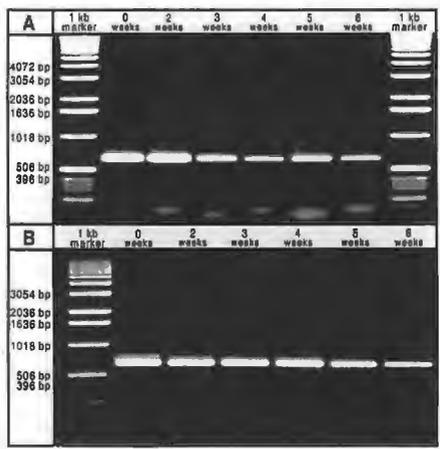


Fig. 2 *tri5*-PCR products (658 bp) amplified from DNA extracts obtained from wheat samples of the year 1998 being stored over a period of six weeks; (A) moisture content of 17%; (B) moisture content of 20%. Wheat samples were pooled from four storage samples.

Early in the infection process *tri5* expression was induced supporting the hypothesis that trichothecenes play an important role in the early establishment of the pathogen in the host tissue. The importance of trichothecenes for the infection process was also investigated by Harris *et al.* (1999) who compared the virulence of trichothecene-producing *F. graminearum* strains with non-producing *F. graminearum* strains. The trichothecene-nonproducing *F. graminearum* strains were still pathogenic but appeared less virulent on maize than the trichothecene-producing progenitor and revertant strains. Similar results were also reported by Proctor *et al.* (1995) and Desjardins *et al.* (1996) who inactivated *tri5* and showed that these

mutants were less aggressive towards wheat and rye seedlings and ears under field and greenhouse conditions. We assume, that other inductors for mycotoxin production are physiological stress like temperature, moisture, microbial competition. Especially the influence of microbial competition on mycotoxin contents is hardly understood so far and needs further investigations.

During storage, the number of *Alternaria* spp. and *Fusarium* spp. decreased continuously while the number of *Penicillium* and *Aspergillus* increased visibly from about 5% up to 60%. Although this was true, OTA did not always increase and not higher than 1.9 µg/kg within four weeks at temperatures of 20°C and moistures of 20%. Abramson *et al.* (1980) also reported OTA detection in wheat at 21% moisture content after four weeks supporting our own results. Thus, the highest OTA concentration detected under storage conditions still remained below the level of 5 µg/kg given by the EU authorities for grains (EU, 2002). OTA content remained unchanged at moisture contents of 17% and temperatures of 15°C. Similar results were reported by Abramson *et al.* (1992) who also found OTA concentration did not increase when storing wheat at moistures of 15 and 19% over 16 weeks. In another report (Abramson *et al.*, 1990) OTA was detected by week eight in the stored wheat with a moisture of 19%.

III. Wheat and baking quality: X-ray absorption spectroscopy of gluten proteins - An *in situ* approach

Sulfur in wheat gluten

The sulfur containing gluten proteins mainly determine the baking quality of wheat and the rheological properties of doughs. They are classified by their molecular weight and amino acid sequences into sulfur-rich, sulfur-poor and high molecular weight (HMW) groups (Shewry & Mifflin, 1985). The α - and γ -gliadins and the low molecular weight (LMW) subunits of glutenin (type B and C) form the first group, the ω -gliadins and the D-type LMW subunits of glutenin the second (Shewry *et al.*, 1984; Shewry & Mifflin, 1985; Shewry & Tatham, 1997). While gliadins, containing exclusively intramolecular disulfide bonds, are mainly responsible for the viscosity of doughs, the intermolecular disulfide bonds within the glutenins are correlated significantly to the elasticity of doughs. Especially cysteine containing components are important for the functionality of doughs forming the so-called gluten network, a three-dimensional high molecular weight aggregate linked by intermolecular disulfide bonds (Kieffer & Belitz, 1981; Köhler *et al.*, 1991; Wieser *et al.*, 1991). In freshly prepared flours about 95% of the cysteine residues of gluten proteins are present as disulfides and only 5% as free thiol groups (Shewry & Tatham, 1997; Grosch & Wieser, 1999). During dough mixing these thiol groups might catalyze the thiol/disulfide exchange reactions leading to glutenin. The resulting disulfide bonds are decisive for building up the gluten network, because their number determines the degree of polymerization, which directly influences the rheological parameters of doughs and the baking quality (Shewry & Tatham, 1997).

In the literature, different models concerning the molecular composition of the gluten network exist (e.g. Amend & Belitz, 1989; Ewart, 1972; Graveland *et al.*, 1985; Wrigley & Békés, 1999). However, based on the experimental results obtained until now, a final model cannot be deduced. This is due to the main disadvantage of all methods being performed so far, yielding *ex situ* information and limited information on oxidation state of sulfur as only S-H and S-S forms can be determined.

XANES spectroscopy at the sulfur K-edge

X-ray absorption spectroscopy (XAS) is a well established tool for examining the local environment of heavy atoms, such as transition metals (George, 1993). XAS studies of light atoms (e.g. sulfur, phosphorus) are much less common because of experimental difficulties which are not encountered at higher energies. The basic process of XAS is the excitation of electrons from deep core levels to unoccupied states by the absorption of an X-ray photon. If the ejected electron stems from a K level, the edge is referred to as a K-edge (Behrens, 1992). X-ray absorption spectra are commonly divided into two major regions: The XANES (X-ray absorption near edge structure) region ranges from some electron volts below the ionization potential to about 50 eV above the edge and shows sharp and intense variations of the absorption, whereas the EXAFS (extended X-ray absorption fine structure) region occurs in the energy region from 50 eV to about 1000 eV above the edge. In K-shell XANES spectra, strong resonances are observed below the ionization potential which can be assigned to transitions of the 1s electron of the excited atom into unoccupied molecule orbitals. Shape, intensity and energy position of these resonances are sensitive e.g. to the type and the symmetry of unoccupied orbitals and they contain detailed information about the valency and the effective charge of the absorbing atom (Agarwal, 1991). This technique is well suited for the investigation of non-crystalline materials, e.g. liquids, gases and biological samples. Due to the penetration strength of X-rays, *in situ* measurements are possible in many cases. Since *ab initio* calculations of the XANES region are complicated and reliable results are still difficult to obtain, information is often deduced by a fingerprint method. The near edge spectrum of the sample to be analyzed is compared with those of suitable model compounds. These model compounds should be as similar as possible to the supposed structure. The successful application of S K-XANES as a fingerprint method has been demonstrated (e.g. Chauvistré *et al.*, 1992; Prange *et al.*, 1999).

XANES spectroscopy at the sulfur K-edge was applied to probe the speciation of sulfur in wheat gluten, glutenin subunits (reduced and reoxidized) and stored glutenin subunits *in situ*. Spectra were obtained at beamline BN3 using synchrotron radiation from the electron stretcher accelerator ELSA at the Institute of Physics, Bonn. For a detailed description of the experimental setup, sample preparation, calibration of the spectra and further data of the XANES study the reader is referred to the paper of Prange *et al.* (2001). As examples for the fingerprint analysis of sulfur in gluten proteins by S K-edge XANES spectra LMW-subunits (reduced and oxidized) were selected in comparison with cysteine and cystine (figure 3). The S K-XANES spectrum of LMW subunits of glutenin (reduced form) (Fig. 3a) is shown in direct comparison with the spectrum of cysteine (Fig. 3b). The maximum of the so-called white line (first strong resonance in a XANES spectrum) is at about 2472.4 eV for both spectra, which is the typical energy position for C-S and S-H bonds. The broad feature at the high energy side of the white line is a so-called shape resonance, which is also rather similar in both spectra. Therefore, it can be concluded that the C-S and S-H bonds of the sulfur containing amino acids cysteine and methionine are the main origin of the spectra. To investigate disulfide bonds occurring in gluten polymers, the spectra of oxidized (oxygen stream) LMW subunits of glutenin (Fig. 3c) and cystine (Fig. 3d) as the most similar model compound were recorded. In accordance with previous investigations of glutathione (Prange *et al.*, 1999), the spectrum of cystine (Fig. 3d) shows the typical white line structure of a C-S-S-C structure: a first peak at low energies (2471.7 eV) which can be assigned to a $S\ 1s \rightarrow \sigma^*$ (S-S) transition and a second peak at higher energies (2473.2 eV) assigned to $S\ 1s \rightarrow \sigma^*$ (C-S). The spectrum of reoxidized LMW subunits of glutenin (Fig. 3c) shows the same structure with a splitting of the white line. Although cystine is a very similar reference compound to the reoxidized LMW subunits, it is of course not a perfect one. This explains the differences in the energy position of the C-S bond and in the shape resonances indicating

different coordination geometries beyond the first coordination shell. These differences are visible on comparing the spectra of oxidized LMW subunits (Fig. 3c) and cystine (Fig. 3d). Furthermore, XANES measurements showed that in the gluten proteins investigated predominantly C-S bonds occur which is not in accordance with previous chemical analyses. This finding has to be elucidated by further XANES-measurements. Apart from the expected S-S bonds it has been shown that on treatment of glutenin subunits with bromate or oxygen, oxidation might partly proceed to the sulfoxide and sulfonic acid states. The presence of

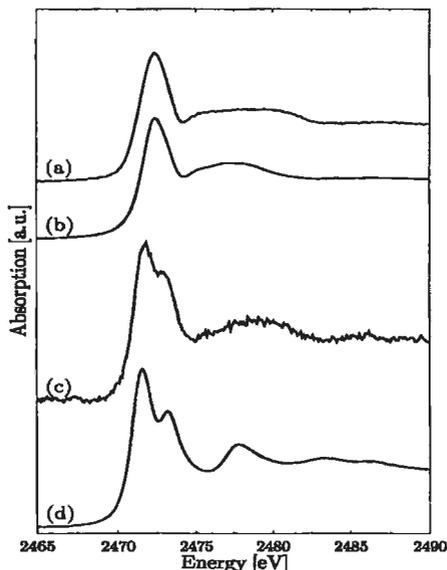


Fig. 3 Sulfur K-edge XANES spectra of (a) LMW glutenin (reduced), (b) cysteine, (c) LMW glutenin (reoxidized with oxygen) and (d) cystine.

oxidation states higher than disulfide after reoxidation is not in accordance with the traditional point of view.

IV. Outlook

Varying microbial interactions during storage could be responsible for different rates of increase in mycotoxin content. Little is known about the influence of intermicrobial relations on mycotoxin contents so far and will therefore be investigated in further studies. By quantifying deoxynivalenol and ochratoxin A only marker mycotoxins were analyzed. In order to assess a possible health risk by suboptimally stored wheat, other mycotoxins, e.g. zearalenone, will be also considered in future studies.

Higher oxidation states of sulfur in gluten proteins will be investigated in more detail, as their influence on baking quality has not been studied so far. To obtain a quantitative description of sulfur speciation in gluten proteins quantitative analyses of the XANES spectra will be performed in future.

Acknowledgements

We would like to thank the Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung (Pflanzliche Nahrungsmittel) DGQ e.V., especially Prof. Dr. D. Treutter (president) and the selection board, for awarding us the DGQ-Förderpreis 2002 and for inviting us to present our work at the DGQ annual meeting. The following persons are gratefully acknowledged for their good cooperation and support: Prof. Dr. J. Krämer (Institut für Pflanzenkrankheiten, Bonn), Prof. Dr. J. Hormes, Dr. I. Arzberger (Physikalisches Institut, Bonn), Priv.-Doz. Dr. P. Köhler, Dr. S. Antes (DFA, Garching), Dr. N. Kühlsen (Institut für Lebensmittelwissenschaft und Lebensmittelchemie, Bonn). A.P. thanks the Stiftung der Deutschen Wirtschaft (Studienförderwerk Klaus Murmann) for a doctoral scholarship.

References

- Abramson, D., Sinha, R. N. & Mills, J. T. (1980). Mycotoxin and odor formation in moist cereal grain during granary storage. *Cereal Chem.* 57, 346-351.
- Abramson, D., Mills, J. T. & Sinha, R. N. (1990). Mycotoxin production in amber durum wheat stored at 15 and 19% moisture content. *Food Add. Contam.* 7, 617-627.
- Abramson, D., Richter, W., Rintelen, J., Sinha, R. N. & Schuster, M. (1992). Ochratoxin A production in Bavarian cereal grains stored at 15 and 19% moisture content. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 24, 259-265.
- Agarwal, B. K. (1991). *X-ray absorption spectroscopy*. 2nd edn., Springer-Verlag, Berlin.
- Amend, T. & Belitz, H.-D. (1989). Microscopical studies of water/flour systems. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 189, 103-109.
- Backes, F. (1999). *Untersuchungen zur mikrobiologischen und mykotoxikologischen Qualität von Triticum aestivum (Winterweizen) aus Organischem Landbau als Rohstoff für Lebensmittel unter besonderer Berücksichtigung von Deoxynivalenol*. PhD thesis, University of Bonn, Germany.
- Behrens, P. (1992). X-ray absorption spectroscopy in chemistry. I. Extended X-ray absorption fine structure. *Trends Anal. Chem.* 11, 218-222.
- Birzele, B., Prange, A. & Krämer, J. (2000a). Deoxynivalenol and ochratoxin A in German wheat and change of levels in relation to storage parameters. *Food Add. Contam.* 17, 1027-1035.
- Birzele, B., Prange, A., Schönling, J. & Krämer, J. (2000b). Development of deoxynivalenol contents in relation to PCR detection of potentially trichothecene producing *Fusarium* spp. during storage of wheat. *Mycotox. Res.* 16A, 46-49.
- Bockmann, H. (1984). Qualität und Backfähigkeit von Weizen mit *Septoria nodorum* Berk. und *Fusarium culmorum* Link. *Nachrichtenbl. Dt. Pflanzenschutzdienst* 36, 5-10.
- Bruce, D. M. & Ryniecki, A. (1991). Economic methods of cereal grain drying to prevent spoilage and loss of quality. In: Chelkowski, J. (ed.). *Cereal grain: Mycotoxins, Fungi and Quality in Drying and Storage*, Elsevier, New York, USA, pp. 477-527.
- Chauvistré, R., Hormes, J., Brück, D., Sommer, K. & Engels, H.-W. (1992). Structural analysis of sulfur in rubber by X-ray absorption near edge spectroscopy (XANES). *KGK* 45, 808-813.
- Clear, R. M. & Patrick, S. K. (2000). *Fusarium* head blight pathogens isolated from *Fusarium*-damaged kernels of wheat in western Canada, 1993-1998. *Can. J. Plant Pathol.* 22, 51-60.
- Desjardins, A. E., Proctor, R. H., Bai, G., McCormick, S. P., Shaner, G., Buechley, G. & Hohn, T. M. (1996). Reduced virulence of trichothecene-nonproducing mutants of *Giberella zeae* in wheat field tests. *Mol. Plant Microbe Interact.* 9, 728-736.

- DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft (1990). *Ochratoxin A: Vorkommen und toxikologische Bewertung*. Mitteilung XII der Senatskommission zur Prüfung von Lebensmittelinhalts- und -zusatzstoffen, VCH-Verlagsgesellschaft, Weinheim.
- Doohan, F. M., Weston, G., Rezanoor, H. N., Parry, D. W. & Nicholson, P. (1999). Development and use of a reverse transcription-PCR assay to study expression of *trf5* by *Fusarium* species *in vitro* and *in planta*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 3850-3854.
- EU, Europäische Union (2002). Verordnung (EG) Nr. 472/2002 der Kommission vom 12. März 2002 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 466/2001 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln. *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften* 16.03.2002, L75/18-20.
- Ewart, J. A. D. (1972). A modified hypothesis of the structure and rheology of glutenins. *J. Sci. Food Agric.* 23, 687-699.
- George, G. N. (1993). X-ray absorption spectroscopy of light elements in biological systems. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 3, 780-784.
- Graveland, A., Bosveld, P., Lichtendonk, W. J., Marseille, J. P., Moonen, J. H. E. & Scheepstra, A. (1985). A model for the molecular structure of glutenins from wheat flower. *J. Cereal Sci.* 3, 1-16.
- Grosch, W. & Wieser, H. (1999). Redox reactions in wheat dough as affected by ascorbic acid. *J. Cereal Sci.* 29, 1-16.
- Harris, L. J., Desjardins, A. E., Plattner, R. D., Nicholson, P., Butler, G., Young, J. C., Weston, G., Proctor, R. H. & Hohn, T. M. (1999). Possible role of trichothecene mycotoxins in virulence of *Fusarium graminearum* in maize. *Plant Dis.* 83, 954-960.
- Kang, Z. & Buchenauer, H. (1999). Immunocytochemical localization of *Fusarium* toxins in infected wheat spikes by *Fusarium culmorum*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 55, 275-288.
- Kieffer, R. & Belitz, H.-D. (1981). Molekulargewichte von Kleberproteinen des Weizens. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 172, 96-99.
- Köhler, P., Belitz, H.-D. & Wieser, H. (1991). Disulphide bonds in wheat gluten: Isolation of cystine peptide from glutenin. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 192, 234-239.
- Krämer, J. (1997). *Lebensmittel-Mikrobiologie*. 3rd edn., Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart.
- Langseth, W., Stenwig, H., Stogn, L. & Mo, E. (1993). Growth of moulds and production of mycotoxins in wheat during drying and storage. *Acta Agric. Scand., Sect. B, Soil and Plant Sci.* 43, 32-37.
- Meyer, D., Weipert, D. & Mielke, H. (1986). Beeinflussung der Qualität von Weizen durch den Befall mit *Fusarium culmorum*. *GMB* 3, 67-70.
- Miedaner, T. & Reinbrecht, C. (2001). Trichothecene content of rye and wheat genotypes inoculated with a deoxynivalenol- and a nivalenol-producing isolate of *Fusarium culmorum*. *J. Phytopathol.* 149, 245-251.
- Muthomi, J. W., Schütze, A., Dehne, H.-W., Mutitu, E. W. & Oerke, E.-C. (2000). Characterization of *Fusarium culmorum* isolates by mycotoxin production and aggressiveness to winter wheat. *J. Plant Dis. Protec.* 107, 113-123.
- Niessen, M. L. & Vogel, R. F. (1997). Specific identification of *Fusarium graminearum* by PCR with *gaoA* targeted primers. *Syst. Appl. Microbiol.* 20, 111-113.
- Niessen, M. L. & Vogel, R. F. (1998). Group specific PCR-detection of potential trichothecene-producing *Fusarium*-species in pure cultures and cereal samples. *Syst. Appl. Microbiol.* 21, 618-631.
- Palti, J. (1978). Toxigenic Fusaria, their Distribution and Significance as Causes of Disease in Animal and Man. *Acta phytomedica*, Vol. 6, Paul Parey, Berlin.
- Parry, D. W., Jenkinson, P. & McLeod, L. (1995). *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals: a review. *Plant Pathol.* 44, 207-238.
- Prange, A., Arzberger, I., Engemann, C., Modrow, H., Schumann, O., Trüper, H. G., Studel, R., Dahl, C. & Hormes, J. (1999). In situ analysis of sulfur in the sulfur globules of

- phototrophic sulfur bacteria by X-ray absorption near edge spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta* 1428, 446-454.
- Prange, A. Kühlsen, N., Birzele, B., Arzberger, I., Hormes, J., Antes, S. & Köhler, P. (2001). Sulfur in wheat gluten: In situ analysis by X-ray absorption near edge structure (XANES) spectroscopy. *Eur. Food Res. Technol.* 212, 570-575.
- Proctor, R. H., Hohn, T. M. & McCormick, S. P. (1995). Reduced virulence of *Giberella zeae* caused by disruption of a trichothecene toxin biosynthetic gene. *Mol. Plant Microbe Interact.* 8, 593-601.
- Rotter, B. A., Prelusky, D. B. & Pestka, J. J. (1996). Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). *J. Toxicol. Environ. Health* 48, 1-34.
- Scudamore, K. A., Patel, S. & Breeze, V. (1999). Surveillance of stored grain from the 1997 harvest in the United Kingdom for Ochratoxin A. *Food Add. Contam.* 16, 281-290.
- Shewry, P. R. & Mifflin, B. J. (1985). Seed storage proteins of economically important cereals. In: Pomeranz, Y. (ed.). *Advances in cereal science and technology*, Vol. VII. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minn., pp. 1-83.
- Shewry, P. R. & Tatham, A. S. (1997). Disulphide bonds in wheat gluten proteins. *J. Cereal Sci.* 25, 207-227.
- Shewry, P. R., Tatham, A. S., Forde, J., Mifflin, B. J. & Kasarda, D. D. (1984). The primary structures, conformations and aggregation properties of wheat gluten proteins. In: Graveland, A., Moonen, J. H. E. (eds.). *Gluten Proteins 1984*, Wageningen, NL, pp. 51-58.
- Kriegan, E. (1989). Risiken bei der Nacherntebehandlung von Getreide. *Mühle+Mischfuttertechnik* 39, 560-561.
- Kriegan, E. (1995). Aufbereitung und Lagerung von Körnerfrüchten. Teil 4: Aufbereitung und Lagerung von Körnerfrüchten. *Mühle+Mischfuttertechnik* 23, 391-396.
- Snijders, C. H. A. (1990). *Fusarium* head-blight and mycotoxin contamination of wheat, a review. *Neth. J. Plant Pathol.* 96, 187-198.
- Spicher, G., Röcken, W. & Schmidt, H. L. (1997). Getreide und Getreidemahlerzeugnisse. In: Müller, G., Holzappel, W., Weber, H. (eds.). *Mikrobiologie der Lebensmittel. Lebensmittel pflanzlicher Herkunft*. Behr's Verlag, Hamburg, pp. 231-260.
- Strehler, A. (1993). Getreidetrocknung und Getreidelagerung. In: Hydro Agri Dülmen GmbH (ed.). *Faustzahlen für Landwirtschaft und Gartenbau*, Landwirtschaftsverlag, Münster-Hiltrup, pp. 512-519.
- Weinert, J. & Wolf, G. A. (1995). Gegen Ährenfusariosen helfen nur resistente Sorten. *Pflanzenschutzpraxis* 2/1995, 30-33.
- Wieser, H., Seilmeier, W. & Belitz, H.-D. (1991). Klassifizierung der Proteinkomponenten des Weizenklebers. *GMB* 45, 35-38.
- Wolff, J. (1995). Zum Vorkommen von Mykotoxinen in Getreide. *GMB* 49, 139-147.
- Wolff, J. & Richter, W. I. S. (1993). Untersuchungen an Getreide auf Ochratoxin A. *Mühle+Mischfuttertechnik* 130/1993, 243-246.
- Wrigley, C. W. & Békés, F. (1999). Glutenin-protein formation during the continuum from anthesis to processing. *Cereal Foods World* 44, 562-565.



Der Einsatz eines NIRS-Netzwerkes als Grundlage für Qualitätsentscheidungen in Sortenversuchen

Peter Tillmann¹, Dirk Rentel²

¹Verband deutscher landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten, Kassel

²Bundessortenamt, Hannover

The use of a network of NIRS instruments as the methodological basis for quality decisions in variety trials

Abstract: For the quality determination on forage maize samples from variety trials a network of NIRS instruments was setup by VDLUFA, Bundessortenamt, the participating plant breeders and laboratories. In the network a quality control system was installed to achieve reliable results. Here the results of validation from the years 1998 to 2000 and the ringtest from 1999 are presented. The SEP for starch and cellulase (Elos) and 2% TM, for crude fiber 1,5% TM and for crude protein 0,5% TM. In the ringtest the repeatability from the reference methods can hardly be achieved but the reproducibility of the NIRS determinations are equal or better than those of the reference methods.

VDLUFA Qualitätssicherung NIRS/NIT, Am Versuchsfeld 13, D-34128 Kassel,
peter.tillmann@vdlufa.de

Mit der Ernte 1998 hat das Bundessortenamt (BSA) erstmals Ergebnisse der Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) als Grundlage für Sortenentscheidungen aus Wertprüfungen (WP) bei Silomais anerkannt. Die NIRS-Geräte werden hierzu in Form eines Netzwerkes geführt. Zur Absicherung der analytischen Ergebnisse der Nahinfrarotspektroskopie hat der VDLUFA ein Qualitätssicherungssystem für die NIRS aufgebaut. Erfahrungen mit der Präzision der Nahinfrarotspektroskopie aus den letzten Jahren werden hier zusammengefaßt. Das analytische System der NIRS wird auch für die Sortenbeurteilung in Landessortenversuchen (LSV) und EU-Prüfungen (EUP) des Deutschen Maiskomitees (DMK) verwendet.

Untersuchungsmatrix und -aufgabe

Sortenversuche zum Silomais werden vom BSA oder im Auftrag des BSA in ca. 90 Versuchsanlagen in Deutschland durchgeführt. Hinzu kommen LSV und EUP des DMK. Deutschlandweit werden ca. 35.000 Silomaisproben in Sortenversuchen geerntet, die auf 25 NIRS-Geräten gemessen werden (Abbildung 1).

Die mittels NIRS festgestellten Qualitätseigenschaften fließen im Sortenzulassungsverfahren des BSA in die Entscheidung über den landeskulturellen Wert bzw. bei LSV und EUP in Sortenempfehlungen ein. Im gegenwärtigen Maissortiment differenzieren die Sorten bei Elos (enzymlösliche organische Substanz) um ca. 5%-Punkte und im Stärkegehalt um ca. 10%-Punkte.

NIRS-Netzwerk

NIRS-Geräte erlauben die Nutzung einer einheitlichen Kalibrierung, wenn die Geräte vorab aufeinander angepaßt wurden. Für das Silomais-Netzwerk wird dies durch eine Standardisierung der Geräte mittels Spektrenanpassung erreicht (Tillmann 1999). Die im Netzwerk eingesetzte Kalibrierfunktion wurde maßgeblich von FAL Braunschweig und VDLUFA unter Förderung des DMK erstellt und erlaubt für das Sortenwesen die Bestimmung der in Tabelle 1 angegebenen Merkmale. Weitere Merkmale (IVDOM, ADF, NDF, Zucker) werden im Netzwerk für z.B. Züchtungszwecke bestimmt.

Qualitätssicherung

Im Rahmen der Entwicklungsarbeiten zu dem NIRS-Netzwerk an der FAL Braunschweig und des laufenden Betriebs wurde großer Wert darauf gelegt, den Einfluß der Probenvorbereitung auf die NIRS-Ergebnisse zu minimieren (Degenhardt 1996). Dies wurde durch eine Standardisierung der Proben-vorbereitung erreicht, die in einer Arbeitsanleitung mündete, welche die bekannten Einflußgrößen darstellt und harmonisiert (VDLUFA 2000).

Zur Qualitätssicherung werden jährlich zentrale Validierungen und Ringversuche durchgeführt. Für die Validierungen werden mindestens 100 Proben im zentralen Referenzlabor des Netzwerks mit den Referenzmethoden untersucht (Tabelle 1). Mit der Validierung wird die Abweichung der NIRS-Analysergebnisse von den Ergebnissen der Referenzmethoden bestimmt und als Standardfehler (SEP) dargestellt.

Für die Ringversuche wurden 1999 4 Proben zentral vermahlen, geteilt und versandt. Mit den Ringversuchen wird die Präzision der NIRS-Analysen im Netzwerk bestimmt (Wiederholung und Vergleichbarkeit). Für die NIRS-Messungen wurden je 2 Proben fein- und vorvermahlen verschickt, d.h. die Endvermahlung wurde für 2 der 4 Proben jeweils vor Ort durchgeführt.

Tabelle 1: Silomais-Netzwerk-Kalibrierung

	Einheit	Bereich	Basis	Methode
Stärke	% TM	0-47	1988-95	7.2.1
Elos	% TM	38-80	1993-95	6.6.1
Rohfaser	% TM	13-36	1993-95	6.1.1
Rohprotein	% TM	5-12	1988-95	4.1.1

Bereich: Gültigkeitsbereich der Kalibrierung

Basis: Erntejahre der Kalibrierproben

Methode: VDLUFA-Methodenbuch Bd.III (1997)

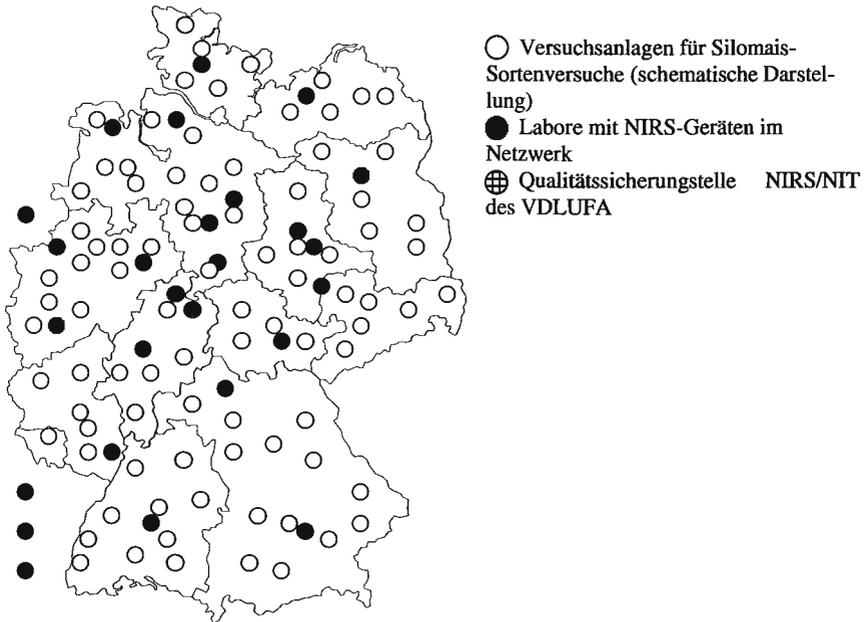


Abbildung 1: Versuchsanlagen von Silomais-Sortenversuchen in Deutschland, Labore im Netzwerk und Qualitätssicherungsstelle für das Netzwerk

Ergebnisse

Validierungen Ernte 1998-2000

In Tabelle 2 werden die Standardfehler der NIRS-Methode (SEP) aus der Validierungen der Jahre 1998 bis 2000 zusammengefaßt. Grob skizziert liegen die SEP für die Bestimmung der Stärke und Elos bei 2 % TM, für Rohfaser bei 1,5 % TM und für Rohprotein bei 0,5% TM.

Tabelle 2: SEP aus den Validierungen der Jahre 1998-2000

	Einheit	1998	1999	2000
Stärke	% TM	1,98	2,06	1,45
Elos	% TM	2,39	1,94	1,67
Rohfaser	% TM	1,37	1,71	1,38
Rohprotein	% TM	0,70	0,54	0,52

Tabelle 3: Wiederhol- (s_r) und Vergleichstandardabweichung (s_R), Ringversuch 1999

	Einheit	s_r	s_R
Stärke	% TM	0,5-0,9 (0,2)	0,9-1,2 (0,8-1,3)
Elos	% TM	0,3-0,8 (0,5-0,6)	0,6-0,9 (1,4)
Rohfaser	% TM	0,3-0,5 (0,3)	0,8-1,1 (0,7-1,0)
Rohprotein	% TM	0,1 (<0,1)	0,2(0,2)

24 Labore mit NIRS-Bestimmungen

Werte in Klammern: Ergebnisse für Referenzmethoden aus dem gleichen Ringversuch, aber nur die 2 zentral feinvermahlenden Proben (12 Labore)

Ringversuch 1999

Die im Ringversuch 1999 bestimmten Wiederhol- und Vergleichbarkeiten sind in Tabelle 3 angegeben. Bei den Spannweiten ist die größte Wiederholstandardabweichung bei der NIRS-Bestimmung jeweils einer grobvorvermahlenden Probe zuzuordnen. Die anderen Proben lagen am unteren Ende der Spannweite. Zusammengefaßt erreicht die NIRS-Methode nur knapp die Wiederholbarkeit der Referenzmethoden, ist aber in der Vergleichbarkeit den Referenzmethoden ebenbürtig oder besser (Elos).

Zusammenfassung

Mit dem hier vorgestellten Netzwerk von NIRS-Geräten für die Qualitätsbestimmung von Silomaisproben ist eine leistungsfähige Analytik für das Sortenwesen aufgebaut worden, die die Aufgabe der Differenzierung zwischen den Sorten/Linien kostengünstig erlaubt.

Dank

Der Dank gilt besonders Prof. Christian Paul, FAL Braunschweig und den zuständigen Mitarbeitern in BSA, in den Länderdienststellen und beteiligten Zuchtfirmen.

Literatur

Degenhardt, H. (1996): Landbauforschung Völkenrode, Sh 163.

Tillmann, P. (1999): 34. DGQ-Jahrestagung, 22.-23.03.99 Freising. S. 79-84.

VDLUFA (1997): VDLUFA-Methodenbuch Bd. III. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA-Verlag, Darmstadt.

VDLUFA (2000): www.vdlufa.de/nirs/qs/qs_sm.pdf



Getreide- und Stärkeanalytik mit züchtungsrelevanten rheologischen Methoden

Jansen, G.; Flamme, W.

Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen,
Institut für Stressphysiologie und Rohstoffqualität, Groß Lüsewitz

Analysis of cereals and starches using breeding relevant rheological methods

Abstract: *The investigation of rheological properties of cereals and starches was carried out with breeding relevant methods to characterize their possible uses in food, feed and non food. A cylinder rheometer (PHYSIKA) with modified measuring system was used to record the swelling properties of non starch polysaccharides and to analyze gelatinization and pasting properties of starches. Starch pastes were characterized according to their flow behaviour in technical relevant shear rate and temperature regions. Typical rheological parameters were determined with very low amounts of material and with the classical cylinder device results with physical defined units are obtained.*

Gisela Jansen Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Stressphysiologie und Rohstoffqualität, Rudolf-Schick-Platz 3, 18190 Groß Lüsewitz

Die Quelleigenschaften von Nichtstärkepolysacchariden (vorwiegend Pentosane und β -Glucane) von Getreide wurden mit einem modifizierten Rotationsviskosimeter (Fa. Physica) bestimmt. Mit 1,5 g Schrot konnten unterhalb der Verkleisterungstemperatur von Stärken Quellkurven aufgenommen werden, die sowohl Aussagen zum Quellvermögen der Nichtstärkepolysaccharide als auch zum Einfluss von getreideeigenen Enzymen auf die Viskosität ermöglichen.

Das modifizierte Rotationsviskosimeter wurde ebenfalls zur Analyse der Verkleisterungs- und Pasteneigenschaften von Getreide- und Kartoffelstärken eingesetzt. Mit 0,5 g Schrot und weniger als 0,5 g Stärke, d. h. sehr geringen Probemengen, wurden Verkleisterungskurven aufgenommen, die die rheologischen Eigenschaften von Schrot- und Stärkesuspensionen während technologischer Verarbeitungsprozesse beschreiben. Die typischen Messparameter wie Verkleisterungsbeginn, Verkleisterungsmaximum und Temperatur im Maximum sowie Temperatur- und Scherbeständigkeit der verkleisterten Stärke und das Dickungsverhalten während der Abkühlphase lassen sich reproduzierbar mit Angabe von exakten physikalischen Einheiten ermitteln.

Darüber hinaus ist es möglich, mit dem Rotationsviskosimeter die Fließeigenschaften von Stärkepasten in technisch relevanten Schergeschwindigkeitsbereichen zu untersuchen.

Insbesondere bei Getreidestärke mit züchterisch deutlich verändertem Gehalt der Stärkekomponenten Amylose und Amylopektin kommt es zu erheblichen Veränderungen in den rheologischen Eigenschaften, die wiederum neue Möglichkeiten der Verarbeitung und Produktqualität im Nahrungs-, Futter- und Industriebereich eröffnen. Nachfolgend sollen an

ausgewählten Beispielen verschiedene rheologische Methoden zur züchtungsrelevanten Analyse von Getreide dargestellt werden.

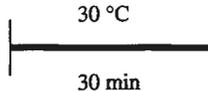
Quellkurven von Getreideschrot

Prinzip: Von einer Getreideschrot-Wasser-Suspension wird über einen Zeitraum von 30 min bei 30 °C und konstanter Schergeschwindigkeit die Schubspannung in Pa gemessen.

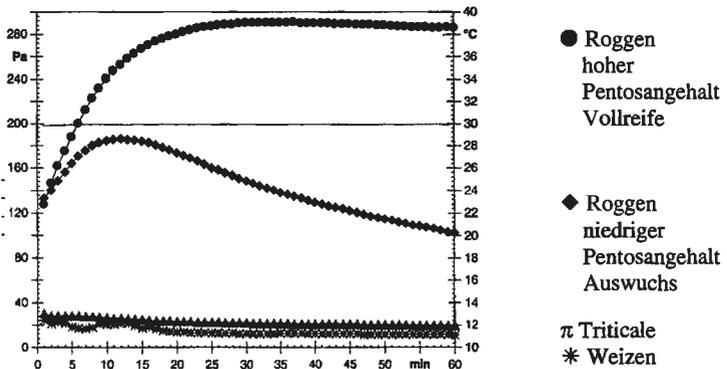
Anwendung: Bestimmung der Quelleigenschaften von Nichtstärkepolysacchariden im Getreideschrot. Messung des Einflusses von getreideeigenen Enzymen auf das Quellvermögen der Quellstoffe.

Einwaage: Schrot: 1,5 g/3,5 ml Wasser , Konzentration: 42,86 %ig, Schergeschwindigkeit: 100 [1/s], Zeit: 30 min

Temperatur-Profil:



Beispiel: Getreideschrot



Schnellamylogramm von Schrot und Stärke

Prinzip: Von einer Stärke- oder Getreideschrot-Suspension wird bei 95 °C über einen Zeitraum von 12 min die Schubspannung in Pa bei konstanter Schergeschwindigkeit gemessen.

Anwendung: Indirekte Bestimmung der α -Amylaseaktivität im Getreideschrot.

Bestimmung des 1. Verkleisterungsmaximums von Stärke.

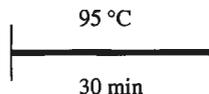
Einwaage: Schrot: Getreide 550 mg/4 ml Wasser, Stärke: Getreide 350 mg/4 ml Wasser, Stärke: Kartoffel 225 mg/4 ml Wasser

Konzentration: Schrot: Getreide 13,75 %ig, Stärke: Getreide 8,75 %ig, Stärke: Kartoffel 5,63 %ig

Schergeschwindigkeit: 350 [1/s]

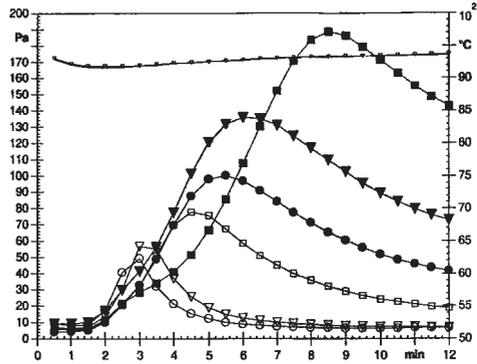
Zeit: 12 min

Temperatur-Profil:



Beispiel: Roggenschrot

- Vollreife
-
- θ
- Auswuchs
-
- σ



Verkleisterungskurven von Stärke und stärkehaltigen Proben

Prinzip: Stärke- oder stärkehaltige Suspensionen werden mit konstanter Heizrate auf 95 °C aufgeheizt. Nach einer Phase mit konstanter Temperatur wird die Probe mit gleicher Rate auf 55 °C abgekühlt und bei 55 °C konstant gehalten. Die Messung der Schubspannung erfolgt in Pa bei konstanter Schergeschwindigkeit.

Anwendung: Beschreibung der rheologischen Eigenschaften von stärkehaltigen Nahrungsmitteln und Industriestoffen während technologischer Verarbeitungsprozesse.

Messung der Verkleisterungseigenschaften von Stärke, wie Verkleisterungsbeginn, Verkleisterungsmaximum und Temperatur im Maximum sowie Temperatur- und Scherbeständigkeit der verkleisterten Stärke und Messung des Dickungsverhaltens während der Abkühlphase.

Einwaage: Schrot: Getreide, 550 mg/4 ml Wasser; Stärke: Getreide, 450 mg/4 ml Wasser;

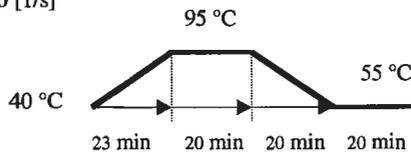
Stärke: Kartoffel, 180 mg/4 ml Wasser

Konzentration: Schrot: Getreide, 13,75 %ig; Stärke: Getreide, 11,25 %ig; Stärke: Kartoffel, 4,50 %ig

Schergeschwindigkeit: 350 [1/s]

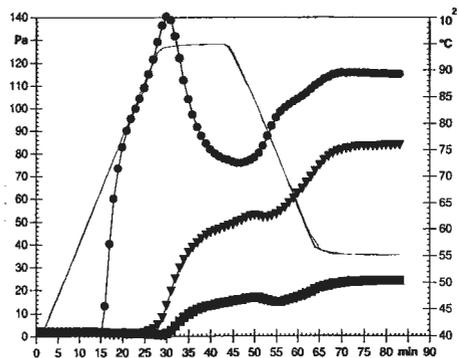
Zeit: 1 h 23 min

Temperatur-Profil:



Beispiel: Gerstenstärke

- < 5 % Amylose
- θ 25 % Amylose
- 35 % Amylose



Fließkurven von verkleisterter Stärke

Prinzip: Von verkleisterter Stärke wird bei konstanter Temperatur und vorgegebener Schergeschwindigkeit die Schubspannung in Pa gemessen. Die Schergeschwindigkeit wird langsam erhöht und anschließend wieder auf den Ausgangswert gesenkt.

Anwendung: Ermittlung von Fließeigenschaften in technisch relevanten Schergeschwindigkeitsbereichen. Beschreibung des pseudoplastischen Fließverhaltens von Stärkekleistern. Messung von Thixotropie bzw. Rheopexie während der Erhöhung der Schergeschwindigkeit (Belastungsphase) und Senkung der Schergeschwindigkeit (Entlastungsphase).

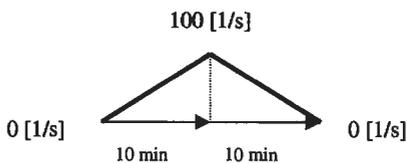
Einwaage: Schrot: Getreide, 550 mg/4 ml Wasser; Stärke: Getreide, 450 mg/4 ml Wasser; Stärke: Kartoffel, 180 mg/4 ml Wasser

Konzentration: Schrot: Getreide, 13,75 %ig; Stärke: Getreide, 11,25 %ig ; Stärke: Kartoffel, 4,50 %ig

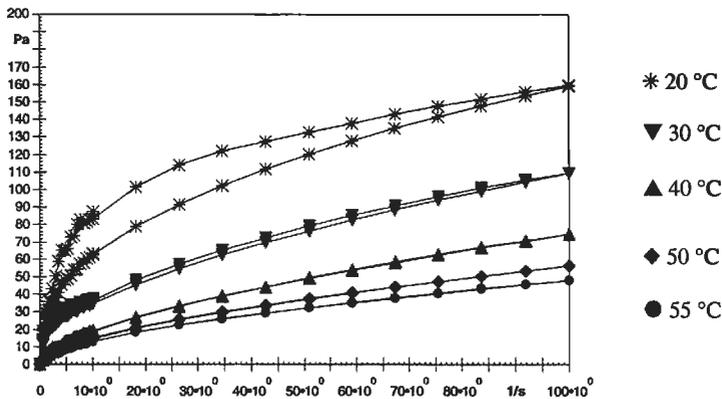
Temperatur: isotherm

Zeit: 20 min

Schergeschwindigkeits-Profil:



Beispiel: Verkleisterte Gerstenstärke





Instrumentelle und sensorische Analyse der Aromastoffe von gekochtem Spargel (*Asparagus officinalis* L.)

D. Ulrich und E. Hoberg

Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenanalytik

*Instrumental and sensory analysis of aroma compounds in boiled asparagus (*Asparagus officinalis* L.)*

Abstract: *The volatile compounds of cooked asparagus were analysed with the aid of gas chromatography in combination with five different detectors - MSD, PND, AED, FID and human nose (GCO). A totality of 36 odourants were identified by mass spectrometry supported by element specific detection. This study especially demonstrates the importance of nitrogen and sulphur compounds for the aroma impression. The inclusion of samples from different genotypes should provide information about the variability of aroma compounds in dependence of the genetic background.*

Corresponding author: Dr. D. Ulrich; BAZ, Institut für Pflanzenanalytik, Neuer Weg 22/23, D-06484 Quedlinburg, Germany; E-mail: d.ulrich@bafz.de

1. Einleitung

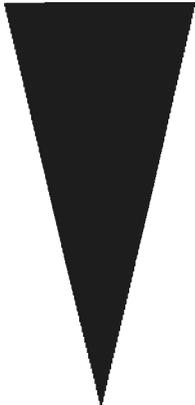
Gekochter Spargel zeichnet sich durch einen besonderen Geschmack aus, der durch Zucker, Bitterkomponenten und eine größere Zahl von Aromastoffen gebildet wird. Humansensorische Untersuchungen zeigten, dass für die einzelnen Parameter Textur, Bitterkeit, Süße und Aroma vom Verbraucher in der in Tabelle 1 aufgeführten Rangfolge bewertet werden [1]. Die sensorische Qualität wird sowohl vom Klima, den Anbaubedingungen und der Nacherntetechnologie als auch von der Sortenwahl bestimmt. Bei Erzeugern und Pflanzenzüchtern besteht aus diesem Grunde ein Bedarf an objektiven Kriterien, nicht nur für äußere Merkmale, sondern auch für die sensorische Qualität. Ziel der hier vorgestellten Arbeiten war die Bestimmung der Schlüsselkomponenten des Aromas von gekochtem weißen Spargel (character impact compounds, off-flavours), insbesondere deren Genotypabhängigkeit.

2. Material und Methoden

Das Pflanzenmaterial für die Analysen stammt aus einem Züchtungsexperiment bzw. dem Anbau der Südwestdeutschen Saatzucht AG, Saatzuchtstation Möringen (Altmark). Frischer Spargel wurde in einer modifizierten Likens-Nickerson-Apparatur (SDE) gekocht. Während des Garprozesses wurden die Aromastoffe mit Kaltron/Methylenchlorid extrahiert. Zur

Substanzidentifizierung und -quantifizierung wurde die Gaschromatographie in Kombination mit 5 unterschiedlichen Detektoren eingesetzt: massenspektrometrischer Detektor (MSD), Flammenionisationsdetektor (FID), stickstoffspezifischer Detektor (PND), Atomemissionsdetektor (AED) und Gaschromatographie-Olfaktometrie (GCO). Die gaschromatographischen Parameter waren für alle Instrumente identisch (INNOWax Säule 50 m Länge, 0,25 mm ID, 0,50 µm Schichtdicke). Für die GCO kam eine vergleichbare Säule mit 15 m Länge zur Begrenzung der Trennzeit zum Einsatz [2].

Tabelle 1: Die Komponenten des Flavours für gekochten, weißen Spargel. Die Bedeutung der einzelnen Parameter für den sensorischen Eindruck sinkt in absteigender Reihenfolge.

Bedeutung für den sensorischen Gesamteindruck (Flavour), schematisch	Sensorischer Parameter	Messmethodik	
	<p style="text-align: center;">Faserigkeit</p> <p style="text-align: center;">Bitterkeit Süße</p> <p style="text-align: center;">Aroma (Schlüssel- substanzen und Off-flavour)</p>	<p style="text-align: center;">Texturanalysen</p> <p style="text-align: center;">HPLC HPLC</p> <p style="text-align: center;">GC</p>	<div style="border-left: 1px solid black; border-right: 1px solid black; border-bottom: 1px solid black; padding: 5px;"> <p style="text-align: center;">Humansensorik (QDA)</p> </div>

3. Ergebnisse

Die nach der modifizierten SDE-Methode hergestellten Extrakte weisen den typischen Geruch von gekochtem Spargel auf. Sie enthalten eine Vielzahl von Aromastoffen in hoher Konzentration. Mit Hilfe der GC/MS können mühelos über 100 flüchtige Substanzen identifiziert werden. Insgesamt wurden 36 flüchtige Substanzen als Hauptkomponenten und sensorisch wichtige Verbindungen nachgewiesen [2]. Zur Auffindung der aromawirksamen Verbindungen kam die GCO zur Anwendung. In Tabelle 2 sind die Geruchsspektrumwerte (OSV) einer Neuzüchtung und der Elternsorten zusammengestellt. In der als sensorisch hochwertig eingeschätzten Sorte „Eposs“ wurden 12 starke Geruchseindrücke nachgewiesen. Die Variabilität im Kreuzungsexperiment ist jedoch nicht sehr hoch, d. h. das Grundmuster

des Aromagramms bleibt prinzipiell gleich. Lediglich der Geruchseindruck „stehend“ tritt nur im männlichen Elter auf.

Tabelle 2: Geruchsstoffe des gekochten Spargels, die mit Hilfe der Gaschromatographie-Olfaktometrie ermittelt in SDE-Extrakten von gekochtem, weißen Spargel identifiziert wurden. Ergebnisse von drei Spargelproben eines Kreuzungsexperiments: A – männlicher Elter; B – weiblicher Elter; C – A x B Hybrid F1 (cv. ‚Eposs‘)

Nr.	Geruch	Substanz	Relative OSV *		
			A	B	C
--	schweflig	unbekannt	5.7	3.0	1.4
6	warm, gekocht	S-Methyl thioacetat	9.1	8.2	0.9
7	Karamel	2,3-Pentandion	10.2	10.9	7.8
8	grün	Hexanal	14.5	10.3	13.1
9	unangenehm	Pyridine	6.8	5.0	0.0
17	Champignon	2,3-Octandion	22.1	40.8	28.7
20	nussig	2,6-Dimethyl pyrazin	15.7	43.2	11.0
22	grün,	2-Methoxy-3-isopropyl	100.0	48.7	54.0
25	Pflanzenkeim	pyrazin	21.5	5.5	15.2
26	Kaffee	2-Ethyl-3,5-dimethyl pyrazin	27.7	21.7	16.0
31	gekochte Kartoffel	3-(Methylthio) propanal	5.2	3.0	6.0
--	blumig	Phenyl acetaldehyd	4.8	0.0	0.0
	stehend	unbekannt			

* OSV: Geruchsspektrumwert. Die CHARM-Werte wurden mit Hilfe des Gesetzes von Stevens in OSV konvertiert ($\Psi = k\Phi^n$; k ist eine Konstante, n ist 0.5). Die Geruchsspektrumwerte wurden auf den intensivsten Wert aller Analysen normiert [3].

Zur Auffindung von Sortenunterschieden wurden deshalb zwei Sorten aus völlig unterschiedlichen Genpools untersucht („Gijnlim“ niederländische Sorte und „Vulkan“ deutsche Sorte). In Bild 1 sind die Geruchsspektren beider Sorten gegenüber gestellt. Auch hierbei zeigt sich, dass das Grundmuster des Aromas in beiden Sorten qualitativ relativ ähnlich ist. Lediglich im Bereich höherer Retentionszeiten treten Unterschiede in unangenehmen Geruchseindrücken (off-flavour) auf. Diese Off-flavour wurden als Dienale ((E,E)-2,4-Nonadienal, (E,E)-2,4-Decadienal, (E,Z)-2,4-Decadienal) identifiziert.

4. Schlussfolgerung

Die Studie belegt den Einfluss von stickstoff- und schwefelhaltigen Substanzen auf den Aromaeindruck. Neben der bekannten Schlüsselsubstanz Dimethylsulfid besitzen insbesondere Alkyl- und Alkoxy-pyrazine, Methylthioacetat, Methylthiopropional und Hexanal einen hohen Aromawert. Durch die Einbeziehung von Untersuchungsmaterial unterschiedlicher genetischer Herkunft konnte gezeigt werden, dass den Off-flavour-Komponenten besondere Bedeutung zukommt. Verschiedene 2,4-Dienale können einen unerwünschten, fettigen und ranzigen Geruch erzeugen.

Zur Entwicklung von Schnellmethoden für die Züchtungspraxis werden derzeit weitere Untersuchungen ausgeführt.

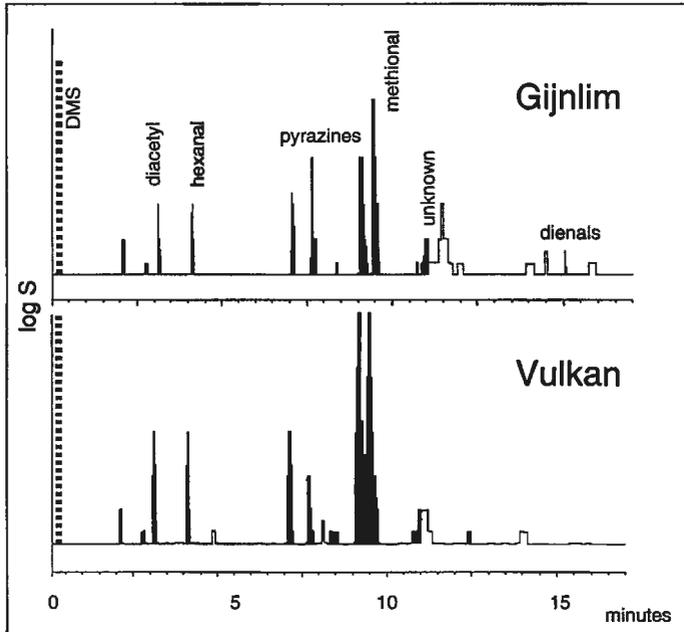


Abb. 1: Geruchsspektren von zwei Spargelsorten. Die sensorischen Beiträge der schwarz gekennzeichneten Peaks, den Schlüsselsubstanzen des Aromas, sind in beiden Sorten sehr ähnlich. Qualitative und quantitative Unterschiede bestehen hauptsächlich im Off-flavour-Gehalt (2,4-Dienale).

5. Literatur

- [1] ULRICH, D. and HOBERG, E. (2001): Flavor analysis in asparagus breeding. Proceedings of the 10th International Asparagus Symposium. Niigata, Japan. In press.
- [2] ULRICH, D.; HOBERG, E.; BITTNER, T.; ENGEWALD, W. and MEILCHEN, K. (2001): Contribution of volatile compounds to the flavor of cooked asparagus. Eur. Food. Res. Technol. 213: 200-204.
- [3] ULRICH, D. (1999): Hewlett-Packard, Peakinfo 2/99; [http:// www.chem.agilent.com/cag/country/de/analytic/index.html](http://www.chem.agilent.com/cag/country/de/analytic/index.html) und <http://www.chem.agilent.com/cag/servsup/usersoft/main.html>



Aroma-Monitoring mit Hilfe von Schnellmethoden in der Obst- und Gemüsezüchtung

D. Ulrich¹, E. Hoberg¹, T. Nothnagel², H. Roberg³ und H. Boularot³

¹ Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenanalytik;

² Institut für Gartenbauliche Kulturen, Quedlinburg; ³ Analyt GmbH, Müllheim Deutschland

Aroma monitoring by rapid methods for fruit and vegetable breeding

Abstract: *Rapid and reliable analysis methods are required to integrate objective criteria for sensory quality in plant breeding and quality control. Based on investigations of aroma patterns of carrots, strawberries and melons rapid methods for aroma analyses have been established. The topic of this paper is the application HS-SPME for volatile sampling, GC-FID or GC-MSD and the combination with chemometrical data treatment methods (so-called virtual electronic nose).*

Corresponding author: Dr. D. Ulrich; BAZ, Institut für Pflanzenanalytik, Neuer Weg 22/23, D-06484 Quedlinburg, Germany; E-mail: d.ulrich@bafz.de

1. Einleitung

Die Aromanalytik kann zum Erhalt und zur Verbesserung des Genusswertes in der Obst- und Gemüsezüchtung einen wichtigen Beitrag leisten. Auch im Bereich der Qualitätssicherung und Prozesskontrolle werden verstärkt instrumentelle Methoden zur Erfassung der sensorischen Qualität nachgefragt. Für die genannten Einsatzbereiche ist aber die Verfügbarkeit von einfachen und robusten Messmethoden unbedingte Voraussetzung.

Für derartige Problemstellungen in Züchtung, Qualitätssicherung und Prozesskontrolle ist oftmals charakteristisch, dass nur ein kleiner Anteil der flüchtigen Fraktion oder sogar nur einzelne Substanzen (sogenannte "flavour impact compounds" und "off-flavours") von Interesse sind. Häufig besteht in diesem Zusammenhang die Aufgabe lediglich darin, das Aromamuster einer Probe mit der eines Standards (z. B. einer Standardsorte bzw. einer Standardtechnologie) zu vergleichen. Die in Abbildung 1 dargestellte Kombination von leistungsfähigen Probenvorbereitungsmethoden, modernen chromatographischen Trennverfahren und stabilen Detektoren (FID, MSD) mit multivariaten statistischen Auswertemethoden (Mustererkennung) trägt dieser speziellen Problemstellung in besonderer Weise Rechnung [1,2].

2. Material und Methoden

Headspace-SPME als Probenvorbereitung: Bei der Nutzung der Headspace-SPME (HS-SPME) zur Extraktion von flüchtigen Inhaltsstoffen ist in Voruntersuchungen die Selektivität der Faser für die qualitätsbestimmenden Komponenten zu klären. Als Vorteile erweisen sich

die einfache Aufarbeitung der Proben (enzymstabilisiertes Homogenisat), die Extraktion ohne Lösungsmittel und die Automatisierbarkeit [3].

2.1 HS-SPME gekoppelt mit Fast-GC-FID

Bei der Verwendung des FID als Detektor zur Erzeugung von Peakmustern (Abb. 1) für Möhren ist die chromatographische Auftrennung mittels Fast-GC und eine Trennzeit von maximal 10 Minuten vorteilhaft. Den zeitlimitierenden Schritt stellt dann lediglich die Gleichgewichtseinstellung bei der Adsorption der Aromastoffe an der Faser dar.

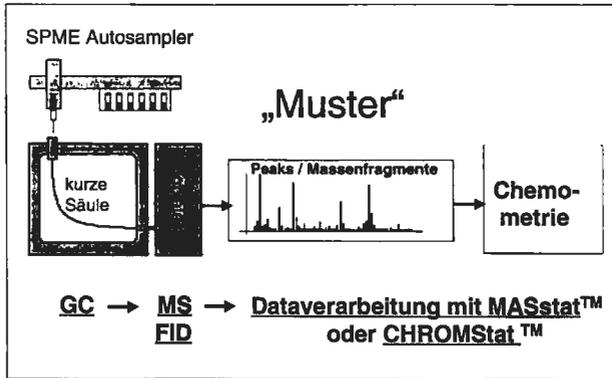


Abb. 1: Wirkprinzip von virtuellen elektronischen Nasen

2.2 HS-SPME gekoppelt mit MS-Sensor

Die Nutzung eines MSD zur Erzeugung von Fragmentmustern (Abb. 1) bei Melonenanalysen erfordert prinzipiell keine chromatographische Trennung. Die kurze GC-Säule stellt lediglich einen Restriktor für das Vakuum im Detektor dar.

3. Ergebnisse

3.1 Möhren

Das Retentionszeit-Peakflächenskelett wird in Zeitscheiben unterteilt (Abb. 2). Die Peakflächensummen innerhalb der Zeitscheiben stellen die Rohdaten für die chemometrische Auswertung dar. Während bei der üblichen Auswertung von Chromatogrammen nur ausgewählte Peaks quantifiziert werden können, gehen bei der Bewertung der Aromamuster mit der verwendeten Methode prinzipiell alle Peakflächen oberhalb eines gewählten Grenzwertes in die PCA ein.

Die Variabilität der Aromamuster von Sorten und Genbankakzessionen (Abb. 3) kann mit der angewendeten Schnellmethode effektiv bewertet werden. Die Ergebnisse werden zur Auswahl von Kreuzungseltern mit definierten Aromamustern in der Pflanzenzüchtung genutzt.

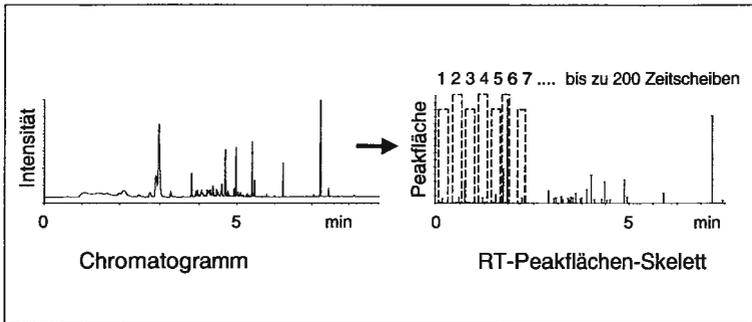


Abb. 2: Mustererzeugung aus einem Fast-GC-Chromatogramm - CHROMstat™ [4].

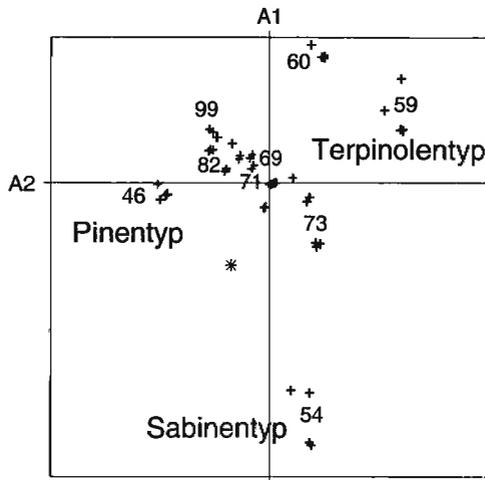


Abb. 3: Analyse von Kreuzungseltern in der Möhrenzüchtung - 2D-Plot einer modifizierten Hauptkomponentenanalyse.

3.2 Melonen

Die flüchtigen Bestandteile, die mit der SPME-Faser aus dem Headspace von Melonenhomogenisaten isoliert wurden, werden innerhalb von etwa 10 Minuten fast ohne chromatografische Trennung in den MSD überführt. Die in dieser Zeit ausgeführten Scans (ca. 1500) werden zu einem Fragmentmuster summiert (Abb. 4), das chemometrisch verarbeitet wird.

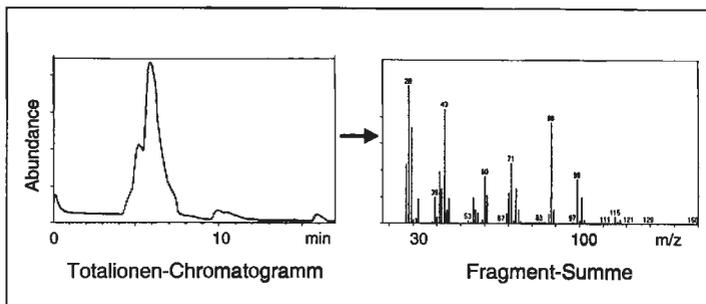


Abb. 4: Mustererzeugung mittels massenspektrometrischem Sensor - MASstat TM [4].

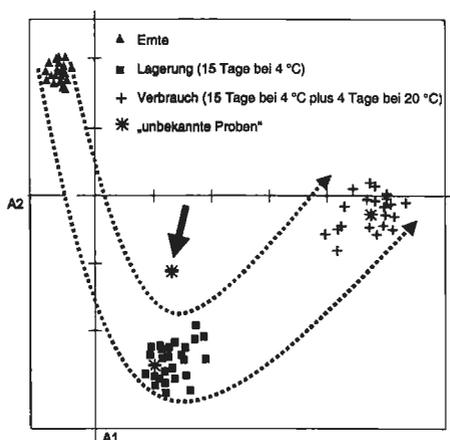


Abb. 5: Veränderung der Aromamuster bei der Melonenlagerung - 2D-Plot einer modifizierten Hauptkomponentenanalyse. Muster mit qualitätsgerechter Aromazusammensetzung befinden sich innerhalb des gestrichelten Korridors; die mit einem Pfeil gekennzeichnete Probe befindet sich ausserhalb des akzeptierten Bereichs.

Mit Hilfe der Schnellmethode (massenspektrometrischer Sensor) können die Aromamuster von Galiamelonen im Prozess der Nacherntebehandlungen gemessen werden. Die in Bild 5 dargestellte chemometrische Auswertung ermöglicht die Kontrolle des Reifeverlaufs und die Erkennung nicht qualitätsgerechter Proben [2].

4. Schlussfolgerungen

Mit den vorgestellten Analysemethoden liegen effektive und praktikable Verfahren zur Bewertung des Aromas, eines wichtigen Bestandteils der sensorischen Qualität, für die Pflanzenzüchtung und die Qualitätskontrolle vor. Mit beiden Kopplungstechniken sind bei Nutzung kommerzieller Technik minimale Analysenzeiten von 15 bis 20 Minuten je Probe erzielbar. Damit lassen sich die erforderlichen hohen Probenzahlen für die genannten Anwendungen realisieren.

5. Literatur

- [1] MARSILI, R.T. (1999): SPME-MS-MVA as an electronic nose for study of off-flavors in milk. *J. Agric. Food Chem.* 47, 648-654.
- [2] FALLIK, E.; ULRICH, D., SCHULZ, H. et al. Characterisation of Galia melon by GC and mass spectrometric sensor measurements after prolonged storage. *Postharvest Biol. Tech.* (2000) 22, 85-91.
- [3] PAWLISZIN, J.: *Solid Phase Microextraction. Theory and Practice.* Wiley-VCH. New York. 1997.
- [4] CHROMstatTM und MASstatTM sind Produkte der Firma Analyt-MTC GmbH Müllheim, Deutschland. Homepage: www.analyt-mtc.de

Danksagung

Das Melonenprojekt wurde im Rahmen der Deutsch-Israelischen Zusammenarbeit auf dem Gebiet der landwirtschaftlichen Forschung gefördert (Projekt Nr.: 8/96).



Entwicklung von NIRS-Kalibrierungen für die Bestimmung von Sinapoylverbindungen im Raps (*Brassica napus* L.)

Thomas zum Felde, Alfred Baumert*, Heiko C. Becker, Christian Möllers

Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Georg-August-Universität Göttingen,

*Institut für Pflanzenbiochemie Halle, Abteilung Sekundärstoffwechsel,

Development of NIRS-calibrations for sinapic acid esters in oilseed rape (*Brassica napus* L.)
*Sinapic acid esters are important antinutritional compounds in oilseed rape (*Brassica napus* L.). Because of their antinutritive nature, the high content of these compounds limits the use of oilseed rape meal as a source of high-quality protein for food production. The objectives of this work were to study the potential of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to determine the sinapic acid esters content in intact-seed samples and the identification of material with reduced levels of these compounds. Based on preliminary NIRS-calibrations a total of 382 samples were selected and analysed by HPLC as reference method. This set was used to develop calibration equations for sinapin, sinapoylglucose and for the total content of sinapic acid esters. In the present selected set of winter oilseed rape the total content of sinapic acid esters ranged from 0,3 to 1,3% in the seeds.*

Thomas zum Felde, Von-Siebold-Straße 8, 37075 Göttingen, E-Mail: tfelde@gwdg.de

Einleitung

Phenolsäuren kommen im Raps in freier, veresterter und unlöslich-gebundener Form vor und stellen Benzoe- und Zimtsäurederivate dar. Unter den löslichen Phenolsäuren stellen die veresterten Phenolsäuren mengenmäßig den größten Anteil, wobei der Cholinester der Sinapinsäure, das Sinapin (Abb. 1), die Hauptkomponente aller vorkommenden Sinapinsäureester im Rapskorn ausmacht. Andere Sinapinsäureverbindungen wie beispielsweise Sinapoylmalat kommen hingegen nur in vegetativen Pflanzenteilen vor und dienen dort vermutlich als UV-Schutz. Die Gehalte an Sinapoylverbindungen liegen in der Rapssaat im Vergleich zu anderen Ölsaaten sehr viel höher und verursachen den bitteren und adstringierenden Geschmack von Rapsproteinprodukten. Die im Rapskorn vorkommenden phenolischen Verbindungen gehen Komplexe mit dem Rapsprotein ein und vermindern dadurch seinen hohen ernährungsphysiologischen Wert. Sie führen weiterhin zu einer unansehnlich dunklen Farbe der Rapsproteinprodukte. Aus den genannten Gründen ist eine Verringerung des Polyphenolsäuregehaltes im Samen eine unabdingbare Voraussetzung für die Verwendung von Rapsprotein bei der Herstellung von Lebensmitteln.

Das Hauptziel der vorliegenden Untersuchungen ist die Entwicklung und Anwendung von NIRS (Near Infrared Reflectance Spectroscopy)-Gleichungen für Sinapoylverbindungen im

Rapskorn. Diese ermöglichen eine schnelle, preiswerte und zerstörungsfreie Untersuchung einer großen Probenzahl, wie sie in der Rapszüchtung ohnehin routinemäßig bei der Bestimmung von Öl, Protein und Glucosinolaten mittels NIRS anfallen. Weitere Ziele sind die Untersuchung der natürlichen Variabilität und die Identifizierung und Entwicklung von Genotypen mit verringertem Gehalt an den verschiedenen Sinapoylverbindungen.

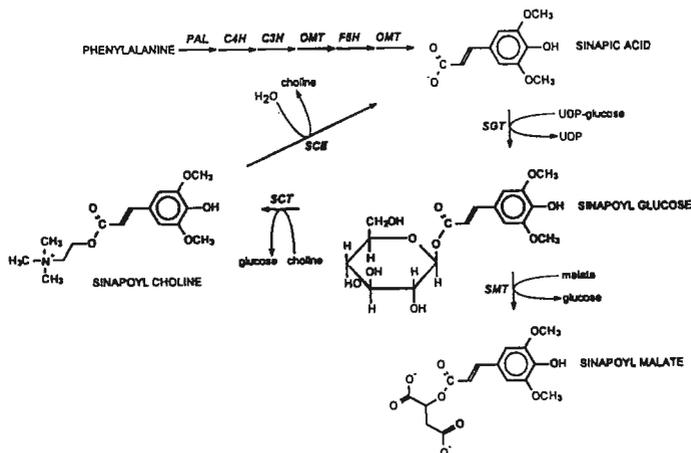


Abb.1: Biosyntheseweg des Cholinesters der Sinapinsäure (Sinapin) (Lorenzen *et al.*, 1996)

Material und Methoden

Ca. 60.000 NIRS-Spektren von Wintererbsensamenproben der Erntejahre 1999-2001 der Züchtungsfirmen Norddeutsche Pflanzenzucht (NPZ, Hohenlieth), Deutsche Saatveredelung (DSV, Lippstadt) und Material des Göttinger Instituts wurden zunächst mit der NIRS-Kalibrierung von Velasco *et al.* (1998) und dann mit weiteren nach und nach mit Hilfe der HPLC-Referenzanalytik entwickelten NIRS-Kalibrierungen ausgewertet. Dabei wurden die an den NIRS-Geräten der DSV und der NPZ aufgenommenen Spektren auf das Göttinger NIRS-Gerät standardisiert. Insgesamt wurden im Laufe der Auswertung der ca. 60.000 Spektren 382 Samenproben auf Grund von Herkunft, Erntejahr, spektraler Unterschiede (H-Werte) und extremer Gehalte an unterschiedlichen Sinapoylverbindungen ausgewählt und der HPLC-Referenzanalytik zugeführt. Die Spektren wurden mit den HPLC-Referenzergebnissen zusammenggeführt. Mit Hilfe der Software WINISI (Version 1.04) wurden NIRS-Kalibrierungen für Sinapin, Sinapoylglucose und den Gesamt-Sinapoylgehalt entwickelt.

Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse der HPLC-Analyse von ausgewählten 382 Samenproben zeigte, dass Sinapin eine genetische Variabilität von 0,3 bis 1,4% im Samen aufweist. Sinapoylglucose konnte mit 0,0 bis 0,7% im Samen nachgewiesen werden. Daneben wurden bis zu 8 weitere nicht näher charakterisierbare Sinapinsäureverbindungen in der Summe von 0,0 bis 0,4%, berechnet als Sinapinsäure, identifiziert. Für den Gesamt-Sinapoylgehalt konnte eine Variabilität von 0,3

bis 1,3%, berechnet als Sinapinsäure, ermittelt werden. Der niedrigste Wert von 0,3% konnte bei der Linie Skrzyszowicki 33-4 festgestellt werden, die aus einem Mutationsversuch mit der alten polnischen Sorte Skrzyszowicki (++) hervorgegangen ist. Im Mittel ergab sich für den Gesamt-Sinapoylgehalt ein Wert von 0,8%. Dies entspricht in etwa den Ergebnissen z.B. von Kräling *et al.* (1991), der eine Variationsbreite von 17,8 bis 71,9 $\mu\text{mol/g}$ Sinapoylster in entfettetem Samenmehl feststellen konnte. Auch Bouchereau *et al.* (1991) fanden eine Variabilität von 24,9 bis 47,4 $\mu\text{mol/g}$ Sinapinäquivalente im getrocknetem Samen bei einem Mittelwert von ungefähr 35 $\mu\text{mol/g}$ und Velasco *et al.* (1998) wiesen in Zuchtmaterial eine Variationsbreite von 5,0 bis 17,7 g/kg Sinapinsäureester im Samen nach. Abbildung 2 zeigt, dass die Hauptkomponente Sinapin (Sin) mit einem Anteil zwischen 35 und 95% aller Sinapinsäureester vorkommt. Der gefundene Mittelwert von 66% stimmt gut mit Ergebnissen von Kolodziejczyk *et al.* (1999) überein. Sinapoylglucose (SinGlc) konnte mit einem Anteil von 0 bis 45% (MW=13%) und die restlichen Sinapinsäureverbindungen (Rest) mit einem Gesamtanteil von 0 bis 50% (MW=20%) nachgewiesen werden.

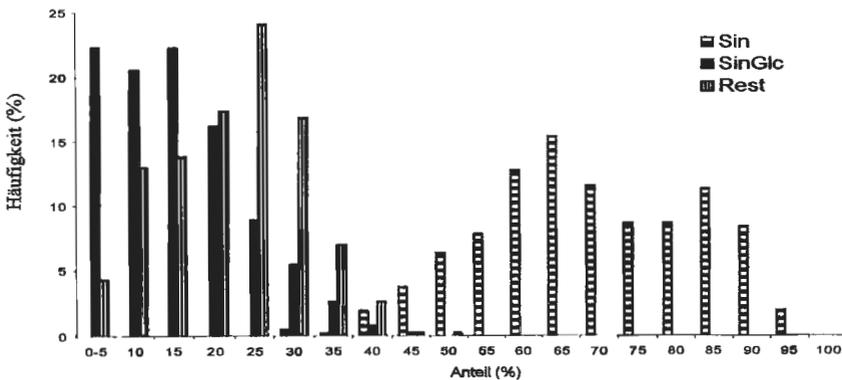


Abb.2: Sinapoyl-Zusammensetzung (n=382). Alle Komponenten berechnet als Sinapinsäure.

Basierend auf den HPLC-Daten konnten NIRS-Kalibrierungen für Sinapin, Sinapoylglucose und für die Summe aller Sinapinsäureverbindungen (Gesamt) entwickelt werden (Tab. 1). Vor der Entwicklung der Gleichungen wurden die Spektren mittels 'MPLS' (modified partial least square regression), 'SNV' (standard normal variate) und 'DETREND' transformiert. Es wurde mit den Wellenlängen von 1100–2400nm und der ersten (Sinapoylglucose), bzw. zweiten Ableitung (Sinapin, Gesamt) gearbeitet. Die Kalibrationsstatistik zeigt eine enge Beziehung zwischen der HPLC-Referenzmethode und den NIRS-Daten (Tab. 1). So wurde beispielsweise beim Sinapin ein Bestimmtheitsmaß in der Kalibrierung von 0,89 (RSQ) und in der Kreuzvalidierung von 0,81 (1-VR) erreicht. Dies entspricht etwa den Ergebnissen von Velasco *et al.* (1998). Der Standardfehler der Kreuzvalidierung (SECV) beträgt 0,6 mg Sinapin/g Samen bei einem Mittelwert von 7,9 mg/g. Abb. 3 zeigt exemplarisch einen Kalibrationsplot für den Gesamt-Sinapoylgehalt.

Tab.1: Kalibrationsstatistik

Constituent	N	Mean	SD	Est. Min	Est. Max	SEC	RSQ	SECV	1-VR
Sinapin	364	7.86	1.37	3.74	11.97	0.45	0.89	0.60	0.81
SinGlc	361	1.70	1.27	0.00	5.51	0.54	0.82	0.59	0.78
Gesamt	366	8.03	1.79	2.66	13.40	0.69	0.85	0.78	0.81

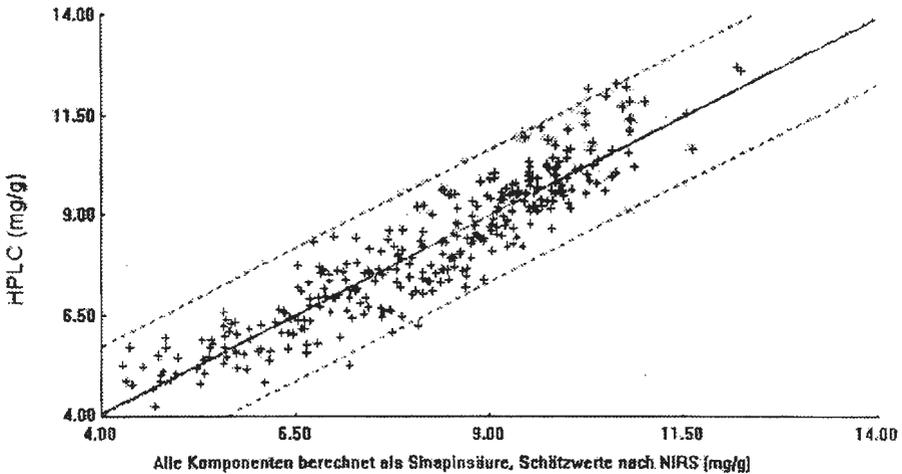


Abb. 3: Kalibrationsplot für den Gesamt-Sinapoylgehalt

Die Auswertung der Spektren von ca. 24.000 Rapsproben des Erntejahres 2001 mit Hilfe der entwickelten NIRS-Kalibrierungen ergab auch hier eine große Variabilität für den Gesamt-Sinapoylgehalt und für die Einzelkomponenten (Tab. 2).

Tab. 2: Variabilität der Sinapoylverbindungen (Ernte 2001, NIRS)

		Sinapin (%)	Sinapoylglucose (%)	Gesamt* (%)
NPZ (n=10400)	Min	0,31	0,12	0,40
	Max	1,05	0,54	1,26
	Mittelwert	0,67	0,31	0,81
DSV (n=11300)	Min	0,25	0,00	0,43
	Max	1,35	0,56	1,43
	Mittelwert	0,67	0,30	0,79
Göttingen (n=2550)	Min	0,38	0,00	0,41
	Max	1,33	0,58	1,38
	Mittelwert	0,82	0,24	0,89

(* berechnet als Sinapinsäure).

Zusammenfassung

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass mittels NIRS auch Inhaltsstoffe mit einem Gehalt von weniger als 1% im Rapskorn bestimmt werden können. Die Arbeiten haben gezeigt, dass die NIRS-Technologie zur Bestimmung von Sinapin, Sinapoylglucose und für die Summe aller Sinapinsäureverbindungen an intakter Rapssaat eingesetzt werden kann. Aufgrund der unerwünschten Eigenschaften der Sinapinsäureverbindungen erlauben die entwickelten Kalibrationsgleichungen den Züchtern eine Selektion von Genotypen mit reduzierten Gehalten in ihrem Zuchtmaterial. Der Einsatz der NIRS zur Bestimmung von Sinapinsäureverbindungen erfordert zudem keinen zusätzlichen Aufwand, da die NIRS

ohnehin routinemäßig zur Analyse von Öl, Protein, Glucosinolaten, und der Fettsäurezusammensetzung eingesetzt wird.

Danksagung

Wir danken dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) für die Unterstützung im Rahmen des Forschungsvorhabens „NAPUS 2000 - Gesunde Lebensmittel aus transgener Rapssaat“ (Förderkennzeichen 031225D).

Literatur

- Bouchereau, A., J. Hamelin, I. Lamour, M. Renard, F. Larher**, 1991 : Distribution of sinapine and related compounds in seeds of *Brassica* and allied genera. *Phytochemistry* 30, 1873-1881
- Kolodziejczyk, P., W. Xiaoyan, M. Marianchuk, L. Wanli, R. Amarowicz**, 1999: Phenolics In Rapeseed: Capillary Electrophoresis as a novel analytical method for detection of sinapine, sinapic acid esters and ferulates. 10th International Rapeseed Congress, Canberra (Australia)
- Kräling, K., G. Röbbelen, W. Thies**, 1991: Genetic Variation of the Content of Sinapoyl Esters in Seeds of Rape, *B. napus*. *Plant Breeding* 106, 254-257
- Lorenzen, M., V. Racicot, D. Strack, C. Chapple**, 1996: Sinapic Acid Ester Metabolism in Wild Type and a Sinapoylglucose-Accumulating Mutant of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 112, 1625-1630
- Reinhardt, T.-C.**, 1992: Entwicklung und Anwendung von Nah-Infrarot-spektroskopischen Methoden für die Bestimmung von Öl-, Protein-, Glucosinolat-, Feuchte- und Fettsäure-Gehalten in intakter Rapssaat. Dissertation Göttingen
- Velasco, L., B. Matthäus, C. Möllers**, 1998: Nondestructive Assessment of Sinapic Acid Esters in *Brassica* Species: 1. Analysis by Near Infrared Reflectance Spectroskopie. *Crop Science*, Vol.38, No.6
- Velasco, L., C. Möllers**, 1998: Nondestructive Assessment of Sinapic Acid Esters in *Brassica* Species: 2. Evaluation of Germplasm and Identification of Phenotypes with Reduced Levels. *Crop Science*, Vol.38, No.6
- zum Felde, T., H.C. Becker, C. Möllers**, 2002: Genetische Variation und Vererbung von Sinapoylverbindungen im Raps (*Brassica napus* L.). *Vorträge für Pflanzenzüchtung* 54, 449-452

Stichwortverzeichnis

Agrarpolitik	253	NIRS	323, 341
<i>Allium cepa</i>	163	Nitrat	101
Aminosäuren	215	Ökologischer Anbau	31, 75, 133, 167, 209, 215
antikanzerogene Wirkung	141	Pentosane	81
Apfel	189, 209, 215	Pharmakokinetik	245
Aroma-Monitoring	335	Proteine	97, 183, 215, 313
Aromastoffe	331	Qualitätsziele	1
Artischocke	153, 229	Quercetinglykoside	245
Ascorbinsäure	271	Raps	121, 341
<i>Asparagus officinalis</i>	331	Rapszüchtung	107
Backqualität	19, 265, 271	Reben	197
Bioaktive Inhaltsstoffe	11, 245	Roggen	19, 55, 81, 265
Bioverfügbarkeit	245	Schwefeldioxid	205
Bohne	159	Schwefelmangel	307
<i>Brassica napus</i>	341	Sinapoylverbindungen	341
Brotqualität	51	Sojabohnen	183
Carotinoidgehalt	179, 279	Sommerweizen	61
<i>Cynara scolymus</i>	229	Sortenschutz	201
Diamant-ATR-IR	239	Spargel	331
<i>Echinacea purpurea</i>	229	Spektroskopie	209, 297, 313
Eissalat	133	Spinat	149
Emmer	41	Stärke	67, 87, 97, 327
Fusarium	51	Tocopherol	117
Geschmack	173, 289	Triticale	55
Getreide	1, 67, 327	<i>Triticum turgidum</i>	41
Getreideverarbeitung	253	Trockenobst	205
Gewürzdrogen	239	Trypsininhibitor	183
Glucosinolate	121	Verbraucherpolitik	253
Gluten	313	Weizen	55, 265, 307, 313
Glykoalkaloide	101	Winterraps	117
Hanfzüchtung	127	Winterweizen	31, 51, 75
<i>Hypericum perforatum</i>	221	Zwiebeln	163
Indolglucosinolate	141		
Innenbrand	133		
Isocumarinengehalt	173		
Johanniskraut	221		
Kartoffel	1, 87, 97, 101		
Kleberqualität	61, 75		
Kohl	141		
Kopfsalat	133		
Medizinaldrogen	239		
Mineralstoffe	75, 97, 133		
Möhren	167, 173, 179, 279		
Mycotoxine	313		

Autorenindex

Becker	117, 341	Liebhart	189
Bergmann	121	Liebig	163
Birzele	313	Lindhauer	19
Boularot	335	Lindner	197
Brühl	127	Ludwig	279
Brümmer	19	Mann	221
Bufler	163	Marks	121
Carle	163	Marthe	141
Derendorf	245	Marwede	107
Dietrich	279	Mathäus	127
Drewelow	245	Mattle	173
Elstner	221	Michele	183
Flamme	55, 67, 81, 327	Möllers	107, 117, 341
Fleck	167	Müller K.-J.	31
Forkmann	11, 221	Müller S.	245
Fragstein	167	Münzing	253
Gans	127	Nebelmeir	221
Graefe	245	Noga	159
Gränzdörffer	167	Nothnagel	335
Grausgruber	41	Nüßlein	229
Grimm	127	Pardede	97
Guggenbühl	173, 189	Paschold	279
Gysin	173	Pawelzik	51, 97
Haase	87	Peil	127
Habegger	153	Permady	51
Hagel	75, 133, 307	Pforte	245
Halter	153	Prange	313
Haneklaus	75, 133	Prugar	101
Hartung	121	Quilitzsch	239, 297
Hesford	173, 179	Rennebau	127
Heß	167	Rentel	323
Hoberg	289, 331, 335	Resemann	163
Höhn	173, 179, 189	Riethling	245
Jacobasch	245	Roberg	335
Jäger	61	Rohmund	167
Jansen	55, 81, 327	Rothe	121
Jugert	55	Ruckenbauer	41
Jürgens	81	Rühl	197
Kellerhals	189	Saied	159
Keutgen	159	Schärer	173, 179
Keutgen A.J.	149	Schieberle	265
Kieffer	265	Schmidt	67
Köhler	271	Schneider	173, 179
Konrad	197	Schnitzler	153
Kreis	229	Schnug	75, 133
Kriese	127	Schöne	121
Künsch	173, 179	Schöpplein	279
Lassnig	41	Schulte	201

Schulz	239
Schumann	127
Schlütze	141
Seddig	67
Sikora	167
Spieß	75
Stolz	209, 215
Strube	209, 215
Sußner	229
Taschan	205
Tillmann	323
Trautz	61
Tumbold	41
Ulrich	289, 331, 335
Veit	245
Vollmann	183
Wagentristl	183
Weber	127
Wenzel	1
Wittig	245
Wolf	51
Zrùst	101
zum Felde	341