

Messung sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe von Brokkoliblumen aus ökologischem Anbau

Wolf, S.¹, Fleck, M.², Graeff-Hönniger¹, S., Zikeli, S.¹ und Claupein, W.¹

Keywords: Brokkoli, antioxidatives Potential, Sensor, samenfeste Sorten

Abstract

Consumer awareness on the healthiness of their foodstuff has been increasing over the last years. The main focus of this project is on secondary metabolites and antioxidants. Broccoli (*Brassica oleracea* L. convar. *botrytis* Alef. var. *italica* Plenck) contains many compounds beneficial for human health, like Vitamin C, carotenoids or anthocyanins. To investigate these compounds two techniques were used in this study, consisting of non-destructive sensor measurements (Multiplex[®]) to determine a sensor based index of anthocyanins (ANTH_RG) and flavonols (FLAV) and chemically determined antioxidant potential (water- (ACW) and lipid- (ACL) soluble antioxidants) on the basis of chemoluminescence. Field trials in autumn of 2011 and spring of 2012 were conducted in a randomized block design with different broccoli genotypes, named "Limba", "Marathon F1" and "TH-CAN-FK". Measurements were done two times in 2011 and three times in 2012 on broccoli florets. Results indicated that the sampling date had a significant effect on FLAV, ANTH_RG, ACL and ACW values in broccoli florets, while the genotype had only an influence on the ANTH_RG value. These effects may be due to less rainfall and pest infestations.

Einleitung und Zielsetzung

In heutiger Zeit werden Lebensmittel zunehmend nach ihrem ernährungsphysiologischen Wert beurteilt. Dabei spielen sowohl der Gehalt an Vitaminen und Antioxidantien, als auch das Vorhandensein bioaktiver Pflanzeninhaltsstoffe eine Rolle. In Brokkoli (*Brassica oleracea* L. convar. *botrytis* Alef. var. *italica* Plenck) können zahlreiche Substanzen gefunden werden, die für den menschlichen Organismus gesundheitsförderliche, zum Teil krebshemmende, sowie Herz-Kreislauf-Krankheiten vorbeugende Wirkungen haben können. Zu nennen sind Antioxidantien, wie Vitamin C, Vitamin E oder auch sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, wie Senfölglykoside (Schreiner 2005; Vallejo *et al.*, 2002). Um diese Inhaltsstoffe zu quantifizieren, wurden zwei unterschiedliche Methoden angewandt. Zum einen ein nicht-destruktiv messender Sensor (Multiplex[®]), der einen sensorbasierten Index für Anthocyane (ANTH_RG) und Flavonole (FLAV) in pflanzlichen Geweben angibt, und zum anderen eine enzymatisch-chemische Methode, auf der Basis von Chemolumineszenz, zur Messung von wasser- (ACW) und lipid- (ACL) löslichen Antioxidantien. Gemessen wurden Blumen der Hybridsorte „Marathon“, der samenfesten, tschechischen Sorte „Limba“ und des samenfesten Genotyps „TH CAN FK“ aus der Züchtungsarbeit des Vereins Kultursaat e.V., um genotypische Unterschiede im Gehalt sekundärer, bioaktiver Inhaltsstoffe zu erfassen.

¹ Universität Hohenheim, Fruwirthstr. 14, 70599, Stuttgart, DE, Stefanie.Wolf@uni-hohenheim.de, www.uni-hohenheim.de

² Kultursaat e.V., Kronstraße 24, 61209, Echzell, DE, kontakt@kultursaat.org, www.kultursaat.org

Methoden

In Kleinhohenheim, der Versuchstation für Ökologischen Landbau der Universität Hohenheim (8,7°C Durchschnittstemperatur, 401 m über NN, 700 mm Niederschlag) wurden im Herbst 2011 und im Frühjahr 2012 Feldversuche mit verschiedenen Brokkoli-Genotypen in einer randomisierten Blockanlage mit einer Düngung von 300 kg N ha⁻¹ (Biolisa®) durchgeführt. Es wurden Populationen aus einem on-farm Züchtungsprojekt sowie tschechische, samenfeste Sorten und Hybridsorten verwendet. Über den gesamten Erntezeitraum wurden Messungen mit dem Sensortool Multiplex® durchgeführt. Dabei wurde direkt an der Blumenoberfläche gemessen. Im Jahr 2011 wurden Proben zur Bestimmung des antioxidativen Potentials zu Beginn (September) und zum Ende (Oktober) des Erntezeitraums genommen. Im Jahr 2012 wurden die marktfähigen, zuvor mit dem Multiplex gemessenen Brokkoliblumen Mitte Juni und Ende Juni sowie Anfang Juli beprobt. Die Erfassung der phenolischen Komponenten in der Brokkoliblume basieren beim Sensor auf der Anregung dieser Verbindungen durch einen Lichtimpuls und der Detektion der daraus resultierenden Fluoreszenz und Reflexion. Das Messprinzip zur Quantifizierung des antioxidativen Potentials beruht auf Chemolumineszenz. Dafür wurden schockgefrorene, gefriergetrocknete und fein gemahlene Proben von Brokkoliblumen verwendet. Messungen, sowohl der wasserlöslichen (ACW), als auch der fettlöslichen (ACL) antioxidativen Substanzen fanden mit dem Photochem® statt. Zur Aufbereitung der Proben wurde das Kit von JenaAnalytik® eingesetzt. Die wasserlöslichen Antioxidantien wurden in Ascorbinsäureäquivalenten angegeben, die fettlöslichen Antioxidantien in Troloxäquivalenten. Die statistische Analyse wurde mit SAS 9.2, unter Verwendung einer ANOVA mit einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$, durchgeführt mit der Prozedur „proc mixed“.

Ergebnisse

Exemplarisch werden Ergebnisse der samenfesten Sorte „Limba“, einer Hybridsorte „Marathon“ und einem samenfesten Genotyp „TH-CAN-FK“ aus dem Herbstversuch 2011 mit Messterminen im September (1) und Oktober (2) und dem Frühjahrversuch 2012 mit Messterminen Mitte Juni (3), Ende Juni (4) und Anfang Juli (5) vorgestellt.

	Ø Temperatur [°C]	Σ Niederschlag [mm]
01.09.11 bis 20.09.11	17,2	31,0
20.09.11 bis 06.10.11	14,8	0,0
01.06.12 bis 12.06.12	15,1	23,2
12.06.12 bis 26.06.12	17,8	45,4
26.06.12 bis 04.07.12	19,7	43,0

Tab. 1: Durchschnittstemperatur [°C] und Niederschlags-summe [mm] vor den fünf Messterminen (20.09.11; 06.10.11; 12.06.12; 26.06.12; 04.07.12) der Wetterstation Hohenheim.

Aus den Werten für Anthocyane (ANTH_RG) und Flavonole (FLAV) der Sensormessungen, sowie aus den Messungen des antioxidativen Potentials ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen den Messterminen. Genotypische Einflüsse zeigten sich lediglich in signifikant verschiedenen Werten für ANTH_RG. Die höchsten FLAV-Werte wurden im Juli 2012 gemessen, die niedrigsten Ende Juni 2012. Die niedrigsten ANTH_RG Werte wurden ebenfalls Ende Juni 2012 gemessen. Die höchsten ANTH_RG Werte hatten Brokkoliblumen im September 2011. Im Jahr 2012 waren signifikante Unterschiede der Werte von FLAV und ANTH_RG zwischen den Messterminen zu verzeichnen, wohingegen die Werte im Jahr 2011 konstanter waren (Abb.1).

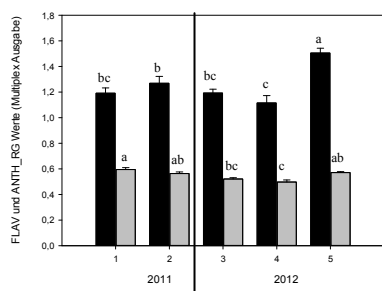


Abb.1: FLAV (schwarz) und ANTHR_RG (grau) Werte des Sensortools für Brokkoliblumen von „Limba“, „Marathon“ und „TH-CAN-FK“ als Mittelwerte an fünf Messterminen (1=September, 2=Oktober, 3=Mitte Juni, 4=Ende Juni, 5=Anfang Juli), signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$, $n=46$

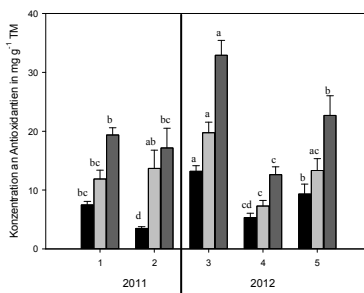


Abb.2: Lipid- (ACL in mg g^{-1} TM in Troloxäquivalenten, schwarz) und wasser- (ACW in mg g^{-1} TM in Ascorbinsäureäquivalenten, grau) lösliches antioxidatives Potential, sowie deren Summe (AC, dunkelgrau) für Brokkoliblumen von „Limba“, „Marathon“ und „TH-CAN-FK“ an fünf Messterminen (1=September, 2=Oktober, 3=Mitte Juni, 4=Ende Juni, 5=Anfang Juli), signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$, $n=46$

Eine ähnliche Tendenz konnte auch für das antioxidative Potential verzeichnet werden. Hier waren wiederum die niedrigen Werte Ende Juni 2012 auffallend. Mit $12,6 \text{ mg g}^{-1}$ TM an Antioxidantien war der Wert Ende Juni 2012 nur etwa ein Drittel der Antioxidantien, die in Proben von Mitte Juni 2012 gemessen wurden ($32,9 \text{ mg g}^{-1}$ TM). Der höchste Wert an ACL wurde mit $13,2 \text{ mg g}^{-1}$ TM in Troloxäquivalenten in Proben von Mitte Juni 2012 gemessen, der niedrigste mit $3,3 \text{ mg g}^{-1}$ TM in Troloxäquivalenten in Proben vom Oktober 2011. Der höchste Wert an ACW hatten Proben von Anfang Juni 2012 mit $19,7 \text{ mg g}^{-1}$ TM in Ascorbinsäureäquivalenten. Die niedrigsten Werte wurden in Proben von Ende Juni 2012 mit im Mittel von $7,3 \text{ mg g}^{-1}$ TM in Ascorbinsäureäquivalenten verzeichnet (Abb.2). Genotypische Unterschiede hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Konzentration an Antioxidantien in der Brokkoliblume (Daten nicht dargestellt).

Diskussion

Die Unterschiede in den Werten an sekundären Pflanzeninhaltsstoffen zwischen den Messterminen weisen darauf hin, dass klimatische Einflüsse, physiologische Stadien der Gesamtpflanze zum Zeitpunkt der Messungen oder biotische Faktoren Einfluss auf den Gehalt an sekundären Pflanzeninhaltsstoffen der Brokkoliblumen gehabt haben könnten. Unter Stressbedingungen, wie starker Sonneneinstrahlung, Trockenheit oder Schädlingsbefall kann ein Anstieg von Antioxidantien, wie Vitamin C, Vitamin E oder Carotinoiden erfolgen (Mahayan and Tuteja, 2005, Soengas *et al.*, 2012). Im Jahr 2011 waren die Niederschlagsmengen vor den Messterminen im September und Oktober sehr unterschiedlich, was sich jedoch nicht in der Konzentration an Antioxidantien in der Brokkoliblume widerspiegelte. Da die Konzentrationen an beiden Terminen im mittleren Bereich lagen, kann vermutet werden, dass ein relativ konstanter Faktor Einfluss hatte. Dies könnte im Jahr 2011 der Schädlingsbefall mit Erdflöhen, Weißer Fliege und Kohlweißlingen gewesen sein. Im Frühjahrsversuch 2012 war vor dem ersten Messtermin eine lange Phase mit wenig Niederschlag zu verzeichnen (Tab. 1), was den hohen Gehalt an Antioxidantien auf Grund von Trockenstress erklä-

ren könnte. Zudem wurde kurz vor dem Messtermin Mitte Juni das Kulturschutznetz entfernt, wodurch der Schattierungseffekt des Netzes wegfiel und mehr Licht die Brokkoliblumen erreichen konnte. Bis zur zweiten Probenahme fiel mehr Niederschlag. Dies könnte zu einer Reduktion an Antioxidantien auf Grund einer geringeren Stressbelastung und einem eventuellen Verdünnungseffekt geführt haben. Der Anstieg an Antioxidantien und sekundären Pflanzeninhaltsstoffen gegen Ende der Erntephase 2012 könnte an einem vermehrten Schädlingsaufkommen (Siemens and Mitchell-Olds 1998) und höheren Temperaturen (Tab.1) gelegen haben (Sallas *et al.*, 2002).

Schlussfolgerungen

Die Messungen des Sensors (FLAV, ANTH_RG) zeichnen einen ähnlichen Trend des Gehalts an sekundären Inhaltsstoffen wie die Messungen des antioxidativen Potentials (ACW, ACL) zu den jeweiligen Messterminen. Dies impliziert die Möglichkeit einer Kalibrierung des Sensors mit Hilfe von Laboranalysen. Sekundäre Inhaltsstoffe müssten dann nicht mehr destruktiv gemessen werden, um beispielsweise die Selektion von Sortenlinien in der Gemüsezüchtung schneller bewerkstelligen zu können. Um Einflussfaktoren auf den Gehalt an sekundären Pflanzeninhaltsstoffen in Brokkoliblumen genauer zu erfassen, ist es zum einen notwendig weiterreichende Versuche, eventuell auch auf Basis von Insekt-Pflanze-Beziehungen, durchzuführen und zum anderen die Inhaltsstoffanalytik zu erweitern, um konkret festzustellen, welche Inhaltsstoffe sich im Brokkoli in welcher Menge und zu welchem physiologischem Stadium befinden.

Danksagung

Vielen Dank an Kultursaat e.V. für die Bereitstellung des Saatguts. Für die Hilfe bei den Laboranalysen gilt Dank Dr. Nikolaus Merkt und Sonja Havrda. Für Hilfe beim Pflanzen und der Pflege des Feldversuchs geht ein Dankeschön an die Versuchsstation Kleinhohenheim. Das Projekt wird gefördert durch das BMELV im Rahmen des Bundesprogrammes Ökologischer Landbau und anderer Formen nachhaltiger Landwirtschaft.

Literatur

- Mahajan, S., Tuteja, N. (2005): Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics.*, 444:139-158.
- Sallas, L., Luomala, E.-M., Utriainen, J., Kainulainen, P., Holopainen, J. (2002): Contrasting effects of elevated carbon dioxide concentration and temperature on Rubisco activity, chlorophyll fluorescence, needle ultrastructure and secondary metabolites in conifer seedlings. *Tree Physiology* 23:97-108.
- Schreiner, M. (2005): Vegetable crop management strategies to increase the quantity of phytochemicals. *European Journal for Nutrition*, 44, 85-94.
- Siemens, D., Mitchell-Olds, T. (1998): Evolution of pest-induced defenses in brassica plants: tests of theory. *Ecology*. 79:632-646.
- Soengas, P., Cartea, M.E., Francisco, M., Sotelo, T., & Velasco, P. (2012): New insights into antioxidant activity of Brassica crops. *Journal of Food Chemistry*. 134:725-733
- Vallejo, F., Tomás-Barberán, FA., & García-Viguera, C. (2002): Potential bioactive compounds in health promotion from broccoli cultivars grown in Spain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 82:1293-1297.