



DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR QUALITÄTSFORSCHUNG  
(PFLANZLICHE NAHRUNGSMITTEL) E. V.  
c/o Fachgebiet Obstbau TUM, 85350 Freising  
XXXVI. VORTRAGSTAGUNG, Jena, 2001

## Untersuchungen zur Qualität von Calendula-Samen mittels zeitaufgelöster Fluoreszenz-Anregungs-Spektroskopie

*Jürgen Strube und Peter Stolz*

KWALIS Qualitätsforschung Fulda GmbH, Fuldaer Str. 21, D-36160 Dipperz  
Tel.: ++49-6657-6492, Fax: -6592, E-mail: [kwalis@t-online.de](mailto:kwalis@t-online.de)

### *Investigation of Quality of Calendula-Seeds by Time-Resolved Fluorescence-Excitation-Spectroscopy*

**Abstract:** *Seeds of calendula from conventional farming as well as from certified organic and certified bio-dynamic cultures were investigated by fluorescence-excitation-spectroscopy. Statistically significant differences were measured. Seeds from normal farming showed vegetative-like character whereas both samples of organic seeds showed a more seed-like character. Between the two organic samples a smaller but also significant difference was measured. The bio-dynamic seeds were the most seed-like sample. The method of measurement used and the method of evaluation are described.*

**Zusammenfassung:** Calendula-Samen aus konventionellem, kontrolliert biologischem und biologisch-dynamischem Anbau wurden mittels Fluoreszenz-Anregungs-Spektroskopie untersucht. Es zeigten sich signifikante Unterschiede, wobei die Samen aus konventionellem Anbau eine vegetative Charakteristik aufwiesen, während die beiden Proben aus biologischem Anbau eine samentypischere Charakteristik zeigten. Zwischen den beiden biologischen Proben bestand ein kleinerer, jedoch ebenfalls statistisch signifikanter Unterschied, wobei sich die Probe aus biologisch-dynamischen Anbau als die am deutlichsten samentypisch geprägte erwies. Die Untersuchungsmethode und das Bewertungsverfahren werden beschrieben.

#### **Anlass**

Calendulasamen werden als pharmazeutischer Rohstoff aus verschiedenen Anbauverfahren angeboten. Es bestand die Fragestellung, ob sich bei diesem Material mittels Fluoreszenz-Untersuchung qualitative Unterschiede messen lassen und welcher Art sie gegebenenfalls seien.

Die Messung der Lichtemission von Ganzproben ist ein zerstörungsfreies Verfahren, welches bereits zur Lebensmitteluntersuchung angewandt wurde [1-3]. Ausgewählte Gruppen von Pflanzenteilen zeigen typische spektrale Verteilungen. Diese eignen sich als Beurteilungsgrundlage insbesondere für Samen wie Getreide, Hülsenfrüchte, Ölsaaten etc. aus Anbauver-

suchen mit unterschiedlichen Kulturverfahren [3-8]. Am folgenden Beispiel wurde die Methodik erstmals zur Charakterisierung von Calendula-Samen angewandt.

## Material und Methode

Zur Untersuchung wurden durch ein Pharmaunternehmen kodierte Proben handelsüblicher Calendula-Samen eingesandt. Visuell konnten innerhalb jeder Probe helle und dunkle Anteile unterschieden werden, wobei unsicher war, ob diese in jeder Probe im gleichen Verhältnis vorlagen. Daher wurde die Proben vor der Messung manuell sortiert und beide Fraktionen getrennt gemessen.

Die Untersuchung erfolgte mittels der bereits beschriebenen Fluoreszenz-Anregungs-Spektroskopie [3-5]. Dabei wird das Untersuchungsgut 5 Sekunden durch schmalbandiges (farbiges) Licht beleuchtet. Die zeitversetzt auftretende Fluoreszenz (induzierte Emission) wird während 10 Sekunden breitbandig gemessen (100 Meßintervalle von je 0,1 Sekunde). Aus den 100 Meßwerten werden der 21. bis 100. (bzw. 61.-100.) Meßwert herausgegriffen (abhängig vom Probenmaterial) und das rechnerische Mittel daraus als ‚R80‘ bzw. ‚R40‘ bezeichnet. Die Anregung wechselt nach dem Meßzyklus zur nächsten Farbe. Es wird mittels Schott-Filtern (RG715, RG630, OG590, OG530, VG6, BG12, UG11) erzeugtes Licht der Farben Dunkelrot, Rot, Hellrot, Gelb, Grün, Blau und UV verwendet. Die jeweils gemessene Fluoreszenz wird ins Verhältnis gesetzt zur Fluoreszenz nach Weißlicht (=100%) und dadurch als Relativwert berechnet (bezeichnet mit ‚R80%‘ bzw. ‚R40%‘), wodurch die Anregungsbandbreite erkennbar wird. Die Anregungsbandbreite und das Verhältnis ihrer spektralen Anteile (Bandenintensität) ist Grundlage der weiteren Beurteilung.

Bei pflanzlichen Proben reagiert die Messung sehr empfindlich auf den Feuchtegehalt des Probenmaterials, d.h. die spektrale Breite der Anregbarkeit ändert sich. Der Feuchtegehalt wird durch Umgebungsbedingungen (relative Luftfeuchte, Temperatur) bei der Lagerung beeinflusst. Für die Untersuchung von Proben sind deshalb gleiche Bedingungen Voraussetzung. Die gemeinsame Lagerung von Proben in einem geschlossenen Volumen über Kieselgel als Trockenmittel ist die Methode der Wahl. Die Untersuchung erfolgt immer vergleichend, d.h. es müssen mindestens 2 Proben zur Verfügung stehen.

In einer Voruntersuchung wurde ermittelt, daß sich Calendula bezüglich der Anregungsbandbreite der Lumineszenz wie andere Samenarten verhält, d.h. die Bandbreite wird geringer, je länger die Probe trocken gelagert wurde.

## Grundlagen der Methode

Die angewandte Fluoreszenz-Anregungs-Spektroskopie unterscheidet sich von der klassischen Biophotonen-Untersuchung (Popp [1, 2]) durch die Auswertung der Bandbreite der Anregbarkeit bei Anregung mit Licht verschiedener Wellenlängen. Die spektrale Verteilung zeigt bei unterschiedlichen Kulturverfahren, soweit bisher erkennbar, systematische Unterschiede.

Grundsätzlich besteht zwischen pflanzlichen Proben und unbelebten Substanzen eine Polarität der Bandbreite. Aus Arbeiten mit verschiedenen pflanzlichen Materialien sowie deren isolierten Inhaltsstoffen ist bekannt [3, 4, 6-8], daß Blätter sowie andere vegetative Pflanzenteile eine breitbandige spektrale Verteilung aufweisen (Abb. 1, Brennesselblätter). Chemische Einzelstoffe dagegen (Abb. 1, Zitronensäure) zeigen bei der induzierten Lumineszenz eine einzelne schmale Bande (nahezu ausschließliche Anregbarkeit durch blaues Licht). Keimfähige Samen (Abb. 1 Weizen) zeigen eine Mittelstellung. Die Anregbarkeit der Proben durch UV erscheint relativ niedrig, da der UV-Anteil der verwendeten Lichtquelle gering ist.

Samen stellen die Ruheform der Pflanze dar. Sie erscheinen in trockenem Zustand nahezu unveränderlich, wie leblos. Erst bei Zugabe von Wasser gehen sie durch Keimung in den vegetativen Zustand über (und verschieben ihr Spektrum Richtung Gelb-Rot). Sämtliche bisher untersuchten Samen zeigen ein ähnliches Anregungsspektrum.

Die Systematik der Variation der Bandbreite wird zur Beurteilung benutzt. Als breitbandiger wird die Emission dann bezeichnet, wenn die rote, gelbe und grüne Anregung stärker werden und blau etwas abnimmt (Verschiebung von Blau zu Rot-Gelb). Umgekehrt kann man von Tendenz zur Schmalbandigkeit sprechen, wenn die rote, gelbe und grüne Anregung etwas abnimmt und dafür die blaue etwas zunimmt (Verschiebung nach Blau). Samenartige Proben zeigen geringere Anregbarkeit im Bereich Rot-Gelb-Grün als vegetativ geprägte Proben.

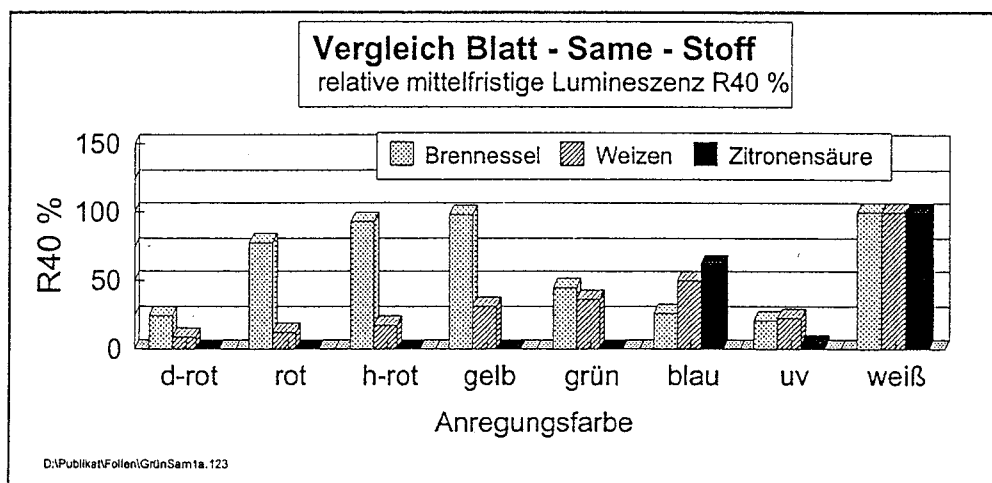


Abb. 1: Samen (hier repräsentiert durch Weizen) stehen mit ihrer Anregbarkeit durch verschiedene Lichtfarben (Anregungs-Bandbreite) zwischen grünem pflanzlichem Material (breitbandig) und chemischen Einzelsubstanzen (schmalbandig).

## Ergebnisse

Eine Meßreihe erfaßte die vier Außenflächen eines Küvetteninhalts (Probe). Für jede der 4 Meßreihen wurde die Küvette neu gefüllt. Die sich aus der Zufälligkeit der Lage der einzelnen Samen in der Küvette neu bildenden Außenflächen führen zu 4 voneinander unabhängigen Einzelergebnissen. In der Abb. 2 sind die Ergebnisse ‚R80%‘ der Untersuchung der dunkleren (Abb. 2 oben) und der helleren Fraktion (Abb.2 unten) dargestellt. Zwei Proben zeigten im Bereich Rot-Gelb-Grün niedrige Werte, die dritte Probe deutlich höhere Werte.

Die Ergebnisse ‚R40%‘ (hier nicht dargestellt) zeigten für die helle Fraktion die gleiche Reihenfolge und signifikante Differenz wie ‚R80%‘. Für die dunkle Fraktion konnte mittels ‚R40%‘ statistisch nicht mehr zwischen den beiden Proben mit niedrigen Rot-Gelb-Grün-Werten getrennt werden. Die dritte Probe erschien jedoch auch hier signifikant höher. Obwohl mit Calendula-Samen noch keine Erfahrungen vorlagen, legte das Gesamtergebnis nahe, daß die mittels ‚R80%‘ gewonnene Rangordnung die Proben zuverlässig charakterisierte.

Nach Abschluß der Untersuchung wurde vom Auftraggeber mitgeteilt, daß die Proben aus 3 verschiedenen Anbauvarianten stammten (biologisch-dynamisch, kontrolliert biologisch und konventionell). Die Probe aus konventionellem Anbau reagierte auf rotes, gelbes und grünes Licht deutlich stärker und damit breitbandiger als die beiden Proben aus biologischem Anbau. Die Toleranzfelder kennzeichnen die Standardabweichung der Mittelwerte (SEM).

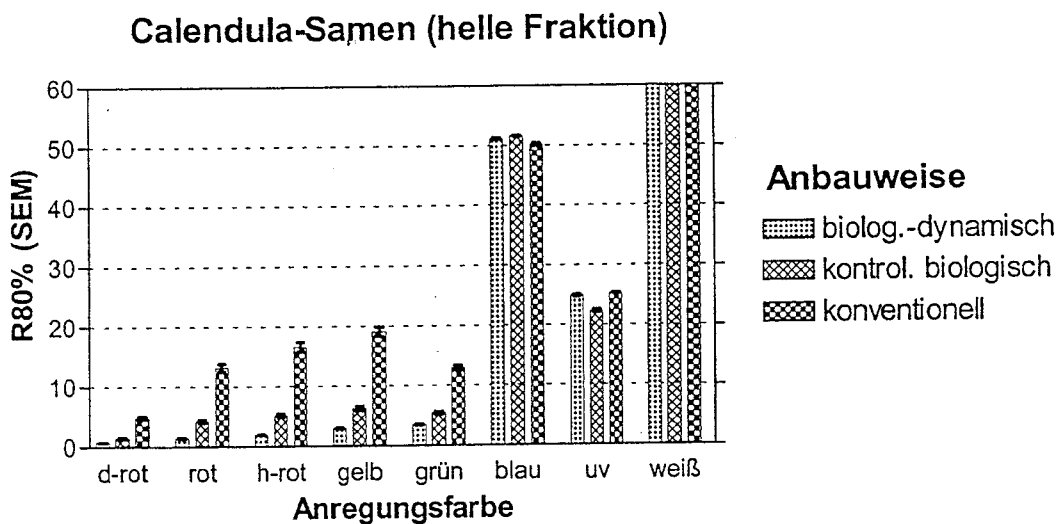
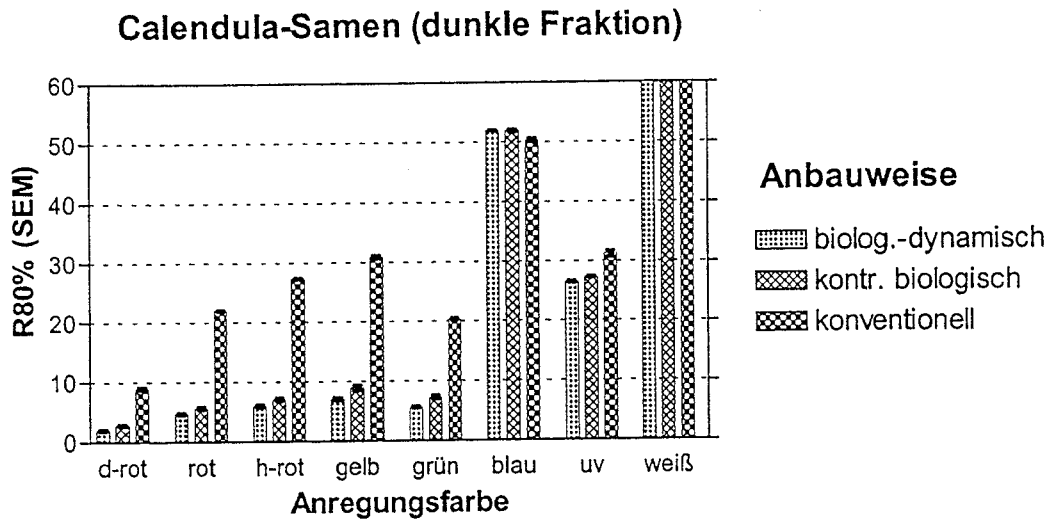


Abb. 2: Anregungs-Spektren von handelsüblichen Calendula-Samen. Die Samen aus biologisch-dynamischen Anbau zeigen das am deutlichsten samentypisch geprägte Spektrum (niedrigste Werte im Bereich Rot-Gelb-Grün). Ebenfalls noch samentypisch ist die Probe aus kontrolliert biologischem Anbau. Die Calendula-Samen aus konventionellem Anbau sind deutlich vegetativ geprägt (hohe Werte im Bereich Rot-Gelb-Grün).

Die Signifikanz der Unterschiede wurde mittels des graphischen Statistikprogramms GraphPad Prism untersucht. Die Auswertung der R80%-Daten nach gelber Anregung mittels zweiseitigem t-Test lieferte:

Signifikanzen (berechnet für gelbe Anregung R80%)				
	<i>dunkle Fraktion</i>		<i>helle Fraktion</i>	
Probe	biol.-dyn.	kontr. biol.	biol.-dyn.	kontr. biol.
kontr. biol.	** p=0,0077		*** p<0,0001	
konventionell	*** p<0,0001	*** p<0,0001	*** p<0,0001	*** p<0,0001

## **Beurteilung**

Die beiden biologischen Proben zeigten eine statistisch signifikante blaubezontere Anregbarkeit als die Probe aus konventionellem Anbau. Unter der Voraussetzung, daß Calendulasamen sich wie andere Samenarten verhalten, waren damit die biologischen Proben als die samentypischeren zu beurteilen. Dieser Befund der samentypischeren Ausprägung stimmt mit Befunden bei Proben anderer Samenarten aus ebenfalls biologischem Anbau überein, während z.B. mineralische Düngung oft zu breitbandigerer Anregbarkeit führte, wie sie hier die Probe aus konventionellem Anbau zeigte.

## **Zusammenfassung**

Am vorliegenden, codiert untersuchten Probenmaterial von Calendulasamen ergaben sich deutliche Unterschiede. Eine Probe erwies sich in beiden Fraktionen als stark vegetativ geprägt. Die beiden weiteren Proben zeigten samentypischen Charakter, wobei dieser bei einer der Proben deutlicher ausgeprägt war als bei der anderen.

Nach Abschluß der Untersuchung zeigte sich bei Vergleich der Ergebnisse mit den Herkünften der Calendula-Proben, daß ein enger Zusammenhang zwischen der Kulturform während des Anbaus und der Charakteristik der Samen bestand.

Es war aufgrund der Erfahrung an anderen Samenarten möglich, bei Calendula-Handelsproben die Bestimmung ihrer Charakteristik als vegetativ oder samentypisch vorzunehmen, ohne vorherige Kalibrierung an Calenda-Proben bekannter Herkunft. Dies läßt die Leistungsfähigkeit des Verfahrens erkennen. Diese zeigt sich auch darin, daß eine messtechnische Differenzierung sogar zwischen Proben aus biologischer und biologisch-dynamischer Anbauweise möglich war, die sich widerspruchsfrei in das Bewertungssystem einfügt.

## **Schlußfolgerung**

Die Anbauweise wirkt sich auf die Samenqualität aus. Die praktizierte getrennte Vermarktung von pflanzlichen, pharmazeutischen Rohstoffen aus biologischem und konventionellen Anbauverfahren zeigte eine sachlich prüfbare Grundlage, die weiter verifiziert werden sollte.

## **Dank**

Der Weleda AG danken wir für die Ermöglichung der Untersuchung und die freundliche Bereitschaft zur Publikation.

Frau G. Mende gilt unser Dank für die Durchführung der Messungen.

## **Literatur**

1. Popp, F.-A., Biophotonen- Analyse der Lebensmittelqualität, in Lebensmittelqualität-ganzheitliche Methoden und Konzepte, A. Meier-Ploeger and H.H. Vogtmann, Editors. 1988, Georg Michael Pfaff Gedächtnisstiftung, Kaiserslautern und Verlag C.F. Müller GmbH, Karlsruhe. Gesamtherstellung: Ekopan Verlag, Oberburgstr.1, Witzenhausen 1: Karlsruhe. p. 87-112.
2. Köhler, B., et al., Photonenemission - Eine neue Methode zur Erfassung der "Qualität" von Lebensmitteln. Deutsche Lebensmittel-Rundschau, 1991. 87. Jahrg.(Heft 3): p. 78-83.
3. Strube, J. and P. Stolz. Zerstörungsfreie Lebensmitteluntersuchung an Ganzproben mittels Biophotonen-Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie. in Zerstörungsfreie Qualitätsanalyse. 34. Vortragstagung der Deut-

- schen Gesellschaft für Qualitätsforschung (Pflanzliche Nahrungsmittel) DGQ e.V. 1999. Freising-Weihenstephan: Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung.
4. Strube, J. Zur Charakterisierung pflanzlicher Proben mittels Biophotonik. Schriftliche Fassung eines Vortrages auf der Fachtagung "Neue Aspekte einer ganzheitlichen Lebensmittelqualität" des Internationalen Institutes für Biophysik und der Schweisfurth-Stiftung, 28.-30. Aug. 1998. 1998. Neuss, ehemalige Raketenstation Hombroich.
  5. Strube, J. and P. Stolz. Fluorescence Excitation Spectroscopy for the Evaluation of Seeds. in IFOAM 2000 - The World Grows Organic, 13th International IFOAM Scientific Conference. 2000. Basel: vdf Hochschulverlag AG an der ETH Zürich.
  6. Strube, J., Vergleichende Ganzproben-Untersuchung mittels zeitaufgelöster Fluoreszenz-Anregungs-Spektroskopie (Lumineszenz-Untersuchung). 1997, KWALIS Qualitätsforschung Fulda GmbH, Fuldaer Str. 21, D-36160 Dipperz: Dipperz.
  7. Strube, J. Charakterisierung von Samen mittels Biophotonen. in Seminar: "Biophotonik zur ganzheitlichen Qualitätsbeurteilung von Getreide" des Internationalen Institutes für Biophysik und der Fa. Biophotonen F.-A. Popp. 1998. Neuss (Raketenstation Hombroich): KWALIS Qualitätsforschung Fulda GmbH, Fuldaer Str. 21, D-36160 Dipperz.
  8. Strube, J. and P. Stolz, Lichtspeicherung und Lebensmittelqualität. Ökologie und Landbau, 2001. 117(1/2001): p. 15-19.

## **Bibliographische Angaben zu diesem Dokument:**

Strube, Jürgen und Stolz, Peter (2001) Untersuchungen zur Qualität von Calendula-Samen mittels zeitaufgelöster Fluoreszenz-Anregungs-Spektroskopie [Investigation of quality of Calendula-Seeds by time-resolved Fluorescence Excitation Spectroscopy]. Beitrag präsentiert bei der Konferenz: 36. Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung e.V., Jena, Seite(n) 93-98.

Das Dokument ist in der Datenbank „Organic Eprints“ archiviert und kann im Internet unter <http://orgprints.org/00002332/> abgerufen werden.