

## Die Bestimmung des Physiologischen Aminosäurenstatus von Möhren und Weizen zur Unterscheidung ökol. und konv. Anbauvarianten

### Determination of the Physiological Aminoacid Status of Carrots and Wheat for the Differentiation of Organic and Conventional cultivars

P. Stolz<sup>1</sup>, J. Strube<sup>1</sup>

**Key words:** organic food quality, physiological aminoacid status, holistic methods, validation according to ISO 17025, N-metabolom

**Schlüsselwörter:** Qualität ökologischer Lebensmittel, physiologischer Aminosäurenstatus, ganzheitliche Verfahren, Validierung nach ISO 17025, N-Metabolom

#### Abstract:

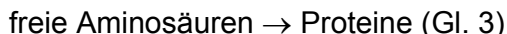
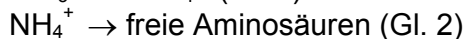
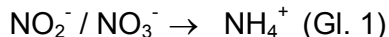
*A procedure for the differentiation and identification of organic versus conventional grown crop is described. The validated (ISO 17025) procedure is based on the precise Determination of the N-Metabolom of the cultivated plant. With this procedure it was possible to distinguish organically from conventionally grown crops.*

#### Einleitung und Zielsetzung:

Neuere Ansätze zum Systemvergleich konventioneller bzw. ökologischer Landwirtschaft enthalten neben stoffbezogenen Betrachtungen zusätzlich prozessbezogene Betrachtungen (TAUSCHER et al. 2003). In diesem Sinne soll die bisherige Qualitätsbetrachtung der Pflanze aufgrund der Art und Menge der im Pflanzenmaterial nachweisbaren Stoffe um eine Betrachtung der Prozesse ergänzt werden, die das Pflanzenmaterial bis zur Ernte durchlaufen hat. Das hier beschriebene Verfahren beruht darauf, den physiologischen Zustand der Pflanze anhand von präzise bestimmbar Substanzen mit biologischem Bezug zum Kulturverfahren zu charakterisieren.

Die nachgewiesenen Stoffe werden zunächst nicht im Hinblick auf Ihre Auswirkung für die menschliche Ernährung beurteilt, sondern in prozessuellem Hinblick auf ihre pflanzenphysiologische Bedeutung. Die proteinogenen Stickstoffverbindungen bzw. Aminosäuren als Stoffgruppe wurden gewählt, weil sie im Pflanzenstoffwechsel eine bedeutsame Rolle spielen, als Indikatoren für N-Düngemittel bedeutsam für die Differenzierung der Kulturverfahren biologisch und konventionell sind und sich analytisch relativ gut präzise erfassen lassen.

Nach der gängigen Darstellung in der Pflanzenphysiologie wird der Stickstoff von der Pflanze in Form von Nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) oder Ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) aufgenommen, über Zwischenstufen zunächst zu Aminosäuren und dann zum fertigen Protein umgesetzt.:



Vereinfachend lässt sich so der Proteinaufbau im pflanzlichen Stickstoffstoffwechsel als dreistufiger Prozess formulieren, an dessen Beginn die Nitratassimilation und an dessen Ende die pflanzliche Proteinsynthese steht.

Der ganzheitliche Aspekt der Methode liegt in der Betrachtung dieser Stoffwechselprozesse im Hinblick auf den Pflanzenorganismus als Funktionsganzheit. Ein Maß für die Umsetzung der in der Pflanze gebundenen Biomasse durch die für den jeweiligen Pflanzenorganismus spezifischen Stoffwechselprozesse kann sein, wie weit freie Aminosäuren (Gl. 3) in Proteine umgewandelt sind.

<sup>1</sup> KWALIS Qualitätsforschung Fulda GmbH, Fuldaer Str. 21, D- 36160 Dipperz, E-mail: kwalis@t-online.de

Protein wird allgemein als wertgebender Inhaltsstoff eingestuft. Die Beurteilung eines hohen Proteingehaltes als wertbestimmende Eigenschaft kann als klassische Bewertungsgrundlage angesehen werden. Der relative Eiweißgehalt (SCHUPHAN 1976) bezieht sich darüber hinaus auf die physiologische Organisationsleistung der Pflanze und kann damit zusätzlich im Sinne einer ganzheitlichen Beurteilung (MEIER-PLOEGER et al. 1991) interpretiert werden. Die Organisationsleistung der Pflanze wurde als Prozessuales Kriterium zur Unterscheidung der Qualität ökologischer Produkte von konventionellen noch nicht diskutiert.

### Methoden:

Die einzelnen mit dem Probenmaterial vorgenommenen Arbeitsschritte sowie die Probenlenkung erfolgten nach Standardarbeitsanweisungen. Die Gesamtproteinbestimmung in Weizen und Möhren erfolgte nach Kjeldahl (§35 LMBG), die Nitratbestimmung in Möhren erfolgte mittels HPLC (§35 LMBG). Die Bestimmung freier Aminosäuren in Möhren erfolgt mittels Aminosäureanalysator. Die Aminosäurebestimmung in Weizen erfolgt nach saurer bzw. basischer Hydrolyse (Met+Cys nach Oxidation) mittels HPLC bzw. Aminosäureanalysator nach VDLUFA. Die Gesamtmethode ist nach ISO 17025 validiert. Eine umfangreiche Beschreibung der Methode und der Validierung sind an anderer Stelle beschrieben (STOLZ 2004)

### Ergebnisse und Diskussion:

Es wurden zwei Probenserien Weizen DOK-Versuch (FibL, Schweiz) der Ernte 2002 sowie eine Probenserie der Ernte 2003 untersucht. Je Probenserie standen fünf Kulturvarianten als Mischproben von je vier Feldwiederholungen zur Verfügung. Jede Probenserie bestand aus jeweils zwei biologischen Varianten (biologisch-dynamisch und biologisch-organisch; D, O), zwei konventionellen Varianten (Stallmist und Mineraldünger sowie reine Mineraldüngung; K, M), sowie einer Kontrolle (ungedüngt; N) (MÄDER et al. 2002).

Die beiden Probenserien DOK-Weizen 2002 wurden im Protein-N-Gehalt in drei Niveaus, die Probenserie 2003 in zwei Niveaus differenziert. Das obere Niveau (gelb) wurde zutreffend in allen untersuchten Proben den konventionellen Verfahren (M, K) zugeordnet. In beiden Probenserien 2002 wurden die ökologischen Varianten (grün) auf einem mittleren Niveau gegenüber der Kontrolle (grau) abgetrennt und richtig zugeordnet. In der Probenserie 2003 lagen die ökologischen Varianten (grün) und die Kontrolle (grau) auf einem Niveau. Die Ergebnisse zeigen höhere Proteingehalte der

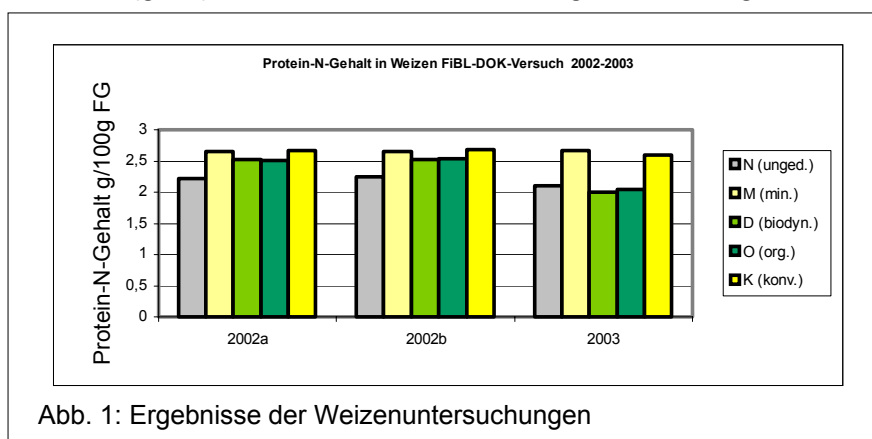


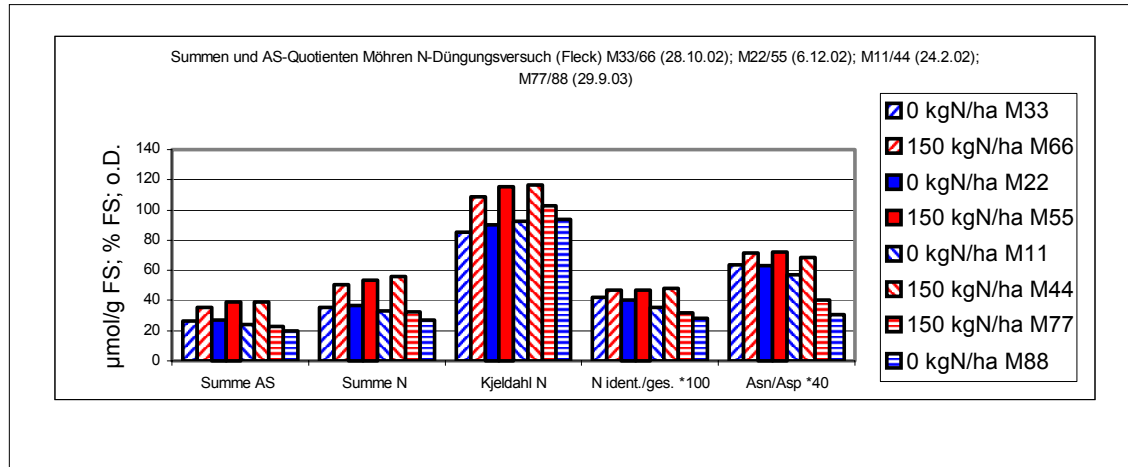
Abb. 1: Ergebnisse der Weizenuntersuchungen

Proben aus konventionellen Verfahren (M, K) gegenüber denjenigen aus ökologischen Verfahren bzw. der ungedüngten Kontrolle. Dies zeigt deutlich signifikante Unterschiede im Stickstoffmetabolismus der in

unterschiedlichen Landbausystemen angebauten Weizenpflanzen. Während der Reifung der Weizenkörner verändert sich sowohl deren Proteinzusammensetzung als auch deren absoluter Proteingehalt. Bei den Untersuchungsergebnissen für Glutaminsäure (Glu) und Prolin (Pro) wurde eine vergleichbare Differenzierung gefunden. Auch

hier konnten die Proben korrekt dem ökologischen bzw. nichtökologischen Verfahren zugeordnet werden.

Außerdem wurde je eine Probenserie Möhren (N-Steigerung) von M. Fleck (Uni Kassel) der Ernte 2002 im Herbst 2002, Winter 2002 und im Frühjahr 2003 sowie eine Probenserie der Ernte 2003 im Herbst 2003 untersucht. Je Probenserie standen zwei



Varianten (ungedüngt/150 kg N/ha) als Bulkproben zur Verfügung: Probenserie 2002a (28.10.02): (M33/M66); 2002b (6.12.02): (M22/M55); 2002c (24.2.03): (M11/M44); 2003 (29.9.03): (M77/M88). Für Gesamtprotein, Nitrat, freie Aminosäuren und den Amidierungsgrad Asparaginsäure ließen sich die Proben jeweils in zwei Niveaus trennen. Das höhere Niveau jeder Probenserie (rot) wurde jeweils korrekt der Kulturvarianten zugeordnet. Die Trennung in jeder Probenserie war hochsignifikant ( $p < 0,001$ ). Zusätzlich zeigt sich deutlich eine Abnahme des Nitratgehaltes mit zunehmender Lagerdauer von der Untersuchung der Proben M33/66 am 28.10.02 über die Proben M22/55 am 6.12.02 bis zu den Proben M11/44 am 24.12.02. Der nach der Ernte der Möhren abnehmende Nitratgehalt deutet darauf hin, dass das Nitrat weiterhin mithilfe entsprechender Enzyme zu Ammonium bzw. Aminosäuren umgesetzt wird.

Der Unterschied der Kulturvarianten ließ sich in einem über die Lagerdauer abnehmenden, zu jedem Untersuchungszeitpunkt innerhalb einer Probenserie signifikant unterschiedlichen Nitratgehalt nachweisen. Im Rahmen des gesamten N-Metabolismus der Pflanze entspricht dies der in Gleichung 1 angeführten Reduktion des Stickstoffs von Nitrat (Oxidationsstufe N: +V) zu Ammonium bzw. Aminosäuren (Oxidationsstufe N: -III). Sowohl die gefundene Abnahme des Nitratgehaltes mit zunehmender Lagerdauer als auch der signifikante Unterschied der Düngungsvarianten hat damit einen plausiblen Bezug zum N-Metabolismus der Pflanze.

In der Abbildung sind verschiedene Parameter des N-Metabolismus der Möhre dargestellt. Neben dem Gesamtsummengehalt freier Aminosäuren, Gesamtprotein-N-Gehalt (Kjeldahl), und Amidierungsgrad Asparaginsäure sind der N-Gehalt der Summe freier Aminosäuren (Summe N) und der Quotient des in freien Aminosäuren identifizierten N zum Gesamtprotein-N dargestellt. Der Summengehalt des in den freien Aminosäuren gebundenen N unterscheidet sich vom Summengehalt der freien Aminosäuren dadurch, dass hier der von 1-4 N-Atomen je Molekül Aminosäure variierende N-Gehalt der erfassten Aminosäuren berücksichtigt wird.

Der Quotient N ident./N ges. gibt den Anteil des in freien Aminosäuren gebunden identifizierten Stickstoffs gegenüber dem mittels Kjeldahl bestimmten, als Gesamtprotein-N gebundenen Stickstoffs an. Es zeigt sich während der Lagerungsdauer der gedüngten Proben M 66/55/44 ein konstanter Quotient während bei den nicht gedüng-

ten Proben eine Abnahme des in freien Aminosäuren gebundenen N während der Lagerdauer stattfindet. Im Rahmen der Projekthypothese entspricht dies der in Gleichung 3 angeführten Umsetzung freier Aminosäuren zu Protein.

Während durch die Abnahmen des Quotienten  $N_{\text{ident.}}/N_{\text{gesamt}}$  bei der ungedüngten Variante eine deutliche Umsetzung im Sinne der Gleichung 3 gezeigt werden kann, ist dies bei der gedüngten Variante nicht der Fall. Es zeigen sich also auch im Lagerversuch deutliche Unterschiede, die auf eine höhere Organisationsleistung der ungedüngten Variante hinweisen.

### **Schlussfolgerungen:**

Durch Bestimmung des physiologischen Aminosäuren-Status war bei allen Proben mithilfe der geprüften Methodenkombination eine signifikante Trennung und sichere Identifizierung möglich. Die Validität des Gesamtverfahrens wurde dadurch belegt, für die geprüften Einzelmethode konnte eine ausreichende Präzision und Richtigkeit gezeigt werden. Die Differenzierung von Kulturverfahren mithilfe der Bestimmung des physiologischen Aminosäurenstatus, nämlich:

1. mehrere Messgrößen,
  2. analytisch präzise erfassbare Messgrößen,
  3. die einen Bezug zum untersuchten Pflanzenorganismus (dessen Physiologie),
  4. und auch einen Bezug zum angewandten Kulturverfahren haben,
- ist voraussichtlich auch auf andere Pflanzen übertragbar.

Für eine weitere Steigerung der ökologischen Lebensmittelproduktion ist es mittel- bis langfristig von Bedeutung, die Qualitätsunterschiede ökologisch und konventionell erzeugter Lebensmittel wissenschaftlich belegen zu können. Die Validierung der Verfahren hat hier große Bedeutung, da die Ergebnisse damit belastbar sind.

Derzeit ist die Qualität ökologischer Lebensmittel im öffentlichen Bewusstsein im wesentlichen negativ definiert: Nichtanwendung chemischer Düngemittel und chemisch-synthetischer Pflanzenschutzmittel. Im Rahmen dieses Projektes wurden Verfahren validiert, mit denen Ansätze für eine positive Qualitätsdefinition möglich werden.

Gefördert mit Mitteln des BMVEL, BÖL Projekt 02 OE 170. Frau B. Böhm und Frau B. Gies sei für die sorgfältige Durchführung der Laboruntersuchungen gedankt. Wir danken Prof. G. Rahmann, OEL Trenthorst, sowie Prof. A. Meier-Ploeger, Dr. J. Kahl und Dr. N. Busscher, Uni Kassel für die Unterstützung und Kooperation im Projekt, Dr. P. Mäder, FibL Schweiz und M. Fleck, Uni Kassel für die Proben.

### **Literatur:**

- Mäder P et al. (2002) Soil Fertility and Biodiversity in Organic Farming. *Science* 296, S1694-1697.
- Meier-Ploeger A et al. (1992) Lebensmittelqualität - Ganzheitliche Methoden und Konzepte. C.F Müller Verlag Karlsruhe.
- Schuphan W (1976) Mensch und Nahrungspflanze. Der biologische Wert der Nahrungspflanze in Abhängigkeit von Pestizideinsatz, Bodenqualität und Düngung. Dr. W. Junk B.V.-Verlag, Den Haag
- Stolz P (2004) Bestimmung des physiologischen Aminosäurenstatus zur Differenzierung von Möhren und Weizen aus verschiedenen Produktionsverfahren; in Meier-Ploeger (Ed.) Abschlußbericht zum Projekt „Validierung ganzheitlicher Verfahren“, BLE Förderkennzeichen 02OE170
- Tauscher B (2003) Ed.: Bewertung von Lebensmitteln verschiedener Produktionsverfahren; Statusbericht 2003 vorgelegt von der Senatsarbeitsgruppe „Qualitative Bewertung von Lebensmitteln aus alternativer und konventioneller Produktion“. Schriftenreihe des BMVEL Angewandte Wissenschaft 499, Landwirtschaftsverlag Münster