

## Agronomische und phytochemische Charakterisierung von Brotklee-Landsorten

### *Agronomic and phytochemical characterization of Trigonella caerulea landraces*

Manuel Pramsohler<sup>1</sup>, Alessia Castellan<sup>1</sup>, Mayra Galarza Pérez<sup>2</sup>, Serhat S. Çiçek<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Versuchszentrum Laimburg, Laimburg 6 – Pfatten/Vadena, 39040 Auer/Ora, BZ, Italien

<sup>2</sup>Abteilung Pharmazeutische Biologie, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Gutenbergstraße 76, 24118 Kiel, Deutschland

manuel.pramsohler@laimburg.it

DOI: 10.5073/20230821-144622-0

### Zusammenfassung

Der Brotklee oder Schabziger *Trigonella caerulea* (L.) Ser. gehört zur Pflanzenfamilie der Fabaceae. Das getrocknete Kraut wird in der Alpenregion traditionell zum Würzen von Käse und Brot verwendet. Verschiedene  $\alpha$ -Ketosäuren sind für das charakteristische Aroma verantwortlich, aber derzeit ist wenig über deren Vorkommen im getrockneten Pflanzenmaterial bekannt. Das Ziel dieser Arbeit war es, die agronomischen Eigenschaften und die Inhaltsstoffe von sieben Brotklee-Landsorten aus Südtirol (Italien) zu untersuchen. Die untersuchten Landsorten zeigten ähnliche agronomische Eigenschaften aber deutliche Unterschiede im Gehalt an  $\alpha$ -Ketosäuren und in deren Zusammensetzung.

**Stichwörter:**  $\alpha$ -Ketosäuren, pflanzengenetische Ressourcen, Schabzigerklee, *Trigonella caerulea*

### Abstract

*Trigonella caerulea* (L.) Ser. is an annual herb that belongs to the Fabaceae plant family. The dried aerial parts of *T. caerulea* are traditionally used in the Alpine Region for flavoring cheese and bread. Different  $\alpha$ -keto acids are considered responsible for the characteristic aroma, but at present very little is known about their quantity in the dried plant material. The aim of the present study was to analyze the agronomic traits and the phytochemical composition of seven accessions of *T. caerulea* from South Tyrol (Italy). The studied accessions showed similar agronomic traits, however differences in the overall content and composition of alpha-keto acids were found.

**Keywords:**  $\alpha$ -keto acids, blue fenugreek, plant genetic resources, *Trigonella caerulea*

### Einleitung

Der einjährige Brotklee *Trigonella caerulea* (L.) Ser. wird 20-100 cm hoch und besitzt eine kräftige Pfahlwurzel (Dachler & Pelzmann, 2017). Wie die meisten Kleearten hat er dreizählige Laubblätter. Die Blüten erscheinen im Zeitraum von Juni bis Juli und sind hellblau gefärbt. Die Frucht besteht aus einer eiförmigen Hülse, die Samen sind rund bis nierenförmig und in der Farbe gelbgrün bis dunkelbraun. Brotklee ist eine wärmeliebende Pflanze, die aber keine besonderen Klima- und Bodenansprüche hat (Dachler & Pelzmann, 2017). Im Alpengebiet wird das getrocknete und gemahlene Kraut als Käsegewürz für Bergkäsespezialitäten wie dem „Schabziger“ aus der Schweiz (Ney, 1986) und als Brotgewürz z.B. in Südtirol (de Rachewiltz, 1993; Rinder & Lohwasser, 2010) genutzt. Im Kaukasus werden die getrockneten Samen verwendet, sie sind Bestandteil vieler Gewürzmischungen (Dinu et al., 2013; Farag et al., 2016). Als aromarelevante Inhaltsstoffe wurden verschiedene  $\alpha$ -Ketosäuren angegeben (Ney, 1986), diese wurden in einer aktuellen Arbeit im Detail quantifiziert (Ayvazyan et al., 2023). Über den Gesamtgehalt und die Zusammensetzung der  $\alpha$ -Ketosäuren in verschiedenen Pflanzenherkünften

(Landsorten) ist bisher noch nichts bekannt. Das Ziel dieser Arbeit war eine agronomische Charakterisierung von sieben in Südtirol gesammelten Brotklee-Landsorten und die Analyse von  $\alpha$ -Ketosäuren im getrockneten Pflanzenmaterial.

## Material und Methoden

Das Saatgut der sieben untersuchten Brotklee-Landsorten stammt von einer Landsorten-Sammelaktion, welche im Rahmen des Interreg-Projektes „Gene-Save“ in den Jahren 2002-2004 in verschiedenen Südtiroler Gemeinden durchgeführt wurde. Die gesammelten Brotklee-Landsorten wurden zum Zeitpunkt der Sammlung zum Teil noch auf kleiner Fläche angebaut und zum Würzen von Brot verwendet. Das gesammelte Saatgut der verschiedenen Landsorten wurde in der Genbank des Versuchszentrums Laimburg (Akzessionsnummern: LTC002, LTC003, LTC004, LTC005, LTC006, LTC008, LTC009) bei -20 °C aufbewahrt. Da die verfügbaren Saatgutmengen der Landsorten gering waren, wurde der Feldversuch in Kleinparzellen angelegt. Die sieben Landsorten wurden in einer randomisierten vollständigen Blockanlage mit drei Wiederholungen am Versuchsstandort Gachhof (Meran/Labers, Provinz Bozen, Italien 46°40'01.74"N; 11°11'48,02"E) auf 620 m Meereshöhe angebaut. Die agronomische Charakterisierung wurde in den Jahren 2020 und 2021 durchgeführt. Die Jungpflanzenanzucht der Versuchspflanzen erfolgte im Gewächshaus und in beiden Versuchsjahren wurden die Pflanzen jeweils Mitte Mai ausgepflanzt. Im ersten Versuchsjahr wurden jeweils 15 Pflanzen pro Parzelle gepflanzt, im zweiten Versuchsjahr jeweils 10 Pflanzen (Pflanzabstand 15 cm, Reihenabstand 50 cm). Die Pflanzen wurden mittels Tropfbewässerung nach Bedarf mit Wasser versorgt. Das Versuchsfeld wurde nicht gedüngt und es waren keine Pflanzenschutzmaßnahmen erforderlich. Unkraut in den Parzellen wurde händisch entfernt. Es wurden die agronomischen Parameter Wuchshöhe zum Zeitpunkt der Ernte und Ertrag (Frischgewicht, Trockengewicht) erhoben. Die Ernte erfolgte zu Blühbeginn. Die Pflanzen wurden direkt nach der Ernte in einer Trocknungsanlage bei maximal 35 °C für sieben Tage getrocknet. Die statistische Auswertung der agronomischen Daten wurde mit der Software SPSS 20 mittels Varianzanalyse (Anova) durchgeführt.

Für die chemischen Analysen wurde jeweils eine Mischprobe der drei Feldwiederholungen untersucht. Die Analysen wurden an der Universität Kiel durchgeführt. Für die Bestimmung des Gehalts an  $\alpha$ -Ketosäuren wurden 1,0 g getrocknetes und gemahlenes Pflanzenmaterial durch beschleunigte Lösemittelextraktion mit n-Hexan entfettet und anschließend mit Methanol extrahiert. Die Quantifizierung erfolgte mittels UHPLC-MS/MS und Referenzstandards nach vorheriger Derivatisierung mit O-(2,3,4,5,6)-Pentafluorobenzoyloxim. Es wurden jeweils drei Messwiederholungen pro Probe analysiert.

## Vorläufige Ergebnisse

Hinsichtlich der agronomischen Parameter Wuchshöhe, Frischgewicht und Trockengewicht konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Landsorten festgestellt werden. Die Mittelwerte für die Wuchshöhe lagen bei 73 bis 102 cm. Es wurden, je nach Landsorte, Erträge an getrocknetem Kraut von 0,8 bis 1,3 t/ha erzielt. Die erzielten Erträge der untersuchten Landsorten waren niedriger als in der Literatur angegeben, aktuelle Herkünfte können Erträge zwischen 1,7 bis 3,4 t/ha erzielen (Dachler & Pelzmann, 2017). Da der Versuch in Kleinparzellen angelegt wurde, lassen sich die erzielten Erträge aber nur eingeschränkt auf größere Flächen übertragen. Die untersuchten Landsorten wurden traditionell nur auf sehr kleinen Flächen angebaut und es gibt keine Hinweise auf eine züchterische Bearbeitung durch die Erhalter der Landsorten. Das ist wahrscheinlich der Grund, warum die Erträge niedriger als bei aktuellen Herkünften liegen.

Die verschiedenen Landsorten zeigten deutliche Unterschiede im Gehalt an  $\alpha$ -Ketosäuren. Während im Jahr 2020 der Gesamtgehalt an  $\alpha$ -Ketosäuren zwischen 52 und 98 mg/kg getrocknetem Pflanzenmaterial lag (siehe Tabelle 1), betrug der Gehalt der Ernte des Jahres 2021 23 bis 71,7 mg/kg (siehe Tabelle 2), was auf einen relativen Unterschied von bis zu 300 % zwischen den verschiedenen Landsorten hinweist. Insgesamt wurden 10 verschiedene  $\alpha$ -Ketosäuren analysiert. Die Unterschiede im Gesamtgehalt waren hauptsächlich auf die drei Hauptverbindungen Glyoxylsäure,  $\alpha$ -Ketoglutarsäure und Brenztraubensäure zurückzuführen. Auch bei Brotkleeproben aus dem Handel konnten diese drei  $\alpha$ -Ketosäuren als Hauptsäuren identifiziert werden (Ayvazyan et al., 2023). Die Brotkleeproben aus dem Handel zeigten Gesamtgehalte von 115 bis 185 mg/kg (Ayvazyan et al., 2023) und damit höhere Werte als die hier untersuchten Landsorten. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die sieben untersuchten Landsorten ähnliche agronomische Merkmale, aber deutliche Unterschiede im Gesamtgehalt und im Gehaltsmuster der geschmacksbestimmenden  $\alpha$ -Ketosäuren aufwiesen.



**Abb. 1.** *T. caerulea* (Fabaceae) wird in der Alpenregion als Gewürz für Käse und Brot verwendet

**Fig. 1.** *T. caerulea* (Fabaceae) is traditionally used in the Alpine Region as a spice for cheese and bread

**Tab. 1.** Quantifizierung von  $\alpha$ -Ketosäuren in getrocknetem Pflanzenmaterial der sieben untersuchten Brotklee-Landsorten (Anbaujahr 2020, mg/kg)

**Tab. 1.** Quantification of  $\alpha$ -keto acids in dried plant material of the seven studied accessions of *T. caerulea* (year 2020, mg/kg)

Landsorte	Glyoxylsäure	Brenztraubensäure	$\alpha$ -Ketoglutarsäure	Gesamtgehalt
LTC002	49,31 $\pm$ 2,05	5,47 $\pm$ 0,43	29,89 $\pm$ 0,34	88,67
LTC003	53,98 $\pm$ 3,48	9,25 $\pm$ 0,75	30,67 $\pm$ 0,67	98,25
LTC004	41,30 $\pm$ 3,56	7,47 $\pm$ 0,41	24,02 $\pm$ 0,89	76,04
LTC005	27,18 $\pm$ 1,63	3,64 $\pm$ 0,59	19,08 $\pm$ 1,16	52,75
LTC006	31,28 $\pm$ 2,83	1,83 $\pm$ 0,92	18,65 $\pm$ 0,85	52,10
LTC008	34,84 $\pm$ 0,87	4,56 $\pm$ 0,70	24,41 $\pm$ 1,62	69,39
LTC009	27,87 $\pm$ 2,22	4,30 $\pm$ 0,37	20,29 $\pm$ 2,08	53,61

**Tab. 2.** Quantifizierung von  $\alpha$ -Ketosäuren in getrocknetem Pflanzenmaterial der sieben untersuchten Brotklee-Landsorten (Anbaujahr 2021, mg/kg)

**Tab. 2.** Quantification of  $\alpha$ -keto acids in dried plant material of the seven studied accessions of *T. caerulea* (year 2021, mg/kg)

Landsorte	Glyoxylsäure	Brenztraubensäure	$\alpha$ -Ketoglutarsäure	Gesamtgehalt
LTC002	44,52 $\pm$ 2,82	4,96 $\pm$ 0,35	18,79 $\pm$ 2,82	69,63
LTC003	47,60 $\pm$ 2,53	4,38 $\pm$ 0,76	18,10 $\pm$ 2,20	71,66
LTC004	26,68 $\pm$ 2,61	n.d.	12,86 $\pm$ 0,91	40,74
LTC005	36,91 $\pm$ 3,47	2,79 $\pm$ 0,58	17,34 $\pm$ 1,81	58,53
LTC006	40,87 $\pm$ 3,01	1,13 $\pm$ 0,57	13,88 $\pm$ 1,97	58,03
LTC008	36,14 $\pm$ 2,44	1,55 $\pm$ 0,61	13,46 $\pm$ 1,29	53,20
LTC009	14,79 $\pm$ 1,57	n.d.	6,73 $\pm$ 1,53	23,00

## Literatur

- Ayvazyan, A., T. Stegemann, M. Galarza Pérez, M. Pramsöhler, S.S. Çiçek, 2023: Phytochemical Profile of *Trigonella caerulea* (Blue Fenugreek) Herb and Quantification of Aroma-Determining Constituents. *Plants*, 12, 1154, DOI: 10.3390/plants12051154.
- Dachler, M., H. Pelzmann, 2017: Arznei- und Gewürzpflanzen. Lehrbuch für Anbau, Ernte und Aufbereitung. Cadmos Verlag, München, Deutschland, 246-247.
- De Rachewiltz, S.W., 1993: Brot im südlichen Tirol. Wielander, Arunda.
- Dinu, M., R. Ancuceanu, V. Radulescu, D.C. Ilies, C. Munteanu, C. Arama, 2013: A Comparative Morphological and Chemical Study of the Seeds from *Trigonella foenum-graecum* (L.) and *T. caerulea* (L.) Ser. Species. *Farmacia*, 61, 1069-1081.
- Farag, M.A., D.M. Rasheed, M. Kropf, A.G. Heiss, 2016: Metabolite profiling in *Trigonella* seeds via UPLC-MS and GC-MS analyzed using multivariate data analyses. *Anal Bioanal Chem*, 408, 8065-8078, DOI: 10.1007/s00216-016-9910-4.
- Ney, K.H., 1986: Untersuchung des Aromas von Ziegerklee (*Coerulea mellilotus*): der Schlüsselverbindungen des Aromas von Schabzieger (Schweizer Kräuterkäse). *Gordian*, 86, 9-10.
- Rinder, R., U. Lohwasser, 2010: Arznei- und Gewürzpflanzen L-Z. Handbuch des Arznei- und Gewürzpflanzenbaus, Band 5. Selbstverlag des Vereins für Arznei- und Gewürzpflanzen SALUPLANTA, Bernburg, Deutschland, 446-452.