

CONFOEDERATIO INTERNATIONALIS AD QUALITATES  
PLANTARUM EDULIUM PERQUIRENDAS (CIQ)  
(International Association for Quality Research on Food Plants)  
DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR QUALITÄTSFORSCHUNG  
(PFLANZLICHE NAHRUNGSMITTEL) E.V. (DGQ)

---

# CIQ - DGQ

---

## 5. Joint Congress Proceedings

Plant Foods and Human Health  
(Fiber and Nutritionally Active  
Substances, excepting Vitamins)

Christian-Albrechts-Universität  
Kiel  
Federal Republic Germany

6th to 8th September 1982

CONFOEDERATIO INTERNATIONALIS AD QUALITATES  
PLANTARUM EDULIUM PERQUIRENDAS (CIQ)  
(International Association for Quality Research on Food Plants)

Dr. G. Overbeck, Schnitter Weg 34  
D 6227 Oestrich-Winkel 2

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

Bachweg 66  
D 6222 Geisenheim

Contents - Inhaltsverzeichnis

	Seite
Schwerdtfeger, E., Geisenheim	7
Eröffnungsansprache	
Hårdh, J.E., Kangasala	10
Opening address	
Feldheim, W., Kiel	13
Die Bedeutung pflanzlicher Lebensmittel für die Ernährung des Menschen	
Asp, N.G., Lund	41
A rapid enzymatic method for assay of insoluble and soluble dietary fibre	
El-Samahy, S.K., Ismailia	69
Dietary fiber and phytic acid in Egyptian diets	
Frølich, Wenche, Oslo	85
Bioavailability of minerals from high-fiber cereal products	
Sandberg, Ann-Sofie, Göteborg	103
The effect of wheat bran and citrus pectin on the absorption of nutrients from the small intestine	
Miedzobrodzka, Anna, Krakau	119
Fiber in average dietary rations in the selected student's canteen	
Günzel, G., Freising	125
Technologische und sensorische Aspekte bei ballast- stoffangereicherten Weißbrot-Gebäcken	
Schweizer, T., La Tour-de-Peilz	137
Dietary fibre water-holding properties	
Schaeppers, Gabriele, Berlin	151
Einfluß mineralischer und organischer Düngung auf die Zusammensetzung und physiologischen Eigenschaften von Ballaststoffen in Brotgetreide	
Finck, A., Kiel	165
Fertilization and Food Quality - Principles and Critical Reflections	
Paunović, A.S., Caćak	179
The effect of different level of soil's phosphorous, various rootstocks and parent cvs on nutritional contents in the fruits of plum, peach, and apricot	

Venter, F., Freising	197
Über den Nitratgehalt in Gemüse	
Eichenberger, M., Oberwil	209
The influence of different fertilizers on the nitrate content of green vegetables	
Uauy, R., Santiago	227
Plant Foods for human protein nutrition	
Nair, B.M., Lund	249
Qualitative and quantitative evaluation of vegan, lacto vegetarian and omnivorous diets-protein	
Bressani, R., Guatemala City	269
Studies on the protein digestibility of common beans (Phaseolus vulgaris) in adult human subjects	
Vessby, B., Uppsala	289
Effects of soy bean protein diets on blood lipids	
Bauer, U., Bochum	303
Haloforme in pflanzlichen Lebensmitteln	
Lathia, D., Mönchengladbach	329
Influence of vegetable and fruit constituents on in vitro formation of nitrosamines under physiological conditi	
Spiegelhalder, B., Heidelberg	343
Nitrosamine und Nitrosaminvorläufer in pflanzlichen Lebensmitteln	
Haenel, H., Potsdam-Rehbrücke	354
Potential Risks from Natural Constituents of Plant Food for Human Nutrition	
Rajković, N., Belgrad	367
Food quality improvement through agrostemin a new natural bioregulator	
Schwerdtfeger, E., Geisenheim	377
Schlußwort	

## Appendix

Summaries of those papers which will be published in other journals:

Meneely, G.R., Louisiana	381
Dietary potassium, an important human need	
Selvendran, R.R., Norwich	382
Chemistry of plant cell walls and dietary fibre	
Wisker, E., Kiel	383
Ballaststoffe und Berechnung des Energieinhalts von Lebensmitteln auf Getreidebasis	



Eröffnungsansprache

Verehrte Mitglieder unserer beider Tochtergesellschaften CIQ und DGQ,  
 verehrte Freunde unserer Gesellschaften und  
 verehrte Gäste,

nachdem wir uns zuletzt 1978 in Reading zu einem sehr lebhaften und  
 - so darf man wohl sagen - sehr interessanten Kongreß zusammengefunden  
 hatten, habe ich nun heute die Ehre und zugleich auch die Freude, Sie  
 hier in Kiel zum gemeinsamen Kongreß im Namen der DGQ auf das herzlichste  
 willkommen zu heißen. Es ist mir unmöglich, alle herausragenden  
 Persönlichkeiten in unserem Kreis gesondert zu begrüßen, denn dafür  
 sind es einfach zu viele; ich möchte aber nicht versäumen anzu-  
 merken, daß wir zu unseren Gästen auch Vertreter des Bundesministers  
 für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten zählen dürfen sowie auch  
 den Vizekanzler der Christian-Albrechts-Universität, deren Einrich-  
 tungen wir heute nutzen dürfen und last but not least auch Vertreter  
 der Presse.

Es ist mir ein Bedürfnis, an dieser Stelle allen denjenigen zu danken,  
 die für das Zustandekommen dieses Kongresses durch ihre selbstlose  
 Hilfe und Unterstützung ganz wesentlich beigetragen haben. Es ist  
 dies Herr Prof. Härth (Finnland), der die Fäden der internationalen  
 Beziehungen geknüpft und dann, was noch wichtiger ist, auch unterhal-  
 ten hat, es sind dies die Mitglieder des Präsidiums und unter ihnen  
 ganz besonders die Generalsekretärin Frau Dr. Overbeck, die wohl die  
 Hauptlast der Vorbereitungen zu tragen hatte, gemildert jedoch durch  
 die tatkräftige Unterstützung am Orte der Ereignisse hier in Kiel  
 durch Herrn Prof. Feldheim mit seinen Mannen (und natürlich auch  
 Damen), die hier und da sichtbar werden, viel aber auch im Verbor-  
 genen wirken. Sie alle sind am Gelingen ganz wesentlich beteiligt  
 und ihnen gilt mein Dank.

Auch für finanzielle und sachliche Zuwendungen haben wir zu danken.  
 Ich denke da an die

Universität Kiel, die die Räume unentgeltlich zur Verfügung  
 stellt und überdies dem Kongreß eine beachtliche finanzielle  
 Zuwendung gemacht hat,

ich denke an die

Köllnflocken-Werke, die uns eine Besichtigung ihres Betriebes  
 ermöglichen und an die

American Soy Bean Association, die uns die hierfür notwendigen  
 Jusse finanziert,

...

ich denke an die

Raiffeisen Banken, die für uns ein zweites Frühstück mit mancherlei Milcherzeugnissen und Getränken bereitstellen,

ich denke an die

Bäckerei Koll, die uns Proben ihres Ballaststoff-angereicherten Brotes lieferte und

ich denke last not least an die

Bundesforschungsanstalt für gartenbauliche Pflanzenzüchtung, die diese Räume mit ihren Blumenarrangements so herrlich geschmückt hat.

Meine Damen und Herren, wenn man sich in unseren beiden Gesellschaften mit der Qualität pflanzlicher Produkte befaßt, so kann angesichts eines weltweiten Hungers in den Entwicklungsländern vielleicht die Frage aufkommen: "Ist denn Qualität wirklich so wichtig; ist nicht Quantität viel wichtiger? Sind Qualitätsfragen nicht müßige Spielereien für die reichen Nationen? Wenn wir einen Blick auf die Liste der Wissenschaftler richten, die heute und in den kommenden beiden Tagen zu uns sprechen werden, so kann man feststellen, daß hier viele Nationen vertreten sind und dabei auch solche, die durchaus nicht zu den reichen zu zählen sind. Auch sie haben offenbar Interesse am Qualitätsproblem. Schon an einem Teilbereich, nämlich an der Proteinqualität, läßt sich zeigen, daß Quantität allein nicht der ausschlaggebende Faktor sein kann. Das Reserveprotein von Mais ist das sogenannte Zein, das dadurch gekennzeichnet ist, daß ihm eine lebensnotwendige Aminosäure, das Tryptophan, fehlt. Die Folge davon ist, daß dieses Zein, ganz unabhängig von der aufgenommenen Menge, den Eiweißbedarf des Organismus nicht zu decken vermag; Qualität kann durch Quantität nicht ersetzt werden. Da Zein eine Hauptkomponente des Maiseiweißes ist, gilt Analoges auch für den Mais selbst. Erst Züchtungen, die den Tryptophan-gehalt auf eine angemessene Höhe brachten - mit anderen Worten also Qualitätsverbesserungen -, lieferten ein Eiweiß, das für die Ernährung in größerem Umfang genutzt werden kann. Qualitätsverbesserungen können auch durch die Verminderung oder die vollständige Beseitigung unerwünschter Inhaltsstoffe erzielt werden, wie das Beispiel von Erucasäure-freiem Raps oder Bitterstoff-freien Lupinen zeigt. Beide Punkte, nämlich Eiweißwertigkeit und Schadstoffe, sind Unterthemen unseres Kongresses. Wir dürfen feststellen, daß eine Verbesserung der Welternährungslage durch die alleinige Steigerung der Ernte-

...



nungen nicht möglich ist, wenn dabei nicht gleichzeitig zumindest die Erhaltung der bisherigen Qualität gesichert bleibt. Qualitätsforschung kann daher nicht als ein schönes Beiwerk angesehen werden, sondern ist und bleibt für eine weltweite gesunde Ernährung eine unverzichtbare Voraussetzung. Dieser Gedanke, den der Gründer beider Gesellschaften, Herr Prof. Schuphan, zu einem tragenden Prinzip erhob, wird auch in der Zukunft unsere Arbeit leiten.

Hinweise auf die Qualität und ihre Bedeutung finden sich bei vielen Dichtern und Schriftstellern. Gestatten Sie, daß ich Goethe, der in diesem Jahr in Deutschland sozusagen federführend ist, heute nicht bemühe, sondern auf Wilhelm Busch zurückgreife, der kurz und bündig sagt:

Verlockend ist der äußere Schein,  
der Weise dringet tiefer ein.

Lassen Sie es uns auf diesem Kongreß versuchen.

Prof. Dr. E. Schwerdtfeger,  
Präsident der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung  
(Pflanzliche Nahrungsmittel) e. V. (DGQ),  
Geisenheim, FRG

Opening address  
by the President of the International  
Association for Quality Research on Food Plants (CIQ)  
Prof. Dr. J.E.Hårdh  
Kangasala, Finland.

Ladies and Gentlemen,

At the Joint Congress of the German and International Associations for Quality Research on Food Plants, held at Reading in 1978, new directions were discussed for quality research on food. From the nineteen-forties until just recently, the main task of research was to show that plant food could be wholesome and beneficial for human health. Ecological and genetic factors, that could improve the wholesomeness of plants, or decrease it, were studied. Today research on food quality is increasingly being focussed on specific factors of plants: their chemical constituents, the fibre content, the quality of proteins, and the undesirable substances present. This orientation of research puts quality on a more exact but also more complex basis. Highly specialized methods are now necessary and even in use, and more complicated definitions of quality are required.

The final aim of quality research and of discussions in this field is to provide the populations of our separate countries, and indeed of the whole world, with a better food supply and alimentary means. This will be possibly only if we are able to convey our findings in clear terms to the producer, the salesman, and the consumer. To accomplish this our scientific terms and quantitative results must be translated into everyday language that all can understand. This is the next step in quality research, and by no means an easy one. To popularize scientific knowledge on the quality of food plants, not only are chemists and plant scientists needed, but the cooperation with medical experts, nutritionists, and economists as well. The cooperation of all these groups is essential if quality science is successfully to serve the public. But how do we proceed? How much we know about

the market situation for food plants, about the handling of vegetables and fruits, and how can our findings and results be applied in practice ? This is the great challenge for scientists and for us at this Congress.

On behalf of the International Association for Quality Research on Food Plants (IAQR) I welcome you to this Congress and invite your participation in fruitful discussion in the field of quality research. In this field there is much that remains to be done for the benefit of the world population.



Walter Feldheim

Direktor des Instituts für Humanernährung und Lebensmittelkunde der Christian-Albrechts-Universität Kiel

Die Bedeutung pflanzlicher Lebensmittel für die Ernährung des Menschen.

Es gehört zu den Grundregeln einer richtigen Ernährung, daß die Zufuhr aller essentiellen Nährstoffe am sichersten gewährleistet ist beim Verzehr einer vernünftig gemischten Kost, in der möglichst viele verschiedene Lebensmittel enthalten sind. Die Energieaufnahme muß dem individuellen Bedarf angepaßt sein. Werden diese Regeln nicht befolgt, so führt das im Falle der Energiezufuhr zu Unter- oder Überernährung, bei einseitiger Ernährung kann an bestimmten essentiellen Faktoren Unterversorgung oder Mangel eintreten.

Dieser Hauptsatz der Ernährungslehre basiert auf der Tatsache, daß es kein Lebensmittel gibt, das alle Hauptnährstoffe, Vitamine und Mineralstoffe in der Menge enthält, die der Körper täglich benötigt. Erst durch Kombination der Lebensmittel wird eine ausreichende Versorgung sicher gestellt. Am einfachsten ist das durch den Verzehr von Lebensmitteln pflanzlicher und tierischer Herkunft zu erreichen.

In den verschiedenen Regionen der Welt ist der Anteil pflanzlicher und tierischer Lebensmittel in der Kost sehr unterschiedlich. Für die Ernährung in wohlhabenden Gesellschaften ist ein hoher Anteil an tierischen Produkten typisch, steigender Wohlstand führt zu einer Abnahme des Verzehrs an pflanzlichen Grundnahrungsmitteln. Dies führt zu einer erhöhten Zufuhr an tierischem Protein und Fett, als Folge hiervon treten Überernährung und Übergewicht häufig auf.

In den Entwicklungsländern mit geringem pro Kopf-Einkommen ist dagegen oft nur der begrenzte Einkauf billiger Grundnahrungsmittel pflanzlichen Ursprungs möglich, dort sind Unterversorgung und Mangel zu beobachten. Das Beispiel vegetarisch lebender Bevölkerungsgruppen zeigt allerdings, daß unter den Bedingungen einer rein pflanzlichen Kost eine ausreichende Versorgung sicher gestellt ist, solange eine Kombination verschiedener pflanzlicher Lebensmittel z.B. auf Getreide- und Leguminosenbasis verzehrt wird und die Energiezufuhr ausreichend ist. Je einseitiger die Kost wird, um so labiler wird der Versorgungsgrad. Jedes Grundnahrungsmittel sollte einen gewissen Anteil an essentiellen Faktoren zur Deckung des Tagesbedarfs enthalten. Beim Verzehr von Stärketrägern, wie z.B. Maniok-Tapioka als Hauptnahrungsmittel ist, selbst bei energetisch ausreichender Zufuhr, mit dem Auftreten von Fehlernährung zu rechnen, da die Zufuhr an essentiellen Nährstoffen unzureichend ist. Man sagt pflanzlicher Kost nach, daß sie eintönig sei. Dies braucht nicht so zu sein, durch Würzung, Fettzugabe oder Fermentation kann der Geschmack verbessert werden.

Unter den 7 wichtigsten Feldfrüchten für die Ernährung des Menschen befinden sich die 4 Getreidearten Weizen, Mais, Reis und Gerste und 3 Arten aus der Gruppe der Knollen und Wurzeln: Kartoffeln, Süßkartoffeln und Maniok. Die jährliche Erzeugung liegt zwischen 400 und 100 Mill. Tonnen für diese Produkte. Die hieraus hergestellten Lebensmittel haben wegen des hohen Kohlenhydratgehaltes vor allem Bedeutung für die Deckung des Energiebedarfs. Bei den aus Getreide hergestellten Lebensmitteln ist auch der Proteinanteil - nach Menge und Qualität gemessen - sowie der Anteil an essentiellen Faktoren bemerkenswert. Obgleich in den Jahren nach dem zweiten Weltkrieg durch verbesserte Anbaumethoden und Neuzüchtungen die Erträge der drei Spitzenprodukte Weizen, Mais und Reis sehr verbessert worden sind, reicht die Produktion immer noch nicht aus, um die schnell wachsende Erdbevölkerung ausreichend zu versorgen. Da vor

allem bei Brotgetreide die Nachfrage größer ist als die Produktion, suchte man nach Möglichkeiten, einen Teil des Weizens für die Brotherstellung durch andere Stärketräger, wie z.B. Maniok, zu substituieren. Den unzureichenden Proteingehalt des Produktes gleicht man durch Zusatz von Leguminoseneiweiß aus, zur Verbesserung der Backfähigkeit werden für das fehlende Gluten Backhilfsmittel verwendet. Auf dieser Basis lassen sich vollwertige Lebensmittel produzieren.

Früher wurde das pflanzliche Protein als weniger hochwertig im Vergleich zu tierischem Protein angesehen. Das trifft jedoch nur für das isolierte pflanzliche Protein zu. Durch Kombination von pflanzlichen Eiweißträgern ergeben sich durch die ergänzende Wirkung einzelner Aminosäuren biologische Wertigkeiten, die denen von tierischen Proteinquellen gleichzusetzen sind. Als Beispiele seien das Bohnen-Mais-Gemisch Ostafrikas oder die Kombination Lupinen-Mais in der Kost der Indianer Südamerikas genannt.

Lebensmittel pflanzlicher Herkunft haben meist einen geringeren Fettgehalt als tierische Produkte; der Gehalt an essentiellen Polyenfettsäuren ist in pflanzlichen Fetten höher als in tierischen.

Zwischen den beiden Extremen einer rein pflanzlichen und einer rein tierischen Kost liegt ein Bereich, der den Empfehlungen der Ernährungswissenschaft entspricht. Sicher sind Kohlenhydrate und Fette als Energielieferanten in der Nahrung ziemlich weitgehend austauschbar. Jede Verschiebung zum Fett hin bedeutet aber bei konstanter Energieaufnahme eine Verringerung der Nahrungsmenge, da die Energiezufuhr durch Fett bezogen auf Gewicht mehr als doppelt so hoch ist als die durch Kohlenhydrate. Die Forderung nach einem 60%igen Anteil von Kohlenhydratkalorien an der Gesamtenergieaufnahme gegenüber 45% Kohlenhydratkalorien heute kann nur durch eine Vermehrung des Anteils pflanzlicher Lebensmittel erfüllt werden. Durch diese Maßnahme würde sich das Nahrungsvolumen bei konstanter Energieaufnahme wieder ver-

größern und eine günstige Beeinflussung des Hunger-Sättigungssystems eintreten. Dies könnte auch der weit verbreiteten Überernährung entgegenwirken.

Während Lebensmittel pflanzlicher Natur bis etwa um 1800 in Mitteleuropa die Hauptnahrung darstellten und der Verbrauch von Lebensmitteln tierischer Herkunft gering war, begann mit der Industrialisierung bei einer generellen Abnahme des Verzehrs von Kohlenhydraten die Zunahme des Anteils tierischer Proteine und Fette in der Kost. Auch unter den Kohlenhydratträgern trat eine Verschiebung ein. Der Lebensmittelkorb enthielt allmählich immer weniger Brot, Kartoffeln und Grobgemüse und mehr Zucker und Feinbackwaren. Durch neue Mahlverfahren wurde das Brotmehl heller, die für die Ernährung wertvollen Außenschichten wurden als Kleie in der Tierfütterung verwendet. Dies bedeutet, daß neben der Abnahme des Verzehrs pflanzlicher Produkte auch eine Wertminderung des verbleibenden Anteils eintrat. Ein Vorarbeiter aus einer Zellstoffabrik verzehrte 1890 noch fast 700 g Brot und 850 g Kartoffeln täglich, heute hat man Schwierigkeiten, wenn man in einem Ernährungsversuch Studenten dazu bringen will, mehr als 300 g Brot täglich über eine längere Periode zu essen. Nach dem Ernährungsbericht 1980 verzehrt ein männlicher Erwachsener heute durchschnittlich nur 208 g Brot und Backwaren sowie 120 g Kartoffeln täglich. Der jährliche Zuckerkonsum beträgt heute bei uns 35 kg, 1910 waren es nur 18 kg im Jahr pro Kopf. Der durch die Verschiebung des Kohlenhydratverzehrs zu Zuckern und hellen Mehlen auftretende Rückgang in der Aufnahme an Vitaminen, Mineralstoffen, Spurenelementen und Ballaststoffen ist erheblich. Abb. 1 zeigt eine Gegenüberstellung des Gehalts an diesen Stoffen im Vollkornbrot und im Weißbrot. Besonders der Abfall an Thiamin ist beträchtlich, Thiamin gehört deshalb zu den Vitaminen, deren Versorgungsgrad für bestimmte Bevölkerungsschichten als kritisch anzusehen ist. Der Rückgang in der Zufuhr ergibt sich durch die Verwendung niedrig ausgemahlener Mehle. Dies trifft



auch für die Mineralstoffe zu, wie aus Abb. 2 ersichtlich ist. Die im Rahmen der Nostalgiewelle zu beobachtende Rückkehr zu rustikalen, dunkleren Brottypen bringt eine Verbesserung der Situation, auch scheint nach neueren Erhebungen der Brotverzehr nicht mehr abzunehmen. Eine Übersicht über die Herkunft einiger Vitamine, Mineralstoffe und Ballaststoffe zeigt, daß pflanzliche und tierische Produkte in sehr unterschiedlicher Weise zur Tagesaufnahme beitragen (Abb. 3). Lebensmittel aus der einen oder anderen Gruppe sind reich an bestimmten Nährstoffkombinationen, während andere fast fehlen, so z.B. Retinol in pflanzlichen und Ascorbinsäure in tierischen Produkten. Beim Thiamin ist die Zufuhr über tierische und pflanzliche Produkte möglich, Fleisch und Fleischwaren liefern etwa die gleiche Menge wie Backwaren und Kartoffeln. Der Löwenanteil der Calciumzufuhr erfolgt über Milch und Milchprodukte. Aus diesen Beispielen ergibt sich erneut die Begründung für den anfangs formulierten Hauptsatz der Ernährungslehre: Die tägliche Nahrung soll aus einem Gemisch möglichst vieler verschiedener Lebensmittel bestehen, natürlich unter Berücksichtigung der tatsächlich notwendigen Energieaufnahme.

Ein Kostbestandteil hatte besonders unter der Umstellung der Ernährungsgewohnheiten zu leiden, die Gruppe der Ballaststoffe. Eine Zunahme des Anteils tierischer und eine Abnahme des Anteils pflanzlicher Kostbestandteile müssen zu einer Abnahme des Ballaststoffgehalts der Kost führen, da tierische Lebensmittel nur wenig Ballaststoffe enthalten. Im gleichen Sinne wirkte auch die zunehmende Raffinierung pflanzlicher Rohprodukte bei der Lebensmittelherstellung, der Ballaststoffgehalt zeigt einen erheblichen Rückgang. Er sinkt im Mischbrot im Vergleich zum Vollkornbrot auf etwa die Hälfte ab, aus noch helleren Mehlen hergestellte Weißbrote, wie Toastbrot oder Baguette zeigen einen Rückgang im Ballaststoffgehalt unter 1,8 %.

Man hat erst relativ spät erkannt, daß die Ballaststoffe der Nahrung ihren Namen zu Unrecht führen und durchaus nicht überflüssig sind. Die Bezeichnung ist also - auch

im Hinblick auf das Ansehen beim Verbraucher - denkbar schlecht gewählt. Ballaststoffe ist eine Gruppenbezeichnung; es handelt sich um eine Gruppe verschiedener Verbindungen, von denen die meisten allerdings zur Gruppe der nicht verwertbaren Kohlenhydrate gehören. Bereits um 1800 beschäftigte man sich mit dem Rückstand von Lebensmitteln, der nach Behandlung mit Säuren und Alkalien unter bestimmten Bedingungen übrig blieb, der Rohfaser. Schon vor 100 Jahren versuchte man, die Vorgänge im menschlichen Verdauungstrakt nachzuahmen, den Speisen Enzyme zuzusetzen und den nicht abgebauten Rückstand zu bestimmen. Beide Verfahren sind auch heute noch von Bedeutung für die Rohfaser- und Ballaststoffanalytik, beide ergeben einen gewichtsmäßig erfassbaren Rückstand.

Eine vollständige Analyse der Ballaststoffe, d.h. die Bestimmung der einzelnen löslichen und unlöslichen Vertreter dieser Gruppe, erfordert zeitaufwendige Methoden, vor allem, wenn man die Zusammensetzung aller Komponenten nachweisen will. Die bisher als Routinemethoden verwendeten Verfahren erfassen die einzelnen Ballaststofffraktionen in unterschiedlichem Maß, z.T. gehen auch Nicht-Ballaststoffe wie Stärke und Protein in die Ergebnisse ein. In Abhängigkeit von der verwendeten Methode kommt man zu unterschiedlichen Ergebnissen für die Ballaststoffgehalte der Lebensmittel, was bei einem Vergleich von Angaben berücksichtigt werden muß. Ballaststoffwerte ohne Angabe der Bestimmungsmethode sind nur sehr schwer zu beurteilen. Einzelne Ballaststoffkomponenten zeigen im Organismus unterschiedliche Wirkungen. Um Aussagen darüber treffen zu können, welcher Komponente eine bestimmte Funktion zuzuschreiben ist, ist eine genaue Kenntnis der Zusammensetzung notwendig. Die Situation ist mit den Verhältnissen bei den Mineralstoffen vergleichbar. Man kann relativ einfach den Aschegehalt eines Lebensmittels bestimmen. Zur Klärung der

Funktion benötigt man die Einzelbestimmung der in der Asche enthaltenen Elemente.

Eigentlich ist schon lange bekannt, daß Ballaststoffe kein Ballast sind, sondern eine nützliche Funktion im Verdauungstrakt ausüben. Vor rund 1000 Jahren schrieb der berühmte persische Arzt Hakim, dessen Name im arabischen Sprachgebiet zur Standesbezeichnung für Ärzte geworden ist, folgende Erfahrung auf: Weizen ist eine sehr nützliche Getreideart, Chapatties - eine Art Fladen - werden aus Weizenmehl gemacht. Chapatties mit mehr Kleie (also aus Vollkornmehl), passieren den Verdauungstrakt schneller. Chapatties mit wenig Kleiebestandteilen - das Mehl stellte man durch Aussieben mit feingewebten Tüchern her - brauchen eine lange Zeit bis zu ihrer Ausscheidung. Hieraus wird ersichtlich, daß Ballaststoffe die Passagezeit der Nahrungsbestandteile durch den Verdauungstrakt beeinflussen.

Diese und andere Funktionen der Ballaststoffe wurden vor gut 10 Jahren wieder entdeckt, als man feststellte, daß zwischen bestimmten Erkrankungen und der Höhe der Ballaststoffaufnahme Beziehungen bestehen, die nicht zufällig sind.

Seit dieser Zeit ist das wissenschaftliche Interesse an den Ballaststoffen neu erwacht, die Zahl der Publikationen auf diesem Gebiet ist sprunghaft angestiegen. Bei einer Diskussion der Zusammenhänge zwischen den Lebensmitteln pflanzlicher Herkunft und der Gesundheit des Menschen ist deshalb die Wahl des Tagesthemas "Ballaststoffe" voll gerechtfertigt. Mehr als 10 Jahre intensiver Forschung auf diesem Gebiet erlaubten eine kritische Sichtung des bisher vorhandenen Materials und die Formulierung noch offener Fragen.

Trowell postuliert nach Untersuchungen in Ostafrika Zusammenhänge zwischen der Höhe der Ballaststoffaufnahme und nichtinfektiösen Erkrankungen des Dickdarms, Obsti-

pation, Diverticulitis, Carcinomen und Polyphen, Appendicitis, Hämorrhoiden und Colitis ulcerosa. Zusammenhänge zwischen der Höhe der Zufuhr an einem Nahrungsbestandteil und bestimmten Änderungen im Stoffwechsel oder in Körperfunktionen sind mit größter Vorsicht zu betrachten. Das Geschehen im Organismus ist immer komplexer Natur, meist müssen mehrere Voraussetzungen erfüllt sein, damit die Bedingungen für eine Änderung gegeben sind. Die Ballaststoffe sind also als ein Faktor neben anderen anzusehen, wenn es um die Beeinflussung bestimmter Symptome in der einen oder anderen Richtung geht. Bei experimentellen Untersuchungen am Menschen muß man deshalb mit einer großen Variabilität rechnen, wenn man die anderen Faktoren nicht kontrollieren oder konstant halten kann.

Im Kieler Institut werden seit 1976 experimentelle Untersuchungen auf dem Ballaststoffgebiet durchgeführt. Vorhergehende, umfangreiche Literaturstudien und Auswertungen zu bestimmten Teilgebieten der Ballaststoffforschung lassen folgendes erkennen:

- (1) Ungenügende Berücksichtigung des Ballaststofftyps:  
Die Ballaststoffe von Obst und Gemüse (hauptsächlich Zellulose und Pektin) sind nicht mit denen von Getreide (Zellulose, Hemizellulose und Lignin) vergleichbar. Auch beim Getreide sind z.B. die Ballaststoffkomponenten von Weizen, Hafer oder Mais verschieden. Der Begriff Hemizellulose schließt eine Reihe wasserlöslicher und wasserunlöslicher Verbindungen mit unterschiedlicher Wirksamkeit ein.
- (2) Fehlen einer einheitlichen Bestimmungsmethode für die einzelnen Ballaststoffe. Die Gesamtbestimmung sagt wenig aus, wie bereits erläutert, da die einzelnen Komponenten unterschiedliche Effektivität aufweisen. Zusammenhänge zwischen der Gesamtballaststoffzufuhr und

einer Funktion abzuleiten ist nur begrenzt möglich. Eine Gesamtbewertung wäre evtl. über Umrechnungsfaktoren und daraus zu berechnende Ballaststoffäquivalente wie beim Retinol-Carotin oder wirkungsbezogen, berechnet aus der Ballaststoffkombination des Lebensmittels, möglich.

- (3) Während relativ viele Untersuchungen an Patienten mit z.T. sehr wirklichkeitsfremden Kostformen vorliegen, sind Untersuchungen an "Normalpersonen" relativ selten.

Der Einfluß der Höhe der Ballaststoffzufuhr auf die Darmfunktion, d.h. auf Stuhlgewicht und Passagezeit, gilt als gesichert, wobei die Stuhlmenge eine bessere Aussage liefert als die Transitzeit. Auch hier darf nicht vergessen werden, daß mehrere Einflußgrößen neben den Ballaststoffen vorhanden sind: Alter, Geschlecht, Aktivität, Stress, Gewohnheiten, Tag-Nacht-Rhythmus, um nur einige zu nennen.

Über die Wirkung der Ballaststoffe auf die Darmfunktion im Sinne einer Normalisierung gibt es mehrere Erklärungsmöglichkeiten. Als Ursache werden das Wasserbindungsvermögen der Ballaststoffe und die Einwirkung von Mikroorganismen auf die Ballaststoffe im Dickdarm angesehen.

Mikroorganismen können durch den Abbau von Ballaststoffen Energie und Biomaterial zum Aufbau ihrer Zellmasse gewinnen, ihr Wachstum wird sozusagen durch Ballaststoffe stimuliert. Bis zu welchem Grad der Abbau der Ballaststoffe verläuft, ist abhängig vom Ballaststofftyp und der Verweildauer im Dickdarm. Die erhöhte Bakterienmasse führt zu einer stärkeren Füllung des Darms, durch Gasbildung wird das Volumen des Darminhalts zusätzlich erhöht. Diese Faktoren bewirken eine Erhöhung des Stuhlgewichts und eine Beschleunigung der Transitzeit.

Unklarheit besteht allerdings darüber, mit welcher Menge an Ballaststoffen ein normales Darmverhalten zu erreichen ist.

Wir haben unsere Untersuchungen auf dem Ballaststoffgebiet mit dem Einfluß dieser Nahrungsbestandteile auf die Darmfunktion begonnen, da sich hier mit relativ unkomplizierter Methodik Wechselbeziehungen eindeutig nachweisen lassen. An den Untersuchungen nahmen insgesamt 20 Studentinnen der Ernährungswissenschaft teil, die in Kiel ihre Ausbildung erhalten. Geprüft wurde der Einfluß von Ballaststoffen aus definierten Lebensmitteln. Die Versuchsanordnung, die für diese Experimente erforderlich ist, wurde in verschiedenen Versuchsreihen entwickelt und sieht folgendermaßen aus:

Während einer Versuchsperiode von 12 Tagen wird von den Probanden gemeinsam eine Grundkost mit definiertem, geringerem Ballaststoffgehalt verzehrt. Das Mittagessen ist für alle einheitlich festgelegt, Frühstück und Abendessen können aus mitgenommenen Lebensmitteln individuell gestaltet werden. Der Lebensmittelverbrauch wird nach der Inventarmethode erfaßt. In der ersten Versuchsperiode wird die Kostfolge festgelegt, in den nachfolgenden Perioden werden Art und Menge der Grundkost beibehalten.

Am 2. und am 11. Versuchstag wird Chromoxid als Marker-substanz gegeben. Die zwischen der Stuhlmarkierung anfallende Stuhlmenge wird durch den Studenten gewogen und notiert. Dadurch wird eine Versuchsperiode von 10 Tagen abgegrenzt. Nach unseren Erfahrungen ist eine Versuchsdauer von 10 Tagen/Kostform ausreichend, um Tagesschwankungen auszugleichen. Für die Dauer von je 12 Tagen wird zur Grundkost die Versuchskost mit definiertem Ballaststoffgehalt verzehrt.

Einige der Ergebnisse dieser Versuchsreihen sollen nur kurz

dargestellt werden.

Aus einer einheitlichen Weizencharge wurden ein Vollkornmehl (etwa Type 1700) und ein Mehl mit geringerem Ballaststoffgehalt (etwa Type 812) hergestellt und zu Kastenbrotten verbacken. Die bei der Herstellung des ballaststoffärmeren Mehls anfallende Kleie wurde als Ballaststoffträger in einer weiteren Versuchsperiode verwendet. Bei unveränderter Grundkost bewirkte der Verzehr von 170 g Brot aus Vollweizenmehl eine Verdoppelung des Stuhlgewichts im Vergleich zu dem Brot aus dem helleren Mehl bei gleicher Verzehrsmenge. Die Gabe von Kleie in einer dem Ballaststoffgehalt des Vollkornbrots entsprechenden Menge (44 g), in zwei Portionen täglich verabfolgt, führte zu einer ähnlich hohen Stuhlausscheidung wie beim Vollkornbrot.

Hieraus läßt sich folgern, daß es nicht notwendig ist, Kleie als Ballaststoffträger zu konsumieren; der Verzehr von ballaststoffreichem Brot hat die gleiche Wirkung.

In einer weiteren Studie wurden aus Weizen- und Roggenmehl, z.T. unter Verwendung von Schrot und Kleie, Versuchsbrote hergestellt und hiervon täglich zur Grundkost in 5 Versuchsabschnitten 250 - 350 g verzehrt. Über Stuhlmengen im Verhältnis zur Ballaststoffaufnahme unterrichtet die nächste Abbildung (Abb. 4). Es zeigt sich eine Korrelation zwischen Ballaststoffaufnahme und Stuhlgewicht. Nach dieser Studie suchten wir nach einer Möglichkeit, Empfehlungen für die wünschenswerte Höhe der Ballaststoffzufuhr zu berechnen. Hierbei ergibt sich die Schwierigkeit, daß in der Kost immer ein Gemisch von Ballaststoffen mit unterschiedlicher Wirkung vorhanden ist, ähnlich wie bei einigen Vitaminen, wo es mehrere Verbindungen eines Vitamins mit unterschiedlicher Wirksamkeit gibt.

Aus Literaturangaben läßt sich beim Verzehr einer fast ballaststofffreien Kost aus Fleisch und Fett eine Stuhl-

menge von 40 - 50 g ableiten, in Übereinstimmung mit den Angaben aus der Abb. 4. Nach Spiller liegt eine normale Darmfunktion vor, wenn eine Stuhlmenge von mindestens 140 - 150g/Tag anfällt. Diese Größe ergibt sich aus der Beobachtung, daß sich ab dieser Menge die Transitzeit nicht mehr wesentlich verändert.

Aus der Abb. 4 kann man ablesen, daß zur Erreichung dieser Stuhlmenge pro Tag eine Aufnahme von 15 - 16 g an unlöslichen Ballaststoffen aus Getreideprodukten (bestimmt nach der Methode von Thomas) erforderlich ist. Mit der geschilderten Versuchsanordnung konnte dies bei einem Tagesverzehr von mindestens 300 g Vollkornbrot (Schrotbrot aus Roggen oder Weizen) erreicht werden.

Nun liegt der Gesamtverzehr an Backwaren in der Bundesrepublik etwas höher als 200 g/Tag, auf Brot entfallen dabei 140 - 150 g/Tag und Kopf. Nach den Versuchsergebnissen müßten zur Aufnahme der wünschenswerten Menge an Ballaststoffen entweder der Brotkonsum verdoppelt werden - was in der augenblicklichen Ernährungssituation nicht möglich erscheint - oder - bei gleichbleibendem Brotverzehr - neue Brotsorten mit hohem Ballaststoffgehalt entwickelt werden.

Ein derartiges Spezialbrot mit hohem Ballaststoffgehalt ist bereits im Handel. Untersuchungen mit der geschilderten Versuchsanordnung an Studentinnen zeigten, daß ein Tageskonsum von 150 - 180 g dieses Brotes für eine normale Darmtätigkeit ausreichend ist.

Mit diesem Brot wurden weitere Untersuchungen an Probanden mit Obstipation durchgeführt. 20 ältere Menschen (Durchschnittsalter 81 Jahre), die an Verstopfung litten, wurden aufgefordert, unter Beibehaltung ihrer bisherigen Ernährungsgewohnheiten das üblicherweise verzehrte Brot gegen das Spezialbrot auszutauschen. Hierfür wurde ihnen alle 2 Tage ein frischer Brotlaib zur Verfügung gestellt. Der Tageskonsum wurde durch Wiegen der zurückgegebenen Reste er-



mittelt. Die Verzehrsgewohnheiten der Probanden waren bereits in einer vorhergehenden Studie festgehalten worden. Die Auswertung ergab einen Tagesverzehr an Brot zwischen 85 und 250 g während der 3 Versuchswochen. 15 der Probanden, die mindestens 125 g täglich verzehrt hatten, berichteten über eine Verbesserung der Stuhlkonsistenz und eine Behebung der Beschwerden. Selbst in Fällen von hartnäckiger Obstipation wurde durch den Brotverzehr ein Absetzen der Laxantien möglich.

An einer ähnlich angelegten Studie nahmen 12 junge Frauen, die unter Obstipation litten, teil. Es handelte sich um Studentinnen der Kieler Universität. Der Brotkonsum lag bei durchschnittlich 180 g Brot/Tag. Bei 11 der 12 Versuchsteilnehmerinnen war ein positiver Einfluß durch die erhöhte Ballaststoffzufuhr festzustellen, die Obstipation war in kurzer Zeit behoben. Technisch sind einer Erhöhung des Ballaststoffanteils im Brot dadurch Grenzen gesetzt, daß sich der Geschmack verschlechtert und die Schnittfestigkeit abnimmt. Durch Kombination verschiedener Kleiesorten und ein spezielles Backverfahren hat man diese Nachteile bei dem Spezialbrot vermieden. Weitere Untersuchungen laufen mit den Ballaststoffträgern Obst (2 Versuchsreihen mit pektinarmen und -reichen Früchten), Gemüse (Brassica-Arten) und Leguminosen (getrocknete Hülsenfrüchte). Erste Ergebnisse lassen erkennen, daß bezogen auf die Gewichtseinheit, Getreideballaststoffe in bezug auf eine normale Darmtätigkeit wirkungsvoller sind als Ballaststoffe aus Obst und Gemüse.

Abschließend möchte ich noch auf zwei aktuelle Probleme im Zusammenhang mit der Bedeutung der pflanzlichen Lebensmittel in der menschlichen Ernährung eingehen. Unter Wissenschaftlern besteht Einigkeit darüber, daß der Anteil pflanzlicher Produkte in der Nahrung vergrößert werden sollte, der Verzehr von Lebensmitteln tierischen Ursprungs sollte eingeschränkt werden. Darüber hinaus gibt es For-

derungen, die von einem weitgehenden Verzicht des Verzehrs tierischer Produkte ausgehen und argumentieren, daß die Ernährungsprobleme in der Dritten Welt allein hierdurch gelöst werden können. Der durch die Veredlung in Anspruch genommene Anteil pflanzlicher Produkte würde im Stande sein, eine ausreichende Ernährung für alle Menschen auf dieser Welt zu gewährleisten. Abgesehen davon, daß es immer Gebiete pflanzlicher Produktion geben wird, die sich nur zur Erzeugung tierischer Lebensmittel eignen, warnen Ökonomen eindringlich vor einer solchen Politik. Zur Begründung wird z.B. von Blankenburg ausgeführt, daß hierdurch weder die Situation in den Industriestaaten noch in den Entwicklungsländern gebessert würde. Er erläutert das am Beispiel des Getreidekonsums. Durch den weitgehenden Verzicht auf tierische Produkte in den reichen Ländern würden zweifellos erhebliche Mengen an Getreide frei werden. Hierdurch würde ein Druck auf den Weltmarkt-Getreidepreis eintreten, der es den Entwicklungsländern erlaubte, billiger Getreide zu importieren. Die Folge davon würde jedoch eine Reduzierung des Angebots sein, da die meisten Produzenten die Getreideproduktion zugunsten anderer Produkte mit besseren Preisen einschränken würden. Änderung der Konsumstrukturen in Richtung eines geringeren Verzehrs von Veredelungsprodukten in Industrieländern, die den Entwicklungsländern tatsächlich zugute kommen, dürften sich nur langfristig herbeiführen lassen.

Ständiges Wirtschaftswachstum und steigender Lebensstandard haben den Anteil an pflanzlichen Produkten am Direktverzehr immer weiter abnehmen lassen, Wirtschaftsflaute und Stagnation rücken diese Produkte wieder in das rechte Licht. Im Hinblick auf Energieprobleme und Versorgungsschwierigkeiten erscheint es für viele Länder als nicht mehr vertretbarer Luxus, den Verzehr tierischer Produkte weiter zu steigern. Die Ernährungswissenschaft ist seit langem der Ansicht, daß der Anteil an tierischen Erzeugnissen in der Nahrung

bei uns die empfehlenswerte Höhe überschritten hat. Daher dürfte es notwendig sein, den Verbraucher zu einer vermehrten Berücksichtigung pflanzlicher Produkte, z.B. Getreideprodukte oder Kartoffeln, auf dem Speisezettel umzustimmen. Damit diese pflanzlichen Lebensmittel die ihnen zukommende Stellung in der Gesamternährung voll ausfüllen können, müssen sie allen Qualitätsanforderungen genüge tun. Die Verarbeitungsverfahren sollten möglichst schonend unter Erhaltung des Nährwerts zu einem wohlschmeckenden Lebensmittel führen, das außer den Energieträgern noch möglichst viele wertgebende essentielle Faktoren des Rohprodukts enthält.

Diesem Trend zur verstärkten Verwendung pflanzlicher Produkte in der menschlichen Ernährung steht jedoch eine erhebliche Verunsicherung des Verbrauchers über den Wert aller Lebensmittel gegenüber. In der Bundesrepublik gehören Feststellungen wie, daß nach "den heutigen Methoden in der Landwirtschaft und Nahrungsmittelindustrie, mit denen unsere Lebensmittel hergestellt werden, ein Entrinnen vor den Giften in den Lebensmitteln kaum möglich ist" (Zitat) zu den Nachrichten, die man täglich in der Presse findet. In scheinbar wissenschaftlichen Publikationen wird nur das zitiert, was zur Verunsicherung des Verbrauchers dienlich ist, ohne daß ihm Hilfe und Beratung angeboten wird.

Als Ausweg aus dieser Situation wird die sogenannte biologische Landwirtschaft empfohlen, um einer "Verseuchung der Lebensmittel" (Zitat) zu entgehen. Wir werden uns in der Zukunft sehr intensiv mit diesem Problemkreis zu beschäftigen haben und hierzu eine klare, eindeutige Stellungnahme abgeben müssen.

In der Bundesrepublik wird rund 0,1% der landwirtschaftlichen Nutzfläche nach sogenannten biologischen Methoden bearbeitet, das sind rund 900 Höfe mit 13.000 ha. Was jedoch

in Läden als "biologisch" erzeugt angeboten wird, entspricht dem Vielfachen von dem, was auf diesen Höfen produziert werden kann.

Die "konventionelle" Landwirtschaft geht davon aus, daß optimale Erträge nur erzielt werden können, wenn die Pflanzen während der gesamten Vegetationszeit ausreichend mit Nährstoffen versorgt werden. Damit kommt der Düngung im Rahmen der gesamten Anbautechnik eine entscheidende Bedeutung zu.

Die Erfahrung lehrt, daß ein Mangel an einem Nährstoff zu Mindererträgen führt, während eine Überschußversorgung in relativ weiten Bereichen toleriert wird. Dies trifft z.B. für Phosphor, Natrium, Calcium und Magnesium, aber auch für zahlreiche Spurenelemente zu. Zur Erklärung der hohen Preise für "biologisch" erzeugte landwirtschaftliche Produkte wird der geringere Ertrag pro Fläche im Vergleich zum "konventionellen" Anbau angeführt. Es wird aber auch behauptet, daß die "bisher durchgeführten Untersuchungen nicht bestätigen konnten, daß die Erträge bei biologischer Anbauweise generell niedriger sind" (Zitat). Zu den Qualitätsunterschieden zwischen "biologisch" und herkömmlich erzeugten Produkten muß gesagt werden, daß es hierüber keine wissenschaftlich unumstrittenen Ergebnisse gibt (Zitat).

Die Pflanzenernährer mögen mir verzeihen, wenn ich jetzt versuche, Beziehungen zwischen ihrem Fachgebiet und der menschlichen Ernährung herzustellen. Der Überernährung beim Menschen entspricht die überreichliche Versorgung der Pflanze mit Nährstoffen bei Überdüngung. Der "richtigen Ernährung" entspricht dann das, was die moderne Landwirtschaft an Düngemaßnahmen empfiehlt. Nach der Analyse des Bodens wird so gedüngt, daß, entsprechend dem geplanten Anbau, die Pflanze alle zum Aufbau benötigten Stoffe erhält. Nur auf dieser Basis ist, wenn das Wetter mitmacht, ein optimaler Ertrag zu erhalten. Diese Art des Anbaus sollte als zeitgemäßes Produktionssystem in der Landwirtschaft angewendet werden. Beim Menschen wird wohl eine derartige

optimale Nährstoffversorgung nie möglich sein, da er seine Nahrung nicht dem Bedarf entsprechend zusammenstellt. Das, was er ißt, wird von der Freude am Essen, Appetit, Gewohnheit, Abneigung und vielen anderen Faktoren bestimmt.

Doch zurück zur Pflanzenernährung. Alles was nicht den oben dargestellten Anforderungen in bezug auf Nährstoffversorgung genügt, führt, ähnlich wie beim Menschen, zur Unterversorgung und Fehlernährung. Die Versorgung der Pflanze mit Nährstoffen wird beim "biologischen" Anbau weitgehend dem Zufall überlassen. Bio-Dünger kann zufällig alles enthalten, was dem Boden an Nährstoffen fehlt. Bodenuntersuchungen auf Höfen mit "biologischem" Anbau zeigen jedoch, daß der Boden z.B. an Phosphor oder Magnesium weitgehend verarmt sein kann. Als Folge davon sinken die Erträge.

Manche der empfohlenen Anbaumethoden sind ein Rückschritt in die Landwirtschaft vergangener Jahrhunderte, die heute keine Berechtigung mehr haben. Die Beachtung von Mondphasen, Sternkonstellationen und das berühmte Kuhhorn muten an wie ein Rückfall ins Mittelalter, es fehlt nur noch die Empfehlung zur Dreifelderwirtschaft oder zur Brandrodung.

Der Rückgriff auf den Stand des Mondes und der Planeten ist, so nach einem Buch über die Landwirtschaft aus dem Jahre 1770, dadurch zu erklären, daß "nach der Astrologen Meinung, durch ihre Strahlen auf der Erde mancherlei Wirkung tun, absonderlich aber die Witterung verursachen sollen" (Zitat). Etwas später heißt es dann "denn wenn zum Exempel ein Aspect seiner Natur nach große Kälte und starken Schnee bedeutet und er fiel bei uns auf die Hundstage, so dürfte man sehr ausgelacht werden, wenn man dergleichen Wetter um solche Zeit erwarten, oder nur prophezeihen wollte" (Zitat).

Man sieht, daß an der Richtigkeit dieser heute wieder modern gewordenen Anschauungen damals schon gezweifelt wurde. Nur eine auf wissenschaftlicher Basis produzierende

Landwirtschaft bietet überhaupt noch die Chance, das Welt-ernährungsproblem zu lösen. Bei dieser Forderung an die Landwirtschaft muß der Schwerpunkt bei der Erzeugung pflanzlicher Rohstoffe für die Lebensmittelherstellung liegen.

Welche Chancen bestehen, die bestehenden Ernährungsgewohnheiten so zu ändern, daß unter Einschränkung tierischer Produkte mehr Lebensmittel pflanzlicher Herkunft verzehrt werden? Ernährungsgewohnheiten ändern sich sehr langsam, der Verbraucher ist hier konservativ eingestellt und gegen Neuerungen mißtrauisch.

Lediglich im Krankheitsfall kann man sehr schnell eine völlige Umstellung der Ernährungsweise erreichen. Allerdings wird ein jugendlicher Übergewichtiger kaum bereit sein, seine Ernährung zu ändern, wenn man ihm vorhält, daß er vielleicht in 20 Jahren als Folge seiner Ernährungsweise Gicht, Diabetes, Hochdruck und anderes zu erwarten hätte. Anders ist das bei Menschen, die die Folgen einer falschen Ernährung sofort spüren, die z.B. an Obstipation leiden. Hier bewirkt der Übergang zu einer ballaststoffreichen Kost, also eine Erhöhung des Anteils an pflanzlichen, ballaststoffreichen Lebensmitteln in der Nahrung, innerhalb kürzester Zeit Beschwerdefreiheit und die Möglichkeit auf Laxantien zu verzichten. Dies betrifft in der Bundesrepublik nach dem Ernährungsbericht 30% der erwachsenen Bevölkerung, also eine Gruppe von mindestens 10 Millionen.

Diese Beschwerden lassen sich durch den erhöhten Verzehr von pflanzlichen Produkten, die Ballaststoffe enthalten, vermeiden. Gleichzeitig wird die Überernährung abgebaut. Ich sehe hier eine gute und relativ einfache Möglichkeit, die Erkenntnisse der Ernährungswissenschaft in die Praxis umzusetzen.

Meine Damen und Herren, ich wollte Sie mit meinem Referat auf die Thematik dieser 3 Arbeitstage einstimmen. Entschuldigen Sie, wenn ich dabei zu sehr an den Ballaststoffen hängen geblieben bin, aber dieses Gebiet hat mein beson-

deres Interesse. Außerdem ist dieses Thema wichtig und aktuell. Kollegen sind sogar der Ansicht, daß man später vielleicht in der Medizin- und Ernährungsgeschichte die 70er und 80er Jahre des Jahrhunderts als die Zeit betrachtet wird, in der die Bedeutung der Ballaststoffe für den Menschen erkannt und untersucht wurde. Das soll aber die anderen Themen nicht herabsetzen. Die Frage der Proteinebewertung erhielt durch die Entdeckung der ergänzenden Wirkung bestimmter Proteine durch Kofranyi und Jekat eine andere Richtung, sie bewirkte eine Verbesserung der Einschätzung des Wertes pflanzlicher Proteine in der Nahrung.

Die anderen Themen: Düngung, Mineralstoffe und Nahrungsqualität sowie schädliche Inhaltsstoffe der Nahrung sind ein echtes grünes Thema, ein heißes Eisen mit hohem politischen Stellenwert. Eine wissenschaftliche, sachliche Diskussion, wie sie das Ziel dieser Tagung ist, soll objektiv auf dem Boden wissenschaftlich gesicherter Erkenntnisse, und nicht ideologisch, ablaufen. Lassen Sie uns nach der Pause damit beginnen.

CIQ/DGQ

Congress - Kiel

6. - 8. September 1982

Summary - Zusammenfassung

**Title/Thema;** The Importance of Food of Plant Origin in Human Nutrition

**Author(s)** Walter Feldheim

Human nutrition is based either directly or indirectly on the production of raw materials by plants. The direct utilization of foods from plants is typically found in developing countries. The per capita intake of cereals, the main food component in these areas, amounts to 200 kg per year. Although there is a decline in the proportion of plant foods directly eaten, the per capita consumption rises up to 900 kg per year in industrialized countries. Only about 10% of this amount is directly consumed, the remainder is used for the production of food from animals.-In order to provide the human body with all essential nutrients there should be a reasonable mix of different food items in the diet. This sometimes leads to problems in a situation where only foods of plant origin are consumed (B<sub>12</sub>, Fe). The nutritional situation in developed countries is determined by a high consumption of foods of animal origin. During the past 30 years we could observe a declining thickness of a piece of bread and on the contrary a rising consumption of bread spreads like sausage. This led, among other things, to overnutrition and an increase of certain nutrition related diseases. It will be necessary to turn consumer's mind back to foods of plant origin. During the last century a deterioration in the quality of some foods could be observed. Through technological measures some seemingly unnecessary components of foods have been eliminated. The consumer tended to choose lighter flour varieties instead of whole grain flours. Bran, mainly used in feeds, contains valuable compounds of the cereal grain.- An increase in the consumption of highly raffinated foods, like sugar or toast, can lead to a critical situation in the provision of exposed parts of a population with some essential nutrients, even by otherwise abundant supplies. In the field of dietary fiber research considerable progress has been made during the past years. Although there are still a lot of unanswered questions it can be said that this food component is a valuable one which has to be provided in adequate amounts to prevent complications.

\*Food nutritional practice requires a certain amount of foods of plant origin in order to have an optimal provision.\*

\*The technological raffination of plant foods should be minimized to what is absolutely necessary. Every fractionation will lead to a loss of essential compounds.\*

**Address(of the first Author)**

Dept. Human Nutr., University Kiel  
Düsternbrooker Weg 17 - 19  
D-2300 Kiel 1 FRG



Literatur

Assinsel (Hrsg.):

Nahrung für 5000 Millionen

CH 1260 Nyon, Chemin du Reposoir 5-7

Blankenburg, P. v.:

Wettbewerb zwischen pflanzlicher und tierischer Produktion in der Welternährung - Beurteilung vor dem Hintergrund des Welt-ernährungsproblems

Ern.Umschau 29, 73 (1982)

Deutsche Gesellschaft für Ernährung:

Ernährungsbericht 1980

Feldheim, W.:

Stuhlgewicht und Transitzeit bei ballaststoffreicher und ballaststoffarmer Kost - Untersuchungen am Menschen  
in: Pflanzenfasern-Ballaststoffe in der menschlichen Ernährung

Stuttgart 1980

Feldheim, W.:

Die diätetische Behandlung mit Kleie bei Obstipation. Vortrag auf einem Symposium über Kleie (Bundesverband der Diätetischen Lebensmittelindustrie)

Gravenbruch 1980

Feldheim, W., Wisker, E., Bahnsen, S.:

Brotverzehr, Ballaststoffe und Darmfunktion

Ern.Umschau 29, (10) (1982)

Food and Agriculture Organisation of the United Nations:  
Composite Flour Program

(1973)

Henneberg, W., Stohmann, F.:

Begründung einer rationellen Fütterung der Wiederkäuer  
(Weender Analyse)

Braunschweig 1864

- James, W.P.T., Theander, O. (Ed.):  
The analysis of dietary fiber in food  
New York 1981
- Kofranyi, E., Jekat, F.:  
Zur Bestimmung der biologischen Wertigkeit von Nahrungs-  
protein  
Hoppe-Seyler's Zt. physiol. Chemie 348, 84, (1967)
- Pellet, P.L., Young, V.R. (Ed.):  
Nutritional Evaluation of Protein in Foods  
The United Nations University 1980
- Souci, Fachmann, Kraut:  
Die Zusammensetzung der Lebensmittel  
Nährwerttabellen 1981/82  
Stuttgart 1981
- Stutzer, A., Isbert, A.:  
Zt, physiol. Chemie 12;72 (1888)
- Teuteberg, H.J., Wiegelmann, G.:  
Der Wandel der Nahrungsgewohnheiten unter dem Einfluß der  
Industrialisierung  
Göttingen 1972
- Trowell, H.:  
The development of the concept of dietary fiber in human  
nutrition  
Am. J. Clin. Nutr. 31, S 3, (1978)
- Wisker, E., Jessen, H., Feldheim, W.:  
Einfluß verschiedener Brotsorten mit unterschiedlichem  
Ballaststoffgehalt auf das Stuhlgewicht  
Akt. Ern.med 7, 161 (1982)

Zitate aus:

Katalyse-Umweltgruppe  
Chemie in Lebensmitteln  
Köln (1982)

Lachneaulico  
Haus- Land- und Wirtschaftsregeln in 2 Abteilungen  
Nürnberg 1770

ABB. 1: DIE ZUSAMMENSETZUNG VON WEIZENVOLLKORNBROT UND WEISSBROT  
 QUELLE: SOUCI-FACHMANN-KRAUT (1981)

	WEIZENVOLLKORNBROT G/100 G	WEISSBROT G/100 G
WASSER	41.7	38.3
PROTEIN	7.6	8.2
FETT	0.9	1.2
KOHLLENHYDRATE	47.4	50.1
ROHFASER	1.5	0.9
BALLASTSTOFFE	4.6	2.7
	MG/100 G	MG/100 G
KALIUM	270	132
CALCIUM	63	58
EISEN	2	0.9
THIAMIN	0.25	0.08
RIBOFLAOIN	0.15	0.06
NIACIN	3.30	0.85
PYRIDOXIN	0.36	0.14

ABB. 2: MINERALSTOFFGEHALTE IN WEIZENMEHLEN

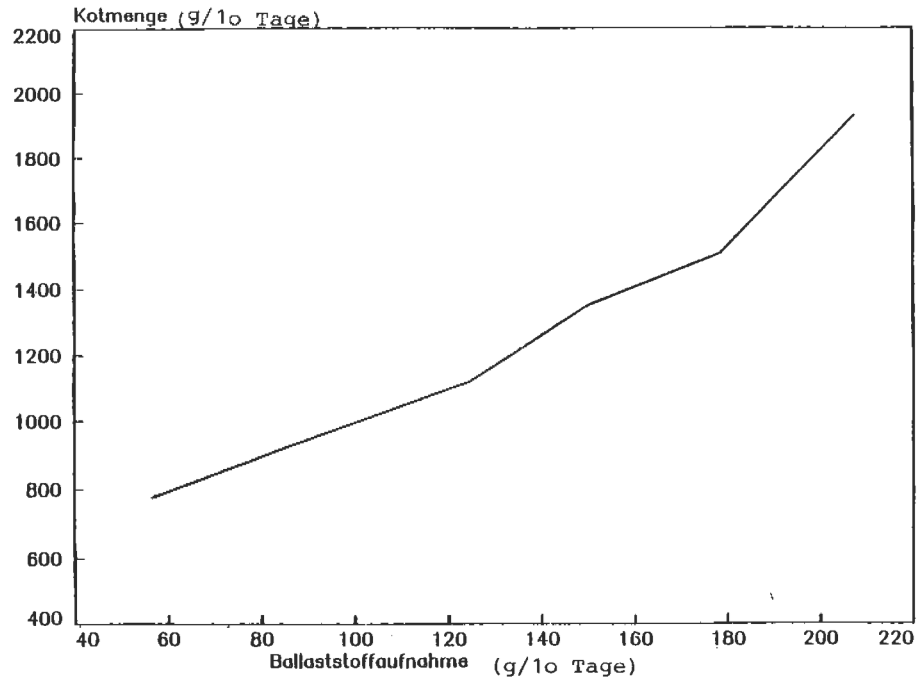
MINERALSTOFF	VOLLKORNMEHL (MG/100 G)	MEHL TYPE 405 (MG/100 G)
CALCIUM	42	27
PHOSPHOR	35	29
KALIUM	380	26
MAGNESIUM	130	6

ABB. 3: VERSORGUNG AN VITAMINEN, MINERALSTOFFEN UND BALLASTSTOFFEN DURCH LEBENSMITTEL  
TIERISCHER UND PFLANZLICHER HERKUNFT

QUELLE: ERNÄHRUNGSBERICHT 1980

	AUS LEBENSMITTELN		TAGESAUFNAHME
	TIERISCHER HERKUNFT	PFLANZLICHER HERKUNFT	
VITAMINE			
RETINOL	1.03 MG	0.40 MG	1.43 MG
TOCOPHEROL	2.26 MG	<u>8.16 MG</u>	10.57 MG
THIAMIN	0.64 MG	0.61 MG	1.26 MG
RIBOFLAVIN	1.21 MG	0.40 MG	1.61 MG
FOLSAURE	24.3 $\mu$ G	89.7 $\mu$ G	1.14 $\mu$ G
ASCORBINSÄURE	2.2 MG	<u>75.3 MG</u>	80 MG
MINERALSTOFFE			
KALIUM	800 MG	<u>1600 MG</u>	2400 MG
CALCIUM	460 MG	176 MG	637 MG
EISEN	4.5 MG	7.1 MG	11.6 MG
BALLASTSTOFFE	0.6 G	<u>19.1 G</u>	19.7 G

Abb.4 : Abhängigkeit des Kotgewichts von der Ballaststoffzufuhr







Paper presented at the joint CIQ/DGQ congress, Kiel,  
Kiel, 6th to 8th September, 1982

A RAPID ENZYMIC METHOD FOR ASSAY OF INSOLUBLE AND SOLUBLE  
DIETARY FIBRE

Nils-Georg Asp, Claes-Göran Johansson and Monica Siljeström

Department of Food Chemistry, Chemical Centre,  
University of Lund, P.O.Box 740, S-220 07 LUND, Sweden

## ABSTRACT

Dietary fibre includes non-starch polysaccharides and lignin. In addition to methods for detailed analysis of the monomers constituting dietary fibre, there is a need of a simple method measuring total dietary fibre. The crude fibre method measures only a small and variable fraction of the total dietary fibre. Neutral detergent fibre does not account for pectins and other soluble components. Enzymatic degradation of protein and starch gives the possibility to separate soluble fibre components by alcohol precipitation or dialysis.

The gravimetric method presented in the paper employs two hours incubation with amylase and protease, precipitation of soluble dietary fibre components with alcohol and recovery of insoluble and soluble components - separately or as a single fraction - by filtration with Celite 545<sup>®</sup> as filtering aid. The assay is run in duplicate. One sample is analyzed for Kjeldahl-N and the other one incinerated to correct for undigestible protein and ash associated with the dietary fibre.

The dietary fibre composition can be suitably determined by gas-chromatographic analysis of the gravimetrically determined dietary fibre residue. Characterization with colourimetric methods according to Southgate correlated quite well with the gas-chromatographic determinations when applied to the purified fibre residue.

## INTRODUCTION

Dietary fibre was originally defined as the plant cell-wall constituents resistant to hydrolysis by enzymes in the stomach and small intestine of man ( 15 ). It was later redefined to include also other undigestible polysaccharides such as plant gums, mucilages and certain storage polysaccharides ( 16 ). There seems now to be an agreement that all non-starch polysaccharides and lignin are dietary fibre. It is still a matter of discussion, however, whether associated compounds such as phytic acid, silica, tannins, cutin, waxes, starch resistant to amylases and even undigestible protein including Maillard reaction products should be included in the concept.

Ever since the present great interest in dietary fibre started there has been an intense discussion concerning analytical methods. In addition to the more informative but also much more laborious gas-chromatographic methods, there is obviously a great need of a simple method to replace the crude fibre assay for total dietary fibre. Due to the variable composition and properties of dietary fibre constituents, such a method has to be a gravimetric one.

More recently developed gravimetric methods employ detergent ( 17 ), detergent and amylase ( 9,11 ), or protease and amylase ( 7,5,10 ). A disadvantage of these methods is that only insoluble

dietary fiber components are determined. The soluble non-starch polysaccharides, i.e. pectins, gums and some hemicelluloses, constitute a considerable fraction of the total dietary fibre (1,2) and should therefore be included in assay of total dietary fibre.

The enzymatic gravimetric methods of Furda ( 6 ), Schweizer and Würsch ( 12 ) and Asp and Johansson ( 2 ) recover the soluble polysaccharides after precipitation with ethanol and centrifugation or filtration. Detergent methods cannot be developed in this way since the soluble polysaccharides cannot easily be separated from detergent solubilized protein and starch.

The enzymatic methods mentioned above for assay of both soluble and insoluble fibre employ long incubation time (20-36 h) and/or laborious centrifugation procedures to recover the dietary fibre fraction. The aim of the present investigation was therefore first to define enzyme systems capable of removing starch and protein from the fibre in as short time as possible and second to find a simple and rapid way of separating the dietary fibre from solubilized protein and starch.

## MATERIAL AND METHODS

Samples and sample preparation. The different flours and the brown beans (Phaseolus vulgaris) were of ordinary Swedish commercial quality. The "mixed diet" sample was obtained by collecting meals included in an ordinary Swedish 24 h diet. It was homogenized and freeze-dried.

All samples were milled to a particle size less than 0.3 mm in a Cyclotec mill (Tecator AB, Höganäs, Sweden). Moisture content was determined by drying to constant weight at 105°C.

Enzymes. The following enzymes were used for digestion of protein and starch: Pepsin NF (Merck, Darmstadt, W. Germany), Pancreatin 4 x NF (Sigma, St. Louis, Mo). Alcalase 0.6 L (Novo A/S, Copenhagen, Denmark), Termamyl 60 L (Novo) and Amyloglucosidase (crystal suspension, Boehringer, Mannheim, W. Germany). Incubations were performed in ordinary Erlenmeyer flasks or vessels specially fitted to the filtration equipment. All incubations were performed with horizontal agitation.

Filtration equipment. A modified Fibertec M equipment (Tecator AB), allowing individual collection of filtrates, was used. Crucibles with porosity 2 (pore size 40-90 µm) were used with 0.5 g Celite® 545 (acid washed and incinerated, Kebo Grave, Stockholm, Sweden) as filter aid.

Starch assay. The fibre residue plus Celite was removed from the crucibles and ground in a mortar. The whole sample was weighed and transferred to an Erlenmeyer flask. 25-50 ml distilled water was added to give a suspension with approximately 3 mg fibre/ml. The suspension was stirred for at least 5 minutes and then gelatinized in a boiling water bath for 15 minutes. 1 ml suspension was withdrawn with a pipette under simultaneous stirring and transferred to a centrifugation tube. Starch was determined as glucose liberated after extensive digestion with amyloglucosidase as described earlier ( 3 ).

Protein assay. Nitrogen was assayed with the Kjeldahl procedure in Kjeltac System 1003 (Tecator AB) according to the manual. Protein was calculated as  $N \times 6.25$ .

Assay of dietary fiber monomeric composition. Hydrolysis with sulphuric acid, and derivatisation to alditol acetates was performed according to the procedure of Theander and Aman ( 14 ). Allose was used as internal standard.

Fat extraction. Fat was extracted according to the procedure of Saunders and Hautala ( 10 ). The sample was weighed and transferred to an Erlenmeyer flask. 40 ml petroleum ether (b.p. 60-71°C) was added per g sample. The suspension was agitated with a magnetic stirrer at room temperature for 15 minutes and was then allowed to settle. The solvent was

withdrawn with a pipette and the sample was airdried at room temperature. In the experiments where the importance of fat extraction was studied, fat was also extracted with  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$  (2:1) in a Soxhlet apparatus for 5 hours.

Fat determination. Fat was determined gravimetrically by extraction in diethyl ether and petroleum ether (b.p.  $40-60^\circ\text{C}$ , 1:1) after hydrolysis with 7.7 N HCl at  $70-80^\circ\text{C}$  for 30-40 minutes (.8 ).

Colourimetric characterization of dietary fibre residues.

The insoluble residues were hydrolysed first with dilute (N) and then with 72% (wt/wt)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  and the hydrolysates were analysed with anthron, orcinol and carbazol essentially according to Southgate (13). The soluble residue was hydrolysed with the dilute acid only. The colourimetric values, obtained with glucose, arabinose and galacturonic acid respectively as standards, were corrected for mutual interference.

## RESULTS AND DISCUSSION

In an earlier comparison of different gravimetric dietary fibre methods (1,2) Hellendoorn's enzymatic method (7), using the physiological enzymes pepsin and pancreatin, was found to give comparatively small residues of starch and protein. The use of enzymes from mammalian tissue would also avoid the risk of traces of dietary fibre splitting enzymes that might occur in microbial enzyme preparations. We therefore started with the Hellendoorn method and tried to recover soluble dietary fibre components by alcohol precipitation, to simplify and speed up the separation of dietary fibre from digested protein and starch, and to shorten enzyme incubation time.

Separation of dietary fibre fractions by filtration

Filtration in glass-filter crucibles with porosity 2 (pore size 40-90  $\mu\text{m}$ , 30 mm diameter) and about 0.5 g Celite<sup>®</sup> 545 as filter aid was found suitable for separation of both insoluble and alcohol precipitated soluble fibre. The filtrations were carried out with a modified Fibertec equipment (Tecator AB, Höganäs, Sweden). Celite was essential both for speeding up the filtrations and for the recovery of especially alcohol precipitated soluble fibre components.



### Protein digestion

The pepsin step in the Hellendoorn method, carried out at pH 1.0 for 18 hours, caused losses of dietary fibre constituents, especially arabinose and mannose ( 3 ). Increase of pH to 1.5 as also recommended in the procedure of Schweizer and Würsch ( 12 ), decreased but did not eliminate these losses. As shown in Table 1 change of pH in the pepsin step from 1.0 to 1.5 slightly increased the recovery of dietary fibre in brown beans but practically did not influence the efficiency of the protein digestion. When the incubation time was diminished to 1 hour the amount of insoluble dietary fibre increased further, as well as the amount of undigested protein. In the soluble fraction neither the fibre nor the residual protein was influenced by these changes in the pepsin step.

From these experiments and similar experiments on a number of other dietary fibre containing foods it was decided to keep the pepsin incubation step at pH 1.5 for 1 hour.

Analysis of filtrate from the alcohol precipitated soluble fraction showed no losses of dietary fibre constituents. This confirms that the precipitation of soluble components by alcohol and the retention of precipitated fibre at filtration was practically complete ( 3 ). Since correction is made for undigestible protein assayed with the Kjeldahl method ( $N \times 6.25$ ), the somewhat less efficient protein digestion compared with the original Hellendoorn method was regarded acceptable.

### Starch digestion

In the original Hellendoorn procedure as well as in our first modification with a short pepsin step, a starch residue remained associated with the fibre. Addition of amyloglucosidase to the pancreatin step, or introduction of a separate 30 min incubation with amyloglucosidase did not remove this residue ( 3 ).

Addition of the heat stable  $\alpha$ -amylase Termamyl in the gelatinization step, that was also used by Theander and Aman (14 ), improved the starch solubilization as shown in Table 2. With the combination of Termamyl and the pancreatic  $\alpha$ -amylase only traces of starch could be demonstrated in the dietary fibre residue (e.g. corresponding to 0.1% dietary fibre or less when analysing a mixed wheat and rye flour).

### Fat extraction

As shown in Table 3, dietary fibre values in whole grain wheat flour, wheat bran and a mixed diet were the same regardless of whether fat extraction was performed before the dietary fibre analysis or not. Obviously therefore fat is efficiently removed in one or several steps of the dietary fibre method itself. Fat extraction thus does not seem necessary. A simple extraction of the bulk of the fat, however, is recommended in samples containing more than 6-8% fat to ensure optimal enzyme digestion.

Direct precipitation

In many instances separate assay of soluble and insoluble dietary fibre components is not necessary. Furthermore, the solubility of dietary fibre components seems to be rather dependent on the analytical method used ( 18 ). Alcohol precipitation immediately after the enzyme digestion gave the same value as the sum of the soluble and insoluble fraction assayed separately ( 3 ).

Recommended method for dietary fibre assay with physiological enzymes

## Reagents:

- 1 0.1 M Na-phosphate buffer pH 6.0
- 2 0.1 M Na-phosphate buffer pH 6.8
- 3 4 M HCl
- 4 4 M NaOH
- 5 95% ethanol - technical grade
- 6 80% ethanol
- 7 Acetone - puriss

## Enzymes:

- 1 Termamyl 60 L
- 2 Pepsin N.F.
- 3 Pancreatin 4 x N.F.

## Procedure:

- 1 Wet samples are homogenized and lyophilized.  
All samples are milled in a laboratory mill with 0.3 mm screen.

- 2 Fat extraction is carried out when fat content exceeds 6-8%, or whenever needed for proper milling. (See MATERIAL AND METHODS.)
- 3 Weigh 1 g of sample with 0.1 mg accuracy (W) and transfer to an Erlenmayer flask. Add 25 ml 0.1 M Na-phosphate buffer pH 6.0 and suspend the sample thoroughly.
- 4 Add 100  $\mu$ l Termamyl. Cover the top of the flask with Al-film and incubate in boiling water bath for 15 minutes (with occasional shaking).
- 5 Allow to cool. Add 20 ml distilled water and adjust pH to 1.5 with HCl. Rinse the electrode with a few ml of water.
- 6 Add 100 mg pepsin. Cover the flasks and incubate in a 40<sup>o</sup>C water bath with agitation for 60 minutes.
- 7 Add 20 ml 0.1 M Na-phosphate buffer pH 6.8 and adjust pH to 6.8 with NaOH. Rinse the electrode with 5 ml buffer.
- 8 Add 100 mg pancreatin. Cover the flasks and incubate in a 40<sup>o</sup>C water bath with agitation for 60 minutes.
- 9 Adjust pH to 4.5 with HCl.
- 10 Filter through a dry and weighed crucible (porosity 2) containing 0.5 g dry Celite (exact weight known) as filter aid. Wash with 2 x 10 ml distilled water.

Residue (insoluble fibre):

- 11 Wash with 2 x 10 ml 95% ethanol and 2 x 10 ml acetone.
- 12 Dry at 105°C to constant weight (or overnight).  
Weigh, after cooling in dessicator (D<sub>1</sub>).
- 13 Incinerate at 550°C for at least 5 hours.  
Weigh, after cooling in dessicator (I<sub>1</sub>).

Filtrate (soluble fibre):

- 14 Adjust the volume of the combined filtrate and washing waters to 100 ml.
- 15 Add 400 ml warm (60°C) 95% ethanol. Allow to precipitate for 1 hour (time can be shortened).
- 16 Filter through a dry and weighed crucible (porosity 2) containing 0.5 g Celite.
- 17 Wash with 2 x 10 ml 80% ethanol, 2 x 10 ml 95% ethanol and 2 x 10 ml acetone.
- 18 Dry at 105°C overnight. Weigh, after cooling in dessicator (D<sub>2</sub>).
- 19 Incinerate at 550°C for at least 5 hours.  
Weigh, after cooling in dessicator (I<sub>2</sub>).

## Blank:

Insoluble and soluble blank values are obtained by running the procedure without sample (B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub>). The blank values should be checked occasionally and when new batches of enzymes are used.

## Calculation:

W = sample weight (g)

D = weight after drying (g)

I = weight after incineration (g)

B = weight of ashfree blank (g)

$$\% \text{ insoluble dietary fibre} = \frac{D_1 - I_1 - B_1}{W} \times 100$$

$$\% \text{ soluble dietary fibre} = \frac{D_2 - I_2 - B_2}{W} \times 100$$

Correction for in vitro undigestible protein:

- 1 Determine nitrogen in the dietary fibre fractions with the Kjeldahl method and transfer to protein by multiplication with 6.25.
- 2 Subtract the protein content of the corresponding blank assayed in the same way.
- 3 The difference, i.e. the in vitro undigestible protein, is subtracted from the dietary fibre values.

## Total fibre determination:

Total fibre can be precipitated directly by adding 4 volumes of 95% alcohol to the whole digest after step 9 and separated with a single filtration, performed as described above for the soluble fiber (step 15-19).

### Precision of dietary fibre assay

The standard deviation of total dietary fibre calculated from duplicate samples was 0.32 g/100 g in samples with low to moderate dietary fibre content and 0.46 g/100 g in samples with very high dietary fibre content. This means a relative standard deviation of 3 and 2% respectively ( 3 ).

### Alternative enzymes

Other enzyme systems have been tested and compared with the recommended procedure. A bacterial rather heat stable protease (Alcalase 0.6 L, Novo A/S, Copenhagen, Denmark) in combination with Termamyl and amyloglucosidase (Boehringer, Mannheim, W. Germany) gave values similar to those obtained with the modified Hellendoorn method ( 3 ).

A proposed AOAC method (Asp, Furda, deVries, to be published) is now tested in a collaborative study. This method is based on the present work and that of Furda ( 6 ) and employs Termamyl, a B. Subtilis protease and Agidex glucoamylase. The dietary fibre values obtained in our laboratory on these collaborative samples were practically the same with the suggested AOAC method as with our method with physiological enzymes.

In another collaborative study ( 18 ) we also got quite good agreement between the proposed AOAC method and the modified Hellendoorn method, and between these two methods and gas-chromatographic analysis according to Englyst ( 4 ) or Theander and Aman ( 14 ).

It thus appears that the choice of enzymes is optional, provided that an efficient starch hydrolysis is obtained and that enzyme preparations used do not contain contaminating dietary fibre splitting enzymes.

#### Characterization of the dietary fibre residue

The gravimetrically determined dietary fibre residue can be further analyzed for determination of the fibre composition. The removal of starch is a crucial point in any dietary fibre assay method. The recommended method gives an efficient starch removal and the gravimetric residue can be analysed for any residual starch. Furthermore, the gravimetric value of total dietary fibre serves as a useful check of the standardization of methods used for characterization.

In Fig. 1 and 2, insoluble and soluble fibre in 7 different foods and one mixed diet have been characterized by gas-chromatographic assay of neutral sugars, a decarboxylation method for uronic acids and Klason lignin. It is evident that all the gravimetric residue (corrected for protein and ash) can be accounted for as dietary fibre constituents. The Klason lignin values, however, may be somewhat too high especially in the soluble fraction, due to formation of Maillard reaction products at the drying at 105°C. Such products would be approximately accounted for by the protein correction and therefore not included in the gravimetric dietary fibre assay.



Therefore, drying at 70°C under vacuum may be recommended for samples that shall be further analysed.

Colourimetric methods according to Southgate (13) are now generally regarded as unspecific and not recommended. When applied to the gravimetrically determined residues, however, we got satisfactory correlation with a gas-chromatographic method, as shown in Fig. 3-5. The colourimetric results were corrected for mutual interference. It thus seems that the colourimetric methods are also useful for a rough but often sufficient characterization of the gravimetric residue. These methods are suitable for automation when large series of samples are to be analysed.

## CONCLUSIONS

The enzymatic gravimetric method described provides a simple and comparatively rapid way of assaying both soluble and insoluble dietary fibre constituents. The gravimetric residue obtained is suitable for further analyses with gas-chromatographic and colourimetric methods.

## REFERENCES

1. Asp N-G (1978) Critical evaluation of some suggested methods for assay of dietary fibre. In: Heaton K W (ed) Dietary fibre. London: John Libbey & Company Ltd, pp 21-26
2. Asp N-G, Johansson C-G (1981) Techniques for measuring dietary fiber. In: James W P T, Theander O (eds). The Analysis of Dietary fiber in Food. New York and Basel: Marcel Dekker Inc, pp 173-189
3. Asp N-G, Johansson C-G, Hallmer H, Siljeström M (1982) Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. J Agric Fd Chem (submitted)
4. Englyst H (1981) Determination of carbohydrate and its composition in plant materials. In: James W P T, Theander O (eds). The Analysis of Dietary fiber in Food. New York and Basel: Marcel Dekker Inc. pp 71-93
5. Elchazly M, Thomas B (1976) Über eine biochemische Methode zum Bestimmen der Ballaststoffe und ihrer Komponenten in pflanzlichen Lebensmitteln. Z Lebensm Unters-Forsch 162: 329-340
6. Furda I (1981) Simultaneous analysis of soluble and insoluble dietary fiber. In: James W P T, Theander O (eds) The Analysis of Dietary Fiber in Food. New York and Basel: Marcel Dekker Inc. pp 163-172
7. Hellendoorn E W, Nordhoff M G, Slagman J (1975) Enzymatic determination of the indigestible residue (dietary fibre) content in human food. J Sci Fd Agric 26: 1461-1468.
8. Horowitz W (1980) Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Washington, pp 213 (method 14.019)

9. Robertson J B, Van Soest P J (1977) Dietary fiber estimation in concentrate feedstuffs. *J Animal Sci* 45: 254-
10. Saunders R M, Hautala E (1979) Dietary fiber evaluation of wheat products by in vitro and in vivo methods. In: Inglett G E, Falkehag S I (eds). *Dietary fibers, chemistry and nutrition*, 79-92
11. Schaller D (1977) Analysis of dietary fiber. *Fd Product Dev* 11:70-72
12. Schweizer T F, Würsch P (1979) Analysis of Dietary Fibre. *J Sci Fd Agric* 30:613-619
13. Southgate D A T (1981) Use of the Southgate method for unavailable carbohydrates in the measurement of dietary fibre. In: James W P T, Theander O (eds) *The Analysis of Dietary fiber in Food*. New York and Basel: Marcel Dekker Inc, pp 1-19
14. Theander O, Aman P (1979) Studies on Dietary Fibres. *Swedish J agric Res* 9:97-106
15. Trowell H (1972) Ischemic heart disease and dietary fiber. *Am J Clin Nutr* 25:926-932
16. Trowell H, Southgate D A T, Wolever T M S, Leeds A R L, Gassull M A, Jenkins D A (1976) Dietary fibre redefined. *Lancet* 1:967
17. Van Soest P J, Wine R H (1967) Use of detergents in the analysis of fibrous feeds IV. Determination of plant cell wall constituents. *J Ass Off Anal Chem* 50:50-55
18. Varo P, Laine R, Koivistoinen P (1982) The effect of heat treatment on dietary fibre: a collaborative study. *J AOAC* (to be submitted)

Table 1

Efficiency of protein digestion with various conditions at the pepsin incubation and a following 1 h pancreatin digestion ( percent of original material on moisture-free basis).

Material analyzed, and conditions for pepsin step	Insoluble dietary fiber			Soluble dietary fiber			Total dietary fiber (corrected for blank and <u>in</u> <u>vitro</u> undigestible protein)
	Dietary fiber (corrected for blank)	Protein (in addi- tion to blank)	Dietary fiber (corrected for protein)	Dietary fiber (corrected for blank)	Protein (in addi- tion to blank)	Dietary fiber (corrected for protein)	
<u>Brown beans</u> (Phaseolus vulgaris)*							
Pepsin 18 h pH 1.0	12.2	2.1	10.1	7.3	1.5	5.8	15.9
-"- 18 h pH 1.5	13.4	2.2	11.2	7.3	2.1	5.2	16.4
-"- 1 h pH 1.5	17.9	4.5	13.4	7.1	1.8	5.3	18.7

Table 2

Effect of addition of Termamyl to the gelatinization step and amyloglucosidase either to the pancreatin step or in an additional incubation step on starch residue in dietary fiber of a mixed wheat/rye flour. ( The figures are in percent of the flour)

	Total dietary fiber	Starch residue	Protein residue ( in addition to blank)
<u>No Termamyl</u>			
1. No amyloglucosidase	12.6	0.9	1.3
2. Amyloglucosidase added in pancreatin step	12.6	0.8	1.3
3. Separate amyloglucosidase incubation; pH 4.5, 60 °C, 30 minutes	12.4	0.8	not determined
<u>Termamyl in gelatinization step</u>			
1. No amyloglucosidase	11.4	0.1	1.4
2. Amyloglucosidase added in pancreatin step	11.6	0.1	1.3
3. Separate amyloglucosidase incubation; pH 4.5, 60 °C, 30 minutes	11.4	0.1	not determined

Table 3

Effect of fat extraction with various methods  
before dietary fiber analysis with the proposed method.

( The figures are in percent of the original material.)

	<u>Whole grain wheat flour</u>			<u>Wheat bran</u>			<u>Mixed diet</u>		
	No fat extraction	Petroleum ether <sup>1</sup>	Soxhlet <sup>2</sup>	No fat extraction	Petroleum ether <sup>1</sup>	Soxhlet <sup>2</sup>	No fat extraction	Petroleum ether <sup>1</sup>	Soxhlet <sup>2</sup>
Remaining fat in sample, analyzed after acid hydrolysis <sup>3</sup> (%)	3.5	1.8	0.7	6	3.2	1.3	22.2	5.9	1.4
Dietary fiber (corrected for undigestible protein) (%)	12.5	12.4	13.1	47.4	47.4	47.0	6.4	6.5	6.4

<sup>1</sup> Extraction at room temperature with 40 ml petroleum ether/g sample for 30 min.

<sup>2</sup> Extraction with chloroform/methanol 2/1 in a Soxhlet apparatus for 5 h.

<sup>3</sup> Reference: AOAC method 14, 019, 13th Ed. 1980.

## INSOLUBLE FIBRE

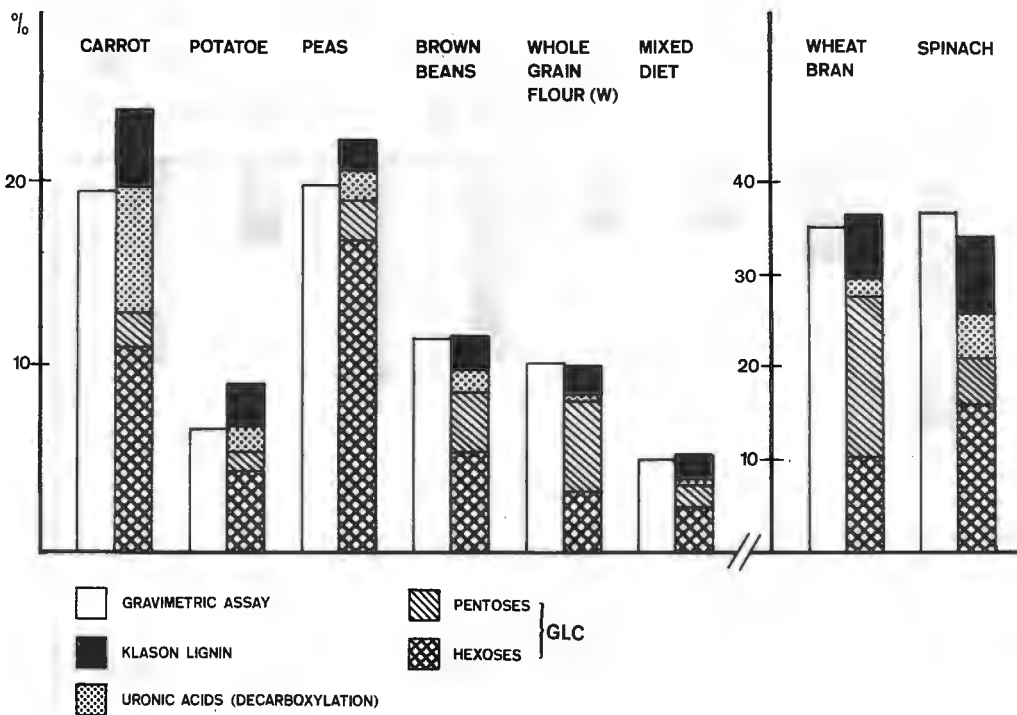


Fig. 1. Characterisation of insoluble dietary fibre prepared by the suggested method.

## SOLUBLE FIBRE

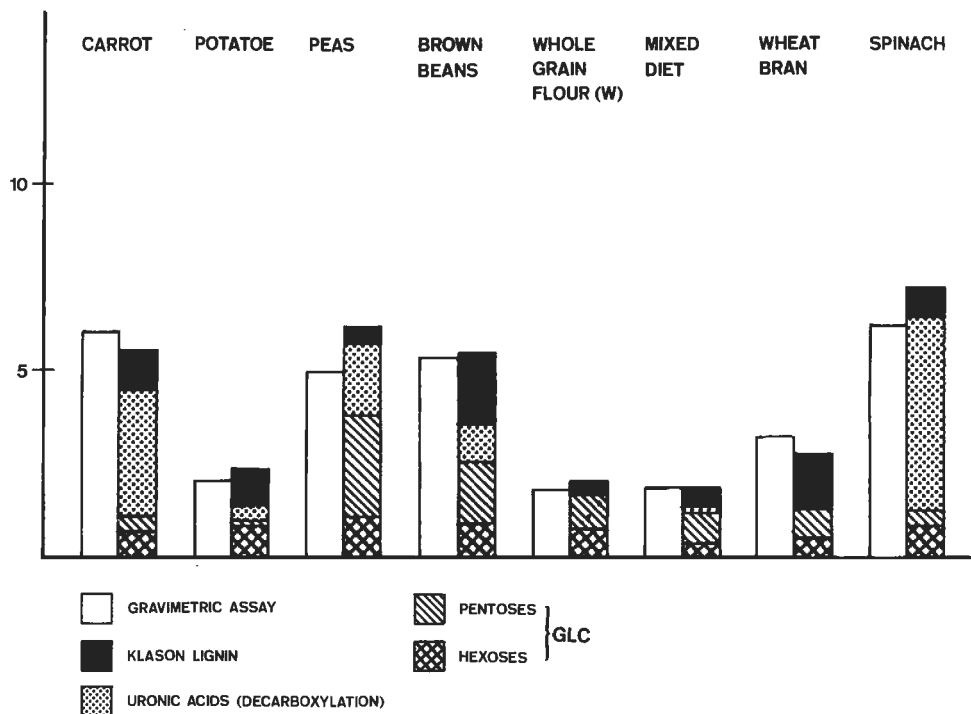


Fig. 2. Characterisation of soluble dietary fibre prepared by the suggested method.



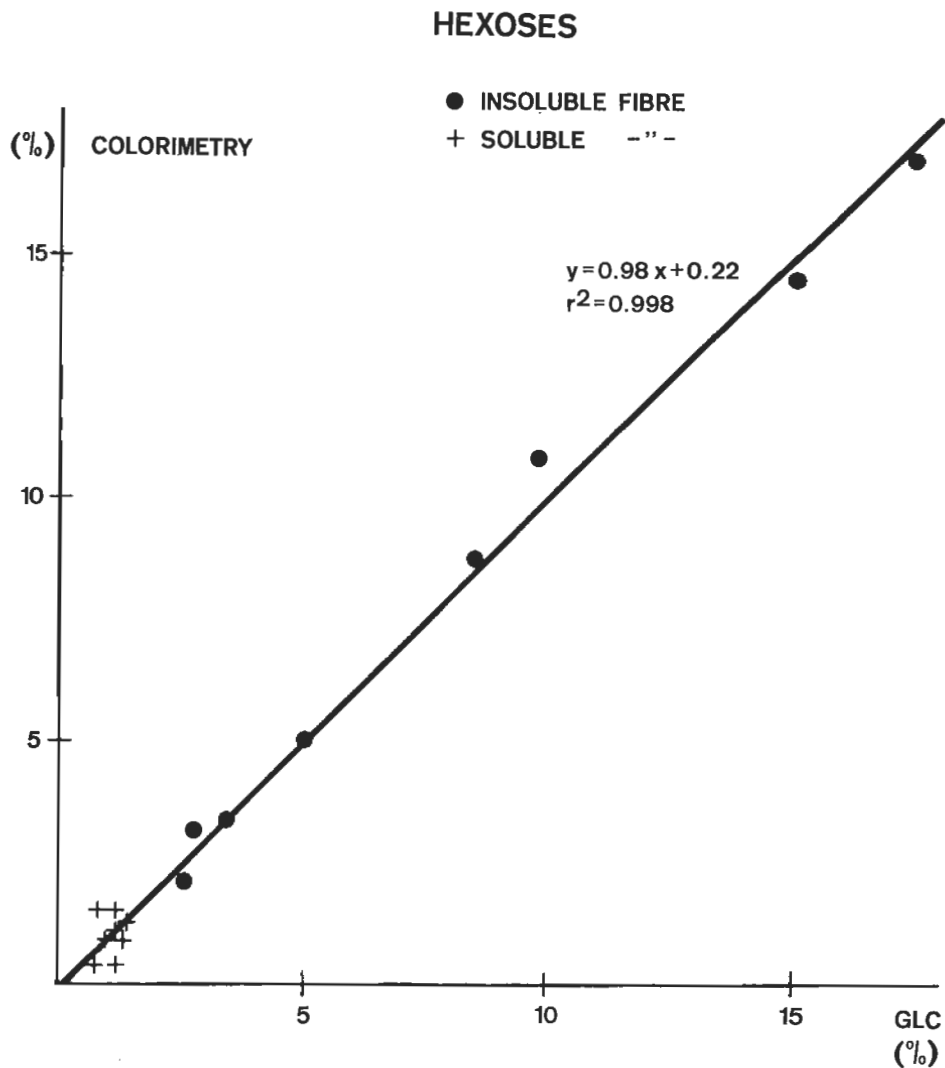


Fig. 3. Comparison of characterisation of dietary fibre residues with gas-chromatographic assay of neutral sugars and decarboxylation assay of uronic acids (14) versus colourimetric assay of hexoses.

## PENTOSE

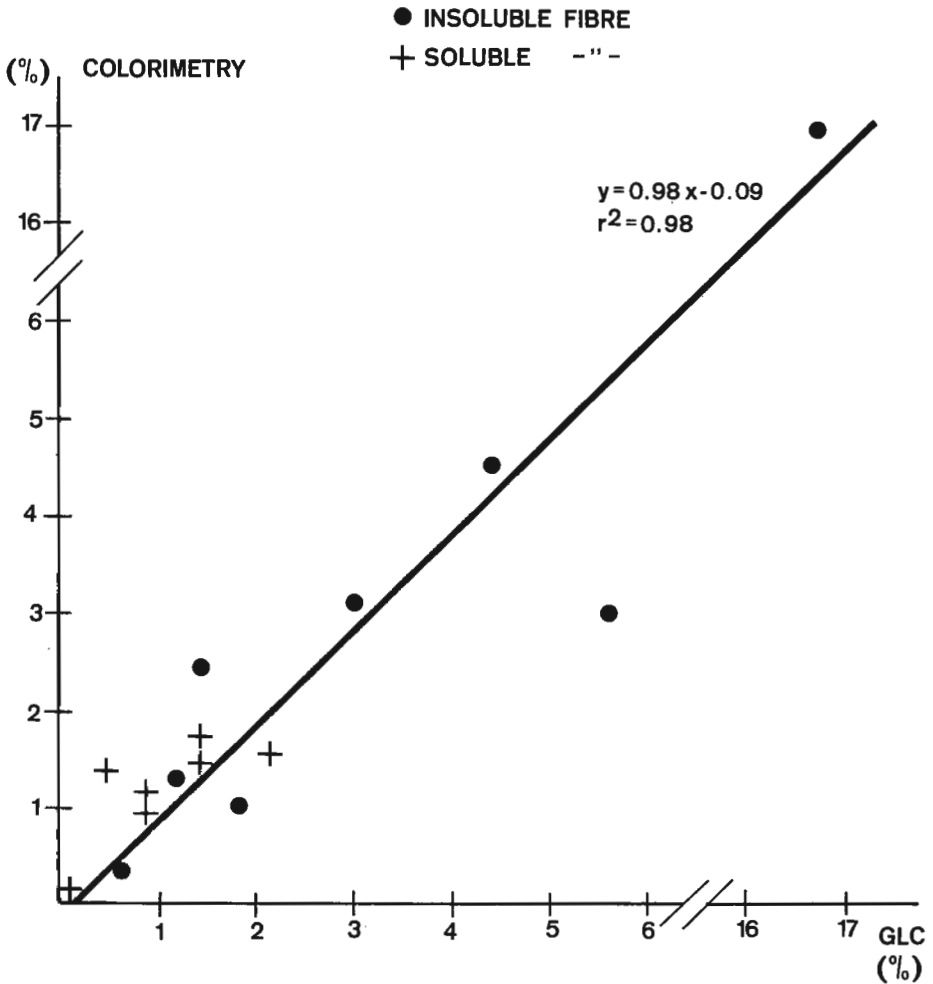


Fig. 4. Comparison of characterisation of dietary fibre residues with gas-chromatographic assay of neutral sugars and decarboxylation assay of uronic acids (14) versus colourimetric assay of pentoses.

## URONIC ACIDS

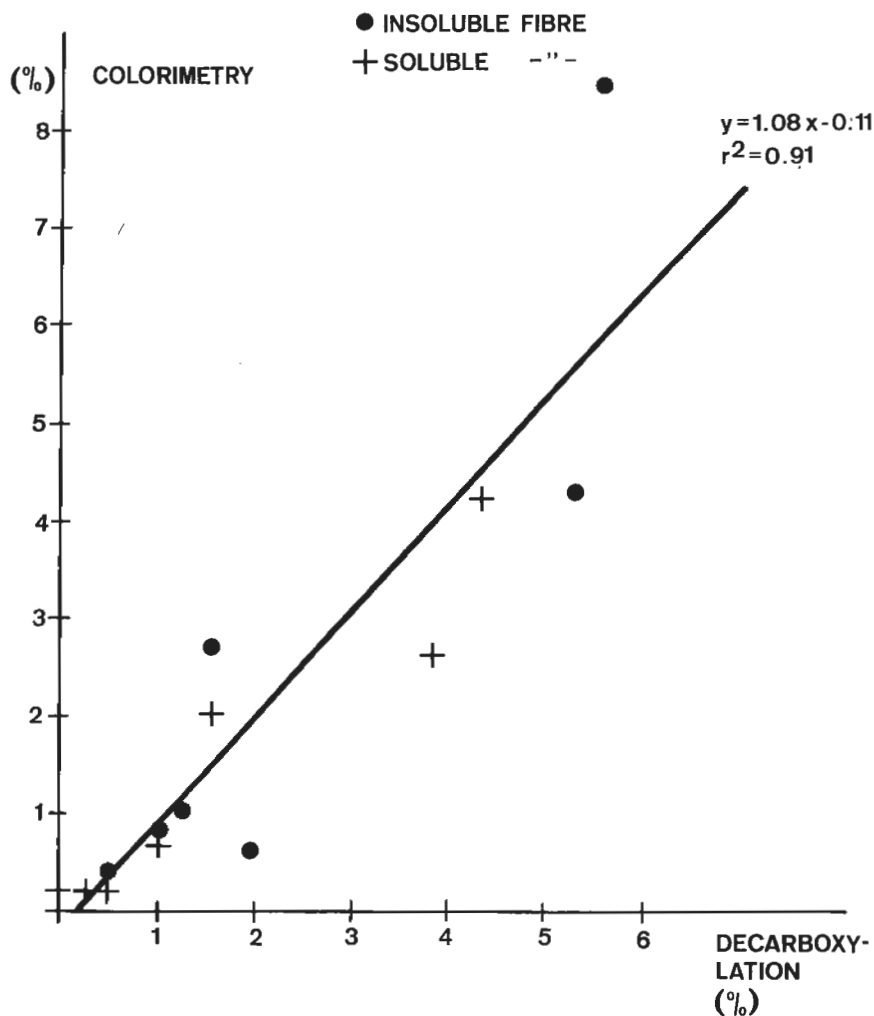


Fig. 5. Comparison of characterisation of dietary fibre residues with gas-chromatographic assay of neutral sugars and decarboxylation assay of uronic acids (14) versus colourimetric assay of uronic acids.



DIETARY FIBER AND PHYTIC ACID IN EGYPTAIN DIETS

S.K.El-Samahy, A.Askar, Khadiga A.Sedky and M.G.Abd El-Fadeel

Department of Food Science, University of Suez Canal,  
Ismailia, Egypt.

### Introduction

The intake of dietary fiber (which is defined as the sum of lignin and the polysaccharides not hydrolysed by the endogenous secretions of the human digestive tract) is derived from the plant cell walls in the diet and other non-structural polysaccharides either present naturally in foods, or derived from polysaccharide food additives such as gums or algal polysaccharides, Southgate and Bingham (1). The principal physical properties of dietary fiber are those of particle size, density, hydration capacity, and ion exchange capacity. Their role in controlling the physiological value of dietary fiber and intricacies involved in their measuring have been discussed by several workers (2-6). Although the inclusion of a certain amount of fiber in the diet has been recognized for sometime as desirable in maintaining normal laxation, fiber has been largely neglected by human nutritionists and considered an insignificant part of the diet. Recent interest in the comparison of the incidence of disease in different countries and in the function of environmental factors in disease processes has focused attention on the role of fiber in the gastrointestinal system related to the maintenance of man's health. A hypothesis based largely on epidemiological evidence states that lack of fiber in the diet may be a contributing factor in a number of noninfectious diseases of civilization including diverticular disease of the colon (7), colonic cancer (8), appendicitis (9), hiatus hernia (8), and coronary heart disease (10).

Phytins, the mixed Ca and Mg salts of myo-inositol-1,2,3,4,5,6-hexakis (dihydrogen phosphate), also known as phytic acid, are widespread in nature. They are the principal form of phosphorus (P) in many seeds; 60-90% of all the P in these seeds is present as phytic acid (11). Asada et al. (12) found that phytate contains over 80% of the total P of nature rice grain and the turnover of phytate P is practically nil in the resting grain. It was found that in wheat, phytate P varied from 49 to 80% of the total P of the grain (13-16). From that it can be concluded that phytate can be considered a final product of P metabolism in the ripening process.

A large part of the P in wheat and other cereal grains is present as phytic acid. The nutritional importance of phytic acid lies in

its ability to chelate several mineral elements, especially Ca, Mg, Fe, Zn and Mo, and thereby reduce their availability in the intestinal tract (17). It has been proved that phytic acid causes Mg deficiency in rats fed purified diets (18-20), decreases Zn availability (21-25) and in man (26), and interferes with Fe absorption (27).

A number of investigations have demonstrated that phytic acid might be responsible for decreased physiological availability of dietary Ca (18,26,28-33). Phytic acid reacts with proteins to form complex products of varying composition and it has been shown to have an inhibitory effect on the peptic digestion of ovalbumin and elastin (11). This effect is believed to be related to its property to form insoluble combinations with proteins in an acid medium and in a range of pH which corresponds precisely to the optimum for the action of pepsin.

Lolas and Markakis (34) found that 99.6% of the total phytic acid in beans (Phaseolus vulgaris) was in a water-soluble form.

The present paper was planned to give an idea about the crude fiber, dietary fiber and phytic acid <sup>contents</sup> in some foodstuffs, and their changes during processing. The average daily intake of crude fiber and dietary fiber in Egyptian diet was also calculated.

#### Materials and methods

The commercial products which were obtained from local retail markets, are listed in Table 1. For the determination of crude fiber, dietary fiber and phytic acid content in some popular Egyptian diets, three diets were obtained commercially and included: Faba bean sandwich, Taamia sandwich and Kusharie.

Faba bean sandwich: The sandwich weighed 120±10 gm. It consisted of 80% bread (prepared from wheat flour extraction 72%) and 20% cooked faba beans, synonym broad beans (Vicia faba) mixed with oil, salt, spices and some salad.

Taamia sandwich: The sandwich weighed 115±10 gm. It consisted of 70% bread (prepared from wheat flour extraction 72%) and 20% Taamia (Dehulled faba bean previously soaked in water for about 18 hrs and then grounded with parsley, dill, some bread, salt, and spices. The resultant paste shaped in a round forms and fried in oil) and 10% green salad.

Kusharie : This diet is a mixture of cooked rice ( $45 \pm 5\%$ ), macaroni ( $35 \pm 5\%$ ), lentil ( $15 \pm 5\%$ ), fried onion, tomato souce, salt and spices ( 5%).

The enzymatic determination of dietary fiber and its three main components (crude hemicellulose, crude cellulose and crude lignin) was carried out according to Elchazly and Thomas (35). In this method the sample (dry and fat free) was treated with takadiastase (18 hrs at  $37^{\circ}\text{C}$  and pH 4.7) and then with trypsin (18 hrs at  $37^{\circ}\text{C}$  and pH 8). The insoluble residue that remains is considered as "unavailable carbohydrate" (dietary fiber) and fractionated in the three main components. The separation of crude hemicellulose was carried out using 5%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  for 2  $\frac{1}{2}$  hrs at  $100^{\circ}\text{C}$ , and of crude cellulose using 72%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  for 30 hrs at  $4^{\circ}\text{C}$ . The rest after this treatment is crude lignin (35).

Crude fiber was determined according to the standard and official method of the AOAC (36). In this method acid and alkaline-detergent fiber (mainly cellulose and some lignin) was determined.

The phytic acid content was determined by the method described by Kent-Jones and Amos (37).

## Results and discussion

### Dietary fiber

Data presented in Table 1 show that type as well as amount of total crude and dietary fiber varied widely in the tested food-stuffs. The contents of crude fiber were in comparison to dietary fiber very low. Crude fiber is essentially the residue left after sequential hot digestion with 1.25% sulfuric acid and 1.25% sodium hydroxide solutions. This determination underestimates, in varying degrees, the amount of material left undigested by humans. It is generally known that hemicellulose and cellulose are partly hydrolyzed by both acid and alkaline solutions. Therefore, it is generally agreed that the crude fiber value cannot be considered an accurate estimate of dietary fiber, but is only a rough indicator.

Dietary fiber is variously defined as unavailable carbohydrate and lignin which are not hydrolyzed by alimentary enzymes of man. From these definitions, dietary fiber can be considered a complex



entity; and estimation by chemical methodology becomes limited to the relation between fibrous compounds isolated by chemical reagents and the indigestible residue.

The method used in this study to determine dietary fiber appears to remove most of the starch and protein from the samples and the fractionation procedure of hemicellulose, cellulose and lignin was rapid and the results were exact.

Data recorded in Table 1 show that refining foodstuffs such as wheat and legumes reduced the dietary fiber content. As shown from the data graphically illustrated in Figure 1, when wheat flour extraction reduced from 98% to 72%, the content of dietary fiber reduced from 13.8% to 4.8%. The main decrease was in the lignin fraction. Dehulling of lentil decreased also dietary fiber content from 11.2% to 7.5%. The main decrease here was in the hemicellulose and lignin fractions. These findings are similar to those obtained by Southgate and Bingham (1). The authors found that, wholemeal wheat flours contain between 12 and 15% dietary fiber, whereas white flour (72% extraction) contains between 3 and 4%. The previous data suggest that the refining process remove some of the dietary fiber present in the peel.

Among foodstuffs conventionally consumed in Egypt Faba bean (Vicia faba), snap bean, synonym white bean (Phaseolus vulgaris), chick pea (Cicer arietinum), whole wheat flour and corn flour contained relatively high concentration of dietary fiber (Table 1).

Determination of dietary fiber in the cheapest and popular Egyptian diets, being "Faba bean and Taamia sandwiches" and "Kusharie" showed that they contain an appreciable amount of dietary fiber lies between 6 to 10 gm/100gm (Table 1). The dietary fiber in these diets are mainly cellulose and hemicellulose. This indicates that like these Egyptian diets could be considered as good sources for dietary fiber.

From the data recorded in Table 2, it is obvious that the content of dietary fiber varied according to the method used for preparing chick-pea. Blanching in water and soaking after blanching reduced the content of dietary fiber (Table 2).

The average amount of crude fiber and dietary fiber in Egyptian diet was calculated based on the data of the present investigation and data previously published by other investigators and

the per capita daily intake of foodstuffs in Egypt (Table 3). The daily intake of foodstuffs in Egypt is approximately 1200 gm, containing about 90 gm protein, including 13 gm animal protein and 77 gm plant protein (38).

The intake of crude fiber and dietary fiber were calculated to be approximately 9.6 and 62.0 gm per capita per day (Table 3). The intake of crude fiber in USA was in year (1880) 8.1 and in year (1970) 5.1 gm/capita/day (Burkitt et al.(43)). It was in Germany in year (1880) 12.6 and in year (1970 also) 5.1 gm/capita/day (Thomas and Rienerman (42)).

The total intake of dietary fiber for the United Kingdom was calculated 1970 to be 22,7 gm/capita/day (Southgate and Bingham (1)). The data show that dietary fiber intake in the UK were greatly increased during war when high extraction wheat flour was used in bread making. The intake was 32,0-37,3 in the year 1942 (1).

The principal sources of dietary fiber in Egyptian diet are wheat flour and corn (Table 3). These sources provide about 83% of the total dietary fiber intake per day.

Because of average diet in Egypt is rich on dietary fiber, the possibility of a deficiency, at least in adults, appeared to remote; so far as wheat and corn (as bread and other baked products) constituted the major items in Egyptian diet.

The requirements of dietary fiber vary according to what man wants the dietary fiber to do, as dietary fiber from different sources had different effects on faecal, meanwhile other dietary fiber components affect serum cholesterol. Cummingo et al. (44) mentioned that the type of dietary fiber varies from food to food and equivalent weights of dietary fiber from different sources do not have the same effect on faecal bulking.

#### Phytic acid

From the data recorded in Table 1, it is obvious that there was a distinct variation between phytic acid content of the cereals and legumes tested. It ranged from 377 mg/100gm in the case of whole lentil to 108 mg/100gm in the case of polished rice. As noticed in the case of dietary fiber, phytic acid reduced with increasing the degree of refining of food in which it present. Reducing wheat flour extraction from 98% to 82% caused a reduction in phytic acid content with 18.5%, while reducing

wheat flour extraction from 82% to 72% caused a reduction with 60.4% (Figure 2). In this respect we can notice that phytic acid mainly present in the flour obtained from the second roller, in another words in the aluerene layer.

Thus, in case of using wheat flour with high extraction it should be recommended to supplement this flour with Ca, Mg, Fe and Zn to retain the loss resulted in from the capture of phytic acid with these minerals (17).

Dehulling of lentil and faba bean decreased also the content of phytic acid to about 30% of the original values (Figure 2). Data presented in Table 2 showed that blanching chick-pea in boiling water was more effective in reducing the amount of phytic acid than steam blanching. That means large part of phytic acid is in a water-soluble form. This result is in accordance with that observed by Lolos and Markakis (34). The authors found that 99.6% of the total phytic acid of beans (Phaseolus vulgaris) was in a water-soluble form. Blanching in water and then soaking in water for 1 day reduced the content of phytic acid in chick-pea to about 16% of the original value (Table 2).

From the above results, it was thought advisable to determine the effect of soaking foodstuff in water for different times. Data illustrated in Figure 3 showed that prolonging soaking time increased the reduction of phytic acid of faba bean. Blanching beans after soaking helped in reducing the amount of phytic acid content. These data lead us to recommend soaking of dry legumes before cooking specially in the countries that people use them in great amounts, like people in the developing countries. Moreover, when such cereals or legumes use for baby foods, soaking or germinating these stuffs are beneficial to prevent the deficiency in Ca, Fe and Zn.

Determination of phytic acid in the three popular diets in Egypt showed that "Kusharie" contains the lowest amount of phytic acid, while faba bean sandwiches have the highest amount (Table1). This difference due to the variation in the composition of each food item as shown in materials and methods section.

Summary

The nutritional importance of dietary fiber and phytic acid were briefly reviewed. The content of dietary fiber and phytic acid of some foodstuffs and three popular diets were determined. Faba bean, snap bean, chick-pea, lentil, whole wheat flour and corn flour contained relatively high concentration of dietary fiber and phytic acid.

Refining of foodstuffs, such as reducing of wheat flour extraction, dehulling of dry legumes reduced markedly the content of phytic acid and dietary fiber. Soaking and blanching of dry legumes could be recommended to reduce the undesirsble content of phytic acid in such legumes.

The average daily intake of dietary fiber in Egyptian diet was calculated to be 62 gm per capita. Because of average diet in Egypt is rich on dietary fiber, the possibility of a deficiency, at least in adults, appeared to remote.

Literature :

1. Southgate, D.A.T. and S.A. Bingham : Qual.Plant.-Pl.Fds. hum.Nutr. 29,49 (1979)
2. McConnell, A.A., M.A. Eastwood and W.D. Mitchell : J.Sci. Food Agric. 25, 1457 (1974)
3. Van Soest, P.J. and J.B. Robertson : Chemical and physical properties of dietary fiber. In"Dietary fiber" Proceedings of the Miles Symposium p.13.The Nutrition Society of Canada, Halifax,N.S. (1976)
4. Eastwood, M.A. and W.D. Mitchell : Physical properties of fiber : A biological evaluation. In"Fiber in Human Nutrition, G.A.Spiller and R.J.Amen(Editors) p.109. Plenum Press, New York and London (1976)
5. Childs,E. and A. Abajian : J. Food Sci. 41, 1235 (1976)
6. Shaller, D. : Food Product Development 11, 70 (1977)
7. Painter, N.S. and D.P. Burkitt : Br. Med. J. 2, 450 (1971)
8. Burkitt, D.P. : J. Roy. Coll. Phy.London 2, 138 (1975)
9. Walker, A.R.P., B.D. Richardson, B.F. Walker and A. Woolford : Postgrad Med. J. 49, 243 (1973)
10. Trowell, H.C. : Europ. J. Clin. Biol. Res. 17, 345 (1972)
11. Barre,M.R. : Ann. Pharm. Fr. 14, 182 (1956)
12. Asada, K., K. Tanaka and Z. Kasai : Plant Cell Physiol. 2, 195 (1968)
13. Knowles, F. and J.E. Watkins : J. Agric. Sci. 22, 755 (1932)
14. Booth, R.G., R.H. Carter, C.R. Jones and T. Moran : J. Soc. Chem. Ind. London 60, 903 (1941)
15. O'Dell, B.L., A.R. de Boland and S.R. Koirtiyohann : J. Agric. Food Chem. 20, 718 (1972)
16. Abernethy,R.H., G.M. Paulsen and R. Ellis : J. Agric. Food Chem. 21, 282 (1973)
17. Oberleas, D. : Phytates. In "Toxicants Ocurring Naturally in Foods". Nat. Acad. Sci. Washington, D.C. (1973)
18. McCance,R.A. and E.M. Widdowson : J. Physiol. 101, 304 (1942)
19. Roberts, A.H. and J. Yudkin : Nature (London) 185, 823 (1960)
20. Likuski, H.J. and R.M. Forbes : J. Nutr. 85, 230 (1965)
21. O'Dell, B.L. and J.E. Savage : Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 103, 304 (1960)
22. O'Dell, B.L. : Am. J. Clin. Natur. 22, 1315 (1969)
23. Prasad, A.S., A. Miale, Z. Farid, H.H. Sandstead, A.R. Schulert, and W.J. Darby : Arch. Intrn. Med. 111, 407 (1963)

24. Reinhold, J.G. : Am. J. Nutr. 24, 1204 (1971)
25. Halsted, J.A., H.A. Ronaghy, P. Abadi, M. Haghshenass, G.H. Amirhakimi, R.M. Barakat and J.G. Reinhold : Am. J. Med. 53, 277 (1972)
26. Reinhold, J.G., K. Nasr, A. Lahimgarzadeh, H. Hedayati : Lancet II, 283 (1973)
27. Anonymous : Nutrition Rev. 25, 218 (1967)
28. Harrison, D.C. and E. Mellanby : Biochem. J. 33, 1660 (1939)
29. Krebs, H.A. and E. Mellanby : Biochem. J. 37, 466 (1943)
30. Hoff-Jorgensen, E., U. Andersen and G. Nielsen : Biochem. J. 40, 555 (1946)
31. Cullumbine, H., V. Basnayake, J. Lemotte and T.W. Wickamanayake: Br. J. Nutr. 4, 101 (1950)
32. Berlyne, G.M., J. BenAri, E. Nord and R. Shainkin : J. Clin. Nutr. 26, 910 (1973)
33. Nelson, T.S., J.J. Gillivary, T.R. Shieh, R.J. Wodzinski and J.H. Ware : Poultry Sci. 47, 1985 (1968)
34. Lolos, G.M. and P. Markakis : J. Agric. Food Chem. 23, 1 (1975)
35. Elchazly, M. and B. Thomas : Z. Lebensm.-Unters. u. -Forsch. 162, 329 (1976)
36. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis (12th ed.). The Association, Washington, D.C. (1975)
37. Kent-Jones, D.W. and A.J. Amos : Modern cereal chemistry. Food Trade Press LTD, London (1967)
38. Ministry of Agriculture, Egypt : Food production and consumption in Egypt. Department of Economic Research of Plant Production (1977)
39. Southgate, D.A.T. : Bibl. Nutr. Dieta 22, 109 (1975)
40. Southgate, D.A.T. : Amer. J. Clin. Nutr. 31, 5107 (1978)
41. Jwuang, W.J. and M.E. Zabik : J. Food Sci. 44, 924 (1979)
42. Thomas, B. and Ursula, Rienerman : Ernährungs-Umsch. 23, 301 (1976)
43. Burkitt, D.P., A.R.P. Walker and N.S. Painter : Lancet II, 1408 (1972)
44. Cummings, J.H. , D.A.T. Southgate, W. Branch, H. Houston, D.J.A. Henkins and W.P.T. James : Lancet I, 5 (1978)

Table 1 Crude fiber, dietary fiber and phytic acid contents in some foodstuffs.

Food item	Moisture %	Crude fiber %	Dietary fiber %	Coposition of dietary fiber %			Phytic acid mg/100gm
				Hemicellulose	Cellulose	Lignin	
Wheat flour (98%)	10.5	1.8	13.8	56.8	37.4	5.8	251
Wheat flour (82%)	11.0	1.2	8.6	58.9	37.8	3.3	205
Wheat flour (72%)	11.8	0.5	4.8	59.8	38.1	2.1	81
Corn flour (100%)	11.4	1.5	10.2	59.6	26.8	13.6	298
Polished rice	12.4	0.6	3.1	27.9	67.3	4.7	108
Lentil (crude)	10.1	3.4	11.2	27.2	46.6	26.2	377
Lentil (dehulled)	11.4	2.6	7.5	21.8	72.1	6.1	97
Faba bean	10.0	3.9	18.5	20.4	61.8	17.8	329
Snap bean	10.3	3.5	16.4	20.6	62.0	17.4	180
Chick-pea	10.5	2.1	12.3	55.2	38.5	6.3	326
Popular diets :							
Faba bean sandwich	24.0	2.8	9.8	43.1	47.4	9.5	191
Taamia sandwich	24.5	2.3	6.7	53.9	42.2	3.9	95
Kusharie	25.0	1.5	6.3	38.5	54.0	7.5	45

Table 2 Effect of processing on the type and amount of fiber and phytic acid in chick-pea.

Chick-pea processed as indicated below	Moisture %	Crude fiber %	Dietary fiber %	Composition of dietary fiber %			Phytic acid mg/100gm
				Hemicellulose	Cellulose	Lignin	
Raw	10.5	2.1	12.3	55.2	38.5	6.3	326
Steam blanched 1 hr	12.5	2.1	9.9	55.2	38.5	6.3	231
Blanched in water 1 hr	13.5	2.0	8.8	56.0	37.8	6.2	99
Blanched in water and soaked 1 day	15.5	1.5	6.4	55.9	37.9	6.2	55



Table 3 The intake of crude fiber and dietary fiber from foodstuffs.

Foodstuffs	Intake *	Crude fiber		Dietary fiber	
		gm/day/capita	Content%	Intake	Content%
Wheat	290	1.20	3.48	8.6	24.90
White corn	223	1.50	3.35	10.2	22.80
Yellow corn	45	0.70	0.32	8.3	3.74
Rice	90	0.50	0.45	3.1	2.79
Faba bean	15	3.90	0.59	18.5	2.80
Lentil	4	3.40	0.14	11.2	0.50
Other pulses	3	3.50**	0.11	12.0**	0.36
Onion	35	0.60**	0.21	0.6**	0.21
Potato	38	0.40**	0.15	1.0**	0.38
Vegetables	23	1.20**	0.28	4.0**	0.92
Fruits	137	0.40**	0.55	1.9**	2.60
Sugars	62				
Glucose	3				
Oils	29				
Meats	19				
Chicken	9				
Fish	13				
Eggs	4				
Milk	162				
<b>Total</b>	<b>1204</b>		<b>9.63</b>		<b>62.00</b>

\* Quoted from data of Department of Economic Research of Plant Production, Ministry of Agriculture , Egypt (38)

\*\* Quoted from Southgate (39,40) , Jwuang and Zabik (41), Thomas and Elchazly (42)

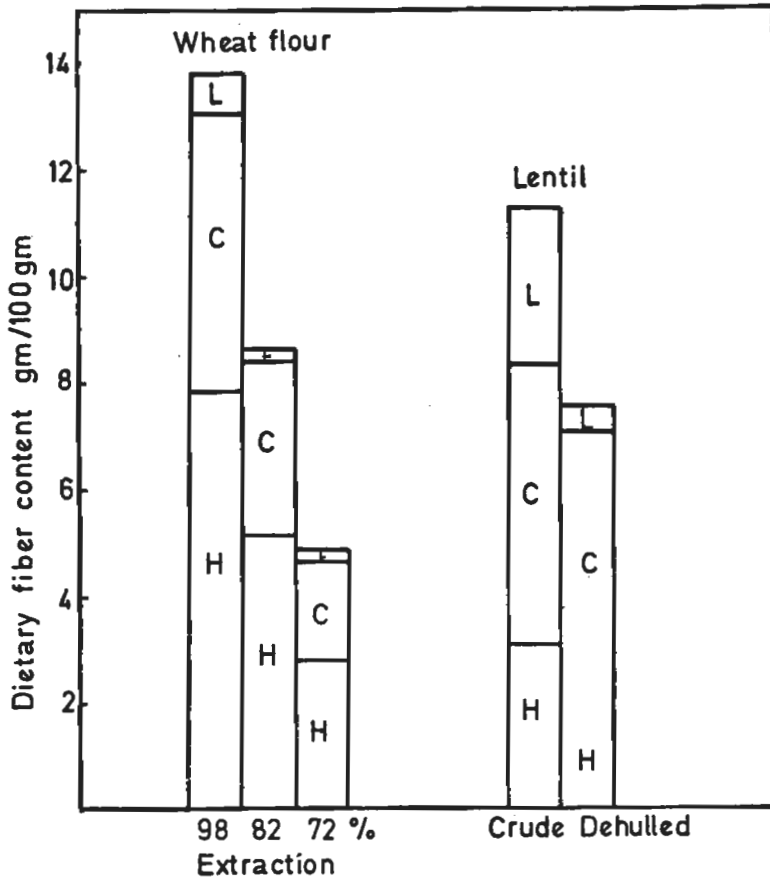


Figure 1 Histogram illustrating the effect of refining wheat and lentil on dietary fiber composition.

L = Lignin, C = Cellulose and H = Hemicellulose

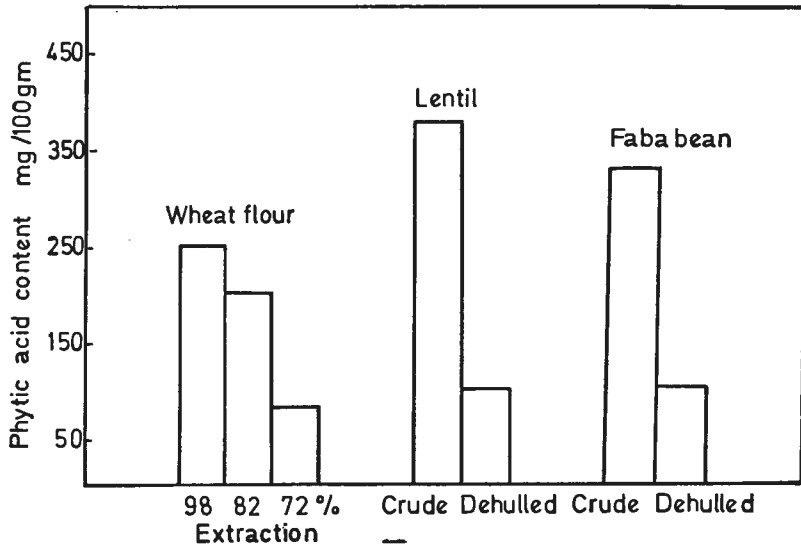


Figure 2 Histogram illustrating the effect of refining wheat, lentil and faba bean on phytic acid content.

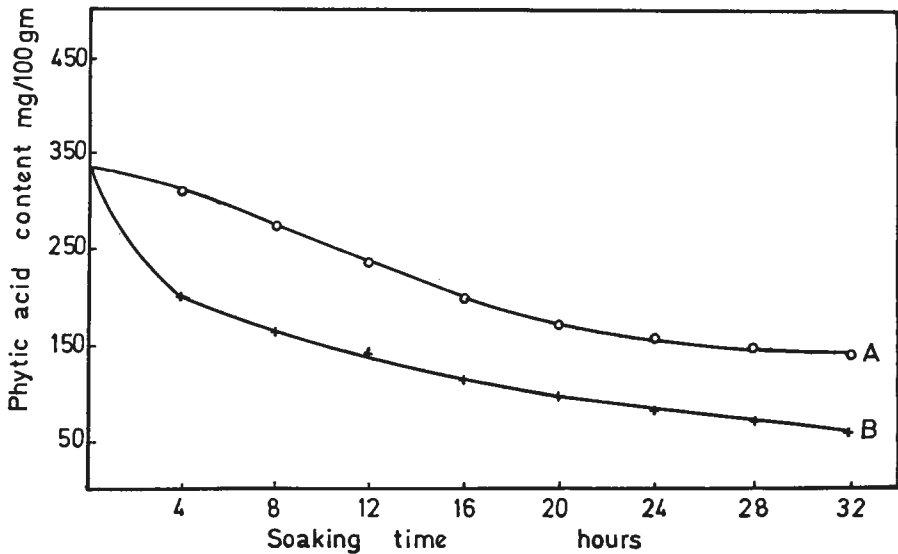


Figure 3 Effect of soaking and blanching of faba bean on phytic acid content.

A = Soaked in water

B = Soaked in water and blanched for one hour



## MINERAL BIOAVAILABILITY FROM HIGH FIBER CEREAL PRODUCTS

Wenche Frølich

Head of Laboratory Norwegian Cereal Inst.

P.O. Boks 8116 Dep., N-Oslo-1/Norwegen

Introduction

For a mineral to be useful for the body it must be absorbed. But even if the mineral is absorbed it is not necessarily utilized. The concept bioavailability could be defined as a measure of the degree of absorption and utilization of elements and components in the organism. The individual need for the mineral also plays an important role.

The following factors are of importance for the bioavailability:

- 1) Factors influencing the mineral's chemical state.
- 2) Interaction between different minerals.
- 3) Interaction between minerals and other factors in the diet.

Ad. 1) These are factors changing the mineral's chemical state in such a way that the degree of absorption is altered. An example of this is ascorbic acid reducing ferric-ions to ferro-ions which are more easily absorbed.

Ad. 2) Competition between minerals may interfere with the biological availability. This often occurs if the minerals are chemically similar. Excess of one mineral due to for instance enrichment could interfere with the

utilization of other minerals present in minor concentrations. For instance competitive interactions between zinc and copper, or between iron and magnesium and zinc have been demonstrated. (Solomous 1979, Pond 1975, Davis 1979).

Due to this, it is often difficult to estimate the need for a certain mineral without at the same time determine the contents of other minerals present in the diet. A positive effect of the mineral-mineral interaction is seen with respect to toxic elements. A high concentration of calcium in the diet for instance, seems to protect against accumulation of cadmium in both liver and kidney. (Pond, 1975).

- Ad. 3) Complexation between minerals and different components, such as oxalate or phytate, is another important interaction, which occur both during the preparation of the food and/or in the gut. The complexes formed are often indigestible and not absorbed.

#### Bioavailability of minerals in cereals

The possibility that mineral bioavailability is reduced in diets rich in whole grain products, has been claimed. (Widdowson and McCance, 1942, Hussein et al, 1959, Ismail-Beigi et al, 1977, Reinhold 1979). This has been attributed mainly to the phytic acid associated with fiber and known to form complexes with minerals, such as calcium, iron and zinc.

In a series of studies, Reinhold et al, (1979), reported that some mineral deficiency states were much more common in the

rural communities of Iran than in the urban population. They related the deficiency (especially zinc and iron) to the high consumption of unleavened whole grain wheat bread. What is often overlooked in these studies is that the population consumed the major part of their energy (up to 80%) in the form of unleavened bread and that the diet was far from balanced often containing insufficient quantities of protein, especially animal protein. The effect of phytate in unrefined cereal products on iron absorption has been questioned, (Sharpe et al 1950, Morris et al 1976, Reinhold, 1975). Several reports have been published in which the absorption of iron from whole grain bread was greater than from white bread enriched with inorganic iron to the same level as in the dark bread. (Callender 1968). Other groups have claimed that dark bread inhibits iron absorption more than white bread enriched with iron and phytic acid to the same levels as in dark bread, (Reinhold et al, 1975). Morris and coworkers pointed out that naturally occurring iron in wheat is predominantly present in the form of monoferric phytate which is soluble. However, phytate complexed with two or more iron atoms is less soluble and the bioavailability is lower. One factor behind differences in results of studies with phytic acid could be the different forms of phytate/mineral complexes. It has been suggested that other components of the dietary fiber complex such as polysaccharides might also be of importance for the mineral availability (Reinhold 1975).

When discussing whole grain cereals as a source of minerals, however, it must be remembered that cereals rich in fiber generally also have a considerably higher mineral content than

more refined cereals. Therefore an inhibition of percent uptake does not necessarily mean decreased absolute uptake.

Dietary fiber and mineral content of cereals in Norway.

In recent years the importance of dietary fiber itself has been extensively investigated. Accumulating evidence indicates that dietary fiber constituents have several important beneficial effects. The lack of dietary fiber has been suggested to be one of the factors responsible for many of our "Western diseases". An increase in the fiber content in our diets would be desirable, but there is, so far, no official recommendation of the amount.

The intake of minerals and trace elements in the Western World is often less than the recommended intake. Iron anemia is for example relatively common, particularly among female in our population.

The extraction rate of wheat flour in Norway is 78 - 80% which must be considered relatively high compared with other countries. But even with such a high extraction rate, the differences in nutritional value between whole grain flour and white flour is significant. Whole grain flour contains three times as much iron and thiamine, four times as much dietary fiber and ten times as much magnesium than is in our white flour.

In many countries the iron and calcium content of bread made from white flour has been increased by fortifying with iron and calcium. In Norway we have no fortification of flour. This was decided after long discussions and some years with iron



fortification. (We think that what is taken out is not to be put in again). Negative consequences of iron supplementation could not be overlooked in countries with fortification, especially among men with relatively low need for iron. Our neighbour country Sweden, has a different fortification policy. They do enrich their white flour, with the result that 2/3 of the iron in the diet comes from cereals and 42% of the total iron is from fortification. It is worth-while to mention that the frequency of iron anemia is the same in our two countries, which have otherwise a similar nutritional situation.

We have in Norway a written official Nutrition Policy, Whitebook no 32 from the Government to the Parliament. We in the National Nutrition Council working after the guidelines in this Whitebook are trying to stimulate the consumer towards better eating habits. An increase in consumption of whole grain flour products is one of the nutritional aims.

Knowledge about how the optimal bioavailability of minerals could be obtained from whole grain products is of great value, since whole grain products is one of our best source of minerals. It is important to notice that it is not only the bioavailability of minerals from the different cereal products which is important. It is the bioavailability of the minerals from the composite meal where cereals are one of the components which give the most interesting and useful information.

### Analysis of dietary fiber

The definition and terminology of fiber are still under discussion. This is one of the reasons for disagreement concerning the analysis of dietary fiber. Fiber methodology for research and for declaration might be different.

Fractionation methods with colometric or gaschromatografic constituents (Southgate 1976, 1977, Theander & Åman 1979) give important detailed information, but are too laborious for routine purposes. The neutral detergent fiber method is considered to give satisfactory measurements of insoluble components, but does not measure soluble components, which in a mixed diet could account for up to 40%. A method for determination of dietary fiber must also include the soluble fiber components.

In our laboratory we are using the enzymatic gravimetric procedure corresponding to Trowell's definition of dietary fiber as the sum of undigestible polysaccharides and lignin. (Trowell et al 1976).

The method is a modification of the procedure described by Hellendoorn et al (Hellendoorn et al 1975), and modified by professor Nils-Georg Asp and coworkers at the University of Lund in Sweden. (Asp et al 1981). This method is in accordance with the proposed AOAC-method, but with other enzymes. Comparison on various materials have shown practically same results (pers. comm. N.G. Asp).

To remove starch completely a heat stable enzyme Termamyl (that is also used in the method of Theander and coworkers) was used in the initial step at 100°C for 15 min. Further enzyme digestion were performed with pepsin at pH 1.5 for 1 h. and pancreatin at pH 6.8 for 1 h., thus stimulating the conditions in the human gastrointestinale tract. The total dietary fiber, including both insoluble and soluble fiber components, was precipitated directly from the enzyme digest with ethanol and seperated with a single filtration. As an alternativ insoluble and soluble fiber components can be obtained separately by filtration in two steps - one initial filtration to get the insoluble fibercomponents, followed by ethanol precipitation and an other filtration to get the soluble components.

The fiber values thus obtained were corrected for remaining traces of protein and ash. The ensyme digestion removed practically all starch.

Table 1 shows dietary fiber values for the most commonly used cereal products in Norway. (Frølich et al 1981)

Table 1.

Cerealproduct	Dietary fiber (wet weight basis)	Dietary fiber (Dry weight basis)
	%	%
White extra flour extraction rate 78 - 80%	3.2	3.6
Whole grain wheat flour	12.6	14.4
Rye flour mixed with white wheat flour (15%)	7.2	8.1
Whole grain barley	23.2	25.3
Barley flour (50% extraction)	10.8	12.1
Barley flour (70% extraction)	13.6	15.2
Oat flakes	10.7	11.7
Wheat bran	52.8	59.3
Rye, whole grain	14.7	16.8

Studies on the bioavailability of iron in wheat bran

To study the bioavailability of iron from high-fiber cereal-products, an investigation on the restitution of iron-deficiency anemia in pigs was performed (Frølich et al 1982). In this experiment iron anemia was induced in pigs right after the birth by feeding an iron depleted diet containing only 17 mg iron pr kg feed (the need of iron in this period is 50 mg/kg feed) When the hemoglobin concentration were 5 g/100 ml the pigs were given iron repletion diets. One group got 20% bran in the diet and all the iron from cereal products, while the other group got nearly all the iron from ferrous sulphate and no bran. The two groups got the same amount of iron throughout the 8 months' feeding period. The diets in the two groups were identical except for one group getting addition of bran. There were no differences neither in the increase of hemoglobin nor in the increase of serum iron in the two groups. (Figure 1)

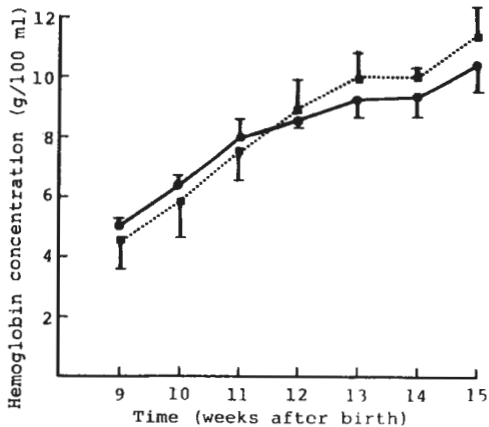


Figure 1: Increase in hemoglobin in iron depleted pigs after addition of iron to the diet.  
 — pigs getting all their iron from cereals, and 20 % bran in the diet.  
 ..... pigs getting nearly all their

In some experiment there was even a tendency towards better absorption in the pigs given bran.

Thus these experiments bran did not seem to have any inhibitory effect on iron absorption in pigs, in spite of its high content of dietary fiber and phytic acid. (This were long term experiments, up to 8 month, we never saw any sign of anemia).

#### In vitro studies.

With the dietary fiber method described above insoluble and soluble fiber components were isolated after the enzyme digestion. The insoluble fiber components were recovered by filtration and the soluble components after precipitation with ethanol and another filtration.

The ash content of the insoluble and soluble fiber components was determined gravimetrically after ignition at 550°C. (Dietary fiber values do not include this ash).

The insoluble fraction constituted 70 to 94% of the total dietary fiber, but did not contain measurable amounts of ash. The soluble fiber components on the other hand, were associated with considerable amounts of minerals.

A linear correlation was found between the amount of soluble fiber and the ash associated with it (Frølich, Asp, 1980). (Figure 2).

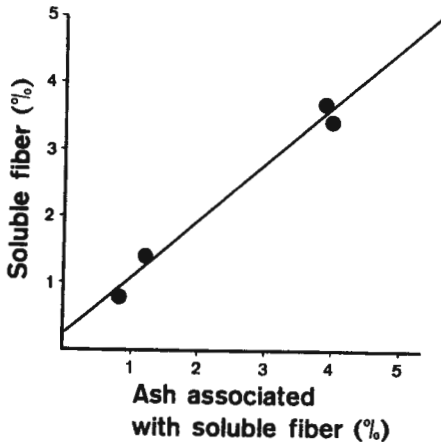


Figure 2: Relation between the soluble dietary fiber fraction and associated ash in wheat products.

This association has also been pointed out by Schweizer and Würsch (1979).

Specific analysis of individual trace elements showed that the distribution between the insoluble and soluble fraction was generally similar to that of total ash which means more than 90% of the fiber associated minerals were found in the soluble fraction. Iron was somewhat differently distributed than the other minerals, with up to 30% bounded to the insoluble fraction.

Extensive dialysis of the soluble fiber components against distilled water for 48 hours removed under 15% percent of the mineral associated with these components. (Table 2).

Table 2: Mineral's association to soluble fiber fraction.

	CA	FE	P	ZN	Mg
MINERAL ASSOCIATED WITH SOLUBLE FIBER AS % OF MINERAL ASSOCIATED WITH TOTAL FIBER.	95 %	68 %	95 %	93 %	98 %
MINERAL DIALYSED FROM SOLUBLE FIBER FRACTION AS % OF MINERAL ASSOCIATED TO SOLUBLE FIBER BEFORE DIALYSIS.	6 %	12 %	34 %	15 %	0 %

This indicates that the minerals are bound either to fiber components or to phytic acid, and not only coprecipitated in the alcohol precipitating step.

#### Bioavailability of zinc

In Norway 30% of the zinc in the diet comes from cereals. It has been shown as earlier mentioned that zinc absorption could be inhibited by phytic acid in the fibercomplex. High-fiber diets and with low zinc and low animal protein content have been demonstrated to cause zinc deficiency in the Middle East (Reinhold, 1979). The question, then, is whether an increase in fiber intake in the Western countries is likely to lead to similar problems.

In a study carried out by Brittmarie Sandström at the University of Gothenburg in Sweden the bioavailability of zinc in composite meals was studied. (Sandström et al 1980).



In her studies zinc absorption was measured from meals where 50% of the total energy content was covered by bread. The bread was prepared from wheat flour with an extraction rate of either 100% or of about 72%. Meals consisting of white bread (low extraction rate) showed a significantly higher per cent absorption than similar meals with whole flour bread. However, the absolute amount of zinc absorbed was slightly lower from the white bread. When the two types of bread were enriched with zinc to the same level, the amount absorbed from the white bread was increased, while the increase of absorption from whole flour bread was less pronounced. The binding of zinc in whole flour bread could be overcome if enough animal protein is served together with the bread. No increase in zinc absorption was seen when protein content of the white bread was increased.

The conclusion of Dr. Sandström's studies is that the binding of zinc due to whole flour bread is not a serious problem in a diet with a relatively low bread and a high protein content such as in the normal diet of people living in industrialized countries.

It has been shown by Dr. Sandström that the decreased zinc absorption in whole grain bread could be overcome by a long fermentation period when making the bread. (pers. comm.) In this way the phytic acid will be broken down and liberate the zinc for absorption. This could be of importance in countries where whole grain bread is a main component in the diet, and not enough animal protein is available.

CONCLUSION

1. An inhibitory effect on the absorption of minerals has been regarded as the main drawback with fiber and especially bran in human nutrition. The results in the literature are conflicting and it is still very debatable if it is the fiber or the phytic acid or both that are responsible for the decreased absorption of minerals.
  
2. Many studies has only dealt with absorption from one single food component and not from composite meals. Other food factors may promote mineral absorption as shown with ascorbic acid and iron, and animal protein and zinc.
  
3. Adaption to a diminished availability of minerals is probably of importance after continuously fiber addition to the diet.
  
4. The absolute amount of minerals absorbed from unrefined products might be higher, in spite of a decreased percent absorption because of the considerably higher content of minerals in these products.

There is a lot of unanswered and important questions around bioavailability. In the literature there is a tendency to describe upper limits for the availability of the minerals in the diet. Is this possible? Do we really increase the absorbed and utilized amount of a mineral by fortification with the mineral in question? Do we forget that there is a cooperation between all the elements present in the diet which determine the bioavailability?

An other important factor is that the body might regulate the absorption of the mineral after the body's own need. Might be the body's own regulation system is put out of function when a mineral is given in pure form without at the same time give an increased amount of other minerals and nutrients. An other question is if the body will compensate a low absorption from one meal with a higher absorption from the next. The only way to overcome this problem is long term balance studies.

It seems that when there is a need for minerals these are available from unrefined cereal products. When bran is combined with food with a nutritional acceptable standard there is definitely no risk of mineral depletion of bran.

It might also be that the fiber and phytic acid present in bran acts like regulatory factors in the diet.

As a conclusion, it seems that bran and all unrefined cereal products are good sources of minerals in the human diet, in spite of the phytic acid and the fiber present.

## References

1. Anonymous.  
On Norwegian nutrition and food policy Whitebook to the Parliament, november 1975, The Royal Norwegian Ministry of Agriculture, Oslo. (1975).
2. Asp, N.G., Johansson, C.-G., Hallmer, H. and Siljeström, M.: A rapid enzymatic method for assay of insoluble and soluble dietary fiber. J. Agric. Food Chem. (submitted) (1982).
3. Callender, S.T. and Warner, G.T.: Iron absorption from bread Am. J. Clin. Nutr. 21 : 1170, (1968).
4. Cummings, J. H.: Nutritional implications of dietary fiber, Am. J. Nutr. 31 : 21 (1978)
5. Davies, N.T.: Ant $\ddot{a}$  - nutrient factors affecting mineral utilization. Proc. Nutr. Soc. 38 : 121 (1979).
6. Davies, N. T. and Nightingale, R.: The effects of phytate on intestinal absorption and secretion of zinc, and whole-body retention of Zn, copper, iron and manganese in rats. Br. J. Nutr. 34 : 243 (1975).
7. Frølich, W. and Asp, N.G.: Mineral bioavailability and cereal fiber, Am. J. Clin. Nutr. 33 : 2397 (1980).
8. Frølich, W. and Asp, N.G.: Dietary fiber content in cereals in Norway, Cereal Chem. 58 : 524 (1981).
9. Frølich, W. and Lysø, A.: Bioavailability of iron from wheat bran in pigs. Am. J. Clin. Nutr. (accepted for publication.) (1981)
10. Hellendoorn, E. W., Nordhoff, M. G., and Slagman, J.: Enzymatic determination of indigestible residue (dietary fibre) content of human food, J. Sci. Food Agric 26 : 1461 (1975).
11. Hussain, R. and Patwardhan, V. M.: The influence of phytate on the absorption of iron. Ind. J. Med. Res. 47 : 679 (1959).
12. Ismail-Beigi, F.M.D., Faradji, B. and Reinhold, J.G.: Binding of zinc and iron to wheat bread, wheat bran and their components, Am. J. Clin. Nutr. 30 : 1721 (1977).
13. Ismail-Beigi, F.M.D., Reinhold, J.G., Faradji, B. and Abadi, P.: Effects of cellulose added to diets of low and high fibre content upon the metabolism of calcium, magnesium, zinc and phosphorus by man, J. Nutr. 107 : 510 (1977).

- 14 Kay, R.M., and Strasberg, S.M.: Origin, chemistry, physiological effects and clinical importance of diet, *Clin. Invest. Med.* 1 : 9 (1978).
- 15 Kelsey, J. L.: A review of research on effects of fiber intake on man, *Am. J. Nutr.* 31 : 142 (1978).
16. Morris, E.R., and Ellis, R.: Isolation of monoferric phytate from wheat brand and its biological value as an iron source to the rat, *J. Nutr.* 106: 753 (1976).
- 17 Pond, W. G. Mineral interrelationships in nutrition. Practical implications. *Cornell Vet.* 65 : 441 (1975).
- 18 Prasad, A. S. and Oberleas, D.: Trace elements in Human Health and Disease, Volume II Essential and Toxic Elements, Academic Press, New York 1976.
19. Reinhold, J. G., Ismail-Beigi, F.M.D., and Fardji, B.: Fiber vs phytate as determinant of availability of calcium, zinc, iron of breadstuff. *Nutr. Rept. Internat.* 12 : 75 (1975).
- 20 Reinhold, J. G.: High phytate content of Iranian bread. A possible cause of human zinc deficiency. *Am. J. Clin. Nutr.* 24 : 1204, 1979.
- 21 Sandstead, H. H., Minoz, J.M., Jacob, R.A., Klevay, L.M., Reck, S.J., Inglett, G.E., and Shuey, W.C.: Influence of dietary fiber on trace element balance, *Am. J. Clin. Nutr.* 31 : 180 (1978).
- 22 Sandstrøm, B., Arvidsson, B., Cederblad, A. and Bjørn-Rasmussen, E.: Zinc absorption from composite meals I. The significance of wheat extraction rate, zinc, calcium and protein content in meals based on bread, *Am. J. Clin. Nutr.* 33 : 739 (1980).
- 23 Schweitzer, T. F. and Würsch, P.: Analysis of Dietary Fibre, *J. Sci. Food Agric* 30 : 613 (1979).
24. Sharpe, L.M., Peacock, W.C., Cooke, R. and Morris, R.S.: The effect of phytate and other food factors on iron absorption. *J. Nutr.* 41 : 433 (1950).
- 25 Solomous, N. W., Jacob, R. A., Pineda, O. and Viteri, F. E. Studies on the bioavailability of zinc in man. *Am. J. Clin. Nutr.* 32 : 2495 (1979).
- 26 Southgate, D.A.T.: The analysis of dietary fibre. Page 73 in Spiller, G. A. and Amen, J. E. eds. *Fiber in Human Nutrition*, Plenum Press: New York (1976).
27. Southgate, D.A.T.: The definition and analysis of dietary fiber, *Nutr. Rev.* 35 : 3 (1977).

- 28 Theander, O. and Aman, P.: Studies on dietary Fibres, Swedish J. Agric. Res. 9 : 97, (1979).
- 29 Trowell, H., Southgate, D.A.T., Wolever, T.M.S., Leeds, A.R., Gassull, M.A. and Jenkins, D.J.A: Dietary fiber redefined, Lancet 1 : 967 (1976)

THE EFFECT OF WHEAT BRAN AND CITRUS PECTIN ON  
THE ABSORPTION OF NUTRIENTS IN THE SMALL INTESTINE

Ann-Sofie Sandberg, R. Ahderinne, H. Andersson,  
B. Hallgren, C. Hasselblad, K. Hasselblad and  
L. Hultén.

Ann-Sofie Sandberg, Department of Clinical Nutrition,  
University of Gothenburg, Sahlgren's Hospital.  
Annedalsklinikerna, S - 413 45 Gothenburg, Sweden.

### Introduction

In monogastric species such as the horse, pig and rat there is evidence supporting the view that the main site of fibre breakdown is the caecum and large intestine (1). It is likely that the colon will prove to be the main site of fibre breakdown in man, but it is far from certain to what extent other parts of the gut, notably the stomach and terminal ileum contribute to this process (1).

An increase in faecal fat (2,3,4,5,6) and faecal nitrogen excretion (3,4,7,8,9) occurs when whole wheat products and bran are consumed. These effects could also be obtained by the consumption of pectin (10,11,12,13). Since the source of this faecal fat and nitrogen has been suggested to represent an increase in faecal bacterial mass (cited in 7,10,14) and/or an impairment of small intestinal digestion and absorption of the nutrients mentioned (15) it was considered of interest to study the effect of fibre on small intestinal output of nitrogen and fat.

In vitro some fibre components have been reported to decrease amylase activity (16) and an capability to bind minerals has been demonstrated for different types of fibre (17,18,19,20, 21,22) and for fibre-rich products such as wheat bran, whole-meal bread, vegetables and fruits (17,23). Phytic acid, which is associated with the main components of dietary fibre, also has a strong cationbinding capacity (24). This capacity of fibre and phytic acid suggests that these components in food might have a negative effect on mineral absorption. It is, however, uncertain which of these components or if both of them affect mineral absorption.



Due to this lack of knowledge we found it of importance to study whether degradation of fibre components occurs in the upper gastrointestinal tract and how different fibre sources affect the absorption of nutrients in the small intestine. One possible approach, which is presented in the present investigation, is to study in vivo digestion of food in ileostomy subjects, allowing analyses of the ileostomy contents.

### Subjects and methods

Ileostomy subjects proctocolectomized for ulcerative colitis or subjects operated on for other reasons and in whom a loop-ileostomy formed a part of the treatment were selected to participate in the study. Ileostomy subjects were studied either during two consecutive weeks on a constant low-fibre diet, which in the second period was supplemented with 16 g of wheat bran/d (25) or during 10 consecutive days with a supplement of 16 g of wheat bran/d or 15 g of citrus pectin/d on days 5,6 and 7 (25,26). Ileostomy bags were changed every two hours, except in the night and immediately deep-frozen and stored on dry ice to avoid bacterial growth. Ileostomy contents were collected either during the three last days in each period or for subjects on the 10-day-study, during days 2-10. Duplicate portions of the diet were collected once during each period. Ileostomy contents and duplicate portions of the diet were subjected to analyses of neutral polysaccharide constituents, uronic acids, Klason lignin,

starch, phytate-phosphorus, nitrogen, fat, fatty acids and minerals. The added wheat bran and citrus pectin were analysed separately.

Degradation of fibre components in the stomach and small intestine

The degradation of fibre components and phytic acid was investigated. In the bran study approximately 80-100 % of the main hemicellulose components (arabinose and xylose) of bran (Fig 1) and 75-100 % of the cellulose was recovered in the ileostomy contents, which implies that their digestion in the stomach and small intestine is limited. The 10-20 % loss in some patients may be due either to digestion by the gastric juice or to bacterial fermentation in the ileum - or both (25). The great extent of lignification in bran probably prevents hemicellulose from being digested (27). It may be concluded that the digestion of bran hemicellulose and cellulose reported from faeces studies (4,7,28) are the result of colonic microflora activity.

The digestion of phytate from bran was also investigated (29). Between 24 % and 61 % of phytate-P from ingested bran was found in the ileostomy contents, approximately the same figures as for healthy subjects with an intact colon (30). It was concluded that phytate is partly digested in the stomach and small intestine or possibly absorbed. Bacterial degradation in the colon seems less important as the digestibility was approximately the same in ileostomy subjects and healthy subjects with an intact colon. This is in agreement with studies on dogs which indicate that the degradation of phytate occurs chiefly in the first two

thirds of the small intestine and to a minor extent in the colon (31). Phytase activity has also been demonstrated in the mucosa of the small intestine of the rat, chicken, calf and man (32).

The digestion of citrus pectin in the stomach and small intestine of man was investigated by Werch & Ivy (33), who recovered 72-97% of the ingested pectin in the ileostomy fluid. Similar results were obtained in dogs with an ileostomy (33). However, objections can be raised against the analytical methods used at that time. Thus, a modern and adequate method for the determination of uronic acids seemed necessary. The digestion of citrus pectin was studied in 6 ileostomy subjects given a constant low-fibre diet during 10 consecutive days, supplemented with 15 g of citrus pectin per day on days 5,6 and 7. The recovery of between 30, 70 and 100 % of the ingested pectin in the ileostomy contents indicates that the digestion is small and may be caused either by the gastric juice or bacterial fermentation in the ileum or both (26). The results support the conclusion by Cummings et al (10) and Werch & Ivy (23) that the breakdown of pectin almost entirely takes place in the colon by colonic microflora activity.

The effect of wheat bran and citrus pectin on the digestion and absorption of certain nutrients in the small intestine

Nitrogen, fat and starch

When 16 g of wheat bran/d were added to the low-fibre diet there was no change in the losses of nitrogen (25). The fat

excretion found to lie between 1.1 and 1.5 g/d\* did not increase during the bran period at least not in the ileostomy contents of four of the patients, so far analysed. (Mean values and standard errors of periods 1 and 2 were 1.3 g/d  $\pm$  0.10 and 1.2 g/d  $\pm$  0.02, respectively.) The results indicate that the increase in faecal nitrogen and fat excretion found after consumption of bran is mainly derived from the colon. Moreover, the main part of fat found normally in faeces (about 3-5 g/d) seems to originate from the colonic flora.

The addition of 15 g of pectin to the low-fibre diet resulted in a significant rise in nitrogen, total fat and fatty acids excretion in the ileostomy contents (26). Thus, in this respect the effect of citrus pectin differs from that of wheat bran. The increase in nitrogen losses was slight and could either be due to increased losses of endogenous nitrogen or to impairment of small intestinal digestion and absorption of protein. The rise in ileal fat (Fig 2) and fatty acids was more pronounced and indicates an impaired digestion and absorption of fat in the small intestine. The effect of wheat bran and citrus pectin on starch digestion in vivo was investigated. After intake of a low-fibre diet containing about 100 g of starch, mainly derived from rice, only about 0.5 g of starch were found in ileostomy contents (25). The amount of starch recovered in ileostomy effluent was not found to be affected by an intake of 16 g of wheat bran (25) or 15 g of citrus pectin (26).

\*determined by B. Åkesson, Department of Clinical Chemistry, Lund, Sweden

The effect of wheat bran and citrus pectin on the apparent absorption of minerals.

The apparent mineral absorption from the small intestine (difference between dietary intake and recovery in ileostomy contents) was investigated during a 4-day-period of low-fibre diet and in the following 4-day-period when the diet was supplemented with 16 g of raw wheat bran/d (29). In the bran period a significantly lower amount of zinc was absorbed (Fig 3), while the apparent absorption of iron and phytate-phosphorus increased and that of non-phytate-phosphorus and magnesium remained constant. The apparent calcium absorption was slightly lower in most patients but not significantly so.

The decrease in zinc absorption is in agreement with studies on humans of the effect of whole-meal bread or bran on zinc absorption measured by the radionuclide technique (B. Nävert, Å. Cederblad, B. Sandström, unpublished results).

The phytate-phosphorus intake was increased 4 times during the bran period compared to the low-fibre diet period during which the phytate-phosphorus content of the diet was very low. This may explain the increase in amount of phytate-phosphorus absorbed during the bran period.

The slight increase in apparent iron absorption during consumption of bran is in consistence with studies on rats (34) and pigs (35), which indicate that iron from raw bran is utilized. However, single-meal studies in humans using the radionuclide technique, showed no change or a decrease

in amount of iron absorbed after intake of whole-meal or bread containing bran (36,37,38). The discrepancies in results may be due to the following factors:

- 1) the form in which the bran was consumed (raw or baked)
- 2) the protein, fibre and phytic acid level in the meal
- 3) the possible difference between a single-meal test and a study of the total daily absorption since a reduced absorption from one meal may be compensated by another
- 4) the possible difference between the true absorption and apparent absorption.

Due to the mineral content of bran the relative absorption differed in some respects from the absolute absorption that decreased for zinc, magnesium and phytate-phosphorus but remained unchanged for calcium, iron and non-phytate-phosphorus.

It was concluded that a supplement of 16 g of wheat bran/d to a low-fibre diet does not negatively affect the apparent absorption of minerals from the small intestine other than that of zinc. The study does not determine whether this is an effect of the phytic acid or fibre components in bran.

It must be considered whether there are any differences concerning mineral absorption between ileostomy subjects and subjects with an intact colon. The formation of mineral organic complexes is highly pH-dependent. The pH-value of the ileostomy contents was not measured in this study, but in other ileostomy subjects pH values between 6 and 8, were found, corresponding to that of the ileum contents of

subjects with an intact colon.

The effect of pectin on apparent mineral absorption in the small intestine was studied in six ileostomy subjects during ten days, while on a constant low-fibre diet supplemented with 15 g of citrus pectin/d on days 5,6 and 7 (26). The apparent absorption of iron was high in all patients during the study. There are three factors that may explain these high values: the dietary intake, the iron status of the patients and the possibility that the true absorption differs from the apparent absorption. The dietary intake of iron and iron salts was high and its uptake facilitated as the diet contained a large amount of meat. The iron status clearly indicated iron deficiency in two of the subjects, which at least partly explains the high absorption values in these patients.

In the pectin period the apparent absorption of iron was decreased significantly (Fig 4), while that of zinc, calcium, phosphorus and magnesium remained constant. Pectin, thus, seems to bind iron in preference to the other minerals in the small intestine. Even in patients with haemochromatosis a reduction in iron absorption measured by the isotope technique was seen following a pectin load (19). If there is an uptake of iron in the colon this may occur as the pectin is degraded by the colonic flora.

#### CONCLUSIONS

As there is only a slight digestion of hemicellulose and cellulose from bran and of citrus pectin in ileostomy

subjects, the main breakdown must take place in the colon. The digestion of phytate probably takes place almost entirely in the small intestine.

Different fibre components have varying effects on the small intestinal digestion and absorption of nutrients. Citrus pectin impairs the digestion and absorption of fat and possibly protein or increases the endogenous losses of nitrogen from the small intestine, whereas wheat bran has no such effects. The ileostomy losses of starch are not affected by citrus pectin or wheat bran. Addition of wheat bran to a low-fibre diet does not negatively affect the apparent absorption of minerals from the small intestine, other than that of zinc, whereas addition of citrus pectin decreases that of iron.



## REFERENCES

- 1 Cummings JH. Dietary fibre. Br Med Bull 1981; 37: 65-70.
- 2 Brodribb AJM, Humphreys DM. Diverticular disease: three studies. Br Med J 1976; 1: 424-30.
- 3 Cummings JH, Hill MJ, Jenkins DJA, Pearson JR, Wiggins HS. Changes in fecal composition and colonic function due to cereal fiber. Am J Clin Nutr 1976; 29: 1468-73.
- 4 Southgate DAT, Branch WJ, Hill MJ, Drasar BS, Walters RL, Davies PS, McLean Baird I. Metabolic responses to dietary supplements of bran. Metabolism 1976; 25: 1129-35.
- 5 Stasse-Wolthuis M, Albers HFF, van Jeveren JGC, de Jong JW, Hautvast JGAJ, Hermus RJJ, Katan MB, Brydon WG, Eastwood MA. Influence of dietary fiber from vegetables and fruits, bran or citrus pectin on serum lipids, faecal lipids and colonic function. Am J Clin Nutr 1980; 33: 1745-56.
- 6 Tarpila S, Miettinen TA, Metsäranta L. Effects of bran on serum cholesterol, faecal mass, fat, bile acids and neutral sterols and biliary lipids in patients with diverticular disease of the colon. Gut 1978; 19: 137-45.
- 7 Farrel DJ, Girle L, Arthur J. Effects of dietary fibre on the apparent digestibility of major food components and on blood lipids in men. Aust J Exp Biol Med Sci 1978; 56: 469-79.
- 8 McCance RA, Glaser EM. The energy value of oatmeal and the digestibility and absorption of its proteins, fats and calcium. Br J Nutr 1948; 2: 221-29.
- 9 McCance RA, Walsham CM. The digestibility and absorption of the calories, proteins, purines, fat and calcium in whole meal wheaten bread. Br J Nutr 1948; 2: 26-41.
- 10 Cummings JM, Southgate DAT, Branch WJ, Wiggins HS, Houston H, Jenkins DJA, Jivraj T, Hill MJ. The digestion of pectin in the human gut and its effect on calcium absorption and large bowel function. Br J Nutr 1979; 41: 477-85.
- 11 Jenkins DJA, Leeds AR, Gasull MA, Houston H, Goff DV, Hill MJ. The cholesterol lowering properties of guar and pectin. Clin Sci Mol Med 1976; 51: P8-P9.
- 12 Kay RM, Truswell AS. Effect of citrus pectin on blood lipids and fecal steroid excretion in man. Am J Clin Nutr 1977; 30: 171-75.
- 13 Spiller GA, Chernoff MC, Hill RA, Gates JE, Nassar JJ, Shipley EA. Effect of purified cellulose, pectin and a low-residue diet on faecal volatile fatty acids, transit time and faecal weight in humans. Am J Clin Nutr 1980; 33: 754-59.
- 14 Cummings JH. Short chain fatty acids in the human colon. Gut 1981; 22: 763-79.
- 15 Cummings JH. Nutritional implications of dietary fiber. Am J Clin Nutr 1978; 31: Suppl, 21-29.
- 16 Dunaif G, Schneeman BO. The effect of dietary fiber on human pancreatic enzyme activity in vitro. Am J Clin Nutr 1981; 34: 1034-35.

- 17 Ismail-Beige F, Faraji B, Reinhold G. Binding of zinc and iron to wheat bread, wheat bran and their components. *Am J Clin Nutr* 1977; 30: 1721-25.
- 18 James WPT, Branch WJ, Southgate DAT. Calcium binding by dietary fibre. *Lancet* 1978; i: 638-39.
- 19 Monnier L, Colette C, Aguirre L, Mirouze J. Evidence and mechanism for pectin-reduced intestinal inorganic iron absorption in idiopathic hemochromatosis. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 1225-32.
- 20 Philip SF, Fernandez R. Pectin and cellulose binding of iron in vitro. *Am J Clin Nutr* 1981; 34: 2322-23.
- 21 Rees DA. Stereochemistry and binding behaviour of carbohydrate chains. In: WJ Whelan, ed. *Biochemistry of carbohydrates*. London: Butterworths 1975: 1-42.
- 22 Tanaka Y, Skoryna SC. Organic macromolecular binders of metal ions. In: SC Skoryna & D Waldron-Edward, eds. *Intestinal absorption of metal ions, trace elements and radionuclides*. Oxford: Pergamon Press 1971: 101-14.
- 23 McConnel AA, Eastwood MA, Mitchell WD. Physical characteristics of vegetable foodstuffs that could influence bowel function. *J Sci Fd Agric* 1974; 25: 1457-64.
- 24 Oberleas D. Phytates. In: F M Strong, ed. *Toxicants occurring naturally in foods*, 2nd ed. Washington DC: Nat Acad Sci 1973: 363-71.
- 25 Sandberg A-S, Andersson H, Hallgren B, Hasselblad K, Hultén L, Isaksson B. Experimental model for *in vivo* determination of dietary fibre and its effect on the absorption of nutrients in the small intestine. *Br J Nutr* 1981; 45: 283-94.
- 26 Sandberg A-S. Dietary fibre - determination and physiological effects. A study on ileostomy patients. Ph D Thesis, University of Gothenburg 1982.
- 27 Van Soest DJ. Physico-Chemical aspects of fibre digestion. In: IW McDonald & ACI Warner, eds. *Digestion and metabolism in the ruminant*. (Proceedings of the IV symposium on ruminant physiology. Sydney, August 1974.) University of New England Publishing Unit, Armidale, New South Wales, 1975: 351-65.
- 28 Heller SN, Hackler LR, Rivers JM, Van Soest PJ, Roe DA, Lewis BA, Robertson J. Dietary fibre: the effect of particle size of wheat bran on colonic function in young adult men. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 1734-44.
- 29 Sandberg A-S, Hasselblad C, Hasselblad K, Hultén L. The effect of wheat bran on the absorption of minerals in the small intestine. *Br J Nutr* 1982 (in press).
- 30 McCance RA, Widdowson EM. Phytin in human nutrition. *Biochem J* 1935; 29: 2694-99.
- 31 Jenkins KJ, Philips PH. The mineral requirements of the dog. 1. Phosphorus requirement and availability. *J Nutr* 1960; 70: 235-40.
- 32 Bitar K, Reinhold JG. Phytase and alkaline phosphatase activities in intestinal mucosae of rat, chicken, calf and man. *Biochim et Biophys Acta* 1972; 268: 442-52.
- 33 Werch SC, Ivy AC. On the fate of ingested pectin. *Am J Dig Dis* 1941; 8: 101-105.
- 34 Morris ER, Ellis R. Bioavailability to rats of iron and zinc in wheat bran: Response to low-phytate bran and effect of the phytate/zinc molar ratio. *J Nutr* 1980; 110: 2000-10.
- 35 Frölich W, Lysö A. Bioavailability of iron from bran in pigs (abstract). *Näringsforskning* 1980; 24: 64.

- 36 Björn-Rasmussen E. Iron absorption from wheat bread. *Nutr Metabol* 1974; 16: 101-10.
- 37 Dobbs RJ, Mclean Baird I. Effect of wholemeal and white bread on iron absorption in normal people. *Br Med J* 1977; 1: 1641-42.
- 38 Simpson KM, Morris ER, Cook JD. The inhibitory effect of bran on iron absorption in man. *Am J Clin Nutr* 1981; 34: 1469-78.

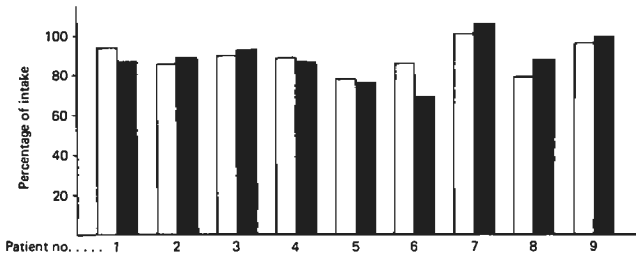


Fig. 1. Recovery of hemicellulose from bran expressed as polysaccharides of arabinose (□) and xylose (■) in ileostomy contents of patients with established ileostomies given a low-fibre diet with 16 g bran/d.

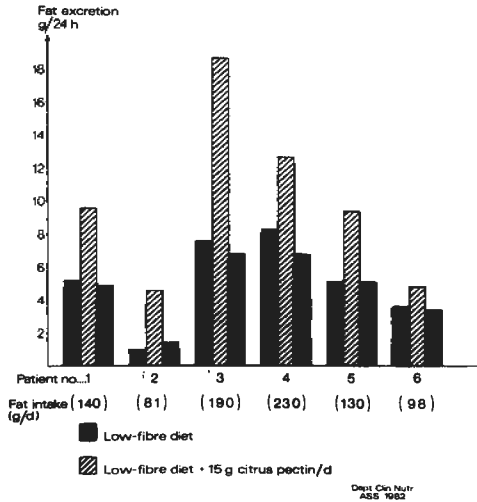


Figure 2. The excretion of fat in ileostomy contents of 6 patients studied during 3 periods. Periods 1 and 3 (■) they were given a constant low-fibre diet, and period 2 (▨) the same regimen supplemented with 15 g of citrus pectin/d. The fat excretion was significantly increased during period 2 ( $p < 0.05$ ).

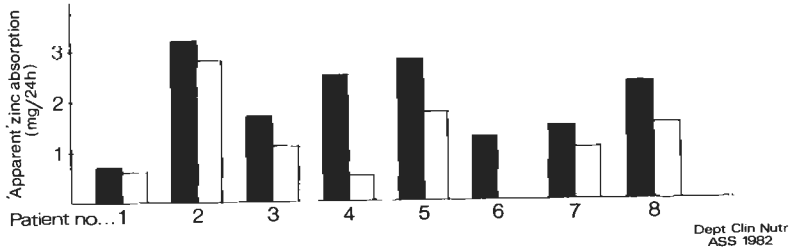


Figure 3. Apparent absorption of zinc (mg/d) in 8 ileostomy patients during period 1 (low-fibre diet) (■) and period 2 (low-fibre diet + bran) (□). The apparent zinc absorption was significantly reduced during period 2 ( $p < 0.01$ ).

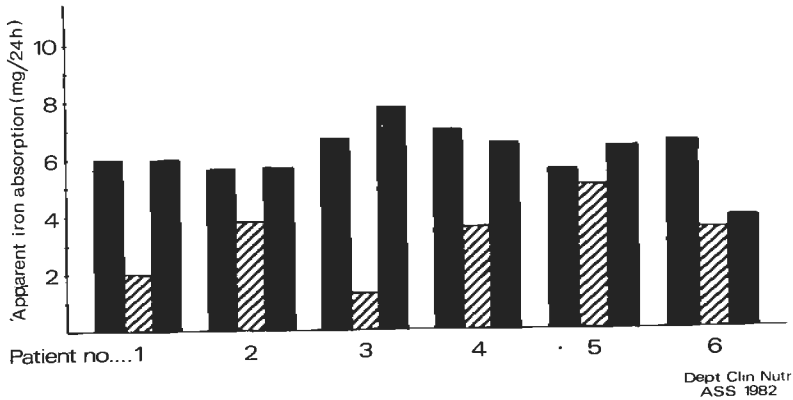


Figure 4. Apparent absorption of iron in 6 ileostomy patients studied during 3 periods. Periods 1 and 3 (■) they were given a constant low-fibre diet, and period 2 (▨) the same regimen supplemented with 15 g of citrus pectin/d. The apparent iron absorption was significantly decreased during period 2 ( $p < 0.05$ ).



FIBER IN AVERAGE DIETARY RATIONS IN THE SELECTED STUDENTS`  
CANTEEN

Anna Międzobrodzka, Agricultural Academy Kraków, Poland

Studies on fibre have been conducted since the beginning of this century and in particular, since the year 1930, when the role of this dietary component as anti-constipation agent was discovered. It is common knowledge that fiber is also a preventive agent against numerous disorders of the colon, metabolism and blood vessels. An excess of fiber in the diet may lead to diarrhoea, in particular in children or it may reduce digestibility of some products, thus preventing permeability of some digestive juices to the chyme.

It is assumed that a daily crude fiber requirement ensuring regular peristalsis is 5-7 g, depending upon the mode of life and type of work. A name crude fiber covers the residue of product after the extraction with 0.127 mol/l of a boiling sulfuric acid followed by 0.313 mol/l of soda lye. This term covering the least digestible animal feed components was introduced at the beginning of the XX century for the needs of animal scientists.

A number of researches maintain that this term with respect to human diet is not right, however, in spite of it, it is widely used, for instance, in the Food Composition Tables fiber content is expressed as crude fiber.

The dietary fiber denotes skeletal rudiment of the walls of plant cells resistant to the enzymatic hydrolysis in the alimentary tract of man. It comprises celluloses, hemicelluloses, gums, pectins, mucilages and lignins. Synonyms of the dietary fiber are "unassimilable carbohydrates", there is no uniformity of opinion among nutritionists and physicians with respect to the recommended requirements concerning the amount of dietary fiber in a daily food ration. Nowadays, in many industrialized countries and also in Poland, a marked decrease in the dietary fiber consumption is observed, mostly as a result of a reduced intake

of the whole grain cereals as well as of vegetables and fruits.

At present, in Poland about 40% of studying youth take advantage of being fed in students' canteens.

This study was undertaken with a view to investigating the content of dietary fiber in the meals in the students canteen belonging to the Agricultural University in Kraków /Poland/, particularly as data on this subject are lacking in the available literature.

Studies were conducted in the autumn of 1981 and concerned three meals : breakfasts, dinners, and suppers, consumed during 10 consecutive days. A total of 30 meals were subjected to chemical analysis. Every calculation was performed in two replications. Following parameters were determined : water content by the method of thermal drying, protein content by the method of Kiejdahl, fat content by extraction method in the Soxhlet's apparatus, carbohydrate content was calculated by subtraction. Based on the above components the caloric value of the meals was calculated, using the Atwater's coefficient.

In the same all-day meals the content of dietary fiber was determined by the method of Hellendorn, which is based on eliminating from the studied product the proteins, fat and assimilable carbohydrates through peptic digestion and next pancreatic digestion in the presence of a detergent. The obtained not digested residue, after washing with diluent, is treated as a dietary fiber and weighed.

Based on the tables showing the composition and nutritional quality of food articles, calculations were performed of the crude fiber content in the daily dietary rations for students.

With a view to establishing the source of fiber in students' diet a quantitative assessment of food was made based on the outgoing food products for the period of 10 days on which the fiber content was determined in the meals.

The amount of the dietary fiber during 10 days is in the range from 26.0 do 55.7 g/head/day /Table 1/, which is equal to 1 - 17,4 g/1000/Kcal.

According to Haustvast a low-fiber diet should contain 15 g and a high-fiber one 35 g of dietary fiber. The results obtained indicate that the students' meals in our canteen can be estimated as high-fiber ones since 6 times during 10 days the recommended norms were exceeded.



The crude-fiber content in daily dietary rations for students is also found to exceed the standard, namely on the 2nd and 7th days it reached maximal value / 16.6 and 16.7 g /, by far exceeding the norms recommended by nutritionists 5-7 g per day. During three days the amounts of fiber corresponded to the recommended rations.

In Poland norms are lacking with respect to dietary fiber in human diet. Some nutritionists maintain that it is impossible to establish a stable conversion factor between crude fiber and dietary fiber, since the differences between both values in case of cereal products are considerably higher than in case of fruits and vegetables. Some other researchers assume that crude fiber accounts on an average for 25% of dietary fiber, which to some extent is confirmed by the results presented in Table 1.

The results obtained indicate that during the autumn period there was no fiber deficiency in students' meals.

In Figure 1 are presented out-going food articles in 12 groups against the obligatory norms introduced by the Ministry of Health and Social Welfare. As standard was considered the norm for manual workers performing moderately hard-work, level C, as a dietary standard value estimated as moderately expensive. Among the known sources of fiber - the planned intake of cereal products including whole meal bread, was estimated at about 500 g per day. During the autumn period about 400 g of potatoes were spent per head per day.

However, the expected consumption of vegetables and fruits rich with vitamin C, or vegetables and fruits abounding with carotenoids and miscellaneous vegetables and fruits, was below the norms, while the consumption of the pulses exceeded the norms.

To sum up, it can be stated that in the studied period, a total of 1000 g per day, per head was spent for vegetables and fruits including potatoes, which in conjunction with the amount of consumed cereal products ensures adequate requirements for dietary fiber.

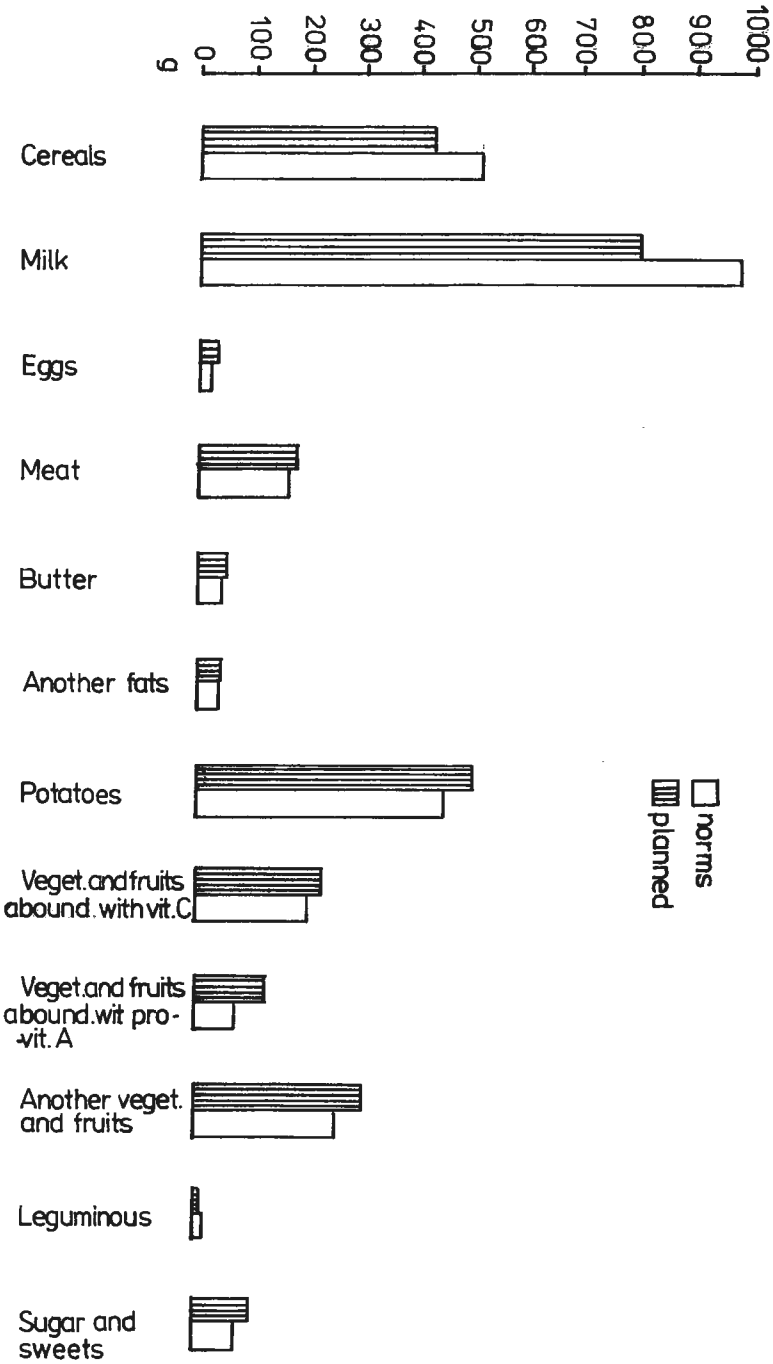
The presented results should be treated as preliminary ones for further more extensive investigations on dietary fiber.

Tab. 1

## FIBER CONTENT IN 10 DIETARY RATIONS

No	Dietary fiber /g/ determined with chemical method	Crude fiber /g/ values taken from table
1.	28,7	7,2
2.	55,7	16,6
3.	38,7	10,7
4.	28,0	9,0
5.	26,0	6,3
6.	37,7	9,6
7.	51,5	16,7
8.	30,3	7,8
9.	42,7	12,9
10.	50,4	13,0

Fig.1. PLANNED RATIONS VS. NORMS (g).





Technologische und sensorische Aspekte bei ballaststoffangereicherten Weißbrot-Gebäcken.

G. Günzel

TU München Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung  
D-8050 Freising-Weißenstephan/FRG

### Einführung

Fortschreitende Industrialisierung und anhaltender Wohlstand haben nicht nur die Lebensweise unserer Bürger grundlegend gewandelt, sondern auch ihre Ernährungsgewohnheiten. Besonders deutlich spiegelt sich dies im gesunkenen Brotkonsum und im Siegeszug niedrig ausgemahlener, ascheärmer Mehle wider. Die Weizenmehltypen 405 und 550 beherrschen mit über 70 % Marktanteil seit geraumer Zeit das Feld, was umgelegt auf den Gesamtmehlverbrauch für Brotgetreide, also Weizen und Roggen zusammen, einem Anteil von 55 % entspricht. Die Vollkornmehle einschließlich der Backschrote hingegen sind nur mit 6.2 % am Mehlverbrauch beteiligt und auch die Brotmehltypen zwischen 1600 und 1050 können mit einem Gesamtanteil von 17.5 % das Bild nicht wesentlich ändern. Somit bleibt festzustellen, daß die Zufuhr von höher ausgemahlene Getreideprodukten mit nennenswerten Ballaststoffanteilen über Brot und Gebäck relativ niedrig liegt. Da der durchschnittliche Ausmahlungsgrad für Brotgetreide lediglich 79 % beträgt, fallen etwa ein Fünftel der Mehlmühlenprodukte in Form von ballaststoffreichen Kleien und Futtermehlen an, die nicht im Ernährungssektor verwendet werden.

Auch eine andere Betrachtungsweise des Mahlgetreides vermag die derzeitige Situation im Hinblick auf die Ballaststoffaufteilung im Zuge mühlentechnologischer Verarbeitung klar zu verdeutlichen. Unter Benützung bekannter Durchschnittsgehalte an Ballaststoffen kann folgende Bilanz aufgemacht werden. Die in der Bundesrepublik Deutschland jährlich zu Mehl vermahlene 4.1 Mio to Getreiderohstoffe Weizen und Roggen enthalten an Ballaststoffanteilen rund 270 000 Tonnen. In den daraus hergestellten 3.7 Mio Tonnen Mahlprodukten befinden sich jedoch lediglich noch 77 000 Tonnen. Somit verbleiben heute über 70 % der Getreideballaststoffe in den Mühlennachprodukten, die der Futtermittelverwertung zugeführt werden. Der derzeitige Verbrauch an Speisekleie fällt statistisch nicht ins Gewicht.

Dieser kurze Exkurs in die Mengenverteilung von Mahlgetreide, Mahlerzeugnissen und Getreideballaststoffen erschien mir wichtig, um den Status quo zu verdeutlichen, der nach den Erkenntnissen der Ernährungswissenschaft einer grundlegenden Veränderung bedarf.

#### Warum ballaststoffangereicherte Weißbrotgebäcke?

Diese Frage stellt sich deshalb, weil die Aussichten recht gering sind, deutlich größere Anteile höher ausgemahlener Mehle einschließlich Backschrote in die Backwarenherstellung von heute einzubeziehen. Die zwei gewichtigsten Gründe hierfür sind zum einen in den Verzehrsgewohnheiten der Verbraucher selbst zu suchen. Erfahrungsgemäß läßt sich der Verbrauchergeschmack besonders bei Grundnahrungsmitteln kaum oder nur sehr langsam verändern. Ein weiterer, vielleicht noch schwerwiegenderer Grund ist im Wandel der Verarbeitungstechnologie des Backgewerbes zu sehen. Durch Technisierung und Automation haben sich hier Entwicklungen vollzogen, für die eine Verarbeitung heller Weizenmehle nahezu ideal sind. Diese Mehltypen erlauben durch ihre spezifischen technologischen Eigenschaften eine wesentliche Verkürzung der Teigbereitung sowie der Aufarbeitungs- und Garezeiten, was vor allem im Hinblick auf die Produktionsleistung enorme Vorteile bringt. Da der Umstellungsprozeß im Backgewerbe mit einer steten Abnahme handwerklicher Bäckereien unaufhaltsam fortschreitet, ist mit einer Zunahme höher ausgemahlener Mehltypen in der Verarbeitung kaum zu rechnen, weil diese für die kontinuierliche Gebäckherstellung auf sogenannten Backstraßen weniger gut geeignet sind. Weit mehr Erfolg könnte dagegen dem Zusatz von Speisekleie beschieden sein, welcher unter Beibehaltung der Backtechnologie einen erheblich höheren Ballaststoffanteil im Weißbrot bewirkt. Dabei wird der Charakter des Brotes in den Verzehrs- und Gebrauchsmerkmalen nur unwesentlich verändert, da die Konsistenz- und Kaeigenschaften relativ unbeeinflusst bleiben. Dagegen erfahren Krumenfarbe und Geschmacksrichtung deutliche Veränderungen, sodaß diesbezüglich eine Umstellung des Verbrauchers wohl unumgänglich wird. Schon deshalb erschien es zweckmäßig, die Herstellung von Weißbrot und Weizenkleingebäck unter Zusatz von Speisekleie und Weizenschrot seitens der Technologie und der Sensorik zu untersuchen und über dabei gewonnene Erkenntnisse und Erfahrungen kurz zu berichten. In diesem Zusammenhang sei auch auf diesbezügliche Arbeiten von Thomas (1964),

Altrogge und andere (1980), Seibel (1981) sowie Meuser und Mitarbeiter (1982) hingewiesen.

### Material und Methoden

Die Untersuchungen erfolgten nach standardisierten Backverfahren des Kastenbackversuches für Brote mit Toastbrotcharakter bzw. des Rapid-Mix-Testes für Kleingebäcke. Die Versuche wurden auf der Basis der Mehltpe 550 durchgeführt, dabei kamen sowohl Handelsmehle verschiedener Mühlen sowie Sortenmehle aus Versuchsaufwüchsen zum Einsatz. Die Kleiezusätze erfolgten in Form von handelsüblicher Speisekleie, die den Normen für Speisekleie hinsichtlich Zusammensetzung sowie Keimgehalt voll entsprach und die zum Einsatz als Feinkleie auf einer Schlagkreuzmühle nachvermahlen wurde. Der Kleiezusatz erfolgte sowohl als Grob- als auch als Feinkleie, wobei die Anteile bei Kastengebäcken zwischen 5 und 10 %, bei Kleingebäcken zwischen 5 und 15 % betrugten (vergl. auch Tabelle 1). Der Backschrotzusatz wurde generell auf 10 % festgelegt, wobei überwiegend Schrotvorteige angesetzt und den jeweiligen Teigen zugemischt wurden. Die höhere Wasserbindung von Schrot und Kleie und ihr beachtliches Quellvermögen im Teig machte es erforderlich, auch bei freigeschobenen Kleingebäcken die Teigkonsistenz den zugesetzten Kleiemengen mittels höherer Zugufmengen schrittweise anzupassen.

Die Bewertung der Gebäcke geschah durch Volumenmessung und Bonitierung nach dem Auskühlen. Die sensorische und organoleptische Beurteilung erfolgte bei Weißbrot am folgenden Tag, bei Kleingebäck etwa 4 Stunden nach dem Ausbacken.

### V Versuchsergebnisse bezüglich der technologischen Eigenschaften

Das Ziel unserer Untersuchungen war von vorneherein, die technologischen Möglichkeiten hinsichtlich äußerer und innerer Qualitätsmerkmale möglichst umfassend abzutasten, um entsprechende Rückschlüsse auf eine mögliche Akzeptierung solcher Gebäckarten durch den Verbraucher zu ziehen. Dies war auch der Grund für Vorversuche unter Mitverwendung von Backschrot insbesondere in Form von Schrotteigen, der dabei recht günstige technologische Wirkungen zeigte. Auch die Kochsalz-

zugaben wurden variiert, um die geschmacklich optimale Menge bei Mitverwendung von Schrot und Kleie herauszufinden. Dabei stellte sich für Kastenbrote ein solcher von 2 % und bei Kleingebäcken einer von 1.8 % als geschmacklich ausgewogen dar.

Bei den Weißbroten in Kastenform zeigte sich, daß der Schrotvorteig ein höheres Volumen bewirkte und dies auch dann im wesentlichen behauptete, wenn steigende Mengen von Kleie zugesetzt wurden. Die Abbildung 1 läßt andererseits aber auch erkennen, daß mit Erhöhung des Kleianteiles eine Abnahme der Brotvolumina einhergeht, die jedoch nur bei einigen der verwendeten Handelsmehle wirklich gravierend war, während andere, wie beispielsweise die Mehle IV und V, relativ konstante Volumenwerte auch ohne Vorteig lieferten.

Für die Krumenfarbe war es nicht gleichgültig, ob Fein- oder Grobkleie eingesetzt wurde. Die Feinkleie färbte zwar die Krume gleichmäßiger aber auch wesentlich intensiver, die Grobkleie dagegen sorgte für eine kontrastreiche bis stippige Krume und Kruste. Die Teigausbeuten wurden durch den Kleiezusatz erhöht, was auf die stärkere Wasserbindung und Quellungsneigung zurückzuführen ist. Die Krumenelastizität war weder durch den Schrot noch durch die Kleie beeinträchtigt, lediglich eine Vergrößerung der Porung zeigte sich vor allem bei Gebäcken, die unter Verwendung von Schrotvorteig gebacken wurden.

Somit verändert ein Zusatz von 10 % Kleie und ein gleich hoher Anteil an Backschrot bei entsprechender Mehlqualität weder die technologische Verarbeitung noch die Gebäckqualität. Zu übereinstimmendem Befund kamen auch Altrogge, Seibel und Stephan (1980), die ebenfalls eingehende Untersuchungen in dieser Richtung unternahmen.

Die Prüfung an freigeschobenen Gebäcken wurde an Einschlagbrötchen vorgenommen, die gemäß den Bestimmungen des Rapid-Mix-Testes maschinell ausgeformt wurden. Die Tabelle 1 läßt erkennen, daß hier insgesamt 3 Paralleluntersuchungen ohne und mit Backschrotzusatz unter Anwendung unterschiedlicher Schrotvorbereitung durchgeführt wurden. Der Zusatz von Fein- und Grobkleie erfolgte in neun Stufen bis zu einem Höchstanteil von 15 % Kleie. Auch in dieser Versuchsreihe zeigen die in Abbildung 2 graphisch dargestellten Ergebnisse einen Volumenvorteil für die unter Verwendung von Schrotvorteig hergestellten Gebäude. Dagegen war Schrotzusatz als Brühstück diejenige Komponente, die das Volumen auf ein insgesamt tieferes Niveau senkte. Die Kleiezusätze



verursachten einen Volumenrückgang, der proportional der Höhe des Kleiezusatzes verlief. Es hatte offensichtlich keine Bedeutung, ob die Kleie als Fein- oder Grobkleie zugesetzt wurde. Die durch Kleie bedingte Volumenabnahme lag bei 5 % Zusatz zwischen 1 und 9 %, 10 % Kleie senkten das Volumen zwischen 6 und 19 % ab, während 15 % Kleie eine Minderung des Volumens von 15-26 % mit sich brachte. Auch die Form der Gebäcke wurde durch den Kleiezusatz, insbesondere bezüglich des Ausbundes, beeinträchtigt, sodaß hier wohl Korrekturen der Mehlqualität notwendig wären. Eindeutig hatte sich im Vergleich von sortenreinen Mehlen und einem handelsüblichen Typenmehl die Überlegenheit des letzteren gezeigt.

#### Beurteilung der Gebäcke nach sensorischen Merkmalen

Während technologische Probleme bei Kleiezusatz bis etwa 15 % heute durch entsprechende Einstellung der Mehlqualität kaum zu befürchten sind und entsprechende Fertigmehle bereits angeboten werden, können die sensorischen Merkmale nicht in gleicher Weise manipuliert werden. Zwar bestehen zwischen Grob- und Feinkleiezusatz insofern wesentliche Unterschiede, als beim Mund- und Kaugefühl eindeutige Differenzen hervortreten. Der dabei bestehende Vorteil der Feinkleie wird durch die deutlich intensivere Geschmacksbetonung wieder eingeschränkt. Auch ist bis heute nicht gültig geklärt, welchem Feinheitsgrad der Kleie unter ernährungsphysiologischen Gesichtspunkten der Vorzug gegeben werden sollte.

Die Geschmacksprüfung unserer Gebäcke hat im wesentlichen folgende Erkenntnisse gebracht. Kleiezusätze, speziell von Feinkleie, führen bis zu 5 % zu keinen gravierenden visuellen und geschmacklichen Veränderungen. Wird der Anteil auf 10 % angehoben, so wirkt ein zehnpromzentiger Zusatz von Backschrot als Vorteig durch seine kräftige Brotaromabildung sehr dämpfend auf den spezifischen Kleiegeschmack. Dagegen bringt die Verwendung von Schrot als Brühstück weder technologische noch sensorisch-organoleptische Verbesserungen. Bei weiterer Erhöhung des Kleieanteils über 10 % hinaus scheint es ratsam, etwa ein Drittel der Kleiemenge als Grobkleie zuzusetzen. Daraus ergeben sich nicht nur Vorteile für die Krumenfarbe, sondern auch eine Abmilderung des Kleiegeschmackes. Allerdings wird hier vom Verbraucher nicht nur eine größere Bereitschaft gefordert, sich mit einem grundlegenden ge-

schmacklichen Wandel abzufinden, sondern auch auf ein stark verändertes Mund- und Kaugefühl einzustellen, das insbesondere durch den Grobkleiezusatz bedingt ist. Aufgeschlossene und ernährungsbewußte Verbraucher werden sicher auch an solchen Gebäcken Geschmack finden. Die Toasteigenschaften werden übrigens vom Kleiezusatz nicht verändert, der Geschmack von Toastscheiben mit Kleiezusatz wurde sogar allgemein als herzhafter und aromatischer bewertet.

Bleibt abschließend noch die Frage, welche Ballaststoffanreicherungsraten sich aus den Zusätzen von Kleie zu Weißmehlbrotten ergeben. Als Beispiel sei das Gebäck mit 10 % Schrot- und 10 % Kleiezusatz herausgegriffen, in dem die Ballaststoffbilanz nach der Methode Thomas (1975) berechnet auf 100 g Mehl wie folgt aussieht: Rund 140 g normales Toastbrot oder Kleingebäck besitzt einen Ballaststoffgehalt von etwa 1.7 g. Die gleichen Brote mit Schrot- und Kleiezusatz bringen es auf rund 6.4 g, also nahezu auf die 4-fache Menge, was wohl als beachtliche Steigerung gelten kann.

Zusammenfassend kann nach den durchgeführten Untersuchungen festgestellt werden, daß ein Kleiezusatz zu Weißbrot-Gebäcken das Herstellungsverfahren technologisch nicht beeinträchtigt. Auch die Verzehrs- und Gebrauchseigenschaften werden wenig beeinflußt. Deutliche Veränderungen ergeben sich in den äußeren und inneren Wertmerkmalen der Gebäcke. Sie betreffen vor allem die Krusten- und Krumenfarbe und sensorisch wahrnehmbare Verzehrsmerkmale wie Mund- und Kaugefühl sowie vor allem den Geschmack. Der typische herb-strenge Kleiegeschmack kann durch Verwendung von Schrotvorteig deutlich gemildert werden, ebenso durch den Austausch von Fein- und Grobkleie.

Gebäcke mit Kleieanteilen von mehr als 10 Prozent werden besonders die ernährungsbewußten Verbraucher ansprechen. Die Ballaststoffaufnahme könnte durch Kleiezusatz von 10 Prozent, berechnet auf die tägliche Brotverzehrsmenge bei Weißbrot-Gebäcken, von 2.5 auf 8-10 g erhöht werden, was für die derzeitige Situation als eine beträchtliche Verbesserung gewertet wird.

Für die Durchführung der Untersuchungen und den sensorischen Auswertungen gilt den Diplomandinnen Doris Engl und Karin Höck besonderer Dank.

Title/Thema; ENRICHMENT OF DIETARY FIBRE IN WHITE BREADS-  
TECHNOLOGICAL AND SENSORY ASPECTS

Author(s)

Since there is a considerable fraction of lower grounded flour used for bread and pastry, the enrichment of dietary fibre within those white breads was to be investigated.

Addition of bran in amountments of 5 to 15 % of the flour did not cause any difficulty for technological processings. Also, there was no or at least rather no change in quality with regard to surface criterions and elasticity of crumb, after addition of bran. The same is for the quality for toasting.

However, there is a noticeable effect of bran added to the flour, when the color of crumb and crust is examined and also the flavor and the feeling-in-mouth. Soft bran especially influences the color of crumb and induces an intensive expression of the severe-sharp flavor of bran, while rough bran mainly effects the feeling-in-mouth and the feeling when chewing. An additional use of coarse meal with straight sponge not only increases the volume of bran-containing pastry but also decreases the typical bran flavor because of the development of effective bread aromas.

Addition of 10 % bran and 10 % coarse meal corresponds to a fourfold amount of dietary fibre within a wheat-flour bread, according to the method of Thomas (1975).

Address(of the first Author) Dr. Gerolf Günzel

Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung  
Technische Universität München - Weihenstephan  
D-8050 Freising 12

Literatur

- Altrogge, L., W. Seibel u. H. Stephan, 1980: Möglichkeiten der Ballaststoffanreicherung bei Brot und Kleingebäck.  
Getreide, Mehl und Brot 34, 243-247.
- Meuser, F., H. Niefind, F. Köhler u. G. Fischer, 1982: Verwertung von Treben für ballaststoffangereichertes Brot.  
Getreide, Mehl und Brot 36, 92-97.
- Seibel, W., 1981: Möglichkeiten einer ballaststoffreichen Ernährung bei Dickdarmerkrankungen.  
Ernährung/Nutrition Vol. 5, 507-512.
- Thomas, B., 1964: Die Nähr- und Ballaststoffe der Getreidemehle in ihrer Bedeutung für die Brotnahrung. - Zusammenfassende Darstellung der Brotfrage unter besonderer Berücksichtigung des Ausmahlungsgrades.  
Wissenschaftliche Verlags-GmbH, Stuttgart.
- Thomas, B., 1975: Enzymatische Rohfaserbestimmung in Getreideprodukten.  
Getreide, Mehl und Brot 29, 115-117.

Tabelle 1: Teigkonsistenz und Speisekleie- bzw. Backschrotzusatz zu Weizenmehlbrot und Weizenkleingebäck

Nr.	Weizenmehlbrot (Kastengebäck)				Weizenkleingebäck				
	Teig- konsist. FE	% Kleie		% Schrot B*	Teig- konsist. FE	% Kleie		% Schrot A B*/C**	
		fein	grob			fein	grob		
1	500/350	-	-	-	500	-	-	-	10
2	350	-	-	10	500	5	-	-	10
3	350	5	-	10	400	5	2,5	-	10
4	350	7,5	-	10	400	5	5	-	10
5	350	10	-	10	400	7,5	-	-	10
6	350	7,5	2,5	10	400	7,5	2,5	-	10
7	350	5	-		350	7,5	5	-	10
8	350	7,5	-		400	10	-	-	10
9	350	10	-		350	10	2,5	-	10
10	350	7,5	2,5		350	10	5	-	10

\* Backschrotzusatz als Vorteig je 100 g Schrot 100 ml Wasser  
+5 % Hefe, Abstezeit ca. 16 Stunden (über Nacht)

\*\* Backschrotzusatz als Brühstück je 100 g Schrot übergossen mit  
100 ml 90<sup>0</sup> heissem Wasser, Abstezeit ca. 16 Stunden.

Abbildung 1: Volumenänderung durch Schrot- und Kleiezusatz bei Weissbrotgebäcken in Kastenform (ohne Zusatz = 100)

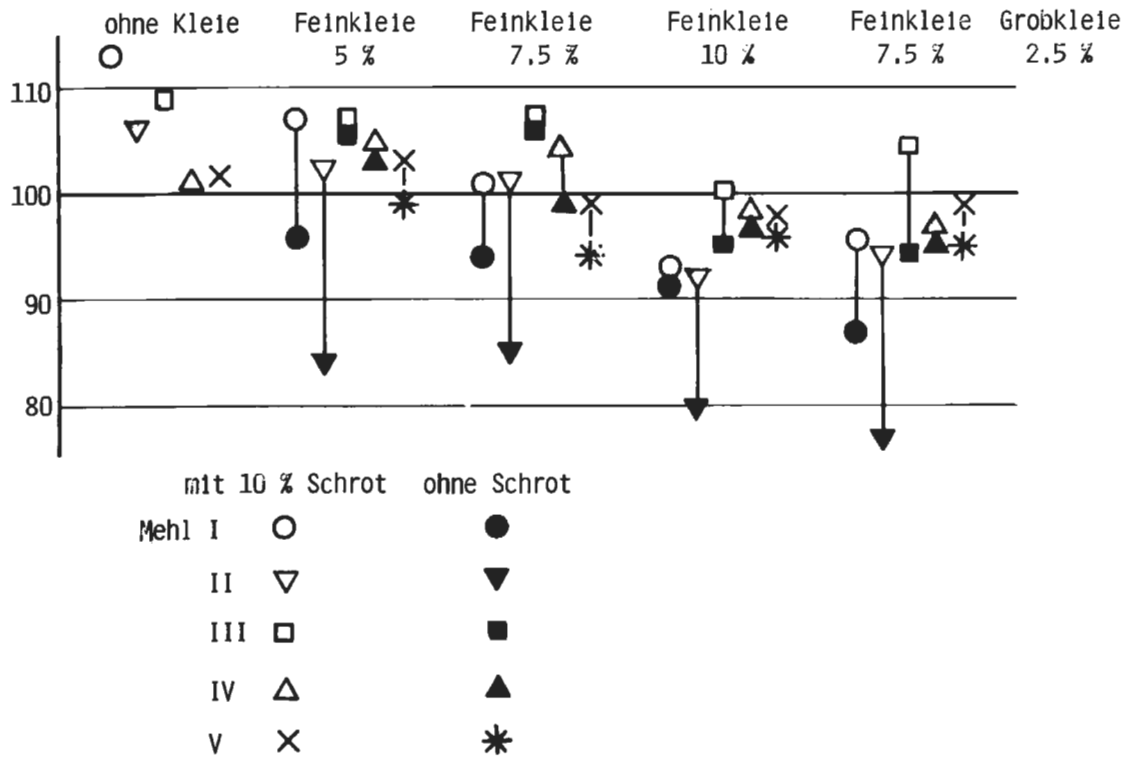
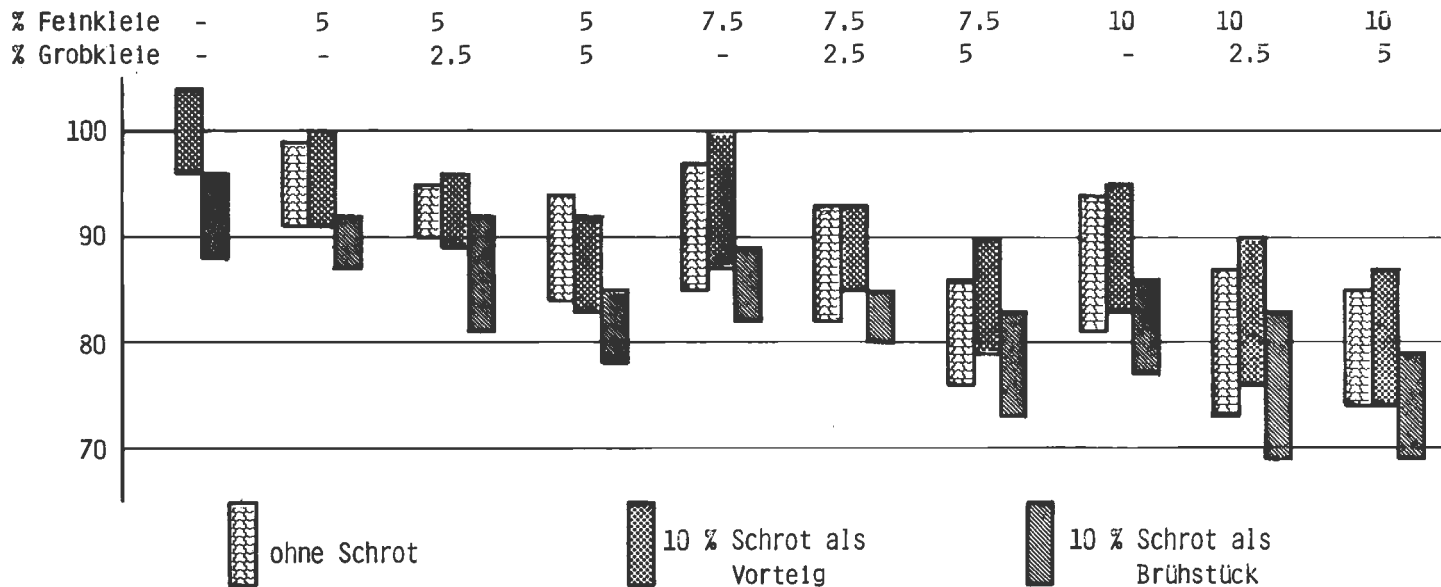


Abbildung 2: Volumenänderung durch Schrot- und Kleiezusatz bei Weizenkleingebäcken,  
 Mittelwerte aus 4 verschiedenen Mehlen  
 (ohne Zusatz = 100)







WASSERBINDUNGSVERMOEGEN VON NAHRUNGSFASERN

---

Thomas F. Schweizer  
Beratungsgesellschaft für Nestlé Produkte AG  
Forschungsabteilung  
Postfach 88  
CH-1814 La Tour-de-Peilz  
Schweiz

Dietary fibre water-holding properties

Summary. - It is generally believed that the water-holding capacity (WHC) of dietary fibre is an important physical property influencing the effects of fibre along the gastrointestinal tract. However, the relationship between in-vitro measurements of WHC and the effect of dietary fibre on stool weight and consistency is difficult to assess, since WHC, botanical and chemical structure of fibre, and the extent of colonic fermentation are all closely interrelated. Apparent correlations between WHC and single chemical properties should therefore be very carefully interpreted. In addition, mechanical and thermal treatments change the WHC of fibre concentrates in wide limits. Thus, the WHC of apple fibres could be varied between 4 and 33 g water held by one g fibre. Removal of digestible matter in the small intestine increases the WHC of a fibre matrix up to threefold. This may be accounted for by measuring the WHC of insoluble dietary fibre rather than of fibre concentrates. The important changes of WHC due to colonic fermentation, however, escape proper assessment by the presently used in-vitro measurements. Consequently, relationships between WHC and stool output have very limited predictive value, and the physiological importance of WHC still remains to be established.

### Zusammenfassung

Es wird allgemein angenommen, dass das Wasserbindungsvermögen (WBV) von Nahrungsfasern oder Ballaststoffen eine wichtige physikalische Eigenschaft ist, welche die Effekte der Nahrungsfasern entlang des Darmtrakts mitbestimmt. Jedoch ist der Zusammenhang zwischen in-vitro Messungen des WBV und dem Effekt von Nahrungsfasern auf Stuhlgewicht und -konsistenz schwierig herzustellen, da WBV, botanische und chemische Struktur der Fasern und auch ihre Fermentation im Kolon eng miteinander verknüpft sind. Scheinbare Beziehungen zwischen WBV und einzelnen chemischen Eigenschaften sollten deshalb sehr vorsichtig interpretiert werden. Mechanische und thermische Behandlungen ändern das WBV von Nahrungsfasern nämlich sehr weitgehend. So konnte das WBV von Apfeltrestern zwischen 4 und 33 g gebundenes Wasser pro Gramm Nahrungsfaser variiert werden. Entfernung der verdaulichen Begleitstoffe erhöht das WBV der Fasermatrix bis auf das dreifache. Dieser Umstand kann durch Messung des WBV der unlöslichen Nahrungsfasern berücksichtigt werden. Die zweifellos tiefgreifenden Veränderungen des WBV durch die Fermentation im Kolon werden bei den herkömmlichen in-vitro Messungen jedoch nicht erfasst. Entsprechend haben Beziehungen zwischen WBV und Stuhlgewicht nur eine sehr beschränkte Aussagekraft, und die physiologische Bedeutung des WBV kann derzeit noch nicht zuverlässig eingeschätzt werden.

## Einleitung

Die vor rund zehn Jahren postulierten Zusammenhänge zwischen einer nahrungsfaserarmen Kost und einigen sogenannten Zivilisationskrankheiten [1] haben zu zahlreichen Untersuchungen über die physiologischen Effekte der Nahrungsfasern geführt. Mehrere Autoren haben versucht, ausgewählte physikalische und chemische Eigenschaften von Nahrungsfasern untereinander und mit beobachteten physiologischen Effekten in Beziehung zu bringen [2-10], um diese Effekte erklären oder sogar voraussagen zu können.

Es wird allgemein angenommen, dass das Wasserbindungsvermögen (WBV) eine besonders wichtige physikalische Eigenschaft von Nahrungsfasern ist, die deren Effekte entlang des Darmtraktes und insbesondere die Stuhlmenge wesentlich mitbestimmt. Nun wird aber das WBV von einer Reihe oft vernachlässigter Faktoren stark beeinflusst, die im folgenden kritisch besprochen werden sollen. Insbesondere stellt sich die Frage, ob und in welchem Ausmass die "in-vitro" bestimmten Daten für die Vorgänge im Darmtrakt überhaupt Gültigkeit haben können.

## Messmethoden

Das WBV von Nahrungsfasernkonzentraten wird meistens bestimmt, indem die Fasern in einem Ueberschuss Wasser inkubiert werden. Anschliessend wird das überschüssige Wasser durch Zentrifugation [5] oder Filtration [11] entfernt und das verbleibende Material vor und nach Trocknung gewogen. Die Ergebnisse werden als g gebundenes Wasser pro 1 g trockener Fasern angegeben. Diese beiden Methoden liefern im allgemeinen vergleichbare Ergebnisse. (Fig. 1)

Robertson und Eastwood [12] schlugen kürzlich eine Methode vor, die eine Unterscheidung zwischen bloss in der Faser-Matrix eingeschlossenem und tatsächlich gebundenem Wasser erlauben soll. Sie bestimmten das WBV von Nahrungsfasernkonzentraten in einem Dialysenschlauch gegen einen definierten osmotischen Druck. Nach dem gleichen Prinzip arbeiteten Stephen und Cummings [8]. Sie verglichen diese Methode auch mit der Zentrifugationsmethode und stellten eine befriedigende Korrelation fest. Im Gegen-

satz zur Filtration oder Zentrifugation erlaubt es die Dialyse, auch den Hydrokolloiden ein WBV zuzuordnen.

### Einflussfaktoren auf das WBV

Unabhängig von der verwendeten Messmethode wird das WBV von Nahrungsfasernkonzentraten von einer Reihe von Faktoren beeinflusst, deren Bedeutung noch wenig untersucht wurde [5, 8, 11, 13].

Im Rahmen einer Studie über Apfeltrester haben wir deren WBV in Abhängigkeit der Sorte (Jonathan und Glockenäpfel) der Herstellung (Press-Trester und Gegenstromextraktions-Trester), des Trocknungsverfahrens und der Teilchengrösse untersucht [14]. Der Gehalt an Nahrungsfasern in den vier untersuchten Treestern war vergleichbar, die Glockenäpfel enthielten etwas mehr lösliche Nahrungsfasern (Fig. 2). Die wesentlichen Ergebnisse sind in Figur 3 zusammengefasst und zeigen deutlich, dass beide Apfelsorten ähnlich auf variable Herstellung, Trocknung oder Teilchengrösse reagierten. Die Unterschiede zwischen den beiden Sorten waren bedeutend geringer als die, welche von der unterschiedlichen Herstellung herrührten. Aber auch diese verringerten sich, wenn die Trester fein gemahlen oder scharf getrocknet wurden. Die Frischtrester erreichten erwartungsgemäss die grössten WBV. Gefriertrocknung veränderte diese nicht wesentlich, während Vakuumtrocknung bei 50°C das WBV um mindestens 50% reduzierte. Feines Vermahlen der getrockneten Trester beeinflusste das WBV überraschenderweise nicht einheitlich: das WBV der lyophilisierten Trester wurde kleiner, das der bei 50°C getrockneten Trester stieg sogar leicht an. Widersprüchliche Befunde bezüglich des Einflusses der Partikelgrösse auf das WBV von Weizenkleie [8, 15, 16] sind den unterschiedlichen Messmethoden zugeschrieben worden [8]. Unsere Ergebnisse zeigen, dass auch die Vorbehandlung des Fasernkonzentrats wichtig sein kann.

Die Tatsache, dass das WBV eines Apfeltresters zwischen 4 und 33 variieren kann, zeigt deutlich, dass vor allem mechanische und thermische Behandlungen das WBV viel stärker beeinflussen als früher angenommen wurde [5]. Die an sich hohen WBV von Früchten und Gemüsen reagieren empfindlicher auf solche Einflüsse als die naturgemäss tiefen WBV von Getreidekleien.

Wie einleitend erwähnt, wird die Bedeutung des WBV meist im Zusammenhang mit den Effekten der Nahrungsfasern im Kolon betont. Die üblichen Messungen des WBV beziehen sich jedoch auf Fasernkonzentrate, die noch beträchtliche Mengen verdauliche Stoffe wie Stärke und Protein enthalten [5, 8, 12]. Diese Begleitstoffe bestimmen das WBV in-vitro mit, sind aber in-vivo bereits abgebaut, wenn die Fasern das Kolon erreichen. Deshalb haben wir auch das WBV der eigentlichen Fasermatrix bestimmt [17], die wir nach enzymatischer Verdauung der Begleitstoffe isoliert haben [18]. Ähnliche Messungen wurden kürzlich auch mit Neutraldetergentienfasern durchgeführt [19].

Ein Vergleich zwischen dem WBV der Fasernkonzentrate mit dem WBV ihrer unlöslichen Nahrungsfasern (Fig. 4) zeigt, dass letzteres 1.5 - 2.5 mal grösser ist. Die Korrelation zwischen den beiden Messungen ist jedoch keineswegs perfekt. Die Unterschiede  $\Delta$  WBV zwischen den beiden Messungen lassen sich teilweise damit erklären, dass das Entfernen des verdaulichen Materials in der Fasermatrix Raum für zusätzliches Wasser freimacht (Fig. 5). In einigen Fällen scheint die Matrix allerdings zusammenzuschrumpfen. Diese Erscheinung und auch die Frage, ob es sich beim zusätzlichen Wasser um gebundenes oder eingeschlossenes Wasser handelt, sollte mit Messungen nach den oben erwähnten Dialyseverfahren [8, 12] untersucht werden.

#### Wasserbindungsvermögen und chemische Eigenschaften von Nahrungsfasern

Nahrungsfasern verschiedener Pflanzen haben sehr unterschiedliche chemische Eigenschaften und Wasserbindungsvermögen. Demzufolge liegt es auf der Hand, Beziehungen zwischen dem WBV und ausgewählten chemischen Kennwerten wie etwa den Gehalten an Cellulose, Lignin, Uronsäuren oder Pentosen zu suchen.

So fanden McConnell et al. [5], dass das WBV von Getreide- und Gemüsefasern deren ADF-Gehalt proportional war, während keine Beziehung zwischen WBV und Lignin bestand. Im Gegensatz dazu fanden Stephen und Cummings keine Beziehung zwischen WBV und ADF, wohl aber zwischen WBV und Lignin, Pentosen und Uronsäuren [8]. Rasper wiederum berichtete eine umgekehrte Proportionalität zwischen WBV und Cellulosegehalt von Weizenkleien [6].

Solche anscheinend widersprüchliche Ergebnisse können mehrere Ursachen haben. Neben den verschiedenen Herstellungsverfahren der Produkte (mechanische und thermische Behandlung, Extraktionen mit Lösungsmitteln) spielen vor allem – wie bereits erwähnt – die unterschiedlichen Gehalte an Nahrungsfasern in den Konzentraten eine wesentliche Rolle. Sodann hängen solche Korrelationen stark von der Muster-Auswahl ab. Wenn etwa Getreidefasern mit meist geringem WBV und Fasern aus Gemüsen und Früchten mit meist grossem WBV gleichzeitig geprüft werden [5, 8], ergeben sich fast zwangsläufig Beziehungen zwischen dem WBV und chemischen Eigenschaften, da auch letztere für jede dieser Fasernkategorien typische Merkmale haben [20]. Solche Korrelationen müssen deshalb weder allgemein gültig sein, noch zeigen sie mit Sicherheit einen kausalen Zusammenhang auf.

Zur Illustration dieser Verhältnisse eignet sich die Beziehung zwischen dem WBV und dem ADF-Gehalt von Nahrungsfasern, die wir an Getreidekleien, Früchten und Gemüsen untersucht haben [21]. Zwischen dem WBV der Fasernkonzentrate und ihrem ADF-Gehalt konnte keine Korrelation festgestellt werden (Fig. 6). Dagegen schienen die WBV der unlöslichen Nahrungsfasern den entsprechenden ADF-Gehalten proportional zu sein (Fig. 7). Bei getrennter Betrachtung der sieben Getreidekleien und der Früchte und Gemüse änderte sich jedoch das Bild vollständig: Bei den Getreidekleien wurden WBV und ADF umgekehrt proportional, während bei Gemüsen und Früchten jegliche Korrelation verschwand. Innerhalb der besser vergleichbaren Getreidekleien wurden hohe WBV dann beobachtet, wenn stark verzweigte Arabinoxylane einen hohen Anteil der unlöslichen Nahrungsfasern ausmachen (Fig. 8).

#### Zur physiologischen Bedeutung des WBV

Die obigen Erwägungen führen zu einigen Folgerungen bezüglich der physiologischen Bedeutung des in-vitro bestimmten WBV von Nahrungsfasern.

- Für die Effekte von Nahrungsfasern im oberen Darmtrakt könnte das WBV von Faserkonzentraten, die noch bedeutende Mengen verdaulichen Materials enthalten, durchaus von Interesse sein [22], ist jedoch in diesem Zusammenhang noch kaum untersucht worden.

- Wenn die Nahrungsfasern aber das Kolon erreichen, beschreibt das WBV der unlöslichen Fasern ihre physikalischen Eigenschaften sicher besser, insbesondere wenn man annimmt, dass die löslichen Fasern zu diesem Zeitpunkt bereits von der unlöslichen Matrix getrennt sind [22].
- Im Kolon werden dann auch diese unlöslichen Fasern durch die bakterielle Fermentation stark abgebaut [23, 24] und üben deshalb ihren Effekt auf das Stuhlgewicht kaum mittels ihres Wasserbindungsvermögens aus. Die unter nahrungsfaserreicher Kost täglich im Stuhl ausgeschiedene Wassermenge ist nämlich weit geringer als das WBV vermuten liesse, und der prozentuale Wassergehalt des Stuhls ändert sich in Abhängigkeit von der Art und Menge der verzehrten Nahrungsfasern nur geringfügig. Schliesslich erhöhen Nahrungsfasern mit geringem WBV das Stuhlgewicht stärker als solche mit grossem WBV [8].

Somit scheint das WBV eher die Zugänglichkeit der Fasermatrix für die bakterielle Fermentation im Kolon zu charakterisieren und nicht die Fähigkeit Wasser zu binden, ändert sich doch das in-vitro gemessene WBV nach Einsetzen der Fermentation zweifellos sehr rasch.

### Schlussfolgerung

Viele Aspekte des Wasserbindungsvermögens von Nahrungsfasern und seiner physiologischen Bedeutung sind noch unklar. Eine schematische Darstellung (Fig. 9) verdeutlicht, dass das WBV von mindestens fünf, teilweise voneinander abhängigen Hauptfaktoren beeinflusst wird. Von diesen sind das Lignin und die Fermentation im Kolon, also ausgerechnet die noch am wenigsten untersuchten Faktoren, zweifellos besonders wichtig.

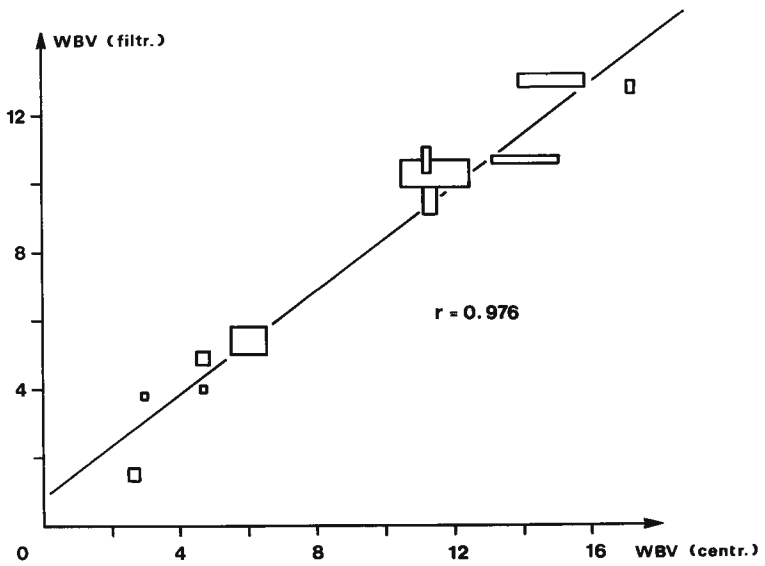
Ernährungsversuche mit Nahrungsfasern gleicher botanischer und chemischer Struktur, deren WBV sich jedoch durch mechanische und thermische Vorbehandlung in weiten Grenzen variieren lässt, sind noch kaum durchgeführt worden. Solche Studien werden es erlauben, die physiologische Bedeutung des WBV besser einschätzen zu können.

Literatur

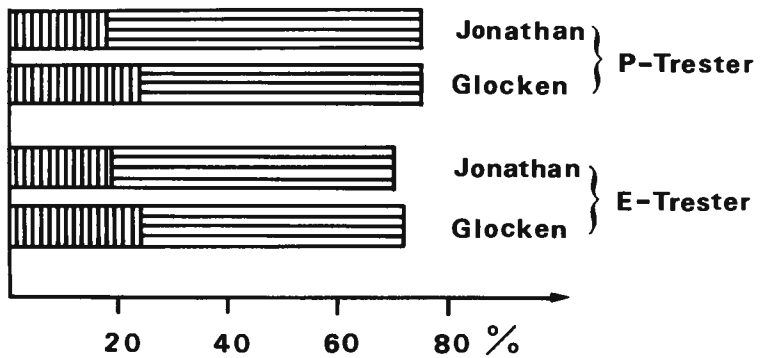
1. Burkitt DP, Trowell HC. Refined carbohydrate foods and disease: Some implications of dietary fibre. New York: Academic Press, 1975.
2. Eastwood MA, Hamilton D. Studies on the adsorption of bile salts to non-absorbed components of diet. *Biochim. Biophys. Acta* 1968; 152: 165-73.
3. Kritchevsky D, Story JA. Binding of bile salts in vitro by non-nutritive fiber. *J. Nutr.* 1974; 104: 458-62
4. Story JA, Krichevsky D, Eastwood MA. Dietary fiber - bile acid interactions. In: Inglett GE, Falkehag SI, eds. *Dietary Fibers: Chemistry and Nutrition*. New York: Academic Press, 1979; 49-56.
5. McConnell AA, Eastwood MA, Mitchell WD. Physical characteristics of vegetable foodstuffs that could influence bowel function. *J. Sci. Food Agric.* 1974; 25: 1457-64.
6. Rasper VF. Chemical and physical properties of dietary cereal fiber. *Food Technol.* 1979; 33: 40-4
7. Cummings JH, Branch W, Jenkins DJA, Southgate DAT, Houston H, James WPT. Colonic response to dietary fibre from carrot, cabbage, apple, bran, and guar gum. *Lancet* 1978; 1: 5-9.
8. Stephen AM, Cummings JH. Water-holding by dietary fibre in-vitro and its relationship to fecal output in men. *Gut* 1979; 20: 722-9.
9. Fernandez R, Phillips SF. Components of fiber bind iron in vitro. *Am. J. Clin. Nutr.* 1982; 35: 100-6.
10. Fernandez R, Phillips SF. Components of fiber impair iron absorption in the dog. *Am. J. Clin.* 1982; 35: 107-12.
11. Robertson JA, Eastwood MA, Yeoman MM. An investigation into the physical properties of fibre prepared from several carrot varieties at different stages of development. *J. Sci. Food Agric.* 1980; 31: 633-8.
12. Robertson JA, Eastwood MA. A method to measure the water-holding properties of dietary fibre using suction pressure. *Br. J. Nutr.* 1981; 46: 247-55.
13. Parrot ME, Thrall BE. Functional properties of various fibers: physical properties. *J. Food Sci.* 1978; 43: 759-63.
14. Huber D, Emch F, Schweizer TF. Unveröffentlichte Ergebnisse, 1979.



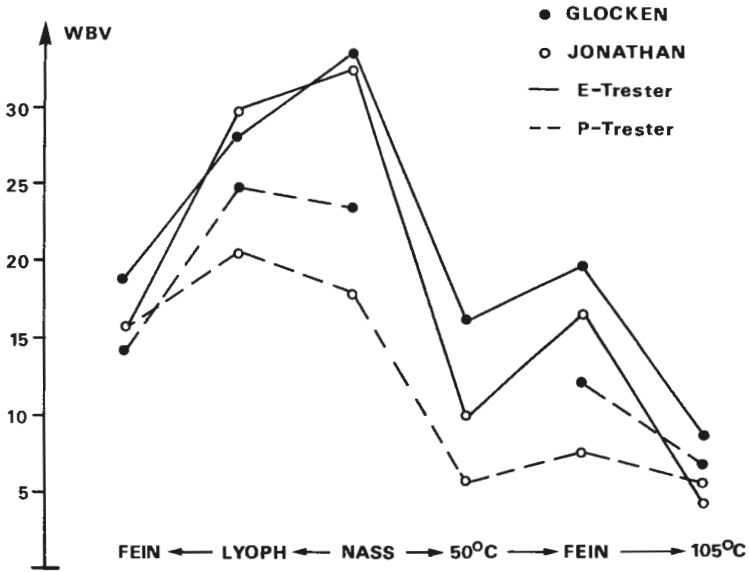
15. Kirwan NO, Smith AN, McConnell AA, Mitchell WD, Eastwood MA. Action of different bran preparations on colonic function. *Br. Med. J.* 1974; II : 187-9.
16. Heller SN, Hackler LR, Rivers JM et al. Dietary fiber: the effect of particle size of wheat bran on colonic function in young adult men. *Am. J. Clin. Nutr.* 1980; 33: 1734-44.
17. Schweizer TF. Die Bestimmung von Ballaststoffen. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* 1980; 71: 25-37.
18. Schweizer TF, Würsch P. The analysis of dietary fibre, *J. Sci. Food Agric.* 1979; 30: 613-9.
19. Robertson JA, Eastwood MA. An examination of factors which may affect the water holding capacity of dietary fibre. *Br. J. Nutr.* 1981; 45: 83-8.
20. Schweizer TF. Composition chimique des fibres alimentaires. *Int. J. Vit. Nutr. Res.* 1981; Suppl. 21: 73-80.
21. Schweizer TF. Unveröffentlichte Ergebnisse, 1979.
22. Eastwood MA, Kay RM. An hypothesis for the action of dietary fiber along the gastrointestinal tract. *Am. J. Clin. Nutr.* 1979; 32: 364-7.
23. Kelsay JL, Goering HK, Behall KM, Prather ES. Effect of fiber from fruits and vegetables on metabolic responses of human subjects: fiber intakes, fecal excretions and apparent digestibilities. *Am. J. Clin. Nutr.* 1981; 34: 1849-52.
24. Cummings JH. Dietary fibre. *Br. Med. Bull.* 1981; 37: 65-70.



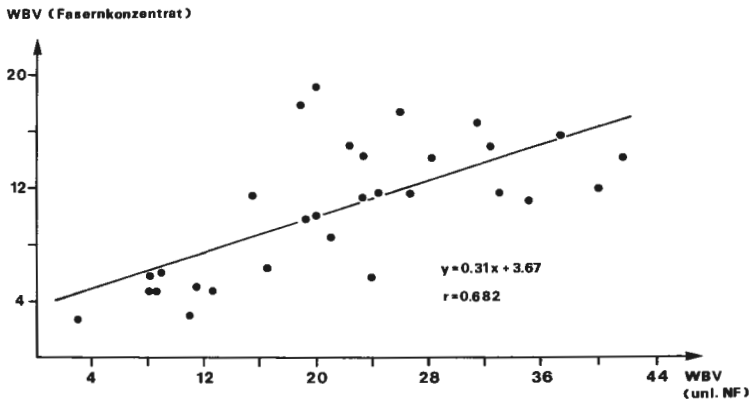
Figur 1: Korrelation zwischen den mit Filtration und Zentrifugation bestimmten Wasserbindungsvermögen.

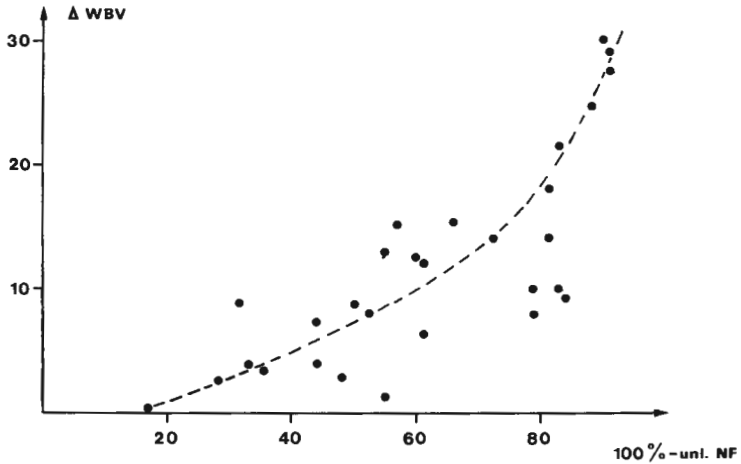


Figur 2: Gehalt an unlöslichen (≡≡≡) und löslichen (|||||) Nahrungsfasern in Apfeltrestern.

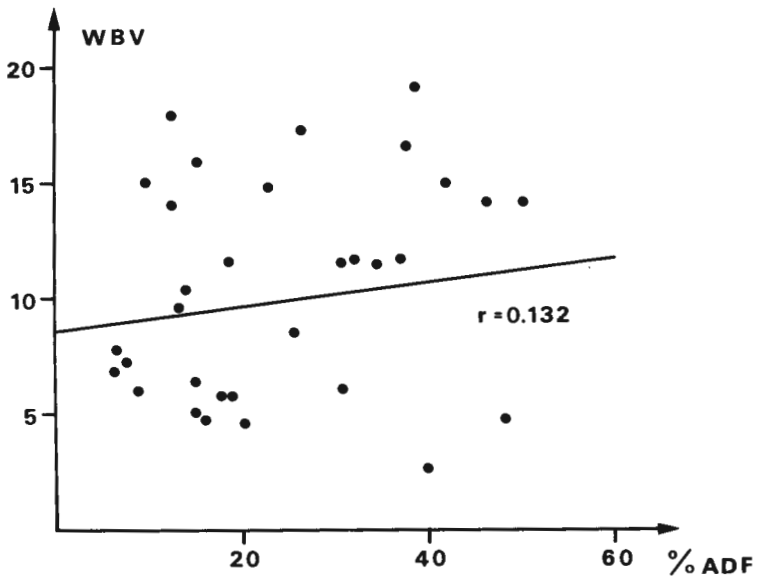


Figur 3: Wasserbindungsvermögen von Apfeltrestern in Abhängigkeit der Sorten, Herstellung, Trocknung und Teilchengrösse.

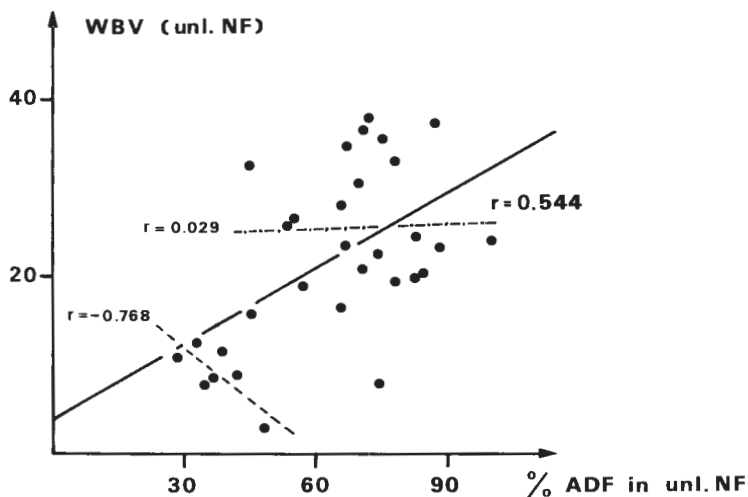




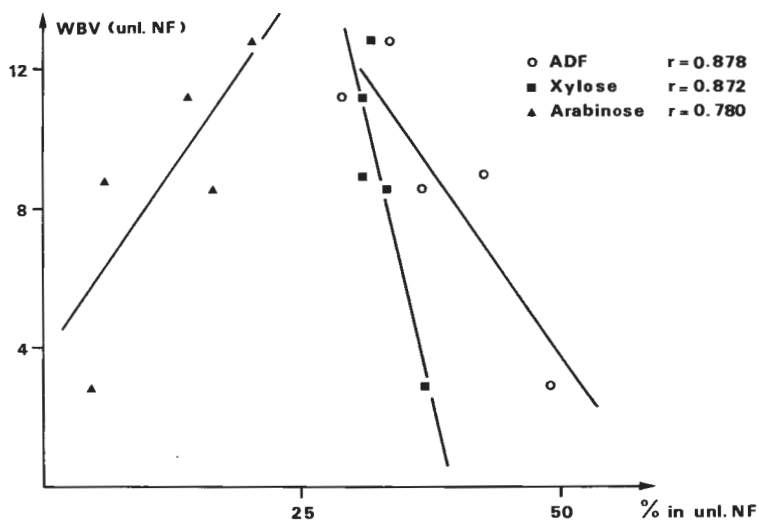
Figur 5: Zunahme des Wasserbindungsvermögen von Nahrungsfasern nach Entfernung der verdaulichen Anteile aus den Nahrungsfasernkonzentraten ( $\Delta WBV$ ) in Abhängigkeit der entfernten Anteile.



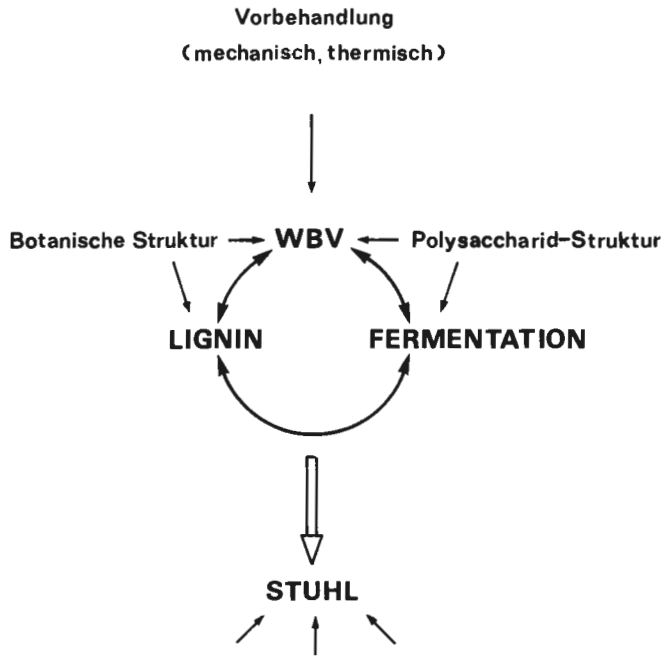
Figur 6: Korrelation zwischen dem Wasserbindungsvermögen von Nahrungsfasernkonzentraten aus Getreiden, Gemüsen und Früchten und ihrem ADF-Gehalt.



Figur 7: Korrelation zwischen dem Wasserbindungsvermögen von unlöslichen Nahrungsfasern aus Getreiden, Gemüse und Früchten und ihrem ADF-Gehalt. (--- = nur Gemüse und Früchte; ----- = nur Getreide)



Figur 8: Korrelationen zwischen dem Wasserbindungsvermögen von unlöslichen Nahrungsfasern aus Getreidekleien und ihren Komponenten.



Figur 9: Schematische Darstellung der wichtigsten Faktoren, die das Wasserbindungsvermögen beeinflussen.

EINFLUSS MINERALISCHER UND ORGANISCHER DÜNGUNG AUF ZUSAMMEN-  
SETZUNG UND PHYSIKALISCHE EIGENSCHAFTEN VON BALLASTSTOFFEN  
IN BROTGETREIDE

(Influence of mineral fertilizer and manure on the composition and physical capacities of dietary fibre in bread cereals)

G.Schaepers und B.Thomas, Berlin

Techn. Universität Berlin, Inst. für Lebensmitteltechn.  
Seestraße 11, D-1000 Berlin-65/FRG

Die Qualität von Futter- und Nahrungspflanzen ist nicht nur durch den Gehalt an erwünschten und unerwünschten Inhaltsstoffen gegeben; auch ein ausgewogenes Verhältnis dieser Inhaltsstoffe zueinander, angepaßt an die einzelnen Wachstumsstadien, bestimmt die Gesundheit einer Pflanze und damit ihren biologischen Wert.

In dem komplexen Geschehen zwischen Boden, Pflanze und Klima ist von den äußeren Einflußfaktoren Stickstoff einer derjenigen Wachstumsfaktoren, der Entwicklung, Ertrag und biologisches Gleichgewicht der Pflanze nachhaltig zu beeinflussen vermag (1).

Untersuchungen, vor allem mit Obst und Gemüse, zeigten, daß Stickstoff aus organischer Substanz und Stickstoff, als Mineraldünger gegeben, nicht immer gleichlaufende Wirkungen haben (8). Aus von uns durchgeführten Vergleichen über den Einfluß mineralischer und organischer Düngung auf Inhaltsstoffe und Enzymaktivitäten von Brotgetreide sollen nachstehend einige Ergebnisse unserer Untersuchungen über Ballaststoffe wiedergegeben werden.

Stand der Forschung

Untersuchungsberichte über den Einfluß der Düngung auf die qualitative und quantitative Ballaststoffzusammensetzung konnten in der uns zugänglichen Literatur nicht gefunden werden. Aus der Literatur ist lediglich bekannt, daß die Resistenz während des Wachstums gegenüber Krankheiten und Schädlingen sowie die Lagerfähigkeit und Haltbarkeit pflanzlicher Nahrungsmittel durch erhöhte N-Düngung beeinträchtigt wird.

Diese Feststellungen sind bisher ausschließlich an wasserhaltigen Pflanzenteilen, nicht aber an wasserarmen Samen wie Getreide getroffen worden. Verschiedene Anzeichen geben Anlaß für den Verdacht, daß die Höhe der N-Düngung sowohl für den Aufbau der Zellwand- und Gewebestruktur als auch für die Ausrüstung mit

bioziden Schutzstoffen von Einfluß sein kann. Da wir uns spezieller mit der Analytik der Ballaststoffe befaßt hatten, war der Gedanke naheliegend, verschiedene Düngungsarten vergleichend in ihrem Einfluß auf Zusammensetzung und einige Funktionen von Getreideballaststoffen zu überprüfen.

### Untersuchungsmaterial

Für Schlußfolgerungen aus Düngungsversuchen ist eine wichtige Voraussetzung über Böden zu verfügen, die mehrere Jahre lang hintereinander mit gleicher Düngungsart behandelt wurden. Diesen Bedingungen entsprachen zwei Versuchsfelder, auf denen vergleichende Düngungsversuche seit mehreren Jahren durchgeführt wurden und an denen wir uns beteiligen konnten:

1. auf dem Dottenfelder Hof bei Bad Vilbel, einem seit 1968 nach der biologisch-dynamischen Wirtschaftsweise geführten Betrieb, wurde von 1978-1980 im Staatsauftrag eine wissenschaftliche Untersuchung durchgeführt;
2. in Järna / Schweden, wo von 1971-1979 in einem gemeinsamen Projekt der landwirtschaftlichen Fakultät der Universität Uppsala und des Nordischen Forschungsrings für biologisch-dynamische Wirtschaftsweise zwei dreijährige Fruchtfolgen verschiedener Landbausysteme miteinander verglichen wurden.

Unsere dabei vorgenommenen Untersuchungen erstreckten sich neben dem Ballaststoffgehalt auf Protein, Aminosäurezusammensetzung, Fett, Asche, Stärke sowie einige Enzyme, unter Mitberücksichtigung des Ertrages und der Bodenverhältnisse. Im Rahmen der Ballaststoffprüfung wurden die Komponenten Hemicellulose, Cellulose und Lignin, die Wasserbindungskapazität und die Kationenaustauschkapazität untersucht.

#### 1. Düngungsversuch Dottenfelder Hof (DFH)

Höhe und Aufteilung der mineralischen Düngung für Winterweizen (Jubilar) und Roggen (Petkus normal) sind in den Tabellen 1 und 2 aufgeführt. Der Versuch bestand aus 4 Anbauparallelen, bei Weizen mit je 12, bei Roggen mit je 2 Düngungsvarianten. Als Vorfrucht dienten Klee gras (Weizen) und Kartoffel (Roggen). Die von uns untersuchten Proben stammten von 1979 und 1980.

#### 2. Versuch Järna

Art und Höhe der Düngung ist Tabelle 3 zu entnehmen. Der Versuch umfaßte 3 Anbauparallelen mit 4 unterschiedlich gedüngten



Varianten pro Frucht. Die von uns untersuchten Weizen (Drabant) stammten aus den Jahren 1978 und 1979.

### Methoden

1. Die Bestimmung der Ballaststoffe wurde nach der Methode von THOMAS/ELCHAZLY (11) durchgeführt.
2. Die Bestimmung des Wasserbindungsvermögens wurde in Anlehnung an die Arbeiten von MC CONNELL et al. (6) und ROBERTSON et al. (7) vorgenommen.
3. Zur Bestimmung der Kationenaustauschfähigkeit wurden die Ballaststoffe mit Salzsäure versetzt, später neutral gewaschen und getrocknet (4). Die Titration mit 0,1 normaler Natronlauge erfolgte automatisch mittels einer Schlauchpumpe bei einer Tropfgeschwindigkeit von 1,2ml/h.

### Ergebnisse und Diskussion

In allen Versuchsserien erhielten wir Ergebnisse, die zwar eine teilweise signifikante Abhängigkeit von Düngungseinflüssen erkennen ließen, aber hin und wieder von sogenannten Ausreißern unterbrochen wurden. Das kam bei den Untersuchungen anderer Inhaltsstoffe auch zum Ausdruck, sogar auch bei den Ergebnissen der Ertrags- und Proteinsteigerung. Das bestärkt die Auffassung, daß neben der Düngung gelegentlich andere Einflußfaktoren vorliegen, die so gravierend sein können, daß sie den Sinn höherer N-Düngung fast in Frage stellen. Das darf beim Anlegen des Maßstabs für die Beurteilung der Ballaststoffergebnisse nicht übersehen werden.

#### 1. Versuch DFH

Als Folgen der verschiedenen Düngungsstufen waren leichte Schwankungen im Gesamtballaststoffgehalt und in der Zusammensetzung der Ballaststofffraktionen festzustellen. In Abhängigkeit von 60kg übersteigender N-Düngung pro Hektar ließen die Ergebnisse einen im Durchschnitt um fast 12% erhöhten Gesamtballaststoffgehalt und einen um ca. 20% erhöhten Hemicellulosegehalt gegenüber den ungedüngten Kontrollproben, und den nur mit 30kg/ha N - also wenig gedüngten - Proben erkennen. Die biologisch angebaute Variante zeigte dagegen für den Gesamtballaststoffgehalt eine Erhöhung um nur ca. 10%. Ebenso waren die Cellulose- und Lignin-gehalte um etwa 10-15% erhöht, während der Hemicellulosegehalt praktisch unverändert war (Tab.4).

Abbildung 1 zeigt die Verschiebungen der Ballaststoffkomponenten von Weizenvarianten, die bei gleichbleibender P- und K-Düngung eine gesteigerte N-Düngung erhalten hatten.

Die untersuchten Roggenproben wiesen ebenfalls nach Düngungsgaben von 60kg N/ha leicht erhöhte Hemicellulosegehalte auf, zu Lasten der Cellulose- und Ligninkomponenten.

## 2. Versuch Järna

Sowohl durch die höhere organische als auch durch die höhere mineralische Düngung wurde in beiden Versuchsjahren ein um 10% höherer Gehalt an Hemicellulose erreicht, auf Kosten von Cellulose und Lignin. (Abb.2).

Festzustellen ist, daß die Veränderungen in der Zusammensetzung der Ballaststoffe durch die Art der Düngung in gleicher Weise beeinflußt wurden. Bei den mineralisch gedüngten Varianten waren diese Unterschiede jedoch häufiger signifikant als bei den biologisch-dynamisch angebaute Weizen, die eine geringere Schwankungsbreite im Verhältnis der einzelnen Ballaststoffkomponenten zueinander zeigten.

### Wasserbindungskapazität

Die Wasserbindungskapazität der Ballaststoffe lag zwischen 6,0 und 7,9g H<sub>2</sub>O/g Ballaststoff (Tab.5).

Es ist eine stark positive Korrelation gegeben zwischen der Wasserbindungskapazität und dem Anteil an Hemicellulose. Daraus ergibt sich für die stärker gedüngten Weizen, die einen höheren Anteil Hemicellulose aufweisen, eine etwas bessere Wasserbindungskapazität. Lignocellulose und Rohcellulose zeigten mit ungefähr 4g H<sub>2</sub>O/g Ballaststoff eine geringere Wasserbindungsfähigkeit.

### Kationenaustauschkapazität

Die Bestimmung der Kationenaustauschkapazität der Ballaststoffe zeigte keine Unterschiede im Verhalten der einzelnen Proben, was zum Teil in der Untersuchungsmethodik begründet sein mag. Abbildung 3 zeigt die aufgezeichneten Titrationskurven der acetongetrockneten Weizenproben von Järna; alle Proben wiesen eine sehr geringe Pufferkapazität gegenüber Natronlauge auf.

### Schlußfolgerungen

Die Ergebnisse zeigen eine begrenzte, aber überwiegend statistisch gesicherte Einflußnahme auf die Zusammensetzung der Ballaststoffe.

Sie lassen die Tendenzen einer leichten Abhängigkeit der Ballaststoffzusammensetzung von Art und Höhe der Düngung erkennen.

Auch wenn diese Einflußnahmen im Rahmen unserer bisherigen Versuche gering sind, machen sie doch unmißverständlich deutlich, daß selbst in wasserarmen Samenmaterial die Düngung nicht ohne Einfluß auf Wachstum und Ausbildung ballaststoffhaltiger Gewebe ist. Inwieweit darin bereits ein Beitrag zur Erklärung von Zusammenhängen zwischen Ballaststoffgehalt und Haltbarkeit gesehen werden kann, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten. Es ist bekannt, daß bei pflanzlichen Geweben mit dem Alter der Hemicellulosegehalt zugunsten von Cellulose und Lignin zurückgeht (3, 10). Erhöhter Hemicellulosegehalt wäre demnach als Ausdruck jugendlicher, in der Entwicklung begriffender Gewebe zu verstehen. Bei wasserarmen Geweben könnte dies als eine im unreifen Endstadium abgeschlossene und daher weniger resistente Ausbildung angesehen werden (2, 5, 9).

### Zusammenfassung

Aus Untersuchungen über den Einfluß verschieden hoher mineralischer und organischer Düngung (0-120kg N/ha) auf Inhaltsstoffe und Enzymaktivitäten von Brotgetreide aus mehrjährigem Versuchsanbau, wird über Ergebnisse der Ballaststoffzusammensetzungen, der Wasserbindungskapazität und Kationenaustauschkapazität berichtet.

In Abhängigkeit von verschiedenen Düngungsstufen zeigten sich leichte Abweichungen in der Zusammensetzung der Ballaststoffkomponenten Hemicellulose, Cellulose und Lignin. In zwei unabhängig voneinander, an verschiedenen Orten durchgeführten Düngungsversuchen, wurde eine erhöhte N-Düngung mit erhöhtem Hemicellulosegehalt beantwortet. Bei den Proben eines Versuchsortes war auch der Gesamtballaststoffgehalt erhöht. Die biologisch - dynamisch angebauten Varianten zeigten eine leichte Erhöhung des Cellulose- und Ligningehaltes.

**CIQ/DGO**

Congress - Kiel

6. - 8. September 1982

**Summary - Zusammenfassung**

**Title/Thema;** INFLUENCE OF MINERAL FERTILIZER AND MANURE ON THE  
COMPOSITION AND PHYSICAL CAPACITIES OF DIETARY FIBRE  
**Author(s)** IN BREAD CEREALS  
SCHAEPPERS,G.; THOMAS,B.; LEITZMANN,C.

It is known that nitrogen fertilizer can influence the nutrient content of ripening cereal grain.

The influence of graduated manure and mineral fertilizer (0 to 120kg N/ha) on nutrient content and the activity of some enzymes were examined on wheat and rye grown under experimental conditions in West-Germany and Sweden.

Different levels of fertilization were found to have an influence on the composition of the various components of dietary fibre - Hemicellulose, Cellulose and Lignin (method ELCHAZLY/THOMAS); the total dietary fibre content remained mostly unchanged. Variations have been influenced more by the level than by the kind of fertilizer. It was found that with rising amounts of nitrogen in manure and mineral fertilizer, the content of Hemicellulose increased, while Cellulose and Lignin decreased or remained unchanged. These differences were frequently more significant in wheat treated with mineral fertilizer than in wheat treated with organic manure.

The incorporation of less Cellulose and Lignin in plants supplied with higher levels of nitrogen may be explained by a delay in maturation e.g. influenced by the carbohydrate-protein ratio. A positive correlation was found between water-holding-capacity and the amount of Hemicellulose.

The determination of ionexchangeability by titration of the dietary fibre (washed neutral) against sodium hydroxide showed no difference.

Our examinations confirmed that changes effected by nitrogen fertilization include dietary fibre.

**Address(of the first Author)** Institut für Getreidetechnologie  
der TU Berlin, Seestraße 11, D-1000 Berlin 65

Literatur

1. BOGUSLAWSKI, E.v. (1965): Düngung, Ertrag und Qualität bei Weizen. Getreide und Mehl 15, 13-20
2. CARLES, J. (1961): Das Kohlenhydrat: Eiweiß-Verhältnis bei der Entwicklung der Getreidepflanze. S.11-23. In: Bericht über die Getreidechemiker-Tagung vom 7.-9. Juni 1961, Hrsg.: Arbeitsgemeinschaft Getreideforschung e.V., Detmold
3. FELLEBERG, G. (1981): Pflanzenwachstum. G.Fischer-Verlag, Stuttgart
4. HELFFERICH, F. (1962): Ion exchange. Mc Graw-Hill Book Comp., New York
5. KRAUSS, A. (1969): Einfluß der Ernährung der Pflanzen mit Mineralstoffen auf den Befall mit parasitären Krankheiten und Schädlingen. Z.Pflanzenernährung und Bodenkunde 124, 129-147
6. MC CONNELL, A.A.; EASTWOOD, M.A.; MITCHELL, W.D. (1974): Physical characteristics of vegetable foodstuffs that could influence bowel function. J.Sci.Fd.Agric. 25, 1457-1464
7. ROBERTSON, J.A.; EASTWOOD, M.A. (1981): An investigation of the experimental conditions which could effect water-holding capacity of dietary fibre. J.Sci.Fd.Agric. 32, 819-825
8. SAMARAS, I. (1978): Nacherntverhalten unterschiedlich gedüngter Gemüsearten mit besonderer Berücksichtigung physiologischer und mikrobiologischer Parameter. Diss. Giessen
9. SAMARAS, F. (1980): Die epiphytische Mikroflora in Beziehung zu einigen biochemischen Merkmalen und zu einigen Kriterien der Verderbnisanfälligkeit ausgewählter Nahrungspflanzen, insbesondere Getreide. Diss. Giessen
10. SCHUPHAN, W. (1976): Mensch und Nahrungspflanze. Dr.W.Junk B.V.-Verlag, Den Haag

11. THOMAS,B.; ELCHAZLY,M. (1976): Über eine biochemische Methode zur Bestimmung der Ballaststoffe und ihrer Komponenten in pflanzlichen Lebensmitteln. Z.Lebensm.Unters.-Forsch. 163, 329-340

Winterweizen Sorte Jubilar Variante	Nährstoffverhältnis (kg/ha Reinnährstoff)		
	N	P	K
W1	0	25	150
W2	30	0	150
W3	30	25	0
W4	30	25	150
W5	60	25	150
W6	90*	25	150
W7	120**	25	150
W8	90*	25	100
W9	90*	25	200
W10	90*	50	150
W11	90*	50	200
W12	0	0	0

\* Aufteilung in 2 Gaben á 60 + 30  
\*\*Aufteilung in 2 Gaben á 60 + 60

Tab.1: Höhe und Aufteilung der mineralischen Düngung, Winterweizen, DFH 1980  
W12 = biologisch-dynamische Kontrollvariante

Roggen 'Petkus normal' Variante	Nährstoffverhältnis (kg/ha Reinnährstoff)		
	N	P	K
Ro. bio-dyn.	-	-	-
Ro. min.	60	30	120

Tab.2: Höhe der mineralischen Düngung im Roggenanbauversuch, DFH 1979

Düngung (kg/ha)							
A = Mineraldünger				B = Stallmistkompost			
	N	P	K		N	P	K
A Kartoffel	120	105	240	Kartoffel	120	82	103
A1 <u>So.-weizen</u>	<u>80</u>	<u>20</u>	<u>36</u>	B1 <u>So.-weizen</u>	<u>80</u>	<u>60</u>	<u>55</u>
Gerste	80	20	36	Gerste	80	60	55
Kartoffel	60	53	120	Kartoffel	60	41	52
A2 <u>So.-weizen</u>	<u>40</u>	<u>30</u>	<u>53</u>	B2 <u>So.-weizen</u>	<u>40</u>	<u>21</u>	<u>32</u>
Klee gras	-	-	-	Klee gras	-	-	-

Tab.3: Art und Höhe der Düngung im Düngungsversuch Järna, Schweden, 1971 - 1979  
A = konventionell , B = biologisch-dynamisch

Variante	Gesamt- Ballaststoffe [g/100g TS]	davon Hemicellulose [%]	WHC	
			$\bar{x}$	s
A1	10,74	63,2	7,2	0,11
A2	10,81	55,7	6,0	0,09
B1	11,09	62,2	7,2	0,2
B2	10,61	59,2	6,9	0,11

Tab.5: Wasserbindungskapazität (WHC) von Ballaststoffen der Järna-Weizenproben, 1979  
Korrelation zwischen WHC und % Hemicellulose:  
 $r=0,958$



Variante	Gesamt- Ballaststoffe	Hemicellulose	Cellulose	Lignin
	in g/100g TS			
W1	10,04	6,34 (63,2)	2,46** (24,5)	1,34 (13,4)
W2	10,38	6,63 (63,9)	2,59*** (25,0)	1,16*** (11,2)
W3	10,36	6,99** (67,5)	2,22*** (21,4)	1,15*** (11,1)
W4	10,15	6,6 (65,0)	2,24*** (22,0)	1,31*** (12,9)
W5	11,75*	7,73** (65,8)	2,38*** (20,3)	1,64 (13,9)
W6	11,59*	7,58** (65,4)	2,71 (23,4)	1,3 ** (11,2)
W7	11,41*	7,5*** (65,7)	2,47*** (21,7)	1,44 (12,6)
W8	10,47	6,69* (63,9)	2,21*** (21,1)	1,57 (15,0)
W9	10,27	6,36 (61,9)	2,52*** (24,5)	1,49 (14,5)
W10	11,96**	7,78** (65,1)	2,61** (21,8)	1,57 (13,1)
W11	10,18	6,48 (63,7)	2,29*** (22,5)	1,41* (13,9)
W12	10,62	6,44 (60,6)	2,73 (25,7)	1,45 (13,7)

Tab.4: Zusammensetzung der Ballaststoffe der DFH-Weizenproben, 1980  
 [g/100g TS] und Signifikanzen bezogen auf W12  
 \* =  $p < 0,5$ , \*\* =  $p < 0,01$ , \*\*\* =  $p < 0,001$ ; Prozentzahlen in  
 Klammern.

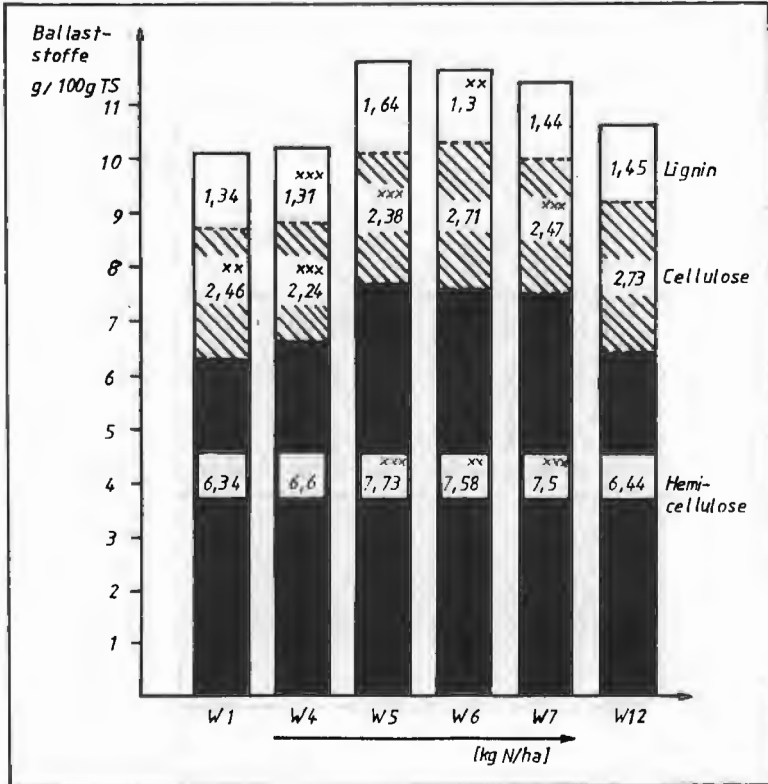


Abb. 1: Zusammensetzung der Ballaststoffe von Winterweizen, DFH, 1980. Statistische Sicherung bezogen auf W12. x =  $p < 0,5$ , xx =  $p < 0,01$ , xxx =  $p < 0,001$

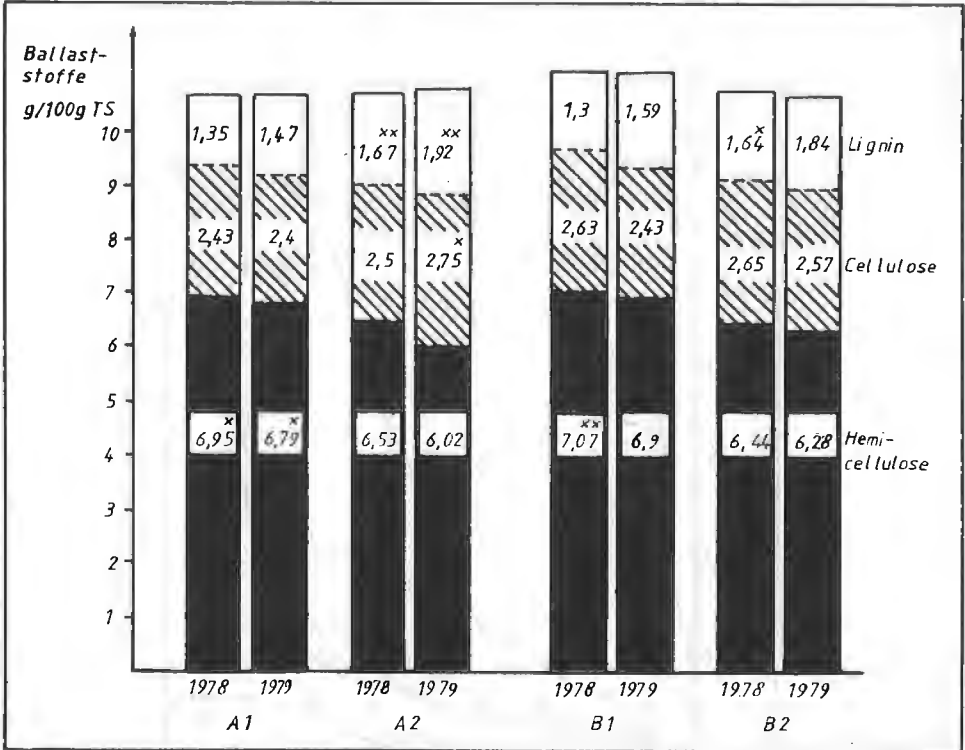


Abb. 2: Zusammensetzung der Ballaststoffe von Sommerweizen, Järna, 1978 und 1979. Statistische Sicherung bezogen auf die Variante mit dem jeweils höchsten Gehalt an Hemicellulose, Cellulose und Lignin.  $x = p < 0,5$ ,  $xx = p < 0,01$ ,  $xxx = p < 0,001$

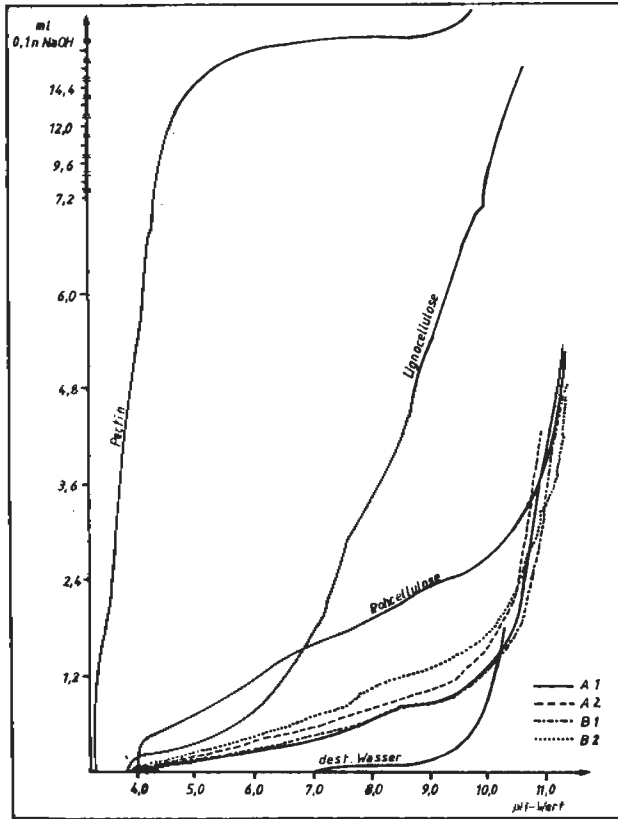


Abb.3: Titrationskurven von Ballaststoffen der Järna-Weizenproben 1979 und einigen isolierten Ballaststoffkomponenten

Fertilization and Food Quality -  
Principles and Critical Reflections

Arnold Finck, Prof. Dr.

Institute for Plant Nutrition and Soil Science  
University, Olshausenstr., 23 Kiel / Germany (FRG)

Abstract

Although many relationships between fertilization and food quality are rather well known, there are still contradictory views as to the influence of fertilization levels on plant components or due to neglected consideration of side-effects or toxic substances of fertilizers. In addition, the analysis of quality components alone cannot give a final answer to the 'quality effect' of fertilization. The decisive test has to include the nutrient status of man or animal indicated by medical indices, but such experiments are rather scarce and partly contradictory. It is not surprising, therefore, that the gap is filled by philosophical and statistical speculations on the production of high quality food.

In this review some examples of critical reassessments of quality experiments and summarizing statements are presented. Even in spite of some indeterminacy necessarily involved in food production, it seems nowadays possible to draw a fairly conclusive picture of the relationship between fertilization, plant nutrient status, food quality and human or animal health.

Introduction

Although many relationships between fertilization and food quality (as measured by plant composition or medical indices) are rather well known, there are still different or even contradictory views, all derived from apparently reliable experiments. Firstly, the same fertilization with a plant nutrient can show quite different effects on the contents of plant quality components. However, most of these discrepancies can be explained

and eliminated by taking into consideration the plant nutrient status and/or some overlooked side-effects of fertilization. Secondly, the influence of a certain system of fertilization on the human or animal health (as measured by medical indices) is still a matter of controversy, not only among people speculating on the basis of different philosophical backgrounds, but also among scientists, because some experiments on food quality are sometimes lacking experimental quality as well as critical interpretation.

With this review it is intended to clarify the situation as far as possible with the present knowledge.

#### A. Influence of fertilizers on quality components of plants

##### a. Discrepancies due to neglect of plant nutrient status

It is convenient and customary to relate directly the amounts of fertilizer applied with the resulting change in the contents of the quality substances investigated. A typical example would be the following:

- increasing amounts of fertilizer give increasing yields,
- the contents (concentrations) of the quality substance investigated increases as well.

This picture, however, is only valid if the nutrient content of the substrate (soil) can be neglected. Otherwise, i.e. if the substrate itself supplies an unknown quantity of nutrients, quantitative differences of the effect or even discrepancies with a reversed trend are not surprising. In order to obtain a coherent conclusion it would be advisable, therefore, to take into consideration the nutrient status of the plants investigated. A model example for the relation between nitrogen supply and content of nitrogen quality compounds is given in Fig. 1.

##### b. Inaccurate or misleading results due to overlooked side-effects

A second cause for misinterpretation of 'quality experiments' is the neglect of side-effects of fertilizers. Only a few fertilizers really consist of single nutrients and act only in one direction. Most fertilizers, however, contain by-products and/or produce secondary effects, i.e. they actually have a very complex action. Therefore, their multiple effects must not be overlooked for the interpretation of the results.

Examples are listed in the following synopsis.

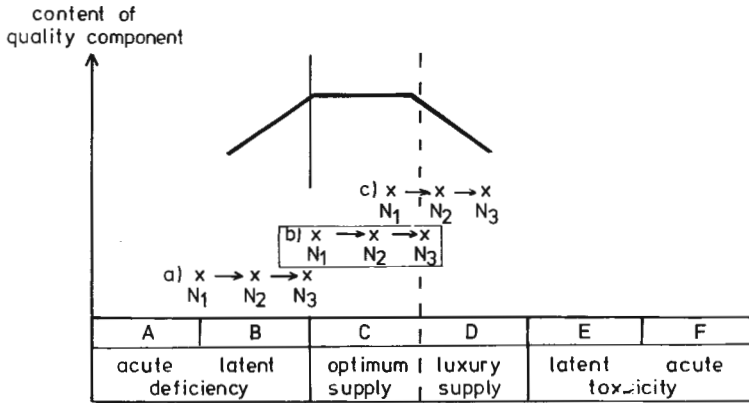


Fig. 1: Model curve of relation between plant nutrient status (achieved by different fertilization) and quality components (3 levels of 3 nitrogen dosis indicated)

#### Possible effects of by-products of fertilizers on food quality

Positive → additional nutrients:

- with N as chile saltpeter: boron etc.
- " P as superphosphate: sulfur, calcium
- " K fertilizers (usual): chloride or sulfate  
(effect depending on plant)

negative → toxic by-products:

- with P-fertilizers: cadmium (limit in Japan= 1,5 ppm Cd/% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)
- with town-wastes: heavy metals (limit for twon sludge in ppm: Cd = 20, Cr = 1200, Hg = 20 etc.)
- with leader powder: chromium (limit = 0,8 % Cr).

It is quite possible, therefore, that a pronounced positive effects is accompanied by a hidden negative effect which is not observed and therefore not mentioned.

The influences due to by-products are generally not difficult to eliminate and thus offer not fundamental problem.

On the other hand, greater problems are involved in the hidden secondary effects of apparently straight-forward acting well-defined fertilizers. Mostly, in the case of urea or ammonium nitrate application, only a nitrogen effect will be postulated. This assumption, however, can be misleading since these N-fertilizers not only improve the N-status of plants but also the supply of some micronutrients due to the accompanying acidification of the soil (Fig. 2). The mobilization of e.g. manganese and zinc by acid-acting N-fertilizers can be of such an extent that the quality improvement, which is conventionally solely ascribed to a better nitrogen supply, is sometimes in fact a combined effect including a better supply of some micronutrient. It is thus obvious that side-effects have to be taken into account for an accurate and not-misleading interpretation.

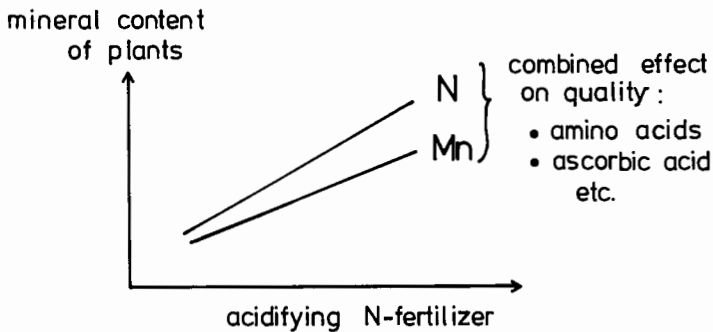


Fig. 2: Multiple effect of acidifying N-fertilizer on quality  
(after SCHNUG und FINCK, 1982)

### c. Summarizing results

With the present knowledge the following rules can be established for the influence of fertilizers on quality components (for nutrient contents of plants corresponding to supply ranges A - E see FINCK, 1982):

- improving the plant nutrient status from light deficiency (range B) to optimum supply range (C) usually increases the concentration of the quality components concerned; the same is true for improvement from the range of strong deficiency (A), but in this case the dilution effect due to heavy growth increase may compensate the percentage increase,



- increasing nutrient supply within the optimal range usually has no effect (but sometimes causes still further improvement),
- increasing nutrient supply from the optimal range to luxury supply may lower the quality in some cases but not in others; as an example for the latter, it may be mentioned that the contents of the added nutrient will, of course, increase furthermore which may be of advantage in some cases e.g. with copper fertilization (higher Cu-contents being required for highly milking cows than for maximum grass yield),
- extreme increase of nutrient supplies up to the toxic range clearly lower the quality. These rules are illustrated in Fig. 3.

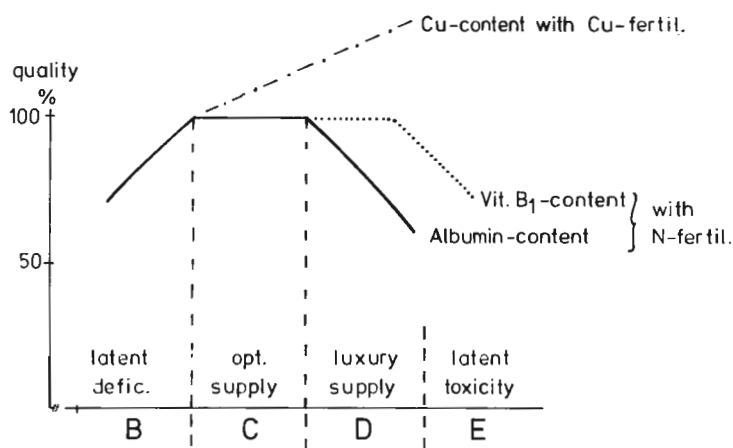


Fig. 3: Influence of the degree of nutrient supply on quality index (model)

The influence of increasing N-supply on quality components is shown in Fig. 4.

N-containing compounds etc.	N-supplies to plant			
	deficiency A	optimal supplies B C	luxury consumption D	
crude protein in leaves, kernels, etc., prolamine (gluten) in kernels	[Diagram: A trapezoid that widens from left to right, representing an increase in crude protein content as N-supply increases.]			
crude protein in leaves, kernels, etc., albumin in kernels	[Diagram: A trapezoid that narrows from left to right, representing a decrease in albumin content as N-supply increases.]			
amides in leaves	[Diagram: A trapezoid that narrows from left to right, representing a decrease in amide content as N-supply increases.]			
biotic value	[Diagram: A trapezoid that widens from left to right, representing an increase in biotic value as N-supply increases.]			

Fig. 4: N-supplies to plants and quality characteristics  
(widening signifies increase)

The special problem of unwanted high nitrate contents in vegetable leaves (ranging from less than 100 ppm to more than 5000 ppm of  $\text{NO}_3$  in fresh matter) can only be mentioned here. Overfertilization is certainly part of the causes for the very high nitrate contents and should thus be avoided (Tab. 1).

Tab. 1: Recommended and exceptional actual N-fertilization of some vegetables for high yields

vegetable	yield t/ha	recommended fertiliz. kg N/ha	exceptional actual fertiliz. kg N/ha
spinach	20	80 - 100	150 - 200
white cabbage	60	200 - 250	} 400 - 500
celery	30	150 - 200	

The following synopsis summarizes some effects of increasing P-supply on quality components.

Some effects of improved P-status of plants on food quality  
(increase from latent deficiency to optimum supply)

increase of contents:

↑  
total-P of leaves and straw  
phythin of grain  
crude protein of leaves  
essential amino acids of kernels  
pigments: carotin, chlorophyll  
vitamin B<sub>1</sub> (thiamin)

no influence on contents:

phosphatides  
vitamin C

decrease of contents:

↓  
oxalic acid of leaves  
coumarin of grass,

These summarizing conclusions can be drawn for the effect of fertilization on plant quality components:

1. Fertilization with plant nutrients

- increases food quality as long as it improves the plant nutrient status
- may decrease food quality if plants are fed to luxury supply or even more

2. Evaluation of fertilizer effects on food quality should consider

- by-products (other nutrients or toxic substances)
- side-effects (positive or negative),

B. Speculations on fertilizer influence on food quality

Due to the longlasting incompleteness and inconsistency of the scientific theory of fertilizer influence on food quality, it has been tried to bridge the gap in knowledge by speculations. Apparently the philosophical theory of naturalism offers a useful concept which is assumed to apply to human food as a natural product: "What is natural, is good; what is unnatural and artificial is bad". From this point of view it is obvious that food produced with natural fertilizers (e.g. farmyard manure, compost) is considered good and valuable, while food produced with (additional) artificial fertilizers (synthetic mineral fertilizers) is considered inferior (less valuable). The logic of this argument seems quite obvious and plays a role especially with consumers who are close to nature.

Against this it might be argued that naturalism belongs to the imperfect theories of the ethics and is, moreover, incorrect in this form. One of the characteristics of human evolution is the striving to change nature in its original form and if possible to improve it. Neither is "natural" food always of full value; wild-growing plants may contain little valuable or even harmful substances.

But even within the sphere of naturalism one could find positive arguments for mineral fertilization. Phosphate and potassium fertilizers clearly are natural products from crude-phosphate or salt deposits, only slightly pro-

cessed or converted into forms better utilizable by plants. On the other hand, nitrogen fertilizers are largely synthetic artificial products. Their possible negative influence cannot thus be disclaimed in general, but should be estimated on the basis of their substance. The substance of natural and artificial fertilizers could differ in two aspects: with regard to plant nutrients and with regard to fertilizer composition. Even fully synthetic N-fertilizers contain nitrogen in a form absorbed by plants at their natural sites (mostly nitrate) or in a bonding form yielding nitrate after reaction in the soil. It must be assumed from our present state of knowledge that synthetic nitrate is completely identical with nitrate derived from humus. For additional speculations postulating such differences due to a special 'life-force' there is no proof whatsoever.

However, what about possible differences in the composition of natural and synthetic fertilizers? It is claimed by the adherents of the so-called 'biological-dynamic theory' that natural fertilizers form a unity that cannot be replaced by artificial mixtures of substances (KOEPP et al., 1974). However, whereas there seems to be no basis for this assumption, it must be admitted that an essential difference between many natural and synthetic fertilizers is the degree of their purity. Farmyard manure contains not only nitrogen but also provides many necessary plant nutrients, whereas e.g. synthetic ammonium nitrate is essentially a pure chemical. Although the trend towards increased purity of fertilizers is no justification at all for considering them to be harmful, it could lead to a possible one-sidedness in fertilization.

Furthermore, the differences between slowly and quickly acting fertilizers has to be taken into account. On unbuffered soils with a small transformation capacity the quickly acting fertilizers may result in a temporary unwanted surplus of plant nutrients - a fact which is of minor importance on well buffered soils with active soil life.

Statistical speculations seems to offer another possibility to evaluate the fertilizer influence on food quality. For example, it must be admitted that there is a strong correlation between increased fertilization levels and the increasing incidence of certain diseases (e.g., cardiac and circulatory disturbances). Mineral fertilization could therefore be the cause of this increased incidence by way of inferior nutrition. However, a causal

interpretation of such correlation shows that they are largely fictitious, meaningless and often misleading. Mostly the postulated relationships are only synchronous functions of time. Mineral fertilization may be related to both increased and reduced incidence of certain diseases. Direct deductions would in either case be a gross violation of the rules of scientific research.

From other statistics (WIRTHS, 1969) it seems to be apparent that the increase of fertilizer application and decrease of vitamin B<sub>1</sub> contents of grain food coincide during the last 50 years. This is surely a significant fact, since thiamine requirements of the population are only covered to less than 80 %. However, it is inadmissible to ascribe this mainly to increased mineral fertilization. Precisely in the case of vitamin B<sub>1</sub> it is obvious that its content in the food produced (being in fact rather high in grain kernels) is reduced by "refining", i.e. separation of the flour from the bran that is rich in valuable substances. This results in a low concentration of vitamin B<sub>1</sub> in fine bread that is mostly consumed.

Speculations about the possible negative effects of mineral fertilizers on food quality must be very critically examined. There is no logical reason why mineral fertilizers should "in principle" have detrimental effects because of their "artificial" origin or synthetic components.

As for the speculations about the superiority of a certain cropping system (be it called 'biological' or have other fancy names), the following conclusions seem to be justified:

1. A particular production system by itself does not in principle ensure a higher quality of vegetal products,
2. "Alternative" agriculture as such provides neither better nor worse produce than conventional agriculture,
3. A superiority of so-called 'natural' organic fertilizer cannot be postulated and there is no indication, to say nothing of proof, that special preparations with unknown effects can improve the quality,
4. The advantage of some production systems lies in certain quality checks,
5. Complete checks of vegetal production with a comprehensive diagnosis during plant growth have not yet been realized in any field production system; this, however, would be the real alternative agriculture of the future.

### C. Influence of fertilization on human and animal health

Since about 40 years several experiments have been conducted in order to clarify the influence of fertilization on human and animal health. They can be divided in two groups:

- effect of mineral versus organic fertilizer on food quality (as measured by medical indices)
- effect of different fertilizer levels on food quality.

As to the first group, the historic standard experiments are those of SCHEUNERT (1935) and CATEL (1938, 1949). The experimental procedure consisted in comparing food produced in soil plots either with farmyard resp. compost or with additional mineral fertilizer. The food was then fed to different groups of rats resp. small children and several medical indices for health were compared (Fig. 5).

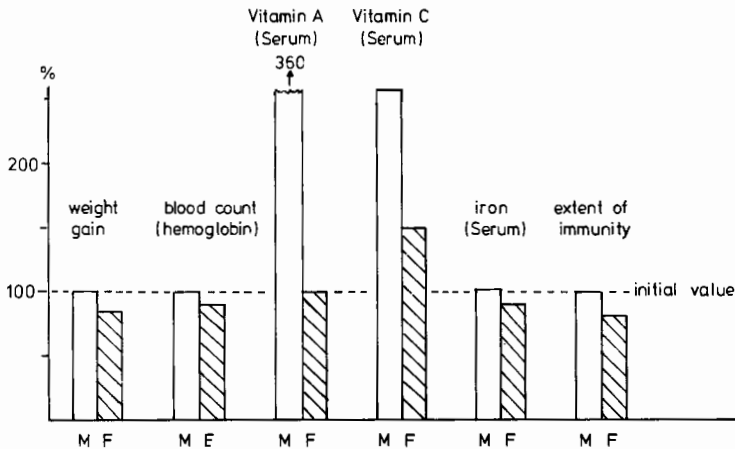


Fig. 5: Influence of varying fertilization of food plants on health of infants (M = mineral fertilization and farmyard manure, F = farmyard manure) (according to CATEL, 1949)

Both trials indicate that mineral fertilization rather improves food quality and health, but at least does not lower it. Similar results were obtained in a more recent trial (SCHUPHAN, 1976).

It must be pointed out, however, that this conclusion (although being probably correct) is not entirely convincing. A clear distinction between influence factors is unfortunately lacking in the experiments (farmyard manure is partly applied to both kind of plots). Furthermore, the soil as a source of nutrients or as fertility transformator is not excluded. A comparison with plants exclusively grown on synthetic nutrient media (hydroponics) would be best.

More modern experiments of this type are somewhat contradictory. Rabbits were fed with carrots (produced by mineral or organic fertilization) and their fertility indices observed (Tab. 2).

Tab. 2: Effect of differently fertilized food on fertility indices of rabbits (AEHNELT und HAHN, 1973)

fertilization	egg cell Ø per animal		% fertile eggs	
	carrot	kohlrabi	carrot	kohlrabi
a. mineral fert.: 300 kg/ha N	4.8	.	37	.
b. " " : 225 kg/ha N	.	4.6	.	18
c. " " : 100 kg/ha N	5.7	.	52	.
d. organic (biol.-dyn.) fert.	11	5.6	52	83

apparent result: organic fert. better than mineral fert.

The conclusion, however, was quite different from those of the before mentioned workers. The fertility of the rabbits with no mineral fertilization (food production by the so-called 'biologic-dynamic' cropping) appeared to be superior to that of those produced with mineral fertilizers. The lowest quality was obtained with the highest nitrogen rate (300 kg/ha). Critically considered, however, this results obtained by veterinary experts (and formulated only as a preliminary one) appears quite questionable. Firstly, the quality decrease obtained with the very high N-dosis must be considered as the result of overfertilization and therefore disregarded in

this respect. Secondly, the carrots were produced in two different soil areas which makes them hardly comparable. Furthermore, the plant composition is not indicated, extra food was given to all animals and only 4 animals were used per group. Although other experiments as well seem to indicate a superiority of organic manuring vs. mineral fertilization, similar critical remarks must be applied.

The influence of different levels of combined NPK-fertilization (nitrogen, phosphorus and potassium), as in common fertilizer practice, was investigated by

- comparing the fertility of cows of intensively or extensively utilized farms,
- comparing the fertility of rabbits after fed with hay-food of different fertilization levels (Tab. 5).

Due to the experimental design of very different qualitative levels, the results range from the demonstration of a positive influence of high fertilization level on the fertility data (MAERKLIN, 1971) to the conclusion of a negative influence (HAHN und LENGAUER, 1973) or some vague statements in either direction.

Tab. 5: Effect of intensive and extensive fertilization on fertility of rabbits  
(comparison of 3 farms in Austria) (HAHN and LENGAUER, 1973)

fertilization	fertilization kg/ha			content in grass (dry matter)				fertility indices		pH (soil)
	N	P	K	protein %	P o/oo	K o/oo	Mn ppm	weight of ovary mg	number of egg cells	
a. intensive	285	36	282	7,7	4	27	54	128	6	6,8
b. intensive	283	105	197	10,4	7	15	58	144	3	5,7
c. extensive	27	5	21	12,4	8	18	375	233	9	4,7

apparent result: extensive fert. better than intensive fert.

A more close investigation into the experimental details generally reveals a lack of scientific prerequisites in several experiments, but especially in those those showing a negative (Tab. 5) or no definite influence of



normal fertilization levels.

For example, the results of Tab. 5 are obtained from three different farms with different soils; extensive fertilization means that this happened only this year (in contrast to the year before); in addition, animals with 'extensive' fertilized food were given additional fodder, etc.

Summing up this chapter of some controversial experiments, it must be stated that (although in view of difficulties encountered hardly anyone is entirely convincing) it is only logical to put the emphasis on those with the more scientific basis (so more so since their results are more in agreement with the generally accepted theory). It would be desirable, nevertheless, to conduct really decisive experiments in the future - preferably in cooperation of agricultural chemists and medical experts.

The following final conclusions can be drawn from the evidence presented in this and other information on fertilizer influence on health:

1. No superiority of organic over mineral fertilizers can be established (as to be expected).
2. Increasing rates of fertilization have positive effects on medical indices of man and animals (as long as the food value is improved).
3. A certain system of food production does not guarantee better food quality as such (even if given fancy names like 'natural' or 'biological').
4. All kinds of fertilizers, if properly applied, can improve food quality.
5. Even if food production as a primary production still implies some indeterminacy, high quality food is normally produced together with high yields.

#### Literature

(further citations see Nr. 3)

1. Aehnelt, E., und Hahn, J.: Fruchtbarkeit der Tiere - eine Möglichkeit zur biologischen Qualitätsprüfung von Futter- und Nahrungsmitteln? Tierärztl. Umschau 4, 155f., 1973.

2. Catel, W.: Über den Einfluß der Verfütterung verschieden gedüngter Nahrungspflanzen auf das Gedeihen von Säuglingen. Landw. Forschung 1, 220-223, 1949.
3. Finck, A.: Fertilizers and fertilization. Verlag Chemie, Weinheim & Deerfield Beach, Fla. 1982.
4. Hahn, J., und Lengauer, E.: Kaninchenversuche zum Nachweis sexualaktiver Stoffe in intensiv gedüngtem wirtschaftseigenem Futter. Landw. Forschung Sond. 28/II, 228-235, 1973.
5. Koepf, H., et al.: Biologische Landwirtschaft. Eine Einführung in die biologisch-dynamische Wirtschaftsweise. Ulmer, Stuttgart 1974.
6. Maerklin, T.: Über den Einfluß von Fütterungsfaktoren auf die Fruchtbarkeit von Kaninchen unter besonderer Berücksichtigung des histologischen Aufbaues der Fortpflanzungsorgane. Dissertat. Hannover, 1971.
7. Scheunert, A., et al.: Ober die Wirkung fortgesetzter Verfütterung von Nahrungsmitteln, die mit oder ohne künstlichen Dünger gezogen sind. Biochem. Zeitschr. 274, 372-296, 1934.
8. Schnug, E., and Finck, A.: Trace element mobilization by acidifying fertilizers. Proc. 9th Int. Plant Nutr. Coll., Warwick UK 1982.
9. Schuphan, W.: Mensch und Nahrungspflanze. Der biologische Wert der Nahrungspflanze in Abhängigkeit von Pestizideinsatz, Bodenqualität und Düngung. Junk, The Hague 1976.
10. Wirths, W.: Ernährungsbericht. Deutsch. Ges. f. Ernährung, Frankfurt 1969.

Joint Congress of the X International C I Q and XVIII German  
D G Q  
Society of Quality Research

PLANT FOOD AND HUMAN HEALTH

6 th to 8 th September  
1982

THE EFFECT OF DIFFERENT LEVEL OF SOIL'S PHOSPHOROUS,VARIOUE  
ROOTSTOCKS AND PARENTS CVS ON NUTRITIONAL CONTENTS IN FRUITS  
OF PLUM,PEACH AND APRICOT

Staniša A.Paunović  
Agronomic Faculty  
Horticulture Department  
32000 Čačak  
Yugoslavia

Milić Bojić and Radunka Plazinić  
Fruit Research Institute  
32000 Čačak  
Yugoslavia

Chr.-Albrechts-Universität  
Kiel  
Federal Republic Germany

THE EFFECT OF DIFFERENT LEVEL OF SOIL'S PHOSPHOROUS, VARIOUS  
ROOTSTOCKS AND PARENTS CVS ON NUTRITIONAL CONTENTS IN FRUITS  
OF PLUM, PEACH AND APRICOT

Staniša A. Paunović  
Agronomic Faculty  
Horticulture Department  
32000 Čačak  
Yugoslavia

Milić Bojić and Radunka Plazinić  
Fruit Research Institute  
32000 Čačak  
Yugoslavia

Abstract

During the five years of investigation the effect of two different level of soil's AL soluble phosphorous (Ps) were not show significant influences on the contents of glucose, fructose, saccharose, dry matter, total acids and pH in fruits of plum cv Požegača on plum cv Petrovača, except in some years of study. In some year were significant influenced by the level of  $Ps_1$ -1-2 mg  $P_2O_5$  and in other ones by amount of  $Ps_1$ -18-25 mg  $P_2O_5$ . These influences we could not impute as a results of physiological phosphorous (Ps and  $Ps_1$ ) but as consequence of influences of all kind of mineral phosphorous (Pm) which amount in the soil for  $Ps$ -130-170 mg  $P_2O_5$  and for  $Ps_1$ -210-320 mg  $P_2O_5$ , including many other control or uncontrol factors.

Various 33 plums and 17 peach rootstocks studied have show that between them there are such rootstocks which, complete or partly, influence to obtain significant higher amount of nutritional contents in fruits of plum cv Požegača or peach cv Red haven and cv Collins and vice-versa. Fruits of peach Red haven there are higher amount of nutritional contents on leached smonitza and hill than on the same rootstocks and alluvium soil.

Apricot genotypes play a great role in the breeding and selection because of them depends the number of a new hybrids which could have higher amount of nutritional contents in the fruits (complete or particular substances).

Introduction

The investigation of the effect of different level of soil's AL soluble phosphorous on nutritional contents in fruits of plum cv Požegača are of special economic, practical and theoretical importance because of exceptional economic value of these prune in

our fruit growing, and especially in plum production. Similar to this importance we have studied the effect of various rootstocks and apricot parents on nutritional contents in fruits of plum cv Pože-gača, peach medium ripening cv Red haven and early ripening cv Collins, and apricot hybrids and selections.

The objective of these studies was to find out a suitable level of soil's phosphorous, convenient rootstocks for the mentioned cvs and good hybrids and selections to provide not only high and stable yields, but good fruit quality with high nutritional contents, with particular substances of need for human health.

Only a few investigators worked on the problem of the effect of various rootstocks on fruit quality of plum cv Pože-gača in Yugoslavia (Paunović et al., 1968., Paunović, 1978), whereas there are no data concerning soil's phosphorous, various plum and peach rootstocks for peaches and then apricot hybrids (Paunović and Flazinić, 1981). The same is abroad (Cernijseva, 1964., Coppens and Hondt, 1962).

### Material and Methods

For the effect of different level of soil's phosphorous on nutritional contents in fruits were used as plant material plum cv Pože-gača (syn.: Hauszwetsche) budded on local plum cv Petrovača and was grown in the heavier soil under two level of soil's AL soluble phosphorous:  $Ps_0$  at surface soil's level 1-2 mg  $P_2O_5$  but deeper less than 1 mg  $P_2O_5$  and  $Ps_1$  at surface soil's level 18-25 mg  $P_2O_5$  and deeper 10-15 mg  $P_2O_5$ . All kind of mineral phosphorous amount in the soil for location  $Ps_0$  130-170 mg  $P_2O_5$  and  $Ps_1$  210-320 mg  $P_2O_5$ . At the beginning of this work the trees were 20 years old (1970-1974). The tree spacing was 6.5 x 6.5 m.

For the effect of different rootstocks on nutritional contents in fruits were used plum cv Pože-gača budded on 18 plum cvs rootstocks as follows: Myrobalan No 1, No 2, No 4, No 9, Pože-gača suckers, Crnošljiva suckers, Trnavksa suckers, Piskavac seedlings and suckers, Cerovački piskavac suckers, Petrovača suckers, Crvena ranka seedlings and suckers, Metlaš seedlings and suckers, Mirisavka and Belošljiva seedlings and Pože-gača suckers unbudded and was grown on brown soil in the process of leaching. At the beginning of this work the trees were 15 years old (1965-1967 and 1968-1970). The tree spacing was 6.5 x 6.5 m.

Peach cv Red haven were budded on six peach selections or cvs: No II/4, No IX/9, No IX/12, No X/1, Wild Rose, Yellow June and on six plum cvs: Stanley, Green Gage, Marunka, Wangenheim's Frühzwetsche, Crvena Ranka, Crnošljiva and was grown on heavier leached smonitza soil, as well as the same peach cultivar Red haven were budded on five peach cvs: local "Vineyard" peach, Shipper's Late Red, Rutgers Red Leaf, Elberta, Veteran and on five plum cvs: Stanley, Petrovača, Crvena Ranka, Crnošljiva, Ilinjača and was grown on alluvium soil. Beside this peach cultivar we have investigated peach cv Collins budded on six peach cvs: local "Vineyard" peach, Shipper's Late Red, Rutgers Red Leaf, Elberta, Veteran, Red Skin and on four plum cvs: Crvena ranka, Crnošljiva, Ilinjača, Petrovača and was grown on the same alluvium soil as Red haven. At the beginning of this work the all investigated trees of Red haven and Collins were five years old (1969-1971). The tree spacing was 5 x 4 m.

For the effect of different parent cvs on nutritional contents in fruits of obtained hybrids and selections were used: No IV/18 (Kecs - kemeter Rose x Phelps), N V/17 (Kecs kemeter Rose x Phelps), N IV/148 (Henderson x/Local cv x Kecs kemeter Rose/), No XIX/37 (Henderson x /Local cv x Ambrosia/), No XXI/81 (Henderson x Kecs kemeter Rose), No XI/68 (California x Japan's Early), No XIII/10 (California x Japan's Early), No XV/16 (California x Japan's Early), No XV/35 (California x Japan's Early), No XIX/20 (California x Hungarian Best), No V/24 (o.p. Japan's Early), No V/29 (o.p. Japan's Early), No V/62 (o.p. Čačak's flat), No VI/11 (o.p. California), No VI/27 (o.p. California), No VI/28 (o.p. Čačak's Gold), No VI/40 (o.p. Local cv x Ambrosia) and No I/19/63 (Čačak's Gold treated by 1500 r). At the beginning of this work the mother trees were five years old. The tree spacing was 3 x 1 m.

Each studied cvs on mentioned rootstocks was represented by 3-6 trees, replicated 3 to 4 times, comprising a total of 9 - 18 trees.

The study was made during three or five years of the following properties: invert sugar, glucose, fructose, saccharose (by chromatographic paper combined with spectrophotometric "Beckman M 24"), total sugar, total acid (in malic acid, titration by n/10 NaOH), soluble matter (refractometer "Zeiss"), dry matter, pH (pH meter). Except these, were studied 15 more characters, including fruit size and yields.

## Results and Discussion

### Plum cv Požegača and soil's phosphorous

The data presented in Table 1 indicate that two investigated level of soil's AL soluble phosphorous have no any significant effect in fruit yields and practically no in other cases as annual growth of trunk, length of shoots and fruit weight of cv Požegača on plum cv Petrovača, except in some years of study. For example, the higher level of soil's phosphorous ( $P_2O_5 = 18-25$  mg) was shown significant (1970 and 1974) to very significant (1974) influence on growth of trunk and shoot length, while lower level of soil's phosphorous ( $P_2O_5 = 1-2$  mg) have had significant effect on fruit weight in 1972.

Different two level of soil's phosphorous, also have no any significant effect in fruits on content of glucose and practically no on contents of saccharose, total acids and pH, as well as with fructose and dry matter except in some year of investigation (Table 2). The behaviour of fructose was different in 1970 and 1971 in relation to level of  $P_2O_5$ . So, 1970 in the fruits of Požegača the content of fructose was much higher on tree grown under higher level of soil's phosphorous (18-25 mg  $P_2O_5$ ), but 1971 that was on tree grown under lower level of soil's phosphorous (1-2 mg  $P_2O_5$ ). Similar to this were also with dry matter in 1973 and 1974. Some significant differences was shown between two level of soil's phosphorous with saccharose in 1974, total acids in 1970 and pH in 1971 where higher level of soil's phosphorous have had more influence than lower level of  $P_2O_5$ .

Speaking in general, during the five years period of investigation no one of the two different level of soil's phosphorous were not show, year by year with the same character some expressive significant differences and specially to be of practical importance. However, in some year of investigations was significant to very significant differences in the effects between the two different level of soil's phosphorous on the growth, fruit weight or on nutritional contents in fruits of Požegača (Table 1 and Table 2).

The results of our investigations about the effect of different level of soil's phosphorous on growth and yields are very like to the obtained results by Liverant (1955), Delmas et al (1958), Bakr et al (1962), Sanwand (1963), Pavićević (1966) and Bojić (1973). However, we have no possible to compare our results about the effect of different level of

soil's phosphorous on glucose, fructose, saccharose, total acids, dry matter and pH in the fruits of plums since such data are not available, except in orange where phosphorous have no influences on fruit weight, soluble matter, total acids and pH (Reuther et al., 1949).

The outstanding influences in some year higher or lower level of soil's phosphorous on some plum tree or fruit characters (Table 2 and Table 2) could not be connected as a results of physiological phosphorous ( $P_s$  and  $P_{s_1}$ ) but as consequence of influence of all kind of mineral phosphorous which amount in the soil for  $P_s = 130-170$  mg  $P_2O_5$  and for  $P_{s_1} = 210-320$  mg  $P_2O_5$ , including many other control or uncontrol factors which may have influence on it (soil's moisture, climate condition, etc).

#### Plum cv Požegača on different rootstocks

According to the data obtained by Paunović et al. (1968) were not shown significant differences in content of glucose, saccharose, total acids and soluble matter in the fruits of Požegača on 18 investigated rootstocks (Table 3), except some less differences in contents of fructose and pH.

Significant differences of content of fructose appear in fruits of Požegača budded on Cerovački piskavac sucker, Petrovača, Trnavska and Crnošjiva sucker. The fruits of Požegača on the mentioned rootstocks have had a less percent of fructose (1,56-1,69 %) in relation to fruits of Požegača on other rootstocks (1,79 - 2,44 %).

Comparing the investigated rootstocks in relation to control (Požegača sucker unbudded), can point out some phenomenon which is of theoretical or practical importance.

Between the sucker or seedling of the same rootstock have no significant differences in the effect on the nutritional contents in fruits of Požegača, where Piskavac has shown the most equalize, some less Crvena Ranka and poor Metlaš.

Fruits of Požegača on local plum Prunus domestica L have some less nutritional contents than fruits of control trees.

Fruits of Požegača on selected seedlings of Prunus cerasifera var. Myrobalan have had some more nutritional contents (No 4) or close it to the control (No 1, No 2 and No 9).

It was recognized the tendency of correlative relationship between



fruit size and contents of sugar and acid. With increase of fruit size in them is increase content of sugar as well as acid and vice versa. (Požegača sucker unbudded and Myrobalan No 4).

The level of sugar, acids and soluble matter in fruits of Požegača on all investigated rootstocks are ranged in within bounds of known value (Paunović et al., 1956., Majstorović, 1963., Vavra, 1963., Pantelić, 1965., Paunović, 1978).

Peach cv Red haven on different rootstocks

a) Leached smonitza

Data in Table 4 have show that the amount of invert sugar in fruits of Red haven was similar on different rootstocks, except on selected peach rootstock No IX/9 and No IX/12 where were much higher i.e. very significant to significant differences in relation to other studied stocks. The amount of saccharose and total sugar are very variable between rootstocks and its contents in the fruits were the highest on Marunka plum and the lowest on peach selection No X/1, with similar order on other investigated rootstocks. Also, total acids and soluble matter was different between rootstocks, so total acids was the highest in fruits on the peach cv Wild Rose and the lowest on plum cv Crvena Ranka and soluble matter the highest on peach No IX/9 and the lowest on the peach No X/1 (Table 4).

Comparing the nutritional contents in the fruits of peach Red haven on the peach and plum stocks we can recognize some role with total acids only i.e. that fruits of Red haven there are, in general, some more total acids on peach cvs or peach selections than on plum cvs. In other cases, invert sugar, succharose, total sugar and soluble matter are differ, disregarding on to budded peach or plum rootstocks, but some number of rootstocks made a group on top with more or less similar or good enough amounts of nutritional contents in the fruits of Red haven, as follows:

Peach : No IX/9 and No IX/12.

Plum : Marunka and Wangenheim's Frühzwetsche

Red haven on peach selection No IX/9, No IX/12 and Yellow June are more or less dwarf, while on other peach rootstocks are much more vigorous on the investigated leached smonitza soil.

Red haven on plum cv Crvena ranka is very dwarf because of incompatibility, on Wangenheims are dwarf, on Marunka and Stanley are dwarf

to medium and Crnošljiva and Green Gage are more or less vigorous or better to say that with plum cvs have no full compatibility as with peach cvs, but good enough to grow and to bear fruits and yields. The peach fruits on plum rootstocks in relation to peach stocks are ripen a several days to one week earlier, give better fruit size and skin colour.

#### b) Alluvium soil

It can be seen from the data in Table 5 that obtained results of nutritional contents in the fruits of Red haven budded on five peach cvs and five plum cvs are very similar to the results obtained with Red haven on 12 peach and plum rootstocks and grown on leached smonitza, except the level of nutritional contents which was significant to very significant less in the fruits of Red haven on alluvium soil. Beside the effect of the soil, could be include the perfect location on the hill and 120 meter more high above sea level than experimental orchard on alluvium soil (242 m/a.s.l.).

From the investigated rootstocks the good enough was shown within the peach cvs: Veteran, local "Vineyard" peach, Elberta, Rutger's Red Leaf, and Shipper's Late Red and plum cvs: Crnošljiva.

#### Peach cv Collins on different rootstocks

This early peach cv were grown on the same peach and plum stocks, plot and alluvium soil as Red haven (Table 5 and Table 6). The obtained results was shows significant to very significant differences in contents of invert sugar, saccharose and total sugar and much less differences in total acids in fruits of peach cv Collins on various rootstocks (Table 6).

Of all investigated rootstocks the peach cv Elberta and Rutger's Red Leaf and plum cv Crnošljiva were the best as rootstocks for the nutritional contents in the fruits, but for the other characters as bearing, yields, fruit size and others could be include also peach cv Shipper's Late Red, Veteran and local "Vineyard" peach. It is interesting to point out that in the fruits of peach cv Collins on local "Vineyard" peach there are, with some exception, the lowest level of nutritional contents in relation to other studied rootstocks (Table 6). Peach local "Vineyard" is the most important and used as rootstock in Yugoslavia and in many countries in Europe.

### Parent cvs and their hybrids

In this section we want to express a general view only of the effect of parent cvs on nutritional contents in the fruits of obtained hybrids and selections (Table 7).

Data in Table 7 have show that within the same apricot parent combinations as California x Japan's Early or Keczkemeter Rose x Phelps, or within open pollination of apricot Japan's Early, California, Čačak's Gold there are hybrids or selections which are significant different between them in the amount of nutritional contents in the fruits.

Glucose were the highest with three different genetic source (California No VI/27., Keczkemeter Rose x Phelps No IV/18 and Čačak's Gold treated by  $^{60}\text{C}$  1500 r No I/19/63); fructose with two (Keczkemeter Rose x Phelps No V/17., California x Japan's Early No XV/16); saccharose with four (California x Japan's Early No XV/16, No XV/35., o.p. California No VI/11, o.p. Japan's Early No V/29, o.p. Čačak's Gold No V/62) and dry matter were the highest with three genetic source (Čačak's Gold treated by  $^{60}\text{C}$  1500 r No I/19/63, o.p. Čačak's Gold No V/62 and California x Hungarian Best No XIX/20). These results have show that the programme of the creation of a new apricot cvs i.e. fruit tree cultivars should include more attention on particular substances of nutritional contents in the fruits as glucose and fructose and others too depend on need for human health.

### Summary

On the basis of the study of the effect of two different level of soil's phosphorous, various 33 plum and 17 peach rootstocks in two location on leached smonitza and alluvium soil and apricot parent cvs on nutritional contents in fruits of plum cv Požegača, peach cvs Red haven and Collins as well as apricot hybrids and selections the following conclusions can be inferred:

1. Speaking in general, during the five years period of investigation no one of two different level of soil's phosphorous were not show, year by year with the same character some expressive significant differences and specially to be of practical importance.

2. The outstanding influences in some year higher or lower level of soil's phosphorous on some plum tree or fruit characters could not be connected as a results of physiological phosphorous ( $\text{Ps}_1$ ),

but as consequence of influence of all kind of mineral phosphorous which amount in the soil for  $Ps_0$  130-170 mg  $P_2O_5$  and for  $Ps_1$  210-320 mg  $P_2O_5$ , including many others control or uncontrol factors which may have influence on it (soil's moisture, climate condition, etc).

3. Plum and peach rootstocks have a large role in the plum and peach production and from them depends the level of nutritional contents in the fruits of budded cultivars. More dwarf rootstock influenced higher level of nutritional contents in the fruits.

4. Between the suckers and seedlings of the same rootstock have no significant differences in the effect on the nutritional contents in the fruits of Požegača.

5. Peach cv Red haven which was grown on alluvium soil have had significant to very significant less nutritional contents in the fruits than on the same rootstocks and grown on leached smonitza and on the hill.

6. The fruits of early peach cv Collins on local "Vineyard" peach with some exception, there are the lowest level of nutritional contents in relation to other studied rootstocks. This rootstock are very wide use in Yugoslavia and in many countries in Europe.

7. According to the nutritional contents or some substances in the fruits were shown as best rootstocks for:

Plum cv Požegača: Požegača sucker unbudded, Myrobalan No 4

Peach cv Red haven: peach-No IX/9, No IX/12 (on leached smonitza soil); Veteran, local "Vineyard" peach, Elberta, Rutger's Red Leaf and Shipper's Late Red (on alluvium soil)

plum- Marunka, Wangenheim's Frühzwetsche (on leached smonitza soil), Crnošljiva (on alluvium).

Peach cv Collins: peach- Elberta and Rutger's Red Leaf and plum cv Crnošljiva (alluvium soil).

8. Parent cultivars have a large role in the creation of some a new hybrids with a significant higher amounts of nutritional content in fruits within the offspring of  $F_1$  generation (Table 7). In the breeding programme should include more attention on particular substances of nutritional contents in the fruits as glucose and fructose and others too depends on need for human health.

References

- Bakr, A., and Tewfic, M., 1962. The response of young plum trees to varying amounts of phosphorous. Proc. XVI I. H. Congress, Brussels, Vol 3.
- Bojić, M., 1973. Seasonal trends of phosphorous in the leaf of plum cv Požeगाča. Thesis magisterium, Zagreb.
- Cernijseva, G. F., 1964. Slow growing rootstocks improve fruit quality. Sadovodstvo, 2:46.
- Coppens, R. D., and De Hondt, J., 1962. A study of the quality and maturity of plum with aid of refractometer. Rev. Agr. Brux. 15:399-401.
- Delmas, J., and Marenaud, C., 1958. Phosphorous nutrition of vines and plum trees in nutrient solution. Ann. Agron. 9:333.
- Liwerant, J., 1955. The importance of deep application of phosphorous and potassium fertilisers in fruit growing. The effect on the growth of young d'ente plum trees. Hort. Abs. 26:364.
- Majstorović, G., 1963. The effect of stages of maturity of fruit Požeगाča on dry prune quality with special attention on changes organic materials during the drying. Hrana i Ishrana. Vol. IV. No 9.
- Pantelić, M., 1965. Prilog proučavanju kretanja sadržaja ugljenih hidrata i organskih kiselina u plodu šljive požeगाče na parapodzolu i opodzoljenoj smonici. Doktorska disertacija, Beograd-Čačak. Nije publikovana.
- Paunović, A. S., and Grković, J., 1956. Prilog proučavanju trajasnosti svežih plodova šljive požeगाče. Arh. za polj. nauke. Beograd. God. IX. Sv. 24.
- Paunović, A. S., Gavrilović, M., and Pantelić, M., 1968. Influence of rootstocks on yields, size and the chemical composition of the fruits of Požeगाča prune cultivar. Acta Horticulturae. Part II, No 10:401-416.
- Paunović, A. S., 1978. The effect of rootstocks on yield and quality of prunes cvs Požeगाča and Stanley. Acta Horticulturae. 74:175-183.
- Paunović, A. S., and Plazinić, R., 1981. The breeding and introduction of new apricot selections. Acta Horticulturae. No 85 Vol. II.
- Pavićević, B., 1966. Uticaj mineralnih hraniva na šljivu požeगाču. Doktorska disertacija, Beograd.
- Sandvad, K., 1963. Manurial trials with cherries and plums. Hort. Abst. 3:33.
- Reuther, W., Gardner, F. E., Smit, P. F., and Wallace, R., 1949. Phosphor fertiliser trials with orange. I. Effect on yield, growth, and leaf and soil composition. Proc. Am. Soc. Hort. Sci. 53:71-84.
- Vavra, M., 1963. Svestky, renklody, slivy, mirabelky. Praha. Vydalo Statni Zemed. Nakld. Spolupraci s Československym Ovocn. Zahrad. Svazem v Praze. 1-170.

Table 1. Effect of different level of soil's phosphorous on growth, yield and fruit weight of plum cv Požegača on plum cv Petrovača, 20 to 24 years old, during 1970-1974.

Nomenclature	Level of $P_2O_5$ (+)	1970	1971	1972	1973	1974
Annual growth of trunk in cm	Ps	1,3	1,5	1,2	1,0	0,9
	Ps <sub>1</sub>	1,9 <sup>+</sup>	1,7	1,1	1,1	1,1 <sup>+</sup>
Total length of 25 one year old shoots in cm	Ps	151,2	174,8	109,2	124,7	166,3
	Ps <sub>1</sub>	154,6	173,1	106,4	121,8	178,0 <sup>++</sup>
Fruit yield per tree in kg	Ps	157,0	24,0	131,0	103,0	176,0
	Ps <sub>1</sub>	169,0	27,0	149,0	105,0	136,0
Average fruit weight in g	Ps	15,7	19,2	16,1 <sup>+</sup>	17,3	14,9
	Ps <sub>1</sub>	15,6	19,3	15,3	17,0	14,9

P 5%<sup>+</sup>  
1%<sup>++</sup>

(+) Ps = at surface soil level 1-2 mg  $P_2O_5$  and deeper less than 1 mg  $P_2O_5$

Ps<sub>1</sub> = at surface soil level 18-25 mg  $P_2O_5$  and deeper 10-15 mg  $P_2O_5$

Table 2. Effect of different level of soil's phosphorous on nutritional contents in the fruits of Požegača on Petrovača rootstock, during 1970-1974.

Nomenclature	Level of $P_{2O_5}$ (+)		1970	1971	1972	1973	1974
	Ps	Ps <sub>1</sub>					
Glucose in %	Ps		5,06	4,95	5,14	5,48	5,36
	Ps <sub>1</sub>		5,14	4,93	5,11	5,06	5,23
Fructose in %	Ps		1,84	2,59 <sup>++</sup>	1,72	2,53	1,38
	Ps <sub>1</sub>		2,24 <sup>++</sup>	2,05	1,66	2,40	1,36
Saccharose in %	Ps		4,64	4,85	4,62	5,45	4,60
	Ps <sub>1</sub>		5,19	4,81	4,73	5,14	5,12 <sup>+</sup>
Total acids in %	Ps		0,82	0,87	0,75	0,86	0,80
	Ps <sub>1</sub>		0,95 <sup>+</sup>	0,88	0,82	0,80	0,79
Dry matter in %	Ps		19,38	18,54	18,14	19,86 <sup>++</sup>	15,49
	Ps <sub>1</sub>		20,06	19,47	18,27	18,00	18,57 <sup>+</sup>
pH	Ps		3,65	3,56	4,00	3,97	3,90
	Ps <sub>1</sub>		3,73	3,75 <sup>+</sup>	3,96	4,00	3,99

P 5 % <sup>+</sup>  
1 % <sup>++</sup>

Table 3. Effect of various plum rootstocks on the nutritional contents in the fruits of plum cv Požegača, during 1965-1967

Plum rootstocks	Glucose in %	Fructo- se in %	Saccha- rose in %	Total acid (in ma- lic) in %	Soluble matter in %	pH
Myrobalan No 1	5,56	2,09	4,80	0,56	21,99	4,02
Myrobalan No 2	5,69	2,01	4,71	0,57	24,24	4,12
Myrobalan No 4	6,21	2,44	4,54	0,65	26,75	4,11
Myrobalan No 9	5,37	1,81	4,58	0,59	23,24	4,02
Požegača sucker	4,79	1,90	4,50	0,60	22,16	3,94
Crnošljiva sucker	5,20	1,66	4,37	0,63	21,19	4,02
Trnavska sucker	5,10	1,63	4,18	0,63	19,33	3,87
Piskavac sucker	5,24	1,85	4,53	0,58	21,25	4,07
Cerevački p.sucker	4,66	1,56	4,04	0,61	19,25	3,96
Cerovački p.seedling	5,11	1,88	4,04	0,59	21,42	3,91
Petrovača sucker	5,34	1,58	4,35	0,59	19,88	3,94
Crvena Ranka sucker	5,32	1,96	4,58	0,59	22,33	3,98
Crvena Ranka seedlin.	5,15	1,84	4,23	0,60	21,00	3,96
Metlaš sucker	5,22	1,82	4,12	0,60	22,42	4,00
Metlaš seedling	4,87	2,00	4,49	0,59	20,50	3,91
Mirisavka seedling	5,22	1,88	4,36	0,57	21,83	3,98
Belošljiva seedling	5,20	2,03	4,24	0,50	21,12	4,00
Požegača sucker un- budded(Control)	5,72	2,14	4,81	0,60	22,16	3,94
L S D 0, 05	N.S.	0,69	N.S.	N.S.	N.S.	0,166
0, 01		0,81				0,201



Effect of various peach and plum rootstocks on nutritional contents in the fruits of peach cv Red haven grown on leached smonitza and alluvium soil, during 1969-1971.

Table 4. On leached smonitza soil

Rootstocks	Invert sugar in %	Saccharose in %	Total sugar in %	Total acid (in malic) in %	Soluble matter in %	pH
<b>P e a c h e s</b>						
Wild Rose	2,26	5,87	8,52	0,70	11,5	3,60
Yellow June	2,27	7,39	9,80	0,63	11,6	3,60
No II/4	1,96	6,21	8,51	0,59	10,9	3,90
No IX/9	3,33	7,53	11,26	0,67	14,5	3,85
No IX/12	2,90	8,41	11,81	0,65	13,3	3,80
No X/1	1,84	5,75	7,88	0,44	10,3	3,95
<b>P l u m s</b>						
Stanley	2,46	7,43	10,28	0,42	12,3	3,85
Green Gage	1,92	7,06	9,46	0,43	11,4	4,00
Marunka	2,54	8,99	11,90	0,49	12,7	3,80
Wangenheims Frühz.	2,10	8,77	11,32	0,48	12,5	3,85
Crvena ranka	2,19	6,53	9,17	0,41	10,6	3,90
Crnošljiva	1,93	7,32	9,59	0,48	11,2	3,95
W. O. 05	0,628	0,705	0,298	0,339	0,602	-
O. 01	0,755	0,848	0,359	0,408	0,724	-

Table 5. On alluvium soil

<b>P e a c h e s</b>						
"Vineyard"peach	1,54	6,60	8,56	0,48	10,2	3,80
Shipper's Late Red	1,90	5,67	7,80	0,46	9,7	3,70
Rutgers Red Leaf	1,47	6,65	8,52	0,46	10,0	3,90
Elberta	1,71	6,53	8,26	0,43	9,7	3,70
Veteran	1,52	6,83	8,52	0,50	9,5	3,70
<b>P l u m s</b>						
Stanley	1,26	6,53	8,15	0,47	10,3	3,80
Crvena ranka	1,60	4,94	6,85	0,45	9,2	3,80
Crnošljiva	2,81	6,38	9,61	0,46	10,3	3,95
Petrovača	2,72	5,65	8,81	0,46	10,7	3,90
Ilinjača	1,41	5,24	6,80	0,45	9,3	3,80
W. O. 05	0,18	1,145	0,572	0,030	0,679	-
O. 01	0,22	1,401	0,701	0,037	0,831	-

Table 6. Effect of various peach and plum rootstocks on nutritional contents in the fruits of peach cv Collins grown on alluvium soil, during 1969-1971.

Rootstocks	Invert sugar in %	Saccharose in %	Total sugar in %	Total acid(malic) in %	Soluble matter	pH
<b>P e a c h e s</b>						
"Vineyard"peach	1,28	2,72	4,00	0,55	6,7	3,55
Shipper's Late Red	2,18	2,95	5,30	0,55	7,2	3,60
Rutger's Red Leaf	1,92	4,17	6,46	0,54	8,2	3,55
Elberta	2,19	3,88	6,09	0,59	7,3	3,55
Veteran	1,85	3,64	5,64	0,56	7,2	3,50
Red skin	1,96	3,86	5,96	0,53	7,2	3,60
<b>P l u m s</b>						
Crvena ranka	2,12	3,47	5,73	0,52	8,5	3,65
Crnošljiva	1,37	4,71	6,34	0,55	8,0	3,75
Petrovača	1,58	3,16	4,79	0,45	7,2	3,70
Ilinjača	1,75	2,49	4,53	0,58	6,8	3,60
W. O. 05	0,197	0,268	0,218	0,056	0,84	-
O. 01	0,242	0,328	0,266	0,068	1,03	-

Table 7. Effect of some apricot parent cvs on nutritional contents in the fruits of their hybrids and selections, during 1974-1977.

Number of hybrids or selections	Glucose in %	Fructose in %	Saccharose in %	Total acid (in malic) in %	DRY matter in %	pH
No IV/ 18	3,26	0,88	6,40	1,09	15,12	3,71
No IV/ 148	1,07	0,68	7,67	2,08	15,06	3,08
No V/ 17	2,40	1,14	8,13	1,27	16,70	3,55
No XI/ 68	1,33	0,34	6,50	0,72	14,98	3,63
No 13/ 10	1,38	0,72	8,02	0,97	16,90	3,40
No 15/ 16	1,60	1,00	8,67	1,54	16,83	3,18
No 15/ 35	1,93	0,81	8,53	1,01	16,14	3,50
No 19/ 20	1,73	0,56	8,13	0,97	17,21	3,90
No 19/ 37	1,50	0,48	7,60	1,07	15,73	3,80
No 21/ 81	1,90	0,19	6,40	0,80	14,14	3,70
No 5/ 24	1,96	0,79	6,64	1,46	14,48	3,42
No 5/ 29	1,47	0,49	8,53	1,14	14,96	3,42
No 5/ 62	1,75	0,22	8,34	0,90	17,33	3,75
No 6/ 11	0,75	0,32	8,66	1,35	14,75	3,61
No 6/27	3,33	0,51	6,87	1,63	16,03	3,55
No 6/ 28	1,70	0,59	7,13	1,47	14,08	3,56
No 6/ 40	1,80	0,65	7,60	1,61	16,24	3,60
No I/19/63	3,00	0,70	7,20	0,80	17,40	4,10
W: 0. 05	0,186	0,44	0,848	0,22	0,516	-
0. 01	0,217	0,52	0,992	0,26	0,603	



Über das Vorkommen von Nitrat im Gemüse

von F. VENTER \*

Stickstoff liegt im Boden in organischen Verbindungen oder in mineralischen Formen vor. Gemüsepflanzen nehmen Stickstoff bevorzugt als anorganisches Nitrat auf und verwenden es als Baustein für stickstoffhaltige, organische Verbindungen (s. Darst. 1, nach MENGEL u. KIRKBY, 1978).

Als Stickstoffquellen kommen im wesentlichen in Frage:

1. organische Substanzen im Boden, aus denen Mikroorganismen im Verlaufe der Mineralisierung Stickstoff freisetzen
  - a) organische Substanz im Boden (z.B. Humus)
  - b) Stallmist
  - c) Gründüngung, Ernterückstände, Putzabfälle
  - d) organische Dünger (wie Blut-, Knochen-, Hornmehl, Federn, Borsten usw.)
2. mineralische Dünger, die nach Art und Menge gezielt zur Ernährung der Gemüsepflanzen eingesetzt werden und mindestens teilweise den Pflanzen als Nitrat zur Verfügung stehen
  - a) Nitratdünger
  - b) Ammoniumdünger
  - c) andere Stickstoff-Formen

Die Pflanzen nehmen den Stickstoff vornehmlich als Nitrat über die Wurzeln auf (weil vorwiegend so vorhanden) und transportieren ihn im Xylem über den Sproß, die Blattstiele und Blattrippen in die Blattspreite, wo er assimiliert wird. Momentan nicht verarbeitbare Nitratmengen werden in den Leitungsbahnen gespeichert. Anorganischer Stickstoff ist ausschließlich in der Nitratform speicherbar.

---

\*) Prof. Dr. Fritz VENTER, Lehrstuhl für Gemüsebau der Technischen Universität München, D-8050 Freising-Weißenstephan

Die Pflanzenanalyse zeigt auf Grund dieses Verhaltens der Pflanzen (VENTER, 1979):

- viel Nitrat in Sproß, Stielen, Blattrippen
- mittlere Nitratmengen in Wurzeln und Knollen
- geringe Nitratgehalte in Knospenanlagen und Früchten (Tab. 1)

Wenn man davon ausgeht, daß in der Nachweismethodik keine größeren Fehler lagen als heute, sind die Nitratgehalte der Gemüse heute - im Gegensatz zur öffentlichen Meinung - nicht wesentlich anders, als zu Beginn unseres Jahrhunderts (Tab. 2), als der Einsatz mineralischer Düngemittel noch unbedeutend war (RICHARDSON, 1907).

Die Nitrataufnahme durch die Pflanzenwurzel ist weitgehend vom Vorhandensein des Nitrates in der Bodenlösung abhängig. Dabei ist zu berücksichtigen, daß durch den Umbau und Abbau stickstoffhaltiger Verbindungen im Boden gelegentlich mehr Nitrat freigesetzt wird, als die Pflanze momentan benötigt. Da sie nicht über ein Ausschließungsvermögen verfügt, nimmt sie mit dem Wasser das darin enthaltene Nitrat auf und speichert den nicht unmittelbar verarbeitbaren Anteil im Xylem.

Die Nitratassimilation in der Pflanze ist abhängig von:

#### 1. Ökologischen Faktoren

- a) Licht: Licht ist Voraussetzung für optimale Assimilation und Bildung stickstoffhaltiger Verbindungen.  
Wenig Licht zwingt die Pflanze zur Nitratspeicherung, daher enthalten Pflanzen der gleichen Art und Sorte, unter gleichen Ernährungsbedingungen kultiviert, im Sommer weniger Nitrat als im Winter (PIMPINI, VENTER, WÜNSCH, 1971; VENTER, 1978; VENTER, FRITZ, 1979; VENTER, 1980) (Tab. 3).
- b) Temperatur: die Temperatur wirkt primär über ihren Einfluß auf den Wasserhaushalt der Pflanze und damit auf die Höhe der Nitrataufnahme
- c) Wasserversorgung: mit dem Wasser, das die Pflanze als Transportmittel benötigt, gelangt in der Bodenlösung vorhandenes Nitrat in die Pflanze. Somit fördert hohe Verdunstung die Nitratanreicherung
- d) Bodenzustand: hierunter ist in erster Linie der Versorgungszustand des Bodens mit Nährelementen zu verstehen.

Neben einem ausreichenden Angebot an Hauptnährstoffen ist die Spurennährstoff-Versorgung wichtig. Im Hinblick auf die bei der Reduktion des Nitrates in der Pflanze wirksamen Enzyme sind besonders Molybdän und Kupfer zu erwähnen.

## 2. pflanzeneigene Faktoren

- a) artspezifische Unterschiede in der Bereitschaft, Nitrat aufzunehmen (SCHUPHAN, 1958; WEDLER, 1979). Diese Bereitschaft liegt besonders bei salzliebenden Pflanzen vor, wie Chenopodiaceae und Cruciferae, und ist, z.B. bei Leguminosen nur gering. Ferner bestehen artspezifische Unterschiede zwischen dem Ort der Reduktion des Nitrates, der sowohl in der Wurzel als auch in den oberirdischen Pflanzenteilen, besonders in den Blättern liegen kann.
- b) Sortenunterschiede, die sowohl genetisch als auch morphologisch bedingt sein können. Wenn bei Kopfsalat nachgewiesen wurde (SUBRAMANYA, WEST, HOMNA, 1980), daß bestimmte Gene für die verstärkte Nitrataufnahme verantwortlich sind, so muß man aber auch zusätzlich morphologische Unterschiede (viel oder wenig Blattstiele und Blattrippen (SCHUPHAN, 1958; MAYNARD, BARKER, 1974); stark oder schwach ausgebildete Zentralzylinder bei Möhren (VENTER, 1979) mit in die Betrachtung einbeziehen, wengleich diese morphologischen Unterschiede selbstverständlich auch wieder genetisch bedingt sind.
- c) Altersunterschiede, die durch entsprechende Wahl des Erntetermines von der Praxis sehr gut ausgenutzt werden können. Besonders Gemüse mit längerer Vegetationszeit läßt diesen altersbedingten Abfall im Nitratgehalt deutlich erkennen (PIMPINI, VENTER, WÜNSCH, 1970). Da nicht alle Gemüsearten gleich reagieren, ist nicht auszuschließen, daß die mit fortschreitendem Alter auftretende Nitratabnahme in der Pflanze teilweise auch auf eine Erschöpfung der Bodenvorräte sowie des in der Pflanze gespeicherten Nitrates zurückzuführen ist.

Warum ist das Nitrat derzeit überhaupt in der Diskussion? Mit der Nahrung in den Körper eingetragenes Nitrat sowie endogen gebildetes Nitrat werden im Verlauf der Verdauung teilweise zu Nitrit reduziert. Nitrit ist unter bestimmten Bedingungen zusammen mit im Körper vorhandenen Aminen zur Bildung von Nitrosaminen befähigt. Nitrosamine haben als Reinsubstanzen im Tierversuch gespritzt oder gefüttert

carzinogene Wirkung gezeigt (PREUSSMANN, 1981). Die Möglichkeit gleicher Wirkung im menschlichen Organismus ist nicht auszuschließen, wenngleich nicht experimentell bewiesen. Prophylaktisch ist daher ein möglichst geringer Nitrateintrag mit der Nahrung anzustreben.

Wenn man von den Verzehrsgewohnheiten der Bundesbürger ausgeht, so können durch 73 kg Frischgemüse/Kopf x Jahr nach Arten aufgeschlüsselt und nach Nitratmittelwerten kalkuliert etwa 150 - 180 mg  $\text{NO}_3$ /Tag aufgenommen werden. Dabei ist der Marktkorb berücksichtigt, wie ihn die Statistik ausweist und unterstellt, daß das Gemüse roh verzehrt wird. Das ist aber in aller Regel nicht der Fall. Durch den Koch- oder Garprozeß gehen beim Zubereiten der Speisen noch beträchtliche Anteile des anfangs vorhandenen wasserlöslichen Nitrates verloren.

Bei einem angenommenen Flüssigkeitsbedarf von 2.750 ml/Tag für den Erwachsenen wird Wasser nach einer Schweizer Studie (TREMP, 1981) mit 1.850 ml beteiligt sein. Je nach Qualität des Wassers beinhaltet diese Menge nach den derzeit in der Bundesrepublik Deutschland zugelassenen Höchstmengen an Nitrat im Trinkwasser einen Eintrag von ca. 170 mg  $\text{NO}_3$ /Tag. Dieser Wert kann sich ab 1985, wenn der zulässige Höchstwert im Trinkwasser auf 50 mg  $\text{NO}_3$ /l reduziert wird, auf 90 mg  $\text{NO}_3$ /Tag vermindern. Wasser und Gemüse sind derzeit also zwei Nitratquellen in der Nahrung, die etwas gleichwertig nebeneinander stehen.

Natürlich gibt es in der Nahrung auch Stoffe, die die Bildung der Nitrosamine behindern oder bei Vorhandensein in ausreichender Menge auch ausschließen. Der bisher wichtigste bekannte Antagonist ist das Vitamin C, das gerade im Gemüse in großen Mengen enthalten ist (rund 35 % des täglichen Vitamin C - Bedarfes deckt der Bundesbürger mit Gemüse). Über den Mechanismus der Schutzwirkung des Vitamin C und anderer Inhaltsstoffe der Nahrung gegenüber der Nitrosaminbildung weiß man noch relativ wenig. Der Meinung, daß Vitamin C beim zweiten Durchgang des Nitrates über den Speichel in dem Verdauungstrakt nicht mehr in ausreichender Menge verfügbar sei, stehen Ergebnisse von GREULICH (1980) entgegen, wonach das Vitamin C, wenn in genügender Menge mit der Nahrung aufgenommen, auch in entsprechender Form im Körper gespeichert wird und weiterhin funktionsfähig bleibt. Daneben gibt es zahlreiche andere Inhibitoren, die jedoch weniger oder nicht im Gemüse vorkommen.



Wenn das Nitrat trotzdem ein Gesundheitsrisiko darstellt, dann erhebt sich natürlich die Frage, was der Anbauer tun kann, um den Nitratgehalt der Rohware Gemüse möglichst niedrig zu halten. Hier sind zwei Gesichtspunkte zu nennen, die beachtet werden sollten:

1. die Stickstoffversorgung der Pflanzen
2. der Anbauertermin

Die Stickstoffversorgung ist bestmöglich dem Bedarf der Pflanzen - bezogen auf den Entzug für eine ökonomisch vertretbare Ernte - anzupassen. Dabei geht es sowohl um die absolute Höhe des Stickstoffangebotes wie um dessen zeitliche Verteilung. Schwierigkeiten entstehen in diesem Zusammenhang durch das Fehlen einer Vorhersagemöglichkeit über Menge und Termin der durch den mikrobiellen Abbau freigesetzten Stickstoffmengen. Hier kann lediglich mit Erfahrungswerten gearbeitet werden, da sich die diversen Einflußgrößen auf die Umsetzungsaktivitäten der Prognose entziehen. Ferner sollten zusätzliche Düngergaben relativ kurz vor der Ernte vermieden werden, um die Pflanzen in den letzten Tagen bis zur Ernte zum Verbrauch gespeicherten Nitrates zu zwingen. Im Hinblick auf die mineralische N-Düngung geht das durch die richtige Dosierung und Wahl des richtigen Düngemittels relativ gut.

Im organischen Bereich der Düngung sind die Möglichkeiten gezielt zu düngen außerordentlich gering. Hier ist es durchaus möglich, daß später geerntete Pflanzen der gleichen Fläche selbst in ungedüngten Parzellen höhere Nitratgehalte aufweisen als früheres Erntegut (Tab. 4).

Für langlebige Kulturen läßt sich außerdem durch die Wahl der richtigen Düngerform auf den Nitratgehalt zur Ernte Einfluß nehmen. So hat sich Kalkstickstoff, dessen Stickstoff zunächst als Ammonium zur Verfügung steht, in der Regel als ein langsam wirkender N-Dünger gezeigt, der zu niedrigeren Nitratgehalten in den Gemüse führen kann.

Der Einsatz von Nitrifikationshemmern, mit deren Hilfe die Nitratbildung unterdrückt oder gebremst wird, ist derzeit noch in der Erprobung, geeignete Mittel sind z.T. noch in der Zulassung. Hier interessiert neben der Sofortwirkung dieser Mittel aber auch die Frage, wie lange sie ihre Wirksamkeit behalten, da im Anschluß daran mit einem verstärkten Aufbau der Mikroorganismenpopulation zur Nitrifizierung zu rechnen ist, was einen starken Nitratschub im Boden zur Folge haben kann. Diese Frage sollte besonders den in-

obtained with a reduction of the size of lettuce. In this respect, the conclusion of the field survey dealing with the nitrate content of lettuce are of a different nature.

## FIELD SURVEY

### Nitrate Content

As was expected, the most important single factor influencing the nitrate accumulation in lettuce has been the intensity of light (general trend in figure 4). The nitrate accumulation increases exponentially with the reduction of the radiant flux (kWh/m<sup>2</sup>). A logarithmic transformation gives a good linear correlation for both populations ( $r = 0.81$  and  $r = 0.77$  respectively for the biological and the conventional populations).

Under unfavorable conditions that prevail in Autumn and late Autumn, when the general level of nitrates in lettuce grown under glass is relatively high, there is no great difference between the two production systems. However, under more favorable light conditions, the lettuce grown under biological management show nitrate contents that are significantly lower than their counterpart grown conventionally. The increase of nitrate attributable to the conventional fertilization and/or management represents 35%, 193%, respectively 233% of the nitrate level of biologically grown lettuce during the three samplings in Spring and early Summer (Figure 4). These relatively important differences are that much more significant that the level of 1100 ppm nitrates which has been found by Bidermann and al (1980) in his overall estimation of the average nitrate content of Summer lettuce available on the Swiss market (1977 to 1979), has been reached only once. By all other summer samplings, the average nitrate contents have been lower than these 1100 ppm.

As the light intensity is decreasing, the values of nitrate contents of both populations are gradually becoming similar. In November, they both reach high levels of 3300 to 3500 ppm (fresh weight basis).

### Yield

The weights of conventionally and biologically grown lettuces were equal for one sampling during the period with favorable light conditions. For the other samplings, including those in periods with unfavorable conditions, the size of

im Gemüse wirklich die Bedeutung zukommt, die ihm im Augenblick von Toxikologen zugemessen wird.

Alle anderen, auf Düngung aufbauenden Verfahren, werden stärkere Schwankungen im Nitratgehalt nicht vermeiden können.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß Gemüsepflanzen unterschiedlich nach Art, Sorte und Organ Nitrat speichern können. Der Anbauer kann durch Wahl des Stickstoffangebotes nach Menge und Form versuchen, den Nitratgehalt zu vermindern. Der Einfluß der ökologischen Faktoren auf die Stickstoff-Freisetzung im Boden und die Nitratassimilation in der Pflanze sind durch den Anbauer nicht steuerbar. Hydrokulturverfahren und Pflanzenzüchtung sind zwei Maßnahmen, die - zunächst rein theoretisch - zu einer Verminderung des Nitratgehaltes in Gemüse beitragen könnten.

#### Summary

In higher plants, anorganic nitrogen is accumulated only in the form of nitrate. Plant families differ in their accumulation ability. Chaenopodiaceae, and Cruciferae more easily tend to nitrate accumulation than Liliaceae, or leguminosae do.

Nutrient and water translocation takes place in the xylems. This is why tubers, sprouts, and leaf stalks are the plant organs that are most important to accumulate nitrate. Low nitrate reductase activity (dependent on weather conditions, species, or cultivar), and inhibition of the synthesis of amino acids and proteins result in an undesired nitrate accumulation in the plant.

Nitrate accumulation may be influenced by cultural measures to only a limited degree, since - under practical conditions - the ecological factors (light intensity, daylength, temperature, water supply) often are impossible to control. The ontogenetic stages of maturity of vegetables, at their harvesting dates, on principle are different to, for example, those of cereals. Vegetables, consequently, have higher nitrate contents at harvest time than cereals have. Due to an intensive crop rotation with 3 to 4 crops a year on one and the same field, and due to the relatively short growing periods of some vegetables (radish, or head lettuce: 4 to 6 weeks), vegetable growers are forced to adapt plant nutrition to the expected withdrawal, using compounds that can easily be uptaken by the plant. Since lower nitrate levels may be possible to achieve under certain circumstances, a longest possible period of time between the last application of fertilizers and the harvesting date should be aspired.

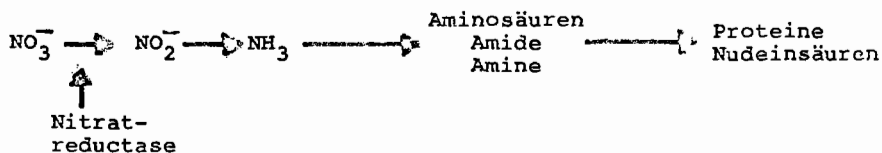
Literaturverzeichnis

- GREULICH, K.O. (1980): Vitamin C - Eine Waffe gegen Krebs?  
Umschau in Wiss. u. Techn. 80, 184-185.
- MAYNARD, D.N., A. V. BARKER (1974): Nitrate accumulation in  
spinach as influenced by leaf type. J. Amer. Soc. Hort.Sci. 99,  
135-139.
- MENGEL, K., E.A. KIRKBY (1978): Principles of plant nutrition.  
Intern. Potash Inst. CH-3048 Worblaufen - Bern.
- PIMPINI, F., F. VENTER, A. WÜNSCH (1970): Untersuchungen über den  
Nitratgehalt in Blumenkohl. Landw. Forsch. 23, 363-370.
- PIMPINI, F., F. VENTER, A. WÜNSCH (1971): Der Einfluß verschiedener  
Stickstoff-Formen und steigender Stickstoffmengen auf den Gehalt  
an Gesamtstickstoff und Nitrat in Blumenkohlpflanzen. Garten-  
bauwiss. 36 (18), 511-523.
- PREUSSMANN, R. (1981): Nitrat in der Nahrung - ein Gesundheits-  
risiko? Nitrat in Gemüsebau und Landwirtschaft. Vorträge der  
Informationstagung. Gottlieb Duttweiler-Institut, CH-8803 Rüschi-  
kon/Zürich.
- RICHARDSON, W.D. (1907): Nitrates in vegetable foods, in cured  
meats and elsewhere. J.Amer.Chem.Soc. 29, 1757-1767.
- SCHUPHAN, W. (1958): Biochemische Stoffbildung bei Brassica oleracea L  
in Abhängigkeit von morphologischen und anatomischen Differen-  
zierungen ihrer Organe. Ztschr. Pflanzenzüchtung 39, 127-136.
- SUBRAMANYA, R., G. VEST, S. HONMA (1980): Interitance of nitrate  
accumulation in lettuce. Hort. Sci. 15, 525-526.
- TREMP, E. (1981): Der Beitrag der einzelnen Nahrungsmittel zur täg-  
lichen Nitrataufnahme des Menschen. Nitrat in Gemüsebau und Land-  
wirtschaft. Vorträge der Informationstagung. Gottlieb Duttweiler-  
Institut, CH-8803 Rüschiikon/Zürich.
- VENTER, F. (1978): Einflüsse auf den Nitratgehalt von Kopfsalat.  
Landw.Forsch. SH 35, 616-622.
- VENTER, F. u. D. FRITZ (1979): Nitrate contents of kohlrabi  
(Brassica oleracea L. var. gongylodes Lam.) as influenced by  
fertilization. Qual. Plant. Pl.Fds.hum. Nutr. 29, 179-186.

- VENTER, F. (1979): Nitrate contents in carrots (*Daucus carota* L.) as influenced by fertilization. *Acta Hort.* 93, 163-172.
- VENTER, F., (1979): Der Nitratgehalt in einigen Gemüsearten. *Landw. Forsch.* SH 36, 138-144.
- VENTER, F. (1980): Der Nitratgehalt in Rettich (*Raphanus sativus* L.). *Landw.Forsch.* SH 37, 520-526.
- WEDLER, A. (1979): Untersuchungen über Nitratgehalte in einigen ausgewählten Gemüsearten. *Landw. Forsch.* SH 36,

Darstellung 1

## Schema der N-Assimilation

Tabelle 1: Nitratgehalt in Gemüse

Gemüseart	mg NO <sub>3</sub> /kg F.M.
<u>Fruchtgemüse</u>	
Tomaten	10 - 100
Erbsen	10 - 120
Gurken	20 - 300
<u>Wurzel- und Knollengemüse</u>	
Möhren	30 - 800
Freiland-Rettich	261 - 1.200
Freiland-Kohlrabi	200 - 1.700
<u>Blattgemüse und Blätter</u>	
Chinakohl	400 - 2.400
Kopfsalat	382 - 3.520
Spinat	345 - 3.890
Möhren	100 - 4.750
Tomaten	115 - 6.700

Tabelle 2: Nitratgehalt in Gemüse  
(mg NO<sub>3</sub>/kg F.M.)

	1907*	1981
Rote Rüben	930 - 8.063	150 - 5.690
Spinat	310 - 3.810	349 - 3.890
Kopfsalat	399 - 3.544	382 - 3.520
Radies-Rettich	532 - 3.057	261 - 1.200
Blumenkohl	27 - 399	62 - 664
Gurken	44 - 532	20 - 300
Tomaten	27 - 89	10 - 100

\*) RICHARDSON, J.Amer.Chem.Soc. 29, 1757-1767, 1907

Tabelle 3: Nitratgehalt in Gemüse  
(mg NO<sub>3</sub>/kg F.M.)

	Sommer (Freiland)	Winter (Gewächshaus)
Blumenkohl	62 - 369	116 - 664
Kohlrabi	205 - 1.685	1.465 - 2.235
Kopfsalat	382 - 1.980	1.553 - 4.360
Rettich	261 - 1.185	3.057 - 5.743

Tabelle 4: Nitratgehalt abhängig vom Erntetermin  
(ungedüngte Kontrolle; mg NO<sub>3</sub>/kg F.M.)

		1. Ernte	2. Ernte	3. Ernte
Kohlrabiknollen	( 8)*	317	206	246
Möhren	(14)	200	151	313
Chinakohl	(14)	910	818	592
Endivien	( 7)	321	336	
Rettich	( 7)	621	814	

\*) Ernteabstand in Tagen



THE INFLUENCE OF DIFFERENT FERTILIZERS  
ON THE  
NITRATE CONTENT OF GREEN VEGETABLES

Swiss Research Institute for Biological Farming

Max Eichenberger

Pierre Ott

Forschungsinstitut für Biol. Landbau  
Bernhardsberg, CH-4104 Oberwil/Schweiz

## INTRODUCTION

At the present time, it cannot be excluded that the in-vivo formation of nitrosamines based on the reduction of nitrates to nitrites has a direct relation to the occurrence of cancer. Therefore, the Swiss Federal Health Department has initiated many programs meant to reduce, on the long run, the nitrate ingestion level of the Swiss population. Among the many factors influencing the nitrate accumulation in vegetables, some of them are directly under the control of the producers, one of them being the fertilization: not only in terms of applied amounts, but also in terms of the fertilizer type used.

Split application of fertilizer is often mentioned as a mean to reduce nitrate accumulation. However, according to CORRE and BREIMER (1979), this technique does not bring the expected results due to the generally short vegetation period of the common green vegetables. Inhibition of nitrification (using toxic substances to manipulate the soil micro-organism balance) can also be seen as a possible way to reduce nitrates in vegetables (FRIEDLE, 1981 - SIGEL and VOGT, 1975). Although rather promising results were obtained in pot trials, few experiments have been carried out to verify the efficiency and the innocuousness of these techniques under field conditions (CORRE and BREIMER, 1979). Slow release fertilizer may be more practical to reduce nitrates. According to SUCHTIG (1970) "slow release fertilizers have a positive influence as well on yield as on the reduction of the nitrate accumulation (in spinach), even at high level of nitrogen application". The main constraint for a wider use of these slow-release fertilizers is their prohibitively high prices. Furthermore, the results are not systematically granted (RAST, 1979) because it may well be that nitrogen from synthesized organic fertilizer is, under field condition, relatively rapidly mineralized (VERTRAETE et al., 1973).

Compost which may be labelled as a "slow release fertilizer" has been used for many years in biological farming. SCHUPHAN (1974) has demonstrated in many experiments that the use of a farmyard manure (FYM) and/or compost reduces the nitrate content of vegetables. According to FLAIG (1976), this positive influence may be attributed to the presence, in the soil, of degradation products from the added organic matter which may regulate the nitrification processes. Despite that, it is often assumed that high nitrate contents are generally obtained on soils well supplied in organic matter. It is also expected that repetitive applications of organic fertilizers (as it is the case in biological farm-

ing) may cause a nutrient accumulation which, in turn, will increase the vegetable nitrate content in cases where conditions are optimal for the mineralization of nitrogen (CORRE and BREIMER, 1979).

In order to clarify this somewhat contradictory situation regarding the influence of organic matter on nitrate accumulation, some experiments with compost and mineral fertilizations were conducted at the Swiss Research Institute for Biological Farming in Oberwil (Basel). In order to give to the results a more practical and general significance, the plots experiments have been completed by a survey dealing with the nitrate content of lettuce grown on organic and conventional farms. This survey has been conducted jointly by the Federal Research Station of Wädenswil (Zurich) and the Research Institute for Biological Farming.

#### MATERIAL AND METHODS

In the plot experiment, two types of fertilizations were compared on their influence on different nitrophile vegetables grown under different seasons: spinach<sup>1)</sup> (variety NORES) and leafbeet<sup>2)</sup> (variety GLATTER GRUENER) in Autumn, followed successively by lettuce<sup>3)</sup> (variety RESKIA) in late spring and by corn salad<sup>4)</sup> in Autumn and Winter. The two types of fertilization tested were a farmyard manure compost and a mineral nitrogen fertilization. Since they were quite different in nature, they have been applied in two different levels, i.e., a "normal" level (100 kg N/ha) and an "above normal" level (300 kg N/ha) in order to evaluate the influence, not only of the fertilization level, but also of the nitrogen availability on the nitrate accumulation in vegetables. Furthermore, the experiment has been divided in two sub-experiments in order to test the influence of a single application of compost on the three successive crops (Experiment I: fertilization given before spinach) as well as a repetitive application of compost (Experiment II: fertilizations given before leafbeet, as well as before lettuce). At the same time, another experiment, similar in its layout, but with another variety of spinach (variety NOBEL ORIGINAL) allowed for a comparison of the response of two spinach varieties to the two different types of fertilizations.

Thus, the presented data are derived from 4 repetitions including a total of 60 plots (3m<sup>2</sup> each). Plant material was analyzed on yield and dry matter, nitrate and organic nitrogen content.

---

1) *Spinacia oleracea* L.  
3) *Lactuca sativa* var. *capitata*

2) *Beta vulgaris* L. var. *cicla* L.  
4) *Valerianella locusta*

In opposition to the plot experiments where only fertilizations were compared, two different production systems ("organic" versus "conventional") are compared in a field survey where 7 pairs of farms located in different geographical areas have been investigated over a period of two years as far as the yields and nitrate content are concerned. The 7 pairs of farms were formed by matching the selected biological farms to conventional well managed farms, more or less run according to the general principles of an integrated plant husbandry(1). The only constraint imposed on the farmers was that identical varieties were planted for each sampling which occurred respectively in late Spring and in Autumn (June, October and November 1980). The data presented rely on 8 analyses of individual lettuces for each sampling and for each farm. Soil samples were also taken with each lettuce sampling. Informations regarding the fertilizations were provided by the farmers.

Detailed informations regarding the plot experiment as well as the field study are to be found in SCHUDEL et al., 1979; EICHENBERGER et al., 1981; TEMPERLI et al., 1982.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Plot Experiment

The nitrate content of spinach and leafbeet were two to six times lower with a compost fertilization than with a strict mineral fertilization (Fig. 1 and 3). A similar trend, although not as pronounced, has been observed on the following crop, i.e., lettuce (Experiment II, repetitive fertilizations). In experiment I (where the lettuce was not fertilized), only the "above normal" previous fertilization has a direct influence on the nitrate content of lettuce.

As far as corn salad is concerned, the influence of the fertilization types on nitrate content has been levelled off in experiment I as well as in experiment II. This levelling off is primarily due to the generally low nitrate content of corn salad. This low nitrate content is remarkable given the light conditions that prevailed during the vegetation period. (TEMPERLI et al., 1978).

In opposition to what may have been expected, the repetitive application of compost, even at the high rate of 300 kg N/ha per single application did not increase the nitrate content in any significant way.

---

(1) Extension farms and/or MIGROS-S farms

The spinach yields obtained in these experiments deserve special attention. Indeed, the variety "NORES" responded well to a mineral fertilization but not at all to a compost application event at a high rate of 300kg N/ha, whereas the variety "NOBEL ORIGINAL" responded well to a nitrogen application, regardless of its form. However, in both cases, the mineral fertilization increased the nitrate level significantly, the nitrate levels from the compost application being comparable to those obtained on the control plots.

Leafbeet did not respond well to the different fertilizations, since only the application of 300 kg of mineral nitrogen per ha increased the yield significantly. This might be due to a lower nutrient requirement of leafbeet in comparison to spinach and to a soil originally well-supplied with nutrients.

In experiment II, the higher rate of compost application increases the dry matter yields of lettuce. This increase is, however, greater with a mineral fertilization which indicates, particularly on that well supplied soil, that lettuce (variety RESKIA') needs a high level of available nutrients. This is also noticeable in Experiment I since the lettuce yield does not respond to the fertilization given to the previous crop.

The slow release effect of compost is noticeable on the yield of corn salad, although the increased yields are only with the higher rate of compost application in experiment II significantly different from the control.

These results are confirmed by a recently published PhD thesis from the Giessen University. ELSAIDY (1982) found in 5 different spinach experiments, whose layout were similar to ours, consistently 2 to 5 times lower nitrate contents with a strict farmyard manure or compost fertilization in comparison to a strict mineral fertilization. In one extreme situation (200kg N/ha), the nitrates differences were considerable (factor 20), although the yields with an application of compost were above these of the corresponding mineral fertilization.

All these results show that the nitrate content of spinach can be significantly reduced with an application of FYM and/or compost, even at a high yield level. However, it cannot be excluded that a reduction of the nitrate in lettuce can be

tensiv arbeitenden Gemüseanbauer interessieren, der auf der gleichen Fläche mehrfach im Jahr kultiviert.

Der Anbauertermin ist hier ausschließlich im Zusammenhang mit der täglichen Einstrahlungsintensität im Hinblick auf den Nitratumbau in der Pflanze zu sehen. Schwankungen im  $\text{NO}_3$ -Gehalt im Laufe des Tages und in Abhängigkeit von der Wetterlage lassen sich zwar nachweisen, sind aber für die Praxis kaum nutzbar zu machen. An Sonntagen könnten nachmittags geerntete Gemüse schon weniger Nitrat enthalten, sie sind gleichzeitig aber auch ärmer an Vitamin C und haben eine erhebliche Eigentemperatur, die eine Verringerung der Haltbarkeit nach sich zieht. Außerdem ist diese Ware weder frisch noch voll turgeszent. Gute Vermarktungsqualität läßt sich nach derzeitiger Vorstellung nur in den frühen Morgenstunden ernten.

Jahreszeitliche Schwankungen in der Einstrahlungsintensität führen heute bereits schon zu einer Anbauverminderung im Winter, allein die Energiepreise zwingen dazu. Gemüseimporte können in dieser Jahreszeit im Hinblick auf den Nitratgehalt aber auch nur dann besser sein, wenn sie aus südlicheren Ländern mit höherer Einstrahlungsintensität kommen und nicht aus Gebieten des gleichen Breitengrades.

Zwei Möglichkeiten, mit denen wir unter günstigen Umständen den Nitratgehalt der Gemüse deutlich und sicher reduzieren können, seien abschließend erwähnt. Die eine ist die Umstellung der Anbauverfahren auf Nährlösungskultur (im weitesten Sinne), da nur mit diesen Verfahren durch völligen Stickstoffentzug aus der Nährlösung die Pflanzen gezwungen werden können, gespeicherte Nitratmengen zu verbrauchen. Sicher wird man hier erst Erfahrungen sammeln müssen, denn die Umstellung auf ein wesentlich teureres Produktionsverfahren ist nur zu verantworten, wenn neben der Notwendigkeit auch Aussicht auf Erfolg besteht. Die andere Möglichkeit zu  $\text{NO}_3$ -armen Pflanzensorten zu gelangen, liegt auf dem Gebiet der Pflanzenzüchtung. Auf einem längeren Wege wird man das Ziel der Nitratarmut sicher erreichen können, indem entweder die entscheidenden Gene in neue Sorten eingebracht werden oder der morphologische Aufbau der Pflanzen dahingehend verändert wird, daß weniger Strunk, Stiel und Rippen gebildet werden, ohne die Stabilität der Pflanzen, ihre Widerstandsfähigkeit und ihre Vermarktungseignung zu verschlechtern. Dies wird sicher ein umständlicher und zeitaufwendiger Weg, den zu gehen wir uns aber dann nicht scheuen sollten, wenn dem Nitrat

lettuce grown biologically was generally lower than the one of lettuces grown conventionally.

#### Connection between nitrate content and lettuce weight

Considering the results of nitrate content and of yields, it could be assumed at first, that lower nitrate content can only be achieved by lower weights of each head of lettuce.

This apparent connection was tested statistically, using a correlation analysis and a more suited rank correlation analysis (SPEARMAN) on individual lettuce analyses, regardless of the management system. The correlation coefficients are bad, which tend to indicate that the two parameters are not directly connected. However, by analysing the two populations separately, it appears that they do behave differently. In 4 out of 6 cases, it must be assumed that, as far as the conventionally grown lettuces are concerned, the two parameters may be connected. With biologically grown lettuce, the connection can only be assumed in one single case (table 1).

The amount of available data may be somewhat low for such a statement, but it seems, particularly from the data derived from the biological population, that lower nitrate content can be maintained within the biological system even with an increase in size of the lettuces.

#### Connection between fertilization and nitrate content

The amount of applied nitrogen did not influence the nitrate content of the sampled lettuces. The classification of the nitrogen according to its availability proved to be difficult, primarily because of the heterogeneity of the different fertilizers used in this study (farmyard manure, slurries, horn and blood meal, urea, ammonium nitrate, etc.) and because of the gradual shift in their nitrogen availability. However, the type of fertilization as described in table 2 has a significant influence.

Table 2 - Classification of fertilization types

Class a	Own farmyard manure or fertilization given to the previous crop.
Class b	Organic commercial fertilizer (complex fertilizer, hoof and hornmeal, bloodmeal, etc.).
Class c	Organic fertilization complemented with a mineral nutrient fertilizer
Class d	Strict mineral fertilization

The nitrate content of lettuce in connection with the fertilization types are given in table 3. On one side, the lowest values were obtained with farmyard manure. On the other side, the highest values were obtained with a strict mineral fertilization. The two other classes lie between these two extremes. The utilisation of a mineral nutrient fertilizer does increase the nitrate content of lettuce over all other organic fertilizers, even when organic fertilizers derived from waste products with a high proportion of readily available nitrogen (e.g. hoof and horn meal and/or blood meal) are used.

The utilization of organic commercial fertilizer alone, without any farmyard manure is not without any problem. Indeed, an extensive use of those fertilizers caused nearly as high a nitrate content as mineral fertilizers used alone. This trend is somewhat confirmed by ELSAIDY (1982) with spinach. Definitive statements regarding these fertilizers cannot, however, be made, because the results are in that respect too fragmentary.

#### Nitrate content and soil humus content

Organic fertilizers do increase on the long run the soil organic matter. One may be concerned that a nitrate accumulation comparable to a mineral fertilization may occur, particularly during those periods when nitrification processes are well under way. In this field study, this could not be proved, on the contrary. Particularly during the first year (1979), soil with high levels of organic matter produced lower nitrate values as the soils with a lower humus content. In 1980, this could not be statistically secured, although the values obtained from soil rich in organic matter were either equal or slight lower those obtained on the soils poorer in organic matter.

#### CONCLUSION

Biologically grown lettuces was, under favorable light condition, of better quality than the conventionally grown ones. This qualitative aspect, as far as nitrate content is concerned, is confirmed by the quality ratio of organically bound nitrogen to nitrate-nitrogen (SIEGEL and VOGT, 1975). High ratio values correspond to good quality and were only obtained with biologically grown lettuce, as shown in table 4. During unfavorable light conditions and under glass, the quality of both types of lettuces were equally bad. In this respect, an improvement can only be expected by shifting consumers customs to produce



known to show lower nitrate values.

The overall results indicate that, as far as the differences between the two management systems are concerned, the plant physiology seems to be more influenced by the general availability of soil nutrients as a long term consequence of the management systems (fertilization types, as well as other specific agricultural practices) than by the direct fertilization (plant feeding).

The results of the field survey match those of the plot experiment very well, which show clearly that an appropriate use of farmyard manure can reduce the nitrate level in lettuce, even on a short term basis. The official extension advices (KOBEL, 1981) that "the application of farmyard manure may have to be reduced in order to decrease the nitrate content" in vegetables, just does not hold true.

However, it must be remembered that the yields were lower, particularly in situations where compost has been exclusively used, than in conventional systems. A detailed analysis of individual results showed that this does not necessarily mean that a lower nitrate content can only be achieved by reducing the size of lettuce. The results from the plot experiment are, in this respect, encouraging, especially in the light that some varieties (from example with spinach) are more adapted to a slow release type of fertilization than other varieties. The recently low input potato variety "NICOLA" indicates that much progress can be expected from breeding. Therefore, within the new trend in breeding low nitrate varieties, it would be interesting to introduce in the testing programs different types of fertilization systems.

SUMMARY

Composted manure has been compared with a NPK mineral fertilization as far as yield, dry matter and nitrate content on leaf beet (*Beta vulgaris* L. var. *cicla* L.) and two varieties of spinach (*Spinacia oleracea* L.). The fertilizations were applied on a N-equivalent basis in two different levels, i.e. 100 kg N/ha (normal application) and 300 kg N/ha (overapplication). The following crops were lettuce (*Lactuca sativa* var. *capitata*) in summer, and corn salad (*Valerianella locusta*) in autumn. One half of the plots with lettuce and corn salad were again fertilized in an identical manner. The other half was not fertilized in order to evaluate how lasting the effects of the first fertilization were. When grown on composted manure spinach and leaf beet had 2-6 times less nitrate and a higher dry matter content than their counterparts grown on a mineral fertilization. The following lettuce confirmed these results. Even the 300 kg N/ha in form of compost induced lower levels of nitrates than the 100 kg N/ha in form of mineral fertilizer. The initial 300 kg N/ha fertilization still induced a nitrate accumulation on the unfertilized lettuce. However with corn salad there was no significant difference any more. The yield response to composted manure varied considerably according to spinach varieties and was comparable to the NPK yield response on one spinach variety, on leaf beet and on corn salad.

These results are to some extent confirmed by a field survey. Over two years lettuce nitrate content from 7 pairs of biological and conventional farms was regularly studied by the federal agricultural research station of Wädenswil and the Swiss research institute for biological husbandry. In spring and summer, nitrate levels are significantly lower on biological farms. In late autumn and under glass, when the nitrate levels are in general very high, the two groups of farms have comparable nitrate levels. High humus content in soils do not necessarily raise the nitrate content in lettuce. Although biological farms do have a smaller yield, nitrate content and yield of individual lettuce samples do not correlate. These results indicate that the response to slow-released nutrients should be included to criteria used plant breeding.

## REFERENCES

- Biedermann R., Leu D. und Vogelsanger W.: Nitrate in Nahrungsmitteln, eine Standortbestimmung. Deut. Lebensm. Rundschau 5, 149-156 (1980)
- Corré W.J. and Breimer T.: Nitrate and Nitrite in vegetables. Centre for Agric. Publishing and Document, Wageningen, (1979), 85 p.
- Eichenberger M., Ott P., Schudel P., Vogtmann H. und Leu D.: Ueber den Einfluss von Kompost- und NPK-Düngung auf Ertrag und Nitratgehalt von Spinat, Schnittmangold, Kopf- und Nüsslisalat. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. 72, 31-43 (1981)
- Elsaidy S.M.: Das Nachernteverhalten von Gemüse, insbesondere Spinat, unter besonderer Berücksichtigung der Nitritanreicherung in Abhängigkeit von den Lagerbedingungen und von der Düngung. Diss. Giessen (1982) 177 S.
- Flaig W.: Die organische Bodensubstanz als nachliefernde Stickstoffquelle für die Ernährung der Pflanze und einige Modelle zur technischen Verwirklichung. Landbauforsch. Völkenrode 26, 117-121 (1976).
- Friedli F.: Chemisch synthetisierte Stickstoffdünger in Landwirtschaft und Gartenbau. In: Vorträge der Informations-tagung "Nitrat in Gemüsebau und Landwirtschaft". Gottlieb Duttweiler-Institut, Rüslikon, (1981), 107-121.
- Kobel F.: Stickstoffdüngung und Nitratproblem im Gemüsebau. Der Gemüsebau 9, (1981), 3-5
- Rasp H.: Düngewirkung eines organischen Stickstoffdüngers (N-Lignin) im Vergleich zu Kalkammonsalpeter auf Ertrag und einige Qualitätsmerkmale von Gemüse. Landwirtsch. Forsch. Sonderh. 36, Kongressband Giessen (1979), 170-186
- Schudel P., Eichenberger M., Augstburger F., Kläy R. und Vogtmann H.: Ueber den Einfluss von Kompost- und NPK-Düngung auf Ertrag, Vitamin C- und Nitratgehalt von Spinat und Schnittmangold. Schweiz. landwirtsch. Forsch. 4, 337-350 (1979)
- Schuphan W.: Ertrag und Nahrungsqualität pflanzlicher Erzeugnisse unter Berücksichtigung der Problematik organischer oder "chemisch-mineralischer Düngung". Ernährungsumschau, 21, (1974) 103-108

- Siegel O. und Vogt G.: Ueber den Einfluss eines Nitrifikationsinhibitors auf die Stickstoffverbindungen des Spinats. *Landwirtsch. Forsch.* 28, (1975) 242-248
- Söchtig H.: Ueber den Einfluss von N-Lignin auf die Nitrifizierung im Boden sowie den Ertrag und den Nitratgehalt der Pflanzen. *Qual. Plant. Mater. Veg.* xx, 1-2, (1970) 137-150
- Temperli A., Künsch U. und Keller F.: Zum Nitratgehalt in Kopfsalat. *Schweiz. landwirtsch. Forsch.* 1/2, 75-88, (1978)
- Temperli A., Künsch U., Schärer H., Konrad P., Suter H., Ott P., Eichenberger M., Schmid O.: Einfluss zweier Anbauweisen auf den Nitratgehalt von Kopfsalat. *Schweiz. landwirtsch. Forsch.* (im Druck)
- Vertraete W., Claes M., De Backere R. and Voets J.P.: The influence of Crotodur, Isodur and Nitroform on some soil microbiological populations and processes. *Z. Pflanzenernährung, Bodenkunde*, 135, (1973) 258-266

Table 1 - Test of the connection between nitrate content and lettuce weight (single head analysis)

Sampling Period and Production System	DF (1)	Correlation Coefficient Test							Rank Correlation Coefficient Test (2)		
		a(3)	r(4)	t calculated	Critical interval(6) $\alpha=0.05$ $\alpha=0.01$		Significance Level(7)	$r_s$ (5)	t calculated	Significance Level(7)	
79/1 Conv.	30	2.01	0.38	2.23	2.04	2.75	*	0.35	2.01	n.s.	
79/1 Bio.	30	1.61	0.53	3.51			**	0.34	2.01	n.s.	
79/2 Conv.	38	3.19	0.49	3.50	2.02	2.71	**	0.60	4.60	***	
79/2 Bio.	38	-0.42	-0.09	0.53			n.s.	0.20	1.23	n.s.	
80/1 Conv.	38	5.52	0.60	4.56	2.02	2.71	***	0.55	4.01	***	
80/1 Bio.	38	0.11	0.02	0.14			n.s.	0.16	1.00	n.s.	
80/2 Conv.	38	4.12	0.76	7.23	2.02	2.71	***	0.76	7.22	***	
80/2 Bio.	38	2.13	0.37	2.45			*	0.27	1.75	n.s.	
80/3 I Conv.	22	1.47	0.71	4.68	2.07	2.82	***	0.64	3.91	***	
80/3 I Bio.	22	0.69	0.23	1.09			n.s.	0.21	1.02	n.s.	
80/3 II Conv.	22	1.61	0.45	2.37	2.07	2.82	*	0.30	1.46	n.s.	
80/3 II Bio.	22	1.34	0.21	1.00			n.s.	0.42	2.14	*	

(1) DF = Degrees of Freedom

(2) Rank Correlation Coefficient (SPEARMAN test)

(3) Slope of Regression Line

(4) Correlation Coefficient

(5) Rank Correlation Coefficient

(6) Critical Interval for the 0-Hypothesis, i.e., no indication that nitrat content and yield may be correlated.

(7) Significance Level n.s. = Not significant ( $P \leq 0.05$ )

\* =  $P \leq 0.05$

\*\* =  $P \leq 0.01$

\*\*\* =  $P \leq 0.001$

Table 3 - Nitrate content of lettuce in relation to fertilization types (1)

Fertilization Class (5)		Average 1979/1-2 and 1980/1-2-3	LSD 5% (2)	Average 1980/1 and 1980/1-2	LSD 5% (2)
in FW (3)	a	705	137	269	198
	b	746		558	
	c			859	
	d	1103		946	
in DM (4)	a	13453	2803	5846	4370
	b	14993		11295	
	c			18144	
	d	22385		18819	

- (1) Wintersampling not included  
(2) LSD = Least Significant Difference  
(3) FW = Fresh Weight  
(4) DM = Dry Matter  
(5) cf. table 2

Table 4 - Ratio of organic nitrogen to nitrate-nitrogen in lettuce

Sampling Period	Number of Pairs	Ratio (1)		Significance Level (2)	
		Biological	Conventional		
June	79	4	56.2	9.8	***
October	79	5	8.7	7.7	n.s.
November	79	2	1.9	2.1	*
May	80	5	53.7	13.0	***
June	80	5	39.3	19.5	*
October I	80	3	26.1	15.4	*
October II	80	3	5.5	4.0	***
November	80	2	1.9	1.8	n.s.

(1) Org.N/N03-N in dry matter

(2) Significance level : n.s. = not significant

- \* =  $P \leq 0.05$   
\*\* =  $P \leq 0.01$   
\*\*\* =  $P \leq 0.001$

Fig. 1 Nitrat content of successive crops in relation to their fertilization according to two fertilization regimes.

1) 0 = Control

K100 = Farm Yard manure compost: 100 kg N/ha

K300 = " " " " : 300 kg N/ha

N100 = Mineral fertilization: 100 kg N/ha

N300 = " " " " : 300 kg N/ha

2) Columns with the same letters are not statistically different ( $p \leq 0.05$ )

3) 1,2,3. = first cut, second cut, third cut.

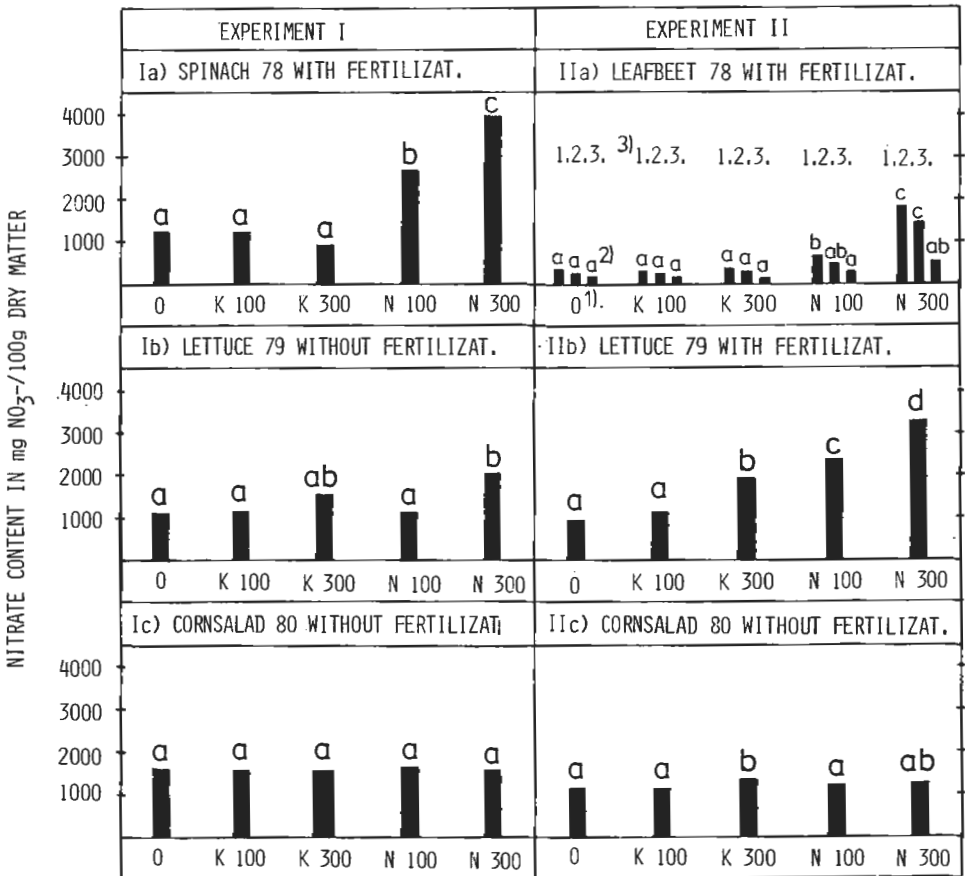


Fig.2 Yield in dry matter of successive crops in relation to their fertilization regimes.

- 1) Cumulative yield of 3 ents
- 2) Yield (kitchen trimmed lettuce)
- 3) cf Fig.1, 1)
- 4) Columns with the same letters are not statistically different ( $p \leq 0.05$ ).

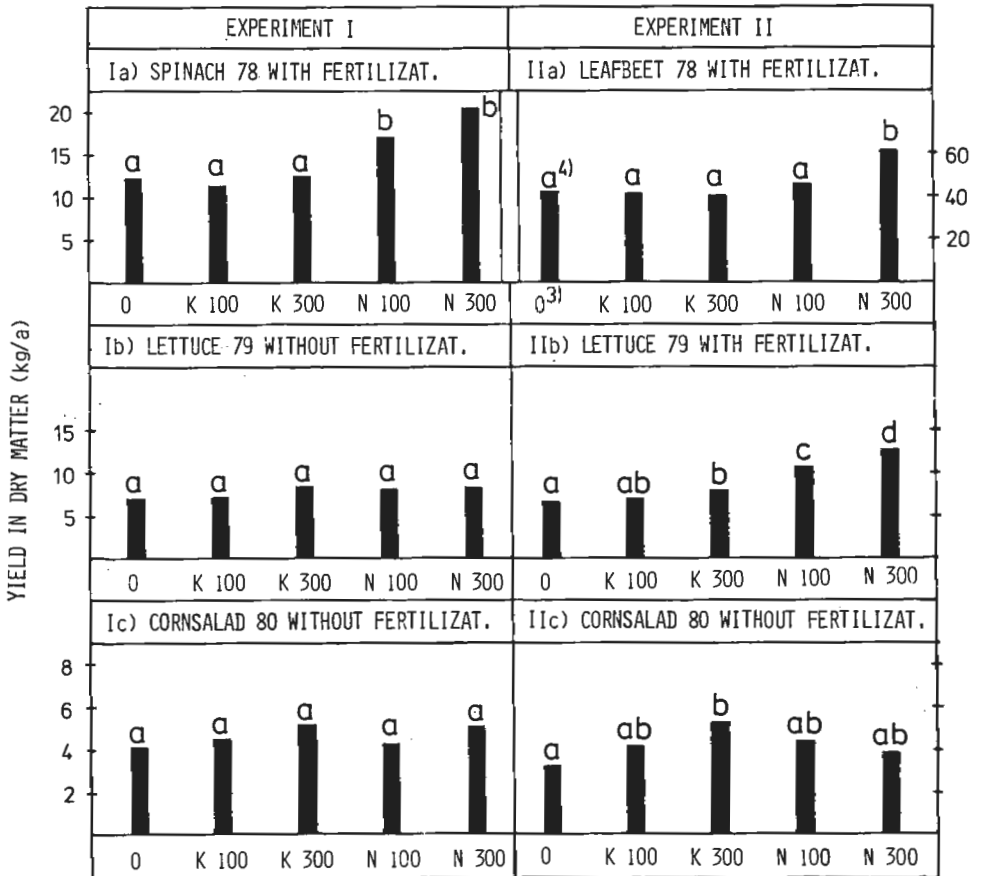




Fig.3 Plot experiment with "Nobel original" as a spinach variety.  
Nitrat content and dry matter yield (D.M. Yield) in relation to fertilization types.

1) cf. Fig. 1, 1)

2) Columns with the same letters are not statistically different ( $p \leq 0.05$ ).

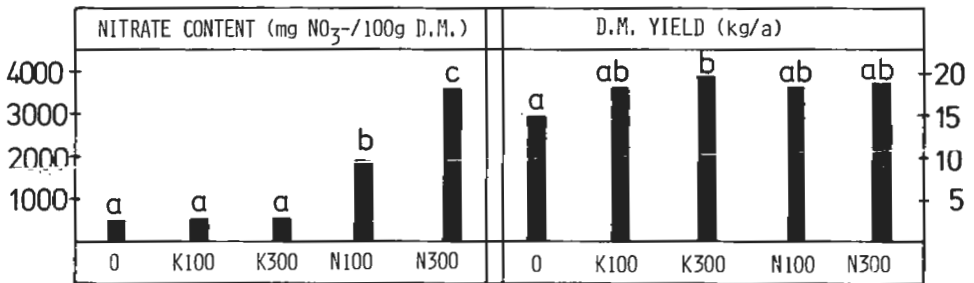
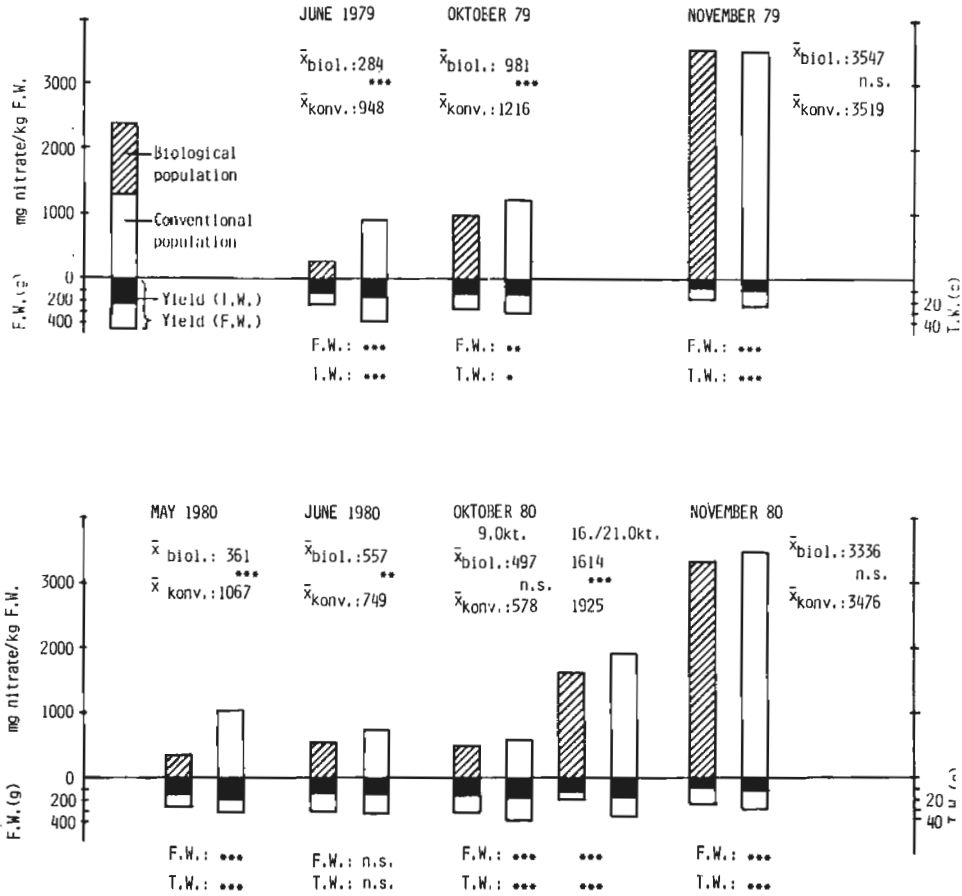


Fig.4 Field survey with lettuces. Nitrat content and yield

$\bar{x}$  : Average  
 F.W.(g): Average fresh weight (g)  
 D.W.(g): Average dry matter weight (g)

n.s. : not significant  
 \* :  $p \leq 0.05$   
 \*\* :  $p \leq 0.01$   
 \*\*\* :  $p \leq 0.001$



PLANT FOODS FOR HUMAN PROTEIN NUTRITION: STUDIES ON SOY,  
LUPIN AND MIXED VEGETABLE SOURCES.

Ricardo Uauy M.D. Ph.D. and Enrique Yáñez, Chemist

\* Presented to the X Congress of the International  
Association for Quality Research on Food Plants.  
September 6 - 8, 1982 Kiel Germany.

University of Chile  
Institute of Nutrition and Food Technology  
Casilla 15138 - Santiago 11  
Chile

Send proofs and all correspondence to Dr. Ricardo Uauy.

INTRODUCTION

In a world of limited non renewable natural resources those materials which can be renovated or recycled become crucial to ecological equilibrium. Moreover plant photosynthesis represents at present the only significant mechanism available for capturing solar energy. These facts explain why plants directly or indirectly are the key component of the mammalian food system.

Human survival and evolution have been largely oriented by food availability. Present and future human welfare individually and socially is partly determined by the satisfaction of nutritional needs. Plant foods represent the major source of nutrients for humans(1). They have been traditionally associated with the satisfaction of energy needs but undoubtedly they provide valuable amino nitrogen for maintenance and growth as well as specific essential vitamins and minerals . The dilemma of producing animal versus plant foods is commanded by the economic realities of the market place on a global scale and not by ecological, biological, political or ethical considerations. The human demand for protein is not equally satisfied by plant or animal foods. The consumer in the industrialized as well as in the developing world prefers animal protein and is willing to pay considerably higher prices if he can afford it (2). The preference of animal over vegetable protein is in part derived from the consumer's perception of quality and satisfaction. These

subjective sensations are related to food beliefs and habits established early on in life and to the socio cultural environment where they are inserted. The biological quality of a given protein is weakly correlated with the market price. Nevertheless nutritional quality is a necessary condition in gaining consumer preference over time. We must stress that this is a necessary but insufficient condition. There are many examples of massive technological efforts in the development of new, economically advantageous protein sources of excellent nutritional value which failed because consumer acceptability and preference were insufficient to assure a significant demand over time (2). This paper will consider some of the important issues in the evaluation of the nutritional quality of various plant foods as a necessary step to gain consumer preference.

#### The Assesment of Protein Quality

Protein quality is determined by digestibility and utilization. Traditionally plant proteins have been shown to have lower absorption and retention than animal proteins. New methods of food processing and the introduction of new genetic varieties have improved the potential nutritive value of plants. The usual methods of testing protein quality, using rapidly growing animals or malnourished children, feeding a single source of protein, tend to underestimate the protein quality of plants relative to animal foods (3).

Essential amino acid needs are directly related to protein turnover rate which is greatly increased by growth (4). A given protein may support optimal growth of normal children but may be insufficient to meet the requirements of accelerated growth in malnourished children or the growing rat. The possible essential amino acid complementation observed with cereal-legume mixes or with other mixed plant foods is lost when a single source of protein is studied (5). Thus quality is underestimated.

The evaluation of protein quality of plant foods starts with the proximate analysis which includes an estimation of total N content and fiber. The amino acid composition yields valuable information which can be compared to an existing reference pattern to calculate the chemical score. Alternatively using the known essential amino acid requirements, the amount of a given protein to meet these needs can be derived. Both indices are a measure of protein quality. The evaluation of digestibility at present relies mainly on in vivo animal or human studies. Some attempts on in vitro testing of digestibility and utilization are very promising but the methods need further validation (6). The chemical analysis in some cases includes the search for antinutritional factors present in plant foods which will adversely affect biological quality.

The testing then proceeds to the experimental phase

using the rapidly growing weaned rat or other small mammals. Ideally quality should be studied using a multilevel protein intake method, measuring the effect of the protein source on N retention and not solely on growth. The widely used Protein Efficiency Ratio (PER) is not the ideal method and tends to underestimate the quality of vegetable proteins (7). The toxicological studies should involve at least a three generation feeding study observing the effects on body size, organ development and biochemical function as well as intact tissue structure.

Human studies are permissible after the previous steps have been cleared and undoubtedly they represent the ultimate test in terms of extrinsic validity. These studies have important methodological constraints inherent to the N balance methodology and the use of humans as experimental subjects. Their internal validity is far from flawless. An initial step is the evaluation of N balance in malnourished children during rapid growth or after nutritional recovery. Very few human N balance studies have been conducted in normal children. The alternative in industrialized countries has been to study University students or military personnel. N digestibility and retention can be studied as well as acute and chronic tolerance and acceptability. These types of studies are done in small groups of subjects and are not representative of the population at large, especially in reference to acceptability. Therefore field studies under real life conditions are a necessary step befo-

re the nutritional quality evaluated in the lab can serve the marketing needs and finally help determine consumer preference and a stable demand.

#### Studies on Soy Protein.

Various studies done in the previous two decades showed that a high proportion of children under six years of age in Chile suffered from protein-energy malnutrition in spite of the widespread distribution of cow's milk undertaken by the Ministry of Health (8). Considering the high cost of the milk program we decided to study the feasibility of developing high quality milk substitutes containing adequate concentrations of plant proteins for preschool children (2-6 years of age). This group has lower protein and essential N needs as compared to infants and shows a high prevalence of lactose intolerance which is a potential problem if large milk intakes are given. The milk substitute was designed according to the following characteristics which would be advantageous relative to milk: a) it should provide an adequate concentration of high quality protein at a low cost; b) it should be low in lactose and the remaining carbohydrates should be highly digestible; c) it should be consumed mainly by the child and not by other members of the family.

Based on these considerations a milk substitute named



Fortesan was designed using wheat-soy blend (WSB) (bulgur wheat 73%, defatted soy flour 20%, vegetable oil 4%, vitamins and minerals 3%) as a base, with addition of dried skim milk. Its formula was as follows: extruded WSB 70%, powdered fat-free milk 25% and cocoa powder 5%. The proximal chemical analysis showed that Fortesan contained 23% protein, 4% fat and 6.6% total ash with an energy content of 345 Kcal/100 g. The product was diluted in water and drank as a cold or hot beverage. The biological quality of the protein in Fortesan was tested in rats. The PER was 2.65 (casein 2.87) and its NPU was 70 (casein 72). These results showed that the biological value of Fortesan was similar to that observed for casein (9). The protein quality of Fortesan was also tested in normal children aged 2 to 4 months in a field trial. The babies were fed a formula containing (per 100 ml): Fortesan 10 g, sucrose 10 g, and corn oil 2 g, total energy content was 91 Kcal. Infants received daily over 120 Kcal/kg and 3 g of protein/kg 20 days. Acceptability of the formula was excellent and the rate of weight gain did not differ from that of the control group fed cow's milk with a similar energy content (8-9).

A metabolic nitrogen balance study was performed in a group of 8 infants aged 4 to 11 months during their recovery from malnutrition. For the initial 15 days the infants were fed skimmed milk to which vegetable oil was added, on day 16 the babies were switched to Fortesan to complete 30 days. For the last 5 days of

the "milk" or "Fortesan" periods urine and feces were collected in order to calculate nitrogen balance. The protein intake was approximately 4.1 g/kg·day with an energy intake of 130 Kcal/kg·day. Both Fortesan and milk had excellent acceptability. The average weight gain of the control diet was 6.7 g/kg·day and 5.7 g/kg·day for Fortesan. The difference was not significant. The results of the N balance studies are shown in table 1.

Although the design of this study was not ideal because subjects were not randomized and only one level was tested it showed a similar nitrogen absorption for children fed milk and Fortesan. Retention of absorbed N was 16% for milk and 29% for Fortesan ( $p > 0.001$ ) (9).

A 9-month study to test the longterm acceptability of Fortesan was conducted in 1400 children, 1 to 6 years of age, in the province of Curicó. A group of 350 children who received milk served as a control. Two kilograms of Fortesan or milk were given to the mothers at the Health Centers every 6 weeks. On this occasion each child was checked by a doctor who performed a physical examination and detailed anthropometry. Growth of the children and acceptability of Fortesan were good. With the support of these studies milk substitutes based predominantly on plant proteins were introduced at the national level (10). Over ten thousand metric tons of these type of product were distributed yearly for the 1975-

1980 period. For 1981 the Ministry of Health distributed 8.619 metric tons of this predominantly plant protein food (11).

Fortesan was also tested in 8 young adults and 7 elderly males who participated in a nitrogen balance study. Three levels of dietary protein, 0.4, 0.8 and 1.6 g/kg·day, were provided by Fortesan while the energy intake was kept constant at 40 Kcal/kg·day. Egg was used as a reference standard protein. The subjects received daily a vitamin-mineral supplement to meet these requirements. The first 6 days were taken as an adaptation phase and the last 5 days were for metabolic study. Urine and feces were collected daily and analyzed for their N content. Total urinary creatinine was determined daily as a way of checking the accuracy of the 24-hr urine collection. Nitrogen balance and apparent digestibility were calculated to evaluate protein utilization. All subjects were in negative N balance at the level of 0.4 g/kg·day. Mean value was -25 mg N/kg·day for young adults and -22 mg N/kg·day for the elderly. At the level of 0.8 g protein/kg·day three out of the 8 young adult men and four out of the 7 aged subjects were in positive N balance. As expected all the subjects were in positive N balance at the highest level of protein intake (12). Apparent protein digestibility of Fortesan remained unchanged in young adults consuming 0.4 and 0.8 g protein/kg·day (table 2) but increased significantly at the level of 1.6 g/kg·day ( $p < 0.05$ ). Moreover, no significant differences were found in the apparent protein digesti-

bility of the test diets between the elderly and young adult subjects consuming 0.4 and 0.8 g protein/kg·day, but at the level of 1.6 g protein/kg·day the protein digestibility was also higher in the aged ( $p < 0.05$ ). The increase in apparent N digestibility at higher protein intakes can be explained by the lower contribution of endogenous fecal nitrogen.

In summary, it was concluded that the protein digestibility and the efficiency of protein utilization of this predominantly vegetable mix was comparable to the reference protein.

More recently our studies have included the metabolic evaluation of soy protein isolates. These are used texturized as simulators or replacers of animal food and in the manufacturing of hypoallergenic infant formula.

We tested the protein quality of SPF-200<sup>R</sup> (Ralston Purina) texturized isolated soy protein on 7 preschool children and compared it to milk protein. Apparent N digestibility, N balance and serum biochemical response to graded levels of N intake were measured. Seven healthy well nourished children aged 35 to 62 months were given for 8 day periods 1.5, 1.25, 1.0 and 0.75 g protein/kg·day of SPF and milk at a constant energy intake (13). Apparent digestibility for milk ranged from 83% to 75% and for SPF ranged from 86% to 70%. The slopes of the N balance response to

the graded intakes were not significantly different. Lower serum cholesterol and lipids were observed with the soy isolate. Serum aminotransferases became elevated at low protein intakes for both sources. Fig. 1 shows the N balance response to SPF and milk. This soy isolate was demonstrated to have a Net Protein Utilization of 96% relative to milk and a Biological Value of 86% when compared to milk (13).

A study conducted on 8 malnourished children during rapid growth tested a different soy isolate Supro 710<sup>R</sup> (Ralston Purina). This time the product tested was intended for infant formula, Prosobee<sup>R</sup> (Bristol Myers), therefore it was supplemented with 0.1% L. methionine. In this case the soy isolate formula was compared to casein (Casec<sup>R</sup> Bristol Myers) and both were fed at 2.5 g/kg·day. The digestibility for the isolate was slightly less than for casein but N retention was better for the soy isolate product. This latter fact explains the similar N retention observed with the products. Table 3 shows a summary of the main results of this metabolic study (14).

#### Studies on Lupins

Lupin is an ancient leguminous plant used as food by people surrounding the Mediterranean sea and by those living in the Andean highlands. The old lupins contained alkaloids such as

lupanine and spartein which are responsible for their bitter taste and the antinutritive properties. More recently low-alkaloid or "sweet" lupins have been developed in Germany by von Sengbusch using genetic selection methodology.

The proximal composition of sweet lupins is comparable to that of soybeans. In fact they contain from 35 to 40% protein and about 12% oil. The protein is markedly deficient in sulphur aminoacids (methionine + cystine). This fact explains the low protein efficiency ratio of lupin protein when fed to weanling rats as the sole source of protein. When lupin protein is supplemented with graded levels of DL-methionine, PER improves significantly. A summary of the initial phase of the nutritional evaluation of sweet lupins is shown in table 4 (15).

In order to test the safety of sweet lupinus toxicity studies were performed in rats consuming Lupinus albus and L. luteus. Animals were given a diet containing 20% protein derived from lupin supplemented with 0.3% DL-methionine. The rats fed supplemented L. luteus gained weight practically at the same rate as those fed a casein control diet, but those fed L. albus gained weight at a slightly lower rate (16). On autopsy no differences were observed in the organ-to-body weight ratio of liver, spleen, heart and adrenals after 112 days of feeding the experimental diets. Gross autopsy finding, as well as microscopic examination

disclosed no significant differences. Recently these data have been expanded by performing a multigeneration study in rats (17). This study showed no biochemical, histological or morphological alterations attributable to lupins for up to three generations.

In an effort to expand the consumption of sweet lupins by man, we ran a study to measure the longterm acceptability and tolerance of lupins. A control cracker based solely on wheat flour and an experimental cracker which contained a lupin-wheat mix in a ratio of 1:1 were compared in 31 subjects. For 2 months half of the subjects received 150 g of lupin, the remaining were given the control cracker. At the end of this period the groups were switched using a double blind design. The acceptability of both types of cracker was excellent (98%) at the start of the experiment. Tolerance was very good although one group experienced significantly less gastrointestinal symptoms than the other. These manifestations were attributable to satiety independent of the type of cracker being eaten (18).

The protein quality of Lupinus albus var Multolupa was tested in 8 young adult males by the nitrogen balance (BN) method, using egg as a reference protein. Lupin protein was fed at 0.4, 0.6 and 0.8 g/kg·day. For egg protein the levels tested were 0.30, 0.45 and 0.60 g/kg·day. Energy intake was adjusted for each individual and kept constant at a mean of 47 and 49 Kcal/kg day for lupin and egg respectively. Each level was evaluated

for ten days, the first six were considered for adaptation and the last four days for the balance period.

The levels of protein intake were randomly assigned according to a modified latin square desing. The mean values of N balance for lupin were -12.2, 3.2 and +19.4 mg N/kg·day for the levels of 0.4, 0.6 and 0.8 g of protein intake. For egg the resulting values were -14.1, -0.6 and +15.6 mg N/kg·day for protein intakes of 0.3, 0.45 and 0.6 g/kg·day, respectively. The regression coefficients of N intake (NI) and nitrogen absorbed (NA) on N retained (NR) were calculated. The equations were: (all values expressed as mg N/kg·day).

Lupin: NR = 0.49 NI - 40.4	Egg : NR = 0.65 NI - 42.1
NR = 0.55 NA - 33.3	NR = 0.58 NA - 26.7

It was concluded that the protein of L. albus var Multolupa has a good quality for young adult males when fed as the sole source of dietary protein, with an NPU of 79 and biological value of 84 as compared to egg protein (19).

#### Studies of mixed predominantly vegetable protein diets.

As part of a multicenter project to better define protein energy needs at the global level sponsored by United Nations University (UNU) we studied the protein quality of the



Chilean mixed diet and compared it to whole dried egg protein. The Chilean mixed diet for low income groups is based predominantly on mixed plant proteins. Wheat 31%, potatoes 15%, rice 10%, beans 19%, with only 25% animal protein.

Eight "healthy" subjects aged 20 to 31 years were given 0.40, 0.55 and 0.70 g of protein/kg·day of the mixed diet and 0.30, 0.45 and 0.60 g egg protein/kg·day. The N balance response to each dietary protein was taken as a measure of quality.

Comparison of the slopes of the balance response to N intake as a measure of utilization showed no significant differences between both proteins. The apparent protein digestibility of the mixed diet 69% was significantly lower than the 80% observed for egg protein, accounting for the lower biological value (20). Table 5 summarizes these results. This study suggests that N digestibility and not retention of absorbed aminoacids is the key factor responsible for the lower biological value of mixed plant proteins. We have approached this question by studying the effect of adding fiber to an egg protein diet fed at a level of 0.8 g/kg·day. Our results feeding 6 to 20 g of fiber per day show an increase in fecal N and energy loss coupled to a decline in urinary N loss in such a way that N balance remains the same (21).

These and other 30 studies performed throughout the

world under U.N. University sponsorship served to stress the influence of digestibility on the protein quality of mixed plant protein diets (22). Recently the Joint WHO/FAO/UNU expert consultation on protein energy requirements examined new data on human protein and aminoacid needs and concluded in lowering sulfur essential aminoacid content of the reference protein from 35 to 25 mg per g of protein at the same time it increased the total protein safe recommended allowances for various age groups by about 25% (23). The influence of these changes on the assesment and interpretation of protein quality of mixed plant protein will be profound. The issue of aminoacid composition as the limiting factor for N utilization of mixed diets becomes less important and factors which affect protein digestibility become critical.

We conclude that the evaluation of protein quality is fundamental in the development of new plant protein foods for humans. It serves both the agricultural breeder and the food technologist in the search for better nutritional quality. Plants represent valuable sources of edible protein for humans if appropriate varieties and processing technologies are used. The protein utilization of mixed vegetable sources is good although digestibility is lower than for animal proteins. Present and future protein needs at a global level can be adequately met using vegetables as the predominant source of this important nutrient.

REFERENCE

- (1) Slessor, M. (1976) Energy and Food. In: Scrimshaw, N.S. and Behar, M. (eds) Nutrition and Agricultural Development. New York: Plenum, pp. 171-178.
- (2) Mauron, J. (1975). Future trends in the application of new sources of protein. *Bibl.Nutr.Diet* N<sup>o</sup> 21: 147-162.
- (3) Rand, W.N., Scrimshaw, N.S. and Young, V.R. (1977). Determination of protein allowances in human adults from nitrogen balance data. *Amer.J.Clin.Nutr.* 30: 1129- 1134.
- (4) Young, V.R., Steffee, W.P., Pencharz, P.B., Winterer, J.C. and Scrimshaw, N.S. (1975). Total human body protein synthesis in relation to protein requirements at various ages. *Nature* 253: 192- 193.
- (5) Protein Energy Advisory Group (1973). Upgrading human nutrition through the improvement of food legumes. New York Protein Energy Advisory Group Statement 22: 15-42.
- (6) Techniques for protein evaluation (1980). In: Pellet, P.L. and Young, V.R., eds. Nutritional evaluation of protein foods. Tokyo, United Nations University Press, pp. 7-38.
- (7) Pellet, P.L. (1978). Protein quality evaluation revisited. *Food Technol.* 32: 61-79.
- (8) Monckeberg, F., E. Yáñez, D. Ballester, N. Merchack, S. Jarpa, J. Martínez, M. de la L. Alvarez, J. Alvear, I. Contreras, V. Gattas, M. Aguayo, K. Bell, M.T. Gúzman, M. Vial, P. Minte, A. Maccioni, C.D. Chichester y T.C. Lee (1976). Desarrollo de una fórmula alimentaria (Fortesán) para pre-escolares. *Arch. Latinoamericano Nutr.* 26: 426-447.
- (9) Monckeberg, F., Yáñez, E., Ballester, D., Chichester, C.O. and Lee, T.C. (1975). Effects of processing on the nutritive value of WSB-skim milk mixtures for infants. In: Friedman, M. Protein nutritional quality of foods and feeds. New York; Marcel Dekker, Part 2, p. 417-431.
- (10) Monckeberg, F. and Chichester, C. (1979). The Chilean experience with fortified weaning foods. INTA Technical Report Series 68/79 Santiago, Chile pp. 1-21.
- (11) Raezynski, D. and Oyarzo, C. (1981). Porqué cae la tasa de mortalidad infantil en Chile. Colección Estudios CIEPLAN. Santiago-Chile N<sup>o</sup> 55, pp. 45-84.

- (12) Cheng, A.H.R., Gómez, A., Bergan, J.G., Lee, T.C., Monckeberg, F. and Chichester, C.O. (1978). Comparative nitrogen balance study between young and aged adults using three levels of protein intake from a combination wheat-soy-milk mixture. *Am.J.Clin.Nutr.* 31: 12-22.
- (13) Egaña, J.I., Fuentes, A., Steinke, F.H., Uauy, R. (1982). Protein quality comparison of a new isolated soy protein and milk in Chilean preschool children. *Nutrition Research* (in press).
- (14) Castillo-Durán, C., Cheng, A., Saitúa, M.T., Uauy, R. (1982). Controlled evaluation of the biological quality of a new soy protein isolate on infants. Abstract: Proceedings of Latin American Pediatric Research Society Congress, Lima 1982.
- (15) Yáñez, E., Ivanovic, D. and Ballester, D. Chemical and nutritional evaluation of sweet lupines. Submitted for publication.
- (16) Ballester, D., Yáñez, E., García, R., Erazo, S., López, F., Haardt, E., Cornejo, S., López, A., Pokniak, J. and Chichester, C.O. Chemical composition, nutritive value, and toxicological evaluation of two species of sweet lupine (Lupinus albus and Lupinus luteus). *J.Agric.Food Chem.* 28: 402-405, 1980.
- (17) Ballester, D., Saitúa, M.T., Brunser, O., Owen, D.F. and Yáñez, E. Safety evaluation of sweet lupine. I. A 9-month feeding study in rats with Lupinus albus var Multolupa. Submitted for publication.
- (18) Uauy, R., Gattas, V., Yáñez, E. (1982). Tolerance and chronic acceptability of lupin flour in young adults. (submitted for publication).
- (19) Egaña, J.I., Cassorla, X., Yáñez, E., Uauy, R. (1981). Protein quality evaluation of lupin in young adult males. *Abstract Revista Chilena de Nutrición* 9: 217.
- (20) Yáñez, E., Uauy, R., Ballester, D., Barrera, G., Chávez, N., Gúzman, E., Saitúa, M.T. and Zacarías, I. (1982). Capacity of the Chilean mixed diet to meet the protein and energy requirements of young adult males. *Br.J.Nutr.* 47: 1-10.
- (21) Espinoza, J., Brunser, O., Araya, M., Egaña, J.I., Pacheco, I., Krause, S. (1982). Effect of dietary fiber on digestibility of nutrients of a typical Chilean diet. In: Rand, W.M., Uauy, R., Scrimshaw, N.S. (eds). Protein energy requirements in developing countries results of internationally coordinated research. Tokyo, United Nations University Press (In Press).
- (22) Rand, W.M., Uauy, R., Scrimshaw, N.S. (eds) (1982). Protein energy requirements in developing countries results of internationally coordinated research. Tokyo United Nations University Press (In Press).
- (23) FAO/WHO/UNU (1982). Report of energy and protein requirements expert consultation. Rome October 1981 (In Press).

TABLE 1

## N BALANCE STUDIES IN 8 MALNOURISHED INFANTS

PROTEIN SOURCE	MEAN NITROGEN (MG · KG · DAY)			
	INTAKE	FECAL	URINARY	RETAINED
MILK	528	110	333	85
FORTESAN	610	133	300	177

TABLE 2

## APPARENT PROTEIN DIGESTIBILITY OF FORTESAN (%)

	INTAKE G PROTEIN · KG · DAY		
	0.4	0.8	1.6
	YOUNG ADULTS	84.9 ± 5.1*	84.9 ± 3.2
ELDERLY	82.1 ± 6.3	87.0 ± 5.6	93.0 ± 1.4

\* Mean ± S.D.

TABLE 3

APPARENT N BALANCE IN 8 MALNOURISHED INFANTS FED ISOLATED SOY  
PROTEIN 2.5 G · KG · DAY

	SOY	CASEIN	PAIRED T TEST P <
	DIGESTIBILITY (%)	81.4 ± 4.8*	91.5 ± 3.8
TOTAL URINARY NITROGEN (MG N · KG · DAY)	134 ± 22.8	179 ± 34.5	.001
N BALANCE (MG N · KG · DAY)	163 ± 50.2	142 ± 45.1	N.S.

\* Mean ± S.D.

TABLE 4

ESSENTIAL AMINO ACID CONTENT OF LUPINUS ALBUS  
VAR. MULTOLUPA AND BIOLOGICAL QUALITY OF THE PROTEIN

AMINO ACID	G · 16 G N
ISOLEUCINE	4.1
LEUCINE	7.4
LYSINE	4.3
METHIONINE + CYSTINE	1.7
PHENYLALANINE + TYROSINE	8.7
THREONINE	4.1
TRYPTOPHAN	-
VALINE	3.6
	PER
LUPIN	1.08 ± 0.17*
LUPIN + 0.1% DL-METH	2.14 ± 0.21
CASEIN	2.50 ± 0.25

\* Mean ± S.D.

TABLE 5

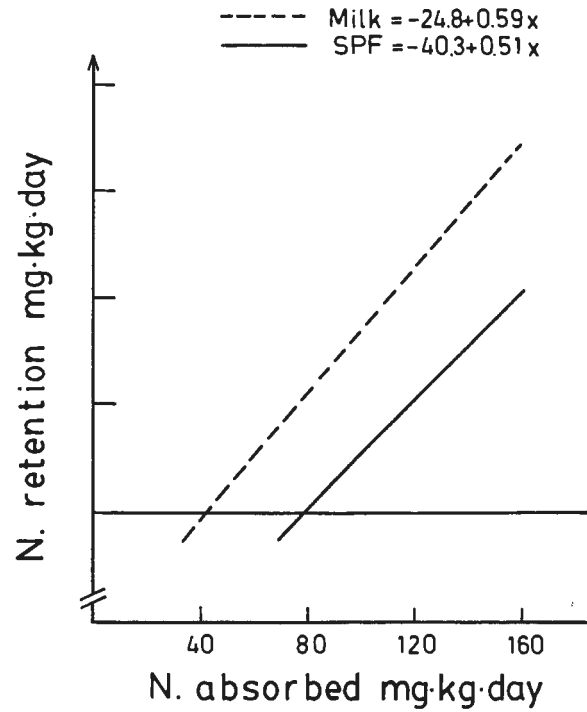
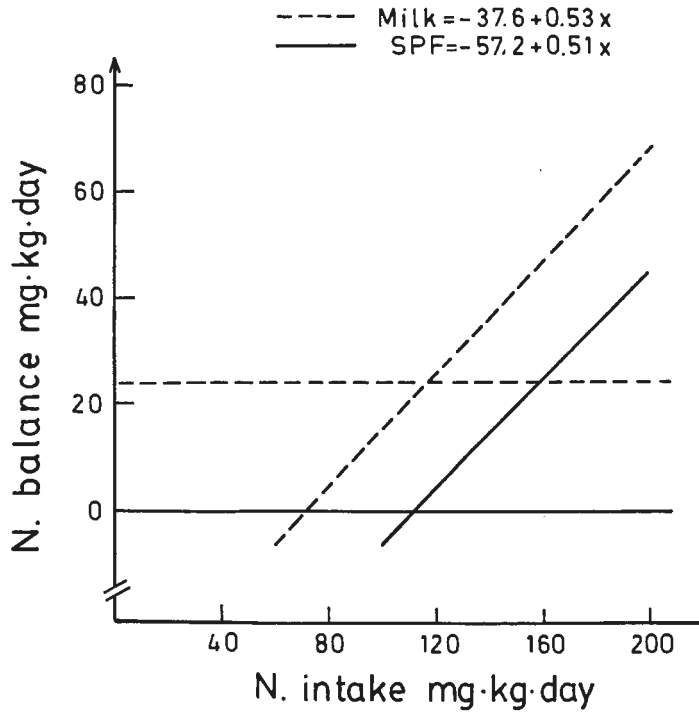
NITROGEN BALANCE MG/KG·D OF A MIXED DIET AND EGG FOR 8  
YOUNG ADULT MALES

	DIETARY PROTEIN					
	MIXED			EGG		
N INTAKE	64	88	112	48	72	96
FECAL N	33.2	36.2	34.6	18.1	22.2	18.9
URINARY N	69.1	76.8	80.4	54.4	63.8	72.9
N BALANCE*	-43.4	-30.0	- 8.0	-29.5	-19.0	- 0.8

\* Estimated "true" balance assuming 5 mg N/kg·d for intergumental and miscellaneous losses.

Fig. 1

# RELATIONSHIP BETWEEN N. INTAKE OR N. ABSORBED AND APPARENT N. BALANCE FOR SOYBEAN PROTEIN ISOLATE (SPF-200) AND MILK.







Paper Presented at the Xth joint Congress of CIQ and DGG  
Kiel, West Germany., September 1982.

Quantitative and Qualitative Evaluation of Proteins in Some  
Vegan Lactovegetarian and Omnivorous Diets.

Baboo M. Nair,  
Dept of Nutrition,  
Chemical Centre, University of Lund.  
P. O. Box 740,  
S-220 07 - Lund., Sweden.

## INTRODUCTION

All kind of human activity whether it be eating a delicious dinner, playing a game of tennis, hunting an animal in the forest or reading an interesting book is ultimately a manifestation of cell activity. Living cells are in a state of dynamic and unstable organisation of molecular activity, which need constant supply of energy and raw materials. The essential nutrients include minerals, lipids, vitamins and amino acids. Basically the amount of nutrients required by the individuals depend on a number of factors acting independently and in combination. Man usually meets his requirement of essential nutrients by ingesting food. Primarily eating food is in response to a call for the satisfaction of a basic urge.

How ever food is not merely a source of nutrients and the food habits as many other facets of human behaviour is in practise a result of an interaction among a large number of factors. In selecting food for own consumption human beings depend very much on the sensory qualities of food items. Flavour, colour, taste and other physical properties like texture and consistency are important characteristics of food which exert great influence on the acceptance of food. Not only the qualities of food itself but also the nature of the circumstances in which the food is served affect the food selection and habit.

Food habits of a vast majority of the populations is also a matter of attitudes resulting from the previous experience of taste, smell and pleasant and unpleasant personal impressions in connection with eating of certain foods. Some of us are omnivorous, some are lactovegetarians and others pure vegans. Some by chance and some by choice ( 1 ). When the food supply is sufficient and diversified the diets are also generally wellbalanced.

## PROTEIN IN THE DIET

Various aspects of the functions of protein and amino acids are very well discussed in many earlier publications ( 2, 3 ). The daily requirement of protein in human diet is generally expressed in grams per kilogram body weight per day of some standard protein. Most of the recommendations are based on the concept that the minimum requirement should be an amount equivalent to the obligatory daily loss of nitrogen from the body, with necessary modifications. The quality of the protein consumed is important as it directly influences the requirement and intake ( 4 ). Protein quality depends primarily on the content of different amino acids. The biological value and net protein utilization or protein efficiency ratio can be determined by feeding young laboratory animals and measuring their weight gains and nitrogen intake and excretion. The bioassay methods are expensive, laborious to conduct and need large size samples. It also is not applicable for evaluating the protein consumed by people in dietary surveys. Biological value is regarded as being directly dependent on the amino acid composition and it is reasonable to assume that the relative quantities of various amino acids in the diet could be used as a reliable indicator of protein quality ( 5, 6, 7 ).

There has been a general public awareness of the world food situation specially in relation to protein for the last many years. Production of protein is still far below the average world production in many developing countries. A very wide range of factors including political measures, economic policies, level of technical development and knowledge of nutrition has been recognized to be the cause of protein deficiency which exist in many areas of the world. Proteins from animal sources are of high quality but rather expensive. Proteins from plant sources are comparatively cheap and by suitable combination their quality can be raised to a very high level. Not only as a source of protein but also as a way of introducing more dietary fibre, foods of plant origin are of importance. With respect to the total economy of the world vegetarian foods are of interest as it would improve the food situation in many ways. There are some detailed clinical investigations ( 8 ) which show that the vegetarian foods have also some protective properties against certain systemic pathological states in man.

Most of the information concerning the composition of food is based on the data available as food tables. Composition of the mixed food and its dietary value is often very different from that of the original raw components. Here in this presentation we shall discuss the quantitative and qualitative aspects of proteins in some omnivorous, lactovegetarian and vegan diet-samples collected in connection with an extensive food consumption survey by duplicate portion technique ( 9 ).

---



---

#### SAMPLE COLLECTION

The diet samples consisted of food and drink consumed during a given day. Every thing consumed during the twenty four hours was duplicated as exactly as possible and collected in a two litre single service carton usually used for filling milk. In addition a description of the foods was also submitted along with the samples.

---



---

#### SAMPLE PREPARATION

The duplicate, 1-day, mixed-food diet samples were first homogenized in an Ultra Turrax stainless-steel homogenizer, and the fat was extracted with chloroform and then with 50% Methanol. Then the fat free suspension was lyophilized and ground to a fine powder before further analysis.

#### PROTEIN DETERMINATION

Nitrogen was determined employing a modified kjeldahl method (10,11), and the protein was calculated using 6,25 as conversion factor.

## AMINO ACID ANALYSIS

All the amino acids except tryptophan, methionine and cysteine were determined by gas-liquid chromatography ( 12, 13 ). Tryptophan was determined by a spectrofluorometric method ( 14,15 ). Methionine and cysteine were determined by ion-exchange chromatography after performic acid oxidation prior to acid hydrolysis ( 16, 17 ).

## RESULTS AND DISCUSSION

For an adult male the estimate ( 18 ) of safe level of intake of protein in terms of egg protein is 0.57 gr / kg / day (0.52 gr / kg / day for women), which is about half of that of the recommended for an one year old infant. Egg protein is of very high quality and is 100% utilized when fed at or just below the level of requirement. There are differences of opinion regarding the methods for the determination of protein quality ( 19 ). There have also been doubts about the applicability of the protein quality determinations made on animals to human beings. However values of net protein utilization (npu) of cereals measured on rats and directly on children show good agreement ( 20 ) and also accord with theoretical estimates based on the proportion of essential amino acids in their proteins.

---

Figure . 1.

---

As the figure. 1. shows protein content of the omnivorous diet samples were 59.9 gr / day for male and 47.7 gr / day for the females respectively. About 40 % of the samples contained more than 50 gr protein. It is also clear from the figure that the samples supplied by the male omnivorous individuals contained more protein and energy compared to the samples collected from female participants. However the protein content per 1000 kcal energy was 30.4 gr in the samples from females which is somewhat higher than the corresponding figure for male participants.

---

Figure . 2

---

In the figure. 2. similar data on protein content as well as energy content of the lactovegetarian diets are presented. Here also it is observed that the lactovegetarian males consumed considerably higher amounts of protein and energy in relation to the female lactovegetarians. The lactovegetarian females are low energy consumers. But the protein content per 1000 Kcal was more in the diets of female lactovegetarians.

In the next figure (figure.3) the energy content and protein

---

Figure . 3.

---

content of the vegan diet samples are presented. The vegan individuals are low protein and low energy consumers.

These diets are specially selected by the participants to contain low amount of both of the nutrients. Here again the male vegan individuals on an average consumes more protein per day when compared to the corresponding female participants. The protein content of the samples from male vegans in relation to their energy content was higher than the values for female vegans.

---

Table .1., Table . 2.

---

In the table.1, data on the protein content of the diets from all the three categories of participants are presented expressed in gr / day, and in table. 2 the protein content is expressed in relation to the energy content, for the purpose of easy comparison. It is clear that the omnivorous diets are high in protein content compared to the vegan diets which contained the lowest amount of protein. However the lactovegetarian diets contained amounts of protein much higher than the vegan diets and also the omnivorous diets. In all the categories males consumed more protein than the females. Average body weight of the males and females did not differ very much among the vegans and lactovegetarians. But the average body weight of male omnivores were higher (about 80 kg ) than the female omnivores (about 60 kg).

Normal Swedish diet is omnivorous. And a description of the components of one of the omnivorous diets is given in

---

Table . 3.

---

table 3. It contains food items from both animal and plant sources. Meat and fish poultry bread and milk are included in the omnivorous diets. Eventhough the omnivorous diets are mixed, it is considered to have some objectionable qualities from the nutritional point of view specially about the content and nature of the fat and carbohydrates. Modern dietary recommendations consequently concentrate on the increased consumption of bread and reduced consumption of fat and refined carbohydrates. When these recommendations are followed the protein intake is expected to be sufficient with respect to quantity and quality.

Nevertheless there are a number of people who avoid meat and fish in their food selection for one reason or the other. In their diet only food from animal source is the dairy products. A typical lactovegetarian diet is described in the table .4.

---

Table . 4.

---

In the lactovegetarian diet the meat products fish and egg are substituted by large quantities of beverages.

The vegan diet is based exclusively on food from plant sources. Vegetables fruits and berries, cereals and legumes root crops are the important components. Some vegans eat all their food in the raw form.

In the following table (table. 5.) a vegan diet is described.

Table . 5.

All the knowledge about the quality of food proteins and their utilization in the various parts of the world, shows that it is possible to design a diet which can be satisfactory from the point of view of protein nutrition. However it would also require that the selection of food components and composition of meals are made on the basis of the knowledge of the quality and quantity of the protein in the food products available for consumption. The vegan diets are relatively low in protein and the individuals living on vegan diets show a tendency to exaggerate the value of low protein diets and they might choose specially low protein diets. Table.6 shows the average protein

Table . 6.

intake of the omnivorous, lactovegetarian and vegan individuals in gr / kg body weight and day. On comparison with the recommended dietary allowances of 0.57 gr / kg / day for adult male and 0.52 gr / kg / day for adult female, it is obvious that the daily intake of protein is sufficient for all. However the protein content of a few vegan samples were so low that they could be categorised to be insufficient if it is a part of long term eating pattern.

Table . 7.

Table .7. shows the result of amino acid determination of the various diet samples. The content of essential amino acids per gram of protein of omnivorous diets show that they are of good quality though the quality is limited by its content of lysine the chemical score was found to be 78. Lactovegetarian diets were not low in lysine but the amount of sulphur amino acids were low enough to limit the quality of protein as expressed in its chemical score 75. Vegan diets had higher amounts of tryptophan than both omnivorous and lactovegetarian diets. The limiting amino acid even in the vegan diet was lysine with a lower chemical score of 65.

Table . 8.

In table . 8. The essential amino acid intake in mg / kg body weight per day is presented along with the recommended dietary allowances. The content of all the essential amino acids in the diet samples are high enough to guarantee the daily requirement. In all the cases amount of amino acids is many times in excess of the daily dietary requirement. Thus the diets of omnivorous, lactovegetarian and vegans subjected to the present investigation contains acceptable amount of good quality protein in spite of the different nature of their composition. The chemical score based on the amino acid determination reveal neither the digestibility of the protein nor the availability of the component amino acids.

---

Table . 9.

---

Table.9. shows the nitrogen intake through food and nitrogen excretion through urine in vegans and lactovegetarian participants. Daily excretion of nitrogen in the urine by lactovegetarians are considerably lower than their daily intake of nitrogen through food. But The daily intake of nitrogen through food by vegans was just sufficient to compensate the daily excretion of nitrogen through urine. The efficiency of protein utilization from raw foods of plant origin may not be as high as those from animal origin. It also known that the nitrogen excretion through the faeces is higher when diets contain large amounts of dietary fibre componets.

## Summary

Man meets his requirement for nutrients by ingesting food. However food is not merely a source of nutrients. In selecting food human beings depend on the sensory qualities of food items. Not only the quality food itself but also the nature of the circumstances in which the food is served affect the food selection and habit. Food habits of a vast majority of the populations are also a matter of attitudes resulting from the previous experience of taste smell and pleasant or unpleasant personal impressions in connection with eating certain foods. Some are omnivorous, some are lactovegetarians, and others pure vegans.

Most of the information concerning the composition of food is based on the data available in food tables. Composition of mixed food and its dietary value is often different from that of the original raw components. Here in this paper the data relating to the quantitative and qualitative aspects of proteins in some omnivorous lactovegetarian and vegan diet samples collected in connection with a food consumption survey are presented.

The diet samples were collected using the duplicate portion technique. The protein content was determined by kjeldahl's method. Amino acids were determined by gas-liquid chromatography. Tryptophan was determined by a spectrofluorometric method. Cysteine and methionine were determined by ion-exchange chromatography after performic acid oxidation prior to acid hydrolysis.

The results show that the protein content of the diets are sufficient enough to match the recommended level of intake acceptable for evaluation of protein in diets. Male participants of all the three categories consumed more protein ( omnivorous 59.9 gr, lactovegetarian 63.3 gr, vegan 49.0 gr) every day than the females (omnivorous 47.7 gr, lactovegetarians 56.3, Vegans 37.0). The protein content / 1000 kcal was more in the omnivorous and lactovegetarian diets of the females. Among the vegans the protein intake was lower in females ( 23gr/1000 Kcal) than the males (24.3gr/1000Kcal). The amino acid analysis data shows that the protein of all the diets are of good quality, expressed as chemical score (omnivorous 78, lactovegetarian 74, vegan 65.) However some vegan diets could be described to contain too low amounts of protein when the nitrogen intake through food and nitrogen excretion through urine are compared.



## References

- 1, Trémolières. J., A History of Dietetics. Progress in food and Nutrition Sciences. Vol. No, 2. 56 -114 (1975).
- 2, Hegstaed. D. M., Protein requirements In mammalian protein metabolism Vol II Ed by H. N. Munro and J. B. Allison. Academic press. New york, 1964.
- 3, Munro. H. N. Amino acid requirements and utilization by individual mammalian tissues. In Protein and Amino acid Functions Ed by E. J. Bigwood, Pergamon press, Oxford., 1972.
- 4, Calloway. D. H. and Margen. S. Variation in endogenous nitrogen excretion and dietary nitrogen utilization as determinants of human protein requirement. J. Nutr. 101. 205, 1971.
- 5, Alsmeyer. R. H. , Cunningham. A. E. and Happich. M. L., Equations to predict PER from amino acid analysis Food Tech. 28. 34 1974.
- 6, Hansen. N. G. and B. O. Eggum. The Biological Value of Proteins estimated from Amino Acid Analysis., Acta. Agric. Scand., 23. 247. 1973.
- 7, Mitchell. H. H. and Bloch. R. J. Some relationships between amino acid contents of protein and their nutritive values for the rats. J. Biol. Chem. 163. 599, 1964.
- 8, Sanders. T.A.B. Ellis. Fr. Dickerson. J. W. T., Studies on Vegans. Am. J. Clin Nutr. 31. 805. 1978.
- 9, Borgström, B., Norden. Å., Åkesson, B. and Jägerstad A study of food consumption by duplicate portion technique in a sample of the dalby population. Scand. j. Soc. Med. (suppl) 10. 1975.
- 10, Koch, F. C. and Mc Meekin. T. L. , A new direct nesslerization micro-kjeldahl method and a modification of the nessler-föllin reagent for ammonia. J. Am. Chem. Soc. 46. 2066. 1924.
- 11, Minari. o. and Zillwersmidt. R. W. , Use of KCN for stabilisation of colour in the nesslerisation of kjeldahl digests.
- 12, Gehrke. C.W., Zumwalt. R. W. and Kuo. K., Quantitative amino acid analysis by gas liquid chromatography., J. Agr. Food. Chem. 19. 605. 1971.
- 13, Kaiser. F. E. Gehrke. C. W. Zumwalt. R. W. and Kuo. K. C., Hydrolysis, ion-exchange clean-up, derivatization and quantitation by gas-liquid chromatography. J. Chromatog. 94. 113. 1974.

- 14, Nair . B. M. Öste. R. N-G. Asp. Dahlqvist. A. Enzymatic hydrolysis of fgood proteins for amino acid analysis.I. Solubilisation of the protein. J. Ageic. Food. Chem. 24.386. 1976.
- 15, Oste. R. Nair. B. M. Dahlqvist. A. A Simple method for the determination of tryptophan in food samples. J. Agri. Food. Chem. 24. 1141. 1976.
- 16, Moore. S. On the datermination of cystine as cysteic acid. J. Biol. Chem.238. 235 . 1962.
- 17, Schram. E. Moore. S. and E. J. Bigwood. Chromatographic determination of cysteine as cysteicacid.Biochem.57. 33. 1954.
- 18, Report of the joint FAO/WHO Ad Hoc Expert Committee. World Health Organization technical report series 522.1973
- 19, Mauron. J. Analysis of food proteins. Amino acid composition and nutritive value. In Proteins in Human Nutrition Ed by J. W. G. Porter and B. A. Rolls. NY Academic Press. 1973.
- 20, Waterlow. J. C. and Payne. P. R. The protein gap. Nature. 258.113 1975.

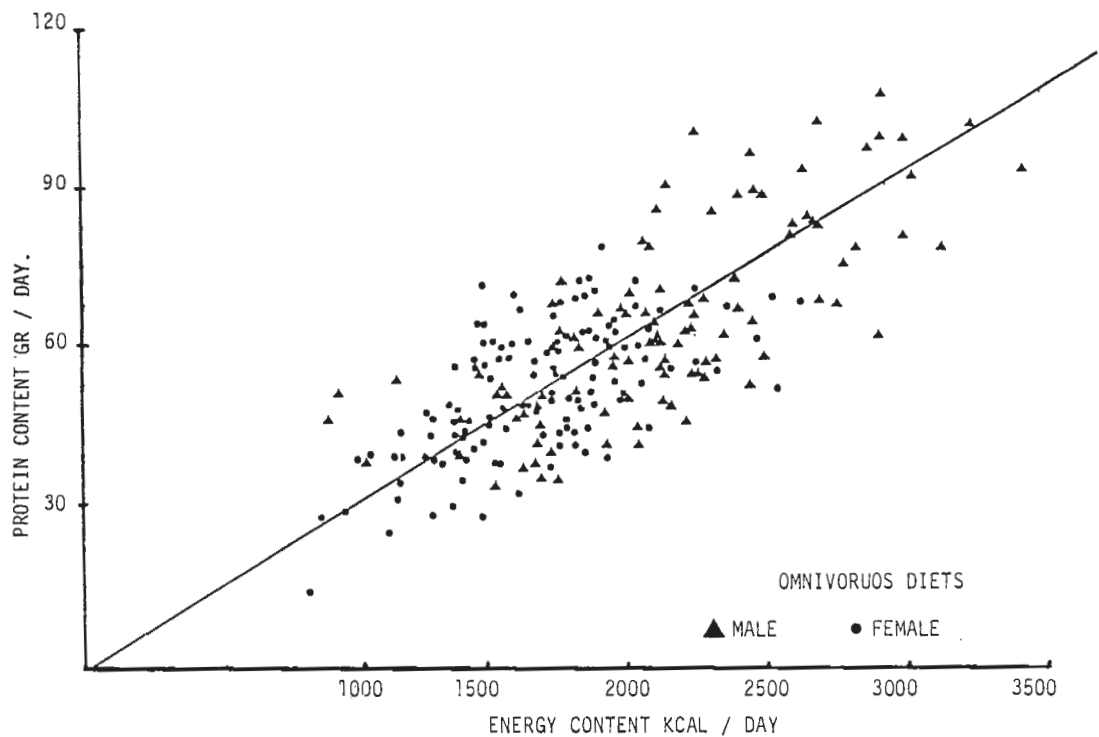


FIGURE. 1. Protein content and Energy content of Omnivorous Diets.

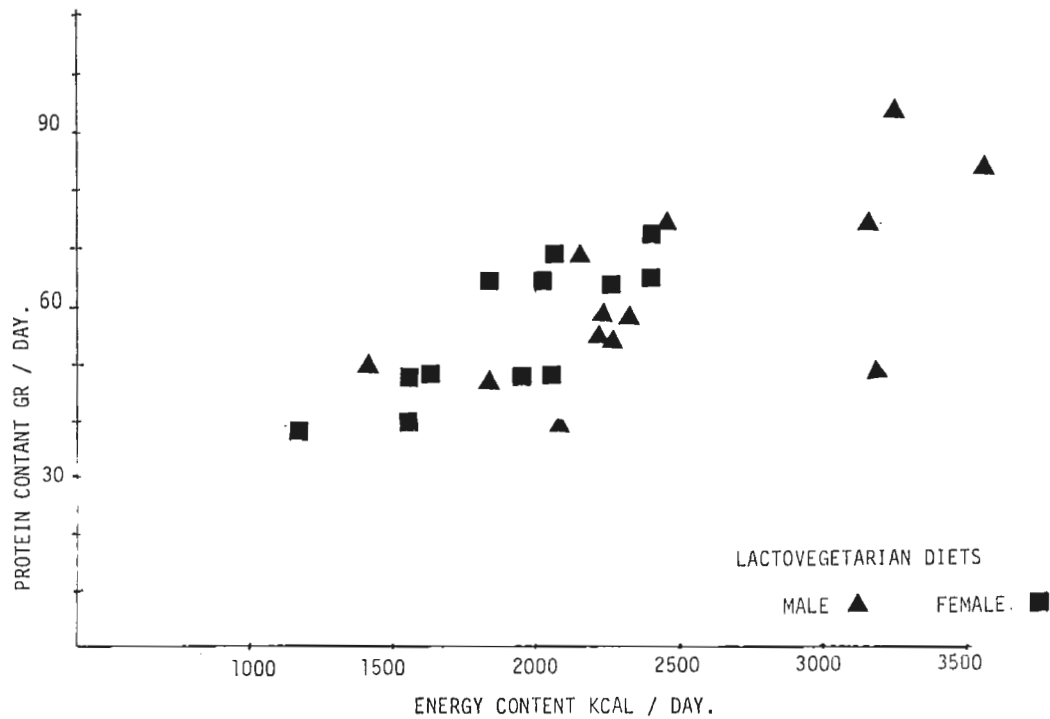


FIGURE. 2. Protein content and Energy content of Lactovegetarian Diets.

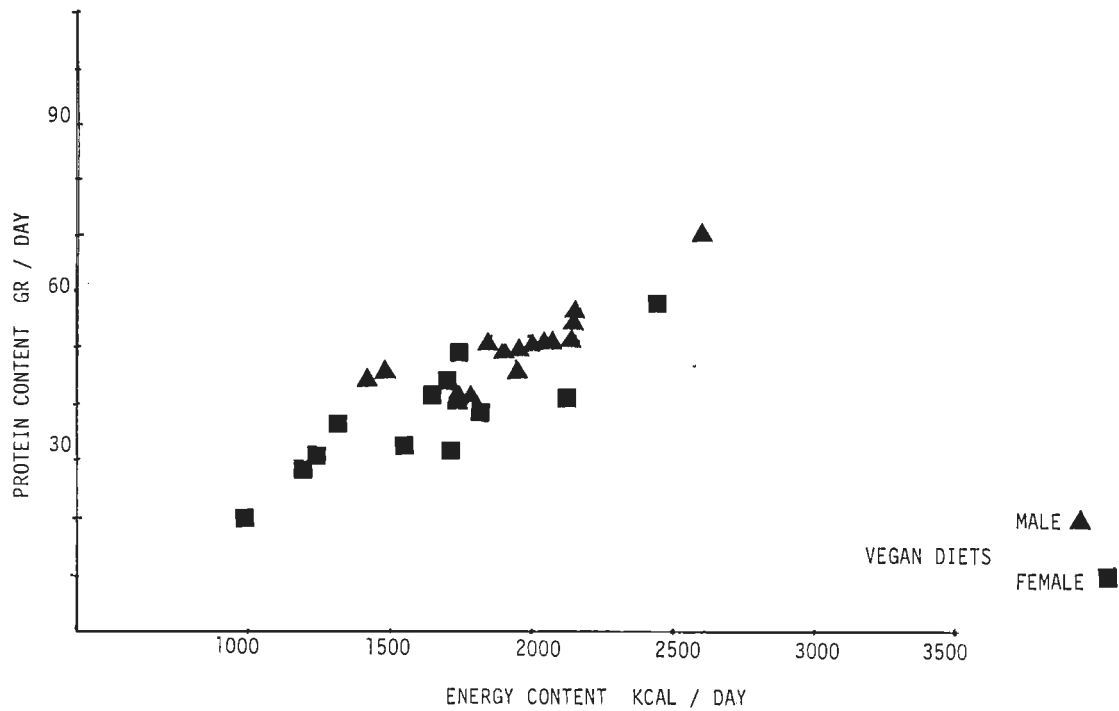


FIGURE. 3. Protein content and Energy content in Vegan Diets.

Table. 1. The Protein Content of One-Day Mixed-Food Diets.  
Gr / Day.

	OMNIVOROUS DIETS		LACTOVEGETARIAN DIETS		VEGAN DIETS	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Mean	59.9	47.7	63.3	56.3	49.0	37.0
Sd	8.2	11.2	16.2	11.8	8.0	9.0
Median	55.7	47.4	58.4	56.3	49.0	38.0
Range	(45.5-93.2)		(39.0-94.9)		(39.0-69.0)	
		(30.0-62.6)		(38.8-75.6)		(2.0-57.0)

Table. 2 .The Protein Content of One-Day Mixed-Food Diets  
Gr/1000 Kcal.

	OMNIVOROUS DIETS		LACTOVEGETARIAN DIETS		VEGAN DIETS	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Mean	29.6	30.4	24.8	29.8	24.3	23.0
Sd	4.98	4.53	4.73	3.65	1.4	3.1
Median	28.4	29.4	24.4	30.5	25.7	23.3
Range	(23.1-42.7)		(15.0-31.7)		(22.8-27.2)	
		(40.7-25.0)		(24.2-35.1)		(19.2-27.4)

Table 3. A Typical Omnivorous diet (One Days Menu).

---

7.00	150 ml COFFEE,One Sand witch of WHITE BREAD with LEVER PASTE.
9.00	150 ml COFFEE with two cubes of SUGAR.
12.00	One Portion of STEWED BEANS and BOILED PORK. 200 ml of SOFT DRINK,one slice of HARD BREAD.
15.00	150 ml COFFEE with two cubes of SUGAR,One BUN.
18.00	One Sand witch of WHITE BREAD,FRIED HERRING,PICKLED CUCCUMBER;200 ml MILK.
20.00	One ORANGE.
21.30	150 ml COFFEE with two cubes of SUGAR.One MUFFINS.

---

Table. 4. A Typical Lactovegetarian Diet (One Days Menu).

---

8.30	One Plate of KEFIR with one table Spoon each of MASHED APPLE, RYE , SESAM SEED, WHEAT GERMS, D-DRIED BREWERS YEAST, SUNFLOWER SEED, MÜSSLI., one PRUNE, One APRICOT, half GRAPE FRUIT and a half of a BANANA.
10.30	200 ml of well water, 250 ml of CITRONELL TEA (a type of beverage based on various herbs).
12.45	one TOMATO, two slices of CUCCUMBER, two table spoon each of GRATED BEAT ROOT, COTTAGE CHEESE, SHREDDED CABBAGE, and GRATED CARROTS. Two rings of PAPRIKA. one CRISP BREAD with BUTTER and some WHEY CHEESE. One table spoon full of boiled WHEAT and CARROTS, two table spoon full of SOUR CREAM, One table spoon full of boiled SOYA BEANS.
14.30	500 ml of Well Water
15.00	200 ml of well water
17.30	MIXTURE OF RAW VEGETABLES (LETTUCE, POTATOES, -minced BEAT ROOT) PEA SOUP, small PANCAKES. BREWERS YEAST, Mashed APPLE, SOUR CREAM.
20.00	200 ml TEA . one BISCUIT.
21.00	two pieces of RUSK with BUTTER and CHEESE, one APPLE.

---



Table.5. A Typical Vegan Diet (One-days Menu).

---

Breakfast	BUCKWHEAT PORRIDGE WITH SESAM SEED MILK AND POWDERED DATES, STEWED FRUIT, (apple, apricot, plum, pear, Stewed berries, bilberries), DRIED FRUIT (dates, figs, raisins, apricots, plums), FRESH FRUIT (apple, pear, plum), SPROUTS (lentils, flax seed), WHEAT BRAN.
Lunch	RAW FOOD (tomatoes, cucumber, minced carrots, oak-leaf, fermented mixed vegetables, white cabbage), MIXED SALADS (boiled beets and potatoes, persily, dill, garlic, lettuce), WARM DISHES BASED ON A STUFFING MIXTURE OF CEREALS, SOYAFLOUR, VEGETABLE PROTEIN. POTATOE FLAKES, GARLIC AND SPICES.
Dinner	RAW FOOD and MIXED SALADS and a SOUP of ROOTS and VEGETABLES. BREAD AND BUCKWHEAT ROLLS, WHOLE GRAIN BREAD, HARD RYE BREAD.

Meals Between The bewerages -- Several kinds of herb teas  
fruit and vegetable juices.

---

Table. 6. Protein Intake . Gr / Kg Body Weight / Day.

---

OMNIVOROUS		LACTOVEGETARIAN		VEGAN	
MALE	FEMALE	MALE	FEMALE	MALE	FEMALE
0.69	0.67	1.04	0.93	0.77	0.54

---

Table. 7. Essential Amino Acid Content of One-Day Mixed-Food Diets. mg / gr protein.

Amino acid	FAO Ref. Protein.	OMNIVOROUS Diets.	LACTOVEGETARIAN Diets.	VEGAN Diets.
Isoleucine	40	36	34	31
Leucine	70	70	76	50
Lysine	55	\$ 43 ‡	55	\$ 36 ‡
Phenylalanine + Tyrosine	60	59	108	50
Methionine + Cysteine	35	41	\$ 26 ‡	49
Threonine	40	32	44	28
Valine	50	41	47	36
Tryptophan	10	10	9	7
Chemical Score		78	74	65

Table. 8. Essential Amino Acid intake .  
Mg / Kg Body Weight / Day.

Amino Acid	RDA	OMNIVOROUS		LACTOVEGETARIAN		VEGAN	
		Diets		Diets		Diets	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female
Isoleucine	12	28	25	33	33	23	15
Leucine	16	55	48	78	80	29	26
Lysine	12	34	30	57	58	27	21
Phenylalanine + Tyrosine	16	42	40	112	117	35	24
Methionine + Cysteine	10	30	28	27	25	37	32
Threonine	8	23	25	46	58	21	14
Valine	14	32	29	48	38	26	19
Tryptophan	3	8	8	9	8	11	10

Table. 9. Nitrogen Intake (Food) and Excretion of Nitrogen  
(Urine). GR/DAY.

VEGANS		LACTOVEGETARIANS	
FOOD	URINE	FOOD	URINE
6.9	7.4	9.24	7.34



STUDIES ON THE PROTEIN DIGESTIBILITY OF COMMON BEANS (Phaseolus vulgaris) IN ADULT HUMAN SUBJECTS

R. Bressani, D. A. Navarrete, E. Hernández, O. Gutiérrez, E. Vargas y L.G. Elías

Institute of Nutrition of Central America and Panama  
(INCAP), Guatemala, C. A.

---

Presented in the Joint Congress of the X. International CIQ and XVIII German DGQ Society of Quality Research. Subject: Plant Foods and Human Health.  
6 - 8 September 1982, Albrechts Universität, Kiel, Federal Republic Germany

## I. INTRODUCTION

Food legumes constitute the main protein source for many population groups in developing countries. In Latin America common beans (*Phaseolus vulgaris*) is the food legume of preference by the population, consumed by all socioeconomic groups, but mainly by the rural and low income populations. For these populations beans may provide up to 32% of the daily protein intake (1). Furthermore, the importance of beans to the diet resides in the fact that they increase the quality of the protein consumed which is mainly derived from cereal grains, such as corn and rice (2, 3). As is well known, these cereal grains are low in protein content, and are poorly utilized because of essential amino acid deficiencies, such as lysine, tryptophan and sometimes threonine. The complementary protein effect of food legumes to cereal protein is well established. Food legume protein provides the deficient amino acids in cereal protein while the latter supplies the sulfur amino acid deficiency in food legumes (2, 3, 4). This effect is evident in Figure 1 for various examples between four different food legumes with either corn or rice. As shown there is a point of maximum protein quality which is close to a 7:3 mixture by weight. The protein from food legumes is even more important for diets based on tubers, as shown in Table 1 for an example with cassava and plantain flour. The rats on cassava, plantain flour or corn starch alone lost weight and around 20% of beans by weight were needed to promote growth (5).

Because of the importance of beans in diets as a source of important nutrients, many efforts are being made to improve their availability to the consumer by increasing and stabilizing production, and in improving its nutritive value for increased biological utilization. In this respect, much attention has been given to the antiphsiological factors and to the sulfur amino acid deficiency in food legumes as important constraints in their

utilization, but very few efforts have been made to understand and solve the low digestibility of its protein, which if increased might result in increased biological available protein and nutritive value (5). This paper summarizes some of the results we have obtained in the study of the low digestibility of the protein of food legumes, in particular for common beans.

## II. PROTEIN DIGESTIBILITY OF CEREAL/BEAN AND STARCHY FOOD/BEAN DIETS

As part of the program to establish protein requirements for human adults fed diets based on common beans and cereal grains and common beans and starchy foods, a series of nitrogen balance studies have been carried out with young adult human subjects. These studies were carried out with groups of 8-12 individuals fed variable levels of protein at a fixed and adequate intake of energy from the bean/cereal or bean/starchy food mixture. From the relationship between nitrogen intake and nitrogen retention, amounts of protein for nitrogen equilibrium were determined by simple regression analysis. Protein digestibilities were calculated when the individuals were consuming 0.6 g protein/kg/day. A summary of the results is shown in Table 2. As can be seen, protein digestibility in diets based on beans and starch, beans and plantain and beans and cassava were 60.0, 52.5 and 55.7%, respectively (7, 8, 9, 10). In the starch study all the protein was derived from common beans, while in the study with cassava and plantain, some of the protein ingested came from these carbohydrate sources but the greatest amount came from beans. All digestibility values were low, and mainly representing that from bean protein. In the experiments with corn and rice shown in the lower section of the Table, apparent protein digestibility was also low, although somewhat higher than in the starchy food/bean studies. In the former, beans provided from 40 to 50% of the dietary protein and cereal grains the difference.

In the studies with rice the nutritional significance of two interventions were tested as shown in Table 3. One was to increase energy intake from 45 to 50 kcal/kg/day; this, however, did not change the results. Digestibility of the protein was still low. The second intervention was to add 10% skim-milk to the 60:40, rice:bean mixture. As shown in the Table, apparent protein digestibility increased, effect which was attributed to the high digestibility of milk protein (10).

Further indirect evidence that the low digestibility values are due to beans may be reached by observing the results of protein digestibility of cereal grains fed alone (11). These are shown in Table 4.

The Table shows the apparent protein digestibility of lime-treated corn and rice when fed to human subjects providing the only protein source of the diet at two levels of intake. For corn, the protein digestibility varied from 76 to 78% while that of rice varied from 79 to 82%, values significantly higher than those obtained when bean protein was part of the diet. Thus, the conclusion is that the low values are due to the poor utilization of bean protein, this becoming an important problem to solve.

### III. SOME ANIMAL STUDIES

The low digestibility of food legumes, particularly in common beans, was pointed out by Jaffé many years ago (12), therefore, the results shown in Table 5 are really not new. The results in the Table were obtained with a total of 57 common bean cultivars (13, 14, 15). The average values on the samples classified by color of the seed coat, show white beans to have a digestibility of 76.6%, while red show a digestibility of 72.4%, black 71.5% and brown 70.7%. The overall figure is 72.7%. Although these values are higher than those reported previously for man, still they are low. The Table also shows the protein quality of the samples as NPR. It is interesting to



point out that the protein quality of the white beans is higher than that of the colored beans. Table 6 shows the correlation of protein digestibility to protein quality for the 57 samples grouped again by color and for all samples together. All correlations were not statistically significant. This was not expected since higher digestibility implies higher protein quality due to an increase in total available amino acids, that is an increased amount of amino acids are absorbed, unless bean proteins containing sulfur amino acids are not as digestible as other proteins in beans or the pattern absorbed is low in sulfur amino acids. Correlations by color, between protein quality and protein digestibility were not evident either. These data then confirm that protein digestibility in common beans is a problem and that color of the seed coat probably plays an important role.

#### IV. STUDIES WITH HUMANS

In order to confirm in humans the results obtained in rats, samples of beans of different color were selected for digestibility studies in humans (16). These materials were cooked in an autoclave at 15 lb pressure for 30 minutes after an overnight soak. The cooked samples were dried and analyzed for residual antiphysiological factors. These were low as expected. The subjects, 24 in total, were fed these bean preparation under standard digestibility test, at an intake of 0.65 g P/kg/day and 45 kcal/kg/day. Besides the 4 color samples the individuals were fed a 50/50 mixture by weight of a white and a black coated cultivar. The control protein in these studies was white cheese, also fed at a level of 0.65 g P/kg/day (16). The results are shown in Table 7. White beans had a digestibility of 62.1%, followed by the mixture white/black, the red, and the two black bean cultivars. All values were significantly lower than that found for the white cheese.

These results then agree very well with those from the rat studies, although the values are lower. Thus bean proteins are not altogether available to the human, and factors must be present responsible for the effect observed.

In an attempt to learn more about the reasons for the low values, the nitrogen in the feces was fractionated by a simple procedure of extraction with 0.02 N NaOH solution into two fractions, the soluble and insoluble nitrogen. The results are shown in Table 8 which indicate that the total nitrogen excreted, as well as the soluble and insoluble fractions of the total nitrogen are significantly higher when the protein source fed was common beans than when the protein source was cheese or a nitrogen low diet. The values for cheese and for the nitrogen free diet were essentially alike. It should be indicated that nitrogen intake was constant, therefore, this is not the cause of the higher fecal nitrogen excretion. No identification has been made as yet of the soluble and insoluble fecal nitrogen in 0.02 N NaOH.

The question is if the nitrogen excreted comes from specific protein fractions in the bean, and studies are now underway to test this possibility. Therefore, one possibility which could explain the low digestibility of bean protein is that certain fractions may be resistant to enzymatic action in the intestinal tract (17, 18).

#### V. EFFECT OF PROCESSING AND STORAGE

Other factors could also be responsible for the low protein digestibility of beans and one which is receiving attention is that of processing. Beans must be heat processed before consumption to destroy the well known antiphysiological factors. The results of various studies suggest that the process of destruction of these factors may affect protein digestibility.

An example of the effect of soaking time and of cooking time on protein digestibility is shown in Table 9. Both soaking time and cooking time were responsible for a small but consistent decrease in protein digestibility. The extent of the decrease is practically the same. Cooking time at all soaking times decreased digestibility from 72.4 to 68.9%, while soaking time at all cooking times decreased digestibility from 71.9 to 68.7%, a decrease in both cases of about 5% (19).

Storage time also plays a role in decreasing digestibility as shown in Figure 2, probably through an interaction with processing (19). As is known there is a tendency for beans to become hard-to-cook upon prolonged and improper storage conditions of high temperature and high relative humidity. Although the biochemical mechanism leading to this condition is not known, the cooking process may induce the formation of protein units resistant to digestion. Some evidence in this respect is shown in Figure 3. A salt-soluble protein fraction from cooked beans increases with respect to cooking time, at all times of storage. On the other hand, cooking time decreases protein digestibility, however, the higher decrease and lower digestibility took place in those cases with a higher amount of salt-soluble proteins to protein digestibility is negative with a correlation coefficient of -0.59, significant at the 5% level. These findings are in agreement with the studies carried out in humans and it may mean this fraction to be relatively indigestible contributing to the low digestibility values found. Studies along these lines were performed with growing dogs. The animals were fed white, red and black cooked beans as the sole dietary source (20) at a level of nitrogen intake of about 287 mg/kg/day. Table 10 summarizes some of the results. It shows the percentage soluble and insoluble nitrogen of the cooked beans fed. The results

indicate that the lower the digestibility obtained, the higher the soluble nitrogen fraction, and that the soluble nitrogen fraction itself was poorly digested as compared to the insoluble nitrogen fraction of the cooked beans.

#### VI. THE EFFECT OF POLYPHENOLS

A final problem under study is the role polyphenolic compounds may have on protein digestibility (16, 21). Table 11 summarizes the polyphenolic content of cooked beans as fed, expressed as tannic acid and as catechin, as well as the percentage digestibility in adult humans. It is evident that higher intakes of phenolic compounds going from white to black decrease digestibility at intake levels of nitrogen which remain relatively constant among the beans fed.

Regression equations between tannic acid and catechin to fecal nitrogen were calculated and these are shown in Table 12. The correlations are negative and statistically significant, confirming therefore, that polyphenolic compounds are factors also responsible for the low digestibility of the protein in beans.

#### VII. SUMMARY

The evidence available indicates that cooking increases protein digestibility, and the extent of the increase is affected by the processing conditions such as period of soaking and cooking time. However, if the conditions of processing are not exceeded the effects are small, and in the order of about 5-6%. Apparently, there is a protein fraction soluble in salt solutions which could be responsible to some extent in limiting higher digestibility, however, the effect of the fraction may be the same as that due to processing. Finally, polyphenolic compounds also play a role in affecting protein digestibility. The estimation is that these compounds may decrease

protein digestibility of beans about 10-12%. Adding all of this together the protein digestibility would be of the order to about 85%, leaving some 15% protein unaccounted for, when digestibility is expressed as apparent and the endogenous losses have not been considered. Protein digestibility of beans is an important question which must be solved in order to produce beans of greater nutritional value.

## VIII. REFERENCES

1. Flores, M., R. Bressani and L. G. Elías. Factores y tácticas que influyen en los hábitos alimentarios del consumidor. p. 49-64. In: *Potencial del Frijol y de Otras Leguminosas de Grano Comestible en América Latina*. CIAT. Serie CS-2. Agosto 1975. CIAT. Cali, Colombia.
2. Bressani, R. Legumes in human diets and how they might be improved. p. 15-42. In: *Nutritional Improvement of Food Legumes by Breeding*. Proc. Symposium by PAG, FAO, Rome, Italy July 3-5, 1972. Pub. 1973.
3. Bressani, R. and L. G. Elías. Nutritional value of legume crops for humans and animals. p. 135-155. In: *Advances in Legume Science*. Ed. Summerfield and Bunting. 1980.
4. Vargas, E., R. Bressani, D. A. Navarrete y L. G. Elías. Complementación proteínica del arroz y el frijol (*Phaseolus vulgaris*). INCAP Annual Report. p. 13. 1979.
5. Bressani, R., L. G. Elías and D. A. Navarrete. The nutritional value of diets based on starchy foods and common beans. In preparation
6. Bressani, R. Research needs to up-grade the nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris*). To be published in *Qual. Plant. Plant Foods for Human Nutr.* 1982.
7. Navarrete, D. A. and R. Bressani. Protein digestibility and protein quality of common beans (*Phaseolus vulgaris*) fed alone and with maize, in adult humans using a short-term-nitrogen balance assay. *Amer. J. Clin. Nutr.* 34:1893-1898, 1981.
8. Navarrete, D. A., O. Gutiérrez y R. Bressani. Valor nutritivo de ingestas de plátano/frijol y yuca/frijol en jóvenes adultos. In preparation
9. Gutiérrez, O. Determinación de la cantidad de frijol cuando se usa plátano como fuente energética, necesaria para llenar los requerimientos proteicos. Thesis, M. Sc. Postgraduate course in Food Science and Technology. CESNA/INCAP, Guatemala, 1979.
10. Vargas, E. and R. Bressani. Protein quality of rice-and-bean diets with or without protein and energy supplements to estimate protein requirements in young adult humans. p. 103-107. In: *Protein-energy requirements of developing countries. Evaluation of New Data*. Ed. B. Torún, V.R. Young and W.M. Rand. UNU, 1981.
11. Bressani, R. Amino acid supplementation of cereal grain flours tested in children. p. 185. In: *Amino Acid Fortification of Protein Foods*. Eds. N. S. Scrimshaw and A. M. Altschul. The MIT Press, Cambridge, Mass. 1971.
12. Jaffé, W. G. Protein digestibility and trypsin inhibitor activity of legume seeds. *Proc. Exptl. Biol. Med.* 75:219-220, 1950

13. Bressani, R., L. G. Elías y M. E. España. Posibles relaciones entre medidas físicas, químicas y nutricionales en frijol común (*Phaseolus vulgaris*). Arch. Latinoamer. Nutr. 31:550-570, 1981.
14. Fukuda, G., L. G. Elías, y R. Bressani. Significado de algunos factores antifisiológicos y nutricionales en la evaluación biológica de diferentes cultivares de frijol común (*Phaseolus vulgaris*). Submitted for publication Arch. Latinoamer. Nutr.
15. Wolzak, A., R. Bressani, and R. Gómez Brenes. A comparison of in vivo and in vitro estimates of protein digestibility of native and thermally processed vegetable proteins. Qual. Plant. Plant Foods Human Nutr. 31:31-43, 1981.
16. Hernández, F., E.M. Significado de la presencia de taninos y polifenoles asociados en la digestibilidad de las proteínas del frijol (*Phaseolus vulgaris*) en humanos. Thesis.M.Sc. CESNA/INCAP, Guatemala, enero 1978.
17. Liener, I. E. and R. M. Thompson. In vitro and in vivo studies on the digestibility of the major storage protein of the navy bean (*Phaseolus vulgaris*). Qual. Plant. Plant Food Hum. Nutr. 30:13-25, 1980.
18. Seidl, D. S., M. Jaffé, and W. G. Jaffé. Digestibility and proteinase inhibitory activity action of a kidney bean globulin. J. Agr. Food Chem. 17:1318-1321, 1969.
19. Molina, M. R. G. de la Fuente and R. Bressani. Interrelationship between storage, soaking time, cooking time, nutritive value and other characteristics of the black bean (*Phaseolus vulgaris*). J. Food Sci. 40:587-591, 1975.
20. Bressani, R., L. G. Elías y M. R. Molina. Estudios sobre la digestibilidad de la proteína de varias especies de leguminosas. Arch. Latinoamer. Nutr. 27:215-231, 1977.
21. Bressani, R., L. G. Elías, and J. E. Braham. Reduction of digestibility of legume protein. To be published in Plant Food (England).

TABLE 1. AVERAGE WEIGHT GAIN OF THE ANIMALS FED WITH DIFFERENT FLOURS AND DIFFERENT LEVELS OF BEANS WITHOUT METHIONINE

Level of beans in diet	cassava	plantain	corn starch
0	-13.5	-11.6	-14.1
10	- 6.6	- 1.2	- 5.8
20	9.1	10.9	2.0
30	22.0	34.2	21.6
40	34.4	58.8	46.5

Average 8 animals.

TABLE 2. APPARENT PROTEIN DIGESTIBILITY OF BLACK BEANS (*Phaseolus vulgaris*) FED WITH STARCHY FOODS AND CEREAL GRAIN IN HUMAN SUBJECTS

Food mixture	Nitrogen intake mg/kg/day	Apparent protein digestibility, %
Beans/Starch	115.6 $\pm$ 0.9	60.0 $\pm$ 2.2
Beans/Plantain	117.4 $\pm$ 0.6	52.5 $\pm$ 4.0
Beans/Cassava	105.7 $\pm$ 0.2	55.7 $\pm$ 2.0
Beans/Corn	127.6 $\pm$ 0.5	61.0 $\pm$ 9.0
Beans/Rice	102.5 $\pm$ 1.1	59.1 $\pm$ 7.4

TABLE 3. APPARENT PROTEIN DIGESTIBILITY OF BLACK BEANS (*Phaseolus vulgaris*) FED WITH RICE AND MILK IN HUMAN SUBJECTS

Food Mixture	Nitrogen intake mg/kg/day	Apparent protein digestibility, %
Beans/Rice (45 kcal)	102.5 $\pm$ 1.1	59.1 $\pm$ 7.4
(50 kcal)	102.4 $\pm$ 1.1	59.6 $\pm$ 6.4
Beans/Rice/Milk (45 kcal)	104.5 $\pm$ 2.9	65.3 $\pm$ 7.6
(50 kcal)	104.4 $\pm$ 3.0	64.6 $\pm$ 10.2
Milk	101.7 $\pm$ 1.2	75.6 $\pm$ 2.0



TABLE 4. APPARENT PROTEIN DIGESTIBILITY OF LIME-COOKED CORN AND RICE IN HUMAN SUBJECTS

Cereal grain	Nitrogen intake mg/kg/day	Apparent protein digestibility, %
Lime cooked corn	239	79.2
	326	76.4
Rice	249	82.0
	326	78.7

TABLE 5. APPARENT PROTEIN DIGESTIBILITY AND NPR OF COMMON BEANS (*Phaseolus vulgaris*) OF DIFFERENT SEED COAT COLOR

Color of seed coat	No. of samples	Apparent protein Digestibility, %	N.P.R.
White	10	76.6	2.31
Red	23	72.4	1.80
Black	21	71.5	1.79
Brown	3	70.7	1.94
All	57	72.7	1.89

TABLE 6. REGRESSION EQUATIONS BETWEEN APPARENT PROTEIN DIGESTIBILITY AND NPR

Color of seed coat	NPR = a + b (PD)	r
White	5.13 - 0.037	-0.50 (NS)
Red	1.72 - 0.001	0.01 (NS)
Black	4.52 - 0.038	-0.46 (NS)
All	1.30 - 0.008	0.09 (NS)

TABLE 7. APPARENT PROTEIN DIGESTIBILITY OF BEANS OF DIFFERENT COLOR IN ADULT HUMANS

Bean color	No. of subjects	Nitrogen intake mg/kg/day	Apparent protein Digestibility, %
White	12	109.6 ± 0.5	62.1 ± 2.9
Red	12	106.7 ± 0.3	55.7 ± 4.6
Black (I)	12	108.1 ± 0.5	43.4 ± 2.1
50% W/50% B	12	108.4 ± 0.3	57.4 ± 2.6
Black (J)	12	106.8 ± 0.5	49.6 ± 2.9
Cheese	12	110.1 ± 0.6	76.2 ± 1.4

TABLE 8. FRACTIONATION OF FECAL NITROGEN FROM HUMAN SUBJECTS FED COMMON BEANS, CHEESE AND A NITROGEN-FREE (LOW) DIET

Diet	Fecal nitrogen (mg/kg/day)		
	Total	Soluble	Insoluble
NFD	24.4	17.8	6.6
Cheese	25.8	20.6	5.2
Red bean	47.2	35.7	11.1
Black bean (J)	53.8	37.8	16.0

TABLE 9. EFFECT OF SOAKING TIME AND OF COOKING TIME OF DIFFERENT PROTEIN DIGESTIBILITY (%) OF COMMON BEANS\*

Cooking time	Soaking time, hrs			Effect of cooking time
	0	12	24	
15	73.2	71.1	70.1	72.4
30	72.2	67.8	69.2	70.6
45	70.8	68.9	68.1	70.1
60	71.5	68.7	67.3	68.9
Effect of soaking time	71.9	69.1	68.7	-

\* Rats.

TABLE 10. CONTENT OF SOLUBLE AND INSOLUBLE NITROGEN IN COOKED BEANS AND ITS RELATION TO THE PROTEIN DIGESTIBILITY OF THE WHOLE BEAN NITROGEN\*

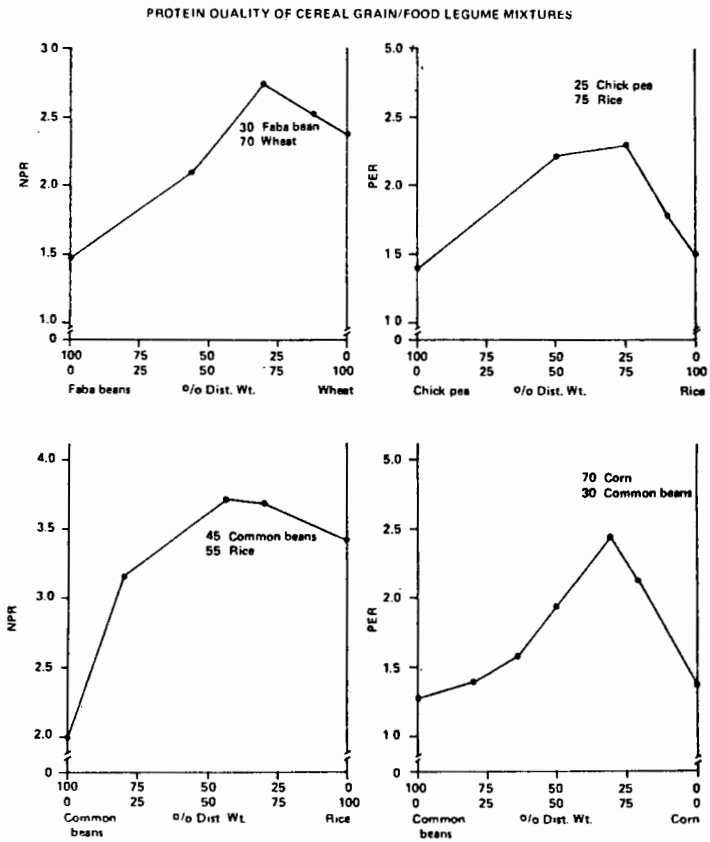
Color of bean	In cooked beans		N. intake mg/kg/day	Apparent Prot. digestibil. %	Apparent Digest.	
	Soluble Nitr. %	Insoluble Nitr. %			Soluble Nitr. %	Insoluble Nitr. %
White	23.3	76.6	290	59.3 ± 1.8	41.1 ± 7.9	78.7 ± 2.5
Red	17.1	82.8	287	64.8 ± 5.6	14.2 ± 2.5	64.5 ± 5.6
Black	15.2	84.8	285	68.8 ± 4.3	36.4 ± 10.2	79.7 ± 0.9

\* Young dogs.

TABLE 11. ABSOLUTE INTAKE OF TANNIC ACID AND OF CATECHIN ON THE APPARENT PROTEIN DIGESTIBILITY OF BEANS IN HUMAN ADULTS

Color of bean	Absolute intake (mg/day)		Apparent protein Digestibility,%
	Catechin	Tannic acid	
White	10 ± 0.2	380 ± 15	62.0
White/Black 50/50	34 ± 1	817 ± 29	57.4
Red	41 ± 3	1246 ± 24	55.7
Black (I)	80 ± 2	1365 ± 41	53.4
Black (J)	90 ± 2	1634 ± 37	49.6

FIGURE 1



Incap 81-658

FIGURE 2

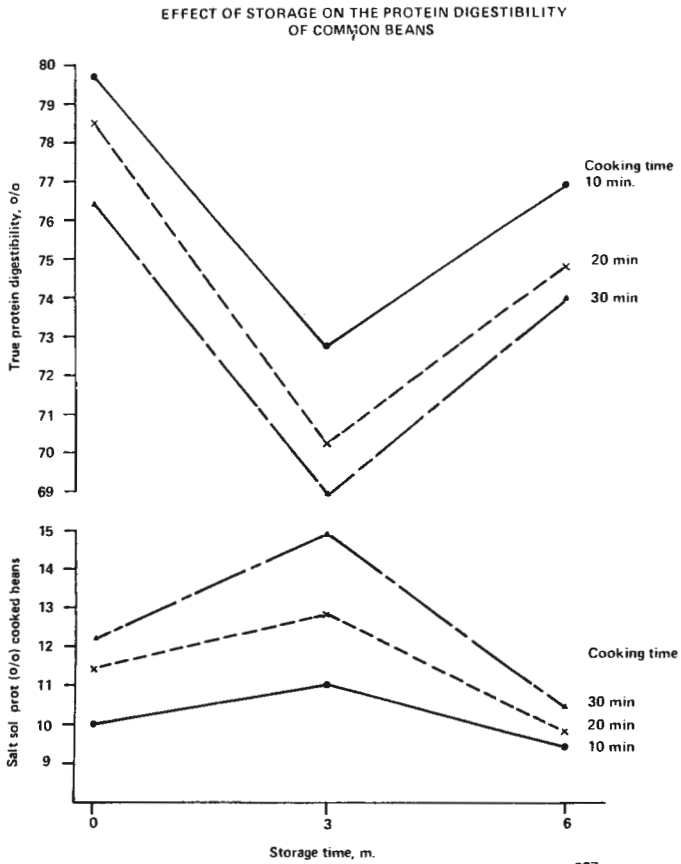
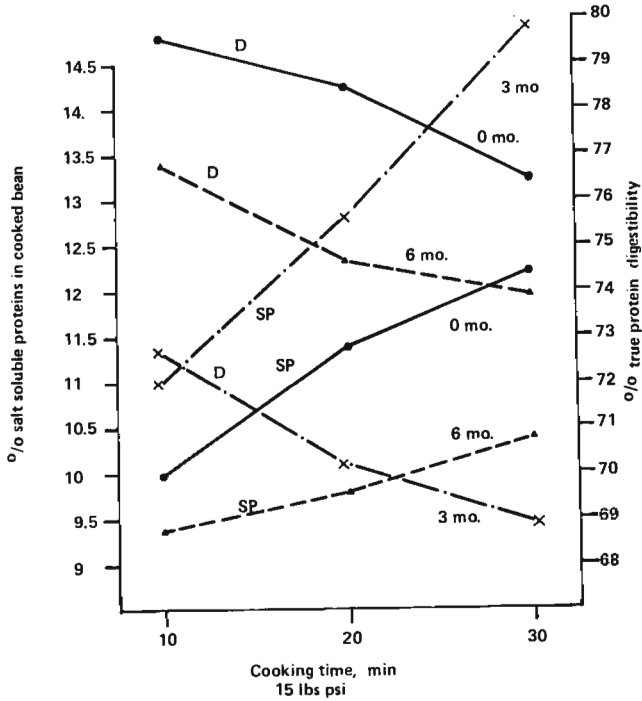


FIGURE 3

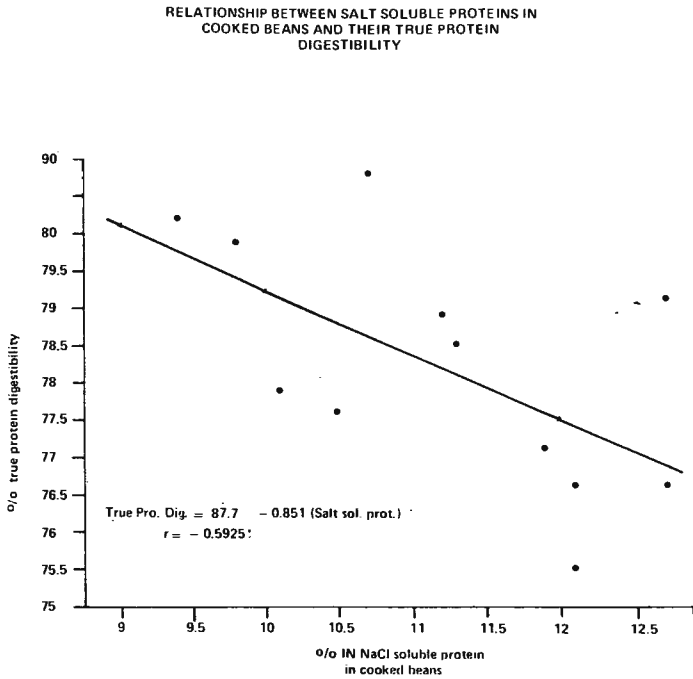


SP NaCl soluble protein  
0, 3, 6 mo.: storage time.

Incap 82-208

EFFECT OF COOKING TIME OF BEANS STORED FOR 0, 3, 6 MONTHS ON SALT SOLUBLE PROTEIN IN COOKED BEANS AND ON TRUE PROTEIN DIGESTIBILITY

FIGURE 4







Soy-protein diets and blood lipids.

B. Vessby

Department of Geriatrics, University of Uppsala, Uppsala, Sweden.

Abstract

Increased serum lipid levels is one of the most important risk factors for the development of atherosclerotic cardiovascular disease. The treatment of hyperlipoproteinaemia is based on a dietary regimen including a reduction of the fat content of the diet and an increase of the proportion of polyunsaturated fatty acids. The amount of simple carbohydrates is usually restricted. However, during the last years the interest has been focussed also on the possible effect of dietary protein, both with regard to quality and quantity, on the development of atherosclerosis. There is today rather good evidence that substitution of soy bean protein for animal protein in a lipid lowering diet may cause a further reduction of the serum cholesterol levels. The reduction seems to be confined to the potentially atherogenic low-density lipoproteins while no effect has been demonstrated on the supposedly protective high density lipoproteins. The mechanism behind this effect is not clearly understood but may be due to both an altered amino acid composition, to the presence of saponins, or to other components of the soy protein product.

Increased serum-lipid levels is one of the most important risk factors for development of premature atherosclerotic cardiovascular disease. Several studies have shown a direct relationship between the level of serum cholesterol and the risk for developing coronary heart disease. However, the serum-lipid levels only give us a crude picture of the lipoprotein metabolism. To get more detailed information we have to consider the distribution of the different lipoprotein fractions in serum and the risk associated with each of these fractions.

It has been shown that the increased risk for coronary heart disease is mainly due to an increased level of the so-called low-density lipoproteins (LDL), that is the lipoprotein fraction containing the major amount of the cholesterol in serum (1,2). However, the high-density lipoproteins (HDL), which are small protein-rich particles with phospho lipids as the major lipid component, have been shown to be strongly inversely correlated to the risk for developing coronary heart disease (1,2). This means that HDL is potentially protective with regard to development of myocardial infarctions. Thus, the risk to develop coronary heart disease is related to the balance between LDL (and to some extent probably the very-low-density lipoproteins) on the one hand and HDL on the other.

The treatment of hyperlipoproteinaemia is based on dietary treatment which, when needed, is supplemented by pharmacotherapy. The principles for dietary treatment of hyperlipoproteinaemia usually

includes advice aiming at a reduction of the fat content of the diet and to a change of the quality of the remaining fat with an increased relative proportion of polyunsaturated fatty acids. The amount of simple carbohydrates is usually restricted. As a consequence of these changes the relative content of protein calories in lipid-lowering diets is usually increased from somewhere around 10-15% up to around 20 energi%.

While the effects of different fats and carbohydrates on the serum lipoproteins have been rather extensively studied during the last decades, there has been rather little interest in the importance of the protein content of the diet. However, the interest is presently increasing with regard to the possible effect of protein, both with regard to quality and quantity, on serum lipoproteins and consequently on the development of atherosclerotic changes in the heart and the vessels (for a recent review see 3).

Experimental studies have shown that animal protein (usually casein) is more cholesterolaemic and more atherogenic than vegetable protein (usually soy protein). Already Ignatowsky 1909 could demonstrate that rabbits fed a diet containing meat, eggs and animal products, exhibited an increased prevalence of aortic atherosclerosis. At the same time, Anitschkow reported that addition of cholesterol to a rabbit's diet leads to atherosclerosis. Later many studies have confirmed the cholesterolaemic and atherogenic capacity of casein compared with soy protein. Hamilton and Carroll (4) have studied the effects on plasma-cholesterol levels in rabbits fed different proteins. It is evident that there are striking differences among

animal and vegetable proteins, suggesting that the actual protein composition may of importance in this respect.

Several workers have demonstrated that other components of the diet can affect the results obtained with protein. Thus, the effect of casein and soy protein, respectively, on serum-cholesterol levels is influenced by the type of dietary carbohydrate administered at the same time. Work by Kritschewsky and others (5) has demonstrated that the type of fibre present in a diet will affect cholesterolaemia and atherosclerosis in rabbits fed semi-purified diets containing either casein or soy protein.

Thus, animal studies indicate that dietary protein per se can play an important role in cholesterolaemia and atherosclerosis. However, protein interacts with other components of the diet and it is this interaction that ultimately determines the levels of serum lipids and lipoproteins and their effect on the arterial wall.

Human studies on the effect of vegetable protein diets on serum lipoproteins have been rather sparse. In 1977 Sirtori and coworkers from Milan, Italy, presented a metabolic-ward study on 20 hypercholesterolaemic patients (6) where they compared the effect of a diet containing textured soy-bean protein with a standard lipid-lowering diet with a high P/S-ratio according to a cross-over protocol. This study indicated that a further hypocholesterolaemic effect was achieved by substituting soy protein for animal protein. During three weeks on the soybean protein diet the serum cholesterol decreased by approximately 20%. The hypocholesterolaemic response

was significantly related to the pre-treatment plasma-cholesterol levels. However, there were certain differences in the distribution of nutrients in the two diets, which made the data somewhat hard to interpret. The P/S-ratio was also somewhat higher in the soy-protein diet. There was a continuous fall of the serum-lipid levels throughout the study during both dietary regimens and most patients were losing weight. The diet was rather extreme with regard to a very low lipid content. Remarkable was also that this Italian group was able to substitute virtually all animal proteins with vegetable proteins in the soy-bean diet.

Shortly afterwards, Carroll and coworkers presented an out-patient study (7) in young healthy females in which they compared a conventional diet containing mixed protein with a plant-protein diet where the animal protein of the first diet was replaced by soy-protein meat analogues and soy milk. The protein content was 17 energy%. The mixed protein diet contained 58% animal protein and the P/S-ratio was 0.4. A cross-over protocol was used. It could be demonstrated that the plant-protein diet was associated with significantly lower mean plasma-cholesterol levels than the mixed protein diet, the difference amounting to approximately 5% or 9 mg/dl.

In two other well-controlled outpatient studies, however, van Raij and coworkers in Holland (8,9) could not demonstrate any major effects on the serum cholesterol levels in healthy, normo-cholesterolaemic young and middle aged men when comparing the effect of soy protein isolate with casein and soy protein concentrate. Rabbits fed identical diets showed a clear-cut hypercholesterolaemic

response to the casein diet compared with the soy diet.

Additional data were published by Sirtori and coworkers in 1979 (10), in patients with type II hypercholesterolaemia confirming that a total substitution of animal protein for textured soy-bean protein in these individuals seems to give more pronounced serum-cholesterol decrease than a conventional lipid-lowering diet. However, P/S-variations appeared to modify the final effect, and soy bean definitely had a decreased effect on a diet with a low P/S-ratio (protein 20 energy%, fat 25%, carbohydrates 55%, P/S 2.7-0.1). The cholesterol decrease was confined to the LDL fraction which decreased by approximately 20% while the HDL levels were not affected. Out-patients studies, however, provided less satisfactory results, possibly due to difficulty of adequately complying with this diet. Eating only soy-bean protein is difficult for many patients.

In contrast to the data by Sirtori and coworkers (6,10) and Carroll and coworkers (7) a recent study by Holmes et al (11) could not verify any cholesterol reduction during a diet containing soy-bean protein compared to a meat-containing diet. Out-patients were given a lipid-lowering diet or a diet where the dishes containing meat were substituted with soy-protein dishes. The reasons for the lack of effect of soy-bean protein may be that this study comprised not only hypercholesterolaemic but also patients with other lipoprotein patterns. A rather low protein content from the soy-bean products and a relatively low P/S-ratio of the treatment diet may also possibly have contributed to the negative results.

In a pilot study performed at our laboratory at the Department of Geriatrics in Uppsala, we have investigated the effects of substituting textured soy-protein for animal protein in a lipid-lowering diet of hypercholesterolaemic patients in a metabolic ward (12). In our study six hypercholesterolaemic patients were fed an isoenergetic lipid-lowering diet during three weeks. The serum-cholesterol decreased by on the average 25%.

Three weeks usually is sufficient to reach a maximal lipid-lowering effect after a change of diet. The patients were then switched over to a diet with a similar composition but where textured-soy protein was substituted for half of the protein content. This was achieved by exchanging the animal protein in meat, fish and milk of the lunch and dinner dishes for textured soy-protein. There was a slightly higher cholesterol content in the conventional lipid-lowering diet. During treatment with soy-protein diet there was a further reduction of the serum cholesterol by 10% which was significant on the 5% level. This corresponded to a decrease of the LDL cholesterol by 9% ( $p < 0.01$ ). The HDL cholesterol concentration remained unchanged.

Interestingly enough, there was an increased activity of the lipoprotein-lipase activity in skeletal muscle by 38%. There was no significant change of the intravenous-glucose tolerance, the fasting-blood glucose concentration or the serum-insulin concentrations at fasting or after intravenous glucose. However, the relation between the peak insulin and the fasting-serum insulin expressed as the insulin index increased in all patients on the soy-protein diet.



Our study indicates that substitution of soy protein for part of the animal protein in a lipid-lowering diet of hypercholesterolaemic patients may contribute to a further reduction of the LDL cholesterol concentration. In a recent study in hypercholesterolaemic out-patients (13) Goldberg et al similarly concluded that diets containing soy proteins lower plasma LDL more effectively than do diets containing animal proteins.

Thus, what is the mechanism behind the proposed hypocholesterolaemic effect of soy-bean products? It has been suggested that this effect may be due to the amino-acid composition of the soy-bean products or due to the presence of saponins in these products.

Kritchevsky and coworkers have postulated that the ratio between lysine and arginine, which is approximately twice as high in casein as in soy protein, may be of importance (3). They have also carried out some experiments which may give some support for this assumption. Other data, speaking in favour of the amino-acid hypothesis are the hormonal responses of soy protein with changes of the insulin and glucagon concentrations demonstrated by us (12) and the Italian group (14) and which are hard to explain if the effect of the soy proteins is exerted only in the intestinal lumen.

However, there is certain evidence that also the content of saponins will contribute to the cholesterol reduction achieved. The hypocholesterolaemic effect of soy protein may be somewhat less pronounced in the absence of other non-protein material as seen for example in soy-bean isolates. Some human studies indicate that treatment with soy-bean products increases the excretion of biliary acids in the faeces and that this effect probably is due to the

saponins (15).

It is postulated that the saponins bind bile acids in a similar manner as ion-exchange resins of the type we use in pharmacological treatment of hypercholesterolaemia. This will decrease the entero-hepatic re-circulation of bile acids and will increase the conversion of cholesterol to bile acids in the liver. This is in accordance with findings in animal studies where an increased rate of oxidation and turn over of labelled cholesterol has been demonstrated. This is also in accordance with the findings of a rather poor lipid-lowering effect in normolipidaemic patients and patients with hypertriglyceridaemia but with normal cholesterol values in serum. Similar effects have also been demonstrated with other types of legumenoses. However, in other studies it has been impossible to show any effect of saponins (16) or any marked changes in the fecal output of neutral steroids and bile acids (17).

In conclusion, there is today no absolute evidence, but some rather good indications, that substitution of soy-bean protein for animal protein in a lipid-lowering diet may cause a further reduction of the serum-cholesterol levels. In patients with hypercholesterolaemia the reduction seems to be confined to LDL, while no effect has been demonstrated on HDL. The mechanism behind this effect is not clear but may be due to both the altered amino-acid composition and to the presence of saponins in the soy-products. Other components may be, at least partly, responsible for the observed effects on serum cholesterol. Additional well-controlled studies are needed.

References

1. Rhoads GC, Gulbrandsen CL, Kagan A. Serum lipoproteins and coronary heart disease in a population study of Hawaii Japanese men.  
New Engl J Med 294: 293-298, 1976.
2. Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study.  
Am J Med 62: 707-714, 1977.
3. Kritchevsky D. Vegetable protein and atherosclerosis.  
J Am Oil Chemist's Soc 56: 135-140, 1979.
4. Hamilton RMC, Carroll KK. Plasma cholesterol levels in rabbits fed low fat, low cholesterol diets. Effects of dietary proteins, carbohydrates and fibre from different sources.  
Atherosclerosis 24: 47-62, 1976.
5. Kritchevsky D, Tepper SA, Williams DE, Story JA. Experimental atherosclerosis in rabbits fed cholesterol-free diets. Part 7. Interaction of animal or vegetable protein with fiber.  
Atherosclerosis 26: 397-403, 1977.
6. Sirtori CR, Agradi E, Conti F, Mantero O, Gatti E. Soybean-protein diet in the treatment of type-II hyperlipoproteinaemia.  
Lancet, i, 275-277, 1977.

7. Carroll KK, Giovannetti PM, Huff MW, Moase O, Roberts DCK, Wolfe BM. Hypocholesterolemic effect of substituting soybean protein for animal protein in the diet of healthy young women.  
*Am J Clin Nutr* 31: 1312-1321, 1978.
8. van Raaij JMA, Katan MB, Hautvast JGJA, Hermus RJJ. Effects of casein versus soy protein diets on serum cholesterol and lipoproteins in young healthy volunteers.  
*Am J Clin Nutr* 34: 1261-1271, 1981.
9. van Raaij JMA, Katan MB, West CE, Hautvast JGAJ. Influence of diets containing casein, soy isolate, and soy concentrate on serum cholesterol and lipoproteins in middle-aged volunteers.  
*Am J Clin Nutr* 35: 925-934, 1982.
10. Sirtori CR, Gatti E, Mantero O, Conti F, Agradi E, Tremoli E, Sirtori M, Fraterrigo L, Tavazzi L, Kritchevsky D. Clinical experience with the soybean protein diet in the treatment of hypercholesterolemia.  
*Am J Clin Nutr* 32: 1645-1658, 1979.
11. Hoemes WL, Rubel GB, Hood SS. Comparison of the effects of dietary meat versus dietary soybean protein on plasma lipids of hyperlipidemic individuals.  
*Atherosclerosis* 36: 379-387, 1980.
12. Vessby B, Karlström B, Lithell H, Gustafsson IB, Werner I. The effects on lipid and carbohydrate metabolism of replacing some animal protein by soy-protein in a lipid-lowering diet for hypercholesterolaemic patients.  
*Human Nutrition: Applied Nutrition* 36A: 179-189, 1982.

13. Goldberg AP, Lim A, Kolar JB, Grundhauser JJ, Steinke FH, Schonfeld G. Soybean protein independently lowers plasma cholesterol levels in primary hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 43:355-368, 1982.
14. Fragiaco C, Nosedà G, Catapano A, Sirtori C. Analysis of the lipid lowering effect, lipoprotein and hormonal modifications following soybean treatment. Abstr No 304, 5th Int Symp on Atherosclerosis, Houston, Texas, USA, 1979.
15. Potter JD, Illman RJ, Calvert GD, Oakenfull DG, Topping DL. Soya saponins, plasma lipids, lipoproteins and fecal bile acids. A double-blind cross-over study. *Nutr Reports International* 22: 521-528, 1980.
16. Calvert GD, Blight L, Illman RJ, Topping DL, Potter JD. A trial of the effects of soya-bean flour and soya-bean saponins on plasma lipids, fecal bile acids and neutral steroids in hypercholesterolaemic men. *Br J Nutr* 45: 277-281, 1981.
17. Fumagalli R, Soleri L, Farina R, Musanti R, Mantero O, Nosedà G, Gatti E, Sirtori CR. Fecal cholesterol excretion studies in type II hypercholesterolemic patients treated with the soybean protein diet. *Atherosclerosis* 43: 341-353, 1982.



## HALOFORME UND CHLORIERTE LÖSEMittel IN PFLANZLICHEN LEBENSMITTELN

von Ulrich Bauer, Bochum

Zusammenfassung

Die Reaktion von Chlor mit organischen Substanzen führt zur Bildung von Haloformen. Daraus sowie aus der Verwendung chlorierter Lösemittel ergeben sich chlororganische Rückstände in pflanzlichen Lebensmitteln. Neben den allgemeinen Betrachtungen zur Umweltrelevanz dieser Substanzen und ihrer toxikologischen Bedeutung werden die Reaktionsmöglichkeiten verschiedener Substanzgruppen von Pflanzen mit Chlor aufgezeigt. Kohlenhydrate sind besonders reaktionsfähig. Extraktion, Bleichung, Kaltsterilisation sind Technologien, die Rückstände zur Folge haben können. Untersuchungen an Mehlproben, Obst, Gemüse, Sirupen, Instantpulvern und verschiedenen Getränken belegen die Anwesenheit flüchtiger organischer Halogenverbindungen in diesen Produkten in Konzentrationen bis zu 100 µg/kg.

Summary

The reaction of chlorine with organic compounds leads to the formation of haloforms. Therefore and because of the use of chlorinated solvents, organic chlorinated residues in food from plants could be found. Beside general considerations concerning the environmental fate and toxicological significance of these substances the possible reactions of various groups of chemical compounds in plants with chlorine are shown. Carbohydrates react very good. Extraction, bleaching, cold sterilization are technologies which cause residues. Investigations of flours, fruits, vegetables, sirups, instant powders and various bevarages prove the presence of volatile, organic halogenated compounds in these products in concentrations up to 100 µg/kg.

## 1. Einleitung

Die Bedenken unserer Gesellschaft gegen Chemikalien in der Umwelt erfordern ein gründliches Erkennen der Vorgänge, die beim Eintrag von Chemikalien in die Umwelt ablaufen. Da Trinkwasser, Atemluft und Lebensmittel direkt auf den Menschen einwirken, sind diese besonders davon betroffen. Ein akutes Interesse in Bezug auf Chemikalien besteht an den flüchtigen halogenierten Verbindungen (1). Sie entstehen beim Einsatz von Chlor oder werden direkt bei der Anwendung in die Umwelt eingebracht.

Unter Haloformen werden außer den Trihalogenmethanen auch chlorierte Lösemittel verstanden. Es handelt sich also um folgende halogenierte Methane, Ethane und Ethene:

Trichlormethan = Chloroform; Dibromchlormethan, Bromdichlormethan, Bromoform = Tribrommethan; 1,1,1-Trichlorethan, Tri- und Tetrachlorethen; Tetrachlormethan (1).

Die Untersuchungen beschränkten sich auf pflanzliche Lebensmittel, die für den Durchschnittsbürger von täglichem Interesse sind. Aus gegebenem Anlaß spielen Getränke dabei eine besondere Rolle (2).

## 2. Literaturübersicht

### 2.1 Produktion und Anwendung

Halogenierte organische Verbindungen sind in der Natur selten. Sie können als sekundäre Stoffwechselprodukte von Pilzen, Algen, Flechten u.a. vor allem im marinen Bereich auftreten. Bekannt waren 1973 etwa 150 halogenhaltige Verbindungen natürlichen Ursprungs. In nicht lebenden natürlichen Quellen wie Stein, Petroleum oder Schiefer sind sie bisher nicht gefunden worden (3).

Einige Zahlen über die anthropogene Produktion belegen ihre Bedeutung als wirtschaftliche Faktoren und als potentielle Umweltchemikalien. In der Liste über die Chemikalienproduktion in den USA steht Chlor 1975 an 7. Stelle (4). Die Hälfte wird zur Synthese der wichtigsten Organochlorverbindungen verwendet, allein 17,8 % zur Synthese von Chlormethanen und 4,3 % zur Desinfektion von Wasser (5).

Anderen Autoren zufolge ist mit weit höheren Produktionszahlen zu rechnen:

- weltweit bis zu 8 Megatonnen Chlor allein für die Wasserdesinfektion (6).



- 35 Megatonnen soll die Weltproduktion organischer Chlorverbindungen betragen (7).

Unter den Halogenen steht Chlor mengenmäßig an der Spitze. In der Bundesrepublik Deutschland wurden 1977 2,8 Megatonnen Chlor, aber nur 3736 Tonnen Brom hergestellt (8).

Die Anwendung dieser Verbindungen ist vielfältig (7). 19,5 Mill t 1,2-Dichlorethan wurden 1973 auf der Welt synthetisiert. Der überwiegende Teil findet sich im Vinylchlorid und damit im PVC wieder. Geringe Teile dienen als Lösemittel. Auch die verschiedenen chlorierten Methane dienen weiteren Synthesen. Ein direkter Eintrag in die Umwelt findet nicht statt. Anders steht es mit den übrigen, die als Lösemittel oder Treibmittel eingesetzt werden. Ihre Produktionsziffern entsprechen annähernd den Verlusten und damit der Abgabe an die Umwelt. Mit anderen Worten: rund je eine Million Tonnen Tri- und Tetrachlorethen sowie Fluorkohlenwasserstoffe gelangen jährlich in die Umwelt. Die 11 Verbindungen stellen in den USA rund 90 % aller organischen Chlorverbindungen dar. In den Rest teilen sich alle übrigen, z.B. Pestizide oder PCB. In der Bundesrepublik stehen den 200 000 t Tri- und Tetrachlorethen (55) nur 1000 t Insektizide, 8800 t Herbizide und 5000 t Fungizide gegenüber (10).

Chlorierte Verbindungen werden nicht nur in der chemischen Industrie zu Synthesezwecken und als Lösemittel, sondern in großem Umfang in der Metallindustrie zum Entfetten, in Reinigungsanstalten, kunststoffverarbeitenden Betrieben und bei der Verarbeitung von Lebensmitteln eingesetzt (Tab. 1) (11). Beispiele sind die Herstellung von entcaffeinierem Kaffee, die Entfettung von Sojaprodukten oder die Extraktion von Gewürzen. Im Haushalt sind Tri- und Tetrachlorethen vielfach im Gebrauch; in Fleckenwasser, Reinigungsmitteln, Imprägnierungsmitteln etc.

Tab. 1: Verwendung von Tetrachlorethen (11)

Table 1: Use of tetrachloroethene (11)

Metallentfettung	60 - 70 %
Chemischreinigung	20 - 30 %
Extraktion	5 %
Chemische Umwandlung	5 %

Pro-Kopf-Verbrauch 1972 1,4 kg/J.

Wasserlöslichkeit, Dampfdruck, Siedepunkt und Verteilungskoeffizienten bestimmen das weitere Verhalten organischer Halogenverbindungen in der Umwelt (Tab. 2). Eine geringe Wasserlöslichkeit geht im allgemeinen mit einer guten Lipoidlöslichkeit einher. Dies entspricht einer guten Sorption an organisches Material.

Tab. 2: Flüchtige organische Chlorverbindungen in der Umwelt

Table 2: Volatile organic chlorinated compounds in the environment

OCIV	Wasserlöslichkeit (mg/l) (7)	Verteilungskoeff. Wasser/Luft (w/v per w/v) (7)	Biologische Abbaubarkeit (Jahre) (12)	Halbwertszeit i.d. Troposphäre (Wochen) (7)
Vinylchlorid	60	0,02		11
Tetrachlorethylen	150	1,2	1 - 2	12
Trichlorethan	480	0,7	>2	26
Tetrachlorkohlenstoff	780	1,1	>2	10
Trichlorethylen	1 100	2,7	1 - 2	6
Chloroform	8 200	8,6	>2	23
Dichlormethan	13 200	8,1	1 - 2	33

Hierbei spielen lipophile Pflanzeninhaltsstoffe (Wachse, Fette, Öle) und die Oberfläche eine Rolle. Niedrige Temperaturen begünstigen die Sorption, hohe Temperaturen die Desorption. Große Verteilungskoeffizienten "Wasser/Luft", z.B. bei Trichlorethen, deuten auf den Verbleib in der Hydrosphäre, geringe Koeffizienten auf einen Übergang in die Atmosphäre hin. Die biologische Abbaubarkeit in unadaptierten Böden liegt in Bereichen, wie sie für insektizide Chlorkohlenwasserstoffe, z.B. DDT, bekannt sind (12). Es ist also mit ähnlichen Persistenzen zu rechnen. Dies ist aufgrund der chemischen Strukturen auch leicht einzusehen. Die Verbindungen enthalten keinen Sauerstoff und nur wenig Wasserstoff. Bei völlig durchchlorierten Verbindungen wie  $CCl_4$  und  $C_2Cl_4$  bestehen keine Angriffsmöglichkeiten für Enzymsysteme. Der einzig mögliche Abbau erfolgt in der Troposphäre photolytisch (7). Er beruht auf ähnlichen Mechanismen wie bei den Fluorchlorkohlenwasserstoffen. Die Halbwertszeiten in der Troposphäre betragen einige Wochen (7).

## 2.2 Toxikologische Bewertung der flüchtigen Organohalogene

Die akute Toxizität der halogenierten Verbindungen (16) beginnt im Bereich von mehreren hundert mg/kg Körpergewicht (z.B. Ratte oder Maus) (17) und reicht bis ca. 14 000 mg/kg, z.B. für 1,1,1-Trichlorethan (18). Im Vordergrund steht die narkotische Wirkung, die Wirkung auf Atmungsorgane und parenchymatische Gewebe (19). Derartige Konzentrationen sind für die Umwelt nicht zu erwarten. Die akute Toxizität stellt deshalb kein Kriterium für die Bewertung der Organohalogene als Schadstoffe in der Umwelt dar (Tab. 3).

Tab. 3: Toxikologie flüchtiger organischer Halogenverbindungen

Table 3: Toxicology of volatile organic halogenated compounds

OHV	MAK-Wert ppm *)	LD-50 Ratte oral mg/kg	Maus oral **) mg/kg	Verdacht auf Cancero- genität	Muta- genität ***)
Trichlormethan	10	300-2180	1120	*	
Bromdichlormethan			450		*
Dibromchlormethan			800		*
Tribrommethan			1400		*
1,1,1-Trichlorethan	200	14000			*
Tetrachlormethan	10	2920		*	
Trichlorethen	50	4920		*	*
Tetrachlorethen	100	200-13000		*	*

\*) (13)    \*\*) männl. Tiere (14)    \*\*\*) (15)

Anders steht es mit der chronischen Toxizität, d.h. der Zufuhr subletaler Dosen über Jahre und Jahrzehnte hinweg. Hier bestehen Verdachte auf Kanzerogenität und Mutagenität dieser Verbindungen im Tier- und Bakterienversuch (15). Die Environmental Protection Agency der USA betrachtet Chloroform, Tri- und Tetrachlorethen als potentielle Karzinogene (20). Darüber hinaus gibt es Hinweise darauf, daß Organohalogene das Immunsystem beeinträchtigen und Allergien verursachen können, wenn vorher eine Sensibilisierung in hohen Konzentrationen erfolgt ist (19).

Organohalogenverbindungen wirken aus allen Bereichen der Umwelt auf den Menschen ein (19). Sie nehmen am globalen Wasserkreislauf teil und werden in der Gasphase weiträumig verfrachtet. Der Mensch kann sich ihnen durch Ortswechsel, durch Veränderung der Lebens- und Ernährungsgewohnheiten nur teilweise entziehen. Sie werden durch Emission und Chlorung ständig nachgeliefert. Hinweise auf die Kumulierung dieser flüchtigen

Verbindungen sind seit einigen Jahren bekannt. Dies zeigt sich im Vorkommen bestimmter Lösemittel in fetthaltigen Lebensmitteln tierischer Herkunft. Wir fanden bis zu 4 mg Tetrachlorethen pro kg Schweineschmalz (21). In einer Untersuchung von 50 Humanproben aus dem Ruhrgebiet konnten die chlorierten Verbindungen nachgewiesen werden (22) (Tab. 4). Gegenüber Muskel, Leber und Lunge sind die Konzentrationen des Tetrachlorethens in Nierenkapselfett und subkutanem Fett deutlich erhöht. In den USA wurden Chloroform und Tetrachlorethen in Muttermilch in Charleston und Jersey City 1981 nachgewiesen (23).

Tab. 4: Tetrachlorethen in Humanproben aus dem Ruhrgebiet 1978/79 (N = 50) (22)

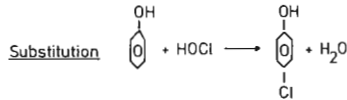
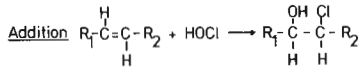
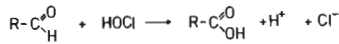
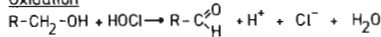
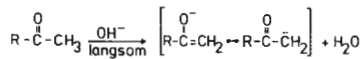
Table 4: Tetrachloroethene in human samples from the Ruhr district

Gewebe oder Organ	Konzentrationen in $\mu\text{g}/\text{kg}$ , bezogen auf Frischgewicht	
	Mittelwerte	Maximalwerte
Leber	9	27
Muskel (Ps. major)	10	45
Lunge	11	65
Nierenkapselfett	20	72
subkutanes Fett	21	74

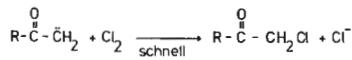
## 2.3 Haloform-Reaktion

### 2.3.1 Mechanismen der Haloform-Reaktion

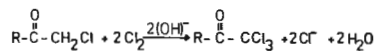
Überall dort, wo geeignete Vorläufer-Substanzen in wässriger Lösung vorhanden sind, ist bei Anwesenheit von Chlor mit der Haloform-Reaktion zu rechnen. Umsetzungen von Chlor mit Organika in wässriger Lösung betreffen vor allem Oxidationen, Additionen an Doppelbindungen und Substitutionen (Abb. 1). Erstere führen zu Aldehyden und Säuren, letztere zu Chloraromaten. Die bei der Chloraddition gebildeten Chlorhydrine sind Oxidationsreaktionen zugänglich, wobei die entsprechenden Ketone bekannte Vorläufer-Substanzen der klassischen Haloform-Reaktion sind (Abb. 2). Grundlage dieser Reaktion ist die Umsetzung von Ketogruppen mit Hypochlorit, unterchloriger Säure,  $\text{Cl}_2\text{O}$ ,  $\text{Cl}_3^-$  oder  $\text{H}_2\text{OCl}^+$ . Zu den Haloform-Vorläufern gehören zahlreiche, natürlich vorkommende Verbindungen, z.B. Humin- oder Fulvinsäuren (24). Die Reaktion findet bereits

Abb. 1: Umsetzungen von Chlor mit Organika in wässriger LösungFig. 1: Reactions of chlorine with organic compounds in aqueous solutionsOxidationSubstitutionAbb. 2: Einzelschritte der Haloform-ReaktionFig. 1: Single steps of the haloform reaction

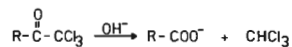
1. Enolisierung der Carbonylverbindung



2. Monohalogenid-Bildung



3. Trihalogenid-Bildung



4. Spaltung des Trihalogenids

unter Bedingungen statt, wie sie in Wasserwerken oder Lebensmittelbetrieben vorkommen. Sie wird beschleunigt durch Erhöhung der Temperatur, des pH-Werts und der Konzentration der beteiligten Reaktionspartner (Abb. 2). Im einzelnen erfolgt zunächst eine langsame Enolisierung der Carbonylverbindungen, die von der OH-Konzentration abhängig, von der Chlorzugabe jedoch unabhängig ist. Die Reaktion ist grundsätzlich auch im Sauren möglich. Der zweite Schritt ist eine schnelle Bildung des Monohalogenids, das im dritten Schritt zum Trihalogenid umgesetzt wird. Beide Schritte sind von der Chlorkonzentration abhängig. Hier zeichnet sich bereits die Struktur des Trihalogenmethans ab. Der letzte Schritt wird wieder durch Basen katalysiert und führt zur Entstehung von Chloroform. In Analogie dazu entstehen bei Gegenwart von Bromid die bromierten Methane. Die Reaktionsmöglichkeiten von Chlor mit definierten chemischen Substanzen sind für eine Reihe von Gruppen bekannt, z.B.: aromatische Verbindungen, Stickstoffverbindungen, Nukleinsäuren, Fettsäuren, Kohlenhydrate etc. (25).

### 2.3.2 Reaktion pflanzlicher Inhaltsstoffe mit Chlor

Aromatische Verbindungen werden unter normalen Bedingungen - d.h. bei pH-Werten um 7 und Temperaturen um 20°C - schnell chloriert. Die Inkorporierung von Chlor folgt dem Trend der Aktivierung des aromatischen Ringes. Elektronenabgebende Substituenten dirigieren vorzugsweise in die ortho- und para-Position (25). Die Vielfalt der bisher bekannten Reaktionen wird an folgenden Beispielen deutlich:

- aus Hydroxymethylsäuren entstehen chlorierte Styrole und Chinone (26)
- Biphenyl und Naphthaline reagieren leicht unter Bildung der chlorierten Produkte, z.B. PCB (27)
- Chloroform entsteht bei der Reaktion von Hypochlorit mit halogenierten Phenolen und Anilin (28)
- polyzyklische Aromaten führen zu Chlorfluoren, Chlorphenathren, Chlordibenzofuran und den entsprechenden Bromverbindungen (29),
- aus Fulvinsäuren entstehen neben Chloroform auch Trichlorethen, Tetrachloraceton, Pentachlorpropan u.a. (24)
- Chloracetone mit 4 bis 6 Chloratomen pro Molekül, deren Mutagenität im Bakterienversuch erkannt wurde, bilden sich bei der Chlorung von Zellstoff und Zellulose zu Bleichzwecken. Daneben entstehen hierbei noch 1,1,2,2-Tetrachlorethan, 1,1,1-Trichlorethan, 1,2-Dichlorethan,

Dichlormethan, Tetrachlor- und Pentachlorpropan (30)

- Substanzen, die nur gering oder gar nicht durch Chlor verändert werden, zeigen in Gegenwart von UV-Licht gesteigerte Reaktionsbereitschaft, z.B. Butanol oder Benzoesäure (31)
- Heterozyklen sind der Haloform-Reaktion bedingt zugänglich: Thiophen und Pyrrol reagieren leicht, während Pyridin keine Haloform-Reaktion eingeht (33). Furane zersetzen sich leicht (33)
- Besonders gut reagieren Phenole unter den Bedingungen der desinfizierenden Chlorung. Dies ist bereits seit 1883 bekannt (34). Von den entstehenden Produkten tragen besonders Dichlorphenole zur organoleptischen Beeinträchtigung bei (35). Sie sind geruchs- und geschmacksintensiv. Zahlreiche Verbindungen wurden bei der Chlorung von Kresolen nachgewiesen (36).

Die Ergebnisse der Chlorung stickstoffhaltiger Verbindungen sind von deren Basizität abhängig. Amine reagieren schneller als Amide (37, 38). Dominierende Mechanismen sind die Chlorierung der Aminogruppe und die oxidative Decarboxylierung (39). Chloramine entstehen bevorzugt bei pH-Werten unter 7, während die Oxidation zum Aldehyd im neutralen oder alkalischen Medium erfolgt (40, 41). Mit Chlordioxid, einem häufig empfohlenen Ersatzprodukt für Chlor, reagieren Aminosäuren ebenfalls in wässrigen Lösungen (42). Die gebildeten Chloraminosäuren sind jedoch sehr unbeständig. Sie zerfallen zu Acetaldehyd, Ammonium, Kohlendioxid und Chlorid (43). Die Halogenierung von Nukleinsäuren ist seit Beginn des Jahrhunderts untersucht worden (44). Mit Chlor erhält man Mono- und Dichlorderivate in 4- bzw. 5-Position, z.B. beim Cytosin (45). Zahlreiche chlorierte Purine, Pyrimidine und Nukleoside sind nachgewiesen worden (46).

Fettsäuren reagieren sehr unterschiedlich. Im allgemeinen ist der Chloreinbau der Anzahl der C-C-Doppelbindungen direkt proportional. Dabei reagieren freie Fettsäuren mehr als die Ester, während sich die Triglyceride wie die Ester der freien Säuren verhalten. Ölsäure bildet 2 und mehr chlorierte Produkte (47). Unter bestimmten Bedingungen kann die Reaktion der Fettsäuren mit Chlor - trotz vorhandener Doppelbindungen - jedoch unterbleiben (48). Bei der gasförmigen Chlorung von Mehl zum Zwecke der Bleichung entstehen Di- und Tetrachloroctadecensäuren (49).

Reduzierende Zucker (46) und Aminozucker (37) werden durch Hypochlorit oxidiert. Eigenen Untersuchungen zufolge neigen besonders Lactose und Maltose zur Bildung von Bromoform in Gegenwart von Bromid. Bei Glukose überwiegt die Chloroformbildung (Tab. 5). Bei den untersuchten 8 Kohlenhydraten waren unter den Versuchsbedingungen mit 1 mg Cl<sub>2</sub>/l Haloforme nachweisbar (50).

Tab. 5: Haloformbildung aus Kohlenhydraten (nach 50)

Table 5: Formation of haloforms from carbohydrates (from lit. 50)

K H	KONZENTRATION (µg/l)			
	CHCl <sub>3</sub>	CHBrCl <sub>2</sub>	CHBr <sub>2</sub> Cl	CHBr <sub>3</sub>
Glukose	2,7	0,4	0,2	1,9
Arabinose	0,6	0,1	0,8	3,8
Sacharose	nn	nn	0,2	2,9
Maltose	0,7	0,2	0,9	6,8
Cellobiose	nn	nn	0,3	1,7
Lactose	nn	0,2	1,1	9,3
Raffinose	0,9	nn	0,3	3,7
Stärke	0,8	1,3	2,1	1,7

1%ige KH-Lösung      Mittelwerte (N=3)  
 1mg/l Chlor  
 1mg/l KBr  
 pH 7  
 21°C  
 20h  
 belichtet

### 2.3.3 Haloform-Reaktionen in der Lebensmitteltechnologie

Umsetzungen von Chlor in wässriger Lösung mit Bestandteilen von Lebensmitteln und die Anwendung chlorierter Lösemittel führen zwangsläufig zum Auftreten von Haloformen in handelsfertigen Produkten. Diese theoretischen Erkenntnisse sollen durch Beispiele aus der Praxis untermauert werden.

Halogenierte Lösemittel eignen sich besonders gut zur Extraktion von Lebensmitteln, z.B. zur Entfernung unerwünschter Bestandteile (Fett, Coffein etc.) oder zur Gewinnung von Aroma-, Farb- und Geruchsstoffen. Sie sind nicht brennbar, besitzen höhere Siedepunkte als die entsprechen-



den Kohlenwasserstoffe und gehen bei der Verwendung nur in geringem Maße verloren. So gewinnt man beispielsweise die ausschlaggebenden Geruchskomponenten von Früchten durch Destillation bei niedrigen Temperaturen und anschließender Extraktion des Destillats mit Dichlormethan (51). Erfrischungsgetränke auf Orangenbasis, wie Fruchtsaftgetränke und Limonaden, dürfen nur mit Farbstoffen verbessert werden, die aus den Früchten selbst zu gewinnen sind. Üblicherweise werden sie durch Pressen der Schalen gewonnen. Die Ausbeute läßt sich durch Extraktion mit Trichlorethen oder Chloroform steigern. Dadurch ergeben sich bei ungenügender Entfernung Rückstände, z.B. bis zu 20 g Trichlorethen pro kg Schalenöl (52).

In Hopfenextrakten fanden sich nicht nur Rückstände des Extraktionsmittels Dichlormethan (Tab. 6) von 3 g/kg, sondern auch Verunreinigungen anderer halogenierter Lösemittel: Tetrabrommethan, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Tri- und Tetrachlorethen, Bromoform. u.a.

Tab. 6: Haloforme in Hopfen (Stichprobe 1980)

Table 6: Haloforms in a single hop sample 1980

Verbindung	Konzentration ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
	Extrakt	Pellets
Dichlormethan	3 070 000	<5,0
Chloroform	1 020	<0,04
Tetrachlorkohlenstoff	180	<0,005
Dibromchlormethan	80	<0,01
1,2-Dibrommethan	140	<0,04
Trichlorethylen	550	<0,03
Tetrachlorethylen	70	<0,01
Bromoform	70	<0,01
Tetrabrommethan	52 000	<0,1
Summe org. Cl.	4 605 000	<220

Auch die Untersuchung von Gewürzmischungen läßt erkennen, daß hier Dichlormethan als Lösemittel verwendet worden ist (Tab. 7). Daneben finden sich Chloroform und Tetrachlorethen.

Tab. 7: Haloforme in Gewürzmischungen (Stichproben 1982) (21)

Table 7: Haloforms in spices (single samples 1982)

Gewürzmischung	Konzentration (mg/kg)		
	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	$\text{HCCl}_3$	$\text{C}_2\text{Cl}_4$
Bratzwiebel	10,8	nn	0,1
Paprika	186,8	nn	0,1
Bohnenkraut	1973,0	nn	0,2
Kümmel	4,3	0,1	0,7
Wacholder	nn	nn	nn

nn = nicht nachweisbar

Die Entfettung von Lebens- und Futtermitteln ist ein gebräuchlicher Verfahrensschritt, z.B. bei Sojamehl und -schrot (53,61). Die entfetteten Futtermittel können bis zu 10 g Tetrachlorethen pro kg enthalten (54). Kälber, Schweine, Hühner, Enten, Fische und Kühe nehmen die chlorierten Verbindungen auf und lagern sie im Fettgewebe ab. In den entsprechenden Lebensmitteln, auch Eiern, finden sie sich wieder (56).

Die Extraktion von Coffein aus Kaffee durch Di- und Trichlorethen ist nicht mehr gebräuchlich.

Unerwünschte Farbstoffe können bei der Bleichung von Lebensmitteln durch Chlor eliminiert werden (57). Die Anwendung bei Fetten und Ölen ist jedoch geringer geworden. Eine gewisse Bedeutung hat noch die Mehلبleichung in einigen Ländern. Neben der Zerstörung der Carotinoide treten auch Veränderungen an weiteren Mehلبestandteilen auf. Der Gehalt an ungesättigten Fettsäuren nimmt ab. Veränderungen an der Stärkefraktion führen zu erheblichen Backverbesserungen (vergrößertes Volumen, feinere Porung und bessere Stabilität) (49). Untersuchungen auf den Gehalt an Trihalogenmethanen fehlen bisher.

Zur sog. Kaltsterilisation von Säuglingsflaschen und -saugern wird Hypochlorit sowohl im Haushalt als auch in der Klinik verwendet (58). Mit Resten der Säuglingsnahrung, z.B. Fencheltee, erfolgt dabei die Haloform-Reaktion. Die Bildung von Chloroform dominiert. Es werden Konzentrationen bis zu 40  $\mu\text{g/l}$  erreicht.

Einige der flüchtigen Organohalogene besitzen auch biozide Eigenschaften. Sie werden z.T. noch ausgenutzt und können zu Rückständen führen,

z.B. die Anwendung von Tetrachlormethan zur Begasung von Weizen während der Lagerung. Dabei werden bis zu 14 g/kg im Korn kumuliert (59). Als fungizide Bodenbehandlungsmittel wurden Trichlorethen und Chloroform eingesetzt (61,62).

### 3. Methodik

Bevor auf einzelne Ergebnisse der Untersuchung pflanzlicher Lebensmittel auf Haloforme eingegangen wird, ist es notwendig, die analytischen Methoden darzustellen.

Grundsätzlich ist eine Anreicherung der zu bestimmenden Substanzen aus dem Lebensmittel notwendig (1). Die Extraktion, z.B. mit Pentan oder anderen Kohlenwasserstoffen, erfaßt alle lipophilen Inhaltsstoffe. Die Abtrennung der flüchtigen Organohalogene stößt auf Schwierigkeiten. Deshalb bevorzugt man Verfahren, welche die Flüchtigkeit der Verbindungen ausnutzen. Dazu gehören die Dampfraum-Analyse (63,64) und das Ausblasen (65,66). Unsere Methode besteht darin, die gesuchten Verbindungen aus flüssigen oder festen Lebensmitteln nach Erwärmung auf 60°C mit Stickstoff auszublasen. Sie werden an makroporöse Adsorberharze sorbiert und anschließend mit Pentan eluiert. Der Extrakt wird ohne weitere Behandlung gaschromatographiert (1).

## 4. Untersuchungsergebnisse

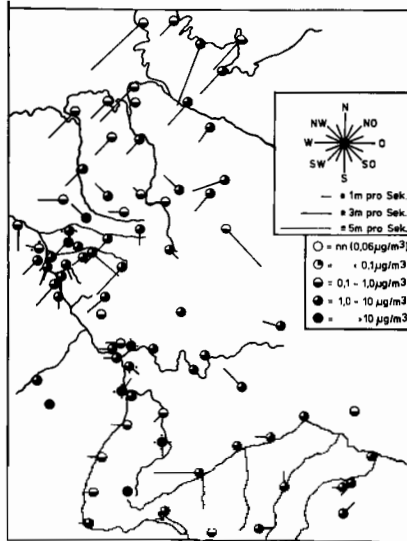
### 4.1 Voruntersuchungen

Die Untersuchung pflanzlicher Lebensmittel unterschiedlicher Art und Herkunft zeigte stets die Anwesenheit der in Luft vorkommenden flüchtigen Organohalogenverbindungen. Bromierte Haloforme waren nur selten anzutreffen. In einer Voruntersuchung wurden deshalb Luftproben aus der gesamten Bundesrepublik untersucht. Man findet regelmäßig die 5 Verbindungen Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, 1,1,1-Trichlorethan, Trichlorethen und Tetrachlorethen. Abb. 3 zeigt die universelle Anwesenheit von Chloroform in der Luft der Bundesrepublik Deutschland. Höchstwerte von bis zu 80 µg/m<sup>3</sup> wurden in Frankfurt, Ludwigshafen und Stuttgart gemessen. Für die 4 anderen Substanzen wurden ähnliche Verteilungen festgestellt. Es ist deshalb anzunehmen, daß organische Halogenverbindungen dieses Typs von bestimmten industriellen und gewerblichen Quellen aus gleichmäßig über die Luft verfrachtet und damit verteilt werden (21).

Damit ist grundsätzlich auch eine gleichmäßige Kontamination von Pflanzen und pflanzlichen Lebensmitteln gegeben.

Abb. 3: Chloroform in der Luft der Bundesrepublik Deutschland 1980

Fig. 3: Chloroform in the air of the FRG in 1980



#### 4.2 Vorkommen von Haloformen in pflanzlichen Lebensmitteln

Aufgrund der Voruntersuchungen, die eine gleichmäßige Verteilung annehmen ließen, wurden Stichproben pflanzlicher Lebensmittel aus dem Raume Bochum als repräsentativ für das Ruhrgebiet angenommen. Hieraus sind in Tab. 8 die Chloroform- und Tetrachlorkohlenstoff-Gehalte ausgewählter Lebensmittel angeführt. Die Maximalkonzentrationen überschreiten 100 µg/kg nicht. Alle Werte sind auf Frischgewicht bezogen. 13 Mehlproben enthielten im Mittel 3 µg Tetrachlorkohlenstoff/kg, 8 Obst- und Gemüseproben enthielten 0,1 µg/kg. In Saftgetränken dominieren Chloroform und Trichlorethen (in Tab. 8 nicht enthalten).

Proben pflanzlicher Öle zeigen - auch bei Fortsetzung der Untersuchungen über den in Tab. 8 angegebenen Rahmen hinaus - keine wesentlichen

Änderungen. Chloroform wird zu etwa 30 µg/kg gefunden. Im Gegensatz zu den schwer flüchtigen Halogenkohlenwasserstoffen wie HCH, DDT und PCB in tierischen Fetten erfolgt offensichtlich keine Kumulierung flüchtiger Organohalogene in pflanzlichen Fetten und Ölen. Es sei jedoch an dieser Stelle darauf hingewiesen, daß Konzentrationen der Haloforme in Hühnereiern, Schweineschmalz und Butter von mehreren mg/kg gefunden werden (21).

Tab. 8: Haloforme in ausgewählten Lebensmitteln aus Bochum (1977/78)

Table 8: Haloforms in selected food samples from Bochum (1977/78)

Lebensmittel	Zahl der Proben	Konzentration (µg/kg)			
		Chloroform		Tetrachlorkohlenstoff	
		Mittelwert	Maximalwert	Mittelwert	Maximalwert
Olivenöl	3	28,4	37,0	0,6	0,7
Margarine	1	-	2,2	-	0,1
Kartoffeln	6	1,3	2,0	nn	nn
Mehl	13	-	49,0	3,0	10,0
Brot	5	-	1,4	-	0,3
Zucker	3	0,8	1,1	0,1	0,1
Obst, Gemüse	8	1,0	3,5	0,1	0,3
Kaffee, entcaff.	6	19,6	80,4	23,0	60,0
Saftgetränke	34	1,3	11,6	0,1	0,1

nn = nicht nachweisbar

Auch Früchte mit hohem Gehalt an ätherischem Öl, wie Fenchel, Anis und Kümmel, enthielten nur geringfügige Gehalte flüchtiger organischer Halogenverbindungen (ohne Tab.). Auch dieser Befund spricht dafür, daß keine Anreicherung in Pflanzen erfolgt. Die weiter oben erwähnten (Tab. 7) hohen Gehalte von Dichlormethan und Tetrachlorethen in Gewürzmischungen sind mit Sicherheit auf Rückstände von Extraktionsmitteln zurückzuführen. Diese betragen bis zu 2 g Dichlormethan/kg bei einer Bohnenkrautmischung. Es ist allerdings nicht auszuschließen, daß während und nach der Verarbeitung die in Pulverform vorliegenden Gewürze erhebliche Mengen Tetrachlorethen beispielsweise aus der Luft aufnehmen (große Oberfläche!).

Auf die Gehalte halogener Verbindungen in Hopfenextrakten wurde bereits hingewiesen (Tab. 6). Die Gehalte in den Extrakten reichen aus, um im fertigen Bier noch Dichlormethan-Konzentrationen bis zu 20 µg/l nachweisen zu können. Inzwischen bemühen sich die Hopfenhersteller um alternative Technologien oder um Verringerung des Dichlormethangehalts in

Extrakten. Die Haloform-Gehalte in Mehl und Brot zeigen eine Tendenz zu niedrigeren Werten bei Brot gegenüber Mehl. Dazu können zwei verschiedene Mechanismen führen:

- bei der thermischen Behandlung (Backen) sind Verluste der flüchtigen Verbindungen anzunehmen,
- bei der Lagerung von Mehl ist mit Sorptionen aus der Luft zu rechnen. Wegen der großen Oberfläche ist dies bei Mehl in weit stärkerem Maße möglich als bei Brot.

Diese in Tab. 8 dargestellten Untersuchungen aus dem Zeitraum 1977/78 wurden in den folgenden Jahren fortgesetzt. Die Ergebnisse zeigen keine wesentlichen Veränderungen bis zum Jahre 1982. Daraus könnte der Schluß gezogen werden, daß Veränderungen der Technologien und der allgemeinen Umweltkontaminationen nicht erfolgt sind. Um diese Annahme zu erhärten, sind jedoch noch weitere Untersuchungen notwendig.

Aus unseren weiterführenden Untersuchungen sollen die Getränke herausgegriffen werden. Sie zeigen verschiedene Kontaminationswege auf. Tab. 9 enthält die Untersuchungsergebnisse von 40 Proben Sirupen, Frucht- und Gemüsesäften, die in der Auswahl, Anzahl und den Ergebnissen der entsprechenden Untersuchungen von 1977/78 vergleichbar sind (Tab. 8). Die Chloroform-Konzentration liegt im Mittel bei 1,3 µg/kg mit Maximalwerten bei 10 µg/kg. Die Werte für Trichlorethan betragen 8 bzw. 1 µg/kg.

Tab. 9: Haloforme in Sirupen, Frucht- und Gemüsesäften

Table 9: Haloforms in sirups, juices of fruits and vegetables

Verbindung	Konzentration(µg/kg)		
	Max.	Min.	Mittelwert
Chloroform	11	nn	(1,3)
Tetrachlorkohlenstoff	1,2	nn	(0,1)
Trichlorethylen	7,6	nn	(0,8)
Tetrachlorethylen	0,9	nn	(0,1)

Probenzahl: N = 40 (Bochum 1979)

Diese beiden Substanzen sind charakteristisch für Getränke, da sie einerseits die Haloform-Reaktion (Chloroform), andererseits den Extraktionsmittelrückstand dokumentieren. Trichlorethylen ist vor allem

in Apfel- und Orangensäften zu finden. Heute gehen die Hersteller allerdings zu anderen Extraktionsmitteln über oder verwenden andere Technologien.

In Instantpulvern (Tab. 10) tritt vor allem Chloroform als Rückstand der Desinfektion mit Chlor im Verarbeitungs- oder Herstellungsbetrieb auf. Rückstände von Extraktionsmitteln sind demgegenüber nur sehr geringfügig. Chlor ist nach wie vor ein effizientes und preiswertes Desinfektionsmittel. Da Instantpulver für den Gebrauch im allgemeinen mit Leitungswasser angesetzt werden, sind die gefundenen Gehalte im Vergleich zu den in Trinkwasser vorhandenen Konzentrationen der Haloforme unerheblich.

Tab. 10: Haloforme in Instantpulvern 1981 (Bochum)

Table 10: Haloforms in instant powders 1981 (Bochum)

CHLORIERTE LÖSUNGSMITTEL IN INSTANTPULVERN 1981 (Bochum)				
Mittelwerte (N = 3) in µg/kg				
Instantpulver	Trichlor- methan	Tetrachlor- methan	Trichlor- ethen	Tetrachlor- ethen
Kakao	9	2	nn	4
Erdbeermilch	13	2	nn	nn
Zitronentee	nn	nn	nn	nn
Zitrone	26	4	nn	2
Banane	14	3	nn	nn
Kaffee (N=12)	25	3	4	2

In fertigen Getränken auf der Grundlage pflanzlicher Rohstoffe ist aufgrund der Aufbereitungstechnologie der Hersteller mit erhöhten Konzentrationen an Haloformen zu rechnen (Tab. 11). Dies bezieht sich auf Chloroform, dessen bundesweiter Mittelwert im Trinkwasser zwischen 1,3 und 2,6 µg/l liegt. Der Mittelwert der bromierten Methane im Trinkwasser liegt um etwa das 10-Fache höher als in Getränken (Tab. 11, vgl. Lit. 1 und 21). Die Gründe liegen in dem unterschiedlichen Sorptionsvermögen der Aktivkohlefilter gegenüber den einzelnen Substanzen:

Chloroform wird durch Aktivkohlefilter der Wasseraufbereitung bei Getränkeherstellern weniger zurückgehalten als die bromierten Methane.

Tab. 11: Haloforme in Getränken 1981 (Bochum)

Table 11: Haloforms in soft drinks 1981 (Bochum)

Getränke	Mittelwerte (N = 3) in µg/kg			
	Trichlor- methan	Bromdichlor- methan	Dibrom- chlormethan	Tribrom- methan
Orangenlimonade	2	0,5	0,3	nn
Cola	2	0,6	0,3	0,1
Zitronenlimonade A	4	0,6	0,3	0,1
Zitronenlimonade B	10	0,8	0,2	nn
Zitronenlimonade C	0,2	0,2	0,3	0,3

## 5. Diskussion

Unsere Überlegungen und Untersuchungen führen zu dem Schluß, daß das Vorkommen von Haloformen in pflanzlichen Lebensmitteln als Tatsache anzusehen ist. Da natürliche Quellen ausscheiden (3), ist ihre Anwesenheit immer anthropogenen Ursprungs. Es muß deshalb auch möglich sein, ihre Konzentration zu verringern. Im Sinne einer umfassenden Umweltvorsorge ist dies wünschenswert. Dazu dienen folgende Vorschläge:

- Es werden Grenzwerte für flüchtige Organohalogene in Lebensmitteln festgesetzt. Diese können sich an der Empfehlung des Bundesgesundheitsamtes für Trinkwasser orientieren (67):  
je 25 µg/kg für die Summe der 4 Trihalogenmethane und der 4 Lösemittel 1,1,1-Trichlorethan, Dichlormethan, Tri- und Tetrachlorethen dürfen im Jahresmittel nicht überschritten werden.
- Zur Einhaltung der Grenzwerte müssen außer Kontrollen vor allem Alternativen der bisherigen Technologien entwickelt werden. Beispiele: Dichlormethan läßt sich als Extraktionsmittel durch CO<sub>2</sub> oder Ethanol ersetzen. Die Entcaffeinierung von Kaffee gelingt auch mikrobiell (68).



- Zur Verringerung der Haloform-Reaktion sind folgende Wege möglich:
  - Verminderung der Konzentration von Chlor (1) oder Ersatz desselben (z.B.:  $H_2O_2$ ),
  - Senkung von Temperatur und pH, wenn sich eine Chlorung nicht umgehen läßt (50).

#### Dank

Die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützte die Untersuchungen im Rahmen des Vorhabens Se-182/9. Dafür sei an dieser Stelle gedankt. Besonderer Dank gilt Frau E. Eikenkötter, Frau M. Werding und Frau H. Gregorzik-Böhm für die technische Durchführung der Untersuchung.

Privatdozent Dr.rer.nat. Ulrich Bauer, Institut für Hygiene,  
RUHR-UNIVERSITÄT BOCHUM, Universitätsstraße 150, D-4630 Bochum

Literatur

- ( 1 ) Bauer, U.: Belastung des Menschen durch Schadstoffe in der Umwelt - Untersuchungen über leicht flüchtige organische Halogenverbindungen in Wasser, Luft, Lebensmitteln und im menschlichen Gewebe. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B 174, 15-56, 200-237,556-583 (1981)
- ( 2 ) Bauer, U.: Vorkommen von Haloformen in Trinkwasser und Getränken. Vortrag, Trier, 8.10.1981
- ( 3 ) Suida, J.F. und J.F. de Bernardis: Naturally occurring halogenated organic compounds. *Lloydia* 36, 107-136
- ( 4 ) Bora, K.C.: Problems in testing chemicals for mutagenicity and regulatory control - a personal view. Environment Health Directorate, Department of National Health and Welfare, Ottawa, Canada, 1976
- ( 5 ) Hurard, H.: Comparison of the uses of chlorine in Europe and USA. Lecture of the Society of Chemical Industry, Liverpool, 10.10.1974
- ( 6 ) McConnell, G.: Halo organics in water supplies. Vortrag, Lancaster, 1.4.1976
- ( 7 ) McConnell, G., D.M. Ferguson und C.R. Pearson: Chlorinated hydrocarbons and the environment. *Endeavour* 34, 13-18 (1975)
- ( 8 ) Statistisches Bundesamt Wiesbaden (ed.): Produzierendes Gewerbe. Fachserie 4, Reihe 3: Produktion im produzierenden Gewerbe. Stuttgart und Mainz, Verlag W. Kohlhammer, 1978, pp. 91-94
- ( 9 ) Rowland, F.S., M.J. Molina und C.C. Chou: Natural halocarbons in air and sea. *Nature* 258, 775-776 (1975)
- (10) Der Bundesminister des Inneren (ed): Bericht der Bundesrepublik Deutschland über die Umwelt des Menschen. Bonn, 1972
- (11) Löchner, F.: Fragen der Umweltrelevanz von Lösungsmitteln. Wasser, Luft und Betrieb 19, 661-662 (1975)
- (12) U.S. Environmental Protection Agency: Identification of organic compounds in effluents from industrial sources. EPA No. 68-01-2926, Task 3, Washington D.C., 1975
- (13) Henschler, D.: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten. Weinheim, Verlag Chemie, 1973 (Erg. bis 1978)
- (14) Bowman, F.J., J.F. Borzelleca und A.E. Munson: The toxicity of some halomethanes in mice. *Tox.Appl.Pharm.* 44, 213-215 (1978)

- (15) Upton, A.C.: Human health considerations of carcinogenic organic chemical contaminants in drinking water. Position Paper; National Cancer Institute; National Institute of Health; Department of Health, Education, and Welfare; Bethesda, Maryland/USA, 1978
- (16) Selenka, F. und U. Bauer: Erhebung von Grundlagen zur Bewertung von Organochlorverbindungen im Wasser. Abschlußbericht einer Studie für das Ministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten NW, Bochum 1.8.1977. In: Forschung und Beratung, Reihe A - Heft 27, Landesausschuß für landwirtschaftliche Forschung, Erziehung und Wirtschaftsberatung beim Ministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten des Landes Nordrhein-Westfalen (ed.), Düsseldorf 1978, pp. 187-188
- (17) Christensen, H.E. (ed): The Toxic Substances List 1972. National Institute for Occupational Safety and Health, 1972
- (18) Weigert, P.: 1,1,1-Trichlorethan - Ein Ersatz für Tetrachlorkohlenstoff, Trichloräthylen und Diaethyläther bei der Untersuchung von Lebensmitteln. Arch.Lebensmittelhyg. 26, 58-61 (1975)
- (19) Selenka, F.: Wirkungen von OCIV im Wasserkreislauf. In: Wasser. Berlin '77, Berlin Colloquium-Verlag, 1978, pp. 159-167
- (20) Bull, R.J.: Trichlorethylene and Tetrachloroethylene. Maximum Acceptable Limit in Drinking Water. A Criterion Document prepared for the World Health Organization, EPA 1980
- (21) Selenka, F. und U. Bauer: Belastung der Bevölkerung in der Bundesrepublik Deutschland durch flüchtige organische Halogenverbindungen aus Trinkwasser, Luft und Lebensmitteln. Abschlußbericht des DFG-Vorhabens Se-182/9, Bochum 1982 (in Vorb.)
- (22) Alles, G.: Über das Vorkommen von leicht- und schwerflüchtigen Organochlorverbindungen im menschlichen Gewebe. Dissertation, Ruhr-Universität Bochum, Abteilung für Theoretische und Klinische Medizin (in Vorb.)
- (23) Erickson, M.D. et al.: Acquisition and chemical analysis of mothers's milk for selected toxic substances. Report 1980 EPA/560/13-80/029. Zit. in Chemical Abstracts 96, 84229 (1982)
- (24) Rook, J.J.: Chlorination reactions of fulvic acids in natural waters. Environ. Sci. Technol. 11, 478-482 (1977)
- (25) Deinzer, M., F. Schaumburg und E. Klein: Environmental health sciences center task force review on halogenated organics in drinking water. Environ.Health Persp. 24, 209-239 (1978)

- (26) Shimizu, Y.: Plant phenols and related organic compounds in public water sources. Their relationship to chlorination. OWRR-A-041-RI, PB-223 556/1, July 1973 (zit. in Deinzer et al. 1978, s.Nr. 25)
- (27) Smith, J.G., R.B. McCall und P.K. Chan: Formation of polychlorinated compounds during aqueous chlorination. Environ.Poll. 14, 189-296 (1977)
- (28) Hirose, Y., T. Okitsu und S. Kanno: Formation of trihalomethanes by reaction of halogenated phenols or halogenated anilines with sodium hypochlorite. Chemosphere 11, 81-87 (1982)
- (29) Alben, K.: Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of chlorination effects on commercial coal-tar leachate. Anal.Chem. 52, 1825-1828 (1980)
- (30) McKague, A.B., E.G.-H. Lee und G.R. Douglas: Chloroacetones: mutagenic constituents of bleached kraft chlorination effluent. Mut.Res. 91, 301-306 (1981)
- (31) Oliver, B.G. und J.H. Carey: Photochemical production of chlorinated organics in aqueous solutions containing chlorine. Environ. Sci.Technol. 11, 893-895 (1977)
- (32) Morten, A.A.: The Chemistry of Heterocyclic Compounds. McGraw-Hill, New York, 1946 (zit. in Deinzer et al. 1978, s. Nr. 25)
- (33) Katritzky, A.R. und J.M. Lagowski: The Principles of Heterocyclic Chemistry. Academic Press, New York, 1968 (zit. in Deinzer et al. 1978, s. Nr. 25)
- (34) Chandelon, Th.: Über die durch Einwirkung alkalischer Hypochlorite auf Phenol gebildeten Chlorphenole. Chem. Ber. 16, 1749 (1883) (zit. in Deinzer et al. 1978 s.Nr. 25)
- (35) Burttschell, R.H. et al.: Chlorine derivatives of phenol causing taste and odor. J.Amer. Water Works Assoc. 51, 205 (1959) (zit. in Deinzer et al. 1978, s. Nr. 25)
- (36) Gess, J.M.: Reactions of cresol with aqueous acidic chlorine. Ph.D. Thesis, Syracuse University, 1970. Diss. Abstr. Int 31, 5258-B (1971) (zit. in Deinzer et al. 1978, s. Nr. 25)
- (37) Sandford, P.A., A.J. Nafziger und A. Jeanes: Reaction of sodium hypochlorite with amines and amides: a new method for quantitating amino sugars in monomeric form. Anal. Biochem. 42, 422 (1971) (zit. in Deinzer et al. 1978, s. Nr. 25)

- (38) Soper, F.G.: The rate of transformation of acetylchloroaminobenzene into o- and p-chloroanilides as a measure of the catalytic power of the hydrochloric acid. *J.Phys.Chem.* 31, 1192 (1927) (zit. in Deinzer et al. 1978, s. Nr. 25)
- (39) Langheld, L.: Über das Verhalten von  $\alpha$ -Aminosäuren gegen Natrium-Hypochlorit. *Chem. Ber.* 42, 2360 (1909) (zit. in Deinzer et al. 1978, s. Nr. 25)
- (40) Wright, N.C.: The action of hypochlorites on amino acids and proteins. *Biochem.J.* 20, 524 (1926) (zit. in Deinzer et al. 1978, s. Nr. 25)
- (41) Wright, N.C.: The action of hypochlorites on amino acid and proteins. The effect of acidity and alkalinity. *Biochem.J.* 30, 1661 (1936) (zit. in Deinzer et al. 1978, s. Nr. 25)
- (42) Taymaz, K., D.T. Williams und F.F. Benoit: Reactions of aqueous chlorine dioxide with amino acids found in water. *Bull.Environ. Cont.Tox.* 23, 456-463 (1979)
- (43) Stanbro, W.D. und W.D. Smith: Kinetics and mechanism of the decomposition of N-chloroalanine in aqueous solution. *Environ.Sci. Technol.* 13, 446-451 (1979)
- (44) Johnson, T.B. und C.O.I. Jones: Researches on pyrimidins: some 5-iodopyrimidin derivatives; 5-iodocytosin. *J.Biol.Chem.* 1, 305 (1905) (zit. in Deinzer et al. 1978, s. Nr. 25)
- (45) Patton, W. et al.: Chlorination Studies. I. The reaction of aqueous hypochlorous acid with cytosine. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 48, 880 (1972) (zit. in Deinzer et al. 1978, s. Nr. 25)
- (46) Jolley, R.L.: Chlorination effects on organic constituents in effluents from domestic sanitary sewage treatment plants. Oak Ridge National Laboratory, ORNL-TM-4290, Oak Ridge, Tennessee, October 1973
- (47) Ghanbari, H.A., W.B. Wheeler und J.R. Kirk: Reactions of aqueous chlorine and chlorine dioxide with lipids: chlorine incorporation. *J. Food Sci.* 47, 482-485 (1982)
- (48) Stoveken, J.: Ozone and Chlorine Degradation of Wastewater Pollutants. OWRR-A-017-VI, PB-238 365, June 1974 (zit. in Deinzer et al. 1978, s. Nr. 25)
- (49) Komo, C.: Über die Chemie der Mehlebleichung mit reaktiven Stoffen und die Möglichkeiten ihres Nachweises. Dissertation Münster, Fachbereich Chemie, 1981

- (50) Deppe, W.: Zur Bildung von Trihalomethanen aus Grundstoffen pflanzlicher Lebensmittel bei der Chlorung in wässriger Lösung. Diplomarbeit, Ruhr-Universität Bochum, Abteilung für Biologie, Bochum 1982
- (51) Rasmussen, P., A. Nordin und M. Omar: A distillation-extraction-GC/MS method for the identification of the volatile constituents of fruits. *Sains Malyas* 9, 125-135 (1980) (zit. in Chem. Abstr. 96, 120989 (1982))
- (52) Schulte, E.: Rückstände von chlororganischen Lösungsmitteln. Vortrag, Trier, 8.10.1981
- (53) Anonym: Informationsdienst Futter und Fütterung, 4.2.1981, Fachverband der Futtermittelindustrie e.V., Buschstr. 2, 5300 Bonn 1
- (54) Löchner, F.: Perchlorethylen - eine Bestandsaufnahme. *Umwelt* 6, 434-436 (1976)
- (55) Löchner, F.: Perchlorethylen in der Umwelt. *Münch. Beiträge Abwasser, Fisch-Flußbiol.* 30, 227-233 (1978)
- (56) Zimmerli, B. et al.: Perchlorethylen in Lebensmitteln. *Mitt. Geb. Lebensm. Hyg.* 73, 71-81 (1982)
- (57) Huang, G.R.Y.: Flour chlorination: effects on starch and water binding. Dissertation 1981, 89 pp. Univ. Microfilms Int., Order No. 820 1599. *Diss. Abstr. Int. B* 42, 3177-3178 (1982)
- (58) Lahl, U. et al.: Gesundheitliche Gefahren durch Desinfektion der Fütterungsutensilien mit Natriumhypochloritlösung. *Hygiene und Medizin* 5, 619-625 (1980)
- (59) Deutscher Bundestag (6. Wahlperiode): Drucksache VI/2710 (III/39), pp. 105 (1970)
- (60) Park, S.W. und B.G. Kyle: Sorption kinetics and equilibria of carbon tetrachloride on wheat. *Cer.Chem.* 52, 611-619 (1975)
- (61) Waters, E.M., H.B. Gerstner und J.E. Huff: Trichloroethylene. I. An overview. *J.Toxicol. and Environ.Health* 2, 671-707 (1977)
- (62) Vishwanath, N.R., R.B. Patil und G. Rangaswami: Dehydrogenase activity and microbial population in soils treated with chloroform and toluene. *Zbl.Bakt.Parasit.Infekt.Hyg. Abt. II* 130, 348-356 (1975)
- (63) Michael, L.C. et al.: Volatile environmental pollutants in biological matrices with a headspace purge technique. *Anal.Chem.* 52, 1836-1841 (1980)

- (64) Entz, R.C. und H.C. Hollifield: Headspace gas chromatographic analysis of foods for volatile halocarbons. J.Agr.Food Chem. 30, 84-88 (1982)
- (65) Bellar, T.A., J.J. Lichtenberg und R.C. Kroner: The occurrence of organohalides in chlorinated drinking waters. J.Amer. Water Works Assoc. 66, 703-706 (1974)
- (66) Grob, K. und G. Grob: Organische Stoffe in Zürichs Wasser. Neue Zürcher Zeitung, 13. September 1973
- (67) Trinkwasserkommission des Bundesgesundheitsamtes: Empfehlung des Bundesgesundheitsamtes zum Vorkommen von flüchtigen Halogenkohlenwasserstoffen in Grundwasser und Trinkwasser. Bundesgesundheitsblatt 25, 74-75 (1982)
- (68) Farr, D.R.: Decaffeinating method. Patent CH 626 781 (1981) (zit. in Chem. Abstr. 96, 121244, 1982)





INFLUENCE OF VEGETABLE AND FRUIT CONSTITUENTS ON  
IN VITRO FORMATION OF NITROSAMINES UNDER PHYSIO-  
LOGICAL CONDITIONS

---

Lathia, D.

It is now generally recognised that a very high proportion of human cancers are caused by environmental factors such as food, water and air. For cancers of the alimentary tract in particular, it is assumed that the most important environmental exposure is via the lumen, and consequently related either directly or indirectly to the food and drink consumed. The possible ways in which diet may be related to human carcinogenesis are as shown in Table 1.

Among all carcinogenic substances, the nitrosamines seem to be most potent carcinogens. They may be formed under acidic conditions in the gastro-intestinal tract by the interaction of nitrite and secondary amines. Nitrites are commonly present in many food stuffs. Sometimes they are added as a preservative. They are also formed by reduction of nitrates, which are still more abundant in various plant products, soils and waters. Artificial fertilizer is a major source of environmental nitrates. Schuphan observed that application of four times the normal amount of fertilizer resulted in considerably higher nitrate levels in spinach. More recent statistics regarding the nitrate concentrations in potable water in some parts of W. Germany are very alarming.

The secondary amines are present in many food products. They can also be formed wherever protein breaks down. Apart from the fact that many drugs and pesticides are potential sources of these amines.

The nitrosamine formation both in vitro and vivo can be catalysed by a number of other food constituents (Table No. 2).

The catalytic effects of thiocyanate have been studied more extensively. It can stimulate markedly the rate of nitrosamine formation at acid pH and occurs at relatively high concentrations in a number of vegetables like cauliflower, Brussel sprout etc. (Table No. 3). Another interesting catalyst is iodide, which is also present in many food products. For instance in table salt and it comes in relatively high concentrations in plants which grows near the coast.

The results of recent studies on in vitro nitrosamine formation have also shown the catalytic effect of some naturally occurring polyphenols like chlorogenic acid and gallic acid, which are essential constituents of many plants, fruits and vegetables.

On the other hand many essential food constituents like ascorbic acid, tocopherols and other antioxidants like sorbic acid inhibits the in vitro and vivo formation of nitrosamines.

Research work carried out uptill now in the field of nitrosamine formation in vitro however, has been done only in the presence of a single catalyst or inhibitor. The likelihood that more than one catalyst or inhibitor may be present simultaneously in human food and body fluids, with the consequent possibility of a cumulative catalytic or inhibitory influence on in vitro formation of nitrosamines, requires careful attention.

We therefore investigated in the first part of our study the cumulative catalytic effect of thiocyanate/iodide and thiocyanate/chlorogenic acid on in vitro formation of N-methyl-N-nitrosoaniline (NMNA) under stomach conditions. To study the rate of NMNA formation we carried out in our model experiments the reaction between 0,1 mM  $\text{KNO}_2$  and 0,1 mM N-methylaniline in the presence of all three catalysts at 37°C at pH 2 and at different time intervals. (Table 4 show the test combinations for the study of nitrosation of NMA in vitro under various conditions.) In the case of the test combination thio-

cyanate/chlorogenic acid the reaction was stopped by adding 0,1 M Sodium hydroxide and free nitrosamine was extracted twice with dichlormethane and the organic fraction was dried on anhyd. Sodium sulphate. The absorbance was measured for NMNA at 269 nm in a Zeiss PMQ III.

The figure 1 shows the results of testing the cumulative effect of thiocyanate and iodide ions on in vitro NMNA formation. Curves 2, 3 and 4 show extremely high yields of NMNA compared to the control test. As it can be seen from the table 5, in the presence of 0,005 mM thiocyanate and 0,003 mM potassium iodide, the presentage yield of NMNA was 32 % higher compared with 0,025 mM thiocyanate. Yet in another experiment with 0,05 mM thiocyanate and 0,03 mM iodide the presentage yield of NMNA was only 26 % less than that of the yield with 0,5 mM thiocyanate, eventhrough the molarity of thiocyanate was 6 times that of both ions together. These data clearly indicate the cumulative catalytic effect of both iodide an thiocyanate ions on in vitro formation of NMNA.

The table 6 also shows the cumulative effect of both chlorogenic acid and thiocyanate on in vitro NMNA formation. For example with 0,025 mM thiocyanate and 0,0565 mM chlorogenic acid, the yield of NMNA was 24 % and 206 % higher than that of the control reaction.

Here also our experimental data demonstrate that chlorogenic acid and thiocyanate at physiological relevant concentration may have some synergistic effect on in vivo nitrosamine formation if ingested simultaneously, and may thus significantly increase human exposure to carcinogenic nitrosamines.

Mirvish and coworkers were the first to demonstrate in vitro experiments of the inhibition of nitroso compound formation by ascorbic acid. In the view of long term goals for cancer prevention it is therefore of great interest for the nutrition scientists to study the combined inhibitory effect of more than one food constituents on in vitro and vivo formation of nitrosamines.

The obvious importance of such an inhibition of nitrosamine formation prompted us to undertake certain experiments to determine whether citric acid - a very common constituent of plant products - with antioxidant properties also has some synergistic effect in the presence of ascorbic acid on in vitro formation of NMNA and N-nitrosomorpholine (NMOR) or not. For this purpose we conducted a series of tests under the same conditions as previously described and the table 4 shows the performed test combinations. The final concentrations of  $\text{KNO}_2$  and morpholine were 10 mM and the absorbance was measured at 346 nm in a Hitachi double beam spectrometer. The data on the inhibitory effect of citric acid and ascorbic acid on the rate of NMNA and NMOR formation are shown in table No. 7. 0,05 mM citric acid and 0,05 mM ascorbic acid demonstrate approx. 55 % inhibition of NMNA formation. However, in the presence of both acids, we found significant less inhibition of NMOR compared to our experiments with N-methylaniline as base and also in comparison with the control test. Our findings strongly suggest that in the presence of essential food constituent like ascorbic acid and citric acid - a very common and affluent constituent of plants and vegetables - may help to reduce the formation of carcinogenic N-nitrosamines in human stomach and thus prevent the possible exposure to such carcinogens.

References

- Bogovski, P., Castegnaro, M., Pignatelli, B., Walker, E.A.: The inhibiting effect of tannins on the formation of nitrosamines. International Agency of Research on Cancer (Lyon), Scientific publications No. 3, (1972), 127.
- Boyland, E.: The effect of some ions of physiological interest on nitrosamine synthesis. IARC scientific publications No. 3, (1972), 124.
- Boyland, E.: The effect of some ions of physiological interest on nitrosamine synthesis. Nitroso compounds analysis and formation, Lyon, IARC, No.3, 124-126 (1972).
- Challis, B.C., Barlett, C.D.: Possible cocarcinogenic effects of coffee constituents. Nature, vol. 254, (1975), 532
- Challis, B.C., Edwards, A.: Rapid formation of N-Nitrosamines from nitrogen oxides under neutral and alkaline conditions. IARC scientific publications No.19, (1978), 127.
- Druckrey, H., Preussmann, R., Ivankovic, S., Schmähel, D.: Organotrope carcinogene Wirkungen bei 65 verschiedenen N-Nitroso-Verbindungen an BD-Ratten. Z. Krebsforschung, 69, (1967), 103.
- Keefer, L.K.: Promotion of N-nitrosation reactions by metal complexes. IARC scientific publications No. 14 (1977), 153
- Lathia, D., Rütten, M.: Cumulative catalytic effect of some physiologically active ions on the rate of nitrosation of N-methylaniline in vitro. Nutrition and Cancer an International J., 1, No. 2, (1979), 19.
- Lathia, D., Frentzen, U.: Synergistic effect of chlorogenic acid and thiocyanate on in vitro formation of N-Methyl-N-nitrosamine under physiological conditions. Fd. Cosmet. Toxicol., 18, (1980), 463
- Lathia, D., Nagel, H., Schellhöf, B., Bohn, A.: Hemmende Wirkung der Ascorbinsäure auf die in vitro Nitrosaminbildung in Gegenwart von Katalysatoren. Ernährungs-Umschau, 27, H.9, (1980), 285.
- Lathia, D., Schellhöf, B.: Inhibition of Nitrosamine formation in vitro in presence of both ascorbic acid and sorbic acid. Recent advances in Clinical Nutrition, 1, (1980), 189.

Lathia, D., Bohn, A., Markwitan, A.: Inhibitorischer Einfluß von Citronensäure und Vitamin C auf die in vitro Bildung von N-Nitrosaminen unter magenähnlichen Bedingungen. Ernährungs-Umschau, 28, H. 9, (1981), 304.

Lathia, D., Lohmann, K., Funke, H.: Der kombinierte Einfluß von Lebensmittelinhaltsstoffen und Vitamin C auf die in vitro Nitrosaminbildung unter physiologischen Bedingungen. Ernährungs-Umschau, 29 (7), 237, 1982.

Magee, P.N., Barnes, J.M.: The production of malignant primary hepatic tumours in the rat by feeding dimethylnitrosamine. British J. of cancer, 10, (1956), 114.

Magee, P.N., Barnes, J.M.: Carcinogenic nitroso compounds. Adv. Cancer Res. 10, (1967), 163.

Mergens, W.J., Kamm, J.J., Newmark, H.L., Fiddler, W., Pensabene, J.: Alpha-tocopherol: Uses in preventing nitrosamine formation. IARC, No. 19, (1978), 199.

Mirvish, S.S.: Blocking the formation of N-Nitroso compounds with ascorbic acid in vitro and in vivo. Annals of the New York Academy of sciences, 258, 25, (1975), 175.

Möhler, K., Mayrhofer, O.L., Hallermayer, E.L.: Das Nitrosaminproblem aus der Sicht des Lebensmittelchemikers: Z. Lebensm. Unters. u. Forsch. 150, 1, (1972), 1.

Pignatelli, B., Friesen, M., Walker, E.A.: The role of phenols in catalysis of nitrosamine formation. IARC scientific publications No. 31, (1980), 95.

Sander, J., Schweinsberg, F.: In vivo and in vitro experiments on the formation of N-Nitroso compounds from amines and nitrate or nitrite. IARC scientific publications No. 3, (1972), 97.

Schweinsberg, F., Schott-Kollatt, P.: Effect of vitamin A on formation, toxicity and carcinogenicity of nitroso-N-methylbenzylamine. IARC scientific publications No. 14, (1976), 453.

Tanaka, K., Chung, K.C., Hayatsu, H., Kada, T.: Inhibition of Nitrosamine formation in vitro by sorbic acid. Fd. Cosmet. Toxicol. 16, (1978), 209.

Human Nutrition and Carcinogenesis

- 1) Directly or indirectly acting carcinogens in food and drinks:
  - Nitrosamines: Dimethylnitrosamine
  - Polycyclic Hydrocarbons: 3,4-Benzopyrene
  - Mycotoxins: Aflatoxin
- 2) Enhanced delivery of carcinogens due to environmental condition
- 3) Exogenous formation and inhibition of carcinogens
- 4) Endogenous formation and inhibition of carcinogens
- 5) Endogenous formation of carcinogens due to bacterial metabolism

---

TABLE 2 INFLUENCE OF SOME FOOD AND BEVERAGE CONSTITUENTS ON  
THE NITROSAMENE FORMATION

---

CONSTITUENT	KATALYTIC INFLUENCE	INHIBITORY INFLUENCE	REFERENCE
IODIDE	+++		Boyland et al (1972); Lathia et al (1979);
THIOCYANATE	+++		ibid
CHLOROGENIC ACID	++		Challis et al (1975); Lathia et al (1980).
METAL SALTS	+		Challis et al (1978); Keefer et al (1977).
POLYPHENOLS	++		Pignatelli et al (1980).
ASCORBIC ACID		+++	Mirvish et al (1975); Lathia et al (1980);
CITRIC ACID		++	Lathia et al (1981).
GLYCIN		+	Möhler et al (1972).
TANNIN		++	Bogovski et al (1972).
α- TOCOPHEROL		++	Mergens et al (1978).
SORBIC ACID		+++	Tanaka et al (1978); Lathia et al (1980).
VITAMIN A		++	Schweinberg et al (1976).
PROPIONIC ACID		++	Lathia et al (1982).

Table 3

THIOCYANATE AND IODINE CONTENT OF FOODSTUFFS

FOOD	THIOCYANATE (1) mg/100 g	IODINE (2) ug/100 g
Milk	0,1 - 1,0	16,0
Meat	0,05	-
Fish	-	250,0
Beets	10,0	-
White-		
Cabbage	3,15	5,0
Cabbage	8,85	5,2
Head Lettuce	0,22	5,0
Green Peas	0,14	10,0
Potatoes	-	4,0
Eggs	-	10,0
Plantain	0,02	15,0
Tomatoes	0,20	1,7
Spinach	0,50	20,0
Celery	0,16- 0,20	-
Kohlrabi	0,50- 2,2	1,5
Cauli-		
Flower	8,80	0,12
Sauerkraut	3,25-20,0	-
Green Beans	0,14	3,0
Mushrooms	-	18,0
Peanuts	-	20,0
Beer, Tea,	high	
Coffee	high	-

1) Wood, J.N., in chemistry and biochemistry of thiocyanatic acid and its derivatives. Ed, by Newman, A.A. Academic press, London, New-York (1975).

2) Souci, S.W., Fachmann, W., Kraut, H.



TABLE 4 TEST COMBINATIONS FOR THE STUDY OF NITROSATION OF N-METHYLANILINE AND MORPHOLINE IN VITRO UNDER VARIOUS CONDITIONS

mM KI*	mM KSCN*	mM CHLOROGENIC ACID*	mM ASCORBIC ACID**	mM CITRIC ACID**
0(control	0	0	0	0
0,0030	0	0	0	0
0,0150	0	0	0	0
0,0300	0	0	0	0
0	0,005	0	0	0
0	0,025	0	0	0
0	0,050	0	0	0
0	0,500	0	0	0
0,0030	0,005	0	0	0
0,0150	0,025	0	0	0
0,0300	0,050	0	0	0
0	0	0,0565	0	0
0	0	0,141	0	0
0	0	0,282	0	0
0	0,025	0,0565	0	0
0	0,025	0,141	0	0
0	0,025	0,282	0	0
0	0	0	0,050	0
0	0	0	0,100	0
0	0	0	0	0,050
0	0	0	0	0,100
0	0	0	0,050	0,050
0	0	0	0,100	0,100

\* Final concentration in reaction mixture, which contained also 0,1 mM  $\text{KNO}_2$  and 0,1 mM N-methylaniline (NMA).

\*\* Final concentration in reaction mixture, which contained also in one series 0,1 mM  $\text{KNO}_2$  and 0,1 mM NMA and in second series 10 mM  $\text{KNO}_2$  and 10 mM Morpholine.

Table 5

Net increase in absorbance and percentage increase of  
absorbance after 1 and 10 minutes reaction time

Test	mM KSCN	mM KI	Net increase in		% increase after 10 min.
			absorbance after 1 min.	10 min.	
1	-----	-----	0,026	0,083	100*
2	0,005	-----	0,003	0,027	132
3	0,025	-----	0,033	0,167	300
4	0,050	-----	0,070	0,262	415
5	0,50	-----	0,345	0,503	706
6	----	0,003	0,002	0,121	245
7	----	0,015	0,074	0,363	542
8	----	0,030	0,130	0,458	652
9	0,005	0,003	0,030	0,193	332
10	0,025	0,015	0,092	0,384	562
11	0,050	0,030	0,194	0,481	680

Net increase in absorbance =  $(A_{\text{test}} - A_{\text{control}})$ , \* % yield  
of control reaction was taken as 100 %.

Table 6Net and percentage yield of NMNA

Test	mM Chloro- genic acid*	mM KSCN*	Net yield of NMNA after 10'	Net increase in NMNA yield after 10'	%increase after 10'
1	control	-----	0,15 uM	-----	100**
2	0,0565	-----	0,18 uM	0,03 uM	120
3	0,141	-----	0,21 uM	0,06 uM	140
4	0,282	-----	0,25 uM	0,10 uM	160
5	-----	0,025	0,37 uM	0,22 uM	246 (100§)
6	0,0565	0,025	0,46 uM	0,31 uM	306 (124§)
7	0,141	0,025	0,44 uM	0,29 uM	293 (118§)
8	0,282	0,025	0,40 uM	0,25 uM	262 (108§)

\* final concentration; Net increase in NMNA yield =  
 $y_{\text{Test}} - y_{\text{control}}$

\*\* Percentage yield of control reaction was taken as 100 %;

§ Percentage yield of test 5 was taken as 100 %

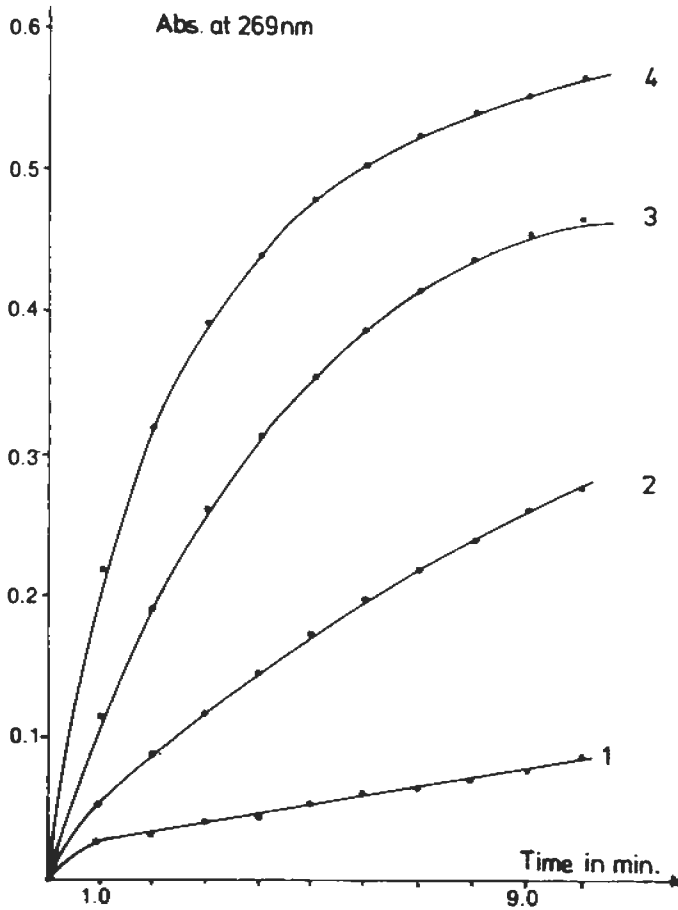
Table 7. Effects of ascorbic acid and/or citric acid on yields of N-methyl-N-nitrosoaniline and N-nitrosomorpholine in vitro

Test	mM Citric acid	mM Ascorbic acid	Net yield after 10 min (uM)		Inhibition in %	
			NMNA	NMOR	NMNA	NMOR
1 control*	0	0	0,155*	0,044	0***	0***
2	0,05	0	0,082	0,027	47	40
3	0,100	0	0,106	0,024	32	45
4	0	0,05	-----	0,012	--	70
5	0	0,10	-----	0,013	--	70
6	0,05	0,05	-----	0,034	--	23
7	0,10	0,10	-----	0,033	--	25
8 control	0	0	0,312**	-----	0	--
9	0	0,05	0,131	-----	58	--
10	0	0,10	0,162	-----	48	--
11	0,05	0,05	0,134	-----	57	--
12	0,10	0,10	0,136	-----	56	--

\* The absorbance was measured in DCM and \*\* in aqueous phase respectively.

\*\*\*Percentage yield of control reaction was taken as 100 percent.

Figure 1. Cumulative catalytic effect of both thiocyanate and iodide ions together on the rate of N-methyl-N-nitrosaniline formation: 1, control; 2, 0.005 mM thiocyanate + 0.0030 mM iodide; 3, 0.025 mM thiocyanate + 0.015 mM iodide; and 4, 0.050 mM thiocyanate + 0.030 mM iodide.







Durch die Entwicklung von empfindlichen und vor allem spezifischen Nachweisverfahren war die intensive und systematische Bearbeitung des Vorkommens von Nitrosaminen in der menschlichen Umwelt erst vor etwa 5 Jahren ermöglicht worden.

In den Jahren 1977-1981 haben wir in einer repräsentativen Querschnittsuntersuchung ca. 3000 Lebensmittelproben des westdeutschen Marktes auf den Gehalt an sogenannten flüchtigen Nitrosaminen untersucht. (Der Ausdruck flüchtige Nitrosamine erfaßt alle Nitrosamine, die durch Wasserdampfdestillation vom untersuchten Substrat abgetrennt werden können). Überraschend war das Ergebnis, daß zwar nur in wenigen Fällen, aber in zum Teil beträchtlichen Mengen Nitrosamine in pflanzlichen Material gefunden werden konnten. Der wichtigste Befund war das Vorkommen von Nitrosodimethylamin (NDMA) in Gerstenmalz. Aufmerksam auf das Nitrosaminvorkommen in Gerstenmalz wurden wir durch vorangegangene Bieruntersuchungen. Dabei konnte in 70 % der untersuchten Biere ein NDMA-Gehalt von 0.5-68 ppb festgestellt werden.

Um die Herkunft und Bildung von NDMA in Bier zu klären, wurden alle Ausgangsstoffe für den gesamten Brauprozess auf ihren Nitrosamingehalt untersucht. Hierbei zeigte sich, daß Malz als praktisch einzige Quelle der Nitrosamin-Kontamination anzusehen ist (Tabelle 1).

Tabelle 1:

Vergleich der NDMA-Konzentration ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) in 8 verschiedenen Bieren während des Brauprozesses; (1-4) Ausgangsstoffe, (5-8) Stufen des Brauprozesses

	Pils	Starkbier hell	Starkbier dunkel	Starkbier dunkel	Altbier	Altbier
1. Malz A*	3.1	21	5	300	110	100
2. Malz B	0.5	30				
3. Wasser	-	-	-	-	-	-
4. Hopfen	2.0	3.0	1.1	N.A.	2	N.A.
5. Würze	0.3	3.4	1.0	50	19	12
6. Würze nach Kochen	0.2	3.0	0.5	45	12	5
7. Frischbier	0.1	3.3	0.6	46	11	4.5
8. Abgefülltes Bier	0.1	3.5	0.4	43	11	5

N.A. = nicht analysiert

- =  $< 0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$

\* einige Biere wurden aus 2 verschiedenen Malzen gebraut



Daraufhin wurde eine große Anzahl von verschiedenen Malzproben von bekannter Herkunft und Herstellungsart auf Nitrosamine untersucht. Schon sehr früh zeigte sich, daß die Art der beim Darrprozeß verwendeten Heizungstechnik auf die Höhe der jeweiligen Nitrosaminkonzentration einen großen Einfluß hatte. Ebenso zeigte es sich, daß die Nitrosaminkonzentration von der Anwendung des Schwefelns abhängt.

Insgesamt wurden 450 Gerstenmalz-, Weizenmalz-, Gerste- und Weizenproben untersucht. Summarisch kann das Ergebnis wie folgt zusammengefaßt werden:

Mit indirekt beheizten Darren ist die NDMA-Konzentration im Malz im Mittel unter  $1 \mu\text{g}/\text{kg}$  ( $n = 22$ ); die höheren Werte bei Verwendung direkter Heiztechniken sind abhängig vom Brennertyp: mit Ölbrenner beheizte Darren ergaben Werte um  $0.5$  bis  $10 \mu\text{g}/\text{kg}$  NDMA ( $n = 15$ ) und bei Gasbrennern liegen die Werte zwischen  $15$  und  $80 \mu\text{g}/\text{kg}$  NDMA ( $n = 26$ ), wenn keine Schwefelung erfolgt. Dunkle Malze weisen im allgemeinen höhere NDMA-Werte auf:  $2-8 \mu\text{g}/\text{kg}$  mit indirekter Heizung,  $6-10 \mu\text{g}/\text{kg}$  mit Ölbrennern und  $80-800 \mu\text{g}/\text{kg}$  mit Gasbrennern. Schwefelung, d.h. Verbrennen von Schwefel während des Darrens verringert deutlich die Nitrosaminbildung.

Tabelle 2 zeigt deutlich die Abnahme von NDMA mit steigender Schwefelmenge. Aus der Tabelle ist ebenfalls zu ersehen, daß die Inhibierung der Nitrosaminbildung nur dann effektiv ist, wenn die Schwefelung innerhalb der ersten Darrperiode (Schwelkphase) erfolgt.

Tabelle 2:

Einfluß der Schwefelung auf die NDMA-Bildung im Malz

g S/100 kg Malz	Dauer der Schwefelung	
	1.-10. h	11.-20. h
	ppb	ppb
0	28	33
15	4.5	25
30	3	22
60	2	21
90	1.5	18

Die NDMA-Konzentrationen in Wurzelkeimen (im allgemeinen sind diese immer mit Spelzen vermischt) ist um ein Vielfaches höher als im restlichen Teil. Selbst bei Schwefelung werden noch beachtliche Mengen gefunden. (siehe auch Tabelle 3).

Tabelle 3:

Verteilung von NDMA in Malz und Wurzelkeimen

	Malz (ppb)	Wurzelkeime (ppb)
Gas	32	210
Öl	20	570 (11)*
Öl	18	307
Gas	57	1300
" geschwefelt	3	303
Gas	55	760 (40)*
" geschwefelt	5	120 (12)

\* NPYR

In Blattkeimen wurden keine Nitrosamine festgestellt.

Bei der Überprüfung von Malz über den gesamten Darrvorgang ergibt sich, daß das eingesetzte Grünmalz frei ist von Nitrosaminen, und daß mit fortschreitender Darrung der Nitrosamingehalt ansteigt, wobei die Hauptmenge besonders in der Aufheizphase gebildet wird (Abb. 1).

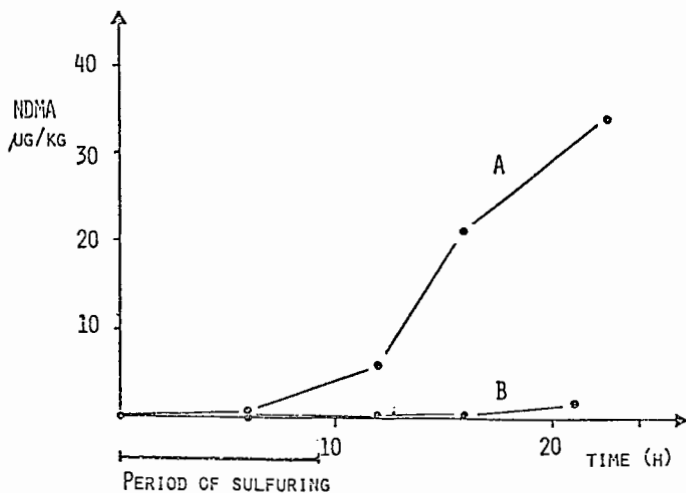


Abb. 1: Nitrosodimethylamin-Bildung während des Darrens auf einer Einhorden-Darre

A = NDMA-Bildung in Malz ohne Schwefelung

B = NDMA-Bildung in Malz mit 80 g S/100 kg Malz  
(Erdgasbrenner, Ausdarrtemperatur 82°C)

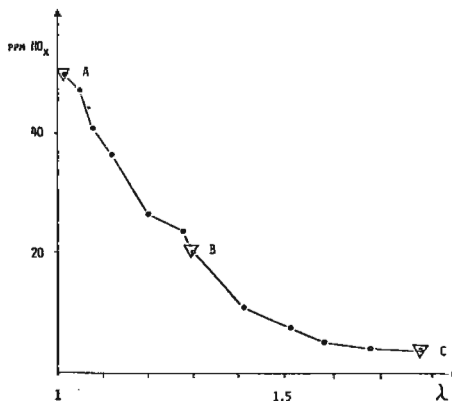
Während der Schwelkphase wird praktisch kein NDMA gebildet. Es muß jedoch nochmals darauf hingewiesen werden, daß gerade während der Schwelkphase die Schwefelung erfolgen muß, wenn die Nitrosaminbildung erfolgreich inhibiert werden soll. Die Wirkung der Schwefelung wird wie folgt erklärt:

1. Gasförmiges  $\text{SO}_2$  wird im feuchten Grünmalz an der Oberfläche gelöst.
2. Es bildet sich Sulfit bzw. Hydrogensulfit.
3. Sulfit ist als Nitrosierungsinhibitor bekannt.
4. Während der Aufheiz- und Ausdarrphase wirkt das Sulfit als Inhibitor der Nitrosierung durch Stickoxide der Verbrennungsgase.

Die relativ niedrigen Werte von direkt ölbeheizten Darren können durch den natürlichen Schwefelgehalt des Erdöls erklärt werden. Dieser Schwefel wird ständig zu  $\text{SO}_2$  verbrannt und gelangt mit den anderen Verbrennungsgasen in die Horde. Zur Vermeidung der Nitrosaminbildung möchten wir jedoch von der Verwendung von Ölbrennern abraten, da insbesondere polzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe als Verbrennungsrückstände in das Malz gelangen können. Diese Verbindungen sind ebenfalls als Carcinogene bekannt.

Da Stickoxide ein Teil der Vorläufer bei der Nitrosaminbildung darstellen und die üblichen hohen Verbrennungstemperaturen (gewöhnlich von  $1500-1800^\circ\text{C}$ ) ihre Bildung aus Sauerstoff und Stickstoff begünstigen, sollte eine Reduktion der Flammentemperatur auch eine Verminderung der Nitrosaminbildung ermöglichen. Der einfachste und wirtschaftlichste Weg war die Temperaturminderung durch Einbringen von Überschußluft in den Brenner. Versuche mit einem Erdgasrohrbrenner mit Vormischung (Prototyp: Fa. Weissheimer-Ruhrgas) der mit 1.8-fachem Luftüberschuß betrieben wurde, ergaben, eine deutliche Absenkung der  $\text{NO}_x$ -Werte (von 50 ppm auf 4 ppm entsprechend 1 ppm auf 0.08 ppm  $\text{NO}_x$  in der Prozeßluft) und damit verbunden auch sehr niedrige NDMA-Werte im so gedarrten Malz ( $1-3 \mu\text{g NDMA/kg}$ , (siehe auch Abb. 2).

Abb. 2


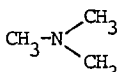
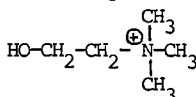
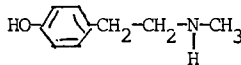
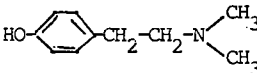
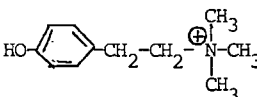
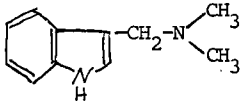

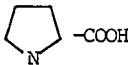
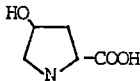
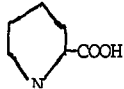


$\text{NO}_x$ -Gehalte eines Versuchs Brenners (Ruhrgas-Weissheimer-Prototyp)  
 $\lambda$  = Verhältnis der zugeführten zur benötigten Verbrennungsluft.  
 A = Stöchiometrische Verbrennung; 50 ppm  $\text{NO}_x$  = 1,0 ppm in Prozeßluft;  
 NDMA im Malz: 50 µg/b.  
 B =  $\lambda$  = 1,3; 20 ppm  $\text{NO}_x$  = 0,4 ppm in Prozeßluft; NDMA in Malz: 12 µg/b  
 C =  $\lambda$  = 1,8; 4 ppm  $\text{NO}_x$  = 0,08 ppm in Prozeßluft; NDMA in Malz: 2 µg/b  
 Erdgas: 144 l/h;  $\text{NO}_x$ -Messungen durch Ruhrgas AG

Die Aminvorläufer im gekeimten Malz und die entsprechenden Nitrosamine sind Tabelle 4 zu entnehmen.

Tabelle 4:

Possible nitrosamine precursors in malt and beer  
(from Hough et al., 1971 and Drews et al., 1957)

Name	Structure	Corresponding Nitrosamine
dimethylamine		NDMA
trimethylamine		NDMA
choline		NDMA
N-methyltyramine		4-Hydroxy-3-nitro-N-nitroso N-methyl-phenethylamine (Mangin, et al, 1981)
hordenine		NDMA
candicine		NDMA
gramine		NDMA
pyrrolidine		NPYR
proline		Nitrosoproline (+NPYR)
hydroxyproline		Nitrosohydroxyproline (+NOHPYR)
pipecolic acid		Nitrosopipecolic acid (+NPIP)

Bei der Beurteilung aller bisher bekannter Daten über die Nitrosaminbildung im Malz können folgende Empfehlungen zur Reduzierung von Nitrosaminen im Malz gegeben werden.

Die Eliminierung von nitrosierbaren Aminen ist wahrscheinlich nicht möglich.

Eliminierung oder Reduzierung von  $\text{NO}_x$  durch:

- A. Indirekte Darrung
- B. Reduzierung der Flammentemperatur
- C. Verwendung von  $\text{NO}_x$ -armer Trocknungsluft

Inhibierung der Nitrosierung durch  $\text{SO}_2$ -Behandlung.

Durch Anwendung dieser Empfehlung war es nun möglich, Malze mit geringem NDMA-Gehalt zu produzieren. Biere, die mit solchen Malzen hergestellt werden, zeigen signifikant niedrigere Nitrosamingehalte. Am Beispiel des Rauchbieres kann dies besonders eindrucksvoll demonstriert werden.

Tabelle 5:

Einfluß von  $\text{SO}_2$  auf den NDMA-Gehalt in Rauchbier

Bier	g S/100 kg Malz	NDMA (ug/kg)
No. 1	0	34 (68)
No. 2	40	2.1
No. 3	80	1.2

Als Orientierungswert bei der Beurteilung von Malz und Bier dient ein sog. "Technischer Richtwert".

2.5 ug/kg NDMA für Malz  
0.5 ug/kg NDMA für Bier

Die genannten Werte sollten in Malz bzw. Bier nicht überschritten werden.

Das Beispiel der Nitrosamine Malz und Bier zeigt, daß Forschung und Wissen über Ursachen der Nitrosaminbildung zu technischen Verbesserungen im Malz- und Brauprozess führen können. Dadurch kann eine Eliminierung oder zumindest eine stark Verringerung dieser Verunreinigung erreicht werden, und somit auch die Exposition des Menschen gegenüber solchen Stoffen reduziert werden.

In einer breit ausgelegten Kontrolluntersuchung mit repräsentativer Auswahl wurde der Erfolg der von Mälzern und Brauern durchgeführten Maßnahmen zur Verringerung der NDMA-Kontamination in Bier überprüft.

Tabelle 6 zeigt in Gegenüberstellung die Ergebnisse der beiden Bieruntersuchungen aus den Jahren 1978/79 und 1981. Die Resultate zeigen, daß sich die Exposition durch Bier insgesamt deutlich verbessert hat, auch wenn noch 24 % der untersuchten Biere den "technischen Richtwert" überschreiten.

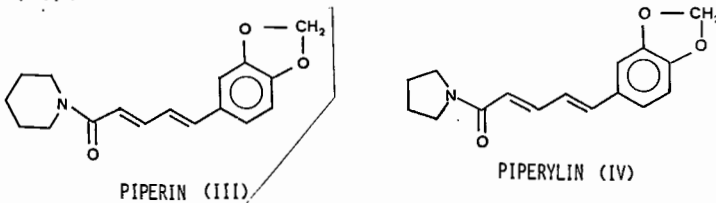
Tabelle 6 :

NDMA im Bier: Vergleich der Gehalte vor und nach Einführung modifizierter Darrverfahren

Biertyp	1978/79				1981			
	N	% Positive (>0.5 ppb)	Mittelwert ppb	max ppb	N	% Positive (>0.5 ppb)	Mittelwert ppb	max ppb
Pils	54	65	1.2	7	169	24	0.43	6.5
Export	42	67	1.2	7	179	26	0.39	2
Helles Starkbier	25	76	1.9	8	38	26	0.42	1.6
obergürig, hell	22	23	0.2	1	19	5	0.32	0.7
obergürig, dunkel (Alt)	25	76	2.7	11	21	24	0.96	7
Dunkles Export & Starkbier	22	68	6.0	47	25	32	0.51	4
Rauchbier (aus ger. Malz)	9	100	18.0	68	3	100	1.50 <sup>*</sup>	2
Alle Typen	199	66	2.5	68	454	24	0.44	7

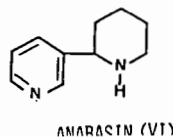
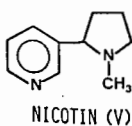
\* Werte von 1980

Weitere Nitrosaminvorkommen in wildem Reis (Nitrosopyrrolidin NPYR), Pfeffer (Nitrosopiperidin NPPI, NPYR, NDMA) sowie in Gewürzmischungen (NPPI, NPYR und NDMA) waren von nachgeordneter Bedeutung, da diese Lebensmittel nur in geringen Mengen verzehrt werden. Auch hier kann das Vorkommen auf die Nitrosierung entsprechender Aminvorstufen zurückgeführt werden. Die für Pfeffer bedeutsamen Nitrosaminvorläufer sind die Piperidide Piperin (III), Piperanin und Piperolein A + B sowie Piperlylin (IV).



Die maximale festgestellten Nitrosamingehalte in Gewürzen lagen für NPPI bei 85 ppb, für NPYR bei 80 ppb und für NDMA bei 50 ppb.

Obwohl der Tabak nicht zu den pflanzlichen Lebensmitteln zählt, ist er doch ein in großem Maße verwendetes Genußmittel. Sein ausgeprägter Gehalt an nitrosierbaren Vorstufen, wie z.B. Nikotin (V), Nornikotin, Anatabin und Anabasin (VI) erklären die hohen Mengen an Nitrosaminen, die sich beim Abrauchen von Tabak durch direkte Nitrosierung aus Stickoxiden bilden können.



Nachfolgende Tabelle 7 faßt die wichtigsten Ergebnisse über den Nitrosamingehalt von Zigarettenrauch zusammen.

Tabelle 7:

Gebildete Nitrosaminmenge pro Zigarette (US-Standard) (nach Hoffmann et al., 1982)

Nitrosamin	ng
Nitrosodiethylamin	1.0
Nitrosomethylethylamin	0.5
Nitrosodimethylamin	6.5
Nitrosopyrrolidin	7
Nitrosodiethanolamin*	24
NitrosonorNIKOTIN	310
Nitrosoanatabin	370

\*Herkunft aus Pflanzenschutzmittel

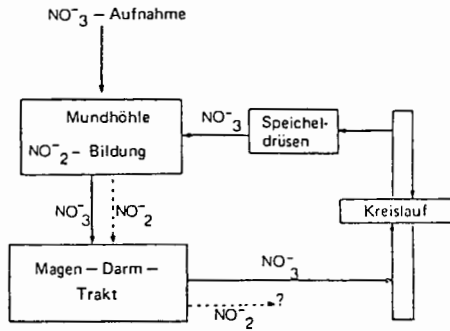
Neben einer Belastung mit präformierten Nitrosaminen durch die Aufnahme von kontaminierten Lebensmitteln muß auch eine mögliche in vivo-Bildung nach Verzehr entsprechender Vorstufen berücksichtigt werden. Neben den bereits aufgeführten Aminvorstufen können die in Tabelle 8 aufgeführten Verbindungen von Interesse sein.

Tabelle 8: Weitere nitrosierbare Vorstufen in pflanzlichen Lebensmitteln

Amin	Hauptvorkommen
Betain	Rote Rübe, Zuckerrübe
Arecolin, Arecaidin	Betelnuß
Guvacolin, Guvacin	Betelnuß
Dimethylamin	Wein
Pyrrolidin	Wein
Spermidin	Obst, Soja, Getreidekeimlinge
Spermin	Obst, Soja, Getreidekeimlinge
Anabasin	Erbsenkeimlinge
Pipecolinsäure	Bohne

Als Nitrosierungsmittel für eine in vivo möglicherweise ablaufende Nitrosierung könnte Nitrit in Frage kommen. Nitrit ist ein im Speichel vorkommendes Folgeprodukt von Nitrat und wird außerdem als Bestandteil von Pökelsalz auch über die Nahrung direkt aufgenommen. Nitrat wird in sehr großen Mengen vor allem über Gemüse und Salat aufgenommen (bis zu 300 mg/Tag) und entsprechend dem in Abb. 3 gezeigten gastrooralen Kreislauf über die Speicheldrüse sezerniert. In der Mundhöhle erfolgt eine kontinuierliche Reduktion zu Nitrit durch nitratreduzierende Bakterien, die einen Teil der physiologischen Bakterienbesiedlung darstellen.

Abb. 3: Schema des gastro-oralen Kreislaufs von Nitrat



Nach Verschlucken des Speichels besteht im sauren Milieu des Magens das Risiko der endogenen Bildung von Nitroverbindungen, wenn nitrosierbare Aminvorstufen in entsprechender Konzentration zugegen sind. Es bestehen lineare Zusammenhänge zwischen der Menge an aufgenommenen Nitrat und der Menge an im Speichel gebildeten Nitrit (Spiegelhalter et al., 1976). Etwa 6-7 % des aufgenommenen Nitrats werden innerhalb von 24 Stunden in Nitrit umgewandelt (entsprechend bis zu 20 mg Nitrit/Tag). Zwischen 85 bis 97 % der Gesamtbelastung mit Nitrat ist durch Verzehr pflanzlicher Lebensmittel bedingt. Deshalb kann eine Verminderung des Risikos einer endogenen Nitrosaminbildung besonders wirksam über eine Reduktion des Nitratgehaltes von Nahrungspflanzen erreicht werden. Bisher gibt es jedoch noch keine eindeutigen Hinweise für eine nennenswerte in-vivo Bildung unter "normalen" Ernährungsbedingungen.

Literatur beim Autor



CIQ/DGQ

Congress - Kiel

6. - 8. September 1982

Summary - Zusammenfassung

**Title/Thema;** Nitrosamines and nitrosamine precursors in food derived from plants  
**Author(s)** B. Spiegelhalder

Nitrosamines and Nitrosamine precursors in food derived from plants.

More than 3000 food samples from the West German market have been analyzed for volatile nitrosamines. One of the least expected results was the occurrence of N-nitrosamines in food made from plant material. Significant levels (up to 800 ppb) of Nitrosodimethylamine (NDMA) and to a minor extent also Nitrosopyrrolidine (NPYR) could be found in barley malt and malt based beverages such as beer, whisky and malt coffee. Studies to elucidate the origin of NDMA and NPYR clearly showed that these nitrosamines are formed from corresponding amine precursors present in malt during kilning. These compounds were nitrosated by  $\text{NO}_x$  which is present in the drying air. The occurrence of nitrosamines in wild rice (NPYR), pepper (Nitrosopiperidine NPIP, NPYR and NDMA) and in spice premixes (NPIP, NPYR and NDMA) is of minor importance since they are consumed only in very low quantities. Despite the wide variety of different plant based foods, preformed nitrosamines can be found only in very few cases. Much more important is the occurrence of nitrate in many plants where up to 4000 ppm  $\text{NO}_3^-$  can be found in various vegetables. Due to microbiological reduction nitrite can be formed in the oral cavity after ingestion of nitrate containing food. Under in vivo conditions it might be possible that nitrite, which acts as a nitrosating agent, can form nitrosamines in the presence of nitrosatable food constituents.

Address(of the first Author)

Potential Risks from Natural Constituents of Plant Food  
for Human Nutrition

H. Haenel, Zentralinstitut für Ernährung Potsdam-Rehbrücke,  
A.-Scheunert-Allee 114-116, 1505 Bergholz-Rehbrücke/DDR

1. In ancient times hunters and gatherers have eaten a vast spectrum of plant and animal material, selected by trial and error, and probably containing a vast amount of "toxicants". With the development of agriculture the spectrum of available food was concentrated on staple food, to be produced in large amounts, of good processing and keeping quality, of acceptable taste and either without apparant or with avoidable risk. Typical food selection patterns developed in local areas.
2. The discovery of the world, the worldwide exchange of agriculture, the extension of international trade and modern production and processing techniques have led to broad food availability and modern nutrition habits in industrialized countries.

Connected with this development, food toxicants have been unintentionally dragged along to our times unobserved. Modern analytical technique, the possibility, to detect, extract and concentrate interesting constituents and to investigate their toxic potentials have shown, that plant food contains numerous groups of natural toxicants, with an uncalculable number of individual compounds and effects (Gontzea and Sutzescu, 1968; Hall, 1978; Lang, 1976; Liener, 1974; Lindner, 1979; Salunkhe and Wu, 1977). Table 1) Many of them are contained in our daily food. A few examples are given in Table 2).

Plant food toxicants can be further grouped:

- the spectrum of compounds contained in a single product as in soybeans (Liener, 1981) (Table 3),
- the presence of one group of compounds with the example of lectins in a wide variety of plant foods (Nachbar and Oppenheim, 1980) (Table 4),

- cancerogenic compounds (Hirono, 1981) (Table 5),
  - psychoactive compounds (Hawthorn, 1981) (Table 6), or
  - stress-induced compounds (Osman et al., 1979).
- Another approach is considering the dynamics of a single compound: for instance concentration of solanine and ripening process in tomatoes (Simeková and Horcin, 1980) (Table 7).
3. Some mass media are used to cause sensation with the slogan "poison in our food", related to industrially produced chemicals. Does there exist a field of forgotten information with headings like "carrots are toxic for nerves" or "nutmeg causes abortion"?
  4. Modern science, technique and legislation have created the base for a safe food supply. Many of the risks are eradicated, which were common 100 and 200 years ago (Germershausen, 1780). These risks resulted from natural pollution, adulteration, fraudulent admixtures or additions born from hunger and crop failure (Table 8).  
Ravaging endemics have - for instance - been connected over the centuries with ergot intoxication.
  5. If we speak about toxicants, one has to define this expression. According to Paracelsus all compounds are poisons, if their doses or concentrations are high enough. This applies even to common nutrients in our diet (Boyd, 1975) (Table 9).  
There is no poison per se: *dosis sola facit venenum*. Everything is a poison, and nothing is a poison.
  6. According to estimations (Vonk and Parizek, 1978), our chemical environment contains 4 millions compounds and more are added continuously. Up to 63 000 man may contact in his life. Confronted with this challenge, caution and research are an urgent and permanent necessity, to protect health. But the proof is small or lacking, that - under normal conditions and with handling according to regulations - the chemical burden causes widespread health disturbances or diseases. The main risks of our life are threatening somewhere else.

7. The most important killer diseases in modern time are heart circulation diseases and cancer.

In Table 10) a survey is given about suspected causes of chronic degenerative diseases, esp. of heart and circulation (Haenel, 1980). There is no hint or epidemiological correlation that plant nutrition or natural constituents of our plant food may be involved. The same holds true for speculations about causes of human cancer (Table 11).

8. Special plant products as tobacco, alcohol or sugar present a risk only, when consumed in large amounts. But plant foods have been discussed in connection with their positive, health-promoting effects: low energy-, high nutrient density, balanced mineral esp. trace element contents, large proportions of fibre and of Vitamin C. Fat quality, amino acid composition (van Raaij et al., 1981). Sitosterol, or saponins (Oakenfull, 1981) are seen in favourable relation to blood lipid levels.
9. To summarize the relative weight of risks in modern nutrition (Table 12), the natural constituents of plant food share by far the lowest proportion (Truswell et al., 1978). They are harmless, because they are either removed or degraded by processing, or their concentrations in a mixed diet are far below effective levels, they are either not absorbed, or they are degraded in the gastrointestinal tract, they are metabolically detoxified, or any resulting disturbance is not heavy, or not of lasting effect, or cannot be related to the cause.
10. The field of natural plant toxicants should neither be dramatized nor neglected. There exist real risks in developing countries with a poor, monotonous diet (as lathyrism). Protection against risk is best achieved by a mixed diet and by the individual avoidance of food items, disturbing one's well being. Science is working on deepening knowledge of known and on detecting hitherto unknown compounds, their occurrence, the risk, they may pose to man (coergisms not to be neglected), and, if necessary, their prevention. One important tool is plant breeding, processing and (meal) preparation in a desired direction.

References

1. Boyd EM (1975) The toxicity of pure foods. Cleveland: CRC Press
2. Germershausen CF (1780) Die Hausmutter in allen ihren Geschäften. II. Aufl., 2 Bände. Leipzig: Verlag JF Junius
3. Gontzea I, Sutzescu P (1968) Natural antinutritive substances in foodstuffs and forages. Basel-New York: Karger
4. Haenel H (1980) Human Nutrition: Safety and risk. Nahrung 24:335-350
5. Hall RL (1978) Naturally occurring toxicants and food additives: Our perception and management of risks. Näringsforskning Suppl. 16, 22:6-20
6. Hawthorn J (1981) Pharmacologically active substances in foods. In: Solms J, Hall RL (eds) Criteria of food acceptance. Zürich: Forster-Verlag
7. Hirono I (1981) Natural carcinogenic products of plant origin. Crit Rev Toxicol 8:235
8. Lang K (1976) Die ernährungsphysiologische Bedeutung unerwünschter pflanzeneigener Stoffe in natürlichen Lebensmitteln pflanzlicher Herkunft. Ernährungs-Umschau 23:235-239
9. Liener IE (ed) (1974) Toxic constituents of plant foodstuffs. New York: Academic Press
10. Liener IE (1981) Factors affecting the nutritional quality of soya products. J Amer Oil Chem Soc 58:406-415
11. Lindner E (1979) Toxikologie der Nahrungsmittel. Stuttgart: Thieme
12. Nachbar MS, Oppenheim JD (1980) Lectins in the United States diet: A survey of lectins in commonly consumed foods and a review of the literature. Amer J Clin Nutr 33:2338-2345
13. Oakenfull D (1981) Saponins in food - A review. Food Chem 6:19-40
14. Osman Sf, Zacharius RM, Kalan EB, Fitzpatrick TJ, Krulick S (1979) Stress metabolites of the potato and other solanaceous plants. J Food Protect 42:502-507

15. van Raaij JMA, Kaban MB, Hautvast JGAJ, Hermus RJI (1981) Effects of casein versus soy protein diets on serum cholesterol and lipoproteins in young healthy volunteers. *Amer J Clin Nutr* 34:1261-1271
16. Salunkhe DK, Wu MT (1977) Toxicants in plants and plant products. *Crit Rev Food Sci and Nutr* 9:265-324
17. Simeková E, Horčín V (1980) Determination of solanine in tomato cultivars. *J Food Sci* 45:386-387
18. Truswell AS, Asp NG, James WPT, MacMahon B (1978) Conclusions: Food and Cancer. *Näringsforskning Suppl.* 16, 22:112-113
19. Vonk VB, Parizek J (1978) Chemicals and Health. *Interdiscipl Sci Rev* 3:207

Table 1Toxic Constituents of Plant Food

Protease inhibitors	Estrogenic factors
Hemagglutinins	Stimulants and depressants
Goitrogens	Hypoglycemic agents
Cyanogens	Hepatotoxins
Cycads	Toxic amino acids
Saponins	Antivitamin factors
Gossypol	Antienzymes
Lathyrogens	Metal-binding constituents
Favism	Flatus-producing factors

Liener, 1974; Gontzea, Sutzescu, 1968

Table 2Natural Toxicants Customarily Eaten

<u>Compound</u>	<u>Food</u>
Thioglycosides	Cabbage
Cyanogens	Bitter almond
Saponins	Spinach, asparagus, peanut
Carototoxin	Carrot (Hall, 1978)
Solanine	Potato (Salunkhe, Salunkhe, 1974)
Pressor amines	Banana (Maga, 1978)
Myristicin	Nutmeg (Green, 1959)
Coffein	Coffee, tea, chocolate
Erucic acid	Rapeseed oil (Johnson, 1977)
Fusel oil	Hard drinks (Gibel, 1970)
Mycotoxin	Blue and other cheese (Scott, Kennedy, 1976; Gibel, 1971)

Haenel, 1980

Table 3Antinutritional Factors in Soybeans

<u>Heat-labile</u>	<u>Heat-stable</u>
Protease inhibitors	Saponins
Hemagglutinins (lectins, binding carbohydrate substances) (1 - 3 % of protein)	Estrogens
Goitrogens (inhibiting J-uptake into thyroid gland)	Flatulence factors
Antivitamins (D, E, B <sub>12</sub> )	Lysinoalanin
Phytates (binding of Ca, Mg, Zn, Cu, Fe)	Allergens

Liener, 1981

Table 4Lectins in Commonly Used Foods

Tomato	Canteloupe
Potato	Grapes
String bean	Cherries
Carrot	Pomegranate
Green pea	Raspberries
Soybean sprouts	Blackberries
Mung bean sprouts	
Lentil sprouts	Wheat germs
Garlic	Wheat bran
Marjoram	Corn flakes
Pimento	
	Peanuts, roasted
Mushrooms	

extracted from Nachbar and Oppenheim, 1980



Table 5Natural Carcinogenic Compounds of Plant Origin

Cycasin  
 Bracken fern activity  
 Betel nut activity  
 Carrageenan activity  
 Mushroom hydrazines  
 (Mycotoxins)

Hirono, 1981

Table 6"Psychoactive" Substances in Food

	<u>daily intake</u> (regarded as safe)
Ergot-contaminated grain (safe limit in flour 0,10-0,15 %)	-0,5 - 0,7 g ( $\leq$ 2,5 mg alkaloids)
Glykoalkaloids in potato (average content 20-100 mg/kg potato)	20 - 100 mg
Piperine in pepper, capsaicin in capsicum	
Myristicin in nutmeg, mace, carrot, parsley, celery, dill	
Carototoxin (= Falcanarol) in carrots	
Synephrin, neosynephrin, serotonin, histamine in lemon, banana and other fruits, wine . . .	

J. Hawthorn, 1981

Table 7

Solanine Content (mg/100 g) and Ripening Stage in Tomatoes  
 (range values of 7 varieties)

green	3	-	14
milky-green	1,5	-	7,2
milky-greenish/yellow greenish	1,6	-	6,0
yellow green	0,7	-	5,6
pale orange / yellow-orange	0,3	-	2,8
orange-red/red	0	-	0,7

Foreign Matters and Substitutes in Flour1. Weed infestation

- Field fennelflower ( schwarzer Ackerkümmel , Raden )
- Shepherd's purse ( Taschenkraut , Klaffer )
- Brome grass ( Trespe , Lulch )
- Jointed charlock ( gelbblühender Hederich )
- Wild radish ( Ackerrettig )
- Ergot ( Mutterkorn , Tottenkopf )

2. Adulterations

- Chalk ( Kreide )
- Slaked lime ( gelöschter Kalk )
- Calcined bones ( calcinierter Knochen )
- Alum ( Alaun )
- Kieselgur ( Mehlerde oder Bergmehl )

3. Additives

- Barley flour ( Gerstenmehl )
- Oat flour ( Hafermehl )
- Peas ( Erbse )
- Potatoes ( Kartoffel )
- Vetch ( Wicke )
- Forage turnips ( weiße Rübe )
- Acorns ( Eichel )
- Beechnuts ( Buchecker )
- Couch grass ( Quecke )

Table 9

**Toxicity of Pure Foods**  
**( Fasted rats )**

<u>Substance</u>	<u>LD50(g/kg body weight)</u>
Sucrose	28 - 42
Glucose	26
Starch	200
Cornoil	90 - 390
Cottonseed oil	250
Mineral oil	> 1000
Raw egg white	100
Casein	1200
Casein hydrolysate or AA mixture	26
aq. dest.	470
NaCl	3,8
KCl	3,0
Caffeine	0,2

( Boyd, 1975 )

Table 10

Nutritional Risks - Suspected Causes of Chronic Degenerative Diseases, esp. Heart-Circulation

Excess of: energy

saturated fatty acids and cholesterol  
 digestible carbohydrates ( Lutz, 1967 )  
 refined carbohydrates (Cleave, Campbell, 1966)  
 sucrose (Yudkin, 1972)  
 protein (Wendt, 1973), animal protein (Carroll, 1978)  
 lead (Stöfen, 1974)  
 vitamin D (Lindén, 1974)

Deficiency of: essential fatty acids (Sinclair, 1956)

fibre (Burkitt, 1972)  
 chromium (Schröder et al., 1970)  
 potassium and magnesium (Bajusz, 1967)

Antigenic effects of: cow's milk protein (Davies, 1976)

heated cow's milk protein (Annand, 1972)

Imbalances of: Ca : Mg (Varo, 1974)

Zn : Cu (Klevay, 1974)

trace elements (Masironi, 1974)

Misinduction of metabolic pathways intrauterine  
 and/or in infancy (Dörner, 1974)

Contraceptive pills (Zimmermann, Siegenthaler, 1975)

Lipid peroxidation (Wilson, 1976)

Homogenized milk (Zikakis, 1974)

Soft water (Walter et al., 1978)

Oxidized cholesterol (Kummerow, 1979)

*#Aeneas, 1980*

Table 11Causes of Human Cancer

<u>Origin</u>	<u>% of total</u>
1. Occupational cancer	1
2. Cryptogenic cancers lymphoma, leukemia, sarcoma	10-15
3. Lifestyle cancers	
3.1. Tobacco related	21
3.2. Diet related	
3.2.1. Nitrate-nitrite, low vitamin C, mycotoxins	5
3.2.2. High fat, low fiber, broiled or fried foods	45
3.3. Multifactorial	
3.3.1. Tobacco and alcohol	5
3.3.2. Tobacco-asbestos and other combinations	1
4. Iatrogenic radiation, drugs	1

Estimations of Weisburger, 1978

Table 12Potential Sources of Harm in Foods

Main causes:	( - Microbial contamination
>99 %	( - Nutritional imbalances
Minor causes:	( Environmental contamination (0,1 %)
	( Pesticide residues and food
	( additives (0,001 %)
	( Naturally toxicants in food (?)

Truswell, J-P, James, Mac Mahon; 1978



FOOD QUALITY IMPROVEMENT THROUGH AGROSTEMIN - A NEW  
NATURAL BIOREGULATOR

N. Rajković, B. Gajić, D. Vacić and D. Stanković

"Bioprodukt", Laboratory of Allelopathy and Biotechnology,  
Kneza Miloša 55, Beograd, Yugoslavia

ABSTRACT

Uses of Agrostemin, a new natural bioregulator, without side effect, extracted from seed of corn-cockle (Agrostemma githago, L.), in addition to increase of photosynthetic activity and yeald, manifest considerable beneficial influence on guality of virious agricultural products-apple, pear, prune, raspberry, table vinegrape and some cereal (corn and wheat). This is of high importance in meeting bad actual physiological needs of human organism, with special reference to increase prevention of very serious civilization diseases, particulary cardiovascular and cerebrovascular ones.

INTTRODUCTION

The harmonization of abundant yeald with quality and even biological value of agricultural products of plant origin is more and more important objective of modern science. However, acumulated scientific data and life's experience prove even high priority of food quality which is indispensable for the satisfaction of both human physiological and protective needs, decesive as more as the deterioration of environment is more pronounced.

In order to contribute to above mentioned goals and endeavours we used high advantage of a new natural bio-regulator Agrostemin (patent No. 32749, Dr Danica Gajić), without any side effect in the investigation of quality improvement of fruit of apple, pear, prune, raspberry, vinegrape and some cereal - corn and wheat. Concerning fruit we payed attention particularly on their morphologically-physical and chemical properties, while in cereal the main objectives of investigation were total content of protein and a very important aminoacid tryptophan.

#### MATERIALS AND METHODS

In presented paper we shall give information on the investigation of quality of products in the best cultivars of apple, pear, prune ("Požegača" cv. - domestic one), raspberry (cv. Moling promise), table grapes Muscat Hamburg and Cardinal, as well as some cereal such as two corn hybrids (NSSK 606 and NSSK 704) and wheat (Triticum vulgare, L.).

The following six apple cultivars were investigated: Stark earliest, Baritan, Golden delicious, Red delicious, Idared, Melrose.

In pear we investigated six cultivars too, namely the following ones: Coloree dejuillet, Butira precoce morettini, William (Bartlett), Stark rimson, Passa crassana, Winter Dechauts birne.

All investigated plants were cultivated under favourable ecological conditions (suitable climate and soil), and subjected to good modern cultural practices and protection against parasites of animal and plant origin.

Usual standard methods have been applied. Apple and pear cultivars were treated by spraying with water soluted Agrostemin in the concentration which corresponds to one gramme of active substance per one hectare. As the



most proper time of treatment of apple and pear we used "mice ear" stage of flower bud development, i.e. immediately before blossoming, while prune "Požegača" was sprayed at the stage of leaf appearance i.e. after blossoming. Raspberry was treated in the phase of intensive shoots growth. Table vinegrape was sprayed in the period of anti Peronospora treatment. Corn and wheat were investigated in laboratory conditions. Hybrid corn NSSK 606 was treated with powder before seeding and hybrid corn NSSK 704 was treated foliary, with Agrostemin solution.

Morphologically-physical properties were determined through usual precise measurements, while chemical analysis after standard methods: dry matter by refractometer; total sugar after Bertrand; total acid after the method of neutralisation; anthocyanins by paper chromatography; vitamin C after Tillmans; protein after Kjeldahl. The tryptophan content was determined spectrophotometrically by the method of Opienska-Blauth et al.

## RESULTS AND DISCUSSION

Results of investigation are presented in the Tables from 1 till 9.

All parameters in apple fruit show evident improvement under the effect of Agrostemin, among which very significant effect is manifested on vitamin C content, total acid content, fruit weight and firmness, while significant on dry matter and sugar content (Table 1.). However, much higher effect has been achieved concerning colour of fruit epidermis, stated ocularly (since we did not determine anthocyanins content).

Table 1. Effect of Agrostemin on apple quality (mean for 6 cvs. during 1977-1980)

	Control (Chek)	Treated	Difference	
			Abs.	%
Fruit weight (g)	143.1	158.2	15.1	10.5
Firmness (kg/cm <sup>2</sup> )	6.41	7.05	0.6	9.9
Dry matter (%)	14.32	14.78	0.5	3.2
Total sugar (%)	13.40	13.95	0.5	4.1
Total acid (%)	0.56	0.62	0.06	10.7
Vitamin C (mg%)	4.80	6.22	1.42	29.6

Different effect of Agrostemin was observed in pear cultivars. Very significant effect is manifested on total acid content (even 46.6 percent of increase), then in fruit weight and firmness, which is very important due to sensitivity of softness of this kind of fruit. Other parameters did not manifest appreciable effect of Agrostemin (Table 2).

In "Požegača" prune (Table 3) very significant effect of Agrostemin we noticed concerning vitamin C content (increase of 14.3 percent), total sugar (increase of 10.8 percent) and fruit weight (increase of 10.4 percent) while dry matter was increased very little. The total acid content remained unchanged.

In raspberry the best effect of Agrostemin was concerning total sugar (up to 16.7 % of increase, followed by dry matter (10.4 % of increase) and vitamin C content (9.1 % of increase) (Table 4).

Table 2. Effect of Agrostemin on pear quality (mean for 6 cvs. during 1976-1980)

	Control (Chek)	Treated	Difference	
			Abs.	%
Fruit weight (g)	156.7	172.4	15.7	10.0
Firmness (kg/cm <sup>2</sup> )	5.28	6.42	1.1	12.2
Dry matter (%)	13.72	14.12	0.4	1.1
Total sugar (%)	12.02	12.91	0.9	1.1
Total acid (%)	0.28	0.41	0.1	46.4
Vitamin C (mg%)	3.21	3.84	0.6	1.2

Table 3. Effect of Agrostemin on prune "Požegača" cv. quality (1981)

	Control (Chek)	Treated	Difference	
			Abs.	%
Fruit weight (g)	17.3	19.1	1.8	10.4
Dry matter (%)	18.0	18.5	0.5	0.7
Total sugar (%)	15.6	16.9	1.3	10.8
Total acid (%)	0.7	0.7	0.0	0.0
Vitamin C (mg%)	4.2	4.8	0.6	14.3

Table 4. Effect of Agrostemin on raspberry quality (1981)

	Control (Chek)	Treated	Difference	
			Abs.	%
Fruit weight (g)	3.87	4.06	0.19	4.9
Dry matter (%)	7.23	7.98	0.75	10.4
Total sugar (%)	6.30	7.35	1.05	16.7
Total acid (%)	3.18	3.16	-0.02	/
Vitamin C (mg%)	24.0	26.2	2.2	9.1

Agrostemin manifested a very significant effect on the increase of various anthocyanins in table vinegrape cvs. Muscat Hamburg and Cardinal (Table 5) which are the following: cyanidin 53.45% of increase, malvidin 47.35% of increase, while petunidin 8.4% of increase. However, non identified anthocyanins were slightly lower in treated grape.

Table 5. Effect of Agrostemin on anthocyanin content in grape (in %) increase

	Muscat Hamburg	Cardinal	Mean
Cyanidin	56.5	50.4	53.45
Malvidin	48.4	46.3	47.35
Petunidin	7.4	9.4	8.4
Non identified	-3.1	-0.7	-1.9

Interesting data are obtained about berry weight of table vinegrape treated with Agrostemin, being in Cardinal 33.9% and in Muscat Hamburg 8.6% higher than in control (average increase 23.8%). This effect lead to corresponding effect concerning increase of yeald, being in Cardinal 22.02% and in Muscat Hamburg 17.38% higher than in control (Table 6).

Table 6. Effect of Agrostemin on berry weight of table grape

	Muscat Hamburg	Cardinal	Mean
Control	3.70	5.45	4.57
Treated	4.02	7.30	5.56
Difference g	0.32	1.85	1.08
%	8.6	33.9	23.8

Yeald (kg/ha)

Control	15.476	30.031	22.753
Treated	18.167	36.646	27.406
Difference			
kg/ha	2.691	6.615	4.653
%	17.4	22.0	20.0

The application of Agrostemin manifested positive effect on cereal too, increasing both total content of tryptophan and protein in corn seedlings (Table 7),

increasing total content of tryptophan in corn flour and in wheat seedlings (Table 8 and 9).

Table 7. Effect of Agrostemin on tryptophan and protein content in hybrid corn (Zea mays, L.)

	mg Trp/100g d.wt.			Protein %
	24 <sup>h</sup>	36 <sup>h</sup>	120 <sup>h</sup>	
Control	125±1.94	146±10.0	380±6.9	7.29±0.11
Treated	152±1.94	166±3.6	444±5.9	7.85±0.17
Difference (%)	18	14	17	8

Table 8. Effect of Agrostemin on tryptophan content in corn flour (hybrid NSSK 606)

	mg Trp / 100g d. wt.	Difference	
		Abs.	%
Control	226.0±6.4		
Treated	262.6±15.3	36.6	16

Table 9. Effect of Agrostemin on tryptophan content in wheat 4x24<sup>h</sup> after Agrostemin treatment

	mg Trp / 100g d.wt.	Difference	
		Abs.	%
Control	232.0±19.0		
Treated	431.0±8.2	199	86

## CONCLUSION

On the basis of investigation of fruit quality, conducted in apple and pear cultivars many years (from 1976 till 1980), prune, raspberry, table vinegrape as well as in corn and wheat cvs. the following conclusion can be inferred:

In all species and cultivars fruit weight under the effect of Agrostemin was increased very significantly. Vitamin C content was increased particularly in apple cultivars (mean 29.6%), in prune "Požegača" (14.3%), and raspberry (9.1%). Very high increase of virious anthocyanins, particularly Cyanidin and Malvidin, was observed in both investigated tablegrape cultivars. The highest increase of sugar content was determined in raspberry (16.7%), "Požegača" prune (10.8%) and in apple (4.1%). All above mentioned data prove a quite positive effect of Agrostemin on fruit quality.

Concerning cereal, both investigated parameters - protein and tryptophan content in corn and tryptophan content in wheat are positively effected under Agrostemin treatment. It is very important because tryptophan is essential aminoacid which is defficiant in cereal, especially in corn.





Schlußwort des Präsidenten der DGQ -  
Prof. Dr. E. Schwerdtfeger, Geisenheim

Am Schluß eines Kongresses, der sich drei Tage lang mit Problemen pflanzlicher Qualität befaßt hat, fällt mir nun die Aufgabe zu, ein Schlußwort zu formulieren. Sie werden, so hoffe ich, mit mir übereinstimmen, daß es eine interessante Zusammenkunft von Wissenschaftlern aus vielen Ländern aus Ost und West, aus Nord und Süd war, bei der über eine Vielzahl von Problemen gesprochen wurde, bei der lebhaft diskutiert wurde (und das nicht nur im Auditorium) und bei der auch neue Ansichten und Einsichten vermittelt und sicher auch Anregungen für das eigene Arbeitsgebiet gefunden wurden. Daß es bei der Vielzahl von Referenten auch Ausfälle gab, erscheint mir verzeihlich und dürfte den Gesamteindruck kaum trüben.

Lassen wir noch einmal die wichtigsten Themenkreise an uns vorüberziehen, so war ein Hauptpunkt die unverdaulichen Ballaststoffe. Diese haben ja im Verlauf des letzten Jahrzehnts stark an Bedeutung gewonnen. Sie haben sich aus dem Schatten der "Rohfaser" gelöst, jener Stoffgruppe der Futtermittelanalyse, die wesentlichen Einfluß auf die Verdaulichkeit der Makro- und Mikronährstoffe ausübt. Diese Ballaststoffe (im Angelsächsischen als "dietary fiber" bezeichnet) sind im wesentlichen Zellwandbestandteil unterschiedlicher Zusammensetzung und besitzen daher auch recht unterschiedliche physikalisch-chemische Eigenschaften. Da es sich um ein Gemisch aus Komponenten verschiedener Stoffgruppen handelt, ist eine exakte Analyse aller Bestandteile außerordentlich schwierig und zeitraubend und besitzen daher eigentlich nur akademisches Interesse. Für die Zwecke der Ernährungsforschung ist zunächst einmal der Gesamtgehalt von Bedeutung, aufgeschlüsselt in wasserlösliche und wasserunlösliche Ballaststoffe. Leider gibt es für die Bestimmung aber (noch immer) keine allgemein anwendbare Methode von praktikabler Durchführbarkeit für Routineanalysen. Solche zu entwickeln und zu standardisieren, müßte daher ein Hauptanliegen sein und unsere Gesellschaften, die über ein beträchtliches Potential an Wissenschaftlern verfügen, könnten hierbei eine durchaus wirkungsvolle Rolle spielen.

Mit dem Gesamtgehalt allein können wir uns aber nicht begnügen, denn das physikalisch-chemische Verhalten der einzelnen Komponenten ist ausschlaggebend für die physiologische Wirkung des Gesamtkomplexes. Nur wenn man zumindest den Anteil der Hauptgruppen kennt, lassen sich Beziehungen zur physiologischen Wirkung ableiten.

Das Thema Ballaststoffe wurde seiner Bedeutung gemäß mit verschiedenen Aspekten behandelt. So kamen analytische Gesichtspunkte zur Sprache, aber auch der Aufbau und die chemisch-physikalischen Eigenschaften und natürlich auch die physiologische Bedeutung sowie die Höhe des Gesamtverzehrs in verschiedenen Ländern. Es erscheint klar, daß neben den positiven Eigenschaften der Ballaststoffe auf den Darmtransport der Nahrung, Beeinflussungen der Resorption von Mineralstoffen und Spurenelementen nicht aus dem Auge gelassen werden dürfen, insbesondere wenn es sich um die Langzeitaufnahme ballaststoffreicher Kostformen handelt. Wir haben gesehen, daß dem Ballaststoffgehalt der Nahrung insbesondere in den entwickelten Ländern auch zukünftig eine beträchtliche Bedeutung zukommen wird. Aber auch wenn der Ballaststoffgehalt durchaus ein Qualitätsmerkmal ist, die Züchtung ist hier nicht aufgerufen, uns für die Zukunft mit besonders nasserreichem Gemüse zu versorgen; dies wäre, falls es überhaupt ernsthaft ins Auge gefaßt wird, sicher eine Fehlentwicklung.

Im weiteren Themenkreis befaßt sich mit den Zusammenhängen zwischen Ernährung und Inhaltsstoffen, wobei diesmal Mineralstoffe und Spurenelemente im Vordergrund des Interesses standen. Es ist klar, daß die Ernährung der Pflanzen einen wesentlichen Einfluß auf deren Zusammensetzung ausübt. Wir haben erfahren, wie vorsichtig man vorgehen muß, um die Auswirkung einer unterschiedlichen Ernährung der Pflanze angemessen beurteilen zu können. Wir dürfen davon ausgehen, daß nur eine ausreichend versorgte Pflanze ihre genetische Kapazität auch ausschöpfen kann; Mangelpflanzen werden immer auch qualitativ gemindert sein. Probleme können jedoch bei einer über den Bedarf hinausgehenden Düngung auftreten, da auch in diesem Bereich mit qualitativen Veränderungen gerechnet werden muß.

Dieses recht simple Schema wird jedoch dadurch kompliziert, daß wir es bei Obst und Gemüse mit einer Unzahl von Arten mit stark differierenden Ansprüchen und diese weiter untergliedert in Sorten mit ebenfalls unterschiedlichem Verhalten zu tun haben. Dazu kommt der Einfluß der Witterung mit ihren einzelnen Faktoren, die das Bild weiter modifizieren, so daß eine allgemeingültige Aussage praktisch unmöglich wird. Trotzdem lassen sich, wie wir hörten, bei Teilspekten wie beispielsweise der Nitratakkumulation wichtige Erkenntnisse gewinnen.

...

Da die gesamtheitliche Qualitätsbeurteilung, die letztlich allein schlüssige Folgerungen zuläßt, aufgrund des hohen Aufwandes von Ernährungsversuchen vorerst nur in Einzelfällen durchgeführt werden kann, wird man wie bisher auf einzelne Qualitätsparameter zurückgreifen müssen. Hier wäre es schon eine Hilfe, wenn man sich darüber einigen könnte, welche Inhaltsstoffe bei welchen Obst- und Gemüsearten als Qualitätsfaktoren anzusprechen sind. Dies wäre sicher eine dankenswerte Aufgabe auch für unsere Gesellschaften. Der für Pflanzen charakteristische Überschuß von  $K^+$  über  $Na^+$  könnte nach den uns vorgestellten Befunden schon ein solches Qualitätsmerkmal sein.

Eiweißqualität ist ein wichtiger Teilbereich der Qualitätsforschung an pflanzlichen Objekten, da ja weite Teile der Weltbevölkerung auf pflanzliches Eiweiß als praktisch alleinige Eiweißquelle angewiesen sind. Trotz der seit langem laufenden Forschungsarbeiten in vielen Teilen der Welt sind, wie wir erfuhren, noch wichtige Fragen nur teilweise beantwortet bzw. es steht der Forschung hier noch viel Neuland offen. Wegen der singulären Stellung des Proteins in der menschlichen Ernährung haben Ergebnisse dieser Untersuchungen weitreichende Bedeutung, und wir werden uns sicher auch auf zukünftigen Kongressen wieder damit befassen müssen.

Von den Schadstoffen sind die Haloforme bisher wenig beachtet worden sind aber doch offenbar von beträchtlicher Bedeutung. In den letzten Jahren sind auch die Nitrosamine stärker in das Blickfeld gerückt. Diese Stoffklasse, die primär in Pflanzen wahrscheinlich nicht vorkommt, kann jedoch durch technologische Prozesse gebildet werden. Auch Pflanzeninhaltsstoffe können auf ihre Bildung unter physiologischen Bedingungen einen beträchtlichen Einfluß ausüben. Wenn auch das Ausmaß der tatsächlichen Gefährdung des Menschen durch diese Substanzen noch nicht bekannt ist, so sollte man doch bemüht sein, dieses Risiko durch den Abbau hoher Nitratwerte sowie durch eine Überprüfung der derzeitigen Anbau-Methoden und Technologien so niedrig wie möglich zu halten. Dies erscheint umso wichtiger als neben Rückständen aus Pflanzenbehandlung und Immission auch eine Reihe weiterer z.T. pflanzeneigener Schadstoffe auftreten können.

Der abschließende Blick auf zwei wenig bekannte Bioregulatoren brachte weitere Details zum Gesamtbild "Qualität" in bezug auf das Pflanzenreich. Hierdurch wurde das weite Themenspektrum erneut variiert und die Vortragsreihe zu einem abgerundeten Schluß gebracht. ...

Die Qualität, wie wir sie verstehen, ist - und das hat sich auch in diesen Tagen wieder erwiesen - von höchst komplexer Natur und um sie zu erfassen, bedarf es sowohl eines auf einer hohen Warte stehenden Beobachters. Justus von Liebig schreibt dazu: " Es gibt keine Kunst, welche so schwierig ist, wie die Kunst der Beobachtung: es gehört dazu ein gebildeter nüchterner Geist und eine wohlgeschulte Erfahrung, welche nur durch Übung erworben wird; denn nicht der ist der Beobachter, welcher das Ding vor sich mit seinen Augen sieht, sondern der, welcher sieht, aus welchen Teilen das Ding besteht und in welchem Zusammenhang die Teile mit dem Ganzen stehen.

Alles in allem - so mein Eindruck - war es ein durchaus gelungener Kongreß, der von vielen Schultern bereitwillig getragen, nunmehr zu Ende geht. Und nun bleibt mir nur noch übrig, allen Beteiligten für ihr hohes Maß an Interesse und Engagement herzlich zu danken. Das gilt für die Vortragenden, die zu den einzelnen Themenbereichen wesentliche und detaillierte Beiträge lieferten und viel Zeit in die Aufbereitung des Stoffes investierten; das gilt für die Diskussionsredner, die trotz des mitunter herrschenden Zeitdrucks noch wichtige Ergänzungen einbrachten, das gilt für die verschiedenen Sitzungsvorstände, die den Redefluß so kanalisiert, daß der Programmablauf im großen und ganzen planmäßig erfolgen konnte, das gilt für die vielen fleißigen Hände vor und hinter den Kulissen, ohne deren Einsatz die Organisation unmöglich gewesen wäre. Das gilt für das Dolmetscherteam, das sich seiner gewiß nicht einfachen Aufgabe trotz technischer Probleme durchaus gewachsen zeigte, das gilt nicht zuletzt dem Hausherrn, der uns überhaupt erst die räumliche Möglichkeit dieser Zusammenkunft gegeben hat, der unsere gestrige Besichtigung so vorzüglich organisierte und der den Ablauf der Geschehnisse jederzeit hilfreich begleitete, und das gilt natürlich auch den Mitgliedern und Gästen, die zeitliche und finanzielle Opfer auf sich genommen haben, um hierher zu kommen und die mehrheitlich auch bis zum Schluß ausgeharrt haben. Es wäre schön, wenn dieser so gut verlaufene Kongreß recht vielen unserer Gäste Anlaß dazu geben würde, in das Lager der Mitglieder überzuwechseln, um damit den Wirkungsradius unserer Gesellschaften zu erweitern und künftige Vortragstagungen und Kongresse noch erfolgreicher zu machen.

Ich wünsche Ihnen allen eine gute Heimkehr und schließe damit den 5. gemeinsamen Kongreß von CIQ und DGQ.

CIQ/DGO

Congress - Kiel

6. - 8. September 1982

Summary - Zusammenfassung

Title/Thema: DIETARY POTASSIUM, AN IMPORTANT HUMAN NEED

Author(s): George R. Meneely and Harold D. Battarbee

Populations eating over 3.5 g of sodium (as NaCl) per day show rising blood pressure with age and an incidence of hypertension closely proportional to the dietary sodium level. Those eating less than 3.5 g show no rise in pressure with age, and a zero incidence of essential hypertension. Peoples moving from low to high salt eating areas develop blood pressures at the same elevated level as their new neighbors. The clinical and tissue pathological features of essential hypertension can be reproduced in the rat by feeding excess sodium chloride. The rat's susceptibility to salt hypertension is genetically controlled..

Excess dietary sodium causes human essential hypertension in those with the specific genetic defect. In USA adults, over 20% have high blood pressure and over 50% of blacks past 54. The incidence of essential hypertension is a nutritional indicator of excess dietary salt. Excess salt consumption also associates strongly with the incidence of cancer of the stomach.

Potassium protects against the effects of excess dietary sodium. In animal experiments, life span is prolonged by adding potassium to diets containing excess sodium. Recent human observations confirm the protective effect of potassium against excess dietary sodium.

Modern man has reversed the sodium/potassium ratio which prevailed through evolution since emergence from the sea. Carnivorous diets contain four to five times as much and vegetarian diets twelve to twenty times as much potassium as sodium. Man's mechanisms for sodium and potassium homeostasis evolved in this low-sodium, high-potassium environment. Control curves of physiological functions bend sharply upward at about 3.5 g per day of sodium (as NaCl). Below this, man conserves sodium efficiently. Above it, the system is insensitive and inactive. Conversely, there is no mechanism for conservation of potassium, only efficient means to handle and excrete excess.

Now, man adds salt in processing food, in cooking, and often more at table. Concurrently, he leaches out potassium. 100 g of fresh green peas contains 0.002 g Na and 0.725 g K, (as chlorides). When canned, sodium is 0.59 g, and half the potassium is gone. The Na/K ratio is reversed from 0.003 to 1.72, a six hundred fold change.

Defective net transfer of sodium out and potassium into the cell, recently discovered in essential hypertensives and their near relatives, is a genetic marker for this disease. Excess dietary sodium or inadequate potassium intake may act on this system by a mass action effect. Whether this is so or not, there is abundant evidence western man must decrease his sodium intake and change his food selection and preparation practices to avoid losing the potassium his homeostatic mechanisms require.

Address (of the first Author) Louisiana State University Medical Center - Shreveport, P.O. Box 33932, Shreveport, LA 71130, USA

**CIQ/DGQ**

Congress - Kiel

6. - 8. September 1982

Summary - Zusammenfassung

**Title/Thema;** THE CHEMISTRY OF PLANT CELL WALLS AND DIETARY FIBRE**Author(s)** ROBERT R. SELVENDRAN

Plant cell wall material and products derived from plant cell walls are the major components of dietary fibre (DF). Therefore, the chemistry of some of the better characterized cell wall polymers of edible plant organs will be described. The products would include vegetables (potatoes and runner beans), fruits (apples), cereals and cereal products (wheat, barley, breads, wheat bran and bran-based products), some sea weeds (brown algae) and material used in clinical feeding trials. As it is becoming increasingly clear that the nature of the cell wall polymers associated with the various tissue types are different, an effort will be made to describe, where possible, the chemistry of the cell walls of different tissues.

Special emphasis will be placed on the chemical compositions of the DF-preparations used in clinical feeding trials. The alcohol-insoluble residues used were (in order of effectiveness in increasing faecal weight): wheat bran, cabbage, carrot and apple; guar gum was also used. The increases in faecal weight were found to be correlated with the pentose content of the fibre. Fractionation of the purified cell wall material yielded further information on the types of polysaccharide present. Wheat bran is characterized by a high proportion of alkali-soluble acidic-arabinoxylans which may be attached to each other and to lignin by phenolic ester cross-linkages. Fibre from immature vegetables and apple contains little lignin but a large proportion of easily extractable pectic substances. These differences, and some of the properties of the fibre preparations, will be discussed in relation to the observed effects in faecal weight.

**Address(of the first Author)**

ARC Food Research Institute

Colney Lane

Norwich NR4 7UA

United Kingdom

**CIQ/DGQ**

Congress - Kiel

6. - 8. September 1982

Summary - Zusammenfassung

**Title/Thema;** DIETARY FIBER AND CALCULATION OF ENERGY VALUES OF GRAIN PRODUCTS**Author(s)** WISKER, E. AUGUSTIN, S. FELDHEIM, W., KIEL, FRG

First experimental data for the calculation of the energy content of foods was given by Atwater (1900) and later revised by Watt and Merrill (1963).

This system, based on the heat of combustion of the nutrients and their apparent digestibilities is still used today for setting up food tables.

In practice considerable variations can be found in food tables depending on difference in interpretation of data.

Today there is some criticism about the validity of the old system. The determination of carbohydrate by difference leads to an over-estimation of the energy content of the carbohydrate group by an insufficient consideration of dietary fiber, regardless whether the amount of raw fiber is taken into account or not.

Taking grain products, e.g. flours, bread, cereals, as an example there are differences between the calculated energy values depending on the amount of dietary fiber determined and the used values for protein and fat. These differences being especially distinct with high fiber values.

Considering recent experimental data, the old theory is rejected that dietary fiber surpresses the digestivity of proteins. It is concluded that the intestinal microflorasatisfies their need for substances for biosynthesis and energy production from the dietary fiber of food (Carbon and energy) whereas products of protein breakdown provide the Nitrogen.

Some observations supporting this theory are presented and discussed.

**Address(of the first Author)** Prof. Dr. W. FeldheimInstitut für Humanernährung und Lebensmittelkunde  
Düsternbrooker Weg 17-19

D-2300 K i e l