

Einfluss der Cimiciato-Infektion und der Keimung auf die Gehalte bitterer Diarylheptanoide in rohen und verarbeiteten Haselnüssen und Entwicklung einer praxistauglichen Schnellmethode zur Qualitätskontrolle



Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle(n):	Technische Universität München - School of Life Sciences Department Molecular Life Sciences Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und Molekulare Sensorik Prof. Dr. Corinna Dawid/Prof. Dr. Thomas Hofmann Universität Hamburg Hamburg School of Food Science Institut für Lebensmittelchemie AG Prof. Bisping Prof. Dr. Bernward Bisping
Industriegruppe(n):	Bundesverband der Deutschen Süßwarenindustrie e.V. (BDSI), Bonn
Projektkoordinator:	August Storck KG, Halle (Westfalen) Dr. Jörg Klinkmann
Laufzeit:	2018 – 2021
Zuwendungssumme:	€ 598.462,--

Ausgangssituation

Haselnüsse finden heute breiten Einsatz in der Süßwarenindustrie, z.B. zur Herstellung von Tafelschokoladen, Riegeln, Pralinen, Nougat, Gebäck, Lebkuchen und Speiseeis. Die Türkei ist mit einer Menge von etwa 580.000 t p.a. (ca. 85 % des Weltmarkts) weltweit der mit Abstand größte Haselnusserzeuger, gefolgt von Italien (90.000 t p.a.). Die Verarbeitung des überwiegenden Anteils der europäischen Haselnüsse erfolgt in Deutschland (21 % der Exportmenge); dabei stammen Haselnüsse für den deutschen Markt hauptsächlich aus der Türkei.

Um eine ganzjährige Versorgung der verarbeitenden Industrie mit dem nur einmal im Jahr geernteten wertvollen Rohstoff zu gewährleisten, werden Haselnüsse z.T. bis zu einem Jahr gelagert. Gelagerte Haselnusschargen weisen aber immer wieder einen intensiven und lang anhaltenden bitteren Fehlgeschmack auf, der auch in nusshaltigen Endprodukten sensorisch durchschlägt und immer wieder zu Kundenreklamationen führt.

Obwohl der bittere Fehlgeschmack von Haselnüssen ein zunehmender Grund für wirtschaftliche Schäden ist, kann die Qualitätsbeurteilung von Haselnussproben bei der Wareneingangskontrolle in der Industrie bislang lediglich durch humansensorische Analysen erfolgen. Da fehlerhafte Nussproben einen lang anhaltenden unangenehmen Nachgeschmack haben, müssen zwischen den sensorischen Prüfungen lange Pausen eingehalten werden, wodurch eine zeitnahe Rohwarenbewertung erschwert ist.

Im Rahmen des IGF-Projekts AiF 18040 N gelang es, bittere Diarylheptanoide, darunter insbesondere das Asadanin, als Ursache des bitteren Fehlgeschmacks in gelagerten Haselnüssen zu identifizieren. Damit wurde die Grundlage geschaffen, die geschmackliche Qualität von Haselnüssen und daraus hergestellter Produkte

anhand der quantitativen Bestimmung der Diarylheptanoide zu erfassen. Vorarbeiten zu Haselnussproben aus der verarbeitenden Industrie wiesen zudem auf den Befall der Rohfrucht mit der Cimiciato-Wanze (bis zu ca. 15 % der Ernte) sowie eine einsetzende Keimung als potentielle Hauptursachen erhöhter Gehalte an Asadanin hin. Hingegen zeigten unterschiedliche Sorten bzw. Hybriden, die Herkunft der Haselnüsse oder der Erntezeitpunkt keinerlei signifikanten Einfluss auf die Bildung der Diarylheptanoide. Bei Haselnüssen, die ein Jahr lang gelagert worden waren, zeigte eine mechanische Schädigung der Nüsse ohne (steril) bzw. nach Kontamination mit verschiedenen Mikroorganismen keinen Einfluss auf die Bildung der Bitterstoffe. Somit existieren offensichtlich zwei Schlüsselfaktoren als Ursachen einer erhöhten Diarylheptanoidbildung: a) biotisch, durch Befall mit der Cimiciato-Wanze; b) abiotisch, durch kritische Temperatur/Zeit/Feuchtigkeits-Kombination induzierte Keimung.

Ziel des Forschungsvorhabens war es, aufbauend auf den Ergebnissen des IGF-Projekts AiF 18040 N Erkenntnisse zur Induktion der Bitterstoffbildung aus entsprechenden Vorstufen im Zuge der Cimiciato-Infektion bzw. der Keimung und deren Beeinflussung durch die nachfolgende Verarbeitung der Nüsse zu erarbeiten als Basis für eine fundierte Qualitätsbewertung. Es sollte eine praxistaugliche Bestimmungsmethode entwickelt werden, die es insbesondere KMU erlaubt, eine Abschätzung der Bitterstoffkonzentrationen in Rohwaren eigenständig durchzuführen.

Forschungsergebnis

Analog zum IGF-Projekt AiF 18040 N wurden im Rahmen des Vorhabens Bitterstoffe aus Haselnüssen isoliert. Dabei konnten die Verbindungen Carpinontriol B, Giffonin P, Giffonin T, Giffonin U und Giffonin W sowie drei bisher literaturunbekannte Carpinontriol B-Dimere isoliert werden. Durch humansensorische Experimente konnten die Bitterschwellenwerte der isolierten Verbindungen bestimmt werden (13-174 $\mu\text{mol/l}$ in Wasser). Die Entwicklung einer quantitativen LC-MS/MS-Methode ermöglicht die Analyse der Bitterstoffgehalte in Haselnussproben. Anhand dieser Methode wurden Haselnussproben, die unter verschiedenen Konditionen der Schlüsselfaktoren erzeugt wurden, analysiert. In Bezug auf die Keimung konnte beobachtet werden, dass mit fortschreitenden Keimungsstadien die Gehalte der Bitterstoffe zunehmen.

Haselnüsse, die für 120 Tage stratifiziert wurden, weisen höhere Diarylheptanoidekonzentrationen auf, als Haselnüsse mit einer Stratifikation von 90 Tagen. Ebenfalls erhöhen sich die Gehalte bei zunehmender Stratifizierungstemperatur (4°C vs. 8°C). Die der Stratifizierung anschließende Keimung der Haselnüsse induziert ebenfalls die Zunahme der Diarylheptanoidgehalte. Die höchsten Konzentrationen können bei einer Stratifizierungsdauer von 120 Tagen, einer Stratifizierungstemperatur von 8°C und einer Keimungsdauer ab 12 Tagen beobachtet werden.

Um den potentiellen Einfluss von Cimiciato assoziierten Mikroorganismen zu untersuchen, wurden Haselnüsse mit verschiedenen Mikroorganismen, die aus den Speicheldrüsen der Stinkwanzen isoliert wurden, beimpft. Dabei konnte beobachtet werden, dass vor allem die *Alternaria*-Spezies *Alternaria alternata* und *Alternaria arborescens* erhöhte Gehalte der Diarylheptanoide hervorrufen. Dieser Effekt ist verstärkt zu beobachten, je früher das Wachstumsstadium ist, in dem die Nüsse geerntet wurden. Um die Auswirkungen der Cimiciato-Infektion auf die Haselnüsse zu untersuchen, wurden gesunde Haselnüsse und durch Cimiciato-Wanzen geschädigte Haselnüsse analysiert. In infizierten Nüssen sind die Gehalte der bitteren Diarylheptanoide im Vergleich zu gesunden Nüssen stark erhöht, unabhängig vom Standort oder der Nussorte. Werden Haselnüsse von verschiedenen Stinkwanzen (*Halyomorpha halys*, *Gonocerus acuteangulatus* und *Palomena prasina*) infiziert, erhöhen sich die Gehalte aller Analyten. Vor allem der Schlüsselbitterstoff Carpinontriol B kann dabei Konzentrationen bis zu einem Zehnfachen seines Bitterschwellenwerts erreichen und trägt somit zur Wahrnehmung der Bitterkeit bei. Um den Einfluss dieser Bittersubstanzen, vor allem des Schlüsselbitterstoffs Carpinontriol B, auf haselnusshaltige Schokoladenprodukte einschätzen zu können, wurden humansensorische Experimente durchgeführt. Auch bei Zugabe von hohen Bitterkonzentrationen konnten bei homogener Verteilung keine Unterschiede zu undotierten Schokoladen (Vollmilch, Zart herb, Weiß) wahrgenommen werden.

Folglich entsteht der bittere Fehlgeschmack dann, wenn ganze Haselnüsse verarbeitet werden, die Bitterstoffkonzentrationen aufweisen, die über den Geschmacksschwellenwerten liegen.

Wirtschaftliche Bedeutung

Mit ihren mehr als 220 überwiegend kleinen und mittelständischen Unternehmen (KMU) gehört die deutsche Süßwarenindustrie zu den wirtschaftlich bedeutendsten Wirtschaftsbereichen. Die Branche erwirtschaftet einen jährlichen Umsatz in Höhe von ca. 14,5 Mrd. €, die Exportquote liegt bei 51% (BDSI, 2021).

Haselnüsse kommen in einer Vielzahl von Produkten als wertgebende Zutat zum Einsatz. Mit der im Rahmen des Vorhabens erarbeiteten Methode werden KMU der Süßwarenindustrie und insbesondere der Schokoladenindustrie künftig in der Lage sein, die Bitterkeit bzw. das Bitterbildungspotential während der Lagerung bereits beim Rohwareneinkauf ohne aufwändige sensorische Prüfungen abzuschätzen und dadurch gezielt Verarbeitungszeitraum und Einsatzbereiche der Haselnüsse und Nussmassen zu optimieren. Sofern sich die als Ursache des Bitterstoffbildung vermutete Cimiciato-Infektion verifizieren lässt, ließe sich zudem in den Erzeugerländern, z.B. durch eine Behandlung der Pflanzen gegen Insektenbefall oder mittels einer Netzumspannung der Nussbüsche, der Bitterstoffbildung wirksam entgegenzutreten.

Die erhaltenen Daten zu humansensorischen Metabolit-Schwellenwerten ermöglichen mithilfe der entwickelten Analyseverfahren Rückschlüsse auf den Einfluss von Bitterstoffen in Haselnüssen auf den Fehlgeschmack. Durch die Analyse von Haselnussproben, die unterschiedlichen Stressfaktoren ausgesetzt wurden, kann der jeweilige Einfluss dieser Stressoren auf die Bitterkeit der Nüsse eingeschätzt werden. So ist es insbesondere für KMU wichtig, bei der Haselnussrohware darauf zu achten, dass die durch Wanzen befallenen Nüsse, die meist ein sichtbares Schadbild aufweisen, aussortiert werden. Ebenfalls können die Rohwaren durch die entwickelte analytische Methode auf die Konzentrationen der Bitterstoffe analysiert werden. Liegen diese über den Geschmacksschwellenwerten, tragen sie zum bitteren Fehlgeschmack bei. Beim Einsatz von Haselnüssen in Schokoladenprodukten ist bei homogener Verteilung der Bitterstoffe kein bitterer Fehlgeschmack zu erwarten. So besteht hauptsächlich in Produkten, die Haselnüsse in ganzer oder verkleinerter Form enthalten, die Gefahr eines ungewünschten Bittergeschmacks, wenn Cimiciato-infizierte Nüsse enthalten sind. Somit ist vor allem bei diesen Produkten darauf zu achten, dass die Rohware keine Wanzeninfektion aufweist.

Die höchsten Konzentrationen der Bittergehalte werden durch die Cimiciato-Infektion verursacht. Demnach ist der Anbau und Umgang der Haselnussrohware vor allem in den Erzeugerbetrieben ausschlaggebend für die resultierende Geschmacksqualität. Es ist anzustreben, dass ab Wachstumsbeginn so gut wie möglich vermieden wird, dass eine Stinkwanzeninfektion stattfinden kann. Demnach könnte der Einsatz von Netzen, ebenso wie der Einsatz von Pestiziden, zum gewünschten Ziel führen.

Bezüglich der Transportwege sowie der Weiterverarbeitung sollte bei der zum Teil bis zu einem Jahr andauernden Nacherntelagerung darauf geachtet werden, dass die Nüsse nicht die ermittelten kritischen Bedingungen erreichen, bei denen die Gehalte der Bitterstoffe zunehmen. Demnach muss verhindert werden, dass die Lagerungsbedingungen zur Keimung der Nüsse führt und somit die Bildung der Bittersubstanzen induziert. So wird es mit Hilfe des erlangten Wissens möglich, die sensorischen Eigenschaften von Haselnussprodukten zu kontrollieren und die Geschmacksqualität zu erhalten.

Publikationen (Auswahl)

1. FEI-Schlussbericht 2021.

Der Schlussbericht ist für die interessierte Öffentlichkeit bei den Forschungsstellen abzurufen.

Weiteres Informationsmaterial

Technische Universität München
School of Life Sciences
Department Molecular Life Sciences
Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und Molekulare Sensorik
Lise-Meitner-Straße 34, 85354 Freising
Tel.: +49 8161 71-2901
Fax: +49 8191 71-2949
E-Mail: corinna.dawid@tum.de

Universität Hamburg
Hamburg School of Food Science
Institut für Lebensmittelchemie
AG Prof. Bisping
Ohnhorststraße 18, 22609 Hamburg
Tel.: +49-40-42816 642
Fax: +49-40-4273-14732
E-Mail: bernward.bisping@uni-hamburg.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 125, 53175 Bonn
Tel.: +49 228 3079699-0
Fax: +49 228 3079699-9
E-Mail: fei@fei-bonn.de

Förderhinweis

Gefördert durch:



Bundesministerium
für Wirtschaft
und Klimaschutz

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Das IGF-Vorhaben **AiF 20006 N** der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.